



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 2022

v skladu z Uredbo o izvajanju programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2020-2022 (Uradni list RS, 78/19)

Izvajalec:

Čebelarska zveza Slovenije (ČZS)

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

Institut Jožef Stefan (IJS) (podizvajalec)

Intertek GmbH (INTERTEK) (podizvajalec)

Lukovica, julij 2022

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. 2330-20-000101

Izvajalec: Čebelarska zveza Slovenije
Brdo pri Lukovici 8
1225 Lukovica

Podizvajalci: Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta (BF) (podizvajalec)
Institut Jožef Stefan (podizvajalec)
Intertek GmbH, Nemčija (podizvajalec)

Vodja projekta: dr. Andreja Kandolf Borovšak (ČZS) do 30. 4. 2022
dr. Peter Kozmus (ČZS)

Sodelavci: Tomaž Samec, Aljaž Debelak, Ana Janžekovič (ČZS)
dr. Jasna Bertoncelj, dr. Mojca Korošec, dr. Helena Abramovič, dr. Sonja Smole
Možina, dr. Katarina Šimunović, dr. Blaž Ferjančič, Marinka Jan, Mateja Šuštar,
Ajda Kunčič, Mateja Vidmar, Mirjana Jeremić UL, BF
dr. Marijan Nečemer, IJS
dr. Martin Schubert, Christoph Schielmann, Intertek GmbH

Avtorji poročila: dr. Andreja Kandolf B., dr. Nataša Lilek, Tomaž Samec, dr. Jasna
Bertoncelj, dr. Mojca Korošec, Aljaž Debelak, Ana Janžekovič

Rezultati so nastali 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.

Lukovica, 29.7.2022

Boštjan Noč, predsednik ČZS

KAZALO VSEBINE

1	UVOD	8
1.1	CILJ APLIKATIVNE RAZISKAVE.....	8
2	PREGLED OBJAV O CVETNEM PRAHU	9
2.1	SESTAVA CVETNEGA PRAHU	10
2.2	KEMIJSKA SESTAVA CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA	10
2.3	BOTANIČNO POREKLO CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA	11
2.4	PROTIMIKROBNO DELOVANJE CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA ..	12
2.5	ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST (AU) CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA.....	12
2.6	VSEBNOST ELEMENTOV V CVETNEM PRAHU OSMUKANCU	13
2.7	SENZORIČNE LASTNOSTI CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA	14
3	MATERIAL IN METODE.....	14
3.1	ZBIRANJE VZORCEV	14
3.2	ANALIZE CVETNEGA PRAHU.....	15
3.2.1	Določanje botaničnega porekla (Piana in sod., 2006).....	15
3.2.2	Določanje protimikrobne aktivnosti	16
3.2.3	Določanje antioksidativne učinkovitosti (AU).....	17
3.2.4	Določanje vsebnosti elementov (XRF) (Nečemer in sod., 2010).....	17
3.2.5	Senzorična analiza	18
3.2.6	Statistična analiza	18
4	REZULTATI Z RAZPRAVO	19
4.1	BOTANIČNO POREKLO CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA	19
4.2	PROTIMIKROBNA AKTIVNOST V IZVLEČKIH CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA.....	22
4.3	ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST (AU) CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA.....	24
4.4	ELEMENTNA SESTAVA CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA.....	25
4.5	SENZORIČNA ANALIZA CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA	30
5	ZAKLJUČEK	35
6	VIRI	37
7	PREGLED OBJAV O MATIČNEM MLEČKU	42
7.1	NASTANEK MATIČNEGA MLEČKA.....	43
7.2	LASTNOSTI SVEŽEGA MATIČNEGA MLEČKA	43

7.2.1	Senzorične značilnosti svežega matičnega mlečka	43
7.3	SESTAVA MATIČNEGA MLEČKA	44
7.3.1	Voda	45
7.3.2	Beljakovine.....	45
7.3.3	Vrednost pH in kislost matičnega mlečka	46
7.3.4	Ogljikovi hidrati	46
7.3.5	Pepel	47
7.3.6	Maščobe.....	47
7.3.7	Antioksidativna učinkovitost matičnega mlečka.....	48
7.4	SKLADIŠČENJE MATIČNEGA MLEČKA	49
7.5	UPORABA MATIČNEGA MLEČKA	49
8	MATERIAL IN METODE	51
8.1	ZBIRANJE VZORCEV	51
8.2	ANALIZE MATIČNEGA MLEČKA.....	52
8.2.1	Senzorična analiza	52
8.2.2	Fizikalno-kemijske analize	52
8.2.3	Statistične metode.....	53
9	REZULTATI Z RAZPRAVO	54
9.1	SENZORIČNA OCENA	54
9.2	FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI	56
10	ZAKLJUČEK	58
11	VIRI	59
12	PREGLED OBJAV O PROPOLISU	64
12.1	NASTANEK IN POMEN PROPOLISA	65
1.1	SESTAVA PROPOLISA	65
12.1.1	Flavonoidi.....	66
12.1.2	Fenolne spojine.....	66
12.1.3	Terpenoidi	66
12.1.4	Druge snovi	66
12.2	VRSTE PROPOLISA.....	67
12.3	LASTNOSTI PROPOLISA	68
12.4	PRIDOBIVANJE PROPOLISA.....	69
12.5	UPORABA PROPOLISA	69
13	MATERIAL IN METODE	71

13.1	NAČRT ZBIRANJA VZORCEV	71
13.2	ANALIZA PROPOLISA	72
14	REZULTATI Z RAZPRAVO	73
14.1	SENZORIČNA OCENA IN IZVOR OSNOVNE SUROVINE PROPOLISA ..	73
14.2	VSEBNOST FENOLNIH SPOJIN	73
15	ZAKLJUČEK	76
16	VIRI	79
17	PREGLED OBJAV O MEDU	82
17.1	PROTIMIKROBNA AKTIVNOST MEDU	82
17.2	PEROKSIDNA PROTIMIKROBNA AKTIVNOST	82
17.3	MOŽNI VIRI NEPEROKSIDNE PROTIMIKROBNE UČINKOVITOSTI MEDU 83	
17.4	IZVOR PROTIMIKROBNE AKTIVNOSTI MEDU	83
17.5	ANTIOKSIDATIVNE LASTNOSTI MEDU	84
18	MATERIAL IN METODE	86
18.1	ZBIRANJE VZORCEV	86
18.2	ANALIZE MEDU	88
18.2.1	Določitev vrste medu.....	88
18.2.2	Določanje skupnih fenolnih spojin in antioksidativne učinkovitosti	88
18.2.3	Določanje protimikrobne aktivnosti medu	90
19	REZULTATI Z RAZPRAVO	92
19.1	VSEBNOST SKUPNIH FENOLNIH SPOJIN IN ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST MEDU	92
19.2	PROTIMIKROBNA UČINKOVITOST	97
20	ZAKLJUČEK	107
21	VIRI	108

KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Analize čebeljih pridelkov v sklopu aplikativne raziskave.....	8
Preglednica 2: Sestava svežega večvrstnega cvetnega prahu osmukanca (Lilek, 2020)	10
Preglednica 3: Analizirani vzorci cvetnega prahu	15
Preglednica 4: Vzorci cvetnega prahu osmukanca z določenim botaničnim poreklom	19
Preglednica 5: Protimikrobna aktivnost izvlečkov cvetnega prahu različnega botaničnega porekla.....	22
Preglednica 6: Protimikrobna aktivnost izvlečkov cvetnega prahu osmukanca javorja in oljne ogrščice	23
Preglednica 7: Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih cvetnega prahu izraženo kot mg galne kisline na gram cvetnega prahu (mg GK/g) in AU izvlečkov izraženo kot koncentracija fenolnih spojin v reakcijski zmesi, ki za 50 % zniža začetno vsebnost radikala DPPH• (EC ₅₀). Rezultati so podani kot povprečna vrednost najmanj treh ponovljenih analiz ± standardni odklon	24
Preglednica 8: Antioksidativna učinkovitost cvetnega prahu osmukanca javorja in oljne ogrščice	25
Preglednica 9: Vsebnost makroelementov v cvetnem prahu osmukancu različnega botaničnega porekla.....	26
Preglednica 10: Vsebnost makroelementov v cvetnem prahu osmukancu oljne ogrščice in javorja	27
Preglednica 11: Vsebnost mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu različnega botaničnega porekla	28
Preglednica 12: Vsebnost mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu javorja in oljne ogrščice	28
Preglednica 13: Barva vzorcev cvetnega prahu	30
Preglednica 15: Sestava svežega in liofiliziranega matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016).....	44
Preglednica 16: Analizirani vzorci matičnega mlečka.....	51
Preglednica 17: Rezultati senzorične analize vzorcev matičnega mlečka	55
Preglednica 18: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz slovenskega matičnega mlečka.....	56
Preglednica 19: Seznam vzorcev propolisa, analiziranega v letu 2021	71
Preglednica 20: Rezultati senzorične ocene posameznih vzorcev propolisa, analiziranega v letu 2022.....	73
Preglednica 21: Vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa.....	77
Preglednica 22: Povprečne vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa.....	78
Preglednica 23: Analizirani vzorci medu.....	87
Preglednica 24: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti akacijevega medu	92
Preglednica 25: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti cvetličnega medu.....	93
Preglednica 26: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti gozdnega medu ..	93
Preglednica 27: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti lipovega medu....	94

Preglednica 28: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti medu oljne ogrščice	94
Preglednica 29: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti kostanjevega medu	95
Preglednica 30: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti ajdovega medu ...	95
Preglednica 31: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti hojevega medu ...	96
Preglednica 33: Rezultati protimikrobne aktivnosti akacijevega medu	98
Preglednica 34: Rezultati protimikrobne aktivnosti cvetličnega medu	99
Preglednica 35: Rezultati protimikrobne aktivnosti gozdnega medu	100
Preglednica 36: Rezultati protimikrobne aktivnosti lipovega medu	101
Preglednica 37: Rezultati protimikrobne aktivnosti medu oljne ogrščice	102
Preglednica 38: Rezultati protimikrobne aktivnosti kostanjevega medu	103
Preglednica 39: Rezultati protimikrobne aktivnosti ajdovega medu	104

KAZALO SLIK

Slika 1: Priprava mikroskopskih preparatov za botanično identifikacijo cvetnega prahu	16
Slika 2: Sušenje cvetnega prahu pred določanjem elementne sestave	18
Slika 3: Porazdelitev in povezava vektorjev elementov glede na botanično poreklo cvetnega prahu osmukan-ca.	29
Slika 4: Barvna pestrost cvetnega prahu osmukanca (vzorci KCP1– KCP20)	31
Slika 5: Senzorični profil cvetnega prahu javorja (N = 5)	32
Slika 6: Senzorični profil cvetnega prahu oljne ogrščice (N = 7)	33
Slika 7: Barva matičnega mlečka pri vzorcih programskega leta 2022	43
Slika 8: Propolis, pridobljen na namensko vstavljenih pripomočkih	64
Slika 9: Povprečne sestava propolisa	67
Slika 10: Pripravljene vzorci propolisa za analizo	72
Slika 11: Izguba vijolične barve DPPH• reagenta	89
Slika 12: Vizualno odčitavanje vrednosti MIK za bakterijo P. aeruginosa na mikrotitrski ploščici	91
Slika 13: Primerjava povprečne vsebnosti skupnih fenolnih spojin (FC) ter antioksidativne učinkovitosti s FRAP in DPPH• metodo	97
Slika 14: Povprečne vrednosti (MIK) za posamezno vrsto medu	106

1 UVOD

Za posodobitev in dopolnitev baze podatkov o senzoričnih, fizikalno-kemijskih in mikroskopskih lastnosti različnih vrst medu, pridelanih v Sloveniji, je Ministrstvo za kmetijstvo, gozdarstvo in prehrano naročilo raziskavo z naslovom Karakterizacija čebeljih pridelkov. 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 cvetnega prahu, matičnega mlečka ter propolisa, parametri medu pa v prejšnjih programskih letih. Obstoječa raziskava bo zbirko podatkov dopolnila s posameznimi parametri nekaterih funkcionalnih lastnosti čebeljih pridelkov.

1.1 CILJ APLIKATIVNE RAZISKAVE

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

Glede na programsko nalogo omenjene aplikativne raziskave je v 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, ČZS) in antioksidativna učinkovitost glede na vrsto medu (ČZS)

Analize smo opravljali na Čebelarski zvezi Slovenije (ČZS), Biotehniški fakultete Univerze v Ljubljani (UL, BF), Institutu Jožef Stefan (IJS) ter v Interteku v Nemčiji (INTERTEK) skladno s preglednico 1.

2 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 medicīne 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). 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 parametri vsebnosti 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. Obstoječa raziskava bo zbirko podatkov dopolnila z antioksidativno učinkovitostjo, protimikrobnim delovanjem in elementno sestavo posameznih botaničnih vrst cvetnega prahu osmukanca.

2.1 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).

2.2 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 (µg/g) (MIN–MAKS)
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

Cvetni prah osmukanec se razlikuje v kemijski sestavi glede na botanično poreklo, geografsko območje pridobivanja (Yang in sod., 2013), tip prsti, podnebje, čebelarstvo 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 predstavlja funkcionalno hrano, številne študije pa proučujejo tudi njegovo terapevtsko delovanje (Khalifa in sod. 2021).

2.3 BOTANIČNO POREKLO CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA

Pelodna analiza se s pridom uporablja pri določanju vrstnosti, geografskega porekla in kakovosti medu (Von der Ohe in sod., 2004). Za potrditev vrste medu je potrebnega 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 (Campos in sod., 2008). Spulber in sod. (2018) navajajo celo več kot 90 % peloda določene botanične vrste. Za določitev botaničnega porekla cvetnega prahu osmukanca avtorji uporabljajo različne načine priprave vzorcev.

Barth in sod. (2010) navajajo postopek priprave mikroskopskega preparata za identifikacijo cvetnega prahu osmukanca, ki ga z določenimi prilagoditvami uporabljajo nekateri avtorji (Soares de Arruda in sod., 2013; Kostić in sod., 2015a; Spulber in sod., 2018; De-Melo in sod., 2018). Temelji na tem, da reprezentativen vzorec predstavlja mešanica 2 g cvetnega prahu osmukanca (približno 300 grudic cvetnega prahu osmukanca) in etanola. Z uporabo ultrazvoka in centrifugiranja nastane sediment, ki se mu doda destilirana voda in glicerin (1:1). Kapljica tako pripravljene mešanice se nanese na objektno stekelce. Z uporabo svetlobnega mikroskopa s 400-kratno povečavo identificirajo posamični pelod s štetjem pelodnih zrn do 500 (Barth in sod., 2010).

Nekateri avtorji reprezentativni vzorec cvetnega prahu osmukanca (~ 2 g) razvrstijo po barvah v skupine in vsako skupino vzorca stehtajo, da izračunajo odstotek cvetnega prahu osmukanca določene botanične vrste v skupnem reprezentativnem vzorcu (Almeida-Muradian in sod., 2005; Feás in sod., 2012; Estevinho in sod., 2012; Nogueira in sod., 2012; Gardana in sod., 2018). Tak način pa ni najbolj primeren, saj se po raziskavah Bartha in sod. (2010) zaradi procesov oksidacije barva cvetnega prahu osmukanca lahko spremeni in postane pri nekaterih rastlinah podobna.

2.4 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.

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). 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).

2.5 ANTIOKSIDATIVNA UČINKOVITOST (AU) 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 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).

2.6 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; Altunatmaz in sod., 2017). Tudi Matuszewska in sod. (2021) poročajo, da je v cvetnem prahu iz Poljske največ P, K, S, Ca in Mg.

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). 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 dnevni 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).

2.7 SENZORIČNE LASTNOSTI CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA

Senzorične lastnosti cvetnega prahu osmukanca so odvisne od botaničnega porekla.

Barva cvetnega prahu osmukanca je pretežno rumena, oranžna, rumenozelena ali rumenorjava, 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).

3 MATERIAL IN METODE

3.1 ZBIRANJE VZORCEV

V raziskavo smo vključili 20 vzorcev cvetnega prahu iz petih 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 3.

Zbranim vzorcem cvetnega prahu (preglednica 3) 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 3: Analizirani vzorci cvetnega prahu

Zap. št.	Številka vzorca	Statistična regija	Leto pridelave
1	KCP1	Osrednjeslovenska	2021
2	KCP2	Pomurska	2022
3	KCP3	Savinjska	2022
4	KCP4	Osrednjeslovenska	2022
5	KCP5	Pomurska	2022
6	KCP6	Savinjska	2022
7	KCP7	Jugovzhodna Slovenija	2022
8	KCP8	Osrednjeslovenska	2022
9	KCP9	Gorenjska	2022
10	KCP10	Savinjska	2022
11	KCP11	Savinjska	2022
12	KCP12	Pomurska	2022
13	KCP13	Osrednjeslovenska	2021
14	KCP14	Savinjska	2022
15	KCP15	Savinjska	2022
16	KCP16	Savinjska	2022
17	KCP17	Savinjska	2022
18	KCP18	Savinjska	2022
19	KCP19	Savinjska	2022
20	KCP20	Osrednjeslovenska	2022

3.2 ANALIZE CVETNEGA PRAHU

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

S svetlobnim mikroskopom smo pregledali mikroskopski preparat cvetnega prahu 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

3.2.2 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 stehali 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.

3.2.3 Določanje antioksidativne učinkovitosti (AU)

Skupne fenole in AU 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 ustreznemu zatehtu 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 skupnih fenolov je bila v okviru 5 %.

