



Čebelarska zveza Slovenije
Brdo pri Lukovici 8
1225 Lukovica
tel: (01) 729 6100
faks: (01) 729 6132

Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov za leto 2024

v skladu z Uredbo o izvajanju intervencij v sektorju čebelarških proizvodov iz strateškega načrta
skupne kmetijske politike 2023–2027 (Uradni list RS, št. 17/23 in 58/23)

Izvajalec:

Čebelarska zveza Slovenije (ČZS)

Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta (UL, BF) (podizvajalec)

Institut Jožef Stefan (IJS) (podizvajalec)

Intertek GmbH (INTERTEK) (podizvajalec)

Nastavni zavod za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar (podizvajalec)

Lukovica, avgust 2024

Naslov: Poročilo aplikativne raziskave
Karakterizacija čebeljih pridelkov

Naročnik: REPUBLIKA SLOVENIJA,
MINISTRSTVO ZA KMETIJSTVO, GOZDARSTVO IN
PREHRANO
Dunajska cesta 22
1000 Ljubljana

Oznaka pogodbe: POGODBA št. 2330-23-111050

Izvajalec: Čebelarska zveza Slovenije
Brdo pri Lukovici 8
1225 Lukovica

Podizvajalci: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta (BF)
Institut Jožef Stefan (IJS)
Intertek GmbH, Nemčija
Nastavni zavod za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar, Hrvaška (NZJZ Andrija
Štampar)

Vodja projekta: dr. Peter Kozmus (ČZS)

Sodelavci: dr. Urška Ratajc, Tomaž Samec, Aljaž Debelak, Simon Golob, Boris Potočnik,
Alina Stropnik, Nina Švigelj (ČZS)
dr. Jasna Bertoncej, dr. Mojca Korošec, dr. Helena Abramovič, dr. Sonja Smole
Možina, dr. Blaž Ferjančič, Marinka Jan, Anja Bolha, Mateja Šuštar, Zala
Šturm, Polona Kalan, Mateja Vidmar, Mirjana Jeremić (UL, BF)
dr. Marijan Nečemer (IJS)
dr. Martin Schubert, dr. Nickolet Ncube, Alina Nippes, Dr. Salvador Ruiz Soto,
Dr. Klaus Beckmann, Susann Bretschneider (Intertek GmbH)
dr. Mario Lasić, Sonja Serdar, Maja Budeč (NZJZ Andrija Štampar)
Blaž Podrižnik (zunanji sodelavec ČZS)

Avtorji poročila: dr. Urška Ratajc, Aljaž Debelak, Simon Golob, Tomaž Samec

Rezultati so nastali v okviru Strateškega načrta skupne kmetijske politike 2023 – 2027 za Slo-
venijo, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije.

Lukovica, 12. 8. 2024

Boštjan Noč, predsednik ČZS

KAZALO VSEBINE

1	UVOD	9
1.1	CILJ APLIKATIVNE RAZISKAVE.....	9
2	CVETNI PRAH	10
2.1	PREGLED OBJAV O CVETNEM PRAHU	10
2.1.1	Sestava cvetnega prahu	11
2.1.2	Kemijska sestava cvetnega prahu osmukanca.....	11
2.1.3	Botanično poreklo cvetnega prahu osmukanca	13
2.1.4	Protimikrobno delovanje cvetnega prahu osmukanca.....	13
2.1.5	Antioksidativni potencial (aop) cvetnega prahu osmukanca.....	15
2.1.6	Vsebnost elementov v cvetnem prahu osmukanca.....	16
2.1.7	Senzorične lastnosti cvetnega prahu osmukanca.....	17
2.2	MATERIAL IN METODE	19
2.2.1	Zbiranje vzorcev.....	19
2.2.2	Določanje botaničnega porekla (Piana in sod., 2006).....	20
2.2.3	Določanje protimikrobne aktivnosti.....	20
2.2.4	Določanje antioksidativnega potenciala (AOP)	21
2.2.5	Določanje vsebnosti elementov (XRF) (Nečemer in sod., 2010).....	21
2.2.6	Senzorična analiza	22
2.2.7	Statistična analiza	23
2.3	REZULTATI Z RAZPRAVO	24
2.3.1	Botanično poreklo cvetnega prahu osmukanca	24
2.3.2	Protimikrobna aktivnost v izvlečkih cvetnega prahu osmukanca	27
2.3.3	Antioksidativna učinkovitost (au) cvetnega prahu osmukanca.....	28
2.3.4	Elementna sestava cvetnega prahu osmukanca	31
2.3.5	Senzorična analiza cvetnega prahu osmukanca.....	36
2.4	ZAKLJUČEK.....	40
2.5	VIRI.....	42
3	MATIČNI MLEČEK	48
3.1	PREGLED OBJAV O MATIČNEM MLEČKU.....	48
3.1.1	Nastanek matičnega mlečka	49
3.1.2	Lastnosti svežega matičnega mlečka.....	49
3.1.3	Sestava matičnega mlečka.....	50

3.1.4	Antioksidativna učinkovitost matičnega mlečka.....	55
3.1.5	Skladiščenje matičnega mlečka.....	56
3.1.6	Uporaba matičnega mlečka	56
3.2	MATERIAL IN METODE	58
3.2.1	Zbiranje vzorcev.....	58
3.2.2	Senzorična analiza.....	58
3.2.3	Fizikalno-kemijske analize.....	59
3.2.4	Statistične metode.....	60
3.3	REZULTATI Z RAZPRAVO	61
3.3.1	Senzorična ocena.....	61
3.3.2	Fizikalno-kemijski parametri	64
3.4	ZAKLJUČEK.....	67
3.5	VIRI.....	68
4	PROPOLIS.....	74
4.1	PREGLED OBJAV O PROPOLISU	74
4.1.1	Nastanek in pomen propolisa	75
4.1.2	Sestava propolisa.....	76
4.1.3	Vrste propolisa	77
4.1.4	Lastnosti propolisa	78
4.1.5	Pridobivanje propolisa.....	79
4.1.6	Uporaba propolisa	80
4.2	MATERIAL IN METODE	81
4.2.1	Načrt zbiranja vzorcev.....	81
4.2.2	Analiza propolisa.....	82
4.3	REZULTATI Z RAZPRAVO	83
4.3.1	Senzorična ocena in izvor osnovne surovine propolisa.....	83
4.3.2	Vsebnost fenolnih spojin	83
4.4	ZAKLJUČEK.....	86
4.5	VIRI.....	89
5	ČEBELJI STRUP.....	92
5.1	PREGLED OBJAV O ČEBELJEM STRUPU.....	92
5.1.1	Izvor čebeljega strupa.....	92
5.1.2	Sestava in lastnosti čebeljega strupa	92

5.1.3	Uporaba čebeljega strupa	93
5.1.4	Pridobivanje čebeljega strupa.....	94
5.1.5	Kvaliteta čebeljega strupa	95
5.2	MATERIAL IN METODE	97
5.2.1	Načrt zbiranja vzorcev.....	97
5.2.2	Analiza čebeljega strupa.....	98
5.3	REZULTATI Z RAZPRAVO	99
5.3.1	Analiza sestave čebeljega strupa in ocena čistosti	99
5.4	ZAKLJUČEK.....	106
5.5	VIRI.....	108
6	MED.....	110
6.1	PREGLED OBJAV O MEDU	110
6.1.1	PROTIMIKROBNA AKTIVNOST MEDU	110
6.1.2	ANTIOKSIDATIVNE LASTNOSTI MEDU	112
6.2	MATERIAL IN METODE	114
6.2.1	Zbiranje vzorcev	114
6.2.2	Določitev vrste medu.....	116
6.2.3	Določanje skupnih fenolnih spojin in antioksidativne učinkovitosti	116
6.2.4	Določanje protimikrobne aktivnosti medu	118
6.3	REZULTATI Z RAZPRAVO	120
6.3.1	Vsebnost skupnih fenolnih spojin in antioksidativna učinkovitost medu	120
6.3.2	Protimikrobna učinkovitost	126
6.4	ZAKLJUČEK.....	134
6.5	VIRI.....	135

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Analize čebeljih pridelkov v sklopu aplikativne raziskave.....	9
Preglednica 2: Sestava svežega večvrstnega cvetnega prahu osmukanca (Lilek, 2020)	11
Preglednica 3: Parametri sestave cvetnega prahu po ISO standardu (ISO, 2023)	12
Preglednica 4: Analizirani vzorci cvetnega prahu.	19
Preglednica 5: Vzorci cvetnega prahu osmukanca z določenim botaničnim poreklom	24
Preglednica 6: Protimikrobna aktivnost izvlečkov cvetnega prahu različnega botaničnega porekla.....	27
Preglednica 7: Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih cvetnega prahu izraženo kot mg galne kisline na gram cvetnega prahu (mg GK/g) in AOP izvlečkov izraženo kot koncentracija fenolnih spojin v reakcijski zmesi, ki za 50 % zniža začetno vsebnost radikala DPPH• (EC50). Rezultati so podani kot povprečna vrednost najmanj treh ponovljenih analiz ± standardni odklon.	28
Preglednica 8: Antioksidativna učinkovitost cvetnega prahu osmukanca pravega kostanja, javorja, črne detelje, regrata in hrasta.	30
Preglednica 9: Vsebnost makroelementov v cvetnem prahu osmukancu različnega botaničnega porekla.....	31
Preglednica 10: Vsebnost makroelementov v cvetnem prahu osmukancu pravega kostanja, javorja, črne detelje, regrata in hrasta.	32
Preglednica 11: Vsebnost mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu različnega botaničnega porekla.	33
Preglednica 12: Vsebnost mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu pravega kostanja, javorja, črne detelje, regrata in hrasta.	34
Preglednica 13: Barva vzorcev cvetnega prahu	36
Preglednica 14: Rezultati senzorične analize vzorcev cvetnega prahu.....	39
Preglednica 15: Sestava svežega in liofiliziranega matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016).....	50
Preglednica 16: Analizirani vzorci matičnega mlečka.....	58
Preglednica 17: Rezultati senzorične analize vzorcev matičnega mlečka.	63
Preglednica 18: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz slovenskega matičnega mlečka.....	64
Preglednica 19: Seznam vzorcev propolisa analiziranega v letu 2024.	81
Preglednica 20: Rezultati senzorične ocene posameznih vzorcev propolisa, analiziranega v letu 2024.....	83
Preglednica 21: Vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa.....	87
Preglednica 22: Povprečne vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa.....	88
Preglednica 23: Seznam vzorcev čebeljega strupa, analiziranega v letu 2024	97
Preglednica 24: Rezultati analize sestave vzorcev čebeljega strupa in ocene čistosti za vzorce analizirane v letu 2024	101
Preglednica 25: Analizirani vzorci medu.....	115
Preglednica 26: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti akacijevega medu.	120

Preglednica 27: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti bršljanovega medu.	121
Preglednica 28: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti cvetličnega medu.	122
Preglednica 29: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti gozdnega medu.	123
Preglednica 30: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti hojevega medu.	124
Preglednica 31: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti lipovega medu..	125
Preglednica 32: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti kostanjevega medu.	125
Preglednica 33: Rezultati protimikrobne aktivnosti akacijevega medu.....	127
Preglednica 34: Rezultati protimikrobne aktivnosti bršljanovega medu.	127
Preglednica 35: Rezultati protimikrobne aktivnosti cvetličnega medu.	128
Preglednica 36: Rezultati protimikrobne aktivnosti gozdnega medu.	129
Preglednica 37: Rezultati protimikrobne aktivnosti hojevega medu.	130
Preglednica 38: Rezultati protimikrobne aktivnosti lipovega medu.....	131
Preglednica 39: Rezultati protimikrobne aktivnosti kostanjevega medu.....	132

KAZALO SLIK

Slika 1: Priprava mikroskopskih preparatov za botanično identifikacijo cvetnega prahu.....	20
Slika 2: Posušeni vzorci cvetnega prahu pred določanjem elementne sestave.....	22
Slika 3: Porazdelitev in povezava vektorjev elementov glede na botanično poreklo cvetnega prahu osmukan-ca. Legenda: K-pravi kostanj, OO-oljna ogrščica, R-regrat, RD-rdeči dren, MJH-mali jesen in hrast, J-javor, A-ajda, H-hrast, ČD-črna detelje, RZ- regrat in zlatičevke, ČB-črnobinovke.....	35
Slika 4: Barvna pestrost cvetnega prahu osmukanca (vzorci KCP1 – KCP20).....	37
Slika 5: Barva matičnega mlečka pri vzorcih programskega leta 2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022).....	50
Slika 6: Panel šolanih senzoričnih preskuševalcev med senzorično analizo vzorcev matičnega mlečka iz programskega leta 2024.....	59
Slika 7: Barva vzorcev matičnega mlečka v programskem letu 2024.	61
Slika 8: Propolis, pridobljen na namensko vstavljenih pripomočkih.	75
Slika 9: Povprečna sestava propolisa.	77
Slika 10: Pripravljeni vzorci propolisa za analizo v letu 2024.	82
Slika 11: Vzorci čebeljega strupa v letu 2024.	98
Slika 12: Vzorec zelo čistega dobro ocenjenega čebeljega strupa.....	98
Slika 13: Vzorec slabo ocenjenega čebeljega strupa z zelo rjavo barvo.....	99
Slika 14: Vsebnost melitina, skupnih beljakovin in suhe snovi v vzorcih čebeljega strupa v letu 2024.....	100
Slika 15: Primerjava različnih barv čebeljega strupa.....	104
Slika 16: Primerjave med vsebnostjo melitina in seštevkom točk vizualne ocene.....	104
Slika 17: Vizualno dobro ocenjeni vzorec čebeljega strupa.	105
Slika 18: Primerjava zelo dobro in slabo ocenjenega vzorca čebeljega strupa.....	105
Slika 19: Raznolikost vzorcev medu v programskem letu 2024.....	114
Slika 20: Različno intenzivna obarvanost po dodatku reagenta pri nekaterih vzorcih medu iz programskega leta 2024.	117
Slika 21: Izguba vijolične barve DPPH• reagenta pri nekaterih vzorcih iz programskega leta 2024.....	118
Slika 22: Primerjava povprečne vsebnosti skupnih fenolnih spojin (FC) ter antioksidativne učinkovitosti s FRAP in DPPH• metodo	126
Slika 23: Povprečne vrednosti MIK (%) za posamezno vrsto medu. V graf smo vključili vrste medu, kjer smo imeli vsaj tri podatke.....	133

1 UVOD

Za posodobitev in dopolnitev baze podatkov o lastnostih medu, cvetnega prahu, matičnega mlečka, propolisa in strupa slovenskega porekla, je Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano naročilo raziskavo z naslovom »Karakterizacija čebeljih pridelkov za obdobje 2023 – 2025«. V letih od 2017-2019 je potekala raziskava v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2017-2019, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije. Podobna raziskava se je izvajala tudi v programskem obdobju 2020-2022. Določeni so bili parametri cvetnega prahu, matičnega mlečka, propolisa in medu. Raziskava v obdobju 2023-2025 na seznam analiziranih čebeljih pridelkov dodaja še čebelji strup.

1.1 CILJ APLIKATIVNE RAZISKAVE

Cilj ukrepa je dopolniti zbirko podatkov o lastnostih medu, cvetnega prahu, matičnega mlečka, strupa in propolisa slovenskega porekla iz vsaj treh statističnih regij Slovenije in treh različnih sezon.

Glede na programsko nalogo omenjene aplikativne raziskave je na čebeljih pridelkih potrebno opraviti različne analize (Preglednica 1).

Preglednica 1: Analize čebeljih pridelkov v sklopu aplikativne raziskave.

Čebelji pridelek	Vrsta analiz
CVETNI PRAH	vsebnost elementov (IJS), antioksidativna in protimikrobna učinkovitost (UL BF), pelodna analiza (ČZS), senzorična analiza (UL BF, ČZS)
MATIČNI MLEČEK	senzorična analiza (UL BF, ČZS), vsebnost vode, beljakovin, kislin, vrednost pH, antioksidativna učinkovitost (UL BF)
PROPOLIS	vsebnost skupnih flavonoidov (INTERTEK)
MED	protimikrobna (UL BF) in antioksidativna učinkovitost glede na vrsto medu (ČZS), pelodna analiza (INTERTEK)
STRUP	vsebnost melitina, skupnih beljakovin in suhe snovi (NZJZ Andrija Štampar)

Analize smo opravljali na Čebelarški zvezi Slovenije (ČZS), Biotehniški fakulteti Univerze v Ljubljani (UL, BF), Institutu Jožef Stefan (IJS) ter v Interteku v Nemčiji in Nastavnem zavodu za javno zdravstvo dr. Andrija Štampar na Hrvaškem, skladno s Preglednico 1.

2 CVETNI PRAH

2.1 PREGLED OBJAV O CVETNEM PRAHU

Cvetni prah ali pelod je značilen za vsako posamezno cvetočo rastlinsko vrsto. Med rastlinami ga prenašajo čebele, saj se ob obisku cveta oprime dlačic na njihovem telesu. Čebele se med letenjem čistijo ter drobna zrnca cvetnega prahu z dodatkom svojih encimov in medicine med seboj zlepijo in oblikujejo grudici cvetnega prahu, ki ju na svojih zadnjih nožicah odnesejo v panj in uporabijo za lastno prehrano. Cvetni prah za čebele predstavlja pomemben vir hranil, kot so ogljikovi hidrati, beljakovine, maščobe, elementi, vitamini in ostale sestavine (Serra-Bonvehí in Escolà-Jordà, 1997; Villanueva in sod., 2002; Bastos in sod., 2004; Almeida-Muradian in sod., 2005; Human in Nicolson, 2006; El Ghouizi in sod., 2023). Cvetni prah, ki ga naberejo čebele in se uporablja v humani prehrani, v Sloveniji imenujemo tudi osmukanec. To poimenovanje ni razširjeno in se uporablja zgolj v tehnološkem poimenovanju. Pogovorno in v praksi pa se uporablja poimenovanje cvetni prah.

Pridobivanje cvetnega prahu osmukanca poteka z napravami, ki jim pravimo osmukalniki in jih namestimo na žrelo ali podnico čebeljega panja. Svež cvetni prah osmukanec vsebuje veliko vode, zato je skrb za higieno pridelave ključnega pomena za zagotavljanje njegove kakovosti in varnosti.

Čebele cvetnega prahu skoraj nikoli ne nabirajo samo na eni botanični vrsti, ampak je dnevni pridelek največkrat mešanica grudic cvetnega prahu osmukanca različnega botaničnega porekla. Prevozi čebel na ogromna območja, zasajena z določeno monokulturo, nam omogočajo pridelavo pretežno enovrstnega (monoflornega) cvetnega prahu osmukanca. Vsaka botanična vrsta cvetnega prahu osmukanca ima svoje karakteristične značilnosti. Enovrsten oz. monofloren cvetni prah osmukanec ima senzorične in biokemijske lastnosti podobne lastnostim rastline, iz katere izvira, medtem ko ima večvrsten (polifloren) oz. mešani cvetni prah osmukanec raznolike lastnosti, ki so posledica različnih botaničnih vrst (Yang in sod., 2013).

Za uporabo cvetnega prahu v prehrani in apiterapiji je nujno poznavanje hranilne vrednosti in funkcionalnih lastnosti cvetnega prahu osmukanca posameznih botaničnih vrst. V letih od 2017–2019 je potekala raziskava v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2017–2019, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije, v kateri so bili v cvetnem prahu določeni vsebnost vode, pepela, beljakovin, maščob in skupnih ogljikovih hidratov ter energijska vrednost. Določena je bila mikrobiološka slika in antioksidativna učinkovitost cvetnega prahu po procesih obdelave in različnih časih skladiščenja.

V letih od 2020-2022 pa je potekala raziskava v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2020–2022, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije, ki je obstoječo zbirko podatkov dopolnila s podatki o

antioksidativni učinkovitosti, protimikrobnem delovanju, elementno sestavo in senzoričnimi lastnostmi posameznih botaničnih vrst cvetnega prahu osmukanca. Z rezultati obstoječe raziskave bomo v letih 2023-2025 dopolnili to zbirko podatkov za posamezne vrste monoflornega cvetnega prahu osmukanca in vključili tudi nekatere botanične vrste cvetnega prahu, ki jih predhodna raziskava ni zajela (gaber, hrast, rdeči dren, klinčnice, ajda).

2.1.1 Sestava cvetnega prahu

Pelodno zrno obdaja zunanja stena, imenovana eksina, ki je iz sporopolenina (Roulston in Cane, 2000; Kessler in Harley, 2006). Eksina pelodno zrno ščiti pred fizikalno-kemijskimi dejavniki, obdaja jo plast, sestavljena iz maščob, ogljikovih hidratov, terpenoidov in karotenoidnih barvil (Roulston in Cane, 2000; Komosińska-Vassev in sod., 2015). Eksina močno ščiti notranjost pelodnega zrna, vendar je na nekaterih mestih tanjša. Tanjša mesta imenujemo kalitvene pore, ki vodijo do notranje pelodne stene, imenovane intina. Intina je sestavljena večinoma iz pektinskih snovi in celuloze ter predstavlja zadnjo pregrado pred vsebino citoplazme pelodnega zrna, ki je bogata s hranilnimi snovmi (Roulston in Cane, 2000).

Pelod nastaja v prašnikih semenskih rastlin. Zrna peloda (merijo od 2,5 do 250 μm) in se med seboj razlikujejo po velikosti, obliki, barvi in teži (Shubharani in sod., 2013). Zrna peloda so lahko suha ali lepljiva. Suh pelod imajo po navadi vetrocvetke, kot so npr. breza, hrast, trave itd., medtem ko lepljiv pelod izvira večinoma iz rastlin, ki jih oprahujejo žuželke, ptice ali druge živali (žužkocvetke) (Kessler in Harley, 2006). Čebele lahko nabirajo pelod na različnih rastlinah, večinoma pa je grudica cvetnega prahu sestavljena iz peloda ene rastline (Almeida-Muradian in sod., 2005; Bogdanov, 2012).

2.1.2 Kemijska sestava cvetnega prahu osmukanca

Preglednica 2: Sestava svežega večvrstnega cvetnega prahu osmukanca (Lilek, 2020)

Sestavine	Vsebnost (g/100 g) (MIN–MAKS)
Skupni ogljikovi hidrati	36,1–63,3
Izkoristljivi ogljikovi hidrati	24,2–48,4
Prehranska vlaknina	6,52–20,1
Beljakovine	11,8–22,7
Skupne aminokisljine	10,0–23,7
Maščobe	4,80–19,4
Pepel	1,18–3,60
Voda	11,8–34,9
Makroelementi	Vsebnost (mg/g) (MIN–MAKS)
Kalij (K)	4,41–10,5
Fosfor (P)	2,67–7,49
Žveplo (S)	1,26–3,13
Kalcij (Ca)	0,74–2,41
Klor (Cl)	0,38–1,74
Mikroelementi	Vsebnost ($\mu\text{g/g}$) (MIN–MAKS)

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV

DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Železo (Fe)	49,1–148
Mangan (Mn)	15,7–89,0
Cink (Zn)	12,3–47,0
Rubidij (Rb)	4,90–61,8
Brom (Br)	1,16–28,5
Stroncij (Sr)	0,65–3,47

MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost

Leta 2023 je bil objavljen ISO standard za cvetni prah (ISO 24382:2023), ki se uporablja za svež, sušen, zmrznjen in liofiliziran cvetni prah. Definira različne vste cvetnega prahu osmukanca – posušenega, zmrznjenega in liofiliziranega ter njihovo sestavo in kakovostne parametre, navaja tudi primerne metode za analizo. Vključuje tudi pogoje za shranjevanje, pakiranje, označevanje in transport cvetnega prahu. V Preglednici 3 je definirana sestava cvetnega prahu glede na način sušenja/obdelave.

Preglednica 3: Parametri sestave cvetnega prahu po ISO standardu (ISO, 2023)

Parameter	Vrednost	Vrsta cvetnega prahu		
		sušen	zmrznjen	liofiliziran
Vsebnost vode (%)	min.	2	brez definiranih	2
vakumsko sušenje	maks.	8	mejnih vrednosti	8
Vsebnost vode (%)	min.	5	brez definiranih	5
klasično sušenje	maks.	9	mejnih vrednosti	9
Vsebnost beljakovin (%)	min.	10	7,5	10
Vsebnost skupnih sladkorjev (%)	min.	15	12	15
Vsebnost maščob (%)	min.	1,3	1	1,3
Vrednost pH	min.	3,3	3,3	3,3
	maks.	6,3	6,3	6,3
Vsebnost pepela (%)	min.	1	0,7	1
gravimetrija				

Z ISO standardom so definirani tudi pogoji skladiščenja in transporta cvetnega prahu, od katerih je odvisna končna kakovost pridelka. Srednje in dolgoročno shranjen cvetni prah mora biti v temnem in hladnem prostoru med 2°C in 5 °C za sušen in liofiliziran cvetni prah. Zmrznjen cvetni prah mora biti hranjen na temperaturi manj kot -18°C. Rok uporabe ob upoštevanju zgornjih pogojev za shranjevanje za zmrznjen in liofiliziran cvetni prah je 24 mescev, za sušen cvetni prah pa 18 mescev. Transport zmrznjenega cvetnega prahu mora potekati z neprekinjeno temperaturno verigo od -22°C do -18°C, za transport sušenega cvetnega prahu se priporoča temperatura od 0°C do 10°C, v nobenem trenutku pa ne sme preseči 25°C. Ob transportu in hranjenju cvetni prah ne sme priti v stik s toksičnimi ali korozivnimi materiali, ter materiali, ki imajo močan vonj.

Cvetni prah osmukanec se razlikuje v kemijski sestavi glede na botanično poreklo, geografsko območje pridobivanja (Yang in sod., 2013), tip prsti, podnebje, čebelarsko prakso (Feás in sod., 2012) in čas pridobivanja. Cvetni prah osmukanec v večini sestavljajo ogljikovi hidrati

(sladkorji in prehranska vlaknina), beljakovine, maščobe, aminokisliline, maščobne kisline, fenolne spojine, encimi, vitamini in ostale bioaktivne spojine (Campos in sod., 2008; Campos in sod., 2010). Cvetni prah podobnih rastlinskih vrst vsebuje podobne vrednosti določenih aminokislin, pri cvetnem prahu različnih rastlinskih vrst pa se ta sestava razlikuje (Anjum in sod., 2024). Cvetni prah predstavlja funkcionalno hrano, številne študije pa proučujejo tudi njegovo terapevtsko delovanje (Khalifa in sod. 2021).

2.1.3 Botanično poreklo cvetnega prahu osmukanca

Pelodna analiza se s pridom uporablja pri določanju botaničnega porekla, geografskega porekla in kakovosti medu (Von der Ohe in sod., 2004). Za potrditev vrste medu je potrebna vsaj 45 % peloda določene botanične vrste. Poznane so tudi nekatere izjeme, pri katerih je vsebnost peloda v medu lahko tudi manjša od 45 % (npr. akacijev, lipov med) ali večja od 45 % (npr. kostanjev med) (Louveaux in sod., 1978).

Enovrsten cvetni prah mora vsebovati vsaj 80 % peloda določene botanične vrste, kar je od leta 2023 določeno tudi z ISO standardom (ISO, 2023), (Campos in sod., 2008).

ISO standard navaja tudi način priprave mikroskopskega preparata cvetnega prahu. 5 g zmlatega cvetnega prahu zmešamo z vodo v centrifugirki do oznake 30 ml. Z vorteksom mešamo zmes dokler ni popolnoma homogena, nato takoj odpipetiramo 400 µl suspenzije v novo centrifugirko, dopolnimo z destilirano vodo do oznake 1 ml in ponovno zmešamo z vorteksom. Del suspenzije takoj prenesemo na objektno steklo, ki ga segrevamo do 40 °C dokler tekočina ne izhlapi, nato dodamo želatino za pripravo preparata, pokrijemo s krovnim stekelcem in pustimo 1 uro, da se preparat posuši. Nato pregledamo preparat s svetlobnim mikroskopom ter preštejemo in določimo vsaj 600 pelodnih zrn (ISO, 2023).

2.1.4 Protimikrobno delovanje cvetnega prahu osmukanca

Cvetni prah osmukanec vsebuje veliko bioaktivnih spojin, predvsem fenolov. Deluje protimikrobno, kar je v današnjem času zaradi naraščanja števila bakterij, ki razvijajo odpornost na antibiotike, zelo pomembna lastnost cvetnega prahu kot živila. Na izvlečkih cvetnega prahu študije obravnavajo vzpodbudne rezultate protimikrobnega delovanja (Morais in sod., 2011) proti različnim bakterijam.

Protimikrobno delovanje cvetnega prahu je selektivno in ne škoduje nekaterim koristnim bakterijam. Cvetni prah, ki je izkazal dobro protimikrobno delovanje proti patogenim bakterijam ni imel vpliva na mlečnokislinske bakterije, ki so koristne za naš prebavni sistem (Rodríguez-Pólit in sod., 2023).

Koncentracija fenolnih spojin v cvetnem prahu ne določa protimikrobnega delovanja v celoti, saj je pomembna predvsem vrsta fenolnih spojin, prisotnih v ekstraktih cvetnega prahu (Carpes in sod., 2007). Poleg fenolov k protimikrobni aktivnosti cvetnega prahu pripomorejo še druge biološko aktivne snovi, kot so glukoza oksidaza, flavonoidi in drugi sekundarni metaboliti (Rodríguez-Pólit in sod., 2023). Na ekstraktih slovenskega cvetnega prahu je dokazano protimikrobno delovanje (proti *Escherichia coli* in *Campylobacter jejuni*), ki je v pozitivni povezavi z vsebnostjo skupnih fenolnih spojin v cvetnem prahu (Šimunović in sod., 2019). Čebelji pridelki kot so med, cvetni prah in propolis z veliko vsebnostjo fenolnih spojin kažejo na dobro protimikrobno aktivnost proti *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* in drugimi (Grange and Davey, 1990; Estevinho in sod., 2008; Mavri in sod., 2012). Protimikrobna aktivnost cvetnega prahu osmukanca še ni podrobneje raziskana, zaradi različnih metodoloških postopkov pa je primerjava rezultatov težavna (Šimunović in sod., 2019).

V aplikativni raziskavi karakterizacija čebeljih pridelkov med leti 2020-2022 so izvlečki cvetnega prahu bršljana izkazali dobro protimikrobno delovanje proti *S. aureus*. Štirje izmed devetih vzorcev regrata so izkazali dobro protimikrobno aktivnost proti *E. coli*. Pri sedmih izmed desetih vzorcev cvetnega prahu oljne ogrščice smo opazili zelo dobro protimikrobno aktivnost proti *L. monocytogenes*. Devet od desetih vzorcev cvetnega prahu oljne ogrščice ter trije izmed štirih vzorcev cvetnega prahu pravega kostanja pa so izkazali dobre protimikrobne lastnosti proti *C. jejuni* (Kandolf Borovšak in sod., 2022).

Rodríguez-Pólit in sod. v preglednem članku navajajo raziskavo, ki je pokazala dobro protimikrobno delovanje cvetnega prahu maka proti *Staphylococcus aureus*, cvetni prah oljne ogrščice in sončnice pa je izkazal dobro protimikrobno delovanje proti *Salmonella enterica*. Cvetni prah rastlin iz družin *Papaveraceae* (makovke), *Brassicaceae* (križnice) in *Asteraceae* (nebinovke) je pokazal dobro protimikrobno delovanje proti *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Listeria Monocytogens*, *Pseudomonas aeruginosa* in *Staphylococcus aureus*. Cvetni prah grantne jabolke (*Punica granatum*) in črnega hrasta (*Quercus ilex*) kaže dobro protimikrobno delovanje proti *Pseudomonas aeruginosa*, bakterija, ki sicer kaže dobro rezistenco na sintetične in naravne antibiotike. Navajajo tudi študijo v kateri so določili MIK ekstraktov cvetnega prahu za Gram-pozitivne bakterije (*Staphylococcus aureus* in druge bakterije) od 2,5 do 5 mg/ml, za Gram-negativne bakterije (*Salmonella Typhimurium* in druge bakterije) pa so določili vrednosti med 5 in 10 mg/ml (Rodríguez-Pólit in sod., 2023).

Cvetni prah rastlin iz rodov *Cistus* (brškin) in *Castanea* (kostanj) izkazuje boljše protimikrobno delovanje in vsebuje več fenolnih spojin kot cvetni prah rastlin iz rodu *Rubus* (robide) (Anjum in sod., 2024).

2.1.5 Antioksidativni potencial (aop) cvetnega prahu osmukanca

Cvetni prah osmukanec vsebuje fenolne spojine, v največji meri flavonoide, ki lahko delujejo kot potencialni antioksidanti in so specifični za posamezno rastlinsko vrsto (Campos in sod., 2008; Mărghitaş in sod., 2009; Li in sod. 2018), zato potekajo tudi številne raziskave, ki proučujejo vsebnost fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitost oz. antioksidativni potencial cvetnega prahu osmukanca (Almaraz-Abarca in sod., 2007; Leja in sod., 2007; LeBlanc in sod., 2009; Mărghitaş in sod., 2009; Carpes in sod., 2009; Morais in sod., 2011; Feás in sod., 2012; Pascoal in sod., 2014; De-Melo in sod., 2018).

Študije o antioksidativni učinkovitosti cvetnega prahu osmukanca kažejo na visoko sposobnost »lovljenja« oz. nevtralizacije prostih radikalov. Poleg flavonoidov, ki so prisotni predvsem kot glikozidi, se v cvetnem prahu rastlin nahajajo tudi derivati cimetne kisline (Leja in sod., 2007). LeBlanc in sod. (2009) poročajo, da ima cvetni prah rastlin, ki so bolj izpostavljene sončni svetlobi in UV žarkom, večjo antioksidativno učinkovitost.

Velika vsebnost flavonoidov ne pomeni vedno tudi visoke antioksidativne učinkovitosti v določenih botaničnih vrstah cvetnega prahu, kar ugotavljajo nekatere študije (Leja in sod., 2007; Mărghitaş in sod., 2009; Morais in sod., 2011). Almaraz-Abarca in sod. (2004) ugotavljajo, da ima vsebnost flavonoidov v cvetnem prahu velik vpliv na antioksidativno učinkovitost cvetnega prahu. Podobno ugotavljajo tudi Zuluaga in sod. (2015), saj naj bi v večini fenolne kisline in flavonoidi, ki rastlinam dajejo barvo in aromo, prispevali k AU cvetnega prahu.

Alimoglu in sod. (2021) so v raziskavi ugotovili, da večvrsten cvetni prah kaže večjo AU v primerjavi z enovrstnim. Martinello in Mutinelli (2021) opozarjata, da lahko čebelarji bistveno vplivajo na spremembo kemijske sestave cvetnega prahu in s tem na poslabšanje njegove AU, v procesu čiščenja, sušenja ali pakiranja, z namenom daljšanja roka uporabe. Veliko rezultatov o AU cvetnega prahu se zaradi uporabe različnih metod za določanje, med seboj ne more primerjati. Na tem področju je potrebno postaviti standardizirane metode za bolj učinkovito in primerljivo karakterizacijo tega čebeljega pridelka. (Martinello in Mutinelli, 2021).

Zaradi visoke AU cvetnega prahu proučujejo tudi njegove lastnosti kot naravni konzervansi za različna živila. Študije so pokazale pozitivne antioksidativne učinke pri dodajanju cvetnega prahu mesnim izdelkom (mleto goveje meso, perutnina, hrenovke), jogurtom in pijačam iz ječmenovega slada (Anjum in sod., 2024).

Raziskave so že pokazale, da pelod pravega kostanja vsebuje številne fenolne spojine, pelod rastlin *Cocos nucifera* (kokosova palma), *Miconia* spp. (miconia), *Mimosa diplotricha*, *Brassica napus* (oljna ogrščica), *Coriandrum sativum* (koriander), *Olea europea* (oljka) in *Ononis spinosa* (navadni gladež) pa je pokazal dobro antioksidativno učinkovitost (Rodríguez-Pólit in sod., 2023).

V aplikativni raziskavi Karakterizacija čebeljih pridelkov med leti 2020-2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022) smo pri vzorcih cvetnega prahu opazili velike razlike v vsebnosti fenolov in antioksidativni učinkovitosti. V povprečju so imeli vzorci cvetnega prahu pravega kostanja in oljne ogrščice največjo antioksidativno učinkovitost, najslabša pa je bila pri vzorcih cvetnega prahu regrata.

S primerjavo povprečne vsebnosti fenolov pri vzorcih cvetnega prahu iglavcev, bršljana, javorja, oljne ogrščice in kostanja, smo opazili, da ta narašča po naštetem vrstnem redu, hkrati pa narašča tudi antioksidativna učinkovitost. Izstopala je povprečna vsebnost fenolov v vzorcih cvetnega prahu regrata, ki je bila podobna kot pri vzorcih cvetnega prahu javorja, pri tem pa so imeli vzorci cvetnega prahu regrata bistveno slabšo antioksidativno učinkovitost. Iz tega smo sklepali, da velika vsebnost fenolnih spojin ne pomeni vedno tudi dobre antioksidativne učinkovitosti, kar potrjuje prej opisane ugotovitve (Kandolf Borovšak in sod., 2022).

2.1.6 Vsebnost elementov v cvetnem prahu osmukancu

Elementi so prisotni v živilih v obliki soli, delimo jih na elemente, ki so nujno potrebni za normalno delovanje organizma, in elemente, katerih delovanja ne poznamo in so lahko toksični. Cvetni prah osmukanec je lahko tudi vir elementov v prehrani ljudi (Morgano in sod., 2011). V cvetnem prahu osmukancu so prisotni različni elementi (Kostić in sod., 2015b), katerih količine so odvisne od botaničnega porekla, vrste prsti, geografskega porekla (Yang in sod., 2013).

Vsebnost elementov v cvetnem prahu osmukancu se velikokrat izrazi kot vsebnost pepela (Human in Nicolson, 2006; Yang in sod., 2013; Kostić in sod., 2015b). Somerville in Nicol (2002) navajata, da so najbolj zastopani elementi v cvetnem prahu osmukancu K, Ca, Mg, Na, P, S, Fe, Cu, Mn, Zn, Al, Cd, Cr, Pb, Ni, Se in ostali elementi v sledih. Vsebnost K v cvetnem prahu osmukancu je okoli 60 % celotne vsebnosti elementov, sledi Mg, ki predstavlja okoli 20 % celotne vsebnosti elementov ter Na in Ca, ki predstavljata okoli 10 % vseh elementov (Szcześna in Rybak-Chmielewska, 1998).

Raziskav, ki bi dale podatek o celotni elementni sestavi cvetnega prahu osmukanca, je malo. V primerih, ko se je določal širši spekter elementne sestave, je bilo ugotovljeno, da sta v cvetnem prahu osmukancu najbolj zastopana elementa P in K (Carpes in sod., 2009; Altunalmaz in sod., 2017). Tudi Matuszewska in sod. (2021) poročajo, da je v cvetnem prahu iz Poljske največ P, K, S, Ca in Mg. Valverde in sod. (2023) prav tako navajajo, da sta najbolj zastopana elementa v cvetnem prahu P in K (med 2,3 in 5,1 g/kg), po koncentracijah nato sledijo Ca, Mg in Na, v nobenem izmed 71 vzorcev niso zaznali kontaminacije s težkimi kovinami (Hg, Ni, Pb, Cd, Cr), glede na priporočene dnevne vnose elementov za človeka pa, da je cvetni prah bogat z elementi Cu, Fe, Mg, Mn in P.

Cvetni prah osmukanec ima ugodno razmerje med K in Na (5:1), zaradi česar ima lahko ugoden učinek na uravnavanje krvnega tlaka (Campos in sod., 2008). Razlike v elementni sestavi

cvetnega prahu osmukanca se pojavljajo zaradi biotske in geografske raznolikosti, kakor tudi zaradi razlik v rasti rastlin, kot je npr. tip prsti (Campos in sod., 2008; Carpes in sod., 2009; Yang in sod., 2013). Valverde in sod. (2023) so potrdili, da lahko glede na elementno sestavo ločimo lokacijo in čas pridobivanja cvetnega prahu. Serra-Bonvehí in Escolà-Jordà (1997) sta na podlagi analize cvetnega prahu osmukanca iz Španije ugotovila, da vsebuje več Zn in Fe v primerjavi z ostalimi čebeljimi pridelki. Raziskave kažejo, da so v cvetnem prahu prisotni različni elementi, ki pripomorejo tudi k pokrivanju priporočenih dnevnih vnosov po nekaterih za človeka esencialnih elementih (Lilek in sod., 2021).

Elementi v cvetnem prahu osmukancu lahko predstavljajo tudi karakteristične markerje za identifikacijo botaničnega porekla, služijo lahko tudi za spremljanje njegove kakovosti (Li in sod., 2018).

V aplikativni raziskavi Karakterizacija čebeljih pridelkov med leti 2020-2022 smo ugotovili, da vzorci slovenskega cvetnega prahu oljne ogrščice izstopajo po vsebnosti žvepla in kalcija. Vzorci cvetnega prahu regrata izstopajo po vsebnosti klora in broma. Vsi štiri analizirani vzorci cvetnega prahu kostanja pa so izstopali po vsebnosti železa, mangana in cinka, nadpovprečno so izstopali tudi po vsebnosti rubidija. Vzorci cvetnega prahu javorja so vsebovali povprečno največ kalija. Povprečno največ fosforja pa smo določili v vzorcih cvetnega prahu oljne ogrščice in javorja (Kandolf Borovšak in sod., 2022).

2.1.7 Senzorične lastnosti cvetnega prahu osmukanca

Senzorične lastnosti cvetnega prahu osmukanca so odvisne od botaničnega porekla. Barva cvetnega prahu osmukanca je pretežno rumena, oranžna, rumeno zelena ali rumeno rjava, lahko pa tudi drugih barvnih odtenkov, kar je odvisno od botaničnega porekla. Po videzu je cvetni prah osmukanec v obliki okroglih grudic različnih oblik in velikosti. Vonj cvetnega prahu osmukanca je tipičen za posamezno rastlinsko vrsto, na kateri je nabran cvetni prah. Specifičen je tudi okus, ki je lahko sladek, kisel, tudi grenek. Cvetni prah osmukanec mora imeti značilen vonj in aromo, ne sme biti fermentiran, plesniv, žarek in ne sme vsebovati nečistoč (Campos in sod., 2008.).

ISO standard za cvetni prah glede senzoričnih lastnosti navaja, da mora imeti cvetni prah ustrezno barvo, videz, vonj in okus, ki se razlikujejo glede na botanični izvor cvetnega prahu (ISO, 2023).