Skupne fenole 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 fenolov v vzorcih cvetnega prahu smo izrazili v ekvivalentih galne kisline kot mg galne kisline (GK) na gram cvetnega prahu ($\text{mg}_{\text{GK}}/\text{g}$). Rezultati za vsebnost skupnih fenolov so podani kot povprečna vrednost najmanj treh ponovljenih analiz vseh pripravljenih izvlečkov za posamezen vzorec cvetnega prahu \pm standardni odklon.

AU 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. AU smo izrazili kot koncentracijo fenolnih spojin v reakcijski zmesi, ki za 50 % zniža začetno vsebnost DPPH• (EC_{50}). Večja vrednost EC_{50} pomeni slabšo AU.

3.2.4 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 pulznem procesorju (PX5, Amptek) in večkanalnem analizatorju DPPMCA (Amptek),
- vakuumška komora (Fe-55) za analizo lahkih elementov (P-Cl).

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: Sušenje cvetnega prahu pred določanjem elementne sestave

3.2.5 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). 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 vrednotenje intenzivnosti osnovnih okusov (Marcazzan in sod., 2018). Dodatno smo vključili tudi parameter trpkost (trigeminalna zaznava), ki je tudi značilna za cvetni prah osmukanec.

3.2.6 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).

4 REZULTATI Z RAZPRAVO









4.1 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 4.







Preglednica 4: Vzorci cvetnega prahu osmukanca z določenim botaničnim poreklom

Številka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	Barva cvetnega prahu
KCP1	Javor (<i>Acer</i> spp.)	
KCP2	Oljna ogrščica (<i>Brassica napus</i>)	
KCP3	Družina križnic (<i>Brassicaceae</i>)	
KCP4	Javor (<i>Acer</i> spp.)	
KCP5	Oljna ogrščica (<i>Brassica napus</i>)	
KCP6	Oljna ogrščica (<i>Brassica napus</i>)	

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
 DELNO POROČILO ZA LETO 2022

KCP7	Večina javor, akacija (<i>Acer</i> spp., <i>Robinia pseudoacacia</i>)	
KCP8	Večina črna detelja, dren (<i>Fabaceae</i> , <i>Cornus sanguinea</i>)	
KCP9	Robida (<i>Rubus</i> / <i>Prunus</i>)	
KCP10	Divji kostanj (<i>Aesculus</i>)	
KCP11	Oljna ogrščica (<i>Brassica napus</i>)	
KCP12	Oljna ogrščica (<i>Brassica napus</i>)	
KCP13	Nebinovke (<i>Asteraceae</i> , S tip)	
KCP14	Oljna ogrščica (<i>Brassica napus</i>)	

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
 DELNO POROČILO ZA LETO 2022

KCP15	Sadno drevje (<i>Prunus</i> sp.)	
KCP16	Oljna ogrščica (<i>Brassica napus</i>)	
KCP17	Javor (<i>Acer</i> spp.)	
KCP18	Javor (<i>Acer</i> spp.)	
KCP19	Regrat (<i>Taraxacum</i> spp.)	
KCP20	Večvrsten (javor, regrat, sadno drevje, krhlika, rožnice, nebinovke, kobulnice, zlatice) (<i>Acer</i> sp., <i>Taraxacum</i> spp., <i>Rubus</i> spp., <i>Prunus</i> spp., <i>Frangula</i> sp., <i>Asteraceae</i> S tip, <i>Apiaceae</i> , <i>Ranunculus</i> tip, <i>Ranunculaceae</i> <i>Clematis</i> tip.)	

4.2 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 5: Protimikrobna aktivnost izvlečkov cvetnega prahu različnega botaničnega porekla

Št. vzorca	Botanično poreklo cvetnega prahu	MIK (mg/mL)			
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>
KCP1	javor	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
KCP2	oljna ogrščica	> 50,00	> 50,00	0,39	3,13
KCP3	družina križnic	> 50,00	> 50,00	0,20	12,50
KCP4	javor	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
KCP5	oljna ogrščica	> 50,00	> 50,00	0,20	6,25
KCP6	oljna ogrščica	> 50,00	> 50,00	0,10	1,56
KCP7	javor	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
KCP8	črna detelja	> 50,00	> 50,00	> 50,00	25,00
KCP9	robida	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
KCP10	divji kostanj	> 50,00	> 50,00	0,39	12,50
KCP11	oljna ogrščica	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
KCP12	oljna ogrščica	> 50,00	> 50,00	0,20	1,56
KCP13	nebinovke	> 50,00	50,00	> 50,00	> 25,00
KCP14	oljna ogrščica	> 50,00	25,00	0,20	3,13
KCP15	sadno drevje	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
KCP16	oljna ogrščica	> 50,00	> 50,00	0,20	1,56
KCP17	javor	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
KCP18	javor	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
KCP19	regrat	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
KCP20	večvrsten	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00

Nobeden izmed izvlečkov vzorcev cvetnega prahu ni pokazal dobrega protimikrobnega delovanja proti *S. aureus*, saj je bila pri vseh minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) več kot 50,00 mg/mL. Največjo protimikrobno aktivnost proti *E. coli* smo določili v izvlečku vzorca cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP14), saj je bila v tem vzorcu minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) najnižja med vsemi analiziranimi vzorci.

V izvlečku cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP6) smo določili največjo protimikrobno aktivnost proti *L. monocytogenes*. Dobro protimikrobno delovanje proti *L. monocytogenes* so izrazili tudi drugi izvlečki cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP2, KCP5, KCP12, KCP14 in KCP16), ter izvlečka cvetnega prahu družine križnic in divjega kostanja.

Največjo protimikrobno aktivnost proti *C. jejuni* smo prav tako določili v izvlečkih cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP6, KCP12, KCP16), dobro protimikrobno delovanje pa tudi v drugih izvlečkih cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP2, KCP5, KCP14). Pri izvlečkih cvetnega prahu družine križnic in divjega kostanja se je prav tako izrazilo protimikrobno delovanje proti *C. jejuni* (preglednica 5).

Preglednica 6: Protimikrobna aktivnost izvlečkov cvetnega prahu osmukanca javorja in oljne ogrščice

Botanično poreklo	N	Statistični parameter	MIK (mg/mL)			
			<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>
oljna ogrščica	7	MIN	> 50,00	25,00	0,10	1,56
		MAKS	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
		povprečje	/	/	/	/
		S.D.	/	/	/	/
javor	5	MIN	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
		MAKS	> 50,00	> 50,00	> 50,00	> 25,00
		povprečje	/	/	/	/
		S.D.	/	/	/	/

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

Če primerjamo izvlečke cvetnega prahu oljne ogrščice in javorja, kjer je bilo število pridobljenih vzorcev večje ($N \geq 5$) lahko rečemo, da imajo izvlečki cvetnega prahu oljne ogrščice bistveno boljšo protimikrobno aktivnost proti *C. jejuni* in *L. monocytogenes*. Eden izmed vzorcev cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP14) je izrazil boljšo protimikrobno aktivnost proti *E. coli*. Proti *S. aureus*, pa nobeden izmed vzorcev teh dveh vrst ni izrazil protimikrobne aktivnosti (preglednica 6).

4.3 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 AU 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	Botanično poreklo cvetnega prahu	Vsebnost skupnih fenolov (mg _{GK} /g)		EC ₅₀ (mg/L reakc. zm.)	
		povprečje	S.D.	povprečje	S.D.
KCP1	javor	10,9	0,4	7,4	0,4
KCP2	oljna ogrščica	10,2	0,5	4,8	0,5
KCP3	družina križnic	13,4	0,6	4,8	0,3
KCP4	javor	11,5	0,4	7	0,4
KCP5	oljna ogrščica	14,1	0,5	6	0,2
KCP6	oljna ogrščica	16,1	0,4	5,3	0,2
KCP7	javor	14,3	0,3	9,8	0,5
KCP8	črna detelja	5,3	0	3,5	0
KCP9	robida	13,8	0,2	34,1	0,5
KCP10	divji kostanj	11,7	0,1	4,4	0,3
KCP11	oljna ogrščica	9,4	0,2	8,3	0,2
KCP12	oljna ogrščica	13,8	0,2	4,4	0,1
KCP13	nebinovke	8,5	0,2	34,4	0,3
KCP14	oljna ogrščica	13,8	0,7	5,9	0,3
KCP15	sadno drevje	12,2	0,4	33	0,5
KCP16	oljna ogrščica	12,8	0,4	5,2	0
KCP17	javor	12	0	9,6	0,1
KCP18	javor	11,9	0,1	20	0,9
KCP19	regrat	11,5	0,2	65,9	1,4
KCP20	večvrsten	10,7	0,2	11,4	0,2

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

Med vzorci so opazne razlike v vsebnosti fenolnih spojin in v AU. Vrednosti za vsebnost skupnih fenolnih spojin za cvetni prah letnika 2022 so v območju med 5,3 mg GK/g pri vzorcu črne detelje (KCP8) in 16,1 mg GK/g pri enem izmed vzorcev cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP6). Razen nekaj izjem iz leta 2021 (KCP1, KCP5 in KCP7) so vrednosti za vsebnost skupnih fenolnih spojin za cvetni prah letnika 2022 večje od vrednosti za letnik 2021. Vrednosti za EC₅₀ so v območju 3,5 mg/L reakc.zm. za vzorec cvetnega prahu črne detelje (KCP8) in 65,9 mg/L reakc.zm. za vzorec cvetnega prahu regrata (KCP19), ki je pokazal najslabšo AU med vzorci cvetnega prahu letnik 2022 (preglednica 7). Vzorci cvetnega prahu regrata so izrazili bistveno najslabšo AU tekom vseh treh let raziskave, kar bo predstavljeno v končnem poročilu.

Preglednica 8: Antioksidativna učinkovitost cvetnega prahu osmukanca javorja in oljne ogrščice

Botanično poreklo	N	Statistični parameter	Vsebnost skupnih fenolov (mg _{GK} /g)	EC ₅₀ (mg/L reakc. zm.)
Javor	5	MIN	10,9	7,0
		MAKS	14,3	20,0
		povprečje	12,1	10,8
		S.D.	1,3	5,3
Oljna ogrščica	7	MIN	9,4	4,4
		MAKS	16,1	8,3
		povprečje	12,9	5,7
		S.D.	2,3	1,3

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

V povprečju smo v vzorcih cvetnega prahu oljne ogrščice določili malo večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin (12,89 mg_{GK}/g) kot v vzorcih cvetnega prahu javorja (12,12 mg_{GK}/g). Povprečna vrednost EC₅₀ za vzorce cvetnega prahu javorja (10,76 mg/L reakc.zm.) je višja kot za vzorce cvetnega prahu oljne ogrščice (5,70 mg/L reakc.zm.), kar pomeni, da imajo vzorci cvetnega prahu oljne ogrščice v povprečju večjo AU (preglednica 8).

4.4 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 javorja in oljne ogrščice ($N \geq 5$).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

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

Oznaka vzorca	N	Botanično poreklo	K (mg/g)	P (mg/g)	S (mg/g)	Ca (mg/g)	Cl (mg/g)
KCP2	7	oljna ogrščica	6,14	6,04	2,90	2,32	0,30
KCP5			6,29	5,46	2,74	2,05	0,27
KCP6			6,06	5,64	2,88	2,21	0,26
KCP11			7,24	4,60	1,90	0,82	0,51
KCP12			6,53	5,66	3,22	2,11	0,38
KCP14			6,54	5,80	3,06	2,47	0,29
KCP16			6,48	5,29	2,80	2,18	0,35
KCP1	5	Javor	7,85	6,24	2,27	1,32	0,49
KCP4			8,29	6,90	2,58	1,49	0,34
KCP7			7,59	5,63	2,20	1,23	0,46
KCP17			8,08	5,35	2,15	1,62	0,47
KCP18			8,62	6,18	2,28	1,28	0,32
KCP8	1	črna detelja	9,04	6,75	2,16	1,62	1,22
KCP10	1	divji kostanj	7,36	6,89	2,84	1,45	0,45
KCP3	1	družina križnic	7,13	7,20	2,58	2,05	0,54
KCP13	1	nebinovke	4,78	3,84	1,89	2,05	1,09
KCP19	1	regrat	2,27	1,60	1,39	1,84	2,29
KCP9	1	robida	6,87	6,38	2,60	2,48	0,25
KCP15	1	sadno drevje	8,74	5,36	2,54	1,43	0,28
KCP20	1	večvrsten	6,52	5,24	2,06	1,41	0,93

Najmanj K smo določili v vzorcu cvetnega prahu regrata (2,27 mg/g), največ pa v vzorcu cvetnega prahu črne detelje (9,04 mg/g). Tudi vsebnost P je bila v vzorcu regrata najmanjša (1,60 mg/g), največ pa ga je bilo v vzorcu cvetnega prahu družine križnic (7,20 mg/g). Prav tako je bila vsebnost S najmanjša v vzorcu cvetnega prahu regrata (1,39 mg/g), kar štirje izmed vzorcev cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP6, KCP2, KCP14 in KCP12) pa vsebujejo največ S (do 3,22 mg/g). Najmanj Ca vsebuje eden izmed vzorcev cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP11: 0,82 mg/g), kar pa precej odstopa od ostalih vzorcev cvetnega prahu oljne ogrščice, ki vsebujejo od 2,05 do 2,47 mg/g. Največ Ca pa vsebuje vzorec cvetnega prahu robide (2,48 mg/g), kar je sicer samo za 0,01 mg/g več od vzorca cvetnega prahu oljne ogrščice KCP14. Najmanj Cl vsebuje vzorec cvetnega prahu robide (0,25 mg/g), največ pa vzorec cvetnega prahu regrata (2,29 mg/g), ki pri vsebnosti tega elementa precej izstopa, saj ga vsebuje skoraj dvakrat toliko kot vzorec cvetnega prahu črne detelje (1,22 mg/g), ki je drugi po vsebnosti Cl. Vzorec cvetnega prahu regrata vsebuje bistveno več Cl kot ostali vzorci, najmanj od vseh vzorcev pa vsebuje K, P in S. Pri vsebnosti Ca pa je vzorec cvetnega prahu regrata blizu povprečne vsebnosti (preglednica 9).

Preglednica 10: Vsebnost makroelementov v cvetnem prahu osmukancu oljne ogrščice in javorja

Botanično poreklo	N	Statistični parameter	K (mg/g)	P (mg/g)	S (mg/g)	Ca (mg/g)	Cl (mg/g)
oljna ogrščica	7	MIN	6,06	4,60	1,90	0,82	0,26
		MAKS	7,24	6,04	3,22	2,47	0,51
		povprečje	6,47	5,50	2,79	2,02	0,34
		S.D.	0,39	0,46	0,42	0,55	0,09
javor	5	MIN	7,59	5,35	2,15	1,23	0,32
		MAKS	8,62	6,90	2,58	1,62	0,49
		povprečje	8,09	6,06	2,30	1,39	0,42
		S.D.	0,40	0,60	0,17	0,16	0,08

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

Cvetni prah oljne ogrščice v povprečju vsebuje več S in Ca kakor cvetni prah javorja. Cvetni prah javorja pa v povprečju vsebuje več K, P in Cl (preglednica 10).

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.

Največjo vsebnost Fe smo določili v vzorcu cvetnega prahu črne detelje, najmanjšo pa v vzorcu cvetnega prahu regrata. Največjo vsebnost Mn smo določili v treh vzorcih javorja (KCP7, KCP17 in KCP4), podobno vsebnost je imel tudi vzorec cvetnega prahu robide. Najmanj Mn vsebuje vzorec cvetnega prahu regrata, enako velja za vsebnost Zn. Največ Zn pa smo določili v vzorcu cvetnega prahu robide. Največ Rb smo določili v vzorcu cvetnega prahu nebinovk in črne detelje, najmanj pa v pet vzorcih cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP2, KCP6, KCP12, KCP14, KCP16). Podobno velja za vsebnost Br, najmanj smo ga določili v vzorcih cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP12, KCP2, KCP6, KCP16), največ pa v vzorcih cvetnega prahu črne detelje in regrata. Po vsebnosti Sr kar precej izstopa vzorec cvetnega prahu križnic, saj ga vsebuje več kot dvakrat toliko kakor vzorec cvetnega prahu javorja (KCP17), za katerega smo določili drugo največjo vsebnost Sr. Najmanj Sr pa vsebujejo trije vzorci javorja (KCP1, KCP4 in KCP7) (preglednica 11).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

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

Oznaka vzorca	N	Botanično poreklo	Fe (µg/g)	Mn (µg/g)	Zn (µg/g)	Rb (µg/g)	Br (µg/g)	Sr (µg/g)
KCP2	7	oljna ogrščica	108,00	13,90	32,30	2,09	0,43	1,25
KCP5			105,00	20,00	33,40	10,30	0,78	1,51
KCP6			95,10	23,20	31,50	3,32	0,43	1,07
KCP11			104,00	31,70	35,90	15,30	1,19	1,11
KCP12			104,00	19,70	32,10	4,50	0,43	0,89
KCP14			103,00	19,20	34,40	4,06	0,86	1,31
KCP16			102,00	17,60	33,70	5,54	0,52	1,37
KCP1	5	javor	130,00	36,50	47,00	13,50	1,21	0,41
KCP4			134,00	45,20	47,90	8,05	0,58	0,41
KCP7			123,00	43,20	54,60	23,30	0,92	0,43
KCP17			133,00	45,00	49,50	6,35	1,58	1,63
KCP18			121,00	25,20	37,80	15,60	0,66	1,41
KCP8	1	črna detelja	202,00	30,20	44,10	35,30	2,97	0,85
KCP10	1	divji kostanj	124,00	33,70	53,40	7,69	0,61	0,68
KCP3	1	družina križnic	124,00	21,70	52,00	17,50	1,11	3,52
KCP13	1	nebinovke	95,90	21,70	32,60	38,30	1,94	0,44
KCP19	1	regrat	81,20	7,36	20,20	8,54	2,95	1,25
KCP9	1	robida	147,00	43,10	68,20	16,70	0,71	0,91
KCP15	1	sadno drevje	124,00	32,70	38,80	23,60	1,09	0,93
KCP20	1	večvrsten	129,00	32,80	43,10	15,70	1,77	0,80

Preglednica 12: Vsebnost mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu javorja in oljne ogrščice

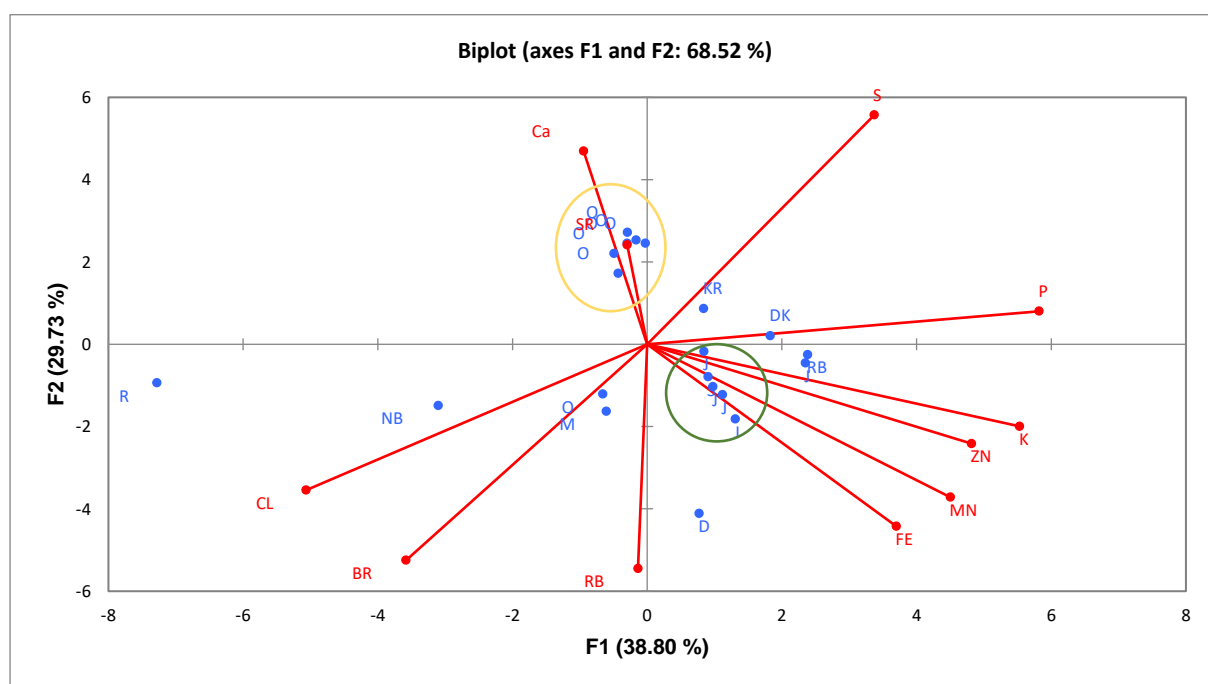
Botanično poreklo	N	Statistični parameter	Fe (µg/g)	Mn (µg/g)	Zn (µg/g)	Rb (µg/g)	Br (µg/g)	Sr (µg/g)
oljna ogrščica	7	MIN	95,10	13,90	31,50	2,09	0,43	0,89
		MAKS	108,00	31,70	35,90	15,30	1,19	1,51
		Povprečje	103,01	20,76	33,33	6,44	0,66	1,22
		S.D.	3,97	5,58	1,52	4,70	0,29	0,21
javor	5	MIN	121,00	25,20	37,80	6,35	0,58	0,41
		MAKS	134,00	45,20	54,60	23,30	1,58	1,63
		Povprečje	128,20	39,02	47,36	13,36	0,99	0,86
		S.D.	5,27	7,60	5,46	6,02	0,37	0,55

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

Iz preglednice 12 je razvidno, da vzorci cvetnega prahu oljne ogrščice v povprečju vsebujejo več Sr kot vzorci cvetnega prahu javorja. Vseh ostalih določenih mikroelementov pa vzorci cvetnega prahu javorja vsebujejo več. Največji razliki v sta v vsebnosti Mn in Rb, katera smo pri vzorcih cvetnega prahu javorja povprečno določili približno dvakrat toliko kolikor pri vzorcih cvetnega prahu oljne ogrščice.

Rezultate analiz elementne sestave smo modelirali z multivariatno statistično metodo glavnih osi PCA. Z uporabo metode PCA smo s prvo osjo pojasnili 38,80 %, z drugo pa 29,73 % variabilnosti podatkov, kar skupaj predstavlja 68,52 % variabilnosti osnovnih podatkov (slika 3).

V levem zgornjem kvadrantu je razporejenih šest vzorcev cvetnega prahu oljne ogrščice, ki izstopajo predvsem po vsebnosti Ca in malo tudi po vsebnosti Sr. V desnem zgornjem kvadrantu sta vzorca cvetnega prahu križnic in divjega kostanja, ki izstopata po vsebnosti S in P. V spodnjem levem kvadrantu so vzorci cvetnega prahu regrata, nebinovk, večvrstnega cvetnega prahu in en vzorec cvetnega prahu oljne ogrščice, ki pa precej odstopa od vseh ostalih vzorcev istega botaničnega porekla. Ti vzorci izstopajo po vsebnosti Cl, Br in Rb. V spodnjem desnem kvadrantu pa so vsi vzorci cvetnega prahu javorja, vzorec cvetnega prahu robide in detelje. Ti vzorci izstopajo po vsebnosti K, Zn, Mn in Fe.



Legenda: O-oljna ogrščica, KR-križnice, DK-divji kostanj, M-mešano, NB-nebinovke, D-črna detelja, R-regrat, RB-robida

Slika 3: Porazdelitev in povezava vektorjev elementov glede na botanično poreklo cvetnega prahu osmukan-ca.

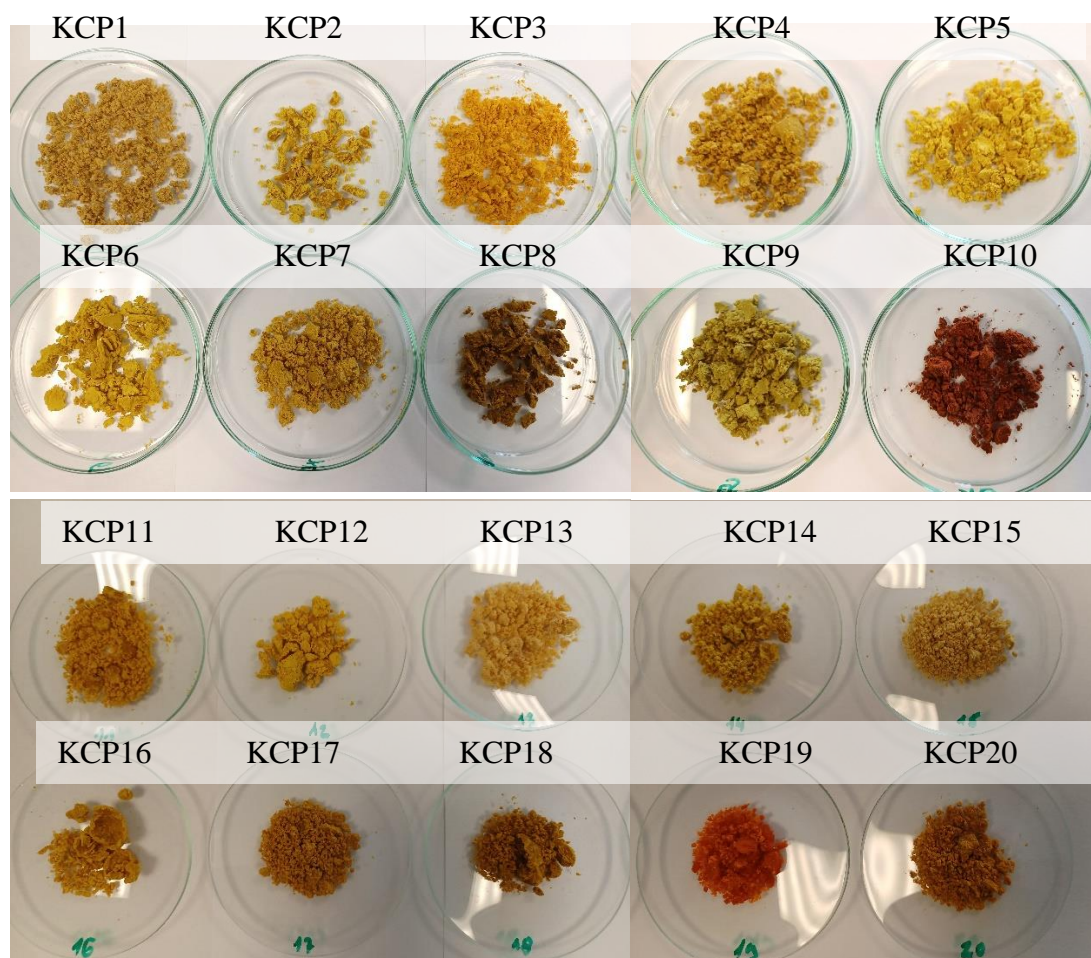
4.5 SENZORIČNA ANALIZA CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA

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, razlike v barvi ali odtenku barve so opazne tudi znotraj vrste v primeru cvetnega prahu javorja, kjer smo v letu 2022 zbrali 5 vzorcev. Barva vzorcev cvetnega prahu oljne ogrščice je zelo enotna, v 6 vzorcih rumena, 1 vzorec pa je rumeno rjava barve (preglednica 13 in slika 4).

Preglednica 133: Barva vzorcev cvetnega prahu

Oznaka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	Barva
KCP2	oljna ogrščica (N = 7)	rumena
KCP5		rumena
KCP6		rumena
KCP11		rumeno rjava
KCP12		rumena
KCP14		rumena
KCP16		rumena
KCP1	javor (N = 5)	svetlo rjava
KCP4		sivo rjavo rumena
KCP7		rumeno sivo rjava
KCP17		rumeno rjava
KCP18		rumeno rjavo zelena
KCP3	družina križnic (N=1)	rumeno oranžna
KCP8	črna detelja (N = 1)	temno sivo rjava
KCP9	robida (N=1)	svetlo olivno zelena
KCP10	divji kostanj (N = 1)	rdeče rjava
KCP13	nebinovke (N = 1)	bež (kožna)
KCP15	sadno drevje (N = 1)	svetlo rjavo rumena
KCP19	regrat (N = 1)	oranžna
KCP20	mešanica (N = 1)	mešanica barv (rumena, oranžna, sivo rjava, zelena, oker)

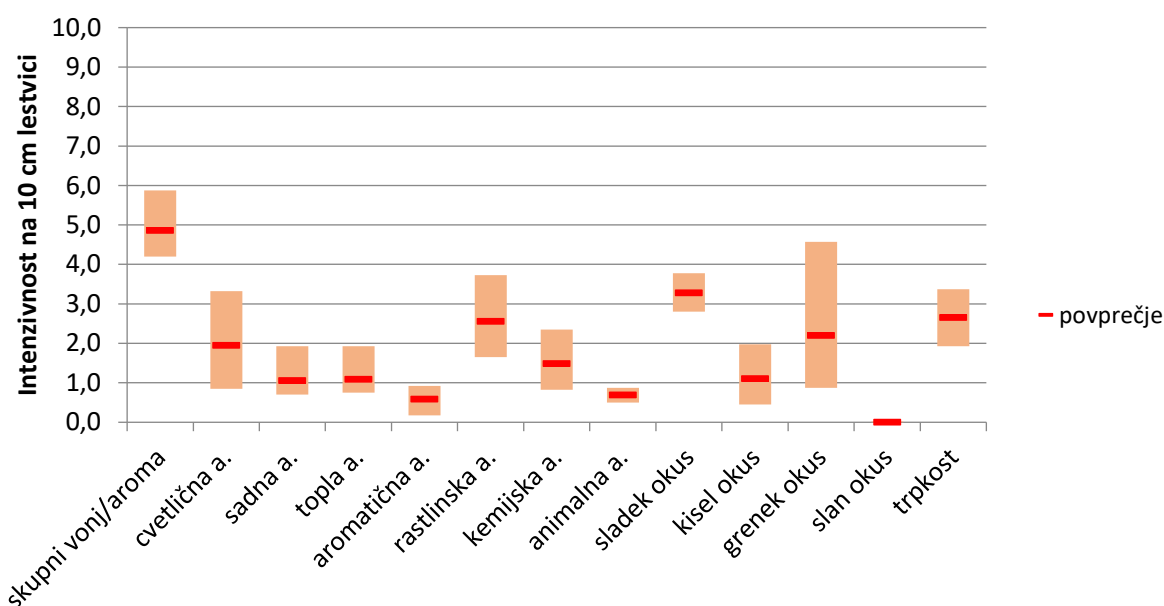


Slika 4: Barvna pestrost cvetnega prahu osmukanca (vzorci KCP1– KCP20)

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. V povprečni intenzivnosti skupnega vonja in arome ocenjenih vzorcev ni bilo značilnih razlik, vrednosti so znašale od 4,2 do 5,9. Pričakovano so se vzorci bolj razlikovali v prisotnosti in intenzivnosti posameznih parametrov arome, npr. sadna, cvetlična, rastlinska, animalna aroma. Med okusi je bil najbolj intenzivno zaznaven sladek okus, območje ocen je znašalo od 2,5 do 4,2, pri posameznih vzorcih tudi kisel in grenek okus, kar smo zaznali tudi v preteklih dveh letih. Najbolj intenzivno grenek je bil vzorec cvetnega prahu javorja (KCP18), s povprečno vrednostjo 4,6 na 10 cm lestvici. Slanega okusa v analiziranih vzorcih cvetnega prahu v letošnjem letu nismo zaznali oz. je bila zaznana intenzivnost minimalna, največ 0,3. Posamezni vzorci so bili tudi izraziteje trpki, med njimi trije vzorci cvetnega prahu javorja (3,0 do 3,4 na 10 cm lestvici) in vzorec cvetnega prahu sadnega drevja (3,0), medtem ko je bila v drugih vzorcih trpkost šibkejša ali komaj zaznavna (preglednica 14).

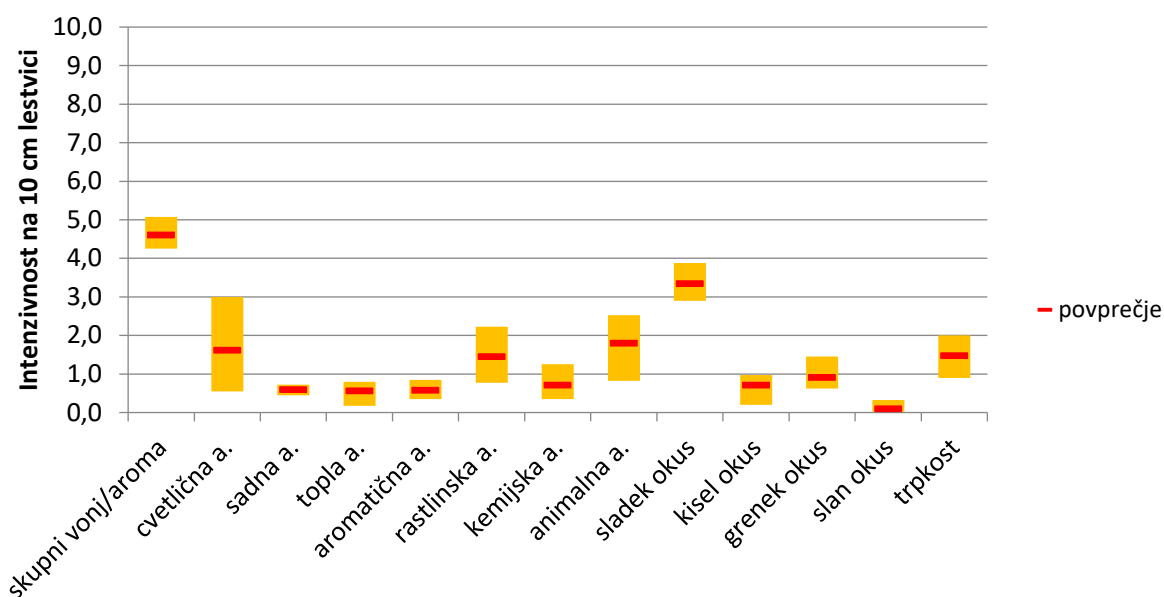
Z rezultati opisne senzorične analize vzorcev cvetnega prahu posameznih vrst smo dopolnili podatke, pridobljene v letih 2020 in 2021. Zaradi raznovrstnosti vzorcev cvetnega prahu in

majhnega števila vzorcev, z izjemo vzorcev cvetnega prahu oljne ogrščice in javorja, za projektno leto 2022 prikazujemo samo 2 senzorična profila cvetnega prahu, ki temeljita na ovrednotenju intenzivnosti vonja in arome cvetnega prahu glede na sedem glavnih skupin vonjev in arome. Na osnovi rezultatov analize petih vzorcev smo z uporabo kvantitativne opisne analize za profiliranje arome preverili lanski predlog profila vonja in arome cvetnega prahu javorja. Na sliki 5 so prikazana območja intenzivnosti skupnega vonja/arome, opisnikov glavnih skupin arome, štirih osnovnih okusov in trpkosti, ki so v primerjavi z lanskim profilom večinoma primerljivi, so pa nekoliko bolj intenzivno izražene cvetlična, sadna in kemijska aroma in grenek okus, vzorci pa so manj aromatični.