V aplikativni raziskavi Karakterizacija čebeljih pridelkov med leti 2020-2022 smo z metodo kvantitativne opisne senzorične analize ovrednotili senzorične lastnosti cvetnega prahu osmukanca različnega botaničnega porekla. Rezultati predstavljajo prve tovrstne podatke v Sloveniji, prav tako podatkov o senzoričnih lastnosti cvetnega prahu različnega botaničnega porekla v takem obsegu nismo zasledili v tuji literaturi. Za cvetni prah javorja, regrata in oljne ogrščice, kjer smo v celotnem obdobju projekta zbrali večje število vzorcev, smo na osnovi

rezultatov kvantitativne opisne analize oblikovali senzorične profile vonja in arome. Predlagani profili temeljijo na ovrednotenju intenzivnosti vonja in arome cvetnega prahu glede na sedem glavnih skupin vonjev in arome (cvetlična, sadna, topla, aromatična, rastlinska, kemijska, animalna), intenzivnosti osnovnih okusov in trpkosti (Kandolf Borovšak in sod., 2022).

2.2 MATERIAL IN METODE

2.2.1 Zbiranje vzorcev

V raziskavo smo vključili 20 vzorcev cvetnega prahu iz sedmih statističnih regij Slovenije. Glede na večinsko barvno zastopanost so bili vzorci cvetnega prahu prebrani in zbrani po prevladujoči barvi iz mešanice vzorca cvetnega prahu. Podatki o analiziranih vzorcih (oznaka, statistična regija, leto pridelave) so zbrani v Preglednici 4.

Zbranim vzorcem cvetnega prahu (Preglednica 4) smo določili botanično poreklo. Opravili smo analize določanja antioksidativne učinkovitosti in protimikrobnega delovanja pridobljenih vzorcev posameznih botaničnih vrst cvetnega prahu, določili vsebnost elementov ter izvedli senzorično analizo s strokovnim panelom. Pred izvedbo analiz smo vzorce homogenizirali z uporabo krogljčnega homogenizatorja.

Preglednica 4: Analizirani vzorci cvetnega prahu.

Zap. št.	Oznaka vzorca	Statistična regija	Leto pridelave
1	KCP1	pomurska	2023
2	KCP2	pomurska	2023
3	KCP3	savinjska	2024
4	KCP4	zasavska	2023
5	KCP5	osrednjeslovenska	2023
6	KCP6	savinjska	2023
7	KCP7	podravska	2023
8	KCP8	osrednjeslovenska	2023
9	KCP9	osrednjeslovenska	2023
10	KCP10	osrednjeslovenska	2023
11	KCP11	gorenjska	2023
12	KCP12	gorenjska	2023
13	KCP13	gorenjska	2024
14	KCP14	goriška	2024
15	KCP15	gorenjska	2024
16	KCP16	gorenjska	2024
17	KCP17	pomurska	2024
18	KCP18	savinjska	2024
19	KCP19	savinjska	2024
20	KCP20	pomurska	2023

2.2.2 Določanje botaničnega porekla (Piana in sod., 2006)

S svetlobnim mikroskopom smo pregledali mikroskopski preparat cvetnega prahu (Slika 1) in določili vrste peloda. Delež posamezne vrste peloda smo izrazili v odstotkih glede na skupno število zrn peloda.



Slika 1: Priprava mikroskopskih preparatov za botanično identifikacijo cvetnega prahu

2.2.3 Določanje protimikrobne aktivnosti

Po raztapljanju cvetnega prahu v 96 % etanolu smo vzorce posušili ter jim določili protimikrobno aktivnost z metodo razredčevanja v mikrotitrski plošči. Protimikrobna aktivnost je prikazana kot minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) posameznega vzorca v enotah mg/mL.

Testni mikroorganizmi so bili *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. coli* in *C. jejuni*.

Vzorci smo 27–32 ur sušili pri sobni temperaturi v vakuumski centrifugi. Posušene vzorce smo stehtali ter raztopili v topilu dimetilsulfoksid (100 % DMSO) do koncentracije 1000 mg/mL. Raztopljene vzorce smo v nadaljevanju razredčili v ustreznem gojišču do koncentracije 100 mg/mL.

Za določanje MIK pri bakterijah *S. aureus*, *L. monocytogenes* in *E. coli* smo uporabili tekoče gojišče Tryptic soy broth (TSB), pri *C. jejuni* pa Mueller Hinton broth (MHB).

Pripravljene vzorce s koncentracijo 100 mg/mL smo serijsko redčili v mikrotitrski ploščici tako, da smo po 50 μ L vzorca prenašali v 50 μ L gojišča. Tako smo pripravili dvakratne redčitve vzorca. V vsako posamezno luknjico smo po tem dodali po 50 μ L bakterijske kulture s koncentracijo 5×10^5 CFU/mL.

Vključili smo pozitivne kontrole rasti bakterij v gojišču ter v gojišču z dodanim topilom DMSO ter negativne kontrole, čisto gojišče in serijsko redčene vzorce brez dodane kulture. Vsa testiranja so narejena v treh tehničnih ponovitvah.

Pripravljene ploščice s kulturami *S. aureus*, *L. monocytogenes* in *E. coli* smo inkubirali pri 37 °C v aerobnih pogojih, s *C. jejuni* pa pri 42 °C v mikroaerofilnih pogojih 24 h. Po inkubaciji smo določili MIK z indikatorskimi barvili INT in Resazurin, kot najnižjo koncentracijo vzorca, ki še zavira rast bakterij.

2.2.4 Določanje antioksidativnega potenciala (AOP)

Skupne fenolne spojine in antioksidativnega potenciala (AOP) smo določili v izvlečkih iz cvetnega prahu, ki smo jih pripravili s pomočjo solventne ekstrakcije trdno/tekoče z uporabo topila 96 % (v/v) etanol. Pri tem smo k ustrezni zatehti cvetnega prahu dodali ekstrakcijsko topilo v razmerju 1 : 3 (masa cv. prahu (g) : volumen ekstr. topila (mL)). Ekstrakcija je potekala 6,5 ur na stresalniku v temi pri sobni temperaturi z vmesnim tretiranjem v ultrazvočni kopeli. Po ekstrakciji smo vzorce filtrirali in filtrat centrifugirali 10 min pri 4000 obr/min. Za vsak vzorec smo opravili ekstrakcijo v najmanj v treh ponovitvah in tako pridobili za vsak vzorec cvetnega prahu najmanj tri izvlečke. Ponovljivost ekstrakcije fenolnih spojin je bila v okviru 5 %.

Skupne fenolne spojine smo določili v vsakem posameznem izvlečku po Folin-Ciocalteu metodi, ki jo je opisal Gutfinger (1981). V reakciji Folin-Ciocalteu reagenta s fenolnimi spojinami nastane modro obarvan kompleks, ki smo ga določili spektrofotometrično z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 765 nm. Analizo smo za vsak izvleček opravili v najmanj v treh ponovitvah. Napaka določitve je manj kot 3 %. Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih cvetnega prahu smo izrazili v ekvivalentih galne kisline kot mg galne kisline (GK) na gram cvetnega prahu (mg GK/g). Rezultati za vsebnost fenolnih spojin so podani kot povprečna vrednost najmanj treh ponovljenih analiz vseh pripravljenih izvlečkov za posamezen vzorec cvetnega prahu ± standardni odklon.

AOP izvlečkov fenolnih spojin iz cvetnega prahu smo določili z metodo določitve sposobnosti lovljenja radikala 1,1'-difetil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) (Brand-Williams in sod., 1995). Določitev temelji na reakciji med radikalom in fenolnimi spojinami, kar beležimo kot znižanje absorbance pri valovni dolžini 517 nm. Analizo smo opravili v treh do petih ponovitvah. AOP smo izrazili kot koncentracijo fenolnih spojin v reakcijski zmesi, ki za 50 % zniža začetno vsebnost DPPH• (EC₅₀) (Preglednica). Večja vrednost EC₅₀ pomeni slabši AOP.

2.2.5 Določanje vsebnosti elementov (XRF) (Nečemer in sod., 2010)

Merili smo multielementni spekter oddane rentgenske fluorescenčne svetlobe pri vzbujanju trdega vzorca v obliki tablete z radioaktivnima viroma Fe-55 (25 mCi) in Cd-109 (10 mCi).

Aparatura in pribor:

- radioaktivna vira Fe-55 (25 mCi) in Cd-109 (10 mCi) (Eckert in Ziegler, ZDA),
- energijsko disperzijski rentgenski fluorescenčni spektrometer, ki temelji na visokoločljivostnem polprevodniškem detektorju (XR-100SDD, Amptek), digitalno pulznom procesorju (PX5, Amptek) in večkanalnem analizatorju DPPMCA (Amptek),
- vakuumška komora (Fe-55) za analizo lahkih elementov (P-CI).

Vzorci cvetnega prahu smo sušili 24 h na 60 °C (Slika 2) in jih nato v ahatni terilnici strli v fin prah. S hidravlično stiskalnico in modelom za tablete smo iz fino mletega, posušenega cvetnega prahu (~ 0,5–1 g) stisnili tablete in z XRF spektrometrom izmerili multielementni spekter. Elementna sestava vzorca je bila izračunana s programom QAES, ki je bil razvit na Institutu Jožef Stefan. Rezultati za posamezni element so podani v g/g vzorca.



Slika 2: Posušeni vzorci cvetnega prahu pred določanjem elementne sestave.

2.2.6 Senzorična analiza

Senzorično analizo cvetnega prahu osmukanca smo izvedli s štiričlanskim panelom šolanih senzoričnih preskuševalcev. Ker za opis senzoričnih lastnosti cvetnega prahu ni metode, smo za osnovo privzeli metodo kvantitativne opisne analize za med, harmonizirano s strani Mednarodne komisije za med (International Honey Commission, IHC), ki smo jo uporabili tudi za vrednotenje senzoričnih lastnosti vzorcev cvetnega prahu v okviru karakterizacije čebeljih pridelkov v letih 2020 do 2023 (skupno 80 vzorcev). Metoda temelji na vrednotenju intenzivnosti zaznanega vonja in arome na 10 centimetrski lestvici, ob uporabi standardnih opisnikov za vonj/aromo (cvetlična, sadna, topla, aromatična, rastlinska, kemijska, animalna) ter vrednotenju intenzivnosti osnovnih okusov (Marcazzan in sod., 2018). Dodatno smo

vključili tudi parameter trpkost (trigeminalna zaznava), ki je tudi značilna za cvetni prah osmukanec.

2.2.7 Statistična analiza

Podatke o vsebnosti elementov, antioksidativne učinkovitosti in protimikrobnega delovanja smo v primeru vzorcev cvetnega prahu osmukanca istega botaničnega porekla ($N > 1$) prikazali kot povprečja \pm standardni odklon (SD), določili smo tudi najmanjše (MIN) in največje (MAKS) vrednosti. Ostale vzorce ($N=1$) smo le komentirali. Podatke o elementni sestavi smo modelirali z multivariatno statistično metodo glavnih osi (PCA).




2.3 REZULTATI Z RAZPRAVO

2.3.1 Botanično poreklo cvetnega prahu osmukanca





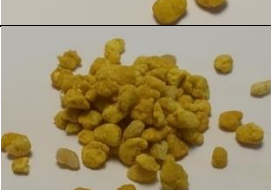




Vzorci cvetnega prahu osmukanca smo pred izvedbo analiz razvrstili po barvi cvetnega prahu, ki je bila najbolj zastopana v mešanici vzorca in določili botanično poreklo. Seznam vzorcev z določeno botanično vrsto cvetnega prahu je prikazan v Preglednici 5. V letošnjem letu prevladujejo vzorci pravega kostanja, skupno 5 vzorcev. Sledijo trije vzorci cvetnega prahu javorja, za katerega smo v preteklih letih že oblikovali senzorični profil, in trije vzorci cvetnega prahu črne detelje, ki se je v preteklosti že pojavljala v mešanih vzorcih cvetnega prahu. Cvetni prah družine črnobinovk (1 vzorec) smo vključili prvič. Zbrali smo dva vzorca hrasta in en mešan vzorec hrasta in malega jesena, kar je podobno kot v letu 2023. V letošnjem letu je vključen tudi vzorec cvetnega prahu rdečega dreva, ki smo ga analizirali že v letu 2023 (dva vzorca). Zbrali pa smo tudi vzorce cvetnega prahu regrata in oljne ogrščice, katere smo v preteklih letih že vključili v analizo v večjem številu in bomo tako razširili bazo podatkov.

Dva vzorca smo po botanični identifikaciji določili za mešana vzorca, čeprav so po izgledu bile grude cvetnega prahu dokaj homogene. To sta vzorca KCP15 (hrast 60 %, mali jesen 40 %) in vzorec KCP19 (nebinovke (tip T) – regrat 70 %, zlatičevke (tip *Ranunculus*) 15 %) (Preglednica 5).









Preglednica 5: Vzorci cvetnega prahu osmukanca z določenim botaničnim poreklom.

Oznaka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	Barva cvetnega prahu
KCP1	črna detelja <i>Trifolium pratense</i>	
KCP2	črna detelja <i>Trifolium pratense</i>	
KCP3	rdeči dren <i>Cornus sanguinea</i>	

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
 DELNO POROČILO ZA LETO 2024

KCP4	pravi kostanj <i>Castanea sativa</i>	
KCP5	črnobinovke <i>Scrophulariaceae</i>	
KCP6	pravi kostanj <i>Castanea sativa</i>	
KCP7	pravi kostanj <i>Castanea sativa</i>	
KCP8	pravi kostanj <i>Castanea sativa</i>	
KCP9	hrast <i>Quercus sp.</i>	
KCP10	pravi kostanj <i>Castanea sativa</i>	
KCP11	nebinovke (tip T) – regrat <i>Asteraceae (tip T) - Taraxacum spp.</i>	
KCP12	nebinovke (tip T) – regrat <i>Asteraceae (tip T) - Taraxacum spp.</i>	

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
 DELNO POROČILO ZA LETO 2024

KCP13	hrast <i>Quercus sp.</i>	
KCP14	javor <i>Acer spp.</i>	
KCP15	hrast, mali jesen <i>Quercus sp., Fraxinus ornus</i>	
KCP16	javor <i>Acer spp.</i>	
KCP17	črna detelja <i>Trifolium pratense</i>	
KCP18	javor <i>Acer spp.</i>	
KCP19	nebinovke (tip T) – regrat , zlatičevke (tip Ranunculus) <i>Asteraceae (tip T) - Taraxacum spp., Ranunculaceae (tip Ranunculus)</i>	
KCP20	oljna ogrščica <i>Brassica napus</i>	

2.3.2 Protimikrobna aktivnost v izvlečkih cvetnega prahu osmukanca

Protimikrobna aktivnost je določena v etanolnih izvlečkih, pripravljenih iz vzorcev cvetnega prahu, ter prikazana kot minimalna inhibitorna koncentracija izvlečka v enotah mg/mL. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIK), določena z metodo razredčevanja v mikrotitrski plošči, je definirana kot najnižja koncentracija, ki zavira rast testnega organizma.

Preglednica 6: Protimikrobna aktivnost izvlečkov cvetnega prahu različnega botaničnega porekla.

Oznaka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	MIK (mg/mL)			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>
KCP4	pravi kostanj (N = 5)	>50	50	>50	6,3
KCP6		>50	>50	>50	3,1
KCP7		>50	>50	50	0,8
KCP8		>50	>50	50	0,8
KCP10		>50	>50	>50	3,1
KCP14	javor (N = 3)	>50	50	12,5	6,3
KCP16		>50	>50	50	1,6
KCP18		>50	>50	50	3,2
KCP1	črna detelja (N = 3)	12,5	>50	25	1,6
KCP2		12,5	>50	12,5	1,6
KCP17		>50	>50	50	1,6
KCP11	regrat (N = 2)	>50	50	>50	50
KCP12		>50	>50	50	12,5
KCP9	hrast (N = 2)	25	50	12,5	3,1
KCP13		>50	>50	50	1,6
KCP20	oljna ogrščica (N = 1)	>50	>50	50	0,4
KCP3	rdeči dren (N = 1)	>50	50	>50	3,1
KCP5	črnobinovke (N = 1)	50	50	>50	6,3
KCP19	regrat in zlatičevke (N = 1)	>50	>50	50	1,6
KCP15	hrast in mali jesen (N = 1)	>50	50	>50	12,5

Dva vzorca cvetnega prahu črne detelje (KCP 1 in KCP 2) sta imela najboljše protimikrobno delovanje proti *S. aureus*. Dobro protimikrobno delovanje je imel v tem primeru tudi cvetni prah hrasta (KCP 9).

Letošnji vzorci niso izkazali dobrega protimikrobnega delovanja proti *E. coli*. 7 vzorcev je doseglo MIK 50 mg/ml, vsi različnega botaničnega porekla (KCP9, KCP5, KCP4, KCP14, KCP 11, KCP3, KCP15).

Najboljše protimikrobno delovanje proti *L. monocytogenes* so imeli vzorci cvetnega prahu hrasta (KCP9), javorja (KCP14) in črne detelje (KCP2). Dobro protimikrobno delovanje je v tem primeru imel tudi drug vzorec črne detelje (KCP1).

Najboljše protimikrobno delovanje proti *C. jejuni* je imel vzorec cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP20). Zelo dobro delovanje sta izkazala tudi vzorca cvetnega prahu pravega kostanja (KCP7 in KCP8). Najslabšo protimikrobno aktivnost je imel vzorec cvetnega prahu regrata (KCP11), vsem ostalim vzorcem je MIK bila določena in je znašala 12,5 mg/mL ali manj (Preglednica 6).

Zaradi manjšega števila protimikrobnih vrednosti brez natančne določitve (>50 mg/mL) statistični parametri niso smiselni. Naredili in komentirali jih bomo v končnem poročilu ob večjem številu vzorcev.

2.3.3 Antioksidativna učinkovitost (au) cvetnega prahu osmukanca

Preglednica 7: Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih cvetnega prahu izraženo kot mg galne kisline na gram cvetnega prahu (mg GK/g) in AOP izvlečkov izraženo kot koncentracija fenolnih spojin v reakcijski zmesi, ki za 50 % zniža začetno vsebnost radikala DPPH• (EC₅₀). Rezultati so podani kot povprečna vrednost najmanj treh ponovljenih analiz ± standardni odklon.

Oznaka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	Vsebnost skupnih fenolov [mgGK/g]		EC ₅₀ [mg/Lreakc.zm.]	
		povprečje	S.D.	povprečje	S.D.
KCP4	pravi kostanj (N = 5)	22,92	0,83	5,31	0,06
KCP6		21,64	0,09	5,94	0,09
KCP7		21,12	0,55	6,69	0,28
KCP8		23,15	0,38	6,05	0,1
KCP10		24,01	0,56	6,08	0,13
KCP14	javor (N = 3)	8,91	0,09	9,14	0,16
KCP16		11,84	0,19	9,36	0,24
KCP18		11,73	0,37	11,46	0,51
KCP1	črna detelja (N = 3)	2,57	0,13	6,09	0,37
KCP2		2,36	0,05	5,07	0,09
KCP17		4,35	0,07	4,76	0,02
KCP11	regrat (N = 2)	7,96	0,07	50,89	0,67
KCP12		9,41	0,14	54,54	1,12
KCP9	hrast (N = 2)	13,44	0,41	9,22	0,24
KCP13		14,01	0,24	6,98	0,04
KCP20	oljna ogrščica (N = 1)	16,62	0,51	6,29	0,15
KCP3	rdeči dren (N = 1)	9,24	0,21	6,65	0,1
KCP5	črnobinovke (N = 1)	7,51	0,04	5,35	0,08
KCP19	regrat in zlatičevke (N = 1)	10,2	0,41	28,52	0,52
KCP15	hrast in mali jesen (N = 1)	11,19	0,1	8,55	0,05

S.D.: standardni odklon;

Med vzorci so opazne razlike v vsebnosti fenolnih spojin in v AOP. Vrednosti za vsebnost skupnih fenolnih spojin za cvetni prah letnik 2024 so v območju od 2,4 mg GK/g za KCP2 do 24 mg GK/g za KCP10. Rezultati kažejo, da velja izpostaviti vzorce KCP4, KCP6, KCP7, KCP8 in KCP10 (vsi vzorci cvetnega prahu pravega kostanja), ki v primerjavi z ostalimi vzorci vsebujejo znatno več fenolnih spojin (v povprečju 23 mg GK/g). Vrednosti za EC₅₀ so v območju od 4,8 mg/L_{reakc.zm.} za KCP17 do 51 mg/L_{reakc.zm.} za KCP11 oziroma 55 mg/L_{reakc.zm.} za KCP12, ki sta pokazala znatno slabši AOP v primerjavi s preostalimi vzorci cvetnega prahu letnik 2024 (Preglednica 7).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Preglednica 8: Antioksidativna učinkovitost cvetnega prahu osmukanca pravega kostanja, javorja, črne detelje, regrata in hrasta.

Vrsta cvetnega prahu	Statistični parameter	Vsebnost skupnih fenolov [mgGK/g]	EC ₅₀ [mg/Lreakc.zm.]
pravi kostanj (N = 5)	MIN	21,12	5,31
	MAKS	24,01	6,69
	povprečje	22,57	6,01
	S.D.	1,17	0,49
javor (N = 3)	MIN	8,91	9,14
	MAKS	11,84	11,46
	povprečje	10,83	9,99
	S.D.	1,66	1,28
črna detelja (N = 3)	MIN	2,36	4,76
	MAKS	4,35	6,09
	povprečje	3,09	5,31
	S.D.	1,09	0,70
regrat (N = 2)	MIN	7,96	50,89
	MAKS	9,41	54,54
	povprečje	8,69	52,72
	S.D.	1,03	2,58
hrast (N = 2)	MIN	13,44	6,98
	MAKS	14,01	9,22
	povprečje	13,73	8,10
	S.D.	0,40	1,58

S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost

Najvišjo povprečno vsebnost skupnih fenolov imajo vzorci cvetnega prahu pravega kostanja (22,57 mgGK/g), najnižjo pa vzorci cvetnega prahu črne detelje (3,09 mgGK/g). Najvišji povprečni AOP imajo vzorci cvetnega prahu črne detelje in pravega kostanja (najnižji EC₅₀), bistveno najslabši AOP pa vzorci cvetnega prahu regrata (Preglednica 8).

2.3.4 Elementna sestava cvetnega prahu osmukanca

Cvetni prah osmukanec je vir nekaterih elementov, ki so potrebni za normalno delovanje človeškega organizma. V Preglednici 9 so predstavljeni rezultati vsebnosti makroelementov (K, P, S Ca, Cl) v Preglednici 11 pa rezultati vsebnosti mikroelementov (Fe, Mn, Zn, Rb, Br in Sr) v cvetnem prahu osmukancu različnega botaničnega porekla. Preglednici 10 in 12 prikazujeta razlike v vsebnosti makro in mikroelementov med vzorci cvetnega prahu pravega kostanja, javorja, črne detelje, regrata in hrasta ($N \geq 2$).

Preglednica 9: Vsebnost makroelementov v cvetnem prahu osmukancu različnega botaničnega porekla.

Oznaka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	K	P	S	Ca	Cl
		(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
KCP4	pravi kostanj (N = 5)	6,15	3,81	1,88	1,22	0,213
KCP6		7,33	3,11	1,93	1,23	0,116
KCP7		6,24	3,56	1,83	1,95	0,294
KCP8		6,01	3,1	1,94	1,17	0,224
KCP10		6,58	3,14	1,84	1,28	0,192
KCP14	javor (N = 3)	7,28	5,08	2,46	1,24	0,339
KCP16		7,03	5,85	2,4	1,43	0,528
KCP18		7,4	5,28	2,49	1,19	0,438
KCP1	črna detelja (N = 3)	9,02	5,3	2,13	1,32	1,45
KCP2		9,07	5,58	2,01	1,41	1,36
KCP17		8,08	6,27	2,23	1,34	1,29
KCP11	regrat (N = 2)	2,78	1,98	1,57	1,24	1,85
KCP12		3,06	2,15	1,44	1,31	1,71
KCP9	hrast (N = 2)	7,03	4,43	1,56	0,877	0,531
KCP13		6,26	5,07	1,74	0,518	0,311
KCP20	oljna ogrščica (N = 1)	5,76	5,44	2,69	2,22	0,382
KCP3	rdeči dren (N = 1)	6,59	5,4	1,59	1,97	0,22
KCP5	črnobinovke (N = 1)	7,18	6,38	1,43	1,81	0,177
KCP19	regrat in zlatičevke (N = 1)	3,99	1,92	1,38	1,17	1,41
KCP15	hrast in mali jesen (N = 1)	5,81	4,34	1,85	0,842	0,389

Največ K vsebujejo vsi trije vzorci cvetnega prahu črne detelje (KCP1, KCP2 in KCP17). Največ P vsebuje vzorca cvetnega prahu črnobinovk (KCP5) in črne detelje (KCP17). Največ S vsebuje vzorec cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP20). in vsi trije vzorci javorja (KCP18, KCP14 in KCP16). Največ Ca vsebuje vzorec cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP20). Največ Cl vsebuje vzorca cvetnega prahu regrata (KCP11 in KCP12) (Preglednica 9).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Preglednica 10: Vsebnost makroelementov v cvetnem prahu osmukancu pravega kostanja, javorja, črne detelje, regrata in hrasta.

Vrsta cvetnega prahu	Statistični parameter	K	P	S	Ca	Cl
		(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)	(mg/g)
pravi kostanj (N = 5)	MIN	6,01	3,10	1,83	1,17	0,12
	MAKS	7,33	3,81	1,94	1,95	0,29
	povprečje	6,46	3,34	1,88	1,37	0,21
	S.D.	0,53	0,32	0,05	0,33	0,06
javor (N = 3)	MIN	7,03	5,08	2,40	1,19	0,34
	MAKS	7,40	5,85	2,49	1,43	0,53
	povprečje	7,24	5,40	2,45	1,29	0,44
	S.D.	0,19	0,40	0,05	0,13	0,09
črna detelja (N = 3)	MIN	8,08	5,30	2,01	1,32	1,29
	MAKS	9,07	6,27	2,23	1,41	1,45
	povprečje	8,72	5,72	2,12	1,36	1,37
	S.D.	0,56	0,50	0,11	0,05	0,08
regrat (N = 2)	MIN	2,78	1,98	1,44	1,24	1,71
	MAKS	3,06	2,15	1,57	1,31	1,85
	povprečje	2,92	2,07	1,51	1,28	1,78
	S.D.	0,20	0,12	0,09	0,05	0,10
hrast (N = 2)	MIN	6,26	4,43	1,56	0,52	0,31
	MAKS	7,03	5,07	1,74	0,88	0,53
	povprečje	6,65	4,75	1,65	0,70	0,42
	S.D.	0,54	0,45	0,13	0,25	0,16

S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost

V povprečju je cvetni prah črne detelje vseboval največ K in P. Največ S je v povprečju vseboval cvetni prah javorja. Povprečne vrednosti Ca se med različnim cvetnim prahom razlikujejo zgolj minimalno (od 1,28 mg/g do 1,37 mg/g), izstopa cvetni prah hrasta, ki ga vsebuje samo 0,7 mg/g. Po povprečni vsebnosti Cl izstopa cvetni prah regrata (1,78 mg/g), višjo vrednost vsebuje še cvetni prah črne detelje (1,37 mg/g).

V cvetnem prahu osmukancu so prisotni tudi mikroelementi. Nekateri izmed njih so pomembni za normalno delovanje človeškega organizma in zanje obstajajo priporočeni dnevni vnosi ali ocenjene vrednosti za priporočen dnevni vnos.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Največjo vsebnost Fe imata vzorca cvetnega prahu črne detelje (KCP2 in KCP1) Visoke vrednosti imajo tudi vsi vzorci cvetnega prahu pravega kostanja, ki vsebujejo tudi največ Mn. Najvišje vsebnosti Zn imajo vsi trije vzorci cvetnega prahu črne detelje. Najvišjo vsebnost Rb ima vzorec cvetnega prahu hrasta (KCP13). Bistveno najvišjo vsebnost Br imata oba vzorca cvetnega prahu regrata in mešan vzorec cvetnega prahu regrata in zlatičevk (KCP19). Največ Sr vsebuje vzorec cvetnega prahu pravega kostanja (KCP7) (Preglednica 11).

Preglednica 11: Vsebnost mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu različnega botaničnega porekla.

Oznaka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	Fe (µg/g)	Mn (µg/g)	Zn (µg/g)	Rb (µg/g)	Br (µg/g)	Sr (µg/g)
KCP4	pravi kostanj (N = 5)	208	126	61,2	18	1,26	0,803
KCP6		205	138	69,1	25,5	0,736	0,956
KCP7		209	53,9	63,3	17,1	1,67	3
KCP8		222	117	71,6	23,6	1,13	1,3
KCP10		215	119	72,7	27	1,24	0,613
KCP14	javor (N = 3)	156	47,7	53,3	9,58	0,918	0,989
KCP16		158	34,5	48,7	11,5	1,08	0,79
KCP18		149	45,1	53,1	13	1,52	1,15
KCP1	črna detelja (N = 3)	226	31,5	99,4	5,46	2,34	1
KCP2		262	39,7	108	6,57	2,65	1,29
KCP17		200	40,5	85,9	7,65	3,46	2,26
KCP11	regrat (N = 2)	81,4	11,3	23,4	12,1	6,04	0,379
KCP12		91,7	8,62	26,5	17,3	7,37	0,64
KCP9	hrast (N = 2)	142	92,3	53,4	26,1	1,95	0,566
KCP13		192	51,8	56,4	33	1,07	0,746
KCP20	oljna ogrščica (N = 1)	112	25,3	30,9	8,11	0,572	1,08
KCP3	rdeči dren (N = 1)	125	19,2	43,1	13,8	2,2	1,36
KCP5	črnobinovke (N = 1)	114	15,9	36,4	5,82	0,758	0,909
KCP19	regrat in zlatičevke (N = 1)	89,5	25,3	28,6	8,1	6,2	0,67
KCP15	hrast in mali jesen (N = 1)	141	45,8	49,8	16,5	0,688	0,635

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

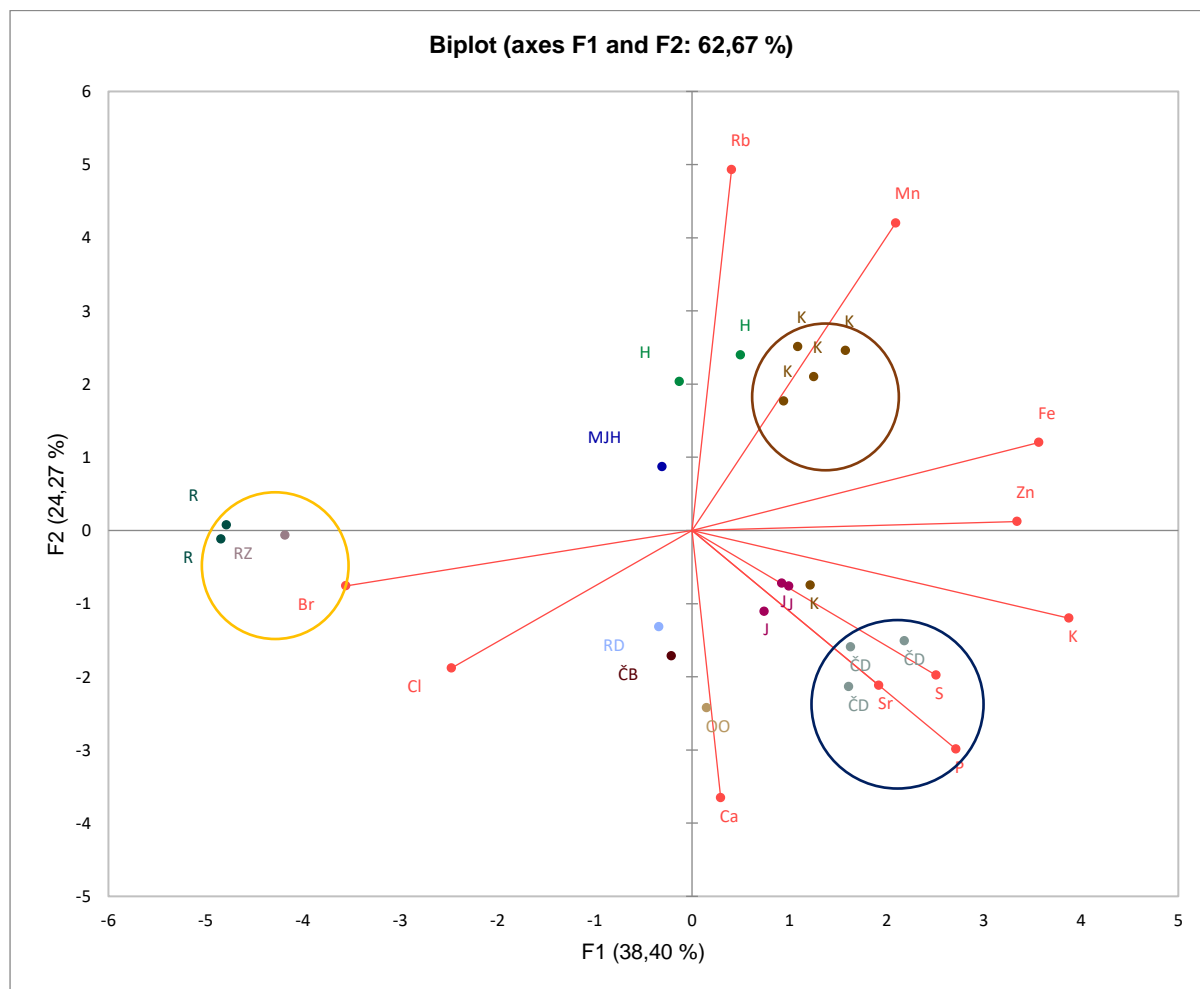
Preglednica 12: Vsebnost mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu pravega kostanja, javorja, črne detelje, regrata in hrasta.

Oznaka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	Fe (µg/g)	Mn (µg/g)	Zn (µg/g)	Rb (µg/g)	Br (µg/g)	Sr (µg/g)
pravi kostanj (N = 5)	MIN	205,0	53,9	61,2	17,1	0,7	0,6
	MAKS	222,0	138,0	72,7	27,0	1,7	3,0
	povprečje	211,8	110,8	67,6	22,2	1,2	1,3
	S.D.	6,8	32,8	5,1	4,5	0,3	1,0
javor (N = 3)	MIN	149,0	34,5	48,7	9,6	0,9	0,8
	MAKS	158,0	47,7	53,3	13,0	1,5	1,2
	povprečje	154,3	42,4	51,7	11,4	1,2	1,0
	S.D.	4,7	7,0	2,6	1,7	0,3	0,2
črna detelja (N = 3)	MIN	200,0	31,5	85,9	5,5	2,3	1,0
	MAKS	262,0	40,5	108,0	7,7	3,5	2,3
	povprečje	229,3	37,2	97,8	6,6	2,8	1,5
	S.D.	31,1	5,0	11,1	1,1	0,6	0,7
regrat (N = 2)	MIN	81,4	8,6	23,4	12,1	6,0	0,4
	MAKS	91,7	11,3	26,5	17,3	7,4	0,6
	povprečje	86,6	10,0	25,0	14,7	6,7	0,5
	S.D.	7,3	1,9	2,2	3,7	0,9	0,2
hrast (N = 2)	MIN	142,0	51,8	53,4	26,1	1,1	0,6
	MAKS	192,0	92,3	56,4	33,0	2,0	0,7
	povprečje	167,0	72,1	54,9	29,6	1,5	0,7
	S.D.	35,4	28,6	2,1	4,9	0,6	0,1

S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost

Iz Preglednice 12 je razvidno, da imata cvetni prah črne detelje in pravega kostanja povprečno največ Fe. Cvetni prah pravega kostanja ima povprečno največ Mn. Cvetni prah črne detelje ima tudi povprečno največ Zn. Povprečno največ Rb vsebuje cvetni prah hrasta. Bistveno največ Br vsebuje cvetni prah regrata. Povprečno največ Sr pa vsebujeta cvetni prah črne detelje in pravega kostanja (Preglednica 12).

Rezultate analiz elementne sestave smo modelirali z multivariatno statistično metodo glavnih osi PCA. Z uporabo metode PCA smo s prvo osjo pojasnili 38,40 %, z drugo pa 24,27 % variabilnosti podatkov, kar skupaj predstavlja 62,67 % variabilnosti osnovnih podatkov (Slika 3).



Slika 3: Porazdelitev in povezava vektorjev elementov glede na botanično poreklo cvetnega prahu osmukan-ca. Legenda: K-pravi kostanj, OO-oljna ogrščica, R-regrat, RD-rdeči dren, MJH-mali jesen in hrast, J-javor, A-ajda, H-hrast, ČD-črna detelje, RZ- regrat in zlatičevke, ČB-črnobinovke

Iz PCA grafa razberemo tri skupine grupiranih vzorcev. Skrajno levo so vzorci cvetnega prahu regrata, ki izstopajo po vsebnosti Br in Cl. V zgornjem desnem kvadrantu so vzorci cvetnega prahu kostanja, ki izstopajo po vrednostih Mn in Rb. V desnem spodnjem kvadrantu pa so vzorci cvetnega prahu črne detelje, ki izstopajo po vrednostih S, Sr, P in K. Vzorci bližje sredini grafa posebnosti ne izkazujejo, pri vzorcih s samo enim predstavnikom botanične vrste do zaključkov ne moremo, morda se bodo izrazile kakšne posebnosti prihodnje leto ob končnem poročilu, ko bomo združili podatke preteklih let (Slika 3).

2.3.5 Senzorična analiza cvetnega prahu osmukanca

Z metodo kvantitativne opisne senzorične analize smo ovrednotili 20 vzorcev cvetnega prahu različnega botaničnega prekla. Število vzorcev posamezne vrste je razvidno iz preglednice 13.

Vzorci cvetnega prahu smo pred pričetkom senzorične analize razdelili v skupine glede na botanični izvor cvetnega prahu. Barva cvetnega prahu je zelo pestra in se razlikuje med različnimi vrstami cvetnega prahu. Cvetni prah pravega kostanja je rumeno rjava barve, cvetni prah regrata pa oranžne barve, kar smo določili že v preteklih letih. Od letos zbranih vzorcev cvetnega prahu je najtemnejši cvetni prah črne detelje, kjer sta bila dva vzorca te vrste rjave barve, en vzorec pa je bil temno sivo rjav. Vzorec cvetnega prahu oljne ogrščice je bil rumene barve, barva vzorcev cvetnega prahu drugih botaničnih vrst, vključenih v programsko leto 2024 (javor, hrast, rdeči dren, črnobinovke), pa variira od različnih odtenkov rumene in rjave barve (Preglednica 13 in Slika 4).

Preglednica 13: Barva vzorcev cvetnega prahu

Oznaka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	Barva
KCP4	pravi kostanj (N = 5)	rumeno rjava
KCP6		rumeno rjava
KCP7		rumeno rjava
KCP8		rumeno rjava
KCP10		rumeno rjava
KCP14	javor (N = 3)	svetlo rjava
KCP16		svetlo rjava
KCP18		rjavo rumena
KCP1	črna detelja (N = 3)	rjava
KCP2		rjava
KCP17		temno sivo rjava
KCP11	regrat (N = 2)	oranžna
KCP12		oranžna
KCP9	hrast (N = 2)	rumeno rjava
KCP13		rumeno rjava
KCP20	oljna ogrščica (N = 1)	rumena
KCP3	rdeči dren (N = 1)	svetlo rjava
KCP5	črnobinovke (N = 1)	rumeno rjava
KCP19	regrat in zlatičevke (N = 1)	oranžna
KCP15	hrast in mali jesen (N = 1)	rumeno rjava



Slika 4: Barvna pestrost cvetnega prahu osmukanca (vzorci KCP1 – KCP20)

V Preglednici 14 so podani rezultati kvantitativne opisne analize za analizirane vzorce cvetnega prahu. Intenzivnost vonja in arome ter posameznih parametrov arome, štirih okusov in trigeminalne zaznave trpkosti smo vrednotili na 10 centimetrski lestvici. Vrednosti so podane kot povprečje ocen štirih preskuševalcev. Povprečna intenzivnost skupnega vonja in arome ocenjenih vzorcev cvetnega prahu je znašala od 3,9 do 5,6. Izstopal je vzorec cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP20) z največjo intenzivnostjo (5,6 na 10-cm lestvici), sledi mu vzorec cvetnega prahu rdečega dreva (KCP3) s povprečno oceno 5,4. Najmanjšo intenzivnost skupnega vonja/arome smo določili v enem od vzorcev pravega kostanja in črne detelje.

Pričakovano so se vzorci cvetnega prahu razlikovali v prisotnosti in intenzivnosti posameznih parametrov arome, npr. sadna, cvetlična, rastlinska, kemijska, animalna aroma, kar je razvidno iz Preglednice 14. Cvetlična, sadna, topla in kemijska aroma so bile v večini vzorcev cvetnega prahu le šibko izražene. Že prej omenjeni vzorec cvetnega prahu oljne ogrščice je imel najbolj intenzivno izraženo animalno aromo, povprečna vrednost je znašala 4,2, medtem ko je v ostalih vzorcih cvetnega prahu povprečna intenzivnost animalne arome variirala od skoraj nezaznavne (0,2 v vzorcu cvetnega prahu hrasta) do 2,4 (vzorec cvetnega prahu javorja) na 10 cm lestvici. Animalna aroma je karakteristična tudi za oljno ogrščico in med oljne ogrščice, smo pa v vzorcu cvetnega prahu oljne ogrščice zaznali tudi izrazito neprijetno noto po zatohlem in po stari, oksidirani maščobi. Rastlinska aroma je bila najmočnejše izražena v vseh treh vzorcih cvetnega prahu javorja, povprečna vrednost je znašala 3,5. V ostalih vzorcih cvetnega prahu različnega botaničnega porekla pa je rastlinska aroma variirala od 1,1 (vzorec cvetnega prahu regrata) do 3,1 (vzorec cvetnega prahu črne detelje).