Slika 5: Senzorični profil cvetnega prahu javorja (N = 5)

Število vzorcev je omogočilo tudi oblikovanje predloga cvetnega prahu oljne ogrščice, v projektnem letu 2022 smo zbrali 7 vzorcev (slika 6). Glavna razlika v primerjavi s profilom cvetnega prahu javorja je intenzivneje izražena animalna aroma, manj intenzivno izražene sadna, topla in rastlinska aroma, manj intenzivno izražen grenek okus in manjša trpkost.



Slika 6: Senzorični profil cvetnega prahu oljne ogrščice (N = 7)

V končnem poročilu bomo pripravili predlog senzoričnih profilov za tiste vrste cvetnega prahu, kjer je skupno število vzorcev posamezne vrste vseh treh let vsaj 8.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

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	
Oljna ogrščica (N = 7)	KCP2	4,3	0,9	0,5	0,7	0,6	2,2	1,0	1,2	2,9	1,0	1,0	0,0	0,9
	KCP5	4,6	1,0	0,5	0,5	0,5	1,5	0,6	2,4	3,2	0,9	0,9	0,1	1,7
	KCP6	4,4	2,7	0,6	0,8	0,7	0,8	0,4	0,8	3,7	0,7	0,6	0,0	1,0
	KCP11	5,0	3,0	0,7	0,6	0,9	1,1	0,6	1,0	3,9	0,2	0,8	0,0	1,4
	KCP12	5,1	1,4	0,7	0,6	0,4	1,9	0,7	2,4	3,4	1,0	1,0	0,3	2,0
	KCP14	4,4	1,8	0,6	0,2	0,4	1,4	0,5	2,4	3,0	0,7	0,8	0,0	1,4
	KCP16	4,7	0,6	0,7	0,6	0,7	1,4	1,3	2,5	3,3	0,7	1,5	0,2	1,9
Javor (N = 5)	KCP1	4,9	0,9	0,8	0,8	0,5	3,7	1,3	0,9	2,8	1,7	1,2	0,0	3,0
	KCP4	4,7	2,0	0,7	1,9	0,5	2,7	1,3	0,5	3,3	0,9	0,9	0,0	3,4
	KCP7	4,2	1,9	1,1	0,9	0,8	1,7	2,4	0,7	3,1	2,0	1,7	0,0	2,1
	KCP17	4,7	1,7	1,9	1,0	0,2	2,2	1,7	0,7	3,5	0,6	2,8	0,0	3,0
	KCP18	5,9	3,3	0,9	1,0	0,9	2,6	0,8	0,7	3,8	0,5	4,6	0,0	1,9
Družina križnic (N=1)	KCP3	4,5	1,1	0,9	2,3	0,7	1,2	0,9	0,4	4,2	0,6	0,4	0,1	1,1
Črna detelja (N = 1)	KCP8	4,2	0,6	0,4	0,7	1,7	2,8	0,6	0,9	3,4	0,2	1,1	0,1	1,5
Robida (N=1)	KCP9	4,3	1,9	1,5	0,7	0,7	1,5	2,1	0,3	2,8	0,8	2,5	0,0	1,8
Divji kostanj (N = 1)	KCP10	4,5	0,9	2,6	0,8	0,4	1,3	0,9	0,7	2,8	1,6	3,4	0,0	2,4
Nebinovke (N = 1)	KCP13	4,3	0,6	2,7	0,4	0,5	0,8	0,3	0,5	2,5	2,8	2,6	0,0	1,8
Sadno drevje (N = 1)	KCP15	5,0	2,7	0,3	1,4	1,5	0,3	0,9	1,0	2,7	0,3	3,6	0,1	3,0
Regrat (N = 1)	KCP19	4,7	1,5	2,8	0,7	1,7	0,7	0,4	0,1	4,1	1,2	0,4	0,1	1,6
Mešanica (N = 1)	KCP20	4,2	1,7	1,2	0,9	0,8	1,5	0,8	0,6	4,1	0,7	0,5	0,1	1,4

5 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.

Protimikrobno delovanje cvetnega prahu osmukanca je v zadnjem času predmet številnih raziskav, saj se zaradi uporabe različnih metod in botanične pestrosti cvetnega prahu lahko rezultati med seboj zelo razlikujejo. V analize je potrebno vključiti večje število vzorcev, saj lahko le na takšen način potrdimo protimikrobne lastnosti cvetnega prahu. Izmed vseh vzorcev cvetnega prahu, vključenih v letošnjo raziskavo, so najboljše protimikrobne lastnosti izrazili vzorci cvetnega prahu oljne ogrščice. Dobro protimikrobno delovanje smo določili tudi v vzorcih cvetnega prahu divjega kostanja in družine križnic, vendar na podlagi zgolj enega vzorca teh dveh botaničnih vrst konkretnih zaključkov ne moramo podati.

AU je tema različnih študij. Živila, bogata z antioksidanti, pa dobivajo vse večji pomen v vsakodnevni prehrani. Poznavanje AU 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 potrjujemo ugotovitve

preteklih dveh let, da izvlečki cvetnega prahu oljne ogrščice izkazujejo visoko AU, izvlečki cvetnega prahu regrata pa najmanjšo AU.

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. Za dokončno potrditev pa je potrebno v analizo vključiti večje število vzorcev.

Konkretnije zaključke o protimikrobni in antioksidativni učinkovitosti, elementni sestavi in senzoričnih lastnostih cvetnega prahu bomo lahko podali po analizah večjega števila vzorcev cvetnega prahu določenega botaničnega porekla. Rezultate in ugotovitve preteklih treh programskih let bomo zbrali v končnem poročilu.

6 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

Bastos D. H. M., Barth M. O., Rocha C. I., Cuhna I. B. S., Carvalho P. O., Torres E. A. S., Michelan 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

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

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

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

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

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., Bertoncelj 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., Dezmiorean 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

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

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

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

7 PREGLED OBJAV O MATIČNEM MLEČKU

Matični mleček je izloček krmilnih in čeljustnih žlez čebel delavk, starih od 6 do 15 dni, in ima ključno vlogo pri razvoju matice v družini.

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, dezinfekcijsko delovanje, antioksidativna učinkovitost, antitumorsko delovanje,... (Collazo in sod., 2021; Guo in sod., 2021). Biološka aktivnost matičnega mlečka se večinoma pripisuje bioaktivnim maščobnim kislinam, proteinom in fenolnim spojinam. 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).

O svetovni proizvodnji matičnega mlečka ni uradnih podatkov, vendar strokovnjaki ocenjujejo, da približno 60 % svetovne proizvodnje (Sabatini in sod., 2009), to je okrog 3500 ton na leto, proizvede Kitajska), največ ga izvozi v ZDA, Evropo in Japonsko (Collazo in sod., 2021). Več 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).

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, tip 1, kadar 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 potrošnika. 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 potrjenosti matičnega mlečka. V letih od 2017-2019 je potekala tudi 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. Obstoječa raziskava bo zbirko podatkov dopolnila tudi z antioksidativno učinkovitostjo in senzoričnimi lastnostmi matičnega mlečka.

7.1 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. 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).

7.2 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 in starosti – če je shranjen na sobni temperaturi, počasi postaja bolj viskozen. Do teh sprememb 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).

7.2.1 Senzorične značilnosti svežega matičnega mlečka

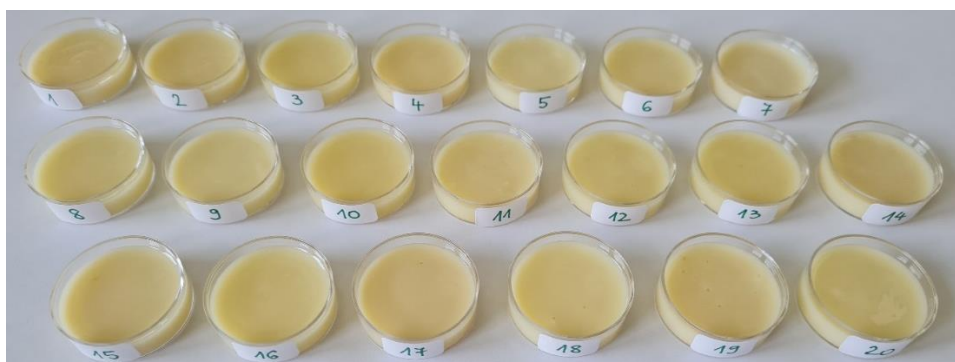
Barva: od umazano bele do svetlo rumene (slika 7).

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

Vonj: kiselkast, oster.

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

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



Slika 7: Barva matičnega mlečka pri vzorcih programskega leta 2022

7.3 SESTAVA MATIČNEGA MLEČKA

Sestava matičnega mlečka je dokaj kompleksna. Sestavljajo ga voda, maščobe, beljakovine, sladkorji, aminokisljine, organske kisline, steroli, estri, fenolne spojine, minerali, elementi v sledovih in druge snovi (preglednica 15) (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 14: 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
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 0,1 M NaOH/g)	3,0-6,0	/	3,0-5,3	3,0-5,3
Furozin (mg/100 g beljakovin)	< 50	/	/	/

MM: matični mleček; /: ni podatka; -: se ne uporablja

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). 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). Tudi čas pridelave vpliva na vsebnost sladkorjev (Ramadan in Al-Ghamdi, 2012). 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).

7.3.1 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 dojlj 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).

7.3.2 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, pridelanih v letih 2017, 2018 ter 2019, je bila vsebnost beljakovin v območju od 11,3 do 13,9 g/100 g, s povprečno vrednostjo 12,4 g/100 g. Rezultati vsebnosti beljakovin v vzorcih matičnega mlečka različnih programskih let so med seboj primerljivi, povprečne vrednosti zavzemajo območje od 12,15 do 12,54 g/100 g (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

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).

7.3.3 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 3,94, v povprečju 3,78. V vzorcih iz leta 2019 so bile vrednosti pH nekoliko nižje (povprečna vrednost 3,66), iz ostalih let so bile nekoliko višje, vendar so na splošno med seboj zelo primerljive (povprečna vrednost 3,82 oz. 3,85) (Kandolf Borovšak in sod., 2019). Nekateri avtorji navajajo nekoliko 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 je 4,19, območje pa od 3,64 do 4,77 mL 0,1 M NaOH/g. Primerjava vzorcev matičnega mlečka različnih let pridelave pokaže, da je bila kislost vzorcev matičnega mlečka največja v vzorcih leta 2018, povprečna vrednost je znašala 4,33 mL 0,1 M NaOH/g, sledi leto 2017 (4,19 mL 0,1 M NaOH/g), najmanjša povprečna kislost pa je v vzorcih matičnega mlečka programskega leta 2019 (4,04 mL 0,1 M NaOH/g) (Kandolf Borovšak in sod., 2019). 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.

7.3.4 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).

7.3.5 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 doжил in ni odvisna od časa pobiranja mlečka (Wongchai in Ratanavalachai, 2002; Stocker in sod., 2006).

7.3.6 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. 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). Povprečna vsebnost maščob v vzorcih slovenskega matičnega mlečka znaša 5,42 g/100 g, v območju od 4,02 do 7,65 g/100g. Povprečna vsebnost maščob je bila v vzorcih iz leta 2018 in 2019 zelo podobna (5,16 oz. 5,13 g/100 g), v primerjavi z letom 2017 (5,95 g/100 g) pa v povprečju za 15 % manjša (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

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 pristnosti. Pristen mleček mora vsebovati vsaj 1,4 g/100 g 10-HDA (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016). V vzorcih slovenskega matičnega mlečka v okviru projekta karakterizacije v letih 2017 do 2019 je bila 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).

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).

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).

7.3.7 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). 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).

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). Vsebnost skupnih fenolnih spojin v slovenskih vzorcih matičnega mlečka, pridelanih v letu 2020 (od 22,0 do 39,7 mg_{GK}/100 g) (Kandolf Borovšak in sod., 2020), je podobna vsebnosti v matičnem mlečku iz nekaterih drugih držav, nekateri tuji vzorci pa imajo tudi manjše in večje vsebnosti. 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). Turški matični mleček ima koncentracijo učinkovitosti EC_{50} 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 EC_{50} v območju od 0,2 do 11,7 mg/mL in so bolj antioksidativno učinkoviti (El-Guendouz in sod., 2020).

7.4 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).

7.5 UPORABA MATIČNEGA MLEČKA

Svež matični mleček lahko uživamo kot dodatek k prehrani, lahko ga zmešamo z medom ali naneseemo na kožo. Liofiliziran matični mleček lahko napolnimo v kapsule za oralno uživanje. Od nekdaj 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) 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).

Zaradi svoje sestave vpliva na koncentracijo holesterola v krvi (Collazo in sod., 2021; 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), 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, estrogenni učinek, znižanje ravni holesterola, uravnavanje krvnega tlaka in vpliv na rodnost.

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).

8 MATERIAL IN METODE

8.1 ZBIRANJE VZORCEV

V raziskavo smo vključili 20 vzorcev svežega matičnega mlečka iz petih 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. Največ, devet (9), vzorcev je prihajalo iz podravske regije, sledila je osrednjeslovenska regija s petimi (5) vzorci in nato s po dvema vzorcema gorenjska, posavska in savinjska regija.

Vzorci smo pridobivali meseca maja in junija 2022. V maju smo zbrali enajst (11) vzorcev matičnega mlečka in v juniju devet (9).

Preglednica 15: Analizirani vzorci matičnega mlečka

Zap. št	Številka vzorca	Statistična regija	Leto pridelave
1	K. MLEČEK 2022-1	Podravska	maj 2022
2	K. MLEČEK 2022-2	Savinjska	maj 2022
3	K. MLEČEK 2022-3	Podravska	maj 2022
4	K. MLEČEK 2022-4	Podravska	maj 2022
5	K. MLEČEK 2022-5	Podravska	maj 2022
6	K. MLEČEK 2022-6	Posavska	maj 2022
7	K. MLEČEK 2022-7	Osrednjeslovenska	maj 2022
8	K. MLEČEK 2022-8	Podravska	maj 2022
9	K. MLEČEK 2022-9	Podravska	maj 2022
10	K. MLEČEK 2022-10	Osrednjeslovenska	maj 2022
11	K. MLEČEK 2022-11	Osrednjeslovenska	junij 2022
12	K. MLEČEK 2022-12	Gorenjska	maj 2022
13	K. MLEČEK 2022-13	Gorenjska	junij 2022
14	K. MLEČEK 2022-14	Osrednjeslovenska	junij 2022
15	K. MLEČEK 2022-15	Osrednjeslovenska	junij 2022
16	K. MLEČEK 2022-16	Podravska	junij 2022
17	K. MLEČEK 2022-17	Podravska	junij 2022
18	K. MLEČEK 2022-18	Podravska	junij 2022
19	K. MLEČEK 2022-19	Savinjska	junij 2022
20	K. MLEČEK 2022-20	Posavska	junij 2022

8.2 ANALIZE MATIČNEGA MLEČKA

8.2.1 Senzorična analiza

Senzorično analizo matičnega mlečka smo izvedli s štiričlanskim panelom šolanih senzoričnih preskuševalcev. Barvo in občutek v ustih smo ovrednotili opisno. Celokupno intenzivnost vonja in arome, parametre arome (topel, cvetličan, kemijski, animalen, po žarkem), okus (sladko, kisló, grenko) 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).

8.2.2 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 zaščitenih, 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 lomenega 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 kislosti matičnega mlečka (Popescu in sod., 2008)

Titracija vzorca z 0,1 M NaOH ob dodatku indikatorja fenolftaleina do preskoka v rožnato barvo.

Določanje vrednosti pH v matičnem mlečku (Popescu in sod., 2008)

S pH metrom izmerimo vrednost pH v 1 % vodni raztopini matičnega mlečka.

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 cvetnega prahu 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), ki so bile v primerjavi z letom 2021 (18 do 54 mg/mL) manjše, ker so vzorci vsebovali več skupnih fenolnih spojin. Analizo smo izvedli v treh ponovitvah 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.

8.2.3 Statistične metode

Dobljene rezultate smo zbrali in uredili v programu Microsoft Exel 2015. Statistične analize smo izvedli s programom SPSS, različica 21.0 (IBM). Za posamezen parameter smo izračunali osnovno opisno statistiko:

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

9 REZULTATI Z RAZPRAVO

9.1 SENZORIČNA OCENA

Barva matičnega mlečka vzorcev v letu 2022 je svetla: polovica vzorcev je svetlo rumene barve, pri petih vzorcih je barva slonokoščena, pri petih pa svetlo rjavo rumena (preglednica 17, slika 7). Za vrednotenje senzoričnega profila matičnega mlečka smo tako kot v letih 2020 in 2021 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 in 2021 (Kandolf Borovšak in sod., 2020; Kandolf Borovšak in sod., 2021), najbolj intenzivno izražena kemijska aroma (rezkost), z zaznano intenzivnostjo v intervalu med 2 in 4. Topla aroma (po vosku) je v matičnem mlečku večinoma šibko do srednje intenzivno izražena, medtem ko je animalna aroma komaj zaznavna do šibko intenzivna. Aroma po cvetju je podobne intenzivnosti kot v projektne letu 2020 in je bolj intenzivna kot v projektne letu 2021, ko je bila skoraj nezaznavna. Ker so bili vsi vzorci matičnega mlečka sveži, pričakovano ni bilo zaznati arome po žarkem. Okus matičnega mlečka je bil šibko sladek ter srednje kisel. Grenek okus smo v zelo nizki intenzivnosti zaznali samo v dveh vzorcih. Značilna lastnost matičnega mlečka je tudi astringenca (trpek, pikajoč občutek v ustih), ki je bila večinoma srednje intenzivna, v dveh vzorcih pa močno intenzivna (4 točke).

Občutek v ustih je bil pri 9 vzorcih (45 %) matičnega mlečka gladek, pri 11 vzorcih pa zrnat oz. drobno zrnat, kot je razvidno iz preglednice 17.

Vzorci matičnega mlečka letošnjega leta imajo primerljivo intenzivnost izbranih senzoričnih lastnosti kot vzorci iz programskega leta 2020, izjema je le intenzivnost animalne arome, ki je manj izražena. Senzorične lastnosti pa so bolj izražene v primerjavi z vzorci matičnega mlečka iz programskega leta 2021, ko je bilo zaradi slabe pašne sezone v času pridobivanja matičnega mlečka potrebno čebelje družine za njihovo preživetje krmiti s sladkorjem.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

Preglednica 16: 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 2022-1	slonokoščena	3	3	3	0	2,5	1	0	1,5	3	0	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2022-2	svetlo rjavo rumena	3,5	3,5	2,5	0	3,5	2,5	0	1	4	0,5	4	gladek
K. MLEČEK 2022-3	svetlo rumena	3	3	2,5	0,5	3	1	0	1,5	3,5	0	3,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2022-4	svetlo rjavo rumena	3	3,5	2,5	1,5	3,5	2	0	1,5	4	0	3,5	gladek
K. MLEČEK 2022-5	slonokoščena	2,5	3	2,5	0,5	2,5	0,5	0	2	3	0	3	zrnat
K. MLEČEK 2022-6	svetlo rumena	2,5	3	2,5	1	3	0,5	0	2	2,5	0	3	gladek
K. MLEČEK 2022-7	slonokoščena	3	3,5	2,5	0,5	3,5	1,5	0	1,5	3,5	0	3,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2022-8	svetlo rumena	3	3	3	1	2	1,5	0	2,5	2,5	0	2,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2022-9	slonokoščena	2,5	3	2,5	2	2	0,5	0	2,5	2,5	0	2,5	drobno zrnat
K. MLEČEK 2022-10	svetlo rumena	3	3,5	2,5	1	3	1,5	0	1,5	3,5	0	3	gladek
K. MLEČEK 2022-11	svetlo rumena	3	4	2	1,5	4	1	0	2	3,5	0	3	zrnat
K. MLEČEK 2022-12	svetlo rumena	3	1	2,5	1	2,5	1	0	2,5	2	0	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2022-13	svetlo rumena	3	3	3	1,5	2	1	0	2	2,5	0	3	gladek
K. MLEČEK 2022-14	svetlo rjavo rumena	2,5	3	2,5	1,5	2	0,5	0	2	2,5	0	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2022-15	slonokoščena	3	3,5	2,5	1	3,5	1,5	0	1,5	4	0	3,5	gladek
K. MLEČEK 2022-16	svetlo rumena	3	3,5	1,5	2	2,5	1,5	0	2	2,5	0	3	gladek
K. MLEČEK 2022-17	svetlo rjavo rumena	3	3,5	2,5	1	3,5	1	0	1,5	4	0	4	gladek
K. MLEČEK 2022-18	svetlo rumena	3	3	2,5	1,5	2	1	0	2	2,5	0	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2022-19	svetlo rjavo rumena	3	3,5	2	1,5	3,5	2	0	1,5	3,5	0,5	3,5	gladek
K. MLEČEK 2022-20	svetlo rumena	3	3	2	1	3	1	0	2	3	0	3,5	drobno zrnat

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

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

9.2 FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI

V preglednici 18 so predstavljeni rezultati analiz vzorcev matičnega mlečka letnika 2022, to je vsebnost vode, beljakovin, kislin oz. kislost, vrednost pH, vsebnost skupnih fenolnih spojin ter antioksidativna učinkovitost.

Preglednica 17: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz slovenskega matičnega mlečka

Oznaka vzorca	Parameter					
	Vsebnost vode (g/100 g)	Vsebnost beljakovin (g/100 g)	Vrednost pH	Kislost (mL 0,1 M NaOH/g)	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GK} /100 g)	AU (DPPH• -EC ₅₀) (mg/mL)
K. MLEČEK 2022-1	66,4	12,26	3,79	4,62	33,8	31,1
K. MLEČEK 2022-2	65,2	12,28	3,69	5,20	34,8	31,1
K. MLEČEK 2022-3	66,0	11,96	4,03	3,81	36,1	25,5
K. MLEČEK 2022-4	64,2	12,61	3,63	5,10	33,6	31,5
K. MLEČEK 2022-5	65,6	12,12	3,89	4,12	31,9	31,7
K. MLEČEK 2022-6	66,3	11,73	3,88	4,24	32,4	29,7
K. MLEČEK 2022-7	66,4	11,81	3,89	4,46	37,2	26,4
K. MLEČEK 2022-8	66,1	11,94	3,91	4,23	29,2	34,8
K. MLEČEK 2022-9	65,5	12,43	3,92	4,62	33,3	28,0
K. MLEČEK 2022-10	64,7	11,95	3,86	4,27	30,2	34,1
K. MLEČEK 2022-11	64,9	12,58	3,85	4,69	30,1	33,3
K. MLEČEK 2022-12	65,6	11,83	3,90	4,05	32,2	33,5
K. MLEČEK 2022-13	65,5	11,93	3,92	4,10	26,8	41,1
K. MLEČEK 2022-14	66,6	11,67	3,94	4,32	32,5	29,1
K. MLEČEK 2022-15	66,2	11,48	3,88	4,60	31,1	31,9
K. MLEČEK 2022-16	66,3	11,60	3,94	4,02	25,4	38,2
K. MLEČEK 2022-17	65,2	12,47	3,71	5,24	36,8	27,8
K. MLEČEK 2022-18	66,4	11,63	3,89	4,35	26,7	37,6
K. MLEČEK 2022-19	65,2	12,37	3,71	5,15	36,3	28,1
K. MLEČEK 2022-20	65,9	12,52	3,93	4,35	26,2	35,3
Povprečje	65,7	12,06	3,86	4,48	31,8	32,0
S.D.	0,7	0,36	0,10	0,42	3,6	4,1
MIN	64,2	11,48	3,63	3,81	25,4	25,5
MAKS	66,6	12,61	4,03	5,24	37,2	41,1

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 64,2 in 66,6 g/100 g, v povprečju 65,7, kar je malo več kot

v vzorcih iz programskih let 2020 in 2021 (Kandolf Borovšak in sod., 2020; Kandolf Borovšak in sod., 2021). Vsi vzorci so ustrezali standardom kakovosti za svež matični mleček (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016).

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 11,48 do 12,61 g/100 g, s povprečno vrednostjo 12,06 g/100 g, kar je približno 6 % manjša vsebnost kot v vzorcih iz programskega leta 2021 (Kandolf Borovšak in sod., 2021). Interval vsebnosti je manjši kot v vzorcih matičnega mlečka iz preteklih dveh let. 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).

Vrednosti pH se gibljejo od 3,63 do 4,03, v povprečju 3,86, povprečna kislost pa je bila 4,48 mL 0,1 M NaOH/g, v območju od 3,81 do 5,24 mL 0,1 M NaOH/g, kar je primerljivo z vzorci iz leta 2021 (Kandolf Borovšak in sod., 2021). Vsi analizirani vzorci so glede vrednosti pH in kislosti ustrezali standardom kakovosti za svež matični mleček (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016).

Vsebnost skupnih fenolnih spojin, izražena kot ekvivalent galne kisline, je bila v območju od 25,4 do 37,2 mg_{GK}/100 g (preglednica 18), v povprečju 31,8 mg_{GK}/100 g, kar je primerljivo z vzorci iz leta 2020 (Kandolf Borovšak in sod., 2020) in precej več kot v vzorcih matičnega mlečka iz leta 2021, ko je povprečna vsebnost znašala le 19,1 mg_{GK}/100 g (Kandolf Borovšak in sod., 2021), kar smo v lanskem letu pripisali slabi pašni sezoni in posledično krmljenju čebeljih družin v času pridobivanja matičnega mlečka.

Koncentracija učinkovitosti matičnega mlečka, ki smo jo izrazili kot EC₅₀ (koncentracija antioksidanta, potrebna za 50 % zmanjšanje absorbance radikala DPPH•) je bila v vzorcih matičnega mlečka v območju med 25,5 in 41,1 mg/mL, v povprečju 32,0 mg/mL. Vrednost je manjša v primerjavi z vzorci iz programskega leta 2021, ko je v povprečju znašala 43,5 mg/ml (Kandolf Borovšak in sod., 2021), kar pomeni, da imajo vzorci matičnega mlečka letošnjega leta večjo antioksidativno učinkovitost.

Vzorci z večjo vsebnostjo skupnih fenolnih spojin imajo praviloma večjo AU (nižja vrednost EC₅₀), kar smo potrdili za analizirane vzorce matičnega mlečka. Korelacija med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in AU je značilna ($p < 0,05$), koeficient korelacije znaša 0,91, kar je primerljivo z letom 2021, ko je znašal 0,89 in več kot v letu 2020, ko je znašal 0,74.

10 ZAKLJUČEK

Rezultati analiziranih 20 vzorcev matičnega mlečka slovenskega porekla letnika 2022 kažejo, da matični mleček, enako kot v preteklih dveh letih, v analiziranih parametrih ustreza vrednostim, ki jih predvideva ISO standard za matični mleček (ISO, 2016). Podatkovno zbirko o slovenskem matičnem mlečku smo, tako kot v programskih letih 2020 in 2021, dopolnili tudi 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 je aroma po cvetju skoraj nezaznavna. Okus matičnega mlečka je komaj zaznavno do šibko sladek ter srednje kisel. Značilna lastnost matičnega mlečka je tudi astringenca, ki je večinoma srednje intenzivna.

Vzorci matičnega mlečka letnika 2022 so glede senzoričnih in fizikalno-kemijskih lastnosti v veliki meri primerljivi z vzorci letnika 2020. S tem smo potrdili, da je na odstopajoče vrednosti, predvsem manjšo vsebnost skupnih fenolnih spojin in manjšo antioksidativno učinkovitost ter manj izražene senzorične lastnosti vzorcev iz leta 2021, vplivalo krmljenje čebeljih družin v času pridobivanja matičnega mlečka za njihovo osnovno preživetje, zaradi slabih pašnih pogojev in pomanjkanja hrane za čebele v naravi.

11 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

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

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

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

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

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.

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: Čebelarska zveza Slovenije: 128 str.

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

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

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

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

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

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

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 Boards. 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., Klauđiny 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

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

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.

12 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 razgradnjo 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

12.1 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 zmechčajo 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, ipropolizirajo šele po 16. (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 primernega 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 zalegla, 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.).

1.1 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., 2000). 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 aminokisliline, 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), artepilin 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).

12.1.1 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 pinobaksin. 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).

12.1.2 Fenolne spojine

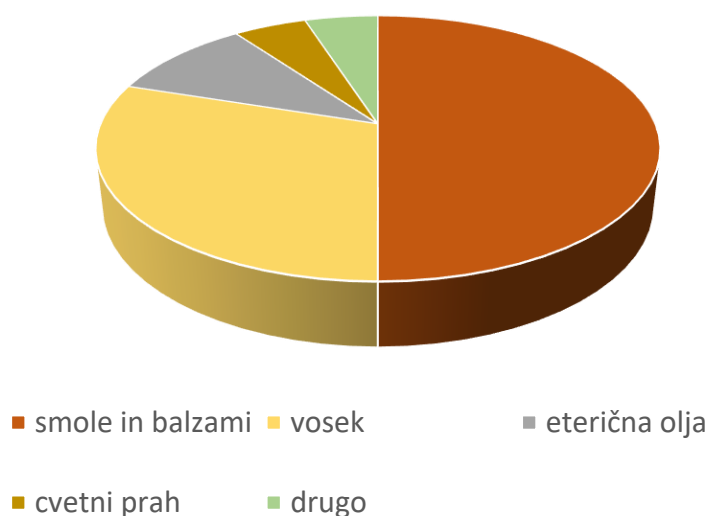
Najbolj značilne fenolne spojine v propolisu so cimetna, kumarna, kavna, ferulna kislina in njihovi derivati. Fenetilni ester kavne kisline (CAPE) je glavna sestavina propolisa zmernege pasu in ima široko biološko vlogo (Bankova, 2009). Vsebnost fenolov v propolisu je zelo različna in je odvisna od rastlinja,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

12.1.3 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).

12.1.4 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: Povprečne sestava propolisa

12.2 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., 2000), vsebnost skupnih flavonoidov v evropskem propolisu je navadno od 20 do 30 %, (Medič 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 %. Med vzorci propolisa, pridelanega v različnih letih in različnih regijah, ni statistično značilnih razlik, variabilnost vzorcev posameznega leta je velika (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

12.3 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).

12.4 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 vešče, 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).

12.5 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 cenених 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).

13 MATERIAL IN METODE

13.1 NAČRT ZBIRANJA VZORCEV

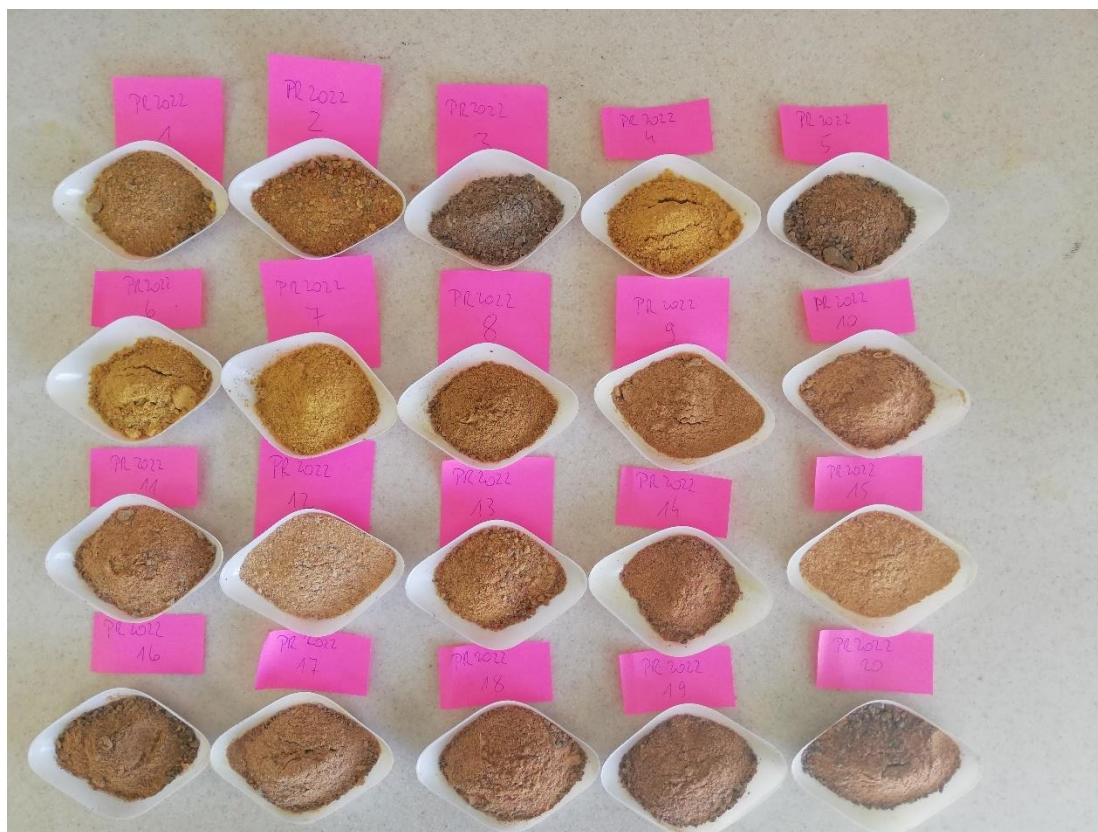
V raziskavo smo vključili 20 vzorcev propolisa slovenskega porekla, pridelanega v letu 2021, iz sedmih statističnih regij Slovenije. Analizirali smo devet (9) vzorcev iz pomurske regije, po tri (3) vzorce iz jugovzhodne Slovenije in osrednjeslovenske regije, dva (2) vzorca iz gorenjske regije in po en (1) vzorec iz goriške, notranjske in podravske regije.