Med okusi je bil na splošno najbolj intenzivno zaznaven sladek okus, območje vrednosti je znašalo od 2,0 do 3,9, najbolj je bil sladek okus izražen pri vzorcih cvetnega prahu regrata, hrasta in oljne ogrščice ter v enem od vzorcev cvetnega prahu javorja. Pri posameznih vzorcih je izražen tudi kisel in grenek okus, kar smo ugotovili tudi v okviru karakterizacije čebeljih pridelkov v preteklih letih, od 2020 do 2023. Najbolj kisel je bil vzorec cvetnega prahu črne

detelje s povprečno intenzivnostjo 3,7, v ostalih vzorcih je kisel okus dosegal vrednosti od praktično nezaznavnega (0,1 pri vzorcu cvetnega prahu rdečega dreva) do 2,9 pri enem od vzorcev cvetnega prahu kostanja. Najbolj intenzivno grenka sta bila vzorca cvetnega prahu črnobinovk in rdečega dreva, z intenzivnostjo 4,7 oz. 4,9 na 10 cm lestvici. Podobno smo v programskem letu 2023 izrazito grenek okus določili v dveh vzorcih cvetnega prahu rdečega dreva (Debelak in sod., 2023). Slanega okusa v analiziranih vzorcih cvetnega prahu tudi v letošnjem letu nismo zaznali oz. je bila zaznana intenzivnost v enem od vzorcev cvetnega prahu črne detelje minimalna, znašala je 0,1. Trpkost je bila komaj zaznavna ali šibko izražena, vrednosti so bile v območju od 0,6 do 2,7 (Preglednica 14), kar je primerljivo s predhodnimi rezultati (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023).

Število vzorcev cvetnega prahu posamezne vrste zaenkrat še ne omogoča ovrednotenja senzoričnih profilov, ki jih bomo za celotno obdobje karakterizacije (2023-2025) pripravili v končnem poročilu za vzorce, kjer bo skupno število posamezne vrste cvetnega prahu v treh letih vsaj 8. V primeru cvetnega prahu javorja in regrata, kjer smo v letošnjem letu analizirali 3 oz. 2 vzorca, so senzorične lastnosti primerljive z vzorci te vrste cvetnega prahu iz obdobja 2020 do 2022, ko je bilo v oblikovanje senzoričnega profila cvetnega prahu javorja vključenih 18 vzorcev, v oblikovanje senzoričnega profila cvetnega prahu regrata pa 9 vzorcev (Kandolf Borovšak in sod., 2022).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Preglednica 14: Rezultati senzorične analize vzorcev cvetnega prahu.

Vrsta cvetnega prahu	Oznaka vzorca	Skupni vonj/aroma	Aroma							Okus				Trpkost
			cvetlična	sadna	topla	aromatična	rastlinska	kemijska	animalna	sladek	kisel	grenek	slan	
pravi kostanj (N = 5)	KCP4	4,9	1,3	0,7	2,0	0,7	1,3	1,5	0,5	3,2	0,3	1,9	0,0	1,3
	KCP6	4,5	1,6	1,6	3,2	1,4	1,5	1,0	0,5	3,6	0,8	0,9	0,0	1,0
	KCP7	4,7	1,7	1,5	2,7	1,2	2,3	1,1	1,2	3,1	0,6	1,0	0,0	1,0
	KCP8	4,5	1,6	1,2	1,7	1,3	2,0	1,5	0,8	2,9	0,3	2,3	0,0	1,6
	KCP10	3,9	1,2	2,1	1,1	1,4	1,3	1,4	1,7	3,2	2,9	0,7	0,0	1,5
javor (N = 3)	KCP14	4,9	0,9	1,7	1,1	1,5	3,9	0,7	0,3	3,7	1,0	0,6	0,0	1,1
	KCP16	4,5	0,9	1,2	1,4	1,3	3,2	1,3	2,4	2,6	0,6	2,2	0,0	1,1
	KCP18	4,6	0,9	1,1	1,4	1,2	3,5	1,4	0,9	2,6	0,8	3,9	0,0	2,0
črna detelja (N = 3)	KCP1	3,9	1,7	1,3	0,8	1,5	1,8	1,3	0,8	2,4	3,7	0,5	0,1	1,6
	KCP2	4,5	1,5	1,3	1,1	0,9	2,7	1,9	0,5	2,4	2,4	1,7	0,0	1,7
	KCP17	4,0	1,2	0,7	1,5	1,1	3,1	1,2	0,7	2,0	0,6	1,0	0,0	1,1
regrat (N = 2)	KCP11	4,7	2,6	3,0	1,7	1,3	1,1	0,7	0,5	3,9	1,6	0,7	0,0	1,2
	KCP12	4,8	1,6	2,7	1,9	0,7	1,6	1,1	1,9	3,8	0,8	2,2	0,0	1,5
hrast (N = 2)	KCP9	4,6	2,1	2,9	1,7	1,2	1,8	0,8	0,2	3,9	1,5	0,5	0,0	0,6
	KCP13	4,4	1,3	1,8	1,5	0,9	2,1	1,0	1,3	3,3	0,6	0,5	0,0	0,9
oljna ogrščica (N = 1)	KCP20	5,6	0,9	1,1	0,8	0,9	2,1	1,1	4,2	3,7	1,9	0,8	0,0	1,6
rdeči dren (N = 1)	KCP3	5,4	1,1	2,4	1,0	0,8	1,4	2,0	0,7	2,2	0,1	4,9	0,0	2,7
črnobinovke (N = 1)	KCP5	5,0	1,9	1,6	1,3	1,3	2,9	1,5	0,5	2,7	0,4	4,7	0,0	2,1
regrat in zlatičevke (N = 1)	KCP19	4,4	1,9	1,6	1,5	1,1	2,4	0,7	0,8	3,4	0,6	0,8	0,0	1,1
hrast in mali jesen (N = 1)	KCP15	4,7	1,4	1,0	1,3	1,0	2,1	1,7	1,0	3,8	0,4	0,9	0,0	0,9

2.4 ZAKLJUČEK

Cvetni prah osmukanec je čebelji pridelek, ki ima ugodno hranilno vrednost za človeka. Vsebuje beljakovine, ogljikove hidrate, maščobe, aminokisljine, elemente in druge bioaktivne spojine, zaradi česar postaja vse bolj prepoznaven in uporaben v vsakdanji prehrani ljudi. Raziskovanje njegovih funkcionalnih lastnosti in vplivov na dobro počutje ljudi in celo odpravljanje nekaterih zdravstvenih težav temu čebeljemu pridelku pripisuje pomen funkcionalnega živila. Surovino za izdelavo grudice cvetnega prahu čebele nabirajo na rastlinah, in sicer na njihovih prašnikih, ki vsebujejo številna zrnca peloda. Ob obisku cveta se drobna zrnca peloda oprimejo dlačic na telesu čebele. Čebela se med letenjem očisti in s svojo slino in nektarjem iz mednega želodčka oblikuje grudici cvetnega prahu, ki ju spravi v posebni strukturi, ki se nahajata na njenih zadnjih dveh nogicah. Takšni grudici cvetnega prahu predstavljata za čebele edini naravni vir beljakovin. Grudici cvetnega prahu čebele odnesejo v panj, kjer ju shranijo v celicah satja ter uporabijo za lastno prehrano. Za pridobivanje cvetnega prahu, ki ga naberejo čebele, se uporabljajo naprave, imenovane osmukalniki, ki se namestijo na žrelo čebeljega panja. Pri prehodu skozi osmukalnik, ki vsebuje drobne odprtine, se čebelam grudice cvetnega prahu na nogicah osmukajo in padejo v zbirni predalček. Na takšen način pridobimo cvetni prah osmukanec namenjen prehrani ljudi.

Čebele skoraj nikoli cvetnega prahu ne nabirajo samo na eni rastlini, zato je običajno dnevni pridelek mešanica cvetnega prahu osmukanca različnega botaničnega porekla. Takšen je s stališča prehranskih potreb za čebele tudi najustrežnejši, saj raznovrstnost botaničnih vrst pripomore k zagotovitvi vseh potrebnih esencialnih snovi, ki jih čebele potrebujejo za svoje življenje. Za uporabo cvetnega prahu osmukanca v prehranske in terapevtske namene je pomembno poznavanje sestave in funkcionalnih lastnosti cvetnega prahu osmukanca določenega botaničnega porekla. Le na takšen način lahko vključujemo v prehrano posameznika cvetni prah osmukanec, ki ustreza njegovim prehranskim potrebam.

Karakterizacije slovenskega cvetnega prahu preteklih let je pokazala pestrost tega čebeljega pridelka, saj se rezultati med cvetnim prahom različnega botaničnega porekla precej razlikujejo. Nekatere skupine vzorcev enakega botaničnega porekla pa že nakazujejo na določene značilnosti pri preiskovanih parametrih. Nekaj ugotovitev navajamo v nadaljevanju, sicer pa bomo ob koncu programskega obdobja pripravili končno poročilo, kjer bomo vse podatke združili in primerjali.

Protimikrobno delovanje se pri posameznih vzorcih cvetnega prahu precej razlikuje. Zaradi številnih nedoločenih vrednosti minimalne inhibitorne koncentracije ne moramo izračunati povprečij na podlagi katerih bi lažje naredili primerjavo. V letošnjem letu sta najboljšo protimikrobno delovanje kazala vzorca cvetnega prahu črne detelje (KCP1 in KCP2), določene so bile nizke vrednosti MIK za *S. aureus*, *L. monocytogens* in *C. jejuni*, za *E.coli* pa je

koncentracija >50 mg/ml. Vzorec cvetnega prahu hrasta (KCP9) je letošnji edini vzorec, kateremu smo določili MIK za vse štiri preiskovane bakterije.

AOP je tema različnih študij. Živila, bogata z antioksidanti, pa dobivajo vse večji pomen v vsakodnevni prehrani. Antioksidanti so kemijske snovi, ki stabilizirajo proste radikale v našem telesu in s tem preprečijo neželene kemijske reakcije, ki lahko poškodujejo naše celice. Poznavanje AOP različnih botaničnih vrst cvetnega prahu bo pripomoglo k lažjemu odločanju posameznika za vključevanje cvetnega prahu določenega botaničnega porekla v svojo prehrano, obenem pa omogočilo možnost načrtovanega pridobivanja določenih botaničnih vrst s pomočjo prebiranja cvetnega prahu. V letošnjem letu smo potrdili dobro AOP kostanjevega cvetnega prahu, podobno kot v preteklih letih, je vseh 5 vzorcev izstopalo po visoki vsebnosti skupnih fenolov in po nizkem EC₅₀.

Cvetni prah osmukanec ima tudi pestro elementno sestavo. V manjših količinah so elementi nujni tudi v prehrani ljudi, zaradi česar bi poznavanje elementne sestave cvetnega prahu vplivalo k večjemu vključevanju tega živila v prehrano posameznikov s specifičnimi potrebami po posameznem elementu. Določanje elementne sestave predstavlja tudi možnost določanja geografskega porekla cvetnega prahu in določitev izstopajočih elementov, značilnih za določeno botanično vrsto cvetnega prahu. Na podlagi naših rezultatov raziskav elementne sestave cvetnega prahu se kažejo nekateri izstopajoči elementi, značilni za določeno botanično vrsto cvetnega prahu. Potrdili smo ugotovitve raziskave iz prejšnjega programskega obdobja, da cvetni prah regrata bistveno izstopa po vsebnosti Br in Cl, cvetni prah kostanja pa po vsebnosti Mn, in Rb. V letošnjem letu smo imeli tudi tri vzorce cvetnega prahu črne detelje, ki izstopajo po vrednostih S, Sr, P in K.

Vzorci cvetnega prahu različnega botaničnega porekla se razlikujejo v senzoričnih lastnostih. Barva je zelo pestra in variira od rumene, oranžne do temno sive rjave. Intenzivnost opisnikov za aromo je različna in za nekatere vrste cvetnega prahu karakteristična (npr. bolj intenzivna animalna aroma za cvetni prah oljne ogrščice). V vzorcih cvetnega prahu je na splošno najbolj izražen sladek okus, za določene vrste cvetnega prahu pa je značilen tudi grenek okus (rdeči dren, črnobinovke), kar pa je potrebno potrditi z analizo večjega števila vzorcev. V končnem poročilu bomo pripravili predloge senzoričnih profilov za vrste cvetnega prahu, kjer bo število vzorcev to omogočalo, ter preverili in dopolnili v okviru pretekle karakterizacije (Kandolf Borovšak in sod., 2022) že oblikovane senzorične profile cvetnega prahu javorja, oljne ogrščice in regrata.

V letošnjem letu smo dopolnili zbirko podatkov s kar petimi vzorci cvetnega prahu pravega kostanja, ki izstopajo po prej opisanih parametrih in bomo ob koncu programskega obdobja lahko prišli do konkretnjših zaključkov. Uspešno smo tudi dopolnili zbirko dosedanjih podatkov s cvetnim prahom botaničnih vrst, katerih do sedaj nismo uspeli zbrati oz. smo jih analizirali v manjšem številu (črna detelja, črnobinovke, hrast, rdeči dren). Pridobljene podatke bomo zbrali in primerjali s preteklimi raziskavami in raziskavami v tujini v končnem poročilu karakterizacije čebeljih pridelkov 2023-2025.

2.5 VIRI

Alimoglu G., Gizelmeric E., Yuksel P. I., Celik C., Deniz I., Yesilada E. 2021. Monofloral and polyfloral bee pollens: Comparative evaluation of their phenolics and bioactivity profiles. *LWT- Food Science and technology* 142, <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110973>

Almaraz-Abarca N., Campos M. G., Àvila-Reyes J. A., Naranjo-Jiménez N., Corral J. H., González-Valdez L. S. 2007. Antioxidant activity of polyphenolic extract of monofloral honeybee-collected pollen from mesquite (*Prosopis juliflora*, Leguminosae). *Journal of Food Composition and Analysis*, 20: 119–124

Almeida-Muradian L. B., Pamplona L. C., Coimbra S., Barth O. M. 2005. Chemical composition and botanical evaluation of dried bee pollen pellets. *Journal of Food Composition and Analysis*, 18, 1: 105–111

Altunatmaz S. S., Tarhan D., Aksu F., Barutçu U. B., Or M. E. 2017. Mineral element and heavy metal (cadmium, lead and arsenic) levels of bee pollen in Turkey. *Food Science and Technology Campinas*, 37, 1: 136–141

Anjum, S. I., Ullah, A., Gohar, F., Raza, G., Khan, M. I., Hameed, M., ... & Tlak Gajger, I. (2024). Bee pollen as a food and feed supplement and a therapeutic remedy: recent trends in nanotechnology. *Frontiers in Nutrition*, 11, 1371672.

Bastos D. H. M., Barth M. O., Rocha C. I., Cuhna I. B. S., Carvalho P. O., Torres E. A. S., Michelin M. 2004. Fatty acid composition and palynological analysis of bee (*Apis*) pollen loads in the states of Sao Paulo and Minas Gerais, Brazil. *Journal of Apicultural Research*, 43, 29: 35–39

Barth M. O., Freitas A. S., Oliveira E. S., Silva R. A., Maester M., Andrella R. R. S., Cardozo G. M. B. Q. 2010. 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

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E., & Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28: 25–30

Bogdanov S. 2012. Bee pollen book: collection, harvest, composition, quality. Muehlethurnen, Bee Product Science: 13 str.

<http://www.bee-hexagon.net/pollen/> (25.8.2020)

Campos M. G. R., Bogdanov S., Almeida-Muradian L. B., Szczesna T., Mancebo Y., Frigerio C., Ferreira F. 2008. Pollen composition and standardization of analytical methods. *Journal of Apicultural Research and Bee World*, 47, 2: 156–163

Campos M. G. R., Frigerio C., Lopes J., Bogdanov S. 2010. What is the future of bee pollen. *Journal of Apiproducs and Apimedical Science*, 2, 4: 131–144

Carpes S. T., Begnini R., Alencar S. M., Masson M. L. 2007. Study of preparation of bee pollen extracts, antioxidant and antibacterial activity. *Ciencia e Agrotecnologia*, 31, 6: 1818-1825

Carpes S. T., Mourao G. B., de Alencar S. M., Masson M. L. 2009. Chemical composition and free radical scavenging activity of *Apis mellifera* bee pollen from Southern Brazil. *Brazilian Journal of Food Tehnology*, 12, 3: 220–229

Debelak A., Janžekovič A., Ratajc U., Samec T. 2023. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov za leto 2023 : v skladu z Uredbo o izvajanju intervencij v sektorju čebelarških proizvodov iz strateškega načrta skupne kmetijske politike 2023–2027 (Uradni list RS, št. 17/23 in 58/23). Lukovica: Čebelarska zveza Slovenije: 2023. 124 str.

De-Melo A. A. M., Estevinho L. M., Moreira M. M., Delerue-Matos C., Silva de Freitas A., Barth O. M., Bicudo de Almeida-Muradian L. 2018. A multivariate approach based on physicochemical parameters and biological potential for the botanical and geographical discrimination of Brazilian bee pollen. *Food Bioscience*, 25: 91–110

Estevinho L., Pereira A.P., Moreira L., Dias L. G., Pereira E. 2008. Antioxidant and Antimicrobial Effects of Phenolic Compounds Extracts of Northeast Portugal Honey. *Food and Chemical Toxicology*, 46, 12: 3774–3779

Estevinho L. M., Rodrigues S., Pereira A. P., Feás X. 2012. Portuguese bee pollen: palynological study, nutritional and microbiological evaluation. *International Journal of Food Science and Technology*, 47: 429–435

Feás X., Pilar Vazquez-Tato M., Estevinho L., Seijas J. A., Iglesias A. 2012. Organic bee pollen: botanical origin, nutritional value, bioactive compounds, antioxidant activity and microbiological quality. *Molecules*, 17: 8359–8377

Gardana C., Del Bo C., Quicazan M. C., Correa A. R., Simonetti P. 2018. Nutrients, phytochemicals and botanical origin of commercial bee pollen from different geographical areas. *Journal of Food Composition and Analysis*, 73: 29–38

El Ghouizi A., Bakour M., Laaroussi H., Ousaaïd D., El Menyiy N., Hano C., Lyoussi B. 2023. Bee pollen as functional food: insights into its composition and therapeutic properties. *Antioxidants*, 12, 557. <https://doi.org/10.3390/antiox12030557>

Grange J. M., Davey R. W. 1990. Antibacterial properties of propolis (bee glue). *Journal of the Royal Society of Medicine* 83, 3: 159–160

Gutfinger, T. 1981. Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemists Society*, 58: 966-968

Human H., Nicolson S. W. 2006. Nutritional content of fresh bee-collected and stored pollen of *Aloe greatheadii* var. *davyana* (Asphodelaceae). *Phytochemistry*, 67: 1486–1492

Yang K., Wu D., Ye X., Liu D., Chen J., Sun P. 2013. Characterization of chemical composition of bee pollen in China. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61: 708–718

ISO 24382:2023. Bee pollen – Specifications. First edition 2023-10: 33 str.

Kandolf Borovšak, A., Lilek, N., Samec, T. Bertoncelj, J., Korošec, M. 2020. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica: Čebelarska zveza Slovenije: 9–37

Kandolf Borovšak, A., Lilek, N., Samec, T. Bertoncelj, J., Korošec, M. 2021. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica: Čebelarska zveza Slovenije: 8-43

Kandolf Borovšak, A., Lilek, N., Samec, T., Bertoncelj, J., Korošec, M., Debelak A., Janžekovič, A. 2022. Končno poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica: Čebelarska zveza Slovenije: 11-59

Khalifa S. A. M., Elashal M. H., Yosri N., Du M., Musharraf S. G., Nahar L., Sarker D. S., Guo Z., Cao W., Zou X., Abd El-Wahed A. A., Xiao J., Omar H. A., Hegazy M. E. F., El-Seedi H. R. 2021. Bee Pollen: Current Status and Therapeutic Potential. *Nutrients* 13 (6), <https://doi.org/10.3390/nu13061876>

Kostić A. Ž., Barać M. B., Stanojević S. P., Milojković-Opsenica D. M., Tešić L. Lj., Šikoparija B., Radišić P., Prentović M., Peršić M. B. 2015a. Physicochemical composition and techno-functional properties of bee pollen collected in Serbia. *LWT- Food Science and Technology*, 62, 1: 301–309

Kostić A. Ž., Pešić M. B., Mosić M. D., Dojčinović B. P., Natić M. M., Trifković J. Đ. 2015. Mineral content of bee pollen from Serbia. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 66: 251–258

Komosinska-Vassev K., Olczyk P., Kaźmierczak J., Mencner L., Olczyk K. 2015. Bee pollen: chemical composition and therapeutic application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015: ID 297425, doi: 10.1155/2015/297425: 6 str.

Kessler R., Harley M. 2006. *Pollen the hidden sexuality of flowers*. London, Papadakis Publisher: 264 str.

LeBlanc B. W., Davis O. K., Boue S., DeLucca A., Deeby T. 2009. Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*, 115, 4: 1299–1305

Leja M., Mareczek A., Wyżgolik G., Klepacz-Baniak J., Czekońska K. 2007. Antioxidative properties of bee pollen in selected plant species. *Food Chemistry*, 100: 237–240

Li Q., Wang K., Marcucci M. C., Frankland Sawaya A. C. H., Hu L., Xue X., Wu L., Hu F. 2018. Nutrient-rich bee pollen: a treasure trove of active natural metabolites. *Journal of Functional Food*, 49: 472–484

Lilek N. 2020. Vpliv botaničnega porekla na hranilno vrednost cvetnega prahu osmukanca. Doktorska disertacija. Ljubljana. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta: 111 str.

Lilek N., Kandolf Borovšak A., Bertoncej J., Vogel-Mikuš K., Nečemer M. 2021. Use of EDXRF elemental fingerprinting for discrimination of botanical and geographical origin of Slovenian bee pollen. *X-Ray Spectrometry* 1–12 (in press) DOI: 10.1002/xrs.3250

Louveaux J., Maurizzio A., Vorwohl G. 1978. Methods of melissopalynology. *Bee World*, 59, 4: 139–162

Martinello M., Mutinelli F. 2021. Antioxidant activity in bee products: A review. *Antioxidants* 10, 1: 71, <https://doi.org/10.3390/antiox10010071>

Matuszewska E., Klupczynska A., Maciołek K., Kokot Z. J., Matysiak J. 2021. Multielemental Analysis of Bee Pollen, Propolis, and Royal Jelly Collected in West-Central Poland. *Molecules* 26 (9), <https://doi.org/10.3390/molecules26092415>

Mavri A., Abramovič H., Polak T., Bertoncej J., Jamnik P., Smole Možina S., Jeršek B. 2012. Chemical properties and antioxidant and antimicrobial activities of Slovenian propolis. *Chemistry & Biodiversity* 9, 8: 1545–1558

Morais M., Moreira L., Feás X., Estevinho L. M. 2011. Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and microbiological activity. *Food and Chemical Toxicology*, 49: 1096–1101

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

Mărghitas L. A., Stanciu O. G., Dezmirean D. S., Bobiș O., Popescu O., Bogdanov S., Campos M. G. 2009. *In vitro* antioxidant capacity of honeybee-collected pollen of selected floral origin harvested from Romania. *Food Chemistry*, 115: 878–883

Marcazzan G.L., Mucignat-Caretta C., Marchese C.M., Piana M.L. 2018. A review of methods for honey sensory analysis. *Journal of Apicultural Research*, 57, 1: 75-87

Nečemer M., Kump P., Vogel-Mikuš K. 2010. Use of X-ray fluorescence-based analytical techniques in phytoremediation. V: Handbook of phytoremediation. Golubev I. A. (ur.). New York, Nova Science Publishers: 1–28

Nogueira C., Iglesias A., Feás X., Estevinho L. M. 2012. Commercial bee pollen with different geographical origins: a comprehensive approach. *International Journal of Molecular Science*, 13: 11173–11187

Pascoal A., Rodrigues S., Teixeira A., Feás X., Estevinho L. M. 2014. Biological activities of commercial bee pollens: antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology*, 63: 233–239

Rodríguez-Pólit, C., Gonzalez-Pastor, R., Heredia-Moya, J., Carrera-Pacheco, S. E., Castillo-Solis, F., Vallejo-Imbaquingo, R., ... & Guamán, L. P. (2023). Chemical properties and biological activity of bee pollen. *Molecules*, 28(23), 7768.

Roulston T. H., Cane J. H. 2000. Pollen nutritional content and digestibility for animals. *Plant Systematics and Evolution*, 222: 187–209

Serra-Bonvehi J., Escola-Jorda R. 1997. Nutritional composition and microbiological quality of honey bee collected pollen in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 45: 725–732

Shubharani R., Roopa P., Sivaram V. 2013. Pollen morphology of selected bee forage plants. *Global Journal of Bio-Science and Biotechnology*, 2, 1: 82–90

Somerville D. C., Nicol H. I. 2002. Mineral content of honeybee-collected pollen from southern New South Wales. *Australian Journal of Experimental Agriculture*, 42: 1131–1136

Soares de Arruda V. A., Santos Pereira A. A., Silva de Freitas A., Marth M. O., Almeida-Muradian L. B. 2013. Dried bee pollen: B complex vitamins, physicochemical and botanical composition. *Journal of Food Composition and Analysis*, 29: 100–105

Spulber R., Doğaroğlu M., Băbeanu N., Popa O. 2018. Physicochemical characteristics of fresh bee pollen from different botanical origins. *Romanian Biotechnological Letters*, 23, 1: 13357–13365

Straumite E., Bartule M., Valdovska A., Kruma Z., Galoburda R. 2022. physical and microbiological characteristics and antioxidant activity of honey bee pollen. *Applied Sciences*, 12, 3039. <https://doi.org/10.3390/app12063039>

Szczęśna T., Rybak-Chmielewska H. 1998. Some properties of honey bee collected pollen. In *Polnisch-Deutsches Symposium Salus Apis mellifera, new demands for honey bee breeding in the 21st century*. *Pszczelnicze Zeszyty Naukowe*, 42, 2: 79–80

Šimunović K., Abramovič H., Lilek N., Angelova M., Podržaj L. 2019. Microbiological quality, antioxidative and antimicrobial properties of Slovenian bee pollen. *Agrofor*, 4, 1: 82–92

Valverde, S., Tapia, J. A., Pérez-Sanz, A., González-Porto, A. V., Higes, M., Lucena, J. J., ... & Bernal, J. (2023). Mineral composition of bee pollen and its relationship with botanical origin and harvesting period. *Journal of Food Composition and Analysis*, 119, 105235.

Villanueva M. T. O., Marquina A. D., Serrano R. B., Abellan G. B. 2002. The importance of bee collected pollen in the diet: study of its composition. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 53, 3: 217–224

Von der Ohe W., Persano-Oddo L., Piana M. L., Morlot M., Martin P. 2004. Harmonized methods of melissopalynology. *Apidologie*, 35: 18–25

Zuluaga, C.M., Serrato, J.C., Quicazan, M. C. 2015. Chemical, nutritional and bioactive characterization of Colombian bee-bread. *Chem. Eng. Trans.*, 43, 175–180

3 MATIČNI MLEČEK

3.1 PREGLED OBJAV O MATIČNEM MLEČKU

Matični mleček je čebelji pridelek blede rumene barve, izrazito kislega in rahlo pekočega okusa, ki ima ključno vlogo pri razvoju matice v družini. Je občutljiv čebelji pridelek, ki zaradi zelo majhne količine zahteva spretno pridelavo in visoko stopnjo higiene (Božnar, 2011).

O svetovni proizvodnji matičnega mlečka ni uradnih podatkov, vendar se ocenjuje, da ga približno 90 % (okrog 3.500 ton na leto) proizvede Kitajska, ki ga največ izvozi v ZDA, Evropo in Japonsko (Collazo in sod., 2021). Veliko ga proizvedejo tudi Japonska, Koreja, Tajvan (Collazo in sod., 2021) ter države vzhodne Evrope pa tudi Španija, Grčija, Francija in Italija (Kanelis in sod., 2015).

Danes matični mleček uporabljajo v farmaciji, prehranski industriji kot tudi v kozmetiki (Božnar, 2011). Uvrščamo ga med funkcionalna živila, saj so rezultati raziskav pokazali, da ima matični mleček številne funkcionalne lastnosti, kot so antibakterijska aktivnost, protivnetna aktivnost, protivirusno delovanje, antioksidativna učinkovitost in antitumorsko delovanje (Collazo in sod., 2021; Guo in sod., 2021; Bagameri in sod., 2022; Ghosh in sod., 2024). Recentne raziskave ugotavljajo tudi imunoregulatorno delovanje, zlasti velik potencial uporabe matičnega mlečka pa je pri sistemskih vnetnih boleznih (npr. multipli sklerozi, revmatoidnem artritisu in Krohnovi bolezni; Bagameri in sod., 2023). Biološka aktivnost matičnega mlečka se večinoma pripisuje bioaktivnim maščobnim kislinam, proteinom in fenolnim spojinam (Botezan in sod., 2023; Yu in sod. 2023). Ob upoštevanju potencialne uporabe je izrednega pomena podrobno poznavanje sestave matičnega mlečka (Ramadan in Al-Ghamdi, 2012; Fratini in sod., 2016). Različne možnosti uporabe matičnega mlečka dajejo temu čebeljemu pridelku velik pomen. Posledica tega je tudi velik uvoz matičnega mlečka v vse države, ki nimajo zadostne lastne proizvodnje (Collazo in sod., 2021).

Zakonodaja, ki bi določala minimalne kriterije kakovosti matičnega mlečka, še ni uveljavljena, kljub temu pa so nekatere države postavile nacionalne standarde in smernice, med njimi Argentina, Bolgarija, Poljska, Turčija, Brazilija, Srbija, Švica, Japonska, Kitajska, Indija in Koreja (Kanelis in sod., 2015). S standardizacijo matičnega mlečka se intenzivno ukvarja tudi Mednarodna komisija za med (angl. *International Honey Commission*) (Sabatini in sod., 2009) ter mednarodna strokovna javnost, ki je sprejela standard ISO 12824:2016 (ISO, 2016). Standard opredeljuje dva tipa matičnega mlečka; pri tipu 1 je hrana čebel izključno njihova naravna hrana (cvetni prah, med ali nektar); v primeru matičnega mlečka tipa 2 pa so poleg naravne hrane dovoljena še druga hranila (beljakovine, ogljikovi hidrati). Določitev standardne sestave matičnega mlečka je pomembna za kontrolo trga ter za zaščito potrošnikov. V letih od 2010 do 2013 je bil, v sklopu 7. okvirnega programa Evropske skupnosti, financiran triletni projekt Apifresh, katerega namen je bil med drugim razvoj evropskih standardov kakovosti za

matični mleček, določitev standardnih analitskih metod ter določitev standardne metodologije za nadzor potporjenosti matičnega mlečka. V letih od 2017-2019 je potekala raziskava v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2017-2019, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije, v katerem so bili določeni parametri vsebnost vode, pepela, beljakovin, maščob, 10-hidroksi-2-decenojske kisline (10-HDA), sladkorjev, pelodna analiza, vrednost pH, kislost in maščobnokislinska sestava matičnega mlečka slovenskega porekla. V programskem obdobju 2020-2022 ter v prvem letu programskega obdobja 2023-2025 so bili v skupno 80 vzorcih slovenskega matičnega mlečka (po 20 vzorcev/leto) analizirani naslednji parametri: senzorične lastnosti, vsebnost vode, beljakovin, kislost, vrednost pH, vsebnost skupnih fenolnih spojin in antioksidativna učinkovitost.

3.1.1 Nastanek matičnega mlečka

Matični mleček izločajo mlade čebele delavke od 6. do 15. dneva starosti. Nastaja v njihovih krmilnih in čeljustnih žlezah. V tem času mlade čebele imenujemo čebele dojilje. Za učinkovito delovanje žlez čebele potrebujejo veliko količino beljakovinske prehrane (cvetnega prahu) (Kanelis in sod., 2024). Z matičnim mlečkom hranijo vse čebelje ličinke tri dni, po tretjem dnevu pa samo ličinko, iz katere se bo razvila matica. Kaj se bo razvilo iz oplojenega jajčeca, čebela delavka ali matica, je odvisno samo od hrane. Matica se celo življenje prehranjuje samo z matičnim mlečkom. Zaradi hranjenja z matičnim mlečkom se matica bistveno razlikuje od čebele delavke. Je dvakrat večja od čebele, razvije se ji sposobnost zaleganja jajčec in živi 4–5 let, čebela delavka pa v povprečju 45 dni (razen zimskih čebel) (Winston, 1987; Božnar, 2011).

3.1.2 Lastnosti svežega matičnega mlečka

Matični mleček je pretežno topen v vodi, ima nizko vrednost pH (med 3,5 in 4,5), specifična gostota je 1,1 g/ml (Bogdanov, 2011; Sabatini in sod., 2009). Viskoznost matičnega mlečka je odvisna od vsebnosti vode, pH in starosti – če je shranjen na sobni temperaturi, počasi postaja bolj viskozen (Buttstedt in sod. 2018; Božnar, 2011). Do sprememb viskoznosti s starostjo matičnega mlečka pride zaradi delovanja encimov in reakcij med maščobami in beljakovinami, kakovost matičnega mlečka se tako poslabša (Božnar, 2011). Star matični mleček, ki ni pravilno skladiščen, je tudi temnejše barve in ima lahko aromo po žarkem (Bogdanov, 2011). Po pobiranju in ob stiku z zrakom postane pri temperaturi 15 °C rumen, zaradi prisotnosti albumina, ki nastane med sušenjem (Popescu in sod., 2008).

Senzorične lastnosti matičnega mlečka

Barva: od umazano bele do svetlo rumene, slonokoščena, blede rumena (Slika 5)

Videz: kremasta, viskozna struktura, običajno nehomogena, ker vsebuje netopna zrnca različnih oblik in velikosti.

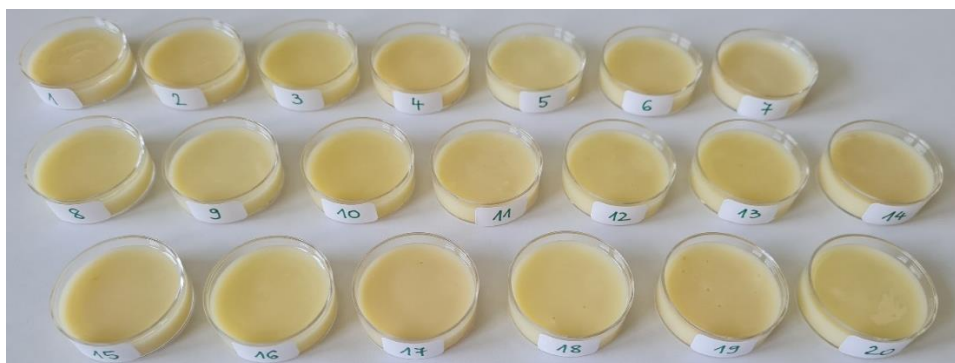
Vonj: srednje intenziven, kiselkast, oster.

Okus: izrazito kisel, rahlo trpek, rahlo sladek, oster, pekoč pookus.

Aroma: srednje do močno intenzivna, najbolj izraženi sta kemijska in topla (po vosku) aroma, v manjši meri tudi animalna in cvetlična aroma.

Občutek v ustih: odvisno od vzorca, lahko je gladek, drobno zrnat ali zrnat (Kandolf Borovšak in sod., 2022).

Napake: po daljšem skladiščenju barva postaja temnejša, bolj rumena, matični mleček lahko postane žarek (Božnar, 2011).



Slika 5: Barva matičnega mlečka pri vzorcih programskega leta 2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022).

Khalfan in sod. (2024) navajajo, da s senzorično analizo matičnega mlečka dobimo vpogled v njegove senzorične karakteristike, kar lahko proizvajalcem pomaga optimizirati pogoje pridelave.

3.1.3 Sestava matičnega mlečka

Sestava matičnega mlečka je dokaj kompleksna (Preglednica 15). Sestavljajo ga voda, maščobe, beljakovine, sladkorji, aminokisliline, organske kisline, steroli, estri, fenolne spojine, minerali, elementi v sledovih in druge snovi (Sabatini in sod., 2009). Sestava sladkorjev, vsebnost vode, beljakovin in 10-hidroksi-2-decenojske kisline (10-HDA) so najbolj pomembni kriteriji za karakterizacijo matičnega mlečka (Daniele in Casabianca, 2012).

Preglednica 15: Sestava svežega in liofiliziranega matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016)

Parameter	Sabatini in sod. (2009)		ISO (2016): svež MM	
	svež MM	liofiliziran MM	MM tip 1	MM tip 2
Vsebnost vode (g/100 g)	60-70	< 5	62,0-68,5	62,0-68,5
Vsebnost maščob (g/100 g)	3-8	8-19	2-8	2-8
Vsebnost 10-hidroksi-2-decenojske kisline (10-HDA) (g/100 g)	≥ 1,4	> 3,5	≥ 1,4	≥ 1,4
Vsebnost beljakovin (g/100 g)	9-18	27-41	11-18	11-18
Vsebnost sladkorjev (fruktoza + glukoza + saharoza) (g/100 g)	7-18	/	/	/
Vsebnost skupnih sladkorjev (g/100 g)	/	/	7-18	7-18

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Vsebnost fruktoze (g/100 g)	3-13	/	2-9	2-9
Vsebnost glukoze (g/100 g)	4-8	/	2-9	2-9
Vsebnost saharoze (g/100 g)	0,5-2,0	/	< 3	-
Vsebnost erloze	/	/	< 0,5	-
Vsebnost maltoze	/	/	< 1,5	-
Vsebnost maltotrioze	/	/	< 0,5	-
Vsebnost pepela (g/100 g)	0,8-3,0	2-5	/	/
Vrednost pH	3,4-4,5	3,4-4,5	/	/
Kislost (ml 1 M NaOH/100 g)	3,0-6,0 *	/	30,0-53,0	30,0-53,0
Furozin (mg/100 g beljakovin)	< 50	/	/	/

MM: matični mleček; /: ni podatka; -: se ne uporablja; * enota je ml 0,1 M NaOH/g;

tip 1 - hrana čebel je izključno njihova naravna hrana (cvetni prah, med ali nektar);

tip 2 - poleg naravne hrane za čebele so dovoljena še druga hranila (beljakovine, ogljikovi hidrati).

Sezonski in okoljski dejavniki vplivajo na sestavo matičnega mlečka (Ramadan in Al-Ghamdi, 2012; Khalfan in sod., 2024). Na vsebnost ogljikovih hidratov in maščob ima sezona velik vpliv, manjši na vsebnost beljakovin in vode, medtem ko vsebnost pepela in vrednost pH nista odvisna od sezonskih vplivov (Wongchai in Ratanavalachai, 2002). Čas pridelave (Ramadan in Al-Ghamdi, 2012) in krmljenje čebel lahko vplivata na vsebnost sladkorjev in določenih aminokislin (Wang in sod. 2023). Do razlik v sestavi matičnega mlečka prihaja predvsem zaradi različne prehrane in starosti čebel proizvajalk, rase čebel ter od načina pridobivanja in shranjevanja matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009).

Matični mleček vsebuje tudi pelod rastlin, na katerih so čebele nabirale nektar in pelod, zato na osnovi pelodne analize matičnega mlečka lahko sklepamo na njegovo poreklo (Sabatini in sod., 2009). Spekter peloda v matičnem mlečku slovenskega porekla se ujema s spektrom peloda v medu pridelanem na območju Republike Slovenije. V večini vzorcev tako mlečka kot medu je prisoten pelod pravega kostanja (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Voda

Kljub veliki vsebnosti vode (med 62 in 68,5 g/100 g) (ISO, 2016) in vodni aktivnosti (a_w) nad 0,92, je matični mleček relativno mikrobiološko stabilen. Konstantna vsebnost vode v mlečku je posledica stalne proizvodnje mlečka s strani čebel dojič v družini, njegove naravne higroskopnosti in prizadevanj čebelje družine, da vzpostavlja konstantno vlažnost v panju. Razlike v vsebnosti vode so lahko posledica netopnosti nekaterih sestavin matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009).

Na vsebnost vode vpliva čas pobiranja matičnega mlečka. Od 24 do 48 ur po cepljenju ličink hitro narašča, 72 ur po cepljenju se naraščanje upočasni (Zheng in sod., 2010). Prvi dan po cepljenju ima matični mleček manj kot 60 g/100 g vode (Kanelis in sod., 2015), četrti dan pa manj kot 50 g vode/100 g. Vsebnost vode je nekoliko manjša tudi, če matični mleček pridobivamo med sušnim obdobjem v primerjavi z deževnim obdobjem (Wongchai in Ratanavalachai, 2002).

Vsebnost vode v vzorcih matičnega mlečka slovenskega porekla, pridelanega v letih 2017, 2018 in 2019, je variirala med 62,9 in 67,8 g/100 g, kar pomeni, da so vsi vzorci ustrezali standardom kakovosti za svež matični mleček (Sabatini in sod., 2009) in sicer, da mora biti vsebnost vode v svežem matičnem mlečku med 60 in 70 g/100 g. Vrednosti so ustrezale tudi ISO standardu, ki navaja vsebnost vode v svežem matičnem mlečku v območju 62,0 do 68,5 g/100 g (ISO, 2016). Povprečna vsebnost vode v vzorcih matičnega mlečka iz programskih let 2018 in 2109 je bila nekoliko manjša (65,2 oz. 65,3 g/100 g) v primerjavi s programskim letom 2017, ko je znašala 66,3 g/100 g (Kandolf Borovšak in sod., 2019). V programskem obdobju 2020-2023 je povprečna vsebnost vode v vzorcih matičnega mlečka slovenskega porekla variirala med 62,7 in 67,8 g/100 g, v povprečju 65,2 g/100 g (Kandolf Borovšak in sod., 2022, Debelak in sod. 2023). Vsi vzorci so ustrezali standardom kakovosti za svež matični mleček (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016) in vsi vzorci so bili tudi v okviru mednarodnega povprečja, ki navaja, da se vsebnost vode giblje med 60 in 70 % (Giampieri in sod., 2022).

Beljakovine

V matičnem mlečku je med 9 in 18 g beljakovin/100 g, ki predstavljajo 50 % suhe snovi matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009; Šimúth, 2001). ISO standard (2016) navaja območje vsebnosti 11-18 g beljakovin/100 g. V vzorcih mlečka slovenskega porekla iz programskega obdobja 2017-2019, je bila vsebnost beljakovin v območju od 11,3 do 13,9 g/100 g, s povprečno vrednostjo 12,4 g/100 g (Kandolf Borovšak in sod., 2019), iz programskega obdobja 2020-2022 med 11,48 in 14,1 g/100g, s povprečno vrednostjo 12,51 g/100g (Kandolf Borovšak in sod., 2022) in v letu 2023 med 11,01 in 13,56 g/100g, s povprečno vrednostjo 12,4 g/100g (Debelak in sod. 2023). Vsi vzorci iz obdobja 2017-2023 ustrezajo priporočenim vrednostim (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016), povprečna vsebnost beljakovin pa je med leti primerljiva.

Proteinska frakcija vsebuje številne pomembne komponente in biološko aktivne snovi (Bärnuțiu in sod., 2011). Več kot 80 % beljakovin matičnega mlečka je topnih proteinov, t.i. glavnih proteinov matičnega mlečka (MRJP - angl. *Major Royal Jelly Proteins*) (Šimúth, 2001). MRJP naj bi bili izmed vseh sestavin matičnega mlečka najbolj pomembni za razvoj matice, saj vključujejo številne esencialne aminokislino (Schmitzova in sod., 1998). Čebele izločajo na stotine proteinov, predvsem iz krmilnih in čeljustnih žlez ter žlez slinavk. Čebelja matica, ki jo čebele krmijo z matičnim mlečkom, živi 4-5 let, medtem ko čebele delavke živijo le 3-4 tedne. Za ta fenomen naj bi bili zaslužni predvsem proteini matičnega mlečka (Šimúth in sod., 2003). Poleg glavnih proteinov matični mleček vsebuje tudi manjše proteine, vključno z antimikrobnimi peptidi (peptidnimi antibiotiki). Ti bioaktivni peptidi lahko po zaužitju v telesu delujejo kot regulatorne snovi s podobno aktivnostjo kot hormoni (Bärnuțiu in sod., 2011; Maghsoudlou in sod., 2019).

Proste aminokislino predstavljajo samo 0,6 do 1,5 % beljakovin, večina je L-aminokislin (Sabatini in sod., 2009). V matičnem mlečku je največ prolina, lizina, glutaminske kisline, β -alanina, fenilalanina, aspartata in serina. Pri skladiščenju matičnega mlečka (4 °C, 10 mesecev)

ni značilnih razlik v vsebnosti aminokislin, medtem ko se vsebnost prolina in lizina poveča pri skladiščenju pri sobni temperaturi (Boselli in sod., 2003).

Vrednost pH in kislost matičnega mlečka

Matični mleček ima nizko vrednost pH (od 3,6 do 4,2) (Šimúth in sod., 2003). V slovenskih vzorcih matičnega mlečka je vrednost pH med 3,59 in 4,21, v povprečju 3,90 (Kandolf Borovšak in sod., 2019, Kandolf Borovšak in sod., 2022, Debelak in sod. 2023). Nekateri avtorji navajajo še višjo vrednost pH matičnega mlečka in sicer od 4 do 5, ki se med procesom liofilizacije ne spremeni in ostane relativno konstantna (Popescu in sod., 2008).

Kislost matičnega mlečka variira med 3 in 6 ml 0,1 M NaOH/g v svežem matičnem mlečku in 9 do 15 ml 0,1 M NaOH/g v liofiliziranem matičnem mlečku (Popescu in sod., 2008). Povprečna kislost vzorcev slovenskega matičnega mlečka iz programskega obdobja 2017-2019 je 4,19, območje pa od 3,64 do 4,77 mL 0,1 M NaOH/g (Kandolf Borovšak in sod., 2019). V obdobju 2020-2022 smo izmerili nekoliko večjo kislost vzorcev slovenskega matičnega mlečka. Vrednosti so se gibale med 3,61 in 5,24 mL 0,1 M NaOH/g, povprečje je bilo 4,27 (Kandolf Borovšak in sod., 2022). Od projektnega leta 2023 dalje smo za določanje kislosti matičnega mlečka uporabili metodo, ki jo kot priporočeno navaja ISO standard za matični mleček (ISO, 2016). Zaradi podajanja rezultatov v drugi enoti so vrednosti za kislost 10-krat večje, po ISO standardu naj bi bile v območju 30 do 53 mL 1 M NaOH/100 g. Izmerjene vrednosti slovenskega matičnega mlečka so bile v letu 2023 v območju 40,2 do 52,2 mL 1 M NaOH/100 g, povprečno 44,7 mL 1 M NaOH/100 g, kar je primerljivo z rezultati v predhodnih letih (Kandolf Borovšak in sod., 2019, Debelak in sod. 2023).

Med skladiščenjem matičnega mlečka se kislost poveča (Chen in Chen, 1995), Zheng in sod. (2010) pa navajajo značilen padec kislosti v obdobju treh dni po cepitvi ličink.

Ogljikovi hidrati

V matičnem mlečku je povprečno od 11 do 23 g/100 g ogljikovih hidratov oz. 30 % suhe snovi matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009), ISO standard (2016) navaja od 7 do 18 g skupnih sladkorjev/100 g. Glavna sladkorja sta, tako kot pri medu, monosaharida fruktoza in glukoza, ki skupaj predstavljata 90 % vseh sladkorjev. Vedno je prisotna tudi saharoza, vendar v zelo variabilnih koncentracijah. V manjših koncentracijah so lahko prisotni tudi nekateri oligosaharidi, ki so v nekaterih primerih primerni tudi za določanje pristnosti matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009). Slovenski vzorci matičnega mlečka vsebujejo od 2,3 do 4,5 g/100 g fruktoze, med 3,4 in 6,2 g/100 g glukoze ter od <0,5 do 3,3 g/100 g saharoze, v šestih vzorcih je bila vsebnost saharoze pod mejo detekcije. Glede na ISO standard (2016) v vsebnosti saharoze eden od vzorcev matičnega mlečka ni ustrezal postavljenim kriterijem (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Pepel

Vsebnost pepela v svežem matičnem mlečku znaša od 0,8 do 3 g/100 g (Garcia-Amoedo in Almeida-Muradian, 2007), med 4 in 8 % suhe snovi (Fratini in sod., 2016), v vzorcih slovenskega svežega matičnega mlečka je vsebnost pepela v povprečju med 1,00 in 1,04 g/100 g (Kandolf Borovšak in sod., 2019). Glavni elementi so K, P, S, Na, Ca, Al, Mg, Zn, Fe, Cu in Mn (Stocker in sod., 2006).

Elementi, prisotni v matičnem mlečku, so posledica tako zunanjih dejavnikov (okolje, pridobivanje hrane, obdobje pridelave matičnega mlečka) kot notranjih dejavnikov (biološke lastnosti čebel) (Bärnuțiu in sod., 2011). Koncentracija mineralov in elementov v sledovih v matičnem mlečku je konstantna, zaradi homeostatskega uravnavanja s strani čebel dojilj in ni odvisna od časa pobiranja mlečka (Wongchai in Ratanavalachai, 2002; Stocker in sod., 2006).

Maščobe

Svež matični mleček vsebuje 3-8 g maščob/100 g, kar predstavlja 3 do 19 % suhe snovi matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009; Fratini in sod., 2016), liofiliziran matični mleček vsebuje približno 8-19 g maščob/100 g (Yu in sod., 2023). ISO standard (2016) navaja nižjo spodnjo mejo za vsebnost maščob, območje vsebnosti znaša 2-8 g maščob/100 g. V največji meri maščobno frakcijo matičnega mlečka predstavljajo maščobne kisline (80-90 %), ostalo so voski (5-6 %), steroidi (3-4 %) in fosfolipidi (0,4-0,8 %) (Bogdanov, 2011; Sabatini in sod., 2009; Ramadan in Al-Ghamdi, 2012, Yu in sod., 2023). Povprečna vsebnost maščob v vzorcih slovenskega matičnega mlečka znaša 5,42 g/100 g, v območju od 4,02 do 7,65 g/100g (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Maščobne kisline matičnega mlečka so večinoma kratkoverižne mono- in dihidroksi maščobne kisline z 8-10 ogljikovimi atomi ali dikarboksilne kisline, v nasprotju z maščobnimi kislinami s 14-20 ogljikovimi atomi, ki jih običajno vsebujejo živila živalskega in rastlinskega izvora (Genç in Aslan, 1999; Sesta, 2006). Pomembna komponenta maščobne frakcije matičnega mlečka je 10-HDA. Ta maščobna kislina je značilna samo za matični mleček, zato je njena vsebnost pomemben kriterij njegove kvalitete in pristnosti (Yu in sod., 2023). Pristen mleček mora vsebovati vsaj 1,4 g/100 g 10-HDA (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016; Khalfan in sod., 2024). V vzorcih slovenskega matičnega mlečka je bila v letih 2017 do 2019 povprečna vsebnost 2-krat večja od te vrednosti (2,81 g/100 g), območje je znašalo od 2,32 do 3,31 g/100 g (Kandolf Borovšak in sod., 2019). Vsebnost maščob se delno spreminja v odvisnosti od sezone, v primeru tajskega matičnega mlečka se je najbolj povečala pri prehodu iz hladnega v toplo obdobje, v 6 % pa se je zmanjšala pri prehodu iz deževne dobe v hladno obdobje. Tudi drugi avtorji poročajo, da se vsebnost maščob v matičnem mlečku poveča poleti (Wongchai in Ratanavalachai, 2002).

Maščobe so pomembna komponenta matičnega mlečka pri določitvi pristnosti oziroma potvorjenosti le-tega, saj nekaterih maščobnih kislin, ki jih matični mleček vsebuje, ne najdemo

v nobenem drugem naravnem proizvodu. Kvalitativna in kvantitativna analiza maščobne frakcije prav tako omogoča določitev količine dodanega matičnega mlečka v drugih izdelkih (Märghitaş in sod., 2010). Svež matični mleček naj bi imel večjo vsebnost 10-HDA in bi lahko bila potencialen parameter svežosti matičnega mlečka, vendar ugotavljajo, da naj bi bila vsebnost kisline v mlečku stabilna in neodvisna od pogojev skladiščenja (Antinelli in sod., 2003; Kandolf Borovšak in sod., 2019).

3.1.4 Antioksidativna učinkovitost matičnega mlečka

Antioksidanti so molekule s stabilno strukturo, ki upočasnijo ali preprečijo oksidacijo pomembnih celičnih sestavin na različne načine. Kot lovilci radikalov se po reakciji z radikali pretvorijo v stabilnejše in manj škodljive snovi, ki jih organizem izloči. Pomagajo zavirati razvoj nekaterih obolenj, zmanjšujejo tveganje za razvoj rakavih obolenj, ateroskleroze, bolezni srca in ožilja, raznih vnetij in artritisa. Izboljšajo delovanje imunskega sistema in preventivno delujejo pred procesi staranja (The National Honey Board, 2003).

Čebelji pridelki so pomemben vir antioksidatov, ima pa matični mleček manjšo antioksidativno učinkovitost kot cvetni prah in propolis (El-Guendouz in sod., 2020a, Hashemirad in sod., 2024). Antioksidativna učinkovitost matičnega mlečka izvira iz fenolnih spojin in kratkih peptidov, različnih vitaminov (A in E) in kratkoverižnih hidroksilnih in karboksilnih maščobnih kislin (Guo in sod., 2009; Botezan in sod., 2023).

Vsebnost skupnih fenolnih spojin v turškem matičnem mlečku je znašala v povprečju 16,4 mg_{GK}/100 g, območje vsebnosti je znašalo od 9,1 do 30,1 mg_{GK}/100 g (Kolayli in sod., 2016), medtem ko so drugi avtorji v turškem mlečku določili v povprečju 59,2 mg_{GK}/100 g (Özkök in sod., 2017), v maroškem, španskem in portugalskem pa od 300 do 890 mg_{GK}/100 g (El-Guendouz in sod., 2020). Povprečna vsebnost skupnih fenolnih spojin v slovenskih vzorcih matičnega mlečka iz obdobja 2020-2022 je znašala 27,3 mg_{GK}/100 g (od 14,7 do 39,7 mg_{GK}/100 g) (Kandolf Borovšak in sod., 2022), kar je primerljivo z nekaterimi drugimi državami, nekateri tuji vzorci pa imajo tudi manjše in večje vsebnosti. V projektnem letu 2023 smo v okviru karakterizacije čebeljih pridelkov za obdobje 2023-2025 v 20 vzorcih slovenskega matičnega mlečka določili večjo povprečno vsebnost skupnih fenolnih spojin, 32,7 mg_{GK}/100 g (območje 22,6 do 39,6 mg_{GK}/100 g) (Debelak in sod., 2023). Za matični mleček iz Litve Adaškevičiūtė in sod. (2019) navajajo vsebnost skupnih fenolnih spojin v območju od 164,4 do 231,4 mg_{RUT}/100 g. Antioksidativna učinkovitost slovenskega matičnega mlečka, določena z DPPH• metodo in izražena kot odstotek inhibicije, je od 18,3 do 29,9 % (Rak, 2018) oz. od 17,9 do 59,6 mg/mL (EC₅₀ je v povprečju 33,7 mg/mL) (Kandolf Borovšak in sod., 2022). V letu 2023 analizirani vzorci slovenskega matičnega mlečka so imeli v povprečju večjo antioksidativno učinkovitost, povprečna EC₅₀ je bila manjša, znašala je 31,17 mg/mL (Debelak in sod., 2023). Turški matični mleček ima koncentracijo učinkovitosti EC₅₀ v povprečju 113,5 mg/mL, kar pomeni, da je manj antioksidativno učinkovit v primerjavi s slovenskim matičnim mlečkom, medtem ko imajo vzorci maroškega, portugalskega in španskega matičnega mlečka EC₅₀ v

območju od 0,2 do 11,7 mg/mL in so bolj antioksidativno učinkoviti (El-Guendouz in sod., 2020).

3.1.5 Skladiščenje matičnega mlečka

Matični mleček je občutljiv na toploto, svetlobo in zrak. V primeru neprimerne skladiščenja potemni, poveča se mu viskoznost, pojavijo se večje netopne frakcije proteinov, zmanjša se vsebnost prostih aminokislin in aktivnost encima glukoza oksidaza (Hu in sod., 2017). Matični mleček lahko med skladiščenjem postane žarek (Ramadan in Al-Ghamdi, 2011). Povečana viskoznost je posledica v vodi netopnih dušikovih spojin, njihova vsebnost pa se poveča zaradi aktivnosti encimov in interakcije med maščobno in beljakovinsko frakcijo (Ramadan in Al-Ghamdi, 2012).

Matični mleček se najbolje ohrani z zmrzovanjem na -20 °C ali pa z liofilizacijo. Takšen proces sušenja najbolje ohrani prvotne karakteristike matičnega mlečka; ohranijo se hlapne komponente, termolabilne komponente pa se ne poškodujejo. Zmrznjen je uporaben tudi do 3 leta, pri tem načinu ostaneta tudi barva in viskoznost skoraj nespremenjeni (Bogdanov, 2011).

Po skladiščenju matičnega mlečka v hladilniku in zmrzovalniku pride do manjših sprememb ($< 5\%$) v vsebnosti vode, 10-HDA, kislosti, nekoliko večje so spremembe v pH vrednosti, ter vsebnosti maščob in beljakovin, ki pa po pol leta niso večje kot 8% . Tudi po daljšem skladiščenju (eno leto ter 1,5 let) spremembe v vsebnosti vode, 10-HDA, kislosti in pH vrednosti majhne niso bistvene večje. Večje razlike so v vsebnosti sladkorjev, predvsem vsebnosti fruktoze (do 26%) in v nekaterih primerih saharoze (do 44%). V nekaterih vzorcih matičnega mlečka so po skladiščenju tudi manjše vsebnosti maltoze (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Matični mleček se shranjuje v hladilniku ali zmrzovalniku, za daljše shranjevanje je boljše zamrzovanje. Najbolje ga je porabiti znotraj enega od pridelave, največ znotraj 1,5 leta, saj se vrednosti nekaterih fizikalno-kemijskih parametrov po skladiščenju spremenijo (Kandolf Borovšak in sod., 2019), razlike pa so opazne tudi v barvi matičnega mlečka (Žohar, 2018).

3.1.6 Uporaba matičnega mlečka

Svež matični mleček lahko uživamo kot dodatek k prehrani, lahko ga zmešamo z medom ali nanesemo na kožo. Liofiliziran matični mleček lahko napolnimo v kapsule za oralno uživanje. Od nekdanj ga uporabljajo v medicini, posebej v apiterapiji v Aziji in starodavnem Egiptu. Zaradi promocije zdravega načina življenja se njegova uporaba v zadnjem času povečuje, uporablja se kot preventiva proti boleznim in v kozmetiki. Je odlično funkcionalno živilo, ki lahko poveča učinek hranil, ki so koristna za naše zdravje (Collazo in sod., 2021; Oršolić in Jazvinščak Jembrek, 2024) in predstavlja odličen vir bioaktivnih spojin ter makro- in mikrohranil, ki na sinergističen način vplivajo na biološko učinkovanje, kot so protimikrobne, antioksidativne in

protivnetne lastnosti (Giampieri in sod., 2022; Bagameri in sod., 2022; Botezan in sod., 2023; El-Seedi in sod., 2024).

Zaradi svoje sestave vpliva na koncentracijo holesterola v krvi (Collazo in sod., 2021; El Seedi in sod., 2024; Vittek, 1995), deluje proti gram pozitivnim bakterijam, (Collazo in sod., 2021), pomaga pri boleznih prebavil (Guo in sod., 2021), ima protivnetni učinek (Collazo in sod., 2021, El-Seedi in sod. 2024), stimulira proizvodnjo kolagena, pomaga pri predmenstrualnim sindromom in blaži učinke menopavze (Mishima in sod., 2005), učinkovit naj bi bil celo pri zdravljenju raka (Guo in sod., 2005). Uživanje priporočajo tudi pri odraslih s prekomerno težo, saj pozitivno vpliva na profil lipidov, nasičenost, vnetje in antioksidativno sposobnost organizma (Petelin in sod., 2019). Ugotavljajo tudi, da ima varovalno vlogo pri ohranjanju sposobnosti pomnjenja in bi lahko bil v pomoč pri zdravljenju Alzheimerjeve bolezni (Guo in sod., 2021; Ali in Kunugi, 2021).

Ahmad in sod. (2020) v preglednem članku povzemajo biološke in farmacevtske lastnosti matičnega mlečka in navajajo učinke kot so protimikrobna in antioksidativna učinkovitost, zdravljenje ran, protivnetno delovanje, podaljšanje življenjske dobe, krepitev imunskega sistema, protidiabetično delovanje, protirakavo delovanje, estrogenski učinek, znižanje ravni holesterola, uravnavanje krvnega tlaka in vpliv na rodnost.

Oršolić in Jazvinščak Jembrek (2024) v obsežnem preglednem članku navajata številne biološke značilnosti matičnega mlečka, ki lahko služijo kot osnova za njegovo potencialno uporabo. Matični mleček ima številne fiziološke in farmakološke lastnosti, kot so vazodilatorni, protivnetni, antioksidativni, antihiperholesterolemični, antidiabetični, imunomodulatorni, nevroprotektivni, protimikrobni, estrogenski, antialergijski, antiosteoporotični in protitumorski učinki. Poleg tega lahko matični mleček učinkuje proti staranju ter olajša simptome menopavze in izboljša zdravje reproduktivnega sistema, jeter in ledvic ter pospeši celjenje ran. Avtorici predstavita molekularne mehanizme, na katerih temeljijo koristni učinki matičnega mlečka pri različnih boleznih, staranju in zapletih, povezanih s staranjem, s posebnim poudarkom na bioaktivnih spojinah matičnega mlečka in njihovih lastnostih, ki spodbujajo zdravje. To je lahko spodbuda za prihodnje klinične študije, ki lahko izboljšajo naše znanje o terapevtskem potencialu matičnega mlečka in olajšajo razvoj novih terapevtskih možnosti za izboljšanje zdravja in dobrega počutja ljudi. Na podlagi pregleda različnih kliničnih študij so navedeni tudi priporočeni dnevni vnosi matičnega mlečka za določene starostne skupine bolnikov pri različnih bolezenskih stanjih (Oršolić in Jazvinščak Jembrek, 2024).

Matični mleček s spodbujanjem različnih splošnih metabolnih in endokrinih parametrov lahko izboljša življenje in podaljša življenjsko dobo (Ali in Kunugi, 2021), uživanje priporočajo tudi nekateri zdravniki (Kapš, 2018).

3.2 MATERIAL IN METODE

3.2.1 Zbiranje vzorcev

V raziskavo smo vključili 20 vzorcev svežega matičnega mlečka iz štirih statističnih regij Slovenije (Preglednica 16). Zastopanost vzorcev matičnega mlečka iz posamezne regije ni bila enakomerna, ker število proizvajalcev matičnega mlečka v Sloveniji med regijami ni primerljivo, poleg tega je dobavljivost matičnega mlečka odvisna od čebelarke sezone. Največ, devet (9), vzorcev je prihajalo iz podravske regije, sledila je osrednjeslovenska regija s sedmimi (7) vzorci in nato s po dvema vzorcema gorenjska in savinjska regija.

Vzorci smo zbirali v mesecu juliju. Dva (2) vzorca sta bila pridelana v mesecu maju, sedem (7) v juniju in 11 vzorcev v mesecu juliju.

Preglednica 16: Analizirani vzorci matičnega mlečka.

Zap. Št.	Številka vzorca	Statistična regija	Leto pridelave
1	K. MLEČEK 2024-1	Gorenjska	2024
2	K. MLEČEK 2024-2	Podravska	2024
3	K. MLEČEK 2024-3	Podravska	2024
4	K. MLEČEK 2024-4	Savinjska	2024
5	K. MLEČEK 2024-5	Savinjska	2024
6	K. MLEČEK 2024-6	Podravska	2024
7	K. MLEČEK 2024-7	Podravska	2024
8	K. MLEČEK 2024-8	Osrednjeslovenska	2024
9	K. MLEČEK 2024-9	Osrednjeslovenska	2024
10	K. MLEČEK 2024-10	Podravska	2024
11	K. MLEČEK 2024-11	Podravska	2024
12	K. MLEČEK 2024-12	Podravska	2024
13	K. MLEČEK 2024-13	Podravska	2024
14	K. MLEČEK 2024-14	Osrednjeslovenska	2024
15	K. MLEČEK 2024-15	Osrednjeslovenska	2024
16	K. MLEČEK 2024-16	Osrednjeslovenska	2024
17	K. MLEČEK 2024-17	Osrednjeslovenska	2024
18	K. MLEČEK 2024-18	Posavska	2024
19	K. MLEČEK 2024-19	Posavska	2024
20	K. MLEČEK 2024-20	Savinjska	2024

3.2.2 Senzorična analiza

Senzorično analizo matičnega mlečka smo izvedli s štiričlanskim panelom šolanih senzoričnih preskuševalcev (Slika 6). Barvo in občutek v ustih smo ovrednotili opisno. Celokupno intenzivnost vonja in arome, parametre arome (topla, cvetlična, kemijska in animalna aroma ter aroma po žarkem), okus (sladek, kisel, grenak) in trigeminalno zaznavo (zbadajoč občutek v

ustih, astringenca) smo ovrednotili z metodo kvantitativne opisne analize, z oceno intenzivnosti na 5-stopenjski lestvici od 0 do 4 (0: nezaznavno, 1: komaj zaznavno; 2: šibko intenzivno; 3: srednje intenzivno; 4: močno intenzivno) (ISO 4121:2003).



Slika 6: Panel šolanih senzoričnih preskuševalcev med senzorično analizo vzorcev matičnega mlečka iz programskega leta 2024.

3.2.3 Fizikalno-kemijske analize

Fizikalno-kemijske analize so bile opravljene v dveh oziroma treh vzporednih določitvah, rezultati, katerih se niso razlikovali za več kot 5 %. Vzorce smo hranili v pokritih, pred svetlobo zaščiteneh, steklenih kozarčkih, v hladilniku pri temperaturi 4 °C. Pred analizami smo vzorce dobro homogenizirali. Principi uporabljenih metod z viri so opisani v nadaljevanju.

Določanje vsebnosti vode (Sesta in Lusco, 2008)

Princip metode temelji na refraktometričnem določanju in preračunu vsebnosti vode na osnovi odčitane lomnega količnika.

Določanje vsebnosti beljakovin z metodo po Kjeldahlu (Plestenjak in Golob, 2003)

Določanje vsebnosti beljakovin posredno preko dušika, ob upoštevanju, da prisoten dušik izvira iz beljakovin. Za preračun dušika v beljakovine smo uporabili splošni empirični faktor ($F=6,25$).

Določanje vrednosti pH in skupne kislosti matičnega mlečka (ISO, 2016)

Merjenje vrednosti pH vodne raztopine matičnega mlečka in titracija vzorca z 0,1 M NaOH do vrednosti pH 8,3.

Določanje vsebnosti skupnih fenolnih spojin v matičnem mlečku in antioksidativna učinkovitost (AU)

Skupne fenolne spojine in AU smo določili v izvlečkih iz matičnega mlečka, ki smo jih pripravili s pomočjo ekstrakcije s 96 % etanolom. V 15 mL falkonko smo natehtali 3,0 g vzorca matičnega mlečka in dodali 9,0 mL 96 % etanola. Falkonko smo dobro zaprli in postavili na stresalnik s hitrostjo 175 obratov/min. Vzorci so bili pokriti z aluminijasto folijo. Vsakih 30 min smo vzorce ročno pretresli in jih ponovno postavili na stresalnik. Po 2 urah na stresalniku smo vzorce dali za 30 min na ultrazvočno kopel. Sledilo je ponovno stresanje za 3 ure, kjer smo vzorce po 1 uri ročno pretresli in postavili nazaj na stresalnik, enako smo ponovili čez 1 uro. V celoti je ekstrakcija potekala 5,5 ur. Za vsak vzorec smo opravili ekstrakcijo v dveh paralelkah. Po ekstrakciji smo vzorce filtrirali skozi filter papir in filtrat centrifugirali 10 min pri 4000 obr/min. Supernatant smo previdno odlili v novo falkonko in shranili v hladilnik. Ponovljivost ekstrakcije fenolnih spojin je bila v okviru 5 %.

Vsebnost skupnih fenolnih spojin smo določili v posameznem izvlečku po Folin-Ciocalteu metodi, ki jo je opisal Gutfinger (1981). V reakciji Folin-Ciocalteu reagenta s fenolnimi spojinami nastane modro obarvan kompleks, ki smo ga določili spektrofotometrično z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 765 nm (A_{765}). Analizo smo za vsak izvleček opravili v treh ponovitvah. Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih matičnega mlečka smo izrazili v ekvivalentih galne kisline kot mg galne kisline (GK) na 100 gramov matičnega mlečka ($\text{mg}_{\text{GK}}/100 \text{ g}$).

AU izvlečkov matičnega mlečka smo določili z metodo določitve sposobnosti lovljenja radikala 1,1'-difetil-2-pikrilhidrazil (DPPH•) (Brand-Williams in sod., 1995). Določitev temelji na reakciji med radikalom in antioksidanti (fenolnimi spojinami), kar beležimo kot znižanje absorbance pri valovni dolžini 517 nm (A_{517}). Pripravili smo različne redčitve izvlečkov matičnega mlečka (od 9 do 42 mg/mL). Analizo smo izvedli kot opisujejo El-Guendouz in sod. (2020). AU smo izrazili kot koncentracijo učinkovitosti EC_{50} , ki je definirana kot koncentracija antioksidanta, potrebna za 50 % zmanjšanje absorbance radikala DPPH•. Višja vrednost EC_{50} pomeni slabšo AU.

3.2.4 Statistične metode

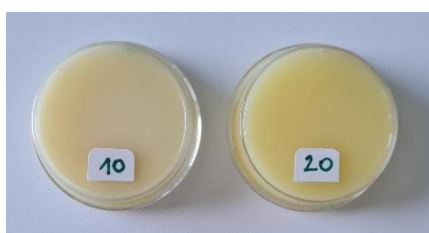
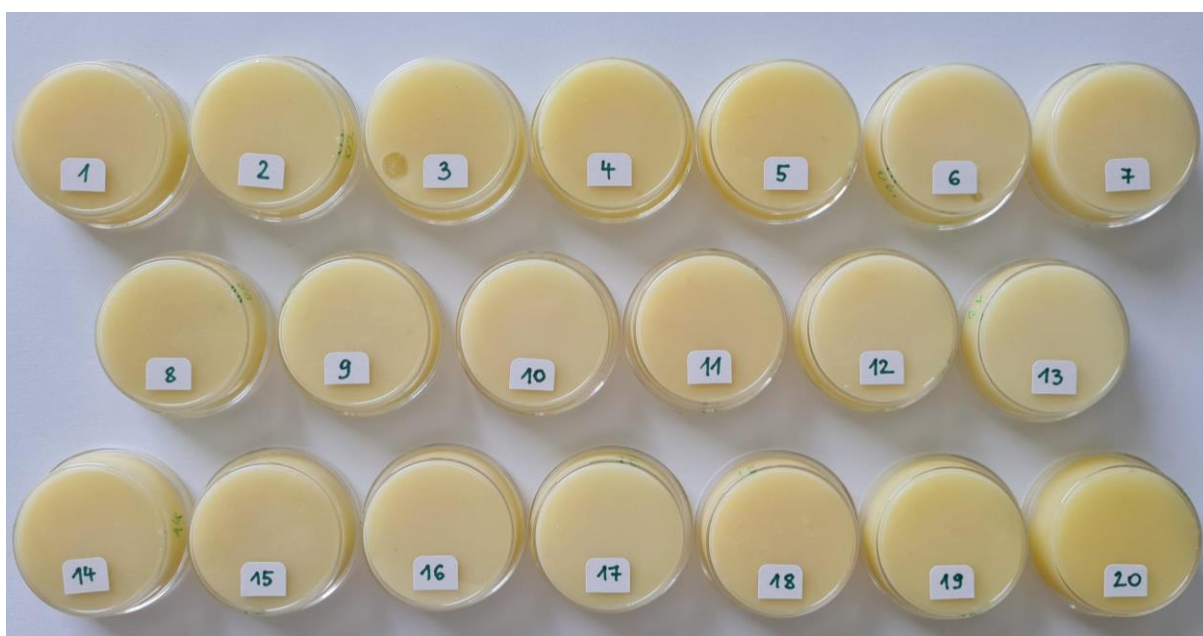
Za posamezen parameter smo izračunali osnovno opisno statistiko:

- povprečna vrednost
- minimalna vrednost (MIN)
- maksimalna vrednost (MAKS)
- standardni odklon (S.D.)

3.3 REZULTATI Z RAZPRAVO

3.3.1 Senzorična ocena

Barva analiziranih vzorcev matičnega mlečka v letu 2024 je svetla in primerljiva z barvo vzorcev matičnega mlečka, vključenih v karakterizacijo čebeljih pridelkov v preteklih letih (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023). Osem vzorcev matičnega mlečka je slonokoščene barve, 6 vzorcev blede rumene barve, 3 vzorci matičnega mlečka so bili svetlo rumene barve. Dva vzorca sta bila svetlo rjavo rumene barve, 1 vzorec je bil rumen (Preglednica 17, Slika 7). Na Sliki 6 spodaj je primerjava barve dveh vzorcev matičnega mlečka (levo slonokoščena – MM10, desno rumena barva – MM20).



Slika 7: Barva vzorcev matičnega mlečka v programskem letu 2024.

Občutek v ustih je bil pri 14 vzorcih matičnega mlečka drobno zrnat, pri štirih vzorcih gladek, pri dveh vzorcih pa zrnat, kot je razvidno iz Preglednice 17.

Za vrednotenje senzoričnega profila matičnega mlečka smo tako kot v letih 2020 do 2023 (skupno 80 vzorcev) uporabili metodo kvantitativne opisne analize, s katero smo ovrednotili

intenzivnost opisnikov vonja in arome s 5-stopenjsko lestvico od 0 do 4 (0: nezaznavno, 1: komaj zaznavno; 2: šibko intenzivno; 3: srednje intenzivno; 4: močno intenzivno), rezultati so prikazani v Preglednici 17.

Celokupna intenzivnost vonja in arome je bila za vzorce matičnega mlečka v povprečju srednje intenzivna. Pri parametrih arome je, podobno kot v vzorcih matičnega mlečka iz let 2020 do 2023 (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023), najbolj intenzivno izražena kemijska aroma (rezkost), z zaznano intenzivnostjo v intervalu med 2 in 4. Topla aroma (po vosku) je v večini vzorcev matičnega mlečku šibko do srednje intenzivno izražena (1,5 do 2,5), v vzorcu 9 pa je bila bolj intenzivna (v povprečju 3,5), medtem ko je animalna aroma komaj zaznavna do šibko intenzivna. Aroma po cvetju je v območju od 0,5 do 2. Ker so bili vsi vzorci matičnega mlečka sveži, pričakovano ni bilo zaznati arome po žarkem. Okus matičnega mlečka je bil v povprečju šibko sladek ter srednje kisel. Grenek okus smo v zelo nizki intenzivnosti (0,5) zaznali v treh vzorcih. Značilna lastnost matičnega mlečka je tudi astringenca (trpek, pikajoč občutek v ustih), ki je bila večinoma srednje intenzivna.

Analizirani vzorci matičnega mlečka letošnjega leta imajo večinoma primerljivo intenzivnost izbranih senzoričnih lastnosti kot vzorci iz preteklih let karakterizacije, ko smo v programskih letih 2020, 2021, 2022 in 2023 analizirali po 20 vzorcev letno. Nekoliko bolj intenzivno izražena je bila cvetlična aroma (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023).

Izpostaviti je potrebno 2 vzorca, analizirana v letošnjem letu, to sta vzorca 18 in 20, ki glede posameznih senzoričnih lastnosti odstopata. Vzorec 18 je pri vrednotenju celokupne intenzivnosti arome, kemijske arome (rezkost) in kislega okusa dobil maksimalno število točk, 4. Imel je močno intenziven in neznačilen vonj in aromo po fermentiranem sadju in očetni kislini, ter je bil izrazito kisel. Možno je, da se je v tem vzorcu že začela fermentacija. Vzorec 20 pa je imel prej omenjene parametre, v primerjavi z večino vzorcev, manj intenzivno izražene, intenzivnost kislega okusa in kemijske arome je bila samo šibko izražena. Ta vzorec je bil tudi izrazito gladek in neobičajne, zelo kremaste teksture (kot puding), ter je bil v primerjavi z drugimi vzorci najtemnejši, zato bi bilo smiselno preveriti še kakšne dodatne parametre za preverjanje pristnosti.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Preglednica 17: Rezultati senzorične analize vzorcev matičnega mlečka.

Vzorec	Barva	Celokupna intenzivnost vonja	Celokupna intenzivnost arome	Aroma					Okus			Trigeminalna zaznava (zbadanje, astringenca)	Občutek v ustih
				topla (vosek)	cvetlična (cvetje)	kemijska (rezek)	animalna (hlev)	po žarkem	sladek	kisel	grenek		
K. MLEČEK 2024-1	bledo rumena	3	3	2	1	3	0,5	0	2	3	0	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-2	bledo rumena	3	3,5	3	1,5	3	0,5	0	1,5	2,5	0	3,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-3	bledo rumena	3	3,5	3	1,5	3	1,5	0	2,5	2,5	0	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-4	svetlo rumena	3	3,5	2	1	3,5	1	0	1,5	3,5	1	3,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-5	svetlo rumena	2,5	3	2,5	1,5	2,5	0	0	2,5	2,5	0	2,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-6	slonokoščena	2,5	3	2,5	1	2	1	0	3	2	0	2,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-7	slonokoščena	3	3,5	2,5	1	3,5	1	0	2,5	3	0	3,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-8	bledo rumena	3	3	2	1	3	1,5	0	2	3	0	3,5	zrnat
K. MLEČEK 2024-9	slonokoščena	3,5	3,5	3,5	2	2	1	0	2	2,5	0,5	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-10	slonokoščena	3	3,5	2	1	3,5	1	0	1,5	3,5	0,5	3	gladek
K. MLEČEK 2024-11	svetlo rjavo rum.	2,5	3	2,5	1,5	3	0,5	0	2	3	0	3	gladek
K. MLEČEK 2024-12	slonokoščena	2,5	3,5	2	1	3	1	0	2	3	0	3	zrnat
K. MLEČEK 2024-13	slonokoščena	2,5	3	2,5	1,5	2,5	0,5	0	2,5	2,5	0	2,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-14	bledo rumena	3	3	2	1	2	2,5	0	1,5	3	0	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-15	slonokoščena	2,5	2,5	2	1,5	2,5	0,5	0	2	2,5	0	2,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-16	bledo rumena	3	3	2	2	2,5	0,5	0	2,5	2,5	0	2,5	gladek
K. MLEČEK 2024-17	slonokoščena	2,5	3	2	1,5	2,5	1	0	2,5	2,5	0	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-18	svetlo rjavo rum.	3,5	4	1,5	0,5	4	1	0	1,5	4	0	3,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-19	svetlo rumena	3	3	2,5	1,5	2,5	1	0	2	3	0	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2024-20	rumena	2	2,5	1,5	1	2	0,5	0	2,5	2	0	2	gladek

lestvica: 0: nezaznavno, 1: komaj zaznavno, 2: šibko intenzivno, 3: srednje intenzivno, 4: močno intenzivno

3.3.2 Fizikalno-kemijski parametri

V Preglednici 18 so predstavljeni rezultati analiz vzorcev matičnega mlečka letnika 2024, to je vsebnost vode, beljakovin, vrednost pH, kislost, vsebnost skupnih fenolnih spojin ter antioksidativna učinkovitost, izražena kot koncentracija učinkovitosti EC₅₀.

Preglednica 18: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz slovenskega matičnega mlečka

Oznaka vzorca	Parameter					
	Vsebnost vode (g/100 g)	Vsebnost beljakovin (g/100 g)	Vrednost pH	Kislost (mL 1 M NaOH/100 g)	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mgGK/100 g)	AU (DPPH• -EC ₅₀) (mg/mL)
K. MLEČEK 2024-1	64,8	12,37	3,93	42,3	29,2	30,9
K. MLEČEK 2024-2	65,0	12,65	4,01	45,0	32,7	33,2
K. MLEČEK 2024-3	66,3	11,14	3,95	44,1	22,2	49,8
K. MLEČEK 2024-4	63,8	12,79	3,98	45,2	29,3	40,5
K. MLEČEK 2024-5	64,2	13,08	3,98	42,2	34,4	33,3
K. MLEČEK 2024-6	66,6	11,03	4,00	41,8	29,0	34,7
K. MLEČEK 2024-7	66,2	11,21	3,98	42,5	30,3	30,4
K. MLEČEK 2024-8	65,9	12,95	3,86	49,1	32,4	27,7
K. MLEČEK 2024-9	66,6	11,92	3,94	48,0	27,5	33,3
K. MLEČEK 2024-10	63,7	12,12	3,87	46,1	33,3	26,2
K. MLEČEK 2024-11	63,6	11,80	3,86	44,7	32,7	30,9
K. MLEČEK 2024-12	64,8	12,31	3,91	45,6	28,4	38,3
K. MLEČEK 2024-13	66,2	11,51	3,94	44,2	26,6	37,5
K. MLEČEK 2024-14	66,3	11,77	3,88	44,6	37,7	28,5
K. MLEČEK 2024-15	65,9	12,05	3,87	46,3	32,8	33,4
K. MLEČEK 2024-16	63,6	12,26	3,96	46,5	33,3	35,2
K. MLEČEK 2024-17	64,7	12,33	4,01	43,2	26,8	35,5
K. MLEČEK 2024-18	65,0	12,48	3,88	51,5	30,8	33,7
K. MLEČEK 2024-19	66,6	13,15	3,97	44,5	24,6	40,4
K. MLEČEK 2024-20	61,3	13,90	3,99	32,7	18,2	70,9
Povprečje*	65,2	12,15	3,93	45,1	30,2	34,4
S.D.*	1,1	0,64	0,05	2,5	3,7	5,4
MIN	61,3	11,03	3,86	32,7	18,2	26,2
MAKS	66,6	13,90	4,01	51,5	37,7	70,9

* v izračun povprečja in vrednosti standardnega odklona zaradi odstopanj nismo vključili vzorca 20.

S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost; GK: galna kislina; AU: antioksidativna učinkovitost; EC₅₀: koncentracija učinkovitosti

Vsebnost vode v vzorcih matičnega mlečka smo izračunali na podlagi izmerjenega lomnega količnika. Iz Preglednice 18 je razvidno, da je vsebnost vode v vzorcih matičnega mlečka slovenskega porekla variirala med 61,3 in 66,6 g/100 g. Izstopa vzorec 20, ki ima vsebnost vode manjšo, kot je spodnja meja, določena v ISO standardu za matični mleček, ter v povprečju za 6

% manjšo vsebnost vode kot ostali vzorci, ki so glede vsebnosti vode ustrezali standardom kakovosti za svež matični mleček, ki navaja vrednosti 62,0 - 68,5 g/100 g (ISO, 2016). V raziskavi, ki so jo opravili Ma in sodelavci (2022), so z metodo sušenja določili primerljive vsebnosti vode v vzorcih matičnega mlečka.

Vsebnost beljakovin smo določili z metodo po Kjeldahlu. Iz Preglednice 18 je razvidno, da je bila vsebnost beljakovin v analiziranih vzorcih matičnega mlečka v območju od 11,03 do 13,90 g/100 g, s povprečno vrednostjo 12,15 g/100 g (izvzet vzorec 20), kar je primerljivo z rezultati vsebnosti beljakovin v matičnem mlečku v preteklih letih (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023). Vsi vzorci so ustrezali priporočenim vrednostim, kot jih navajajo Sabatini in sod. (2009) (9 do 18 g/100 g) oz. ISO standard (11 do 18 g/100 g), je pa imel že prej omenjeni vzorec 20 za 14 % večjo vsebnost beljakovin, kot je povprečje v preostalih vzorcih.

Vrednosti pH se gibljejo v ozkem območju, od 3,86 do 4,01, v povprečju 3,93, povprečna kislost pa je bila (če izvajamo vzorec 20) 45,1 mL 1 M NaOH/100 g. Vsi analizirani vzorci so glede vrednosti pH in kislosti ustrezali standardom kakovosti za svež matični mleček (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016). Sta pa vzorca 18 in 20, ki sta imela specifične senzorične lastnosti, pri kislosti odstopala. Vzorec 18, ki je bil izrazito kisel, z močno izraženo kemijsko aromo (rezkost), je dosegel največjo kislost, in sicer 51,5 mL 1 M NaOH/100 g, kar je lahko posledica možne fermentacije tega vzorca. Nasprotno je imel vzorec 20, za katerega smo pri senzorični analizi ugotovili samo šibko izraženo intenzivnost vonja in arome, kemijsko aromo in šibko intenziven kisel okus, zelo majhno kislost, 32,7 mL 1 M NaOH/100 g. Pri preostalih vzorcih matičnega mlečka je kislost variirala od 41,8 do 49,1 mL 1 M NaOH/100 g.

Rezultati vsebnosti vode in beljakovin ter vrednosti pH in kislosti so primerljivi z vrednostmi, ki jih za hrvaški svež matični mleček (13 vzorcev) navajajo Flanjak in sod. (2019).

Vsebnost skupnih fenolnih spojin, izražena kot ekvivalent galne kisline, je bila v območju od 18,2 do 37,7 mg_{GK}/100 g (Preglednica 17), v povprečju 30,2 mg_{GK}/100 g. Rezultati so primerljivi z vrednostmi, ki jih za slovenski matični mleček navaja Rak (2018), ki je analizirala 10 vzorcev slovenskega matičnega mlečka, in določila med 31 in 41 mg_{GK}/100 g mlečka. Nekolike manjše vsebnosti (9,1 do 30,1 mg_{GK}/100 g) navajajo Kolayli in sod. (2016), v drugih objavljenih študijah pa za matični mleček različnega geografskega porekla večinoma navajajo večje vsebnosti skupnih fenolnih spojin (Pavel in sod., 2014; Özkök in Silici, 2017; Adaškevičiūtė in sod., 2019; El-Guendouz in sod., 2020).