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

Preglednica 18: Seznam vzorcev propolisa, analiziranega v letu 2021

Št. vzorca	Statistična regija	Letnik pridelave
PR2022-1	Jugovzhodna	2021
PR2022-2	Jugovzhodna	2021
PR2022-3	Osrednjeslovenska	2021
PR2022-4	Pomurska	2021
PR2022-5	Goriška	2021
PR2022-6	Pomurska	2021
PR2022-7	Pomurska	2021
PR2022-8	Osrednjeslovenska	2021
PR2022-9	Gorenjska	2021
PR2022-10	Gorenjska	2021
PR2022-11	Pomurska	2021
PR2022-12	Osrednjeslovenska	2021
PR2022-13	Jugovzhodna	2021
PR2022-14	Notranjska	2021
PR2022-15	Podravska	2021
PR2022-16	Pomurska	2021
PR2022-17	Pomurska	2021
PR2022-18	Pomurska	2021
PR2022-19	Pomurska	2021
PR2022-20	Pomurska	2021

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

13.2 ANALIZA PROPOLISA

V propolisu so najbolj zastopane fenolne spojine pinocembrin, pinobanksin, fenetilni ester kavne kisline (CAPE), artepilin C, cimetna, *p*-kumarna, kavna, ferulna in izoferulna kislina, ter krizin, galangin, kamferol in kvercetin (Huang in sod., 2014), ki so bile razen izoferulne kisline in pinobanksina 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). Vzorce so bili analizirani tudi z bolj robustnimi sprektrofotometričnimi 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.

14 REZULTATI Z RAZPRAVO

14.1 SENZORIČNA OCENA IN IZVOR OSNOVNE SUROVINE PROPOLISA

Zbrani vzorci propolisa so bili že po samem videzu zelo različni, od prahu, drobnih zrn do večjih zrn. Prav tako so se zbrani vzorci propolisa razlikovali po barvi od svetlo rjave do temno rjave barve, nekateri vzorci so imeli rdeč odtenek barve.

Dva (2) vzorca sta imela močan vonj, 17 srednje intenziven, en šibek vonj. Vzorca z najbolj intenzivnim vonjem izvirata iz pomurske in podravske regije (preglednica 20).

Preglednica 19: Rezultati senzorične ocene posameznih vzorcev propolisa, analiziranega v letu 2022

Št. vzorca	Videz	Barva	Vonj
PR2022-1	prah, drobna zrnca	rjava z rdečim odtenkom	srednje intenziven
PR2022-2	zrnca, večja zrnca	svetlo rjava	srednje intenziven
PR2022-3	zrnca, večja zrnca	rjava	srednje intenziven
PR2022-4	prah, drobna zrnca	rjava z rumenim odtenkom	srednje intenziven
PR2022-5	prah, drobna zrnca	temno rjava	srednje intenziven
PR2022-6	zrnca, večja zrnca	rjava z rdečim odtenkom	srednje intenziven
PR2022-7	zrnca, večja zrnca	svetlo rjava	močno intenziven
PR2022-8	prah, drobna zrnca	rjava z rdečim odtenkom	srednje intenziven
PR2022-9	zrnca, velika zrnca	rjava	srednje intenziven
PR2022-10	prah, drobna zrnca	rjava	srednje intenziven
PR2022-11	prah, drobna zrnca	svetlo rjava	srednje intenziven
PR2022-12	zrnca, velika zrnca	rjava z rdečim odtenkom	srednje intenziven
PR2022-13	prah, drobna zrnca	rjava z rdečim odtenkom	srednje intenziven
PR2022-14	prah, drobna zrnca	svetlo rjava	srednje intenziven
PR2022-15	prah, drobna zrnca	svetlo rjava	močno intenziven
PR2022-16	zrnca, velika zrnca	temno rjava	srednje intenziven
PR2022-17	prah, drobna zrnca	rjava	šibko intenziven
PR2022-18	prah, drobna zrnca	rjava z rdečim odtenkom	srednje intenziven
PR2022-19	zrnca, velika zrnca	temno rjava	srednje intenziven
PR2022-20	prah, drobna zrnca	rjava z rdečim odtenkom	srednje intenziven

14.2 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., 2000).

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., 2000).

Vsota določenih fenolnih spojin v vzorcih propolisa je bila v območju od 1,36 do 12,68 %, v povprečju 7,46 %. Največ fenolnih spojin je vseboval vzorec številka PR2022-7 iz pomurske regije, ki je imel močno intenzivno izražen vonj. Najmanj fenolnih spojin je vseboval vzorec številka PR2022-3 iz osrednje slovenske 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 0,43 do 3,15 %, v povprečju 1,70 % ter **ferulno kislino** v območju od 0,29 do 3,11 %, v povprečju 1,70 %. Tudi Osés (in sod., 2020) je v vseh vzorcih našla *p*-kumarno in ferulno kislino. Devetnajst vzorcev propolisa je vsebovalo **kavno kislino** v območju od 0,18 do 0,61 %, v povprečju 0,31 %. Osemnajst vzorcev propolisa je vsebovalo **pinocembrin** v območju od 0,25 do 4,07 %, v povprečju 1,55 %.

16 vzorcev propolisa od 20 je vsebovalo **apigenin** v območju od 0,10 do 0,38 %, v povprečju 0,18 %. Prav tako je šestnajst vzorcev propolisa vsebovalo **krizin** v območju od 0,11 do 3,33 %, v povprečju 1,24 %.

CAPE je vsebovalo štirinajst vzorcev propolisa v območju od 0,10 do 0,90 %, v povprečju 0,39 %.

Sedem vzorcev propolisa je vsebovalo **cimetno kislino** v območju od 0,10 do 1,17 %, v povprečju 0,43 %.

6 vzorcev propolisa od 20 je vsebovalo **kamferol** v območju od 0,11 do 0,58 %, v povprečju 0,28 %. Prav tako je 6 vzorcev propolisa vsebovalo **galangin** v območju od 1,91 do 2,99 %, v povprečju 2,28 %.

Kvercetin je vsebovalo pet vzorcev propolisa v območju od 0,10 do 0,17 %, v povprečju 0,14 %.

Naringenin pa sta vsebovala 2 vzorca propolisa, in sicer vsak vzorec 0,12 %, v povprečju 0,12 %.

V vzorcih smo s spektrofotometrično metodo določili največ 2,25 % skupnih fenolnih spojin, od tega flavonov/flavonolov največ 0,57 %, flavanonov/dihidroflavonolov pa največ 1,98 %. Vsi rezultati so prikazani v preglednicah 21 in 22.

15 ZAKLJUČEK

Fenolne spojine so za propolis zelo značilne, vsebuje jih tudi slovenski propolis. Kljub majhnim vsebnostim posameznih fenolnih spojin, ki smo jih določili v vzorcih slovenskega propolisa, lahko rečemo, da je raznolikost različnih fenolnih spojin v propolisu, pridelanem na območju Republike Slovenije, precej pestra. To je tudi dokaz, da čebele iščejo in nabirajo osnovne surovine – smole na različnih rastlinah.

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 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 bile določene fenolne spojine v propolisu. Vsota določenih fenolnih spojin v zbranih vzorcih propolisa med leti je zelo primerljiva, v letih 2017-2019 je bila v območju od 0,81 do 13,71 %, v povprečju 5,19 %, v letu 2020 od 3,31 do 12,43 %, v povprečju 6,60 %, v letu 2021 v območju 3,26 do 12,78 %, v povprečju 7,76 % in v letu 2022 v območju 1,36 do 12,68 %, v povprečju 7,46 %.

Vzorci propolisa, ki smo jih analizirali v letu 2022, so pripomogli k dopolnitvi obstoječe zbirke podatkov, ki smo jo opravili v obdobju 2017-2019 in v letu 2020, 2021. Rezultati so med seboj primerljivi (Kandolf Borovšak in sod., 2019; 2020). Z raziskavo pa bi bilo dobro nadaljevati tudi v prihodnjem letu, saj bomo s tem pridobili in širili podatkovno bazo o vsebnosti fenolnih spojin v slovenskem propolisu.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

Preglednica 20: Vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa

Fenolna spojina (%)	Številka vzorca																			
	PR2022-1	PR2022-2	PR2022-3	PR2022-4	PR2022-5	PR2022-6	PR2022-7	PR2022-8	PR2022-9	PR2022-10	PR2022-11	PR2022-12	PR2022-13	PR2022-14	PR2022-15	PR2022-16	PR2022-17	PR2022-18	PR2022-19	PR2022-20
<i>m</i> -kumarna kislina	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.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
naringenin	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
rutin	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.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
apigenin	0,14	0,20	n.d.	0,27	0,10	0,21	0,28	0,38	0,16	0,15	0,12	n.d.	0,16	0,19	n.d.	0,14	0,20	0,12	0,11	n.d.
kamferol	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,24	0,28	0,32	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,17	n.d.	n.d.	0,11	0,58	n.d.	n.d.	n.d.
krizin	0,94	2,20	n.d.	3,25	0,20	2,43	3,33	2,63	0,73	n.d.	0,31	n.d.	1,51	0,61	0,11	0,77	n.d.	0,38	0,29	0,21
galangin	n.d.	2,99	n.d.	2,23	n.d.	2,22	2,21	2,11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,91	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
kavna kislina	0,28	0,28	n.d.	0,57	0,18	0,42	0,61	0,54	0,26	0,23	0,23	0,18	0,29	0,31	0,21	0,18	0,27	0,27	0,27	0,24
<i>p</i> -kumarna kislina	1,34	0,47	0,59	0,43	1,81	0,74	0,45	0,84	1,83	2,97	2,17	1,68	1,19	2,42	1,52	2,29	2,68	2,81	2,54	3,15
ferulna kislina	1,33	0,29	0,77	0,37	2,05	0,71	0,39	0,64	1,65	2,78	2,58	1,52	1,01	2,28	2,44	1,68	2,72	2,60	3,03	3,11
cimetna kislina	0,12	1,17	n.d.	n.d.	n.d.	0,36	n.d.	n.d.	0,11	n.d.	n.d.	0,10	0,81	n.d.	n.d.	0,36	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
pinocembrin	1,17	3,76	n.d.	3,92	0,28	3,28	4,07	3,21	0,89	0,25	0,49	n.d.	2,44	0,69	0,50	1,05	0,48	0,52	0,55	0,29
CAPE	0,28	0,29	n.d.	0,90	n.d.	0,57	0,89	0,76	0,24	n.d.	0,25	n.d.	0,22	0,31	n.d.	n.d.	0,18	0,28	0,10	0,14
kvercetin	n.d.	n.d.	n.d.	0,17	n.d.	0,12	0,17	0,13	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,10	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
artepilin C	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.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
genistein	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.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
vsota skupnih fenolnih spojin	5,60	11,65	1,36	12,11	4,62	11,30	12,68	11,56	5,87	6,50	6,15	3,48	9,71	6,91	4,90	6,58	7,11	6,98	6,89	7,14

n.d.: pod mejo detekcije

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

Preglednica 21: Povprečne vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa.

vzorec št.	naringenin (%)	apigenin (%)	kamferol (%)	krizin (%)	galangin (%)	kavna kislina (%)	p-kumarna kislina (%)	ferulna kislina (%)	cimetna kislina (%)	pinocembrin (%)	CAPE (%)	kvercetin (%)
PR2022-1	n.d.	0,14	n.d.	0,94	n.d.	0,28	1,34	1,33	0,12	1,17	0,28	n.d.
PR2022-2	n.d.	0,20	n.d.	2,20	2,99	0,28	0,47	0,29	1,17	3,76	0,29	n.d.
PR2022-3	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,59	0,77	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.
PR2022-4	n.d.	0,27	n.d.	3,25	2,23	0,57	0,43	0,37	n.d.	3,92	0,90	0,17
PR2022-5	n.d.	0,10	n.d.	0,20	n.d.	0,18	1,81	2,05	n.d.	0,28	n.d.	n.d.
PR2022-6	n.d.	0,21	0,24	2,43	2,22	0,42	0,74	0,71	0,36	3,28	0,57	0,12
PR2022-7	n.d.	0,28	0,28	3,33	2,21	0,61	0,45	0,39	n.d.	4,07	0,89	0,17
PR2022-8	n.d.	0,38	0,32	2,63	2,11	0,54	0,84	0,64	n.d.	3,21	0,76	0,13
PR2022-9	n.d.	0,16	n.d.	0,73	n.d.	0,26	1,83	1,65	0,11	0,89	0,24	n.d.
PR2022-10	0,12	0,15	n.d.	n.d.	n.d.	0,23	2,97	2,78	n.d.	0,25	n.d.	n.d.
PR2022-11	n.d.	0,12	n.d.	0,31	n.d.	0,23	2,17	2,58	n.d.	0,49	0,25	n.d.
PR2022-12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,18	1,68	1,52	0,10	n.d.	n.d.	n.d.
PR2022-13	n.d.	0,16	0,17	1,51	1,91	0,29	1,19	1,01	0,81	2,44	0,22	n.d.
PR2022-14	n.d.	0,19	n.d.	0,61	n.d.	0,31	2,42	2,28	n.d.	0,69	0,31	0,10
PR2022-15	0,12	n.d.	n.d.	0,11	n.d.	0,21	1,52	2,44	n.d.	0,50	n.d.	n.d.
PR2022-16	n.d.	0,14	0,11	0,77	n.d.	0,18	2,29	1,68	0,36	1,05	n.d.	n.d.
PR2022-17	n.d.	0,20	0,58	n.d.	n.d.	0,27	2,68	2,72	n.d.	0,48	0,18	n.d.
PR2022-18	n.d.	0,12	n.d.	0,38	n.d.	0,27	2,81	2,60	n.d.	0,52	0,28	n.d.
PR2022-19	n.d.	0,11	n.d.	0,29	n.d.	0,27	2,54	3,03	n.d.	0,55	0,10	n.d.
PR2022-20	n.d.	n.d.	n.d.	0,21	n.d.	0,24	3,15	3,11	n.d.	0,29	0,14	n.d.
povprečje	0,12	0,18	0,28	1,24	2,28	0,31	1,70	1,70	0,43	1,55	0,39	0,14
min	0,12	0,10	0,11	0,11	1,91	0,18	0,43	0,29	0,10	0,25	0,10	0,10
maks	0,12	0,38	0,58	3,33	2,99	0,61	3,15	3,11	1,17	4,07	0,90	0,17

n.d.: pod mejo detekcije

16 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

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, Čebelarska 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 ., 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., 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., 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., Ravalia 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

17 PREGLED OBJAV O MEDU

17.1 PROTIMIKROBNA AKTIVNOST MEDU

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.

Ugotavljajo, da je med 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).

17.2 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).

17.3 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).

17.4 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 medicne 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).

17.5 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. 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 preprečuje encimsko porjavenje sadja ter rast organizmov, ki zmanjšujejo kakovost živil. V mesu aminokisline in ogljikovi hidrati reagirajo in tvorijo vmesne produkte, ki se oksidirajo, dekarboksilirajo, postanejo ciklične spojine in tako spremenijo aromo mesa. Med kuhanjem od temperature odvisna oksidacija lipidov povzroči zeleno aromo mesa. Dodatek medu mesu pred segrevanjem ima antioksidativni učinek in

inhibira razvoj oksidativnih sestavin (Nagai in sod., 2006). Prav tako med zavira encimsko porjavenje sadja (Mundu in sod., 2004). Vključevanje medu v vsakdanjo prehrano pomeni vnos naravnih antioksidantov v naše telo (Märgäoan 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).

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. Nizka pH vrednost 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 ravno 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).

18 MATERIAL IN METODE

18.1 ZBIRANJE VZORCEV

V raziskavo smo vključili 42 vzorcev medu iz 11 statističnih regij Slovenije. 8 jih je bilo iz osrednjeslovenske, po 6 iz pomurske, jugovzhodne Slovenije in savinjske regije, 4 iz primorsko-notranjske, 3 iz goriške, podravske in obalno-kraške in po 1 vzorec iz gorenjske in posavske regije. En vzorec je bil zaradi premikanja paš iz primorsko-notranjske in goriške regije.

Večina vzorcev je bila iz leta 2021, saj sta v obdobju zbiranja vzorcev v letu 2022 začeli mediti le akacija in oljna ogrščica. Tako je bilo triintrideset (33) vzorcev iz leta 2021, pet (5) iz leta 2022 in dva (2) iz leta 2020. Dodatno smo v raziskavo vključili dva (2) vzorca medu iz leta 2019. Analizirali smo deset (10) vzorcev hojevega in kostanjevega medu, po pet (5) vzorcev akacijevega, cvetličnega in lipovega medu, tri (3) vzorce ajdovega medu in po dva (2) vzorca gozdnega medu in medu oljne ogrščice (preglednica 23).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

Preglednica 22: Analizirani vzorci medu

Zaporedna št.	Številka vzorca	Statistična regija	Letnik	Vrsta medu
1	K. MED 2022-1	Pomurska	2021	ajdov
2	K. MED 2022-2	Podravska	2021	ajdov
3	K. MED 2022-3	Pomurska	2021	ajdov
4	K. MED 2022-4	Pomurska	2021	akacijev
5	K. MED 2022-5	Primorsko-notranjska in Goriška	2020	akacijev
6	K. MED 2022-6	Gorenjska	2021	cvetlični
7	K. MED 2022-7	Obalno kraška	2021	cvetlični
8	K. MED 2022-8	Primorsko-notranjska	2021	cvetlični
9	K. MED 2022-9	Posavska	2021	cvetlični
10	K. MED 2022-10	Jugovzhodna Slovenija	2021	gozdni
11	K. MED 2022-11	Goriška	2021	gozdni
12	K. MED 2022-12	Savinjska	2021	cvetlični
13	K. MED 2022-13	Primorsko-notranjska	2021	hojev
14	K. MED 2022-14	Osrednjeslovenska	2021	hojev
15	K. MED 2022-17	Osrednjeslovenska	2021	hojev
16	K. MED 2022-16	Jugovzhodna Slovenija	2021	hojev
17	K. MED 2022-15	Osrednjeslovenska	2021	hojev
18	K. MED 2022-18	Primorsko-notranjska	2020	hojev
19	K. MED 2022-19	Savinjska	2021	hojev
20	K. MED 2022-20	Jugovzhodna Slovenija	2021	hojev
21	K. MED 2022-21	Primorska-notranjska	2021	hojev
22	K. MED 2022-22	Jugovzhodna Slovenija	2021	hojev
23	K. MED 2022-23	Osrednjeslovenska	2021	kostanjev
24	K. MED 2022-24	Osrednjeslovenska	2021	kostanjev
25	K. MED 2022-25	Osrednjeslovenska	2021	kostanjev
26	K. MED 2022-26	Savinjska	2021	kostanjev
27	K. MED 2022-27	Osrednjeslovenska	2021	kostanjev
28	K. MED 2022-28	Savinjska	2021	kostanjev
29	K. MED 2022-29	Savinjska	2021	kostanjev
30	K. MED 2022-30	Savinjska	2021	kostanjev
31	K. MED 2022-31	Obalno kraška	2021	lipov
32	K. MED 2022-32	Goriška	2021	lipov
33	K. MED 2022-33	Jugovzhodna Slovenija	2021	lipov
34	K. MED 2022-34	Jugovzhodna Slovenija	2021	lipov
35	K. MED 2022-35	Goriška	2021	lipov
36	K. MED 2022-36	Pomurska	2022	oljna ogrščica
37	K. MED 2022-36.1	Podravska	2019	kostanjev
38	K. MED 2022-37	Podravska	2022	akacijev
39	K. MED 2022-37.1	Obalno kraška	2019	kostanjev
40	K. MED 2022-38	Pomurska	2022	akacijev
41	K. MED 2022-39	Pomurska	2022	oljna ogrščica
42	K. MED 2022-40	Osrednjeslovenska	2022	akacijev

18.2 ANALIZE MEDU

18.2.1 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 z melisopalinološko metodo (von der Ohe, 2004) določili dominanten oz. za posamezno vrsto medu značilen pelod v medu. Na osnovi rezultatov opisanih metod smo določili vrsto medu.