Antioksidativno učinkovitost matičnega mlečka smo izrazili kot koncentracijo učinkovitosti EC₅₀ (koncentracija antioksidanta, potrebna za 50 % zmanjšanje absorbance radikala DPPH•). Izstopa vzorec matičnega mlečka 20, ki je imel najmanjšo vsebnost skupnih fenolnih spojin, kjer je vrednost EC₅₀ 70,9 mg/ml, kar pomeni, da je antioksidativna učinkovitost v povprečju dvakrat manjša kot v ostalih vzorcih matičnega mlečka, kjer je bila vrednost EC₅₀ v območju

med 26,2 in 49,8 mg/mL, v povprečju 34,4 mg/mL, kar je primerljivo z letom 2023 (Debelak in sod., 2023)

Vzorci z večjo vsebnostjo skupnih fenolnih spojin imajo praviloma večjo AU (nižja vrednost EC_{50}), kar smo potrdili za analizirane vzorce matičnega mlečka. Korelacija med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in AU je značilna ($p < 0,05$), koeficient korelacije znaša 0,83, kar je primerljivo s koeficienti korelacije za zvezo med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in EC_{50} pri analiziranih vzorcih matičnega mlečka v letih 2020-2023, ko so zavzemali območje od 0,74 do 0,91.

Povprečja in območja vrednosti so, z izjemo vzorca 20, znotraj vrednosti za obravnavane fizikalno-kemijske parametre 80 vzorcev matičnega mlečka, analiziranih v letih 2020-2023 v okviru Karakterizacije čebeljih pridelkov (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023).

3.4 ZAKLJUČEK

Rezultati analiziranih 20 vzorcev matičnega mlečka slovenskega porekla letnika 2024 kažejo, da vzorci matičnega mlečka v analiziranih parametrih večinoma ustrezajo vrednostim, ki jih predvideva ISO standard za matični mleček (ISO, 2016). Podatkovno zbirko o slovenskem matičnem mlečku smo, tako kot v prejšnjem programskem obdobju (2020-2022) in v prvem letu Karakterizacije čebeljih pridelkov 2023-2025 (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023), dopolnili z opisom senzoričnih lastnosti, vsebnostjo skupnih fenolnih spojin ter antioksidativno učinkovitostjo.

Intenzivnost vonja in arome matičnega mlečka je v povprečju srednje intenzivna. Pri parametrih arome najbolj izstopa kemijska aroma (rezkost), večinoma šibko izražena je topla aroma (po vosku), medtem ko sta aroma po cvetju in animalna aroma komaj zaznavni do šibki. Okus matičnega mlečka je šibko sladek ter srednje kisel. Značilna lastnost matičnega mlečka je tudi astringenca, ki je večinoma srednje intenzivna. Rezultati vzorcev iz leta 2024 so, z izjemo vzorcev 18 in 20, primerljivi z rezultati v letih 2020-2023 (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023).

Vzorci matičnega mlečka letnika 2024, z izjemo vzorca 20, so v veliki meri primerljivi z vzorci prejšnjih programskih obdobj tudi glede fizikalno-kemijskih lastnosti. Vsebnost vode, beljakovin in pH so zelo blizu troletnega povprečja prejšnjega programskega obdobja, vsebnost kislin je nekoliko višja (Kandolf Borovšak in sod., 2022). Našteti parametri so primerljivi tudi z rezultati iz leta 2023, le da je kislost nekoliko večja. Večja vsebnost skupnih fenolnih spojin in nižji EC_{50} (DPPH•) v primerjavi z obdobjem 2020-2022 pa pomenita, da imajo vzorci iz leta 2024 za odtenek višjo antioksidativno učinkovitost od povprečja prejšnjega programskega obdobja (Kandolf Borovšak in sod., 2022). V primerjavi z letom 2023 je antioksidativna učinkovitost nekoliko nižja, enako tudi vsebnost skupnih fenolnih spojin (Debelak in sod. 2023).

Izpostaviti je potrebno vzorec matičnega mlečka 20, ki je imel v primerjavi z drugimi vzorci manj intenziven vonj in aromo, intenzivnost kislega okusa in kemijske arome je bila samo šibko izražena, tudi rezkost ni bila izrazita. Ta vzorec je bil tudi izrazito gladek in neobičajne, zelo kremaste teksture ter je bil v primerjavi z drugimi vzorci najtemnejši. Pri kemijski analizi smo pri tem vzorcu ugotovili znatna odstopanja pri vsebnosti vode, beljakovin in skupnih fenolnih kislin, kislosti in antioksidativni učinkovitosti, zato bi bilo smiselno preveriti še kakšne dodatne parametre za preverjanje pristnosti.

3.5 VIRI

Ahmad S., Campos M.G., Fratini F., Altaye S.Z., Li J. 2020. New insights into the biological and pharmaceutical properties of royal jelly. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, 382, doi:10.3390/ijms21020382: 26 str.

Adaškevičiūtė V., Kaškonienė V., Kaškonas P., Barčauskaitė K., Maruška A. 2019. Comparison of physicochemical properties of bee pollen with other bee products. *Biomolecules*, 9: 819. doi:10.3390/biom9120819

Ali A. M., Kunugi H. 2020. Royal jelly as an intelligent anti-aging agent- a focus on cognitive aging and Alzheimer's disease: a review. *Antioxidants*, 2020, 9: 937, <https://doi.org/10.3390/antiox9100937>

Antinelli J.F., Zeggane S., Davico R., Rognone C., Faucon J.P., Lizzani L. 2003. Evaluation of (E)-10-hydroxydec-2-enoic acid as a freshness parameter for royal jelly. *Food Chemistry*, 80, 1: 85-89

Bagameri L., Baci G.-M., Dezmirean D.S. 2022. Royal jelly as a nutraceutical natural product with a focus on its antibacterial activity. *Pharmaceutics*, 14, 1142.

Bagameri, L., Sara B., Otilia B., Victorita B., Dezmirean D. S. 2023. Molecular Insights into Royal Jelly Anti-Inflammatory Properties and Related Diseases. *Life* 13, 7: 1573.

Bărnuțiu I.L., Mărghitaș Al.L., Dezmirean S.D., Mihai M.C., Bobiș O. 2011. Chemical composition and microbial activity of royal jelly – review. *Animal Science and Biotechnologies*, 44, 2: 67-72

Bertoncelj. J. 2008. Identifikacija in vsebnost nekaterih antioksidantov v slovenskem medu. Doktorska disertacija, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 124 str.

Bogdanov S. 2011. The royal jelly book: Royal jelly and bee bread: harvest, composition, quality. V: *The royal jelly book*, 1: 1-13
<http://www.bee-hexagon.net/royal-jelly/> (junij 2017)

Boselli E., Caboni M.F., Lercker G., Marcazzan G.L., Sabatini A.G., Baggio A., Prandin L. 2002. Valutazione di produzioni apistiche: gelatina reale e cera. V: *Atti del convegno finale del Progetto Finalizzato AMA "Il ruolo della ricerca in apicoltura"*: 321-329

Botezan S., Baci G.-M., Bagameri L., Pașca C., Dezmirean D.S. 2023. Current status of the bioactive properties of royal jelly: A comprehensive review with a focus on its anticancer, anti-inflammatory, and antioxidant effects. *Molecules*, 28, 1510.
<https://doi.org/10.3390/molecules28031510>

Božnar A. 2011. Matični mleček. V: Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje. Zdešar P. (ur.), Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 335-362

Brand-Williams W., Cuvelier M. E., & Berset C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 28: 25-30

Chen C., Chen S. 1995. Changes in protein components and storage stability of royal jelly under various conditions. *Food Chemistry*, 54, 2: 195-200

Collazo N., Carpena M., Nuñez-Estevez B., Otero P., Simal-Gandara J., Prietto M. A. 2021. Health promoting properties of bee royal jelly: food of the queens. *Nutrients*, 2021, 13: 543,
<https://doi.org/10.3390/nu13020543>

Daniele G., Casabianca H., 2012. Sugar composition of French royal jelly for comparison with commercial and artificial sugar samples. *Food Chemistry*, 134: 1025-1029

Debelak A., Janžekovič A., Ratajc U., Samec T. 2023. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov za leto 2023. Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije, 124 str.

El-Guendouz S., Machado A.M., Aazza S., Lyoussi B., Miguel M.G., Mateus M.C., Figueiredo A.C. 2020. Chemical characterization and biological properties of royal jelly samples from the Mediterranean area. *Natural Product Communications*, 15, 2: 1-13

El-Guendouz S., Lyoussi B., Miguel M.G. 2020a. Insight into the chemical composition and biological properties of Mediterranean royal jelly. *Journal of Apicultural Research*, doi: 10.1080/00218839.2020.1744241

El-Seedi, H.R.; Salama, S.; El-Wahed, A.A.A.; Guo, Z.; Di Minno, A.; Daglia, M.; Li, C.; Guan, X.; Buccato, D.G.; Khalifa, S.A.M.; et al. 2024. Exploring the Therapeutic Potential of Royal Jelly in Metabolic Disorders and Gastrointestinal Diseases. *Nutrients* 2024, 16, 393.
<https://doi.org/10.3390/nu16030393>

Flanjak I., Primorac L., Vukadin I., Kovačić M., Puškadija Z., Bilić Rajs B. 2019. Physicochemical characteristics of Croatian royal jelly. *Croatian Journal of Food Science and Technology*, 11, 2: 266-271

Fratini F., Cilia G., Mancini S., Felicioli A. 2016. Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiological Research*, 192: 130-141

Garcia-Amoedo L.H., Almeida-Muradian L.B. 2007. Physicochemical composition of pure and adulterated royal jelly. *Quimica Nova*, 30, 2: 257-259

Genç M., Aslan A. 1999. Determination of trans-10-hydroxy-2-decenoic acid content in pure royal jelly and royal jelly products by column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 839, 1-2: 265-268

Giampieri F., Quiles J.L., Cianciosi D., Forbes-Hernández T.Y., Orantes-Bermejo F.J., Alvarez-Suarez J.M., Battino M. 2022. Bee products: An emblematic example of underutilized sources of bioactive compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 70: 6833-6848

Ghosh S., Jang H., Sun S., Jung C. 2024. Nutrient composition and quality assessment of royal jelly samples relative to feed supplements. *Foods*, 13, 1942.
<https://doi.org/10.3390/foods13121942>

Guo H., Kouzuma Y., Yonekura M. 2009. Structure and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chemistry*, 113: 238-245

Guo J., Wang Z., Chen Y., Cao J., Tian W., Ma B. Dong Y. 2021. Active components and biological functions of royal jelly. *Journal of Functional Foods*, 82: 1-7
<https://doi.org/10.1016/j.jff.2021.104514>

Gutfinger T. 1981. Polyphenols in olive oils. *Journal of the American Oil Chemist Society*, 58: 966-968

ISO 4121. 2003. Sensory analysis – Guidelines for the use of quantitative response scales: 9 str.

Hashemirad, F.S., Behfar, M. and Kavooosi, G. 2024. Proximate composition, physico-chemical, techno-functional, amino acid profile, fatty acid profile, nutritional quality, antioxidant, anti-amylase and anti-lipase properties of bee bread, royal jelly, and bee propolis. *LWT*, 200: p.116190.

Hu F. L., Bilikova K., Casabianca H., Daniele G., Espindola F. S., Feng M., Guan C., Han B. Krakova T. K., Li J. K., Li X. A., Šimuth J., Wu L. M., Wu Y. Q., Xue X. F., Xue Y. B., Yamaguchi K., Zeng T. J., ZHeng H. Q., Zhou J. H. 2019. Standard methods for *Apis mellifera* royal jelly research. *Journal of Apicultural Research*, 58, 2: 1-68

ISO 12824. Royal jelly – Specifications. 2016: 35 str.

Kandolf B. A., Lilek, N., Bertoncej, J., Korošec, M., Klemenčič Štrukelj, N. 2019. Končno poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov ter vpliv postopkov obdelave in shranjevanja cvetnega prahu na njegovo kemijsko in mikrobiološko sestavo. Lukovica: Čebelarstva zveza Slovenije: 128 str.

Kandolf Borovšak. A., Lilek, N., Samec, T., Bertoncej, J., Korošec, M. 2020. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica: Čebelarstva zveza Slovenije: 38-56

Kandolf Borovšak. A., Lilek, N., Samec, T., Bertoncej, J., Korošec, M. 2021. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica: Čebelarstva zveza Slovenije: 43-65

Kandolf Borovšak, A., Lilek, N., Samec, T., Bertoncej, J., Korošec, M., Debelak A., Janžekovič, A. 2022: Končno poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica, Čebelarstva zveza Slovenije: 193 str.

Kanelis D., Tananaki C., Liolios V., Dimou M., Goras G., Rodopoulou M. A., Karazafiris E., Thrasyvoulou A. 2015. A suggestion for royal jelly specifications. Archives of Industrial Hygiene and Toxicology, 66: 275-284

Kanelis D., Liolios V., Rodopoulou M.-A., Papadopoulou F., Tananaki C. 2024. Production and Quality Characteristics of Royal Jelly in Relation to Available Natural Food Resources. Resources, 13, 4: 55. <https://doi.org/10.3390/resources13040055>

Kapš P. 2018. Zdravnik svetuje. Lukovica, Čebelarstva zveza Slovenije, 14-16

Khalfan Saeed Alwali Alkindi, F., El-Keblawy, A., Lamghari Ridouane, F., & Bano Mirza, S. 2024. Factors influencing the quality of Royal jelly and its components: a review. Cogent Food & Agriculture, 10, 1: <https://doi.org/10.1080/23311932.2024.2348253>

Kolayli S., Sahin H., Can Z., Yildiz O., Malkoc M., Asadov A. 2016. A member of complementary medical food: Anatolian royal jellies, their chemical compositions and antioxidant properties. Journal of Evidence Based Complementary & Alternative Medicine, 21: NP43-NP48

Ma C., Ma B., Li J., Fang Y. 2022. Changes in chemical composition and antioxidant activity of royal jelly produced at different floral periods during migratory beekeeping. Food Research International, 111091: 11str.

Maghsoudlou A., Mahoonak A.S., Mohebodini H., Toldra F. 2019. Royal jelly: chemistry, storage and bioactivities. *Journal of Apicultural Research*, 63, 1: 17-40

Mishima s., Suzuki K. M., Isohama Y., Kuratsu N., Araki Y., Inoue M., Miyata T. 2005. Royal jelly has estrogenic effects in vitro and in vivo. *Journal of ethnopharmacology*, 101, 1: 215-220

Morgado L. N., Barth O. M. 2011. The detection of pollen in royal jelly of honey bees (*Apis mellifera*). *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 3, 3: 137-139

Oršolić N., Jazvinščak Jembrek M. 2024. Royal jelly: Biological action and health benefits. *International Journal of Molecular Sciences*, 25, 6023. <https://doi.org/10.3390/ijms25116023>

Özkök D., Silici S. 2016. Antioxidant activities of honeybee products and their mixtures. *Food Science Biotechnology*, 26, 1: 201-206

Pavel C.I., Mărghitaş L.A., Dezmirean D.S., Tomoş L.I., Bonta V., Şapcaliu A., Buttstedt A. 2014. Comparison between local and commercial royal jelly - use of antioxidant activity and 10-hydroxy-2-decenoic acid as quality parameter. *Journal of Apicultural Research*, 53, 1: 116-123

Petelin A., Kenig S., Kopinč R., Deželak M., Černelič Bizjak M., Jenko Pražnikar Z. 2019. Effects of royal jelly administration on lipid profile, satiety, inflammation, and antioxidant capacity in asymptomatic overweight adults. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*, 2019: 1-11, doi: 10.1155/2019/4969720

Popescu O., Mărghitas Al.L., Dezmirean S.D., Mureşan O.L, Laslo L., Tofalvi M. 2008. A characterization about physical-chemical composition of royal jelly. *Bulletin Animal Science and Biotechnologies*, 67, 1-2: 244-248

Rak M. 2018. Fenolni profil slovenskega matičnega mlečka. Magistrsko delo. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 66 str.

Ramadan F.M., Al-Ghamdi A. 2012. Bioactive compounds and health-promoting properties of royal jelly: A review. *Journal of Functional Foods*, 4, 1: 39-52

Sabatini G.A., Marcazzan L.G., Caboni F.M., Bogdanov S., Bicudo de Almeida-Muradian L. 2009. Quality and standardisation of royal jelly. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1, 1: 16-21

The National Honey Boars. 2003. Honey-Health and therapeutic qualities. Longmont The National Boards: 27 str.

(<http://www.biologiq.nl/UserFiles/Compendium%20Honey%202002.pdf>) (Avgust 2020)

Schmitzova J., Klaudiny J., Albert S., Schroder W., Schreckengost W., Hanes J. 1998. A family of major royal jelly proteins of the honeybee *Apis mellifera* L. Cellular and Molecular Life Sciences, 54: 1020-1030

Stocker A., Rossmann A., Kettrup A., Bengsch E. 2006. Detection of royal jelly adulteration using carbon and nitrogen stable isotope ratio analysis. Rapid Communications in Mass Spectrometry, 20, 2: 181-184

Šimúth J. 2001. Some properties of the main protein of honeybee (*Apis mellifera*) royal jelly. Apidologie, 32, 1: 69-80

Vittek J. 1995. Effect of royal jelly on serum lipids in experimental animals and humans with atherosclerosis. Experimentia, 51, 9-10: 927-935

Wang, Y., Ma, L., Wang, H., Liu, Z., Chi, X., Xu, B. 2023. Effects of Sucrose Feeding on the Quality of Royal Jelly Produced by Honeybee *Apis mellifera* L.. Insects, 14, 742: 1-12

Winston M. L., 1987. The Biology of the honey bee. London, Harvard University Press: 1-224

Wongchai V., Ratanavalachai T. 2002. Seasonal variation of chemical composition of royal jelly produced in Thailand. Thammasat International Journal of Science and Technology, 7, 2: 1-8

Yu, X., Tu, X., Tao, L., Daddam, J., Li, S. and Hu, F., 2023. Royal Jelly fatty acids: Chemical composition, extraction, biological activity, and prospect. Journal of Functional Foods, 111, p.105868.

Zheng H.Q., Hu F.L., Dietemann V. 2010. Changes in composition of royal jelly harvested at different times: consequences for quality standards. Apidologie, 41: 1-9

Zhou J., Zhao J., Yuan H., Meng Y., Li Y., Wu L., Xue X. 2007. Comparison of UPLC and HPLC for determination of trans-10-hydroxy-2-decenoic acid content in royal jelly by ultrasound-assisted extraction with internal standard. Chromatographia, 66, 3-4: 185-190

Žohar T. 2018. Vpliv skladiščenja na nekatere parametre matičnega mlečka. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23 str.

4 PROPOLIS

4.1 PREGLED OBJAV O PROPOLISU

Propolis je lepljiva, smolnata snov, grenkega okusa in močnega, prijetnega vonja po rastlinskih popkih, medu, vosku. Že v antiki so mu namenjali posebno pozornost. Čebelarji so opazovali čebele, kako so pred vhodom v svoje panje gradile steno iz propolisa. Beseda propolis izvira iz dveh besed »pro« pomeni pred, »polis« pa mesto (Burdock, 1998). Latinska beseda propolis pa pomeni zamazati, zgladiti. Beseda propolis je prepoznavna celemu svetu, v vseh jezikih, zgodovinska odkritja pa kažejo, da so ga v medicini uporabljali tako stari Egipčani, Babilonci, Arabci, stari Grki, Rimljani, Kitajci in tudi drugi stari narodi našega planeta. Propolisu pravimo tudi zadelavina.

Glavna funkcija propolisa v panju je ohranjanje sterilnega okolja in preprečevanje nastanka bolezni v čebelji družini. Je gradbeni in dezinfekcijski material v panju, saj je naravni antibiotik s širokim spektrom delovanja. Deluje protimikrobno, protivnetno, proti tumorjem, ulcerjem in drugim povzročiteljem bolezni, je dober antioksidant (Huang in sod., 2014).

Izdelki iz propolisa se prodajajo kot prehransko dopolnilo, uporabni so v medicini in kozmetiki (Medić Šarić in sod., 2013). V različnih državah imajo različen status. V Nemčiji, Veliki Britaniji, Švici veljajo za zdravilo, v Avstriji, ZDA, Braziliji in na Japonskem pa kot prehransko dopolnilo. Glede statusa so različne zahteve (Jedlovčnik in Pušnik, 2011). Obstajajo prizadevanja za okvirno standardizacijo vsebnosti nekaterih sestavin v propolisu (Medić Šarić in sod., 2013; Zuhendri in sod., 2021), kar pa je zelo težavno, saj so v sestavi vzorcev propolisa ogromne razlike. Razlike v sestavi so tudi posledica uporabljenih različnih analitskih metod (Šuran in sod., 2021; Martinello in Mutinelli, 2021), velike razlike lahko nastanejo že zaradi uporabe različnega topila, potrebnega pri analizi. Bolj polarna topila so bolj uspešna pri ekstrakciji polarnih molekul, nepolarna pa bolj topijo nepolarne molekule (Šuran in sod., 2021), paziti je potrebno tudi na čas uporabe ultrazvoka, ki lahko povzroči degradacijo fenolnih spojin (Martinello in Mutinelli, 2021). Ne glede na uporabo topila in sestavo propolisa pa propolis deluje protimikrobno, protivirusno, protivnetno in ima visoko antioksidativno učinkovitost (Medić Šarić in sod., 2013; Šuran in sod., 2021), ki je lahko posledica sinergističnega delovanja sestavin propolisa (Huang in sod., 2014).



Slika 8: Propolis, pridobljen na namensko vstavljenih pripomočkih.

4.1.1 Nastanek in pomen propolisa

Naloga smole na popkih je, da jih zaščiti pred zmrzaljo. Nabiranje smol je naloga čebel v glavnem po paši, v času paše dajejo prednost nektarju, mani in cvetnemu prahu.

Nabiralni nagon za nabiranje propolisa je odvisen od potreb in moči čebelje družine. Močnejša kot je čebelja družina, večje so njene potrebe po propolisu, zato je intenzivnejše tudi iskanje surovin zanj. Večje količine propolisa lahko pričakujemo v močnejših čebeljih družinah, zato je pomembno, da imamo v času pridobivanja propolisa močne čebelje družine.

Smole nabirajo vsaj 15 dni stare čebele. Za čebele se smole uporabno zmeščajo pri okoli 20 °C, pri tej temperaturi so čebele na delu med 10. in 16. uro dneva. Čez dan tovor odlagajo na stične točke delov v panju, najraje v reže in propolizirajo šele po 16. uri (Jedlovčnik in Pušnik, 2011). Nabranim smolam čebele dodajo še izloček žlez slinavk ter vosek, da snov postane bolj lepljiva (Burdock, 1998).

Največ smol naberejo čebele na iglastem drevju, topolih, brezi, vrbah, jelšah, divjem kostanju, brestu in na koščičastih sadnih drevesih (Burdock, 1998) in to v avgustu, septembru in oktobru. Letni pridelek je odvisen od geografske in klimatske lege čebelnjaka, od primerne rasti rastlinstva v okolici čebelnjaka, od čebelarjeve tehnologije zbiranja, od vrste/rase čebel, od moči čebelje družine in od vrste panja. Letni donos znaša od 20 do 400 g na čebeljo družino, kavkaška čebelja družina pa lahko zbere tudi od 250 do 1000 g propolisa na leto.

Čebele s propolisom razkužijo notranje panjske površine in vse dele panja, zamašijo reže in odprtine v panjskih delih, v krajih z zelo nizkimi temperaturami včasih celo zožijo žrela. Najbolj propolizirajo prostore tik ob žrelu. Čebele z njim razkužijo celice, ki jih bo matica zaleгла,

pritrjujejo premične dele v panju in ga dodajajo pri izdelavi satja. S propolisom premažejo tudi vse vsiljivce, ki so jih ubile v panju, s čimer preprečijo razpad teh organizmov in razmnoževanje klic v razpadajočem telesu vsiljivcev in okužbo družine (Jedlovčnik in Pušnik, 2011).

4.1.2 Sestava propolisa

Sestava propolisa je raznolika, odvisna je od rastlin, na katerih so čebele nabirale surovine zanj, od klimatskih razmer v času nabiranja pa tudi od načina pridobivanja in vrste čebel, ki imajo močno preferenco do posameznega tipa rastlin (Bankova in sod., 2002). V grobem propolis sestavljajo smole (fenolne spojine) in rastlinski balzami (50 %), vosek (30 %), eterična olja in aromatične spojine (10 %), cvetni prah (5 %) ter druge sestavine, kot so amino kisline, vitamini, minerali in netopne snovi (Burdock, 1998; Sforcin, 2007; Coneac in sod., 2008).

Doslej so v propolisu identificirali več sto različnih sestavin. Glavne so fenolne spojine: flavonoidi (flavoni, flavonoli in flavanoni) ter fenolne kisline in njihovi estri, ki so odgovorni za antivirusno in protivnetno delovanje propolisa. Naravni fenoli delujejo tudi kot antioksidanti. Najbolj značilne fenolne spojine propolisa so: pinocembrin, pinobanksin, fenetilni ester kavne kisline (CAPE), artemilin C, cimetna, kumarna, kavna, ferulna in izoferulna kislina, ter krizin, galangin, kamferol in kvercetin (Huang in sod., 2014). Tako sestava propolisa kot njegova biološka učinkovitost sta odvisni od geografskega ter botaničnega vira propolisa in okoljskih dejavnikov (Bankova, 2005).

Flavonoidi

Največ je v propolisu flavonoidov, ki tudi največ prispevajo k njegovi farmakološki aktivnosti in se uporabljajo za ocenjevanje kakovosti propolisa pridelanega v zmernem klimatskem pasu (Kosalec in sod., 2004). Delijo se v flavone, flavonole, flavanone, itd. V propolisu zmernege klimatskega pasu so med flavonoidi najbolj zastopani: krizin, galangin, pinocembrin in pinobanksin. Propolis, ki ga pridelata *Apis mellifera carnica*, ima manjšo protibakterijsko učinkovitost kot propolis *A. m. anatolica* in *caucasica*. Čeprav različne vrste čebel preferirajo različne rastline, pa sestava propolisa posamezne vrste čebele ni vedno enaka (Huang in sod., 2014).

Fenolne spojine

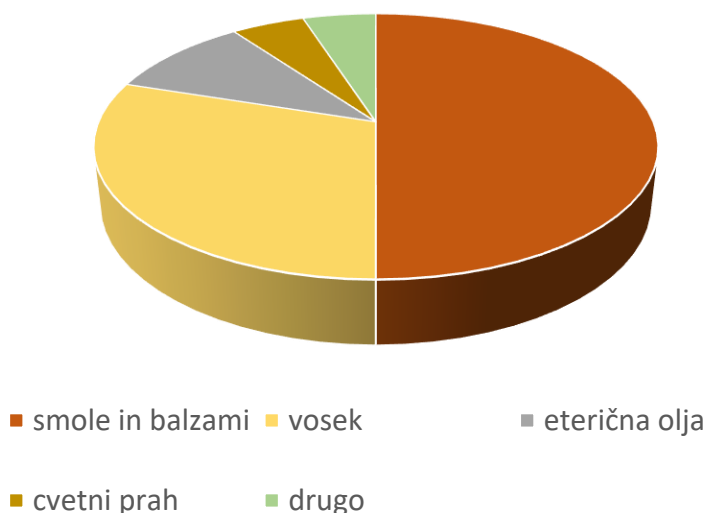
Najbolj značilne fenolne spojine v propolisu so cimetna, kumarna, kavna, ferulna kislina in njihovi derivati. Fenetilni ester kavne kisline (CAPE) je glavna sestavina propolisa zmernege pasu in ima široko biološko vlogo (Bankova, 2009). Vsebnost fenolov v propolisu je zelo različna in je odvisna od rastlinja, kjer so čebele nabirale smole ter sezone nabiranja (Medić-Šarič in sod., 2013) in vrste čebel (Huang in sod., 2014).

Terpenoidi

Propolis vsebuje le 10 % hlapnih sestavin, vendar kljub temu prispevajo značilen vonj in farmakološko aktivnost propolisa. Imajo glavno vlogo pri razlikovanju pravega propolisa od potvorjenega in delujejo antioksidativno ter protimikrobno (Huang in sod., 2014). V večji meri so prisotni v propolisu mediteranskega območja (Falcão in sod., 2012).

Druge snovi

Propolis vsebuje tudi cvetni prah, minerale, kot so Ca, K, Mg, Na, Al, B, Ba, Cr, Fe, Mn, Ni, Sr in Zn, pa tudi Cd, Hg, Pb in vosek, ki je proizvod čebel, in ne izvira iz rastlin (Huang in sod., 2014). Vsebnost voska v propolisu je mnogo večja, kadar ga pridobivamo v medišču (Jedlovčnik in Pušnik, 2011).



Slika 9: Povprečna sestava propolisa.

4.1.3 Vrste propolisa

Material, iz katerega čebele proizvajajo propolis, je izloček rastlin pa tudi snovi, ki se izločajo na ranah rastlin: lipofilne snovi na listih in popkih, smole, sluzi, ... Sestava izvorne snovi določa kemijsko sestavo propolisa, saj jo čebele ne spreminjajo (Bankova, 2005). Čebele smolo prežvečijo, dodajo encime slinske žleze, zmešajo z voskom in uporabijo v panju (Burdock, 1998). Propolis tako sestavljajo snovi z rastlin, izločki čebel in snovi, ki se dodajo v propolis med njegovo uporabo (Marcucci, 1995).

Propolis se deli v več vrst. Za Evropo, Severno Ameriko in netropske predele Azije je značilen *topol tip propolisa*, ki je v glavnem sestavljen iz aktivnih snovi, kot so flavoni, flavanoni ter cimetna kislina in njeni estri. V Rusiji prevladuje *tip breze*, ki prav tako vsebuje flavone in flavonole, vendar drug tip. Za Brazilijo je značilen *zeleni propolis*, poznamo še *rdeči propolis*

(Kuba, Venezuela), s pacifiškega območja je *pacifiški propolis*, s Kanarskih otokov pa *kanarski*, zanje so značilne druge snovi (Bankova, 2005).

Najbolj je raziskan *topol tip propolisa*. Topoli so značilni za Evropo in tako se navadno tudi imenuje evropski propolis »*topol tip propolisa*«, ki je bogat s flavonoidi in fenil propanoidi ter fenoli in njihovimi estri. Omenjeni tip propolisa je najbolj razširjen, predvsem v zmerno toplem klimatskem pasu (Huang in sod., 2014). Za karakterizacijo *topol tipa propolisa* je potrebno določiti skupne flavone, flavonole, flavanone in dihidroflavonole ter skupno vsebnost fenolov, pri čemer tipičen *topol tip propolisa* vsebuje 8 ± 4 % flavonov/flavonolov, 6 ± 2 % flavanonov/dihidroflavonolov, 28 ± 9 % skupnih fenolov (Bankova, 2005) in najmanj 45 % smol in balzamov (Popova in sod., 2007). Od flavonoidov *propolis tipa topola* vsebuje predvsem pinocembrin, pinobanksin, krizin in galangin ter fenolne kisline in njihove estre (Bankova in sod., 2002), vsebnost skupnih flavonoidov v evropskem propolisu je navadno od 20 do 30 %, (Medić Šarić in sod., 2013).

V letih od 2017-2019 je potekala raziskava o sestavi propolisa tudi v Sloveniji, in sicer v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2017-2019, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije. Vsota analiziranih fenolnih spojin v zbranih vzorcih propolisa je bila v območju od 0,81 do 13,71 %, v povprečju 5,19 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019). Prav tako v letih od 2020 do 2022 je potekala raziskava o sestavi propolisa v Sloveniji v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2020-2022, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije. Vsota analiziranih fenolnih spojin v zbranih vzorcih propolisa je bila v območju od 1,36 do 12,78 %, v povprečju 7,27 % (Kandolf Borovšak in sod., 2022). Tudi v letu 2023 je potekala raziskava o vsebnosti fenolnih spojin, skupna vsota v vzorcih propolisa je bila v območju od 2,94 do 14,40 %, v povprečju 7,24 %. Raziskava je potekala v okviru Strateškega načrta skupne kmetijske politike 2023-2027 za Slovenijo, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije (Debelak in sod., 2023). Rezultati so primerljivi s prejšnjimi obdobji.

4.1.4 Lastnosti propolisa

Barva svežega propolisa je od zeleno rumene do temno rjave, odvisno od izvora rastlin in tudi starosti (Marcucci, 1995). Breza daje propolis temnejših odtenkov, jelša rumenega, divji kostanj rdečega. Sčasoma posamezne barve potemniijo. Star propolis je črne barve, odvisno od začetne barve. Nekatere vrste propolisa so namreč izredno svetle barve (Jedlovčnik in Pušnik, 2011).

Pri višjih temperaturah je propolis lepljiv, pri nizkih pa krhek ter se ob lomljenju drobi. Po shranjevanju v zmrzovalniku ga lahko zmeljemo v fin prah. Ima aromatičen vonj in grenek do rahlo sladek okus (Medić-Šarić in sod., 2013).

S segrevanjem spremeni svojo strukturo:

- 0–15 °C je trd in grudast,

- nad 30 °C postane gnetljiv in se da oblikovati,
- do 60 °C je lepljiv,
- od 60–80 °C je tekoč,
- nad 80 °C je hlapen (Jedlovčnik in Pušnik, 2011).

Različna topila topijo sestavine propolisa v različnih deležih (%). Nobeno topilo ne topi vseh sestavin. Toplota topljenje pospešuje (Jedlovčnik in Pušnik, 2011).

Topnost propolisa je odvisna od:

- dolžine ekstrakcije,
- temperature in vrste topila,
- velikosti delcev propolisa (prah).

Topila:

- etanol ga topi od 50 do 65 %,
- eter, segret na 34 °C, do 68 %,
- aceton do 40 %,
- vroča voda do 10 %,
- propilenglikol, polietilenglikol, ricinusovo olje z dodatkom benzilalkohola,
- najbolje se topi v mešanicah eter-etanol (Jedlovčnik in Pušnik, 2011).

4.1.5 Pridobivanje propolisa

Propolis lahko zbiramo priložnostno ali načrtno. **Priložnostno** zbiramo pridelek, ki so ga čebele odložile v panjih, med vratci, na mreži, na podložnih palicah, na matični rešetki. To delo opravljamo v hladnejših jesenskih dneh, ko propolis ni več lepljiv. Glede na postopek ima takšen propolis več ali manj primesi, od ostankov lesa, barve, jajčec večje, dele odmrlih čebel, veliko voska, morebitne ostanke papirja in druge nečistoče. Čebelar takšnega propolisa ne sme uporabljati za izdelavo izdelkov iz propolisa.

Posebej pomembno je, da čebelja družina v panju, v katerem čebelar pridobiva propolis, ni bila zdravljena s sintetičnimi kemičnimi sredstvi, ki se sicer kopičijo predvsem v propolisu in vosku. Propolis, ki vsebuje ostanke zdravil, lahko uporabljamo le za tehnične namene, za premaze, zaščito lesa, nikakor pa ne za uporabo v prehrani, zdravilstvu in kozmetiki.

Pri **načrtnem** zbiranju propolisa načrtujemo postopke in sredstva, s katerimi bomo zagotovili neoporečen pridelek. Pri zbiranju uporabljamo izključno materiale, ki so primerni za uporabo v živilstvu. Tehnike načrtnega zbiranja propolisa so odvisne od tipa panja in od izbranih pripomočkov.

Propolis lahko pridelujemo v vsakem tipu panja, vsak tip panja ima svoje dobre in slabe lastnosti. Za pridobivanje propolisa je tako primeren vsak tip panja, v katerega lahko vstavimo

namenske pripomočke nad plodišče oziroma tik ob gnezdu, torej na mesta kamor čebele najraje odlagajo propolis (Jedlovčnik in Pušnik, 2011).

4.1.6 Uporaba propolisa

Propolis vsebuje veliko fenolnih spojin, posebej flavonoidov ter fenolnih kislin in ima pomembne protivirusne, protimikrobne, protiglivične lastnosti, deluje tudi proti parazitom, kar so dokazali v *in-vitro* ter *in-vivo* raziskavah. Flavonoidi se vežejo na posebna mesta (receptorje ACE-II) na celični membrani, na katere se pripenja tudi virus SARS-CoV-2 in z njih prodira v celico. Če so ta mesta zasedena s flavonoidi, je virusom oteženo napredovanje v celico, zato je propolis lahko koristen v preventivi virusnih bolezni.

V laboratorijskih poskusih in na živalih je bilo dokazano, da sestavine nekaterih vrst propolisa z delovanjem na encime in signalne poti v epitelijskih celicah, na trombocite in na krvne imunske celice zavirajo več faz v nastajanju vnetij, ki jih povzročajo virusi. S tem blažijo bolezenske znake in simptome, manjšajo bolezenske spremembe tkiv in organov, nastajanje vzporednih bolezni in s tem verjetno tudi smrtnost zaradi virusnih bolezni. Zato ni čudno, da je pandemija covid-19 ponovno vzbudila zanimanje za propolis kot protivirusno sredstvo v humani medicini.

Brazilski znanstveniki iz São Paula so v sodelovanju s kolegi iz Miami (Florida, ZDA) na zdravih prostovoljcih raziskovali varnost uživanja tablet (po 325 mg/dan pet dni) iz sestavin brazilskega zelenega propolisa, ki ga čebele izdelajo v glavnem iz smol *Baccharis dracunculifolia*, značilne za Brazilijo in sosednje države.

Raziskovani dnevni odmerek in skupna zaužita količina preparata pri prostovoljcih nista imela nikakršnih neželenih učinkov. Ker je že bilo dokazano, da sestavine zelenega propolisa posebej dobro zavirajo nastajanje vnetnih sprememb v pljučih, ki so značilne za covid-19 in so pri njem pogosto celo usodne, raziskovalci domnevajo, da zeleni propolis v razmeroma cenениh prehranskih dodatkih lahko ugodno deluje tudi pri tej bolezni in ga priporočajo, vsaj dokler proti njej ni učinkovitega zdravila (Berretta in sod., 2020).

Propolis tudi dobro deluje proti gram pozitivnim bakterijam ter več sevov gliv in kvasovk ter parazitom, kot so npr. iz rodu *Plasmodium* (Zulhendri in sod., 2021).

4.2 MATERIAL IN METODE

4.2.1 Načrt zbiranja vzorcev

V raziskavo smo vključili 20 vzorcev propolisa slovenskega porekla, pridelanega v letu 2023, iz sedmih statističnih regij Slovenije. Analizirali smo šest (6) vzorcev iz gorenjske regije, štiri (4) vzorce iz primorsko-notranjske regije, tri (3) vzorce iz jugovzhodne Slovenije, tri (3) vzorce iz podravske regije, dva (2) vzorca pomurske regije in po en (1) vzorec iz zasavske in osrednjeslovenske regije.

Podatki o analiziranih vzorcih (št. vzorca, statistična regija in letnik pridelave) so zbrani v preglednici 19.

Preglednica 19: Seznam vzorcev propolisa analiziranega v letu 2024.

Št. vzorca	Statistična regija	Letnik pridelave
PR2024-1	Jugovzhodna Slovenija	2023
PR2024-2	Gorenjska	2023
PR2024-3	Jugovzhodna Slovenija	2023
PR2024-4	Gorenjska	2023
PR2024-5	Gorenjska	2023
PR2024-6	Primorsko-notranjska	2023
PR2024-7	Zasavska	2023
PR2024-8	Primorsko-notranjska	2023
PR2024-9	Pomurska	2023
PR2024-10	Jugovzhodna Slovenija	2023
PR2024-11	Osrednjeslovenska	2023
PR2024-12	Primorsko-notranjska	2023
PR2024-13	Primorsko-notranjska	2023
PR2024-14	Podravska	2023
PR2024-15	Gorenjska	2023
PR2024-16	Gorenjska	2023
PR2024-17	Gorenjska	2023
PR2024-18	Podravska	2023
PR2024-19	Podravska	2023
PR2024-20	Pomurska	2023

Posamezne vzorce propolisa smo pregledali in odstranili fizikalne nečistoče (delčki čebel, vosek, ...) (Slika 10). Nato smo vzorce stehali in pripravili za analizo.



Slika 10: Pripravljene vzorce propolisa za analizo v letu 2024.

4.2.2 Analiza propolisa

V propolisu so najbolj zastopane fenolne spojine pinocembrin, pinobanksin, fenetilni ester kavne kisline (CAPE), artepilin C, cimeta, *p*-kumarna, kavna, ferulna in izoferulna kislina, ter krizin, galangin, kamferol in kvercetin (Huang in sod., 2014), ki so bile razen izoferulne kisline določene tudi v naših vzorcih. Analize je opravilo podjetje Intertek GmbH iz Bremna, Nemčija. Uporabljena je bila metoda tekočinske kromatografije visoke ločljivosti z UV detektorjem (HPLC-UV) (Popova in sod., 2007). Vzorci so bili analizirani tudi z bolj robustnimi spektrofotometričnimi metodami, s Folin-Ciocalteujevo metodo za določitev vsebnosti skupnih fenolnih spojin, vsebnost skupnih flavonov ter flavonolov je bila določena z aluminijevim kloridom, vsebnost flavanonov ter dihidroflavonolov pa z 2,4-dinitrofenilhidrazinom (Kamenšek, 2011).

Pred analizo smo vzorce tudi senzorično ocenili pri čemer smo vrednotili videz, barvo in vonj propolisa.

4.3 REZULTATI Z RAZPRAVO

4.3.1 Senzorična ocena in izvor osnovne surovine propolisa

Zbrani vzorci propolisa so bili že po samem videzu zelo različni, od prahu, finih zrn, drobnih zrn do večjih zrn. Prav tako so se zbrani vzorci propolisa razlikovali po barvi od svetlo rjave do temno rjave barve z rdečimi odtenki.

Trije (3) vzorci so imeli močan vonj, 16 srednje intenziven, en (1) vzorec šibek vonj. Vzorci z najbolj intenzivnim vonjem izvirajo dva (2) iz primorsko-notranjske in en (1) iz osrednjeslovenske regije (Preglednica 20).

Preglednica 20: Rezultati senzorične ocene posameznih vzorcev propolisa, analiziranega v letu 2024.