18.2.2 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 absorbanca radikala DPPH• oz. podaja koncentracijo substrata, ki vodi do 50 % zmanjšanja absorbanca 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 ksiline, 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 bučko in jo dopolnili do oznake ter raztopili na ultrazvočni kopeli.

Za analizo smo odpipetirali 200 μ L vzorcu, dodali smo 1 mL FC. Za slepi vzorec smo raztopini medu dodali 1 mL vode.

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

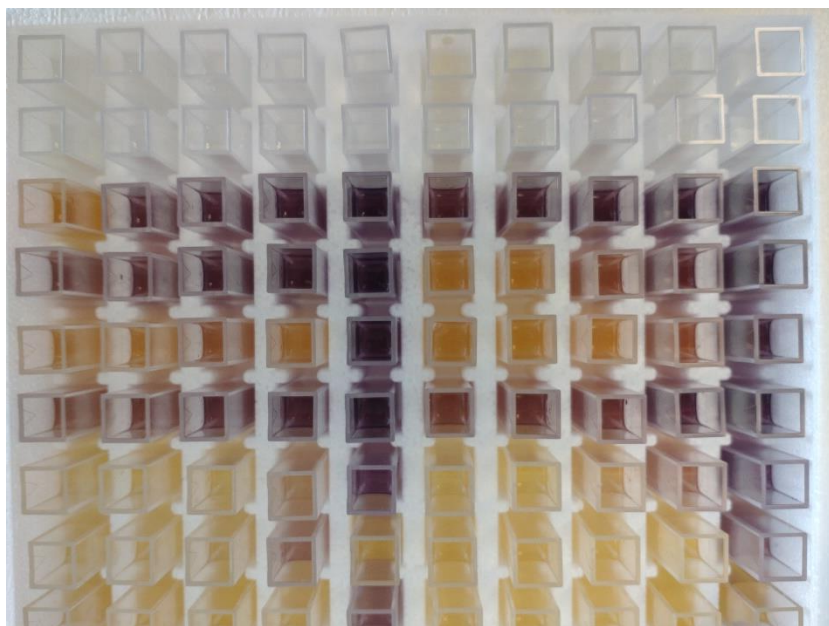
Določanje antioksidativne učinkovitosti - DPPH• metoda (Beretta in sod., 2005)

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. Spremembo absorbance spremljamo spektrofotometrično pri 517 nm.

15 g medu smo raztopili v 25 mL vode in iz nje z razredčevanjem dobili 5 raztopin z masnimi deleži od 30 do 600 mg/mL

Odpipetiral smo 0,1 mL posamezne raztopine medu in dodali 1 ml acetatnega pufru in 1,9 mL DPPH• reagenta. Za slepi vzorec smo odpipetirali posamezno koncentracijo medu in dodali 1 mL acetatnega pufru ter 1,9 mL vode. V kontrolni vzorec smo odpipetirali 0,1 mL vode, 1 mL acetatnega pufru ter 1,9 mL DPPH• reagenta.

Vse skupaj smo dali v temo za 90 minut, nakar smo odčitali absorbance pri 517 nm in iz umeritvene krivulje za posamezni vzorec izračunali učinkovitost DPPH•. Rezultat smo podali kot koncentracijo učinkovitosti (EC_{50}). Večja kot je antioksidativna učinkovitost, nižja je EC_{50} vrednost.



Slika 11: Izguba vijolične barve DPPH• reagenta

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).

Pripravili smo standardne raztopine železovega sulfata s koncentracijami od 0,1 do 1 mM. Odpipetirali smo 200 μ L posamezne standardne raztopine, dodali 1,8 mL FRAP reagenta, dobro premešali in inkubirali 10 min pri 37 °C. Pri valovni dolžini 593 nm smo izmerili absorbanco proti slepemu vzorcu. Za slepi vzorec smo standardni raztopini dodali 1,8 mL vode.

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 μ L 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.

Za analizo smo odpipetirali 200 μ L 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.

18.2.3 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*, *L. monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* in *B. cereus*.

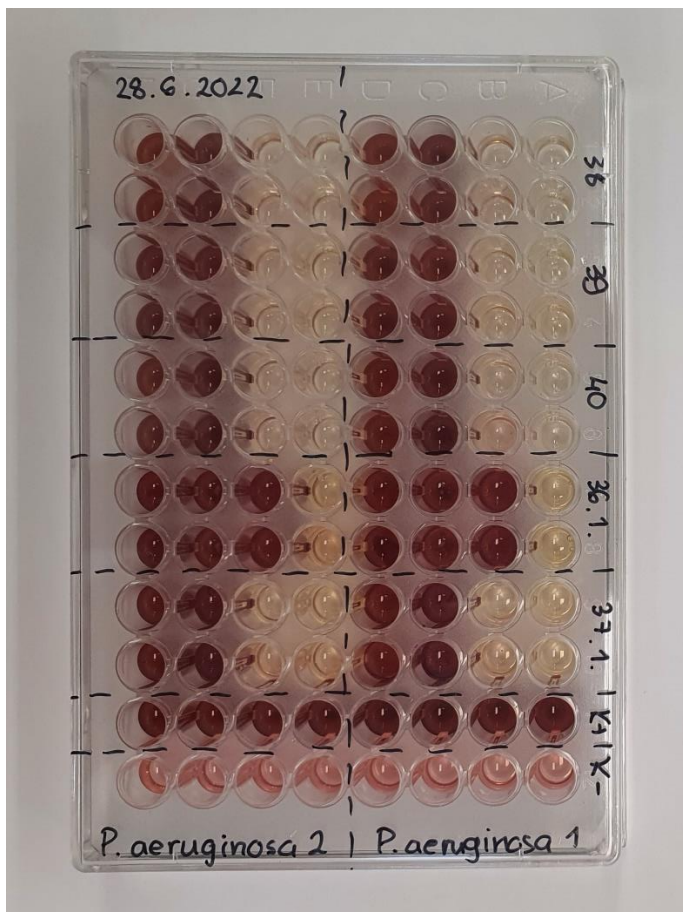
Za vsak vzorec medu smo pripravili svežo 50 % raztopino s koncentracijo 1000 mg/mL v tekočem gojišču Tryptic soy broth (TSB). Raztopino smo aseptično filtrirali preko filtra z velikostjo por 0,45 μ m.

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 μ L gojišča. Tako smo pripravili dvakratne redčitve vzorca, vse do koncentracije 3,9 mg/mL. Na koncu smo v vsako posamezno luknjico dodali po 50 μ L 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.

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 mikrotitrne ploščice, pri kateri ni bilo rdečega obarvanja.



Slika 12: Vizualno odčitavanje vrednosti MIK za bakterijo *P. aeruginosa* na mikrotitrski ploščici

19 REZULTATI Z RAZPRAVO

19.1 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 disertacije (Bertoncelj, 2008).

AKACIJEV MED (N=5)

Preglednica 23: 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 2022-4	14,2	0,28	<i>Robinia pseudacacia</i>	73,5	84,1	81,8
K. MED 2022-5	15,9	0,24	<i>Robinia pseudacacia</i> , Brassicaceae	77,4	121,0	88,1
K. MED 2022-37	15,2	0,23	<i>Robinia pseudacacia</i> , <i>Cornus sanguinea</i>	110,2	136,9	52,9
K. MED 2022-38	14,0	0,16	<i>Robinia pseudacacia</i>	93,1	106,3	72,2
K. MED 2022-40	16,0	0,29	<i>Robinia pseudacacia</i> , <i>Cotinus coggygria</i>	114,1	131,0	46,5
Povprečje	15,0	0,24		93,7	115,9	68,3
S.D.	0,9	0,05		18,5	21,2	18,0
MIN	14,0	0,16		73,5	84,1	46,5
MAKS	16,0	0,29		114,1	136,9	88,1

V programskem letu 2022 analizirani vzorci akacijevga medu niso bili najbolj tipični predstavniki svoje vrste. Do odstopanja pride ko primerjamo vsebnost skupnih fenolnih spojin in antioksidativno učinkovitost z električno prevodnostjo, kjer bi naj veljalo, da ob nizki električni prevodnosti izmerimo nizko stopnjo antioksidativne učinkovitosti. V letošnjem primeru izstopa vzorec št. 38. Preostali vzorci sledijo temu načelu. Zanimiva sta tudi vzorca št. 37 in 40, ki imata precej visoko antioksidativno učinkovitost za akacijev med (preglednica 24).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

CVETLIČNI MED (N=5)

V programskem letu 2022 smo analizirali pet vzorcev cvetličnega medu. Rezultati so primerljivi z do zdaj izmerjenimi vrednostmi, značilnimi za cvetlični med (preglednica 25). Antioksidativna učinkovitost je bila nekoliko manjša v primerjavi s predhodnima letoma.

Preglednica 24: 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 2022-6	15,8	0,45	<i>Castanea sativa</i>	94,5	140,3	39,8
K. MED 2022-7	16,0	0,79	<i>Castanea sativa</i>	131,3	212,6	26,1
K. MED 2022-8	15,0	0,78	/	163,6	219,1	23,4
K. MED 2022-9	15,0	0,63	<i>Castanea sativa</i>	109,5	174,9	34,3
K. MED 2022-12	16,7	0,74	<i>Myosotis sp.</i>	161,6	357,5	15,0
Povprečje	15,7	0,68		132,1	220,9	27,7
S.D.	0,7	0,14		30,8	82,7	9,7
MIN	15,0	0,45		94,5	140,3	15,0
MAKS	16,7	0,79		163,6	357,5	39,8

GOZDNI MED (N=2)

Variabilnost naravnega vira gozdnega medu je zelo velika, kar je lahko vzrok za razlike v rezultatih (preglednica 26). V primerjavi s preteklima letoma je vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih letošnjega leta najmanjša. Antioksidativna učinkovitost, določena z metodama FRAP in DPPH, je primerljiva z antioksidativno učinkovitostjo vzorcev gozdnega medu preteklih let.

Preglednica 25: 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 2022-10	14,1	1,03	<i>Filipendula sp.</i>	149,9	331,6	18,9
K. MED 2022-11	17,0	1,28	<i>Castanea sativa</i>	157,4	369,8	13,3
Povprečje	15,5	1,15		153,7	350,7	16,1
S.D.	2,1	0,18		5,3	27,0	4,0
MIN	14,1	1,03		149,9	331,6	13,3
MAKS	17,0	1,28		157,4	639,8	18,9

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

LIPOV MED (N=5)

Analizirali smo 5 vzorcev lipovega medu. Letošnji vzorci so vsebovali bistveno več skupnih fenolnih spojin v primerjavi z lanskim letom. Prav tako je bila antioksidativna učinkovitost letos večja (preglednica 27). Antioksidativna učinkovitost vzorcev letošnjega programskega leta je večja tudi od vrednosti, ki jih je v lipovem medu določila Bertonselj (2008).

Preglednica 26: 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 2022-31	15,5	0,98	<i>Tilia sp., Castanea sativa</i>	131,4	350,8	27,6
K. MED 2022-32	16,1	1,05	<i>Tilia sp., Castanea sativa</i>	121,0	302,7	25,9
K. MED 2022-33	16,9	0,84	<i>Tilia sp.</i>	98,4	281,9	39,3
K. MED 2022-34	15,8	0,89	<i>Tilia sp., Castanea sativa</i>	95,9	276,8	42,5
K. MED 2022-35	15,3	1,02	<i>Tilia sp., Castanea sativa</i>	124,2	328,1	23,7
Povprečje	15,9	0,96		114,2	308,1	31,8
S.D.	0,6	0,09		16,0	31,3	8,5
MIN	15,3	0,84		95,9	276,8	23,7
MAKS	16,9	1,05		131,4	350,8	42,5

MED OLJNE OGRŠČICE (N=2)

Antioksidativna učinkovitost vzorcev medu oljne ogrščice je bila tudi v letošnjem letu večja v primerjavi z antioksidativno učinkovitostjo akacijevega medu. V primerjavi s preteklima letoma je povprečna antioksidativna učinkovitost vzorcev medu oljne ogrščice nekoliko manjša (preglednica 28).

Preglednica 27: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti medu oljne ogrščice

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 2022-36	18,3	0,32	Brassicaceae	165,4	160,0	16,4
K. MED 2022-39	16,5	0,43	Brassicaceae	172,9	219,0	14,6
Povprečje	17,4	0,38		169,2	189,5	15,5
S.D.	1,3	0,08		5,3	41,7	1,3
MIN	16,5	0,32		165,4	160,0	14,6
MAKS	18,3	0,43		172,9	219,0	16,4

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

KOSTANJEV MED (N=10)

Preglednica 28: 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 2022-23	14,7	1,36	<i>Castanea sativa</i>	184,9	394,3	15,6
K. MED 2022-24	13,9	1,21	<i>Castanea sativa</i>	172,8	371,1	16,7
K. MED 2022-25	16,8	1,56	<i>Castanea sativa</i>	176,3	337,8	18,4
K. MED 2022-26	16,1	1,5	<i>Castanea sativa</i>	184,3	384,8	15,7
K. MED 2022-27	16,0	1,48	<i>Castanea sativa</i>	170,7	352,1	16,7
K. MED 2022-28	15,8	1,46	<i>Castanea sativa</i>	185,8	192,4	16,4
K. MED 2022-29	17,0	1,37	<i>Castanea sativa</i>	185,60	397,20	15,50
K. MED 2022-30	15,9	1,96	<i>Castanea sativa</i>	178,90	418,50	15,80
K. MED 2022-36.1	14,3	1,73	<i>Castanea sativa</i>	282,10	516,40	8,50
K. MED 2022-37.1	16,2	1,39	<i>Castanea sativa</i>	241,60	359,50	8,50
Povprečje	15,7	1,50		196,30	372,41	14,78
S.D.	1,0	0,21		36,24	80,48	3,42
MIN	13,9	1,21		170,70	192,40	8,50
MAKS	17,0	1,96		282,10	516,40	18,40

Kostanjev med sodi med vrste medov, ki imajo večjo antioksidativno učinkovitost. Vzorci letošnjega programskega leta (preglednica 29) so primerljivi z vzorci medu lanskega programskega leta. Vrednosti so primerljive tudi z vrednostmi, značilnimi za slovenski med (Bertoncelj, 2008).