Št. vzorca	Videz	Barva	Vonj
PR2024-1	prah, zrnca	rjav	malo
PR2024-2	prah, zrnca	svetlo rjav z rdečimi odtenki	srednje
PR2024-3	prah, zrnca	rjav z rdečimi odtenki	srednje
PR2024-4	velika zrna	rjav	srednje
PR2024-5	prah, zrnca	temno rjav	srednje
PR2024-6	prah, fina zrnca	svetlo rjav z rdečimi odtenki	močno
PR2024-7	prah, zrnca	svetlo rjav	srednje
PR2024-8	prah, zrnca	rjav z rdečimi odtenki	močno
PR2024-9	fina zrnca	svetlo rjav z rdečimi odtenki	srednje
PR2024-10	fina zrnca, velika zrnca	rjav	srednje
PR2024-11	prah, fina zrnca	rjav z rdečimi odtenki	močno
PR2024-12	velika zrna	rjav	srednje
PR2024-13	fina zrnca	svetlo rjav	srednje
PR2024-14	fina zrnca, velika zrnca	svetlo rjav z rdečimi odtenki	srednje
PR2024-15	fina zrnca	rjav	srednje
PR2024-16	velika zrna	rjav z rdečimi odtenki	srednje
PR2024-17	velika zrna	rjav	srednje
PR2024-18	prah, fina zrnca	svetlo rjav z rdečimi odtenki	srednje
PR2024-19	fina zrnca, velika zrnca	rjav z rdečimi odtenki	srednje
PR2024-20	prah, zrnca	rjav z rdečimi odtenki	srednje

4.3.2 Vsebnost fenolnih spojin

Sestava propolisa je raznolika, odvisna je od rastlin, na katerih so čebele nabirale surovine zanj, od klimatskih razmer v času nabiranja pa tudi od načina pridobivanja in vrste čebel, ki imajo močno preferenco do posameznega tipa rastlin (Bankova in sod., 2002).

V propolisu so do sedaj identificirali več sto različnih spojin. Glavne so fenolne spojine: flavonoidi (flavoni (apigenin), flavonoli (kamferol, galangin, kvercetin) in flavanoni (naringenin, pinocembrin)) ter fenolne kisline in njihovi estri (*p*-kumarna, ferulna, cimetna, kavna kislina, CAPE).

Od flavonoidov propolis tipa topola vsebuje predvsem pinocembrin, pinobanksin, krizin in galangin ter fenolne kisline in njihove estre od teh sta najbolj pogosta cimetna kislina in CAPE (Bankova in sod., 2002).

Vsota določenih fenolnih spojin v vzorcih propolisa je bila v območju od 3,00 do 14,57 %, v povprečju 5,44 % (Preglednica 21). Največ fenolnih spojin je vseboval vzorec številka PR2024-9 iz pomurske regije, ki je imel srednje intenzivno izražen vonj. Najmanj fenolnih spojin je vseboval vzorec številka PR2024-12 iz primorsko-notranjske regije, s srednje intenzivnim vonjem. Med vzorci, pridelanimi v različnih regijah, ni statistično značilnih razlik v vsoti fenolnih spojin, variabilnost med vzorci znotraj regije je velika.

Vsi vzorci propolisa so vsebovali ***p*-kumarno kislino** v območju od 0,83 do 3,05 %, v povprečju 1,74 % ter **ferulno kislino** v območju od 0,59 do 2,83 %, v povprečju 1,82 %. Tudi Osés (in sod., 2020) je v vseh vzorcih našla *p*-kumarno in ferulno kislino.

Poleg tega so vsi vzorci propolisa vsebovali **kavno kislino** v območju od 0,11 do 0,43 %, v povprečju 0,21 %. Tudi v vseh vzorcih propolisa je bil **pinocembrin** v območju od 0,09 do 4,06 %, v povprečju 0,60 %.

Devetnajst vzorcev propolisa je vsebovalo **naringenin** v območju od 0,07 do 0,19 %, v povprečju 0,12 %. **Apigenin** je vsebovalo osemnajst vzorcev propolisa v območju 0,06 do 0,19 %, v povprečju 0,11 %.

CAPE je vsebovalo dvanajst vzorcev propolisa v območju od 0,05 do 0,63 %, v povprečju 0,19 %.

Enajst vzorcev propolisa je vsebovalo **krizin** v območju od 0,09 do 2,73 %, v povprečju 0,70 %.

6 vzorcev propolisa od 20 je vsebovalo **pinobanksin** v območju 0,06 do 2,53 %, v povprečju 0,53 %.

Trije vzorci propolisa so vsebovali **galangin** v območju od 0,09 do 3,17 %, v povprečju 1,13 %.

Cimetno kislino sta vsebovala 2 vzorca propolisa od dvajsetih v območju 0,07 do 0,10 %, v povprečju 0,09 %.

Kvercetin je vseboval en vzorec propolisa, in sicer 0,13 %. Prav tako je en vzorec propolisa vseboval **kamferol**, in sicer 0,14 %.

V vzorcih smo s spektrofotometrično metodo določili največ 2,18 % skupnih fenolnih spojin, od tega flavonov/flavonolov največ 1,50 %, flavanonov/dihidroflavonolov pa največ 1,37 %. Vsi rezultati so prikazani v Preglednicah 21 in 22.

4.4 ZAKLJUČEK

Fenolne spojine so ključne sestavine slovenskega propolisa. Kljub temu da so posamezne fenolne spojine v vzorcih slovenskega propolisa prisotne v majhnih količinah, je njihova skupna raznolikost precej pestra. Ta široka paleta fenolnih spojin odraža dejstvo, da čebele zbirajo smole iz različnih rastlin, kar prispeva k bogati kemični sestavi propolisa.

Pridobljene rezultate je težko primerjati z drugimi študijami, saj ni uveljavljene standardne metode za določanje fenolnih spojin, uporabljajo se tudi različni načini ekstrakcije fenolnih spojin iz propolisa, kar ugotavljajo tudi drugi avtorji (Osés in sod., 2020; Šuran in sod., 2021; Martinello in Mutinelli, 2021).

V letih od 2017-2019 je potekala raziskava o sestavi propolisa v Sloveniji, in sicer v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2017-2019, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije. Vsota analiziranih fenolnih spojin v zbranih vzorcih propolisa je bila v območju od 0,81 do 13,71 %, v povprečju 5,19 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019). Prav tako v letih od 2020 do 2022 je potekala raziskava o sestavi propolisa v Sloveniji v okviru Programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2020-2022, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije. Vsota analiziranih fenolnih spojin v zbranih vzorcih propolisa je bila v območju od 1,36 do 12,78 %, v povprečju 7,27 % (Kandolf Borovšak in sod., 2022). Tudi v letu 2023 je potekala raziskava o vsebnosti fenolnih spojin, skupna vsota v vzorcih propolisa je bila v območju od 2,94 do 14,40 %, v povprečju 7,24 %. Raziskava je potekala v okviru Strateškega načrta skupne kmetijske politike 2023-2027 za Slovenijo, ki je bil financiran iz sredstev državnega proračuna in proračuna Evropske unije (Debelak in sod., 2023). V letu 2024 je bila vsota analiziranih fenolnih spojin v zbranih vzorcih propolisa v območju od 3,00 do 14,57 %, v povprečju 5,44 % (Preglednica 21). Rezultati so primerljivi s prejšnjimi obdobji.

Vzorci propolisa, ki smo jih analizirali v letu 2024, so pomembno prispevali k dopolnitvi obstoječe zbirke podatkov, ki jo sestavljajo analize iz obdobj 2017-2019, 2020-2022 in 2023. Rezultati teh analiz so primerljivi med seboj (Kandolf Borovšak in sod., 2019; 2022, Debelak in sod., 2023). Nadaljevanje raziskav v prihodnjem letu bi bilo zelo koristno, saj bi s tem pridobili dodatne podatke o vsebnosti fenolnih spojin v slovenskem propolisu, kar bi omogočilo še boljše razumevanje in širitev obstoječega znanja o sestavi slovenskega propolisa.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Preglednica 21: Vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa

Fenolna spojina (%)	Številka vzorca																			
	PR2024-1	PR2024-2	PR2024-3	PR2024-4	PR2024-5	PR2024-6	PR2024-7	PR2024-8	PR2024-9	PR2024-10	PR2024-11	PR2024-12	PR2024-13	PR2024-14	PR2024-15	PR2024-16	PR2024-17	PR2024-18	PR2024-19	PR2024-20
naringenin	0,10	0,08	0,15	0,08	0,08	0,11	0,14	0,16	n.d.	0,12	0,18	0,09	0,13	0,08	0,16	0,15	0,11	0,19	0,07	0,14
apigenin	0,19	0,08	0,09	0,10	0,16	0,11	0,09	n.d.	n.d.	0,09	0,14	0,19	0,12	0,08	0,07	0,10	0,07	0,12	0,06	0,12
kamferol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
krizin	0,40	n.d.	n.d.	n.d.	0,28	0,15	n.d.	1,86	2,73	n.d.	0,43	0,09	n.d.	n.d.	n.d.	0,65	0,50	0,29	n.d.	0,29
galangin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	3,17	n.d.	0,14	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,09
kavna kislina	0,19	0,12	0,17	0,22	0,11	0,18	0,25	0,43	0,28	0,17	0,15	0,22	0,19	0,19	0,16	0,28	0,20	0,26	0,11	0,28
p -kumarna kislina	1,52	2,00	1,67	1,41	1,27	2,19	2,81	1,33	0,83	1,70	1,36	1,12	2,05	3,05	1,71	1,10	1,19	2,17	2,47	1,92
ferulna kislina	1,71	1,81	1,92	1,62	0,88	2,44	2,61	1,68	0,59	1,90	1,46	0,99	2,40	2,55	1,75	1,55	1,26	2,83	2,00	2,52
cimetna kislina	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,07
pinocembrin	0,38	0,13	0,94	0,16	0,29	0,25	0,23	1,44	4,06	0,23	0,72	0,19	0,23	0,09	0,32	0,58	0,48	0,69	0,15	0,44
pinobanksin	0,15	n.d.	0,25	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	n.d.	2,53	n.d.	0,06	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,06
CAPE	0,11	n.d.	0,06	n.d.	0,09	0,05	n.d.	0,63	0,38	n.d.	0,17	0,11	n.d.	n.d.	n.d.	0,30	0,20	0,08	n.d.	0,07
kvercetin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,13	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
vsota skupnih fenolnih spojin	4,75	4,22	5,25	3,59	3,28	5,48	6,13	7,66	14,57	4,21	4,91	3,00	5,12	6,04	4,17	4,85	4,01	6,63	4,86	6,00

n.d.: pod mejo detekcije

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Preglednica 22: Povprečne vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa.

vzorec št.	naringenin (%)	apigenin (%)	kamferol (%)	krizin (%)	galangin (%)	kavna kislina (%)	<i>p</i> -kumarna kislina (%)	ferulna kislina (%)	cimetna kislina (%)	pinocembrin (%)	pinobanksin (%)	CAPE (%)	kvercetin (%)
PR2024-1	0,10	0,19	n.d.	0,40	n.d.	0,19	1,52	1,71	n.d.	0,38	0,15	0,11	n.d.
PR2024-2	0,08	0,08	n.d.	n.d.	n.d.	0,12	2,00	1,81	n.d.	0,13	n.d.	n.d.	n.d.
PR2024-3	0,15	0,09	n.d.	n.d.	n.d.	0,17	1,67	1,92	n.d.	0,94	0,25	0,06	n.d.
PR2024-4	0,08	0,10	n.d.	n.d.	n.d.	0,22	1,41	1,62	n.d.	0,16	n.d.	n.d.	n.d.
PR2024-5	0,08	0,16	n.d.	0,28	n.d.	0,11	1,27	0,88	n.d.	0,29	0,12	0,09	n.d.
PR2024-6	0,11	0,11	n.d.	0,15	n.d.	0,18	2,19	2,44	n.d.	0,25	n.d.	0,05	n.d.
PR2024-7	0,14	0,09	n.d.	n.d.	n.d.	0,25	2,81	2,61	n.d.	0,23	n.d.	n.d.	n.d.
PR2024-8	0,16	n.d.	n.d.	1,86	n.d.	0,43	1,33	1,68	n.d.	1,44	n.d.	0,63	0,13
PR2024-9	n.d.	n.d.	n.d.	2,73	3,17	0,28	0,83	0,59	n.d.	4,06	2,53	0,38	n.d.
PR2024-10	0,12	0,09	n.d.	n.d.	n.d.	0,17	1,70	1,90	n.d.	0,23	n.d.	n.d.	n.d.
PR2024-11	0,18	0,14	n.d.	0,43	0,14	0,15	1,36	1,46	0,10	0,72	0,06	0,17	n.d.
PR2024-12	0,09	0,19	n.d.	0,09	n.d.	0,22	1,12	0,99	n.d.	0,19	n.d.	0,11	n.d.
PR2024-13	0,13	0,12	n.d.	n.d.	n.d.	0,19	2,05	2,40	n.d.	0,23	n.d.	n.d.	n.d.
PR2024-14	0,08	0,08	n.d.	n.d.	n.d.	0,19	3,05	2,55	n.d.	0,09	n.d.	n.d.	n.d.
PR2024-15	0,16	0,07	n.d.	n.d.	n.d.	0,16	1,71	1,75	n.d.	0,32	n.d.	n.d.	n.d.
PR2024-16	0,15	0,10	0,14	0,65	n.d.	0,28	1,10	1,55	n.d.	0,58	n.d.	0,30	n.d.
PR2024-17	0,11	0,07	n.d.	0,50	n.d.	0,20	1,19	1,26	n.d.	0,48	n.d.	0,20	n.d.
PR2024-18	0,19	0,12	n.d.	0,29	n.d.	0,26	2,17	2,83	n.d.	0,69	n.d.	0,08	n.d.
PR2024-19	0,07	0,06	n.d.	n.d.	n.d.	0,11	2,47	2,00	n.d.	0,15	n.d.	n.d.	n.d.
PR2024-20	0,14	0,12	n.d.	0,29	0,09	0,28	1,92	2,52	0,07	0,44	0,06	0,07	n.d.
povprečje	0,12	0,11	0,14	0,70	1,13	0,21	1,74	1,82	0,09	0,60	0,53	0,19	0,13
min	0,07	0,06	0,14	0,09	0,09	0,11	0,83	0,59	0,07	0,09	0,06	0,05	0,13
maks	0,19	0,19	0,14	2,73	3,17	0,43	3,05	2,83	0,10	4,06	2,53	0,63	0,13

n.d.: pod mejo detekcije

4.5 VIRI

Bankova V., Popova M., Bogdanov S., Sabatini A. G. 2002. Chemical composition of European propolis: expected and unexpected results. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57, 5-6: 530-3

Bankova V. 2005. Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology*, 100: 114-117

Bankova V. 2009. Chemical diversity of propolis makes it a valuable source of new biologically active compounds. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 1, 2: 23-28

Berretta, A. A, Duarte Silveira, M. A., Córdor Capcha, M., De Jong, D. (2020): Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and covid-19 disease. *Biomedicine & Pharmacotherapy*

Burdock G. A. 1998. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food and Chemical Toxicology*, 39: 347-363

Coneac G., Gafițanu E., Hădăruga D. I., Hădăruga N. G., Pînzaru I. A., Bandur G., Urșica L., Păunescu V., Gruia A. 2008. Flavonoid contents of propolis from west side of Romania and correlation with antioxidant activity. *Chemical Bulletin »POLITEHNICA« University*, 53, 67: 56-60

Debelak, A., Janžekovič, A., Ratajc, U., Samec, T. 2023, Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov za leto 2023. Lukovica: Čebelarstva zveza Slovenije: 71-88

Falcão S. I., Vale N., Gomes P., Domingues M. R. M., Freire C., Cardoso S. M., Vilas-Boas M. 2012. Phenolic profiling of Portuguese propolis by LC-MS spectrometry: uncommon propolis rich in flavonoid glycosides. *Phytochemical Analysis*, 24: 309-318

Huang S., Zhang C. P., Wai K., Li G. Q., Hu F. H. 2014. Recent advances in the chemical composition of propolis, *Molecules*, 19: 19610-19632

Jedlovčnik N., Pušnik V. 2011: Propolis. V: *Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje II*. Zdešar P. (ur.) Lukovica, Čebelarstva zveza Slovenije: 351–362

Kamenšek, M. 2011. Spektrofotometrično določanje flavonoidov v slovenskem propolisu. Izobraževalni center Piramida Maribor, Diplomaska naloga: 72 str.

Kandolf Borovšak, A., Lilek, N., Bertoncej, J., Korošec, M., Klemenčič Štrukelj, N. 2017. Letno poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov ter vpliv postopkov obdelave in shranjevanja cvetnega prahu na njegovo kemijsko in mikrobiološko sestavo za leto 2017: 97 str.

Kandolf Borovšak, A., Lilek, N., Bertoncej, J., Korošec, M., Samec, T., Klemenčič Štrukelj, N. 2018. Letno poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov ter vpliv postopkov obdelave in shranjevanja cvetnega prahu na njegovo kemijsko in mikrobiološko sestavo za leto 2017: 83 str.

Kandolf Borovšak A., Lilek N., Samec T., Bertoncej J., Korošec M., Klemenčič Štrukelj, N. 2019. Končno poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov ter vpliv postopkov obdelave in shranjevanja cvetnega prahu na njegovo kemijsko in mikrobiološko sestavo, Čebelarstva zveza Slovenije: 98-116

Kandolf Borovšak A., Kozmus P., Lilek N., Samec T., Bertoncej J., Korošec M., Debelak A., Janžekovič A. 2022. Končno poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov : v skladu z Uredbo o izvajanju programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2020-2022, Čebelarstva zveza Slovenije: 84-106

Kandolf Borovšak A., Lilek, N., Samec, T. Bertoncej, J., Korošec, M. 2020. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica: Čebelarstva zveza Slovenije: 57-71

Kandolf Borovšak A., Lilek, N., Samec, T. Bertoncej, J., Korošec, M. 2021. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica: Čebelarstva zveza Slovenije: 65-82

Kosalec, I., Bakmaz M., Pepelnjak S., Vladimir-Knežević, S. 2004. Quantitative analysis of the flavonoids in raw propolis from northern Croatia. *Acta Pharmaceutica*, 54: 65-72

Marcucci MC. 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26: 83-99

Martinello M. in Mutinelli F. 2021. Antioxidants activity in bee products: a review. *Antioxidants*, 10: 71 doi:10.3390/antiox10010071

Medić-Šarić M., Bojić M., Rastija V., Cvek J. 2013. Polyphenolic profiling of Croatian propolis and wine. *Food Technology and Biotechnology*, 512: 159-170

Osés S., Marcos P., Azofra P., de Pablo A., Fernández- Muíño M. Á., Sancho T. 2020. Phenolic profile, antioxidant capacities and enzymatic inhibitory activities of propolis from different geographical areas: needs for analytical harmonization. *Antioxidants*, 9: 75 doi:10.3390/antiox90010075

Popova M. P., Bankova V. S., Bogdanov S., Tsvetkova I., Naydenski C., Marcazzan G. L., Sabatini A. G. 2007. Chemical characteristics of poplar type propolis of different geographical origin. *Apidologie*, 38: 306-311

Sforcin J. M. 2007. Propolis and the immune system: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 13, 1:1-14

Šuran J., Cepanec I., Mašek T., Radić B., Tlak Gajger I., Vlainić J. 2021. Propolis extract and its bioactive compounds-from traditional to modern extraction technologies. *Molecules*, 26: 2930 doi: 10.3390/molecules26102930

Zulhedrin F., Chandrasekaran K., Kowacz M., Ravalía M., Kripal K., Fearnley J., Perera C. O. 2021. Antiviral, antibacterial, antifungal, and antiparasitic properties of propolis: a review. *Foods*, 10:1360 doi:10.3390/foods10061360

5 ČEBELJI STRUP

5.1 PREGLED OBJAV O ČEBELJEM STRUPU

5.1.1 Izvor čebeljega strupa

Čebelji strup je izloček strupne žleze čebel delavk. Čebele ga pri piku vbrizgajo s pomočjo žela. Poleg strupne žleze in žela, želni aparat sestavlja tudi strupni mešiček, strupna črpalka in podporno mišičevje. Želo se pri medonosnih čebelah nahaja znotraj 7. zadkovega obročka, razvilo pa se je iz leglice za odlaganje jajčec, kot preobrazba 8. in 9. zadkovega obročka. Čebela se izleže brez strupa v strupnem mešičku, v nadaljevanju njenega življenja pa se količina v strupnem mešičku povečuje približno do starosti 15 – 20 dni. Pri čebeli v tej starosti je v strupnem mešičku prisotno okrog 0,3 mg strupa. Ob vvodu v prožno površino, kot je na primer človeška koža, se želo zaradi majhnih kaveljcev vanjo zatakne. Čebela posledično želo iztrga iz zadka in ga pusti v koži. V tem primeru živčni dražljaji in mišičevje v želu še vedno delujejo kar se kaže v periodičnem pomikanju žela vedno globlje v kožo in periodičnem vbrizgavanju vsebine strupnega mešička v kožo. V takšnem primeru se strupni mešiček v celoti izprazni. Čebela pa po tovrstnem piku v nekaj urah umre. Pri pridobivanju čebeljega strupa s sodobnimi napravami, pa se mešiček izprazni za okrog 1/3 vsebine kar pomeni da običajno vsaka čebela na plošči pusti okrog 0,1 mg čebeljega strupa (Slovensko čebelarstvo..., 2011; Borko, 2012).

5.1.2 Sestava in lastnosti čebeljega strupa

Čebelji strup čebele delavke proizvajajo v strupni žlezi, ter ga shranjujejo v strupnem mešičku ki se nahaja na želnem aparatu. Čebelji strup je brezbarvna tekočina, neprijetnega grenkega okusa. Je nekoliko kisel, saj njegov pH znaša med 4,5 in 5,5. Vsebuje med 65 in 70 % vode, suho snov pa predstavljajo predvsem beljakovine, peptidi, fiziološko aktivni amini, sladkorji, fosfolipidi, encimi in alfa-aminokisliline. Pri 25° C se čebelji strup posuši v 20 minutah.

Suh čebelji strup je fin prah od bele, umazano bele, do sivkaste barve. Suh čebelji strup ima dražeč specifičen vonj ter grenak do kiselkast okus. Topen je v vodi in kislinah, v alkoholu pa se ne topi, ga pa alkohol nevtralizira. Čebelji strup v prahu je izredno fin prah z majhno specifično gostoto, zato se lahko že ob manjšem prepihu dvigne v zrak, kjer ob stiku, draži sluznico ust, dihal in oči (Pušnik, 2014; Slovensko čebelarstvo ..., 2011).

Pomembnejše snovi, ki sestavljajo čebelji strup so:

- Fosfolipaza A je encim, ki je v strupu prisoten v 14%, lahko razgrajuje fosfolipide, poleg tega pa preprečuje tudi strjevanje krvi in ima lahko škodljive učinke na telo.
- Hialuronidaza je v strupu zastopana v 2-3 %. S svojim delovanjem razgrajuje hialuronsko kislino in tako pripomore k širjenju strupa v telo.
- Alfa glikozidaza je v čebeljem strupu prisotna v 1% in ima lastnost razgrajevanja glikozidov v cvetnem prahu, mani in nektarju.

- Apamin, ki je sestavljen iz 18 aminokislin in je v čebeljem strupu prisoten v 3 %. Povečuje krvni pritisk ter spodbuja izločanje nadležičnih hormonov v telesu.
- Lizofosfolipaza, imenovana tudi fosfolipaza B, je v čebeljem strupu prisotna v manj kot 1 % in nevtralizira toksično delovanje fosfolipaze A in lizolecitina.
- MSD peptid vsebuje 22 aminokislin in je v čebeljem strupu zastopan v cca 2% skupne suhe snovi. Deluje protivnetno in povečuje kapilarno permabilnost. Lizira granule mastocitov, posledično pa ti izločajo histamin, serotonin, heparin in homotripsioidan.
- Adolipin vsebuje 103 aminokislino in ima protibolečinsko in protivnetno lastnost.
- Histamin je nezaželen alergen in je v čebeljem strupu zastopan v do 1 % suhe snovi.
- Noradrenalin je v čebeljem strupu prisoten v okrog 2 %. Je stresni hormon, ki vpliva na povečano frekvenco bitja srca.
- Melitin predstavlja okrog 50 % vse suhe snovi v čebeljem strupu. Količina melitina se lahko od vzorca do vzorca spreminja in je tudi pokazatelj oz. merilo kakovosti čebeljega strupa. Melitin ima številne pozitivne učinke na telo med katerimi so tudi spodbujanje izločanja nadležičnih hormonov, spodbujanje prepuščnosti kapilar in zmanjševanje krvnega tlaka. Melitin zmanjšuje tudi možnosti za nastanek in rast tumorjev in zaščitno deluje proti sevanju (Pušnik 2014; Pušnik , 2016; Slovensko čebelarstvo....2011; Stepanovič, 2016).

5.1.3 Uporaba čebeljega strupa

Čebelji strup čebele uporabljajo za obrambo svojega bivališča in zalog hrane pred vsiljivci. Ljudje smo že zgodaj odkrili tudi koristne snovi čebeljega strupa, zato so ga v svetu uporabljali in ga še uporabljamo tudi v humani medicini, tradicionalni medicini, apiterapiji in apiakupunkturi (Slovensko čebelarstvo..., 2011).

Pri uporabi čebeljega strupa lahko pride do nekaterih zapletov, ki se lahko v primeru nepravilnega ali nepravočasnega ukrepanja končajo tudi s smrtjo. Razlog za to je lahko alergijska reakcija na čebelji strup, do katere pride zaradi reakcije na sestavino strupa imenovano hialuronidaza. Reakcija nastane pri ljudeh, ki imajo v krvi imonoglobulin E. Razlog za zaplete je lahko tudi prevelika oziroma smrtna doza čebeljega strupa. Ta za odraslega človeka znaša okrog 2,8 mg na kg telesne teže. Za odraslega človeka to predstavlja okrog 600 pikov čebel. Do zapletov lahko pride tudi v primeru, da čebelji pik v predelu vratu, ust, ustne votline ali grla povzroči lokalno oteklino, ki onemogoči prehod zraka po dihalnih poteh (Pušnik, 2016; Slovensko čebelarstvo....2011).

Čebelji strup ima ob pravilni uporabi številne pozitivne učinke na človeško telo. Med drugim čebelji strup krepi srčno mišico, deluje regenerativno na tkiva, deluje protivnetno, analgetično in protikancerogeno, nekateri avtorji pa poročajo tudi o bakteristatičnem in baktericidnem delovanju čebeljega strupa, delovanju čebeljega strupa proti virusu HIV ter o zaščiti telesa pred vplivi radioaktivnega sevanja.

Čebelji strup se lahko uporablja oziroma uvaja v telo na več načinov:

- neposredni pik čebel, ki se izvaja neposredno z živimi čebelami in njihovim želom;
- vbrizgavanje standardiziranega, prečiščenega čebeljega strupa raztopljenega v mediju;
- elektroforeza čebeljega strupa;
- kopel s standardnim liofiliziranim čebeljim trupom;
- uvajanje v telo s pomočjo ultrazvoka;
- vtiranje čebeljega strupa v kožo v obliki mazil in krem.

Pri vseh načinih uporabe se pred terapijo priporoča opraviti test na alergijsko reakcijo na čebelji strup (Kulić, 2017; Pušnik, 2014; Radivojac, 2010; Stepanović, 2013).

5.1.4 Pridobivanje čebeljega strupa

Pri sodobnem pridobivanju čebeljega strupa se le ta pridobiva z napravami za pridobivanje čebeljega strupa. Tovrstne naprave so sestavljene iz ohišja, na katerega so vzporedno pritrjene kovinske žice, iz elektronskega dela, ki na podlagi napajanja ustvarja šibke električne impulze in iz steklene plošče, na kateri se čebelji strup zbere in posuši. Večina naprav, ki so trenutno na trgu, deluje na podoben način, razlikujejo se le v nekaterih parametrih, kot so velikost in oblika steklene plošče in ohišja, vir napajanja (baterije, akumulatorji, električno omrežje), jakost impulzov, frekvenca impulzov (čas trajanja dražljaja in čas prekinitve), število pobiralnih plošč na posamezni napravi, kakovost materialov in cena. Prednost pri pobiranju predstavljajo naprave, ki so preproste in hitre za uporabo. Iz cenovnega in časovnega vidika je v večini primerov za uporabnika ugodneje, če ja na eni napravi (elektronika in vir napajanja) možno uporabljati več pobiralnih plošč naenkrat in tako v enakem času pridobivati čebelji strup v več panjih. Pridobivanje čebeljega strupa se običajno prične s pričetkom aktivne pašne sezone v mesecu maju, zaključí pa se ob koncu pašne sezone, oziroma najkasneje do časa, ko so v panju že prisotne dolgožive zimske čebele. Odsvetuje se pridobivanje čebeljega strupa v času intenzivnih čebeljih paš, v brezpašnem obdobju in pridobivanje pri šibkih čebeljih družinah. Za pridobivanje čebeljega strupa izberemo le močne čebelje družine z velikim številom čebel delavk. Priporočljivo je, da imajo čebele dovolj zalog cvetnega prahu. Čebelje družine naj bodo zdrave, s prisotno matico ter z veliko zalege. Čebelje družine naj bodo tekom pridobivanja čebeljega strupa pravilno oskrbovane, ter naj imajo zadostne zaloge hrane (vsaj 7kg). V kolikor se stanje družin poslabša, je potrebno s pridobivanjem strupa prenehati in stanje v družinah sanirati (Borko, 2012; Golob, 2020; Plut; Pušnik, 2016; Radivojac, 2010; Slovensko čebelarstvo..., 2011; Golob in sod.,2022).

V raziskavi Optimizacija tehnologije pridelave strupa (Golob in sod., 2022) je bilo ugotovljeno, da je bil večji pridelek čebeljega strupa v LR panjih napram AŽ panjem, ter da je glede na količino in kvaliteto čebeljega strupa, ter agresivnost čebel v času pridobivanja strupa, bolj priporočljivo pridobivanje strupa v notranjosti panja. Pri LR panju se je v omenjeni raziskavi najboljše obneslo pridobivanje nad zgornjo naklado, pri AŽ panjih pa pridobivanje za sati na

mestu notranjih mrežastih vratc. Količine pridelanega strupa so bile večje ali primerljive s pridobivanjem na žrelu panja, kvaliteta strupa je bila občutno večja, manjša pa je bila tudi agresija čebel v okolici čebeljih panjev.

5.1.5 Kvaliteta čebeljega strupa

Svež čebelji strup je brezbarvna tekočina, neprijetnega grenkega okusa. Njegov pH znaša med 4,5 in 5,5. Čebelji strup vsebuje med 65 in 70 % vode, suho snov pa predstavljajo predvsem beljakovine in peptide, v manjši meri pa so zastopani tudi fiziološko aktivni amini, sladkorji, fosfolipidi, encimi in alfa-aminokisliline. Čebelji strup se razmeroma hitro posuši (pri 25° C v 20 minutah), pri tem se mu zmanjša delež vode ter delež hlapljivih snovi (kompleksih etrov), njegova biološka aktivnost pa ostane razmeroma nespremenjena.

Suh čebelji strup je fin prah bele, umazano bele, do sivkaste barve. Ima dražeč specifičen vonj ter grenak do kiselkast okus (Pušnik, 2014; Slovensko čebelarstvo ..., 2011; Bogdanov, 2016). Bogdanov (2016) in Flanjak (2021) navajata da so v posušenem čebeljem strupu pogosto prisotne tudi druge primesi in nečistoče, kot so nektar, delci cvetnega prahu, čebelji iztrebki in panjski drobir. Večji delci so v pridobljenem prahu vidni, manjši delci in različne primesi pa posušenem čebeljem strupu dajejo neznačilno barvo. Namesto bele oziroma sivkaste barve je pridelan strup rumenkaste in rjavkaste barve, kar zmanjšuje njegovo kvaliteto. Onesnaženju strupa z omenjenimi nečistočami se je potrebno pri pridobivanju čim bolj izogniti. Ker je pri pridobivanju strupa na žrelu panja večja možnost za vnos nečistoč, je možno prisotnost le teh zmanjšati s pridobivanjem strupa v notranjosti panja.

Bogdanov (2013) v nadaljevanju navaja, da se kvaliteta čebeljega strupa lahko zmanjša tudi zaradi nepravilnega skladiščenja. Oksidacija določenih snovi v čebeljem strupu namreč spremeni njegovo barvo v rumeno rjavkasto ter zmanjša učinkovitost delovanja čebeljega strupa. Najboljša oblika za ohranitev kvalitete strupa je liofilizacija le tega, v kolikor je strup zaščiten pred vlago in oksidacijo pa je lahko skladiščen tudi 5 let ali več. Kljub temu da pri tem ne izgubi svoje toksičnosti pa se s časom zmanjša njegova učinkovitost pri uporabi v apiterapiji.

Pušnik (2016) navaja, da je kvaliteta čebeljega strupa povezana tudi z vsebnostjo melitina. Gre za peptid, ki ima številne pozitivne učinke na telo, med katerimi so tudi spodbujanje izločanja nadledvičnih hormonov, spodbujanje prepuščnosti kapilar in zmanjševanje krvnega tlaka. Melitin zmanjšuje tudi možnosti za nastanek in rast tumorjev in zaščitno deluje proti sevanju. Količina melitina se lahko od vzorca do vzorca spreminja, tako Pušnik (2016) navaja, da je vsebnost melitina v strupu okrog 50 %, Bogdanov (2016) govori o vsebnosti med 50% in 60 %, Rybak in sod. (2004) o vsebnostih med 61 % in 70 %, Kokot in Matyasik (2009) o vsebnosti med 30,29 % in 63,28 %, Inonete in sod. (2013) pa o vsebnosti med 27,66% in 64,22%. Flanjak in sod. (2021) v raziskavi ugotavljajo, da vsebnost melitina predstavlja med 51,66 % in 69,5 %, ter da ni statistično značilnih razlik med vsebnostjo melitina v strupu pridelanem na žrelu panja

in strupu pridelanem v notranjosti panja. Je pa v primeru njihove raziskave razpon v vsebnosti melitina v strupu pridelanem na žrelu panja večji (51,66°- 69,5%) kot pri strupu pridelanem v notranjosti panja (58,03% - 66,63%). Večji razpon bi bil po njihovem mnenju lahko posledica prisotnosti nečistoč, ki so pri pridobivanju na žrelu panja pogostejše.

5.2 MATERIAL IN METODE

5.2.1 Načrt zbiranja vzorcev

V raziskavo smo vključili 16 vzorcev čebeljega strupa slovenskega porekla, pridelanih v letu 2023 in 2024 (Preglednica 23, Slika 11). Kljub temu da sezona za pridobivanje čebeljega strupa ni bila najboljša - zaradi neugodnih vremenskih pogojev in slabših donosov čebel na nekaterih območjih je bil razvoj čebeljih družin marsikje slabši kot običajno, smo vseeno od čebelarjev pridobili 16 vzorcev.

Preglednica 23: Seznam vzorcev čebeljega strupa, analiziranega v letu 2024

Št. vzorca	Statistična regija	Letnik pridelave
2024-1	savinjska	2024
2024-2	savinjska	2024
2024-3	goriška	2024
2024-4	goriška	2024
2024-5	pomurska	2024
2024-6	pomurska	2023
2024-7	pomurska	2024
2024-8	zasavska	2024
2024-9	jugovzhodna Slovenija	2024
2024-10	jugovzhodna Slovenija	2024
2024-11	jugovzhodna Slovenija	2024
2024-12	jugovzhodna Slovenija	2024
2024-13	jugovzhodna Slovenija	2024
2024-14	pomurska	2024
2024-15	savinjska	2024
2024-16	savinjska	2024

Posamezne vzorce čebeljega strupa smo pregledali in stehtali, da smo preverili če ustrezajo teži, potrebni za analiziranje (1g).



Slika 11: Vzorci čebeljega strupa v letu 2024.

5.2.2 Analiza čebeljega strupa

Ena izmed pomembnejših sestavin čebeljega strupa je melitin. V raziskavi so bili opravljene analize vsebnosti melitina, vsebnosti surovih beljakovin in vsebnosti suhe snovi. Pred analizo smo vzorce tudi vizualno pregledali in jih ocenili glede na prisotnost večjih delcev nečistoč in glede na barvo čebeljega strupa (Slika 17 in 18). Ocena je bila opravljena vizualno in ovrednotena z oceno 1-4 za posamezni parameter (prisotnost večjih delcev nečistoč; barva). Zaradi lažjega prikaza na grafih smo ocenjevali drugače kot preteklo leto in sicer na način da 4 pomeni najboljšo oceno (Slika 12), 1 pa najslabšo oceno (Slika 13). Pri ocenjevanju prisotnosti večjih delcev nečistoč ocena 4 tako pomeni, da je delcev nečistoč malo, 1 pa da jih je veliko. Pri ocenjevanju barve ocena 4 pomeni zelo belo barvo brez prisotnosti temnejših odtenkov, 1 pa rjavo barvo, ki nakazuje na veliko primesi v vzorcu čebeljega strupa.



Slika 12: Vzorec zelo čistega dobro ocenjenega čebeljega strupa.



Slika 13: Vzorec slabo ocenjenega čebeljega strupa z zelo rjavo barvo.

Analize čebeljega strupa na melitin, skupne beljakovine in suho snov so za potrebe raziskave opravili podizvajalci Nastavni zavod za javno zdravstvo dr. Andrija Stampar iz Zagreba. Za ugotavljanje deleža melitina v vzorcu čebeljega strupa se je uporabila naprava HPLC in metoda SOP- 157-053. Za ugotavljanje deleža skupnih beljakovin v vzorcih čebeljega strupa se je uporabila titrimetrija in metoda HRN ISO 187:2017 in HRN ISO937: 1999. Za ugotavljanje deleža suhe snovi se je uporabila gravimetrija in metoda SOP – 98- 054.

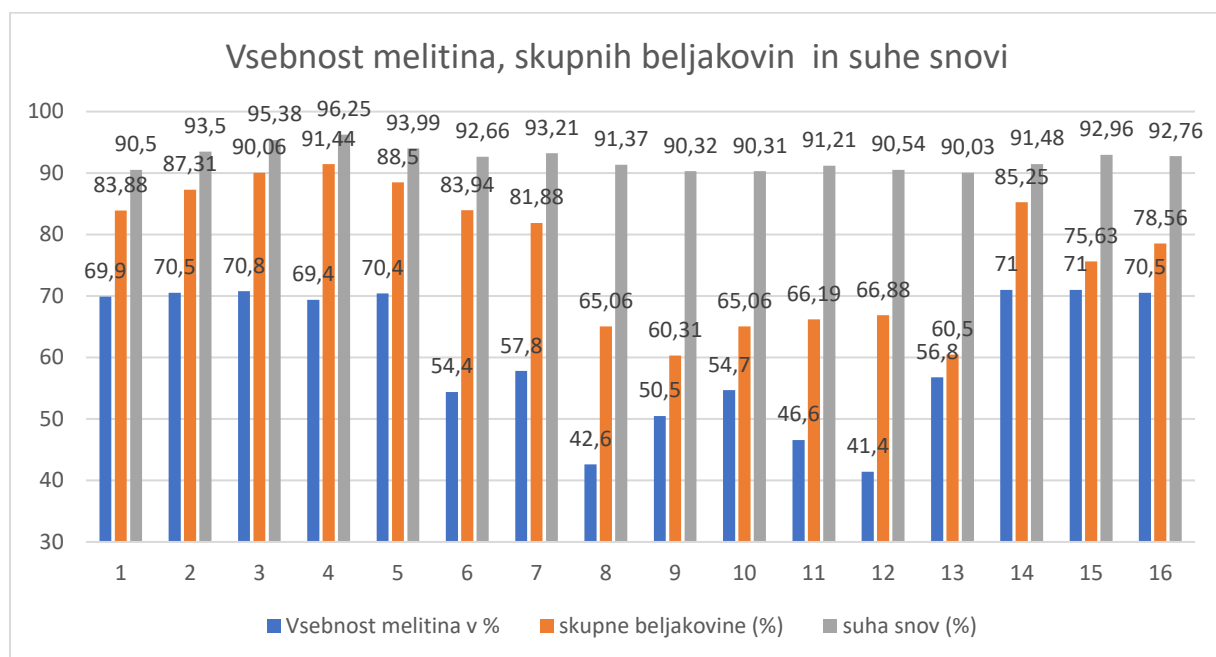
Stanje prejetih vzorcev je razvidno iz fotografij v Preglednici 24, na katerih je jasno vidna tudi razlika v barvi čebeljega strupa, njegovi teksturi in prisotnosti večjih in manjših delcev nečistoč.

5.3 REZULTATI Z RAZPRAVO

5.3.1 Analiza sestave čebeljega strupa in ocena čistosti

Zbrani vzorci čebeljega strupa so bili različnih barv in različnega izgleda (Slika 15, Preglednica 24). Pri delu vzorcev je prevladovala izrazita bela barva, pri delu vzorcev pa so bili prisotni odtenki rjave barve.

Povprečna vsebnost skupnih beljakovin v vzorcih čebeljega strupa v letu 2024 je znašala 76,90 % in se je gibala med 60,31% in 91,44 % (Slika 14). Razlike med vzorci so bile manjše pri vsebnosti suhe snovi, katere je bil v povprečju v vzorcih 92,28 %, vsebnost pa se je gibala med 90,03 % in 96,25 %

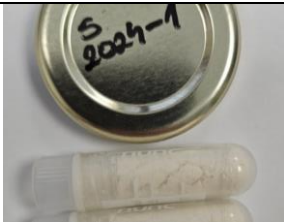






Slika 14: Vsebnost melitina, skupnih beljakovin in suhe snovi v vzorcih čebeljega strupa v letu 2024.







Povprečna vsebnost melitina v vzorcih čebeljega strupa zbranega v letu 2024 je znašala 60,52 %. Najmanj melitina (41,4 %) je vseboval vzorec 12, sledil mu je vzorec 8 (42,6% melitina) in vzorec 11 s 46,6 % melitina. Vzorca 12 in 11 sta bila od istega čebelarja. Največ melitina (71,0 %) sta vsebovala vzorca 14 in 15, nekoliko manj (70,8 % melitina) je imel vzorec 3, sledila sta vzorca 2 in 16 (70,5 % melitina), vzorec 5 (70,4 % melitina), vzorec 1 (69,9 % melitina) in vzorec 4 (69,4 % melitina). Vzorca 14 in 5 sta bila od istega čebelarja iz pomurske regije, vzorca 15 in 16 od istega čebelarja iz savinjske regije, vzorca 3 in 4 od istega čebelarja iz goriške regije ter vzorca 1 in 2 od istega čebelarja iz savinjske regije. Pri polovici vzorcev je bila vsebnost melitina večja od 60 % in se je gibala med 69,4 % in 71 %. Pri polovici vzorcev pa je bila vsebnost melitina manjša od 60 % in se je gibala med 41,4 % in 57,8 %

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
 DELNO POROČILO ZA LETO 2024


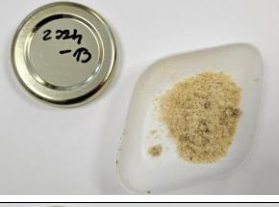
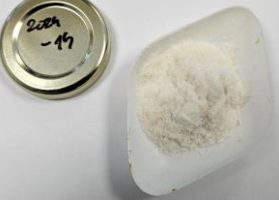


Preglednica 24: Rezultati analize sestave vzorcev čebeljega strupa in ocene čistosti za vzorce analizirane v letu 2024

Št. vzorca	Ocena čistosti (1 - najslabša, 4 - najboljša)	Ocena barve (1 - najslabša, 4 - najboljša)	LOT	Vsebnost melitina (%)	Skupne beljakovine (%)	Suha snov (%)	Fotografija vzorca
2024-1	4	4	b1	69,9	83,88	90,5	
2024-2	4	4	a1-1	70,5	87,31	93,5	
2024-3	4	4	2024-1	70,8	90,06	95,38	
2024-4	4	4	2024-2	69,4	91,44	96,25	
2024-5	4	4	2024-1	70,4	88,5	93,99	

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
 DELNO POROČILO ZA LETO 2024

2024-6	3	1	2023-1	54,4	83,94	92,66	
2024-7	4	2	2024-1	57,8	81,88	93,21	
2024-8	3	2	1.01.2024	42,6	65,06	91,37	
2024-9	3	3	2024-1	50,5	60,31	90,32	
2024-10	3	3	2024-2	54,7	65,06	90,31	
2024-11	4	3	2024-3	46,6	66,19	91,21	

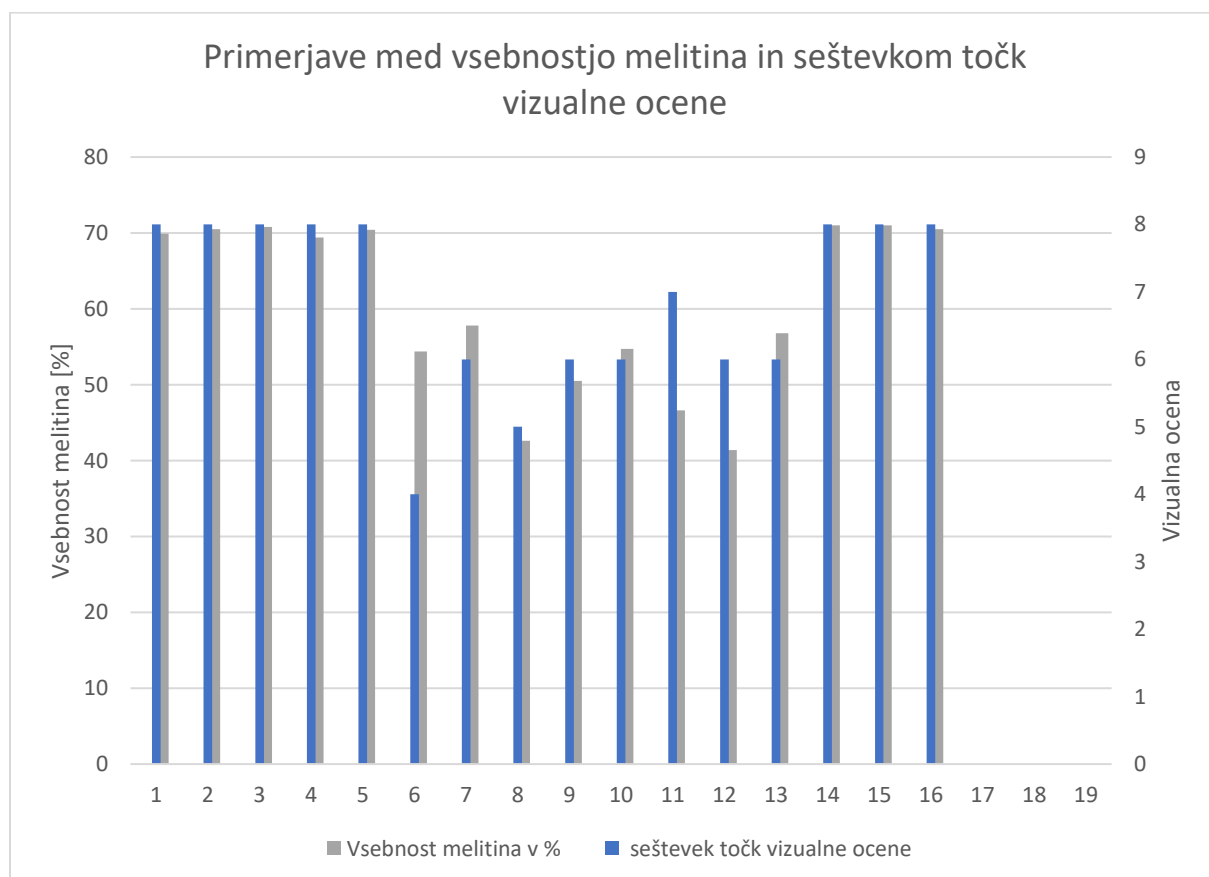
APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
 DELNO POROČILO ZA LETO 2024

2024-12	3	3	2024-4	41,4	66,88	90,54	
2024-13	3	3	2024-5	56,8	60,5	90,03	
2024-14	4	4	2024-2	71	85,25	91,48	
2024-15	4	4	2024-1	71	75,63	92,96	
2024-16	4	4	2024-2	70,5	78,56	92,76	



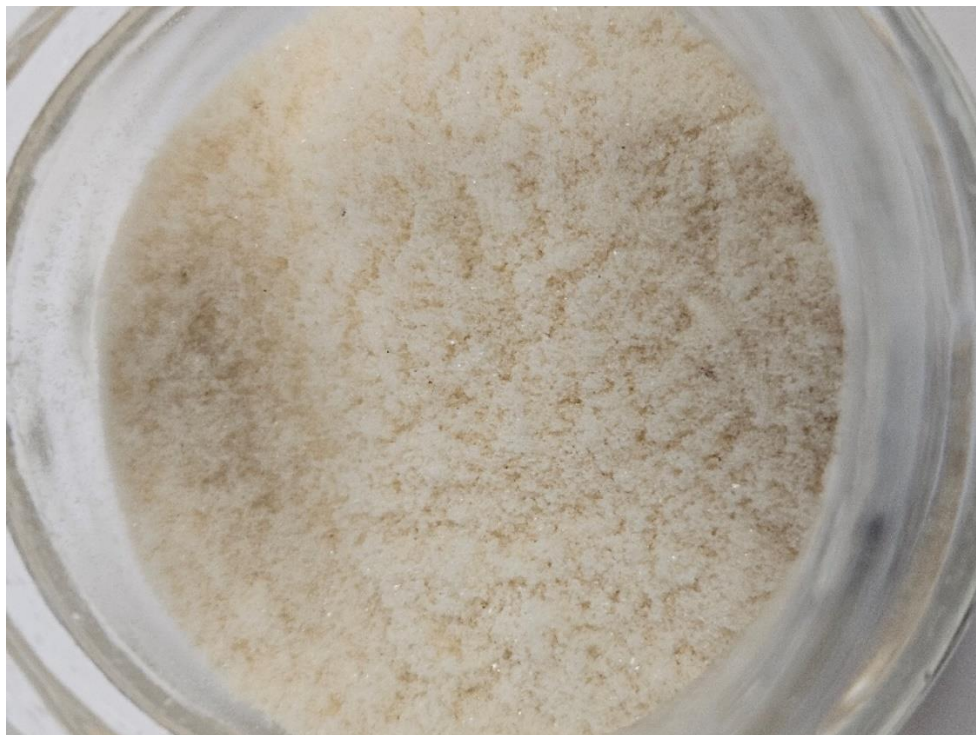
Slika 15: Primerjava različnih barv čebeljega strupa.

Z najboljšo oceno za vizualni izgled so bili ocenjeni vzorci št 1, 2, 3, 4, 5, 14, 15, 16, z eno točko manj je bil ocenjen vzorec 7, z dvema točkama manj vzorci 7, 9, 10, 12 in 13, sledila sta vzorec 11 ter vzorec 8, najmanj točk pa je dobil vzorec 6.



Slika 16: Primerjave med vsebnostjo melitina in seštevkom točk vizualne ocene.

Iz slike 16 in Preglednice 24 je razbrati, da so imeli vzorci, ki so bili vizualno najbolj ocenjeni tudi največji delež melitina. Ta je tako za vzorce 1, 2, 3, 4, 5, 14, 15, 16, ki so prejeli vse točke pri vizualni oceni, v povprečju znašal 70,44 % melitina.



Slika 17: Vizualno dobro ocenjeni vzorec čebeljega strupa.



Slika 18: Primerjava zelo dobro in slabo ocenjenega vzorca čebeljega strupa.

5.4 ZAKLJUČEK

Izgled in sestava čebeljega strupa se med posameznimi vzorci razlikuje. V barvi so vzorci variirali od povsem bele barve, brez nečistoč in primesi, do rjave barve.

Glede na sestavo čebeljega strupa so najmanjše razlike pri vzorcih v deležu suhe snovi čebeljega strupa, ki v povprečju znaša 92,28 %, vsebnost pa se je gibala med 90,03 % in 96,25 %. To sovпада z navedbami Pušnika (2014) in Bogdanova (2016), ki navajata da se čebelji strup po pridobivanju razmeroma hitro posuši in izgubi večji del vode.

Povprečna vsebnost skupnih beljakovin v vzorcih čebeljega strupa v letu 2024 je znašala 76,90 % in se gibala med 60,31% in 91,44 %.

Vsebnost melitina se med posameznimi analiziranimi vzorci močno razlikuje, v povprečju je melitina v vzorcih čebeljega strupa zbranega v letu 2024 60,52 %, najmanj ga je 41,4 %, največ pa 71,0 %. Razpon v vsebnosti čebeljega strupa sovпада s trditvami Pušnika in drugih avtorjev, ki navajajo, da je lahko delež melitina med vzorci različen. Kar polovica vzorcev je imela vsebnost melitina večjo od 60 %. Melitina v teh vzorcih je bilo med 69,4 % in 71 %, v povprečju 70,44%. To je več kot navajajo avtorji v drugih raziskavah, še najbolj pa se tem vrednostim približajo Rybak in sod. (2004), ki pišejo o vrednostih melitina med 61 % in 70% ter Flanjak in sod. (2021), ki navajajo vrednosti med 51,66 in 69,5 % melitina. Iz pridobljenih podatkov lahko sklepamo da slovenski čebelji strup dosega visoko kvaliteto in visok delež melitina.

Glede na ugotovitve drugih avtorjev lahko sklepamo, da je razpon v vsebnosti melitina v naši raziskavi v letu 2024 večji kot je pri raziskavah, ki jih navajajo na primer Pušnik (2016), Bogdanov (2016), Ryvak in sod. (2004) in Flanjak in sod. (2021). Razpon se še najbolj približa vrednostim, ki jih omenjajo Kokot in Matyasik (2009) in Inonete in sod. (2013) ki navajajo vsebnosti med 30,29 % in 63,28 % in med 27,66% in 64,22%. So pa za razliko od omenjenih dveh avtorjev zgornje vrednosti izmerjenega melitina v vzorcih zajetih v našo raziskavo višje in pridejo do 71 %.

Polovico vzorcev zajetih v raziskavo je dobilo vse točke za vizualno oceno barve in vsebnosti nečistoč. Ti vzorci so imeli tudi največji delež melitina, ki je v povprečju znašal 70,44 %. Vzorci s slabšo oceno za barvo in prisotnost nečistoč pa so vsebovali manj melitina. Tudi v letošnjem letu se je tako pokazala pozitivna korelacija med ocenami za izgled strupa in vsebnostjo melitina.

V letošnjem letu smo v raziskavo vključili 16 vzorcev, od tega 4 iz savinjske regije, 2 vzorca iz goriške regije, 4 vzorce iz pomurske regije, 1 vzorec iz zasavske regije in 4 vzorce iz jugovzhodne Slovenije. Vzorci so bili od 8 čebelarjev. Glede na rezultate in pretekle raziskave

na področju čebeljega strupa je sestava čebeljega strupa in njegova kvaliteta odvisna predvsem od načina pridelave (izbira in pozicija naprav, čas pridobivanja,...) in načina skladiščenja, torej od samega dela čebelarja. Tudi pri letošnji raziskavi se je pokazalo, da so vzorci istega čebelarja v večini primerov dobili podobne ocene za izgled in imeli podobno sestavo. Oboje je tako odvisno predvsem od prej omenjenih faktorjev in ne od območja oziroma statistične regije, v kateri se čebelnjaki nahajajo.

5.5 VIRI

Bogdanov S. 2016. The bee venom book; Bee Product Science, www.bee-hexagon.net, April 2016

Flanjak I., Kovačić M., Primorac L., Soldić A., Puškadija Z., Bilić Rajs B. 2021. Comparison of the quantity and quality of honey bee venom collected in the front and inside of the hive. *Journal of Apicultural Research*, 63, 3: 584-589

Golob S. 2020. Čebelji strup in njegovo pridobivanje. *Slovenski čebelar*, 2020, 7-8: 202-203

Golob S., Kozmus P., Kandolf Borovšak A. 2022. Končno poročilo aplikativne raziskave Optimizacija tehnologije pridelave strupa, Čebelarstva zveza Slovenije, Lukovica, 92 str.

Kokot, Z. J., Matysiak, J. 2009. Simultaneous determination of major constituents of honeybee venom by LCDAD. *Chromatographia*, 69, 11-12: 1401–1405. <https://doi.org/10.1365/s10337-009-1052-9>

Kulić V. 2017. Pčele nas hrane i leče. Novi sad, samozaložba: 127 str.

Plut S. Čebelji strup. Čebelji pridelki. Čebelarstva zveza Slovenije
<http://www.czs.si/content/C25> (30.8.2020)

Pušnik V. 2014. Apimedicina 4, Čebelji strup. Maribor, Čebelarstva center:, 40 str.

Pušnik V. 2016. Apiterapija. Ljubljana, ČZD kmečki glas d.o.o: 124 str

Pušnik V. 2020. Apiterapevtski nasveti. Maribor, ČZD Maribor: 256 str.

Radivojac R. 2010. Čebelji strup- čudežno zdravilo. *Pčelar*, št. 4

Rybak, M; Muszynska, J; Skubida, P., Marcinkowski, J. 1995. A technology for bee venom collection *Pszczelnictwo Zeszyty Naukowe*. 39, S: 223-231.

Rybak-Chmielewska, H., Szczerba, T. 2004. HPLC study of chemical composition of honeybee (*Apis mellifera* L.) venom. *Journal of Apicultural Science*, 48: 103–109

Slovensko Čebelarstvo v tretje tisočletje 1. 2008. Lukovica, Čebelarstva zveza Slovenije: 439 str.

Slovensko Čebelarstvo v tretje tisočletje 2. 2011. Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 512 str.

Stepanović Ž in sod. 2013. Darovi medonosne pčele: Apiterapevtski pristup. Beograd: Graficom-uno., 566 str.

6 MED

6.1 PREGLED OBJAV O MEDU

Med je viskozna naravna sladka snov, ki jo iz nektarja ali mane proizvajajo medonosne čebele. Sestavljen je pretežno iz sladkorjev in vode, v majhnih količinah pa vsebuje tudi aminokislino in beljakovine, proste kisline, encime, minerale, vitamine, aromatske snovi in barvila (Božnar 2011). Med je odličen vir energije, 100 g medu ima okrog 1283 kJ (306 kcal) energije (Bogdanov in sod., 2009). Glavni sestavini medu sta enostavna sladkorja fruktoza in glukoza, ki jih človeški organizem lahko takoj porabi. Količina proteinov, vitaminov in mineralov v medu je sicer majhna in ne zadosti dnevnim potrebam, kljub temu pa lahko z njim nadomestimo sladkor, saj je ravno zaradi teh sestavin zdrav za uživanje.

6.1.1 PROTIMIKROBNA AKTIVNOST MEDU

Med je učinkovito sredstvo proti oksidacijskim procesom v živilih, npr. proti oksidaciji lipidov v medu in proti encimskemu rjavenju sadja in zelenjave. Uporabimo ga lahko kot konzervans za živila, pri čemer živilom poveča tudi hranilno vrednost, uporaben pa je tudi v preventivne in terapevtske namene. V medicini se uporablja tudi zaradi njegovih protimikrobnih lastnosti. Na med je občutljivih več bakterij med njimi: *S. aureus*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Paenibacillus larvae*, nekateri iz rodu *Streptococcus* spp., *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Proteus* spp. pa tudi nekatere glive (*Candida albicans*), kvasovke, virusi (*Rubella virus*, *Herpes virus*) in paraziti (*Leishmania*, gliste *Caenorhabditis elegans*). Ima tako bakteriostatični kot baktericidni učinek (De Melo in sod., 2017).

Prve objave o protimikrobni aktivnosti medu segajo v leto 1982. Pogosto se protimikrobna aktivnost posamezne vrste medu primerja s protimikrobno aktivnostjo medu manuke, ki slovi kot ena izmed bolj protimikrobno učinkovitih vrst. Obstajata dve vrsti (ali t.i. inhibini) protimikrobne aktivnosti medu. Ena izmed njih je občutljiva na svetlobo in toploto, njen izvor je v vodikovem peroksidu, tista, ki ni posledica delovanja vodikovega peroksida, pa je verjetno pomembnejša. Ta ni občutljiva na svetlobo in toploto (Bogdanov, 1997). Protimikrobna aktivnost je odvisna od botaničnega in geografskega porekla medu, metabolizma čebel, okoljskih, sezonskih ter klimatskih pogojev, ki vplivajo na sestavo medu (De Melo in sod., 2017; Hossain in sod., 2021), kot tudi od časa pridobivanja medu in kasnejšega rokovanja z medom (Hossain in sod., 2021). Določa jo koncentracije vodikovega peroksida in vseh ostalih sestavin vključno z vsebnostjo fenolnih spojin (Bucekova in sod., 2019).

Peroksidna protimikrobna aktivnost

Vodikov peroksid nastaja pri oksidaciji glukoze v nezrelem ali razredčenem medu. Pri tem je pomemben encim glukozna oksidaza, ki izvira iz čebeljih krmilnih žlez. Katalaza, ki je prav

tako prisotna v medu, pa vodikov peroksid razgrajuje. Izvor katalaze je cvetni prah rastlin. Koncentracija vodikovega peroksida je torej odvisna od encimov glukoze oksidaze in katalaze. Več kot je glukoze oksidaze in manj kot je katalaze, več je vodikovega peroksida. Vir glukoze oksidaze je čebelja žleza, vir katalaze pa pelod rastlin, zato je protimikrobna učinkovitost odvisna tudi od vrste medu (Weston, 2000).

V zrelem medu je glukoza oksidaza neaktivna, vendar med vsebuje toliko vodikovega peroksida, da vseeno inhibira rast bakterij. Ko med pojemo ali razredčimo pa se peroksid tvori in deluje protimikrobno (Bogdanov, 1997).

Koncentracija vodikovega peroksida v razredčenem medu je v povprečju 1 mmol/L, za inhibicijo rasti bakterije *E. coli* je dovolj od 0,02 do 0,05 mmol/L vodikovega peroksida (Molan, 2001).

Možni viri neperoksidne protimikrobne učinkovitosti medu

Med ima nizek pH ter visoko osmolarnost, zato inhibira rast bakterij. Vsebuje malo vode in veliko sladkorjev, ki ustvarjajo protimikrobno aktivnost z osmotskim tlakom (Bogdanov, 1997; Molann, 2001).

Med naj bi vseboval tudi lizocime, ki so dobro znani protimikrobni agensi (Bogdanov, 1997), pomembni viri neperoksidne protimikrobne učinkovitosti medu so tudi metilglioksal in rojalizin (Kwakman in Zaat, 2012; Nolan in sod., 2019) ter čebelji defenzin-1 (Valachova in sod., 2016). Med manuke, ki je proizveden iz nektarja nabranega na grmovju *Leptospermum scoparium* (Myrtaceae), ki raste na Novi Zelandiji, vsebuje velike količine metilglioksala. Tudi nekatere druge vrste medu ga vsebujejo, vendar bistveno manj kot med manuke (Kwakman in Zaat, 2012; Nolan in sod., 2019). V medu nastane s staranjem iz dihidroacetona, ki je prisoten v nektarju omenjene rastline (Kwakman in Zaat, 2012) in naj bi učinkoval celo proti virusu gripe (De Melo in sod., 2017). Rojalizin je peptid, ki ga proizvajajo čebele v krmilnih žlezah in ima močno aktivnost proti gram pozitivnim bakterijam med njimi *B. subtilis*, *S. aureus*, *P. larvae* (Kwakman in Zaat, 2012). Čebelji defenzin-1 je peptid, ki je sestavljen iz 51 aminokislin in prav tako deluje večinoma proti gram pozitivnim bakterijam (Valachova in sod., 2016).

Izvor protimikrobne aktivnosti medu

Inhibicija rasti bakterij je v pozitivni korelaciji s prostimi in skupnimi kislinami medu. Glede na to, da so kisline v medu čebeljega izvora, lahko sklepamo, da del protimikrobne aktivnosti izvira iz čebel. V tem primeru bi pravi med in potvorjen med, pripravljena pod istimi pogoji, imela enako protimikrobno aktivnost. Neperoksidna protimikrobna aktivnost, kot tudi sposobnost akumulacije peroksida je enaka pri pristnem in potvorjenem medu. To kaže, da velik del obeh protimikrobnih lastnosti izvira iz čebel, vsaj pri maninem medu. Ugotovili so tudi pozitivno korelacijo med čebeljimi encimi (diastaza, invertaza) in protimikrobno aktivnostjo.

Protimikrobna aktivnost je odvisna tudi od vira medicine oz. mane. Med rodedondrona in evkaliptusa ima najmanjšo protimikrobno aktivnost, večjo imajo akacijev, cvetlični, kostanjev med, med materine dušice, pomaranče, sončnice, oljne ogrščice in manin med (Bogdanov, 1997). Od slovenskih medov imajo največjo protimikrobno aktivnost kostanjev, hojev ter gozdni med, kostanjev med ima tudi največjo protiglivično delovanje proti nekaterim glivicam (Kralj Kunčič in sod., 2012). Veliko protimikrobno aktivnost ima tudi ajdov med (Kandolf Borovšak in sod., 2020). Protimikrobna aktivnost izvira tako iz rastlin kot iz čebel.

Največjo protimikrobno aktivnost ima med manuke, neperoksidna aktivnost tega medu naj bi izvirala iz rastlin. Vsi medovi manuke namreč nimajo neperoksidne protimikrobne aktivnosti (Weston, 1999), ampak samo tisti iz vzhodne regije severnega otoka Nove Zelandije (Weston, 2000). Veliko bakterij je občutljivih na med manuke, odpornih bakterij kot so *E. coli*, MRSA, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus epidermis*, niso našli v izolatih ran po uporabi medu manuke (Martinotti in Ranzato, 2018).

Med ima tudi protivnetno aktivnost in deluje kot probiotik zaradi prisotnosti bakterij *Bifidus* in *Lactobacilus*. Rast, aktivnost ter sposobnost preživetja laktobacilov lahko povečamo, če med dodamo v mlečne izdelke (De Melo in sod., 2017).

Od čebeljih pridelkov ima največjo protimikrobno aktivnost propolis. Med in propolis inhibirata *S. aureus*. Določene snovi, ki jih vsebuje propolis, se nahajajo tudi v medu, kar potrjuje dejstvo, da čebele s propolisom prevlečejo satje, preden vanj odložijo nektar ali mano. Tudi vosek ima protimikrobno učinkovitost (Miorin in sod., 2003; Martinello in Mutinelli, 2021).

6.1.2 ANTIOKSIDATIVNE LASTNOSTI MEDU

Med deluje tudi antioksidativno, saj vsebuje flavonoide, amino kisline, organske kisline, encime, askorbinsko kislino, α -tokoferol, karotenoide, proteine, produkte Maillardove reakcije, minerale (baker, železo), in več kot 150 fenolnih spojin, kot so npr. katehin, galna kislina, benzojska kislina, ferulna kislina, kavna kislina, hesperetin, *p*-kumarna kislina, krizin, kvercetin, galangin, kamferol, cimetna kislina (Rana in sod., 2018). Svež med ima podobno antioksidativno učinkovitost kot nekatero sadje in zelenjava. Vsebnost teh sestavin variira glede na botanično in geografsko poreklo medu ter segrevanje medu. Shakoori in sod. (2024) so potrdili domnevo, da je antioksidativna učinkovitost odvisna od botaničnega izvora medu in identificirali družini rožnic (Rosaceae), ščirovk (Amaranthaceae), metuljnic (Fabaceae) in nebinovk (Asteraceae) kot odličen vir naravnih antioksidantov in kot rastline, ki najbolj prispevajo k povečanju antioksidativne aktivnosti medu. Od slovenskih medov imajo najvišjo antioksidativno učinkovitost hojev med, sledijo smrekov, gozdni, kostanjev, cvetlični, lipov in nazadnje akacijev med (Bertoncelj, 2008). Tudi lipov med ima lahko visoko antioksidativno učinkovitost, če je maninega izvora (Kandolf Borovšak in sod., 2020). Viri fenolnih spojin v medu so propolis, vosek, nektar in cvetni prah (Soler in sod., 1995). Med protimikrobno in

antioksidativno učinkovitostjo slovenskega medu obstaja močna povezava (Kralj Kunčič in sod., 2012).

Antioksidanti so uporabni v živilski industriji, saj preprečujejo encimsko porjavenje sadja ter rast organizmov, ki zmanjšujejo kakovost živil. Dodatek medu mesu pred segrevanjem ima antioksidativni učinek in inhibira razvoj oksidativnih sestavin (Nagai in sod., 2006). V mesu aminokisliline in ogljikovi hidrati namreč reagirajo in tvorijo vmesne produkte, ki se oksidirajo, dekarboksilirajo, postanejo ciklične spojine in tako spremenijo aromo mesa. Prav tako med zavira encimsko porjavenje sadja (Mundu in sod., 2004). Vključevanje medu v vsakdanjo prehrano pomeni vnos naravnih antioksidantov v naše telo (Mărgăoan in sod., 2021).

Fenolni antioksidanti inhibirajo rast velikega števila gram negativnih in pozitivnih bakterij in odstranjujejo proste radikale, zato med zmanjša vnetje in poškodbe tkiv (Molan, 2001). Preprečevali naj bi nastanek rakavih obolenj, raznih vnetij, preventivno naj bi delovali pred procesi staranja (Crushnie in Lamb, 2005; Balasundram in sod., 2006, Shakoori in sod., 2024).

Med se pogosto uporablja za zdravljenje ran (Molan, 2001; 2006; French in sod., 2005). Visoka vsebnost sladkorjev v medu lahko izboljša oskrbo s hranili poškodovanega območja. Nizek pH medu omogoča odlične pogoje fibroblastom, ki sodelujejo pri celjenju ran, in za svoje delovanje potrebujejo kislo okolje (Martinotti in Ranzato, 2018). Poleg tega kislo okolje spodbuja zdravljenje rane s povečanjem sproščanja kisika iz hemoglobina. Tudi visoka osmolarnost medu pomaga pri celjenju ran, saj osmotski učinek omogoča odtekanje limfe iz rane. Sladkorji povzročijo odtekanje vode iz bakterij, kar zavre njihovo rast (Molan in Rhodes, 2015). Rana, okužena s *S. aureus*, postane sterilna, potem ko jo namažemo z medom. Med s srednjo ravnjo protimikrobne aktivnosti preprečuje rast *S. aureus*, tudi če je toliko razredčen, da se vpliv sladkorjev izniči (French in sod., 2005), v primeru zdravljenja ran z medom je pojav MRSA manj pogost (Vandamme in sod., 2013). Bakterije na med verjetno ne morejo postati rezistentne, oziroma je zelo majhno tveganje, vsaj kadar se uporablja velika koncentracija medu. Za zdravljenje ran se mora uporabljati z gama žarki steriliziran med (Molan in Rhodes, 2015). Najbolj uspešno se med uporablja pri zdravljenju čirov (ulcer) in kirurških ran (Vandamme in sod., 2013). Uporabljajo se različni komercialni preparati na osnovi medu v obliki mazil, krem, raznih past, ki se največkrat uporabljajo pri zdravljenju ran ali v preventivne namene pri raznih ranah (Goharshenasan in sod., 2016; Hossain in sod., 2021), pa tudi sirupi na osnovi medu, ki ščitijo proti virusnim vnetjem (Hossain in sod., 2021).

6.2 MATERIAL IN METODE

6.2.1 Zbiranje vzorcev

V raziskavo smo vključili 40 vzorcev medu iz enajstih statističnih regij Slovenije. Osem jih je bilo iz savinjske, 7 iz osrednjeslovenske, po 5 iz jugovzhodne Slovenije in obalno-kraške regije, po 3 iz podravske in primorsko-notranjske, po 2 iz gorenjske, goriške, zasavske in koroške regije in 1 vzorec iz posavske regije. V letu 2023 je bilo pridelanih 26 vzorcev, v letu 2024 pa 14 vzorcev (Slika 19, Preglednica 25).



Slika 19: Raznolikost vzorcev medu v programskem letu 2024.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Preglednica 25: Analizirani vzorci medu

Zap. št.	Vzorec	Statistična regija	Letnik pridelave
1	K. MED 24-1	osrednjeslovenska	2023
2	K. MED 24-2	gorenjska	2023
3	K. MED 24-3	osrednjeslovenska	2023
4	K. MED 24-4	jugovzhodna Slovenija	2023
5	K. MED 24-5	jugovzhodna Slovenija	2023
6	K. MED 24-6	obalno-kraška	2023
7	K. MED 24-7	obalno-kraška	2023
8	K. MED 24-8	obalno-kraška	2023
9	K. MED 24-9	obalno-kraška	2023
10	K. MED 24-10	obalno-kraška	2023
11	K. MED 24-11	jugovzhodna Slovenija	2023
12	K. MED 24-12	osrednjeslovenska	2023
13	K. MED 24-13	gorenjska	2023
14	K. MED 24-14	jugovzhodna Slovenija	2023
15	K. MED 24-15	osrednjeslovenska	2023
16	K. MED 24-16	osrednjeslovenska	2023
17	K. MED 24-17	zasavska	2023
18	K. MED 24-18	primorsko-notranjska	2023
19	K. MED 24-19	podravska	2023
20	K. MED 24-20	primorsko-notranjska	2023
21	K. MED 24-21	primorsko-notranjska	2023
22	K. MED 24-22	goriška	2023
23	K. MED 24-23	podravska	2023
24	K. MED 24-24	osrednjeslovenska	2023
25	K. MED 24-25	savinjska	2023
26	K. MED 24-26	goriška	2024
27	K. MED 24-27	osrednjeslovenska	2023
28	K. MED 24-28	posavska	2024
29	K. MED 24-29	savinjska	2024
30	K. MED 24-30	savinjska	2024
31	K. MED 24-31	zasavska	2024
32	K. MED 24-32	koroška	2024
33	K. MED 24-33	savinjska	2024
34	K. MED 24-34	savinjska	2024
35	K. MED 24-35	savinjska	2024
36	K. MED 24-36	savinjska	2024
37	K. MED 24-37	podravska	2024
38	K. MED 24-38	jugovzhodna Slovenija	2024
39	K. MED 24-39	koroška	2024
40	K. MED 24-40	savinjska	2024

6.2.2 Določitev vrste medu

Vsakemu vzorcu smo najprej določili vrsto medu. Izmerili smo vsebnost vode in električno prevodnost v skladu s harmonizirano metodo Mednarodne komisije za med (angl. *International Honey Commission*) (Bogdanov, 2009). Opravili smo senzorično analizo ter določili dominanten (> 45%) oz. za posamezno vrsto medu značilen pelod v medu. Na osnovi rezultatov opisanih metod smo določili vrsto medu.

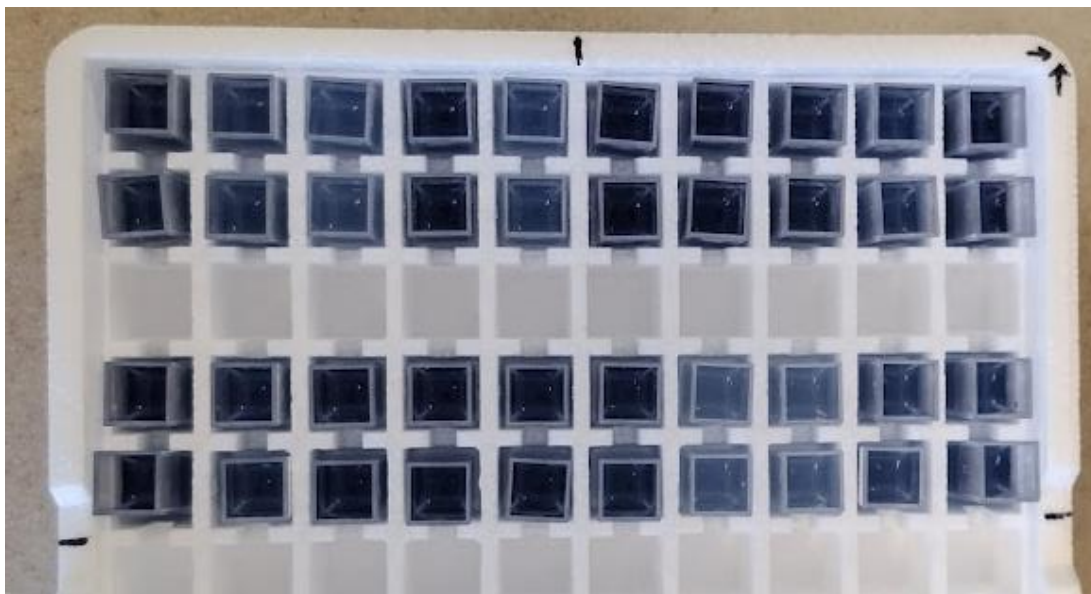
6.2.3 Določanje skupnih fenolnih spojin in antioksidativne učinkovitosti

Vsebnost skupnih fenolnih spojin se določa s Folin-Cicoltaeu (FC) metodo pri kateri se kot standard uporablja galna kislina, antioksidativno učinkovitost pa se določa z DPPH• in FRAP metodo. FRAP metoda je enostavna spektrofotometrična metoda za ugotavljanje antioksidativne učinkovitosti živil, DPPH• metoda pa se uporablja za določanje sposobnosti lovljenja radikalov. Rezultate se izrazi kot koncentracija učinkovitosti (EC_{50}), ki je definirana kot koncentracija antioksidanta, potrebna za 50 % zmanjšanje absorbance radikala DPPH• oz. podaja koncentracijo substrata, ki vodi do 50 % zmanjšanja absorbance DPPH• in se kaže kot izguba intenzivnosti vijolične barve (Molyneux, 2004).

Določanje skupnih fenolnih spojin s Folin-Ciocalteujevo (FC) metodo (Beretta in sod., 2005)

Spektrofotometrična metoda temelji na oksidaciji fenolnih spojin s FC reagentom, ki vsebuje volframat in molibdat. Obarvanemu produktu izmerimo absorbanco pri 750 nm. Za umeritveno krivuljo uporabimo raztopino galne kisline, ki se uporablja kot standardna referenčna raztopina za določanje skupnih fenolnih spojin (Beretta in sod., 2005).

V stekleno čašo smo odtehtali 5,0 g vzorca, ga raztopili v približno 20 mL destilirane vode, nakar smo vzorec prelili v 50 mL merilno bučko in jo dopolnili do oznake ter raztopili. Za analizo smo odpipetirali 200 μ L vzorca, dodali smo 1 mL FC in 1 mL 10 % raztopine Na_2CO_3 (Slika 20). Za slepi vzorec smo raztopini medu dodali namesto FC reagenta dodali 1 mL vode.



Slika 20: Različno intenzivna obarvanost po dodatku reagenta pri nekaterih vzorcih medu iz programskega leta 2024.

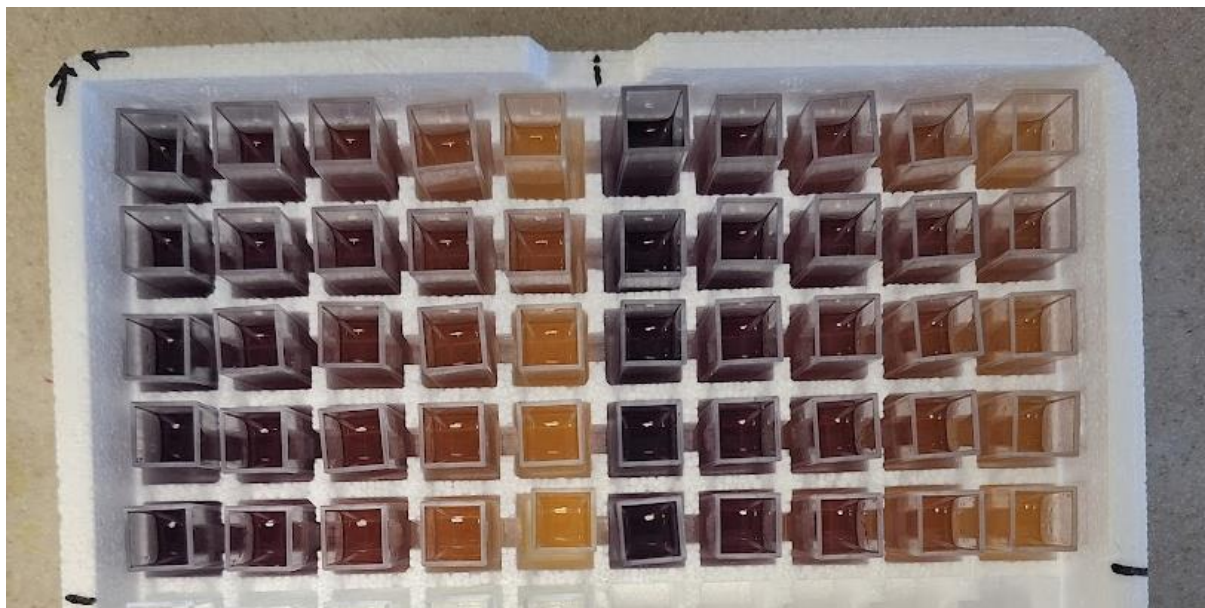
Koncentracijo skupnih fenolnih spojin smo določili s pomočjo umeritvene krivulje. Rezultat smo podali v mg galne kisline na kilogram medu.

Določanje antioksidativne učinkovitosti - DPPH• metoda (Beretta in sod., 2005)

Ko raztopina radikala DPPH• reagira z antioksidativno komponento, ki je donor vodika, pride do redukcije, kar povzroči spremembo barve raztopine. Vijoličasta barva prostega radikala DPPH• ob prisotnosti antioksidanta prehaja v rumeno (Slika 21). Spremembo absorbance spremljamo spektrofotometrično pri 517 nm.

V stekleno čašo smo odtehtali 15,0 g vzorca, ga raztopili v približno 20 mL destilirane vode, nakar smo vzorec prelili v 25 mL merilno bučko in jo dopolnili do oznake ter raztopili na ultrazvočni kopeli. Iz te izhodne raztopine smo nato z razredčevanjem pripravili 5 raztopin z masnimi deleži od 30 do 600 mg/mL. Odpipetirali smo 0,1 mL posamezne raztopine medu in dodali 1 mL acetatnega pufra in 1,9 mL DPPH• reagenta. Za slepi vzorec smo odpipetirali posamezno koncentracijo medu in dodali 1 mL acetatnega pufra ter 1,9 mL vode. V kontrolni vzorec smo odpipetirali 0,1 mL vode, 1 mL acetatnega pufra ter 1,9 mL DPPH• reagenta. Vse skupaj smo dali v temo za 90 minut, nakar smo posameznim raztopinam vzorca, slepim vzorcem in kontrolnemu vzorcju odčitali absorbanco pri 517 nm.

Iz rezultatov smo dobili graf odvisnosti preostalega DPPH• od koncentracije medu in iz njega izračunali koncentracijo učinkovitosti (EC_{50}), ki je definirana kot koncentracija antioksidanta, potrebna za 50 % zmanjšanje absorbance radikala DPPH•. Večja kot je antioksidativna učinkovitost, nižja je EC_{50} vrednost.



Slika 21: Izguba vijolične barve DPPH• reagenta pri nekaterih vzorcih iz programskega leta 2024.

Določanje antioksidativne učinkovitosti - FRAP metoda (Benzie in Strain, 1996)

FRAP metoda (Ferric Reducing Antioxidant Power) temelji na redukciji Fe^{+3} v Fe^{+2} ob prisotnosti oksidanta. Nastali Fe^{+2} ioni s TPTZ reagentom (2,4,6-tri[2-piridil]-s-triazin) tvorijo obarvan kompleks, ki doseže absorpcijski maksimum pri 593 nm (Benzie in Strain, 1996).

V stekleno čašo smo odtehtali 5 g vzorca medu in ga raztopili v 20 mL vode, nato smo ga prestavili v 50 mL bučko in dopolnili do oznake. Za analizo smo odpipetirali 200 μL vzorca in dodali 1,8 mL FRAP reagenta ter inkubirali 10 min pri 37 °C. Nato smo izmerili absorbanco pri 593 nm proti slepemu vzorcu. Za slepi vzorec smo raztopini medu dodali 1,8 mL vode.

FRAP vrednosti za 10 % raztopine medu smo določili s pomočjo umeritvene krivulje. Rezultat smo podali v μM Fe(II).

6.2.4 Določanje protimikrobne aktivnosti medu

Različnim vrstam medu smo določili protimikrobno aktivnost z metodo razredčevanja v mikrotitrski plošči. Protimikrobna aktivnost je prikazana kot minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) posameznega vzorca v enotah mg/mL in %. Določili smo tudi minimalno bakteriocidno koncentracijo, ki predstavlja najnižjo koncentracijo, pri kateri ni opaziti ponovne rasti testnih bakterij ob precepitvi redčitve vzorca iz mikrotitrskeske ploščice na sveže gojišče ob ponovni kultivaciji na svežem gojišču (MBK).

Testni mikroorganizmi so bili *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* in *C. jejuni*.

Za vsak vzorec medu smo pripravili svežo 50 % raztopino s koncentracijo 1000 mg/mL v tekočem gojišču Tryptic soy broth (TSB). Raztopino smo aseptično filtrirali preko filtra z velikostjo por 0,45 µm.

Protimikrobno učinkovitost različnih vrst medu smo določili z metodo razredčevanja v mikrotitrski ploščici. Pripravljene vzorce s koncentracijo 1000 mg/mL smo serijsko redčili v mikrotitrski ploščici tako, da smo po 50 mL vzorca prenašali v 50 µL gojišča. Tako smo pripravili dvakratne redčitve vzorca, vse do koncentracije 3,9 mg/mL. Na koncu smo v vsako posamezno luknjico dodali po 50 µL bakterijske kulture s koncentracijo 5×10^5 CFU/mL.

Testirali smo tudi pozitivno kontrolo rasti bakterij v gojišču in negativno kontrolo, ki je predstavljala delovno raztopino posameznega vzorca medu brez dodane kulture, ter kontrolo gojišča TSB. Vsa testiranja so narejena v najmanj dveh tehničnih in bioloških ponovitvah. Pripravljene ploščice s kulturami *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *B. cereus* in *E. coli* smo inkubirali pri 37 °C v aerobnih pogojih, *P. aeruginosa* 30 °C prav tako v aerobnih pogojih, s *C. jejuni* pa pri 42 °C v mikroaerofilnih pogojih 24 h.

Po 24 urni inkubaciji smo določili MIK z indikatorskim barvilom INT (2-p-iodofenil-3-p-nitrofenil-5-fentil tetrazolijev klorid). Vrednost MIK je bila za posamezno vrsto bakterij prva koncentracija medu v posameznem stolpcu mikrotitrške ploščice, pri kateri ni bilo rdečega obarvanja.

6.3 REZULTATI Z RAZPRAVO

6.3.1 Vsebnost skupnih fenolnih spojin in antioksidativna učinkovitost medu

Vsebnost skupnih fenolnih spojin smo določili s Folin-Cicoltaeu metodo, pri kateri smo kot standard uporabili galno kislino, antioksidativno učinkovitost pa smo določili z DPPH• in FRAP metodo. Rezultate vsebnosti skupnih fenolnih spojin in antioksidativne učinkovitosti naših vzorcev smo primerjali z rezultati za slovenski med, ki so bili pridobljeni v okviru doktorske dizertacije (Bertoncelj, 2008), prejšnjega programskega obdobja Karakterizacije čebeljih pridelkov (Kandolf Borovšak in sod., 2022) in prejšnjega programskega leta (Debelak in sod., 2023). Medovi z višjo vsebnostjo fenolnih kislin imajo večjo antioksidativno učinkovitost. Velja tudi pravilo, da imajo temnejši medovi več fenolnih kislin, kar pomeni, da je njihova antioksidativna učinkovitost večja (Zammit Young in Blundell, 2023).

AKACIJEV MED (N=1)

V programskem letu 2024 smo analizirali en vzorec akacijevga medu, ki je imel tipično nizko električno prevodnost za to vrsto medu (Preglednica 26). Električna prevodnost vzorca in vsebnost skupnih fenolnih spojin sta bili blizu povprečij iz leta 2023 in nekoliko nižji od povprečij iz programskega obdobja 2020-2022 in leta 2023 (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023). EC₅₀ vrednost (DPPH metoda) je znatno višja, FRAP vrednost pa znatno nižja od povprečij iz programskega obdobja 2020-2022 in leta 2023. Razen izjemno nizke FRAP vrednosti, sta vsebnost skupnih fenolov in vrednost EC₅₀ še vedno znotraj znanih razponov vrednosti za akacijev med (Debelak in sod., 2023; Kandolf Borovšak in sod., 2022; Bertoncelj, 2008).

Preglednica 26: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti akacijevga medu.

Oznaka vzorca	Vsebnost vode (%)	Električna prevodnost (mS/cm)	Dominanten/ vrstno značilen pelod	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GK} /kg)	FRAP Metoda (μM (FeII))	DPPH• metoda EC ₅₀ (mg/mL)
K. MED 24-34	15,5	0,17	/	50,9	40,1	92,4

BRŠLJANOV MED (N=3)

Analizirali smo tri vzorce bršljanovega medu, ki so bili v vseh parametrih zelo podobni (Preglednica 27). Pri karakterizaciji bršljanovega medu smo še zelo na začetku, a vendarle že lahko sklepamo o nekaterih tipičnih lastnostih bršljanovega medu. Zaradi tehnologije pridelave medu ima bršljanov med pogosto zelo visoko vsebnost vode. V raziskavi ČZS, ki je bila opravljena jeseni 2023, je bilo povprečna vsebnost vode bršljanovega medu 17,6 % (N = 9)

(Debelak, 2023). Naši rezultati presegajo to povprečje, kar še poveča verjetnost fermentacije medu. Vzorec K MED 24-23 pa je celo presegel zgornjo mejo vsebnosti vode po Pravilniku o medu, zato smo ga iz računanja povprečij izločili. Ker gre za med nektarnega izvora, je električna prevodnost pričakovano relativno nizka in blizu povprečij cvetličnega medu. Povprečna električna prevodnost je primerljiva s povprečjem zgoraj omenjene raziskave bršljanovega medu, vrednosti pa so znotraj razpona, ki ga navaja Debelak (2023). V povprečju sta vsebnost skupnih fenolnih spojin in FRAP vrednost precej višji v primerjavi z vzorcem iz leta 2023, EC₅₀ vrednost (DPPH metoda) pa je bila pri vzorcu iz 2023 nekoliko nižja.

Preglednica 27: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti bršljanovega medu.

Oznaka vzorca	Vsebnost vode (%)	Električna prevodnost (mS/cm)	Dominanten/ vrstno značilen pelod	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GK} /kg)	FRAP Metoda (μM (FeII))	DPPH• metoda EC ₅₀ (mg/mL)
K. MED 24-10	19,0	0,38	<i>Hedera</i>	109,8	199,0	19,1
K. MED 24-23	21,2	0,49	<i>Hedera</i>	120,7	288,6	18,2
K. MED 24-27	19,7	0,58	<i>Hedera</i>	129,9	301,2	17,8
Povprečje*	19,3	0,48		119,8	250,1	18,5
S.D.*	0,5	0,14		14,2	72,3	0,9
MIN	19,0	0,38		109,8	199,0	17,8
MAKS	21,2	0,58		129,9	301,2	19,1

* v izračun povprečja in vrednosti standardnega odklona nismo vključili vzorca 23.

CVETLIČNI MED (N=13)

V programskem letu 2024 smo analizirali 13 vzorcev cvetličnega medu (Preglednica 28), od tega je bil en vzorec pridelan v letu 2023 (K. MED 24-1), ostali so bili pridelani leta 2024. Vsebnost vode je primerljiva z dosedanjimi rezultati za cvetlični med iz prejšnjih programskih let, električna prevodnost pa je nekoliko nižja od rezultatov iz leta 2023 in znatno nižja od rezultatov iz programskega obdobja 2020-2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023). Tu moramo izpostaviti specifično letošnje pašne sezone, ki je bila za akacijev med relativno neugodna, saj je obilen dež v večjem delu Slovenije prekinil medenje robinije. Posledično imajo nekateri vzorci cvetličnega medu velik delež nektarja robinije, saj so mnogi čebelarji v panju že imeli nekaj akacijevega medu, ki pa so ga iztočili šele po cvetlični paši. Visok delež nektarja robinije v nekaterih vzorcih medu smo zaznali tudi pri senzorični analizi, saj so imeli določene (šibko izražene) senzorične lastnosti, značilne za akacijev med. Najbolj izrazito je to bilo pri vzorcu 28 (30 % peloda robinije), manj pa pri vzorcih 26 (38 % peloda robinije), 29 (8 % peloda robinije) in 33 (7 % peloda robinije). Kljub temu so ti vzorci ustrezali senzoričnemu profilu cvetličnega medu, zato smo določili vrsto kot cvetlični med.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Velik delež nektarja in peloda robinije se odraža tudi na nižjem povprečju vsebnosti skupnih fenolnih spojin v primerjavi z vzorci iz prejšnjih let (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023). Povprečna FRAP vrednost je znatno nižja od povprečij iz obdobja 2020-2023 (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023) in le nekoliko nižja od vrednosti, ki jo navaja Bertoncljeva (2008). EC₅₀ vrednost (DPPH metoda) je znatno višja od vrednosti iz leta 2023 ter vrednosti iz raziskave Bertoncljeve (2008), ter primerljiva s povprečjem programskega obdobja 2020-2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022).

Preglednica 28: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti cvetličnega medu.

Oznaka vzorca	Vsebnost vode (%)	Električna prevodnost (mS/cm)	Dominanten/ vrstno značilen pelod	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GK} /kg)	FRAP Metoda (μM (FeII))	DPPH• metoda EC ₅₀ (mg/mL)
K. MED 24-1	14,8	0,35	<i>Castanea</i>	81,0	124,2	30,7
K. MED 24-26	17,1	0,25	/	72,7	139,4	38,6
K. MED 24-28	15,6	0,25	/	64,5	74,0	51,3
K. MED 24-29	15,7	0,33	/	83,0	123,6	35,8
K. MED 24-30	15,2	0,52	<i>Castanea</i>	110,8	172,4	28,4
K. MED 24-31	15,2	0,52	/	103,5	173,3	19,9
K. MED 24-32	15,2	0,35	/	83,0	143,5	19,2
K. MED 24-33	16,0	0,21	<i>Castanea</i>	52,2	49,5	73,0
K. MED 24-35	14,4	0,53	<i>Castanea</i>	108,2	208,5	16,3
K. MED 24-36	14,8	0,67	<i>Castanea</i>	118,3	224,5	14,0
K. MED 24-38	15,5	0,52	<i>Castanea</i>	123,5	224,1	16,9
K. MED 24-39	16,7	0,38	/	105,4	165,6	17,6
K. MED 24-40	15,2	0,54	<i>Castanea</i>	138,9	268,4	12,8
Povprečje	15,5	0,42		95,8	160,8	28,8
S.D.	0,8	0,14		25,2	61,7	17,5
MIN	14,4	0,21		52,2	49,5	12,8
MAKS	17,1	0,67		138,9	268,4	73,0

GOZDNI MED (N=4)

Analizirali smo štiri vzorce gozdnega medu (Preglednica 29), od tega so bili trije pridelani v letu 2023 in eden v letu 2024. Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih letošnjega leta je v povprečju nižja od povprečnih vrednosti iz raziskave Bertoncljeve (2008) in iz programskega obdobja 2020-2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022) in višja od povprečja iz leta 2023 (Debelak in sod., 2023). Antioksidativna učinkovitost, določena z metodo FRAP, je nižja od vzorcev gozdnega medu preteklih let (Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023), povprečna EC₅₀ (metoda DPPH•) vrednost pa je primerljiva z rezultati Bertoncljeve (2008) in rezultati iz programskega leta 2023 (Debelak in sod., 2023) ter nižja od povprečij iz programskega obdobja 2020-2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Preglednica 29: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti gozdnega medu.

Oznaka vzorca	Vsebnost vode (%)	Električna prevodnost (mS/cm)	Dominanten/ vrstno značilen pelod	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GA} /kg)	FRAP metoda (μM (FeII))	DPPH• metoda EC ₅₀ (mg/mL)
K. MED 24-5	14,9	1,07	<i>Castanea</i>	140,9	289,8	13,3
K. MED 24-13	15,5	0,99	<i>Castanea</i>	166,7	315,8	5,9
K. MED 24-24	15,6	1,2	<i>Castanea</i>	133,7	324,9	12,2
K. MED 24-37	14,6	0,81	<i>Castanea</i>	127,8	212,3	5,3
Povprečje	15,2	1,02		142,3	285,7	9,2
S.D.	0,5	0,16		17,2	51,2	4,2
MIN	14,6	0,81		127,8	212,3	5,3
MAKS	15,6	1,20		166,7	324,9	13,3

HOJEV MED (N=3)

Analizirali smo tri vzorce hojevega medu (Preglednica 30), ki so bili vsi pridelani v letu 2023. Električna prevodnost je primerljiva z rezultati iz programskega obdobja 2020-2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022). Povprečna vsebnost skupnih fenolnih spojin je nižje od povprečne vsebnosti, ki jo za hojev med navaja Bertoncljeva (2008) in višja od povprečij iz prejšnjega programskega obdobja (Kandolf Borovšak in sod., 2022). Povprečna FRAP vrednost je nižja od rezultatov iz prejšnjih let (Kandolf Borovšak in sod., 2022), enako tudi povprečna EC₅₀ vrednost (DPPH• metoda), ki pa je primerljiva z rezultati Bertoncljeve (2008).

Preglednica 30: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti hojevega medu.

Oznaka vzorca	Vsebnost vode (%)	Električna prevodnost (mS/cm)	Dominanten/ vrstno značilen pelod	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GK} /kg)	FRAP Metoda (μM (FeII))	DPPH• metoda EC ₅₀ (mg/mL)
K. MED 24-2	14,1	1,32	<i>Castanea</i>	193,2	529,1	7,0
K. MED 24-4	15,2	1,14	<i>Castanea</i>	166,0	261,1	9,8
K. MED 24-12	14,4	1,22	<i>Castanea</i>	174,8	375,4	8,7
Povprečje	14,6	1,23		178,0	388,5	8,5
S.D.	0,6	0,09		13,9	134,5	1,4
MIN	14,1	1,14		166,0	261,1	7,0
MAKS	15,2	1,32		193,2	529,1	9,8

LIPOV MED (N=11)

Analizirali smo 11 vzorcev lipovega medu (Preglednica 31), ki so bili vsi pridelani v letu 2023. Električna prevodnost je bila v povprečju primerljiva z rezultati iz programskega leta 2023 (Debelak in sod., 2023) in nižja od povprečij iz programskega obdobja 2020-2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022). Vsebnost skupnih fenolnih spojin in FRAP vrednosti so bile v povprečju višje v primerjavi z vzorci iz programskega leta 2023 in rezultati Bertoncljeve (2008) ter nižje od povprečij preteklega programskega obdobja (Kandolf Borovšak in sod. 2022). Povprečna EC₅₀ vrednost je primerljiva povprečju, ki ga je v lipovem medu določila Bertoncljeva (2008), nekoliko nižja od povprečja iz programskega leta 2023 (Debelak in sod., 2023) in znatno nižja od povprečij iz programskega obdobja 2020-2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022). Iz računanja povprečij in standardnega odklona smo izločili vzorca 9 in 11, saj zaradi premalo peloda v medu pri njiju ni bilo mogoče opraviti kvantitativne pelodne analize.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

Preglednica 31: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti lipovega medu.

Oznaka vzorca	Vsebnost vode (%)	Električna prevodnost (mS/cm)	Dominanten/ vrstno značilen pelod	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GK} /kg)	FRAP metoda (μM (FeII))	DPPH• metoda EC ₅₀ (mg/mL)
K. MED 24-3	16,3	0,69	<i>Castanea</i>	105,6	188,5	23,1
K. MED 24-6	16,4	0,55	<i>Castanea</i>	99,2	171,1	29,1
K. MED 24-7	15,0	0,75	<i>Castanea</i>	98,2	181,1	24,7
K. MED 24-8	15,9	0,67	<i>Castanea</i>	101,0	194,7	25,3
K. MED 24-9	17,0	0,8	n.a.	98,0	202,2	22,8
K. MED 24-11	14,7	0,82	n.a.	118,1	202,5	21,7
K. MED 24-16	15,7	0,85	<i>Castanea</i>	118,9	175,2	20,9
K. MED 24-18	15,3	0,69	<i>Castanea, Tilia</i>	82,7	90,4	41,4
K. MED 24-20	15,0	0,6	/	123,1	220,7	15,7
K. MED 24-21	13,9	0,64	/	136,6	303,6	12,7
K. MED 24-22	14,7	0,81	<i>Castanea</i>	95,9	187,3	26,0
Povprečje*	15,4	0,69		106,8	190,3	24,3
S.D.*	0,8	0,10		16,4	55,3	8,2
MIN	13,9	0,55		82,7	90,4	12,7
MAKS	17,0	0,85		136,6	303,6	41,4

* v izračun povprečja in vrednosti standardnega odklona nismo vključili vzorcev 9 in 11.

KOSTANJEV MED (N=5)

Analizirali smo pet vzorcev kostanjevega medu (Preglednica 32), ki so bili vsi pridelani v letu 2023. Vzorci so imeli v povprečju nekoliko višjo električno prevodnost od vzorcev iz programskega leta 2023 (Debelak in sod., 2023) in znatno nižjo od povprečij iz prejšnjega programskega obdobja (Kandolf Borovšak in sod., 2022). Vsebnost skupnih fenolnih spojin je znatno višja od rezultatov iz programskega leta 2023 in nižja od povprečij iz programskega obdobja 2020-2022 (Kandolf Borovšak in sod., 2022) ter povprečja, ki ga za kostanjev med navaja Bertonceljeva (2008). Vrednosti EC₅₀ (DPPH• metoda) so višje od povprečij iz preteklih let (Bertoncelj, 2008; Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023).

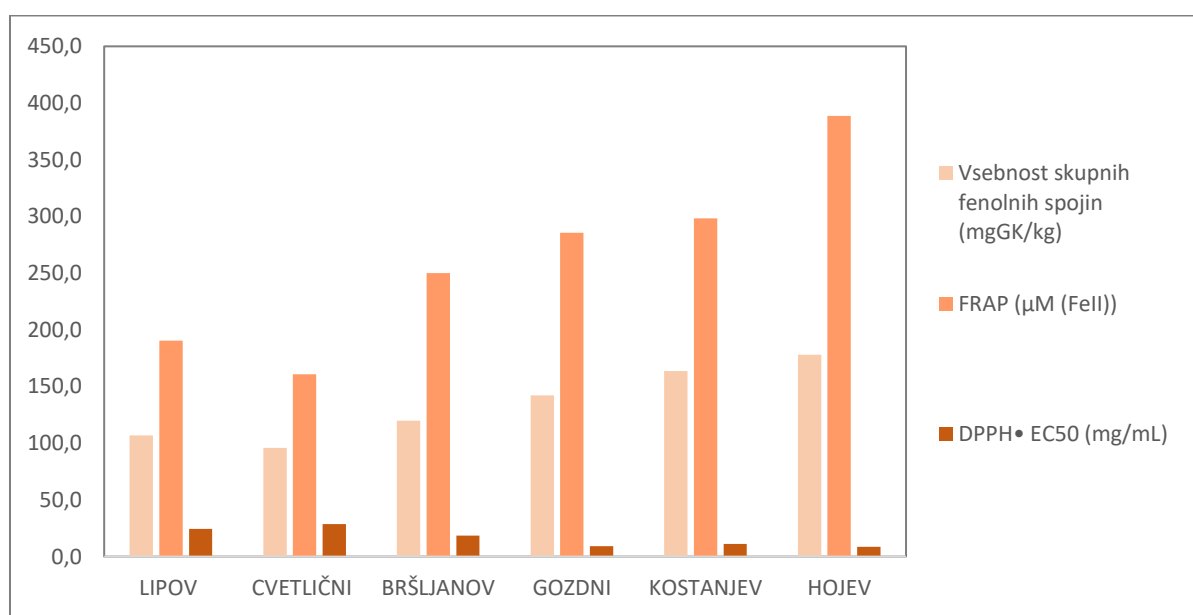
Preglednica 32: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti kostanjevega medu.

Oznaka vzorca	Vsebnost vode (%)	Električna prevodnost (mS/cm)	Dominanten/ vrstno značilen pelod	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GK} /kg)	FRAP Metoda (μM (FeII))	DPPH• metoda EC ₅₀ (mg/mL)
K. MED 24-14	15,5	1,17	<i>Castanea</i>	153,7	261,1	11,8
K. MED 24-15	18,0	1,17	<i>Castanea</i>	170,0	254,2	10,9
K. MED 24-17	16,0	1,14	<i>Castanea</i>	165,7	295,2	9,8
K. MED 24-19	15,2	1,55	<i>Castanea</i>	185,5	370,6	10,9
K. MED 24-25	15,6	1,24	<i>Castanea</i>	143,3	310,6	12,7
Povprečje	16,1	1,25		163,6	298,4	11,2

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

S.D.	1,1	0,17		16,1	46,7	1,1
MIN	15,2	1,14		143,3	254,2	9,8
MAKS	18,0	1,55		185,5	370,6	12,7

Tudi rezultati iz programskega leta 2024 so potrdili splošno pravilo, da temni medovi (gozdni, kostanjev, hojev) vsebujejo več skupnih fenolnih spojin ter imajo večjo antioksidativno učinkovitost kot svetlejše vrste medu (Slika 22) (Bertoncelj, 2008; Kandolf Borovšak in sod., 2022; Debelak in sod., 2023). Cvetlični med je imel v letošnjem naboru vzorcev relativno nizko antioksidativno učinkovitost in manjšo vsebnost skupnih fenolnih spojin.



Slika 22: Primerjava povprečne vsebnosti skupnih fenolnih spojin (FC) ter antioksidativne učinkovitosti s FRAP in DPPH• metodo

6.3.2 Protimikrobna učinkovitost

V raziskavi smo ugotavljali protimikrobno učinkovitost slovenskih vrst medu na šest bakterij: *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *P. aeruginosa* in *C. jejuni*. Protimikrobna učinkovitost je bila ocenjena z minimalno inhibitorno koncentracijo (MIK), določili smo tudi minimalno baktericidno koncentracijo (MBK), pri kateri rasti testnega organizma ob ponovni kultivaciji na svežem gojišču nismo opazili. MIK je odkrila, da je inhibicija rasti odvisna od vrste medu, koncentracije in vrste testnega organizma, kot so ugotovili tudi Kralj Kunčič in sod. (2012).

Posamezne vrednosti MIK in MBK koncentracije po vrstah medu prikazujejo preglednice od št. 33 do št. 39.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

AKACIJEV MED (N=1)

Preglednica 33: Rezultati protimikrobne aktivnosti akacijevga medu.

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				<i>Campylobacter jejuni</i>			
	MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
K. MED 24-34	>500	>25	>500	>25	>500	>25	>500	>25	>500	>25	>500	>25	>500	>25	>500	>25	>500	>25	>500	>25	125,00	6,30	250,00	12,50

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija; MBK: minimalna baktericidna koncentracija; S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost.

BRŠLJANOV MED (N=3)

Preglednica 34: Rezultati protimikrobne aktivnosti bršljanovega medu.

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				<i>Campylobacter jejuni</i>			
	MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
K. MED 24-10	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	62,5	3,2	125,0	6,3
K. MED 24-23	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-27	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
Povprečje*	156,3	7,9	312,5	15,7	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	39,1	2,0	78,2	4,0
S.D.*	132,6	6,6	265,2	13,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	33,2	1,7	66,3	3,3
MIN	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
MAKS	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	62,5	3,2	125,0	6,3

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija; MBK: minimalna baktericidna koncentracija; S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost;

* v izračun povprečja in vrednosti standardnega odklona nismo vključili vzorca 23.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

CVETLIČNI MED (N=13)

Preglednica 35: Rezultati protimikrobne aktivnosti cvetličnega medu.

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				<i>Campylobacter jejuni</i>			
	MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
K. MED 24-1	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 24-26	31,3	1,6	62,5	3,2	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-28	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-29	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	62,5	3,2	125,0	6,3
K. MED 24-30	>500	>25	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	>500	>25	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-31	62,5	3,2	125,0	6,3	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-32	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	62,5	3,2	125,0	6,3
K. MED 24-33	125,0	6,3	250,0	12,5	>500	>25	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	>500	>25	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	62,5	3,2	125,0	6,3
K. MED 24-35	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-36	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-38	31,3	1,6	62,5	3,2	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-39	125,0	6,3	250,0	12,5	>500	>25	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-40	31,3	1,6	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
Povprečje	-	-	-	-	-	-	-	-	192,3	9,6	384,6	19,2	-	-	-	-	288,5	14,4	-	-	34,9	1,8	69,7	3,5
S.D.	-	-	-	-	-	-	-	-	64,9	3,2	129,7	6,5	-	-	-	-	128,9	6,4	-	-	20,3	1,0	40,6	2,0
MIN	31,3	1,6	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	15,6	0,8	31,3	1,6
MAKS	>500	>25	>500	>25	>500	>25	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	> 500	> 25	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	62,5	3,2	125,0	6,3

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija; MBK: minimalna baktericidna koncentracija; S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost;

--:povprečna vrednosti ne more biti izračunana, ker MBK: ni prikazana kot število.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

GOZDNI MED (N=4)

Preglednica 36: Rezultati protimikrobne aktivnosti gozdnega medu.

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				<i>Campylobacter jejuni</i>			
	MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
K. MED 24-5	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-13	31,3	1,6	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	>500	>25	125,0	6,3	250,0	12,5	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-24	31,3	1,6	62,5	3,2	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-37	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	31,3	1,6	62,5	3,2
Povprečje	46,9	2,4	93,8	4,8	218,8	11,0	437,5	21,9	125,0	6,3	250,0	12,5	312,5	15,6	-	-	281,3	14,1	-	-	23,5	1,2	46,9	2,4
S.D.	18,0	0,9	36,1	1,8	62,5	3,1	125,0	6,3	0,0	0,0	0,0	0,0	125,0	6,3	-	-	157,3	7,8	-	-	9,1	0,5	18,0	0,9
MIN	31,3	1,6	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	15,6	0,8	31,3	1,6
MAKS	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	> 500	> 25	500,0	25,0	> 500	> 25	31,3	1,6	62,5	3,2

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija; MBK: minimalna baktericidna koncentracija; S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost;

-:povprečna vrednosti ne more biti izračunana, ker MBK: ni prikazana kot število.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

HOJEV MED (N=3)

Preglednica 37: Rezultati protimikrobne aktivnosti hojjevega medu.

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				<i>Campylobacter jejuni</i>			
	MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
K. MED 24-2	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-4	62,5	3,2	125,0	6,3	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-12	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
Povprečje	104,2	5,3	208,3	10,4	166,7	8,4	333,3	16,7	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	208,3	10,4	416,7	20,8	26,1	1,3	52,1	2,7
S.D.	36,1	1,8	72,2	3,6	72,2	3,6	144,3	7,2	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	0,0	72,2	3,6	144,3	7,2	9,1	0,5	18,0	0,9
MIN	62,5	3,2	125,0	6,3	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	15,6	0,8	31,3	1,6
MAKS	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	31,3	1,6	62,5	3,2

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija; MBK: minimalna baktericidna koncentracija; S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost;

--:povprečna vrednosti ne more biti izračunana, ker MBK: ni prikazana kot število.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

LIPOV MED (N=11)

Preglednica 38: Rezultati protimikrobne aktivnosti lipovega medu

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				<i>Campylobacter jejuni</i>			
	MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
K. MED 24-3	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-6	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-7	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-8	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-9	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-11	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-16	31,3	1,6	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-18	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	31,3	1,6	62,5	3,2
K. MED 24-20	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-21	31,3	1,6	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	15,6	0,8	31,3	1,6
K. MED 24-22	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	15,6	0,8	31,3	1,6
Povprečje*	111,1	5,6	222,2	11,1	180,6	9,1	361,1	18,1	152,8	7,7	305,6	15,3	236,1	11,8	472,2	23,6	263,9	13,2	-	-	20,8	1,1	41,7	2,1
S.D.*	66,5	3,3	133,0	6,6	65,9	3,3	131,8	6,6	55,1	2,7	110,2	5,5	41,7	2,1	83,3	4,2	145,8	7,3	-	-	7,9	0,4	15,6	0,8
MIN	31,3	1,6	62,5	3,2	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	15,6	0,8	31,3	1,6
MAKS	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	> 500	> 25	31,3	1,6	62,5	3,2

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija; MBK: minimalna baktericidna koncentracija; S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost;
-:povprečna vrednosti ne more biti izračunana, ker MBK ni prikazana kot število; * v izračun povprečja in vrednosti standardnega odklona nismo vključili vzorcev 9 in 11.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2024

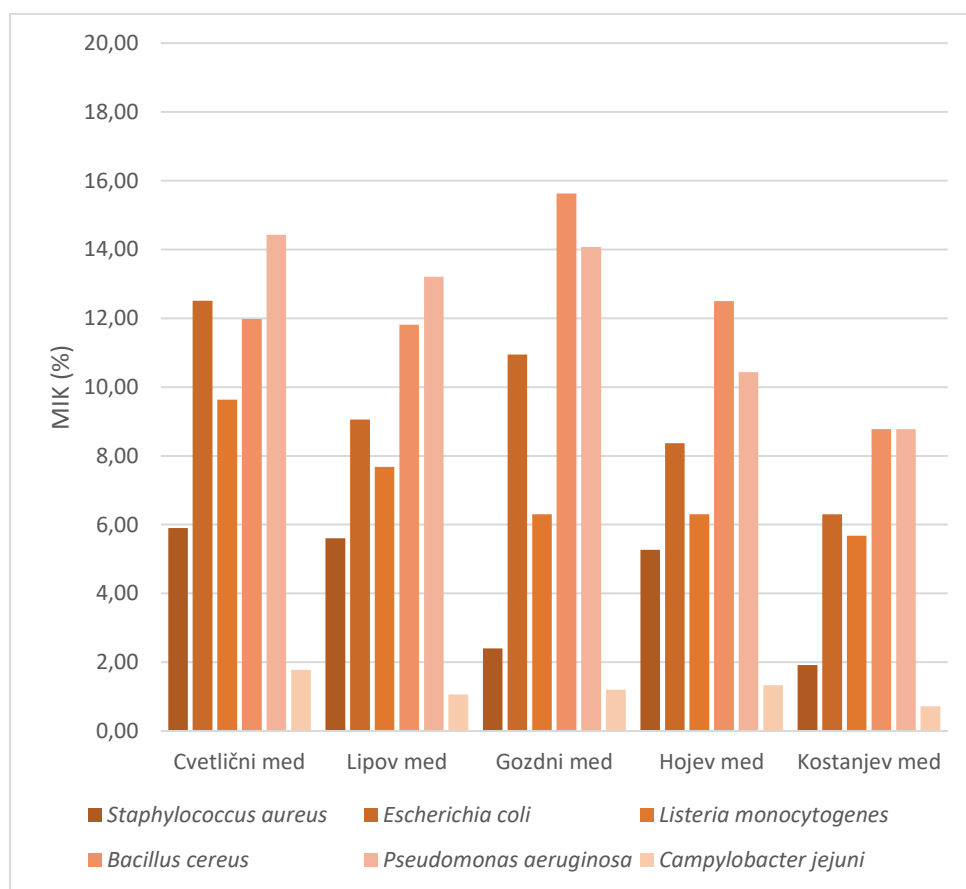
KOSTANJEV MED (N=5)

Preglednica 39: Rezultati protimikrobne aktivnosti kostanjevega medu.

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>				<i>Campylobacter jejuni</i>			
	MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK		MIK		MBK	
	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%	mg/mL	%
K. MED 24-14	31,30	1,60	62,50	3,20	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00	15,60	0,80	31,30	1,60
K. MED 24-15	31,30	1,60	62,50	3,20	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	250,00	12,50	500,00	25,00	125,00	6,30	250,00	12,50	15,60	0,80	31,30	1,60
K. MED 24-17	31,30	1,60	62,50	3,20	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	250,00	12,50	500,00	25,00	15,60	0,80	31,30	1,60
K. MED 24-19	62,50	3,20	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,20	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	7,80	0,40	15,60	0,80
K. MED 24-25	31,30	1,60	62,50	3,20	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	15,60	0,80	31,30	1,60
Povprečje	37,54	1,92	75,00	3,82	125,00	6,30	250,00	12,50	112,50	5,68	225,00	11,26	175,00	8,78	350,00	17,50	175,00	8,78	350,00	17,50	14,04	0,72	28,16	1,44
S.D.	13,95	0,72	27,95	1,39	0,00	0,00	0,00	0,00	27,95	1,39	55,90	2,77	68,47	3,40	136,93	6,85	68,47	3,40	136,93	6,85	3,49	0,18	7,02	0,36
MIN	31,30	1,60	62,50	3,20	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,20	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	7,80	0,40	15,60	0,80
MAKS	62,50	3,20	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00	15,60	0,80	31,30	1,60

MIK: minimalna inhibitorna koncentracija; MBK: minimalna baktericidna koncentracija; S.D.: standardni odklon; MIN: minimalna vrednost; MAKS: maksimalna vrednost.

Vzorci iz programskega leta 2024 so bili učinkoviti na vse analizirane bakterijske vrste, največjo protimikrobno aktivnost imajo vzorci kostanjevega in hojevega medu. Protimikrobna učinkovitost je zelo odvisna od vira medenja, geografskega porekla in letine (Rikohe in sod., 2023). Med različnih vrst je na splošno najbolj učinkovit (MIK) proti *C. jejuni* in *S. aureus* (Slika 23), kar se sklada z ugotovitvami Rikohe in sodelavci (2023). Vsi vzorci medu kažejo tudi na baktericidno (MBK) aktivnost, ki pa je pri vseh vzorcih manjša kot bakteriostatična (Preglednice 33-40). Podrobnejšo primerjavo med vrstami medu in leti bomo naredili v končnem poročilu.



Slika 23: Povprečne vrednosti MIK (%) za posamezno vrsto medu. V graf smo vključili vrste medu, kjer smo imeli vsaj tri podatke.

6.4 ZAKLJUČEK

Med je naravno živilo, ki za uživanje ne potrebuje obdelave. Ne sme vsebovati dodanih snovi kot so aditivi, je pa bogat s funkcionalnimi spojinami, ki lahko ugodno delujejo na zdravstveno stanje posameznika. Med je večinoma sestavljen iz enostavnih sladkorjev in vode. Vsebuje tudi vitamine, minerale, beljakovine in protibakterijske snovi. Zaradi vseh naštetih lastnosti je njegova uporaba v prehrani priporočljiva (Justinek in Lilek, 2020).

Vzorci medu, analizirani v programskem letu 2024, so bili neenakomerno razporejeni po vrstah. V naboru vzorcev sta prevladovala cvetlični in lipov med. V raziskavo smo vključili tudi nekaj vzorcev bršljanovega medu, ki smo ga lani analizirali prvič, ter hojevega medu, za katerega v programskem letu 2023 nismo imeli vzorcev.

Razen pri vzorcih bršljanovega medu, pri nobeni drugi vrsti medu vsebnost vode ni presegala 18 %, kar nakazuje, da pridelujemo kakovosten med, ki je v obsegu slovenskega povprečja (Pravilnik o medu, 2011). Pri bršljanu gre za posebnost, saj je povprečna vsebnost vode načeloma višja zaradi tehnologije pridelovanja (Debelak, 2023).

Vzorci slovenskega medu kažejo tako antioksidativno učinkovitost kot protimikrobno delovanje proti analiziranim vrstam bakterij. V splošnem velja, da imajo večjo antioksidativno učinkovitost temni medovi; manini medovi (gozdni in hojev med) ter kostanjev in ajdov med. Naši rezultati se skladajo s tem, saj so imeli hojev, kostanjev in gozdni med največjo vsebnost skupnih fenolnih spojin. Imeli so tudi večjo antioksidativno učinkovitost v primerjavi s svetlejšimi medovi (bršljanov, cvetlični, lipov, akacijev).

Vzorci medu, ki smo jih analizirali v letošnjem programskem letu, bodo doprinesli k obstoječi zbirki podatkov, ki je bila oblikovana med leti 2017 in 2019 (Kandolf Borovšak in sod., 2019) ter nadgrajena v predhodnem programskem obdobju (Kandolf Borovšak in sod., 2022) in v letu 2023 (Debelak in sod., 2023).

6.5 VIRI

Balasundram N., Sundram K., Samman S. 2006. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99, 1: 191-203

Benzie I.F.F., Strain J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measurement of »antioxidant power«: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239, 1: 70-76

Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Maffei Facino R. 2005. Standardization of antioxidant properties of honey by combination of spectrofotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta*, 533, 2: 185-191

Bogdanov, S. 1997. Nature and origin of the antibacterial substances in Honey. *Lebensmittel-Wissenschaft und -Technologie*, 30: 748-753

Bogdanov S., Jurendic T., Sieber R., Gallmann P. 2009. Honey for Nutrition and Health: A Review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27, 6: 677-689

Božnar A. 2011. Med. V: Slovensko čebelarstvo v tretje tisočletje. Zdešar P. (ur.), Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije: 299-323

Bucekova M., Ardekova L., Juricova V., Bugarova V., Di Marco G., Gismondi A., Leonardi D., Farkasovska J, Godocikova J., Laho M., Klauđiny J., Majtan V., Canini A., Majtan J. 2019. Antibacterial activity of different blossom honeys: new findings. *Molecules*, 24 (8): 1573 doi: 10.3390/molecules24081573

Buttstedt, A., Murešan, C. I., Lilie, H., Hause, G., Ihling, C. H., Schulze, S. H., ... & Moritz, R. F. 2018. How honeybees defy gravity with royal jelly to raise queens. *Current Biology*, 28 (7): 1095-1100.

Bucekova M., Bugarova M., Godocikova J., Majtan J. 2020. Demanding new honey qualitative standard based on antibacterial activity. *Foods*, 9: 1263 doi:10.3390/foods9091263

Cushnie T. T.P., Lamb A.J. 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 26, 5: 343-356

Debelak, A. 2023. Povzetek strokovne razprave o bršljanovem medu. https://www.czs.si/Admin/load.php?sif_ob=3&sif_file=objave_podrobno_czs&sif_parent=13458, julij 2024

Debelak A., Janžekovič A., Ratajc U., Samec T. 2023. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov za leto 2023. Lukovica, Čebelarska zveza Slovenije, 124 str.

De-Melo A. A.M., Almeida-Muradian L., Sancho M. T., Pascual Mate A. 2017. Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of Apicultural Research*, doi:10.1080/00218839.2017.1338444: 33 str.

French, V. M., Cooper, R. A., Molan, P.C. 2005. The antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 56: 228-231

Goharshenasan P., Amini S., Atria A, Abtahi H., Khorasani G. 2016. Topical application of honey on surgical wounds: a randomized clinical trial., *Complementary Medicinal Research*, 23: 15-15

Hossain M. L., Lim L. Y. Hammer K., Hettiarachchi D., Locher C. 2021. Honey-based medicinal formulations: a critical review. *Applied sciences*, 11: 5159
doi:10.3390/app11115159

Justinek D., Lilek N. 2020. Čebelji pridelki v prehrani sladkornih bolnikov. Lukovica: Čebelarska zveza Slovenije: 1-7.

Kandolf B. A., Lilek, N., Samec, T. Bertoncelj, J., Korošec, M. 2020. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica: Čebelarska zveza Slovenije: 72-94

Kandolf Borovšak A., Lilek, N., Samec, T. Bertoncelj, J., Korošec, M. 2021. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica: Čebelarska zveza Slovenije: 65-82

Kralj Kunčič M., Jaklič D., Lapanje A., Gunde-Cimerman N. 2012. Antibacterial and antimycotic activities of Slovenia honeys. *British Journal of Biomedical Science*, 69, 4: 154-158

Kwakman P.H.S., Zaat S.A.J. 2011. Antibacterial components of honey. *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 64, 1: 45-55

Mărgăoan R., Topa E., Balkanska R., Yücel B., Oravec T., COrnea-Cipcigan M., Vodnar D. C. 2021. Monofloral honeys as a potential source of natural antioxidants, minerals and medicine. *Antioxidants*, 2021, 10, 1023. doi: 10.3390/antiox10071023

Martinello M. in Mutinelli F. 2021. Antioxidants activity in bee products: a review. *Antioxidants*, 10: 71 doi:10.3390/antiox10010071

Martinotti S., Ranzato E. 2018. Honey, wound repair and regenerative medicine. Journal of Functional Biomaterials, 9:34 doi:10.3390/jfb90200314

Miorin, P. L., Levy Junior, N.C., Custodio, A. R., Bretz, W.A., Marcucci, M.C. 2003. Antibacterial activity on honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. Journal of Applied Microbiology, 2003, 95: 913-920

Molan, P.C. 2001. Honey as a topical antibacterial agent for treatment of infected wound. <http://www.worldwidewounds.com/2001/november/Molan/honey-as-topical-agent.html>

Molan P., Rhodes T. 2015. Honey: a biological wound dressing. Wounds, 27(6): 141-151

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH•) for estimating antioxidant activity. Songklanakarin Journal of Science and Technology, 26, 2: 211-219

Mundu, M. A., Padilla-Zakour, O.I., Worobo, R. W. 2004. Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honeys. International Journal of Food Microbiology 97: 1-8

Nagai, T., Inoue, R., Kanamori, N., Suzuki, N., Nagashima, T. 2006. Characterization of honey from different floral sources. Its functional properties and effects of honey species on storage of meat. Food Chemistry, 97: 256-262

Nolan, V.C., Harrison, J., Cox, A.G.C. 2019. Dissecting the antimicrobial composition of honey. Antibiotics. 8, 251. doi:10.3390/antibiotics8040251

Peras I. Določitev nekaterih fizikalno-kemijskih parametrov ajdovega medu. Diplomsko delo (UN), Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23 str.

Pravilnik o medu. 2011. Uradni list Republike Slovenije, št. 4, 21.1.2011. Pridobljeno: https://www.uradni-list.si/_pdf/2011/Ur/u2011004.pdf (julij, 2022).

Rana S., Mishra M., Yadav D., Subramani S.K., Katare C., Prasad GBKS. 2018. Medicinal uses of honey: a review on its benefits to human health. Progress in Nutrition, 20, 1: 5-14.

Rikohe I. F., Mlozi S. H., Ngondya I. B. 2023. Seasons and bee foraging plant species strongly influence honey antimicrobial activity. Journal of Agriculture and Food Research, 12, 100622, 7 str.

Shakoori, Z., Salaseh, E., Mehrabian, A.R., Tehrani, D.M., Dardashti, N.F. and Salmanpour, F. 2024. The amount of antioxidants in honey has a strong relationship with the plants selected by honey bees. *Scientific Reports*, 14, 1: 351.

Soler C., Gil M., Garcia-Viguera C., Tomás-Barberán f. A. 1995. Flavanoid patterns of French honeys with different floral origin. *Apidologie*, 26, 1: 53-60

Stankovič K 2016. Karakterizacija manj znanih vrst slovenskega medu. Magistrsko delo (Du2), Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 95 str.

Valachova I., Bucekova M., Majtan J. 2016. Quantification of bee-derived defensin-1 in honey by competitive enzyme-linked immunosorbent assay, a new approach in honey quality control. *Czech Journal of Food Science*, 34: 233-243

Vandamme L., Heyneman A., Hoeksema H., Verbelen J., Monstrey S. 2013. Honey in modern wound care: a systematic review. *Burns*, 39: 1514-1525

Weston, R. J. 2000a. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chemistry*, 71: 235-239

Zammit Young G.-W., Blundell R. 2023. A review on the phytochemical composition and health applications of honey. *Heliyon*, 9, e12507: 10 str.