AJDOV MED (N=3)

Preglednica 29: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti ajdovega 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 2022-1	15,4	0,52	<i>Fagopyrum esculentum</i> , sadno drevje, Brassicaceae	319,8	497,8	10,3
K. MED 2022-2	14,5	0,60	<i>Fagopyrum esculentum</i> , <i>Castanea sativa</i>	257,5	320,4	15,0
K. MED 2022-3	17,4	0,30	<i>Fagopyrum esculentum</i>	312,8	330,5	12,9
Povprečje	15,8	0,48		296,7	382,9	12,7
S.D.	1,5	0,16		34,1	99,6	2,4
MIN	14,5	0,30		257,5	320,4	10,3
MAKS	17,4	0,60		319,8	497,8	15,0

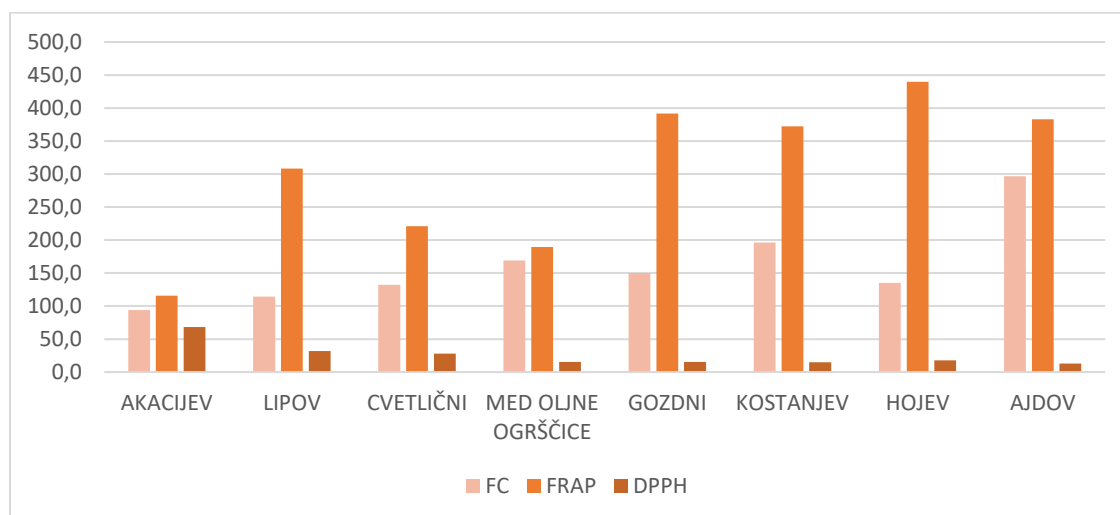
Ajdov med ima več skupnih fenolnih spojin kot ostale vrste medu, tudi antioksidativna učinkovitost je večja (preglednica 30), kar se ujema z barvo ajdovega medu, ki je temna. Velja namreč splošno pravilo, da imajo temni medovi večjo antioksidativno učinkovitost (Martinello in Mutinelli, 2021). V naših vzorcih je bilo med 257,5 in 319,8 mg_{GK}/kg skupnih fenolnih spojin, kar je primerljivo z rezultati ajdovega medu slovenskega porekla drugih avtorjev. Peras (2019) je v desetih vzorcih ajdovega medu slovenskega porekla določila med 272,1 in 510,4, mg_{GK}/kg skupnih fenolnih spojin, Stankovič (2016) pa v petih vzorcih med 222 in 466 mg_{GK}/kg skupnih fenolnih spojin. V primerjavi z vzorci ajdovega medu programskega leta 2021, je povprečna vsebnost skupnih fenolnih spojin nekoliko manjša (za 17 %). Najnižji izmerjeni vrednosti pa se med letoma praktično ne razlikujeta.

HOJEV MED (N=10)

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 2022-13	14,5	1,35	<i>Castanea sativa</i>	137,8	496,7	13,0
K. MED 2022-14	14,7	1,16	<i>Castanea sativa</i>	133,0	420,2	17,3
K. MED 2022-15	15,4	1,17	<i>Castanea sativa</i>	123,9	372,8	19,6
K. MED 2022-16	14,2	1,25	<i>Acer</i>	142,7	473,2	13,5
K. MED 2022-17	15,6	1,19	<i>Castanea sativa</i>	124,4	385,3	20,7
K. MED 2022-18	14,5	0,96	<i>Castanea sativa</i>	126,6	373,0	20,4
K. MED 2022-19	14,4	1,37	<i>Castanea sativa</i>	163,9	509,1	13,7
K. MED 2022-20	16,2	1,30	<i>Castanea sativa</i>	142,1	522,9	14,5
K. MED 2022-21	15,1	1,09	<i>Castanea sativa</i>	135,1	440,0	19,5
K. MED 2022-22	15,5	1,17	<i>Castanea sativa</i>	128,4	436,1	19,6
Povprečje	15,0	1,20		135,0	439,6	17,6
S.D.	0,6	0,13		12,5	58,4	3,1
MIN	14,2	0,96		123,9	372,8	13,0
MAKS	16,2	1,37		163,9	522,9	20,7

Hojev med sodi med medove z večjo antioksidativno učinkovitostjo. Če primerjamo vsebnosti skupnih fenolnih spojin z vrednostmi, ki jih je določila Bertoneclj (2008), so naše vrednosti nekoliko nižje. Medtem ko je antioksidativna učinkovitost po FRAP metodi (preglednica 31) zelo primerljiva s slovenskim povprečjem.



Slika 13: Primerjava povprečne vsebnosti skupnih fenolnih spojin (FC) ter antioksidativne učinkovitosti s FRAP in DPPH• metodo

Temni medovi (kostanjev, hojev, gozdni in ajdov) vsebujejo več skupnih fenolnih spojin ter imajo večjo antioksidativno učinkovitost kot svetlejšje vrste medu (slika 13), kar se ujema tudi z že do sedaj opravljenimi raziskavami slovenskega medu (Bertoncelj, 2008). Ajdov med kljub električni prevodnosti, nižji kot 0,8 mS/cm, kaže veliko antioksidativno učinkovitost, kar se ujema z barvo ajdovega medu, ki je navadno precej temna, kar ni značilno za medove nektarnega izvora. Zmerno visoko antioksidativno učinkovitost je imel tudi lipov med.

19.2 PROTIMIKROBNA UČINKOVITOST

V raziskavi smo ugotavljali protimikrobno učinkovitost slovenskih vrst medu na pet bakterij: *S. aureus*, *E. coli*, *L. monocytogenes*, *B. cereus* in *P. aeruginosa*. 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. 40.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

AKACIJEV MED (N=5)

Preglednica 31: 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>			
	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	%
K. MED 2022-4	62,50	3,10	125,00	6,30	250,00	12,50	500,00	25,00	125,00	6,30	250,00	12,50	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00
K. MED 2022-5	25,00	6,30	250,00	12,50	>500	>25	>500	>25	250,00	12,50	500,00	25,00	>500	>25	>500	>25	500,00	25,00	>500	>25
K. MED 2022-37	62,50	3,10	125,00	6,30	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
K. MED 2022-38	62,50	3,10	125,00	6,30	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00	125,00	6,30	250,00	12,50
K. MED 2022-40	125,00	6,30	250,00	12,50	>500	>25	>500	>25	500,00	25,00	>500	>25	500,00	25,00	>500	>25	125,00	6,30	250,00	12,50
Povprečje	67,50	4,38	175,00	8,78	-	-	-	-	250,00	12,52	-	-	-	-	-	-	225,00	11,28	-	-
S.D.	36,01	1,75	68,47	3,40	-	-	-	-	153,09	7,63	-	-	-	-	-	-	162,98	8,13	-	-
MIN	25,00	3,10	125,00	6,30	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
MAKS	125,00	6,30	250,00	12,50	>500	>25	>500	>25	500,00	25,00	>500	>25	>500	>25	>500	>25	500,00	25,00	>500	>25

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 2022

CVETLIČNI MED (N=5)

Preglednica 32: 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>			
	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	%
K. MED 2022-6	31,30	1,60	62,50	3,10	250,00	12,50	500,00	25,00	125,00	6,30	250,00	12,50	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00
K. MED 2022-7	31,30	1,60	62,50	3,10	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
K. MED 2022-8	31,30	1,60	62,50	3,10	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	500,00	25,00	>500	>25	250,00	12,50	500,00	25,00
K. MED 2022-9	31,30	1,60	62,50	3,10	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
K. MED 2022-12	15,60	0,80	31,30	1,60	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
Povprečje	28,16	1,44	56,26	2,80	150,00	7,54	300,00	15,00	100,00	5,02	200,00	10,02	225,00	11,28	-	15,63	175,00	8,78	350,00	17,50
S.D.	7,02	0,36	13,95	0,67	55,90	2,77	111,80	5,59	34,23	1,75	68,47	3,40	162,98	8,13	-	6,25	68,47	3,40	136,93	6,85
MIN	15,60	0,80	31,30	1,60	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
MAKS	31,30	1,60	62,50	3,10	250,00	12,50	500,00	25,00	125,00	6,30	250,00	12,50	500,00	25,00	>500	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00

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 2022

GOZDNI MED (N=2)

Preglednica 33: 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>			
	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	%
K. MED 2022-10	15,60	0,80	31,30	1,60	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30
K. MED 2022-11	15,60	0,80	31,30	1,60	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
Povprečje	15,60	0,80	31,30	1,60	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	93,75	4,70	187,50	9,40
S.D.	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	44,19	2,26	88,39	4,38
MIN	15,60	0,80	31,30	1,60	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30
MAKS	15,60	0,80	31,30	1,60	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	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;

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

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

LIPOV MED (N=5)

Preglednica 34: 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>			
	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	%
K. MED 2022-31	15,60	0,80	31,30	1,60	62,50	3,10	125,00	6,30	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
K. MED 2022-32	31,30	1,60	62,50	3,10	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
K. MED 2022-33	31,30	1,60	62,50	3,10	250,00	12,50	500,00	25,00	125,00	6,30	250,00	12,50	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00
K. MED 2022-34	31,30	1,60	62,50	3,10	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
K. MED 2022-35	31,30	1,60	62,50	3,10	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
Povprečje	28,16	1,44	56,26	2,80	137,50	6,90	275,00	13,76	112,50	5,66	225,00	11,26	225,00	11,26	450,00	22,50	150,00	7,54	300,00	15,00
S.D.	7,02	0,36	13,95	0,67	68,47	3,42	136,93	6,83	27,95	1,43	55,90	2,77	55,90	2,77	111,80	5,59	55,90	2,77	111,80	5,59
MIN	15,60	0,80	31,30	1,60	62,50	3,10	125,00	6,30	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
MAKS	31,30	1,60	62,50	3,10	250,00	12,50	500,00	25,00	125,00	6,30	250,00	12,50	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00

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 2022

MED OLJNE OGRŠČICE (N=2)

Preglednica 35: Rezultati protimikrobne aktivnosti medu oljne ogrščice

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
	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	%
K. MED 2022-36	31,30	1,60	62,50	3,10	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
K. MED 2022-39	62,50	3,10	125,00	6,30	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
Povprečje	46,90	2,35	93,75	4,70	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
S.D.	22,06	1,06	44,19	2,26	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
MIN	31,30	1,60	62,50	3,10	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
MAKS	62,50	3,10	125,00	6,30	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

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 2022

KOSTANJEV MED (N=10)

Preglednica 36: 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>			
	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	%
K. MED 2022-23	31,30	1,60	62,50	3,10	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
K. MED 2022-24	15,60	0,80	31,30	1,60	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
K. MED 2022-25	31,30	1,60	62,50	3,10	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00
K. MED 2022-26	15,60	0,80	31,30	1,60	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
K. MED 2022-27	15,60	0,80	31,30	1,60	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
K. MED 2022-28	31,30	1,60	62,50	3,10	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
K. MED 2022-29	15,60	0,80	31,30	1,60	62,50	3,10	125,00	6,30	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
K. MED 2022-30	31,30	1,60	62,50	3,10	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
K. MED 2022-36.1	62,50	3,1	125,00	6,3	125,00	6,3	250,00	12,5	125,00	6,3	250,00	12,5	250,00	12,5	500,00	25	250,00	12,5	500,00	25
K. MED 2022-37.1	31,30	1,6	62,50	3,1	125,00	6,3	250,00	12,5	62,50	3,1	125,00	6,3	125,00	6,3	250,00	12,5	125,00	6,3	250,00	12,5
Povprečje	28,14	1,43	56,27	2,82	131,25	6,60	262,50	13,13	125,00	6,28	250,00	12,51	187,50	9,40	375,00	18,75	150,00	7,54	300,00	15,00
S.D.	14,37	0,71	28,70	1,43	46,12	2,30	92,23	4,60	51,03	2,56	102,06	5,09	65,88	3,27	131,76	6,59	52,70	2,61	105,41	5,27
MIN	15,60	0,80	31,30	1,60	62,50	3,10	125,00	6,30	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
MAKS	62,50	3,10	125,00	6,30	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00

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

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

AJDOV MED (N=3)

Preglednica 37: Rezultati protimikrobne aktivnosti ajdovega medu

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
	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	%
K. MED 2022-1	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2022-2	15,6	0,8	31,3	1,6	62,5	3,1	125,0	6,3	62,5	3,1	125,0	6,3	125,0	6,3	250,0	12,5	62,5	3,1	125,0	6,3
K. MED 2022-3	62,5	3,1	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	125,0	6,3	250,0	12,5
Povprečje	67,7	3,4	135,4	6,8	270,8	13,5	-	-	145,8	7,3	291,7	14,6	250,0	12,5	-	-	229,2	11,5	-	-
S.D.	54,9	2,8	109,7	5,5	219,5	11,0	-	-	95,5	4,8	190,9	9,5	216,5	10,8	-	-	236,6	11,8	-	-
MIN	15,6	0,8	31,3	1,6	62,5	3,1	125,0	6,3	62,5	3,1	125,0	6,3	125,0	6,3	250,0	12,5	62,5	3,1	125,0	6,3
MAKS	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25

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

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2022

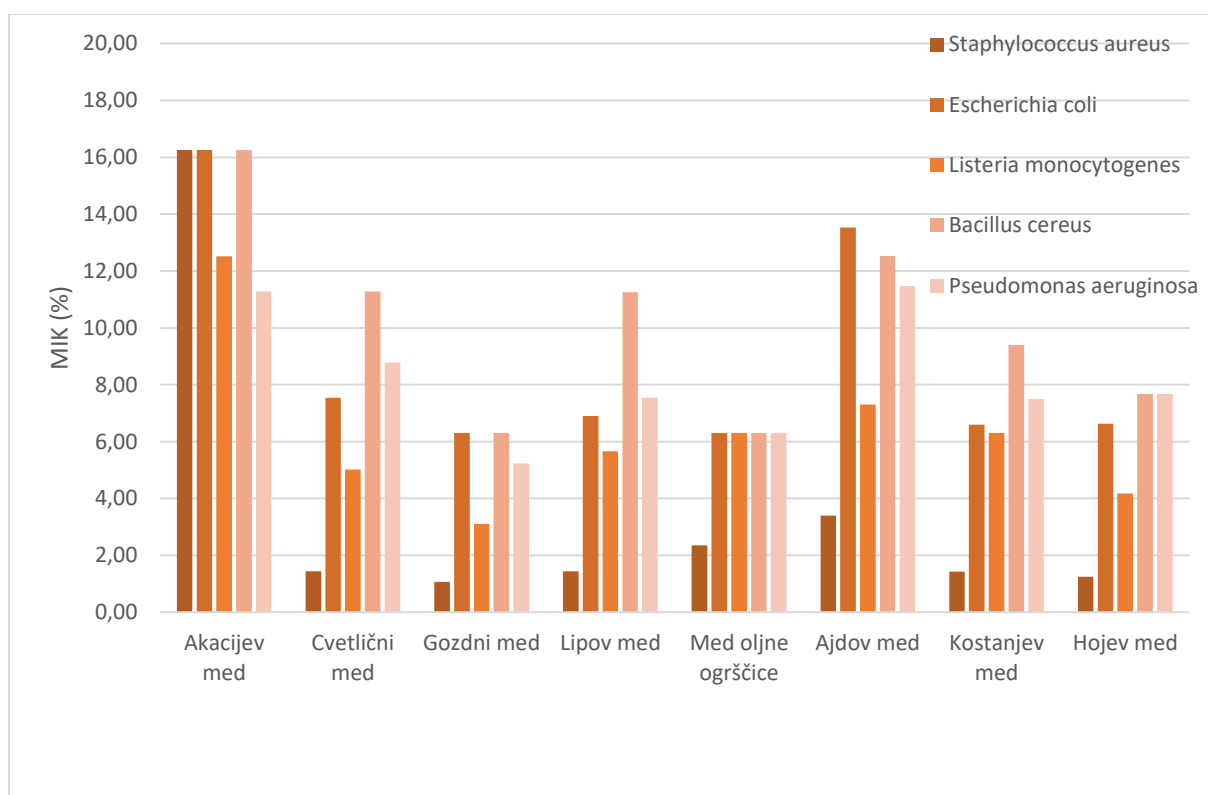
HOJEV MED (N=10)

Preglednica 40: Rezultati protimikrobne aktivnosti medu mešanice lipovega in kostanjevega medu

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
	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	%
K. MED 2022-13	15,60	0,80	31,30	1,60	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
K. MED 2022-14	31,30	1,60	62,50	3,10	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
K. MED 2022-15	31,30	1,60	62,50	3,10	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
K. MED 2022-16	31,30	1,60	62,50	3,10	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
K. MED 2022-17	31,30	1,60	62,50	3,10	250,00	12,50	500,00	25,00	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50	250,00	12,50	500,00	25,00
K. MED 2022-18	31,30	1,60	62,50	3,10	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
K. MED 2022-19	15,60	0,80	31,30	1,60	62,50	3,10	125,00	6,30	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
K. MED 2022-20	31,30	1,60	62,50	3,10	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
K. MED 2022-21	15,60	0,80	31,30	1,00	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
K. MED 2022-22	15,60	0,80	31,30	1,60	125,00	6,30	250,00	12,50	62,50	3,10	125,00	6,30	250,00	12,50	500,00	25,00	125,00	6,30	250,00	12,50
Povprečje	25,02	1,28	50,02	2,44	131,25	6,60	262,50	13,13	81,25	4,06	162,50	8,16	150,00	7,54	300,00	15,00	150,00	7,54	300,00	15,00
S.D.	8,11	0,41	16,11	0,87	46,12	2,30	92,23	4,60	30,19	1,55	60,38	2,99	52,70	2,61	105,41	5,27	52,70	2,61	105,41	5,27
MIN	15,60	0,80	31,30	1,00	62,50	3,10	125,00	6,30	62,50	3,10	125,00	6,30	125,00	6,30	250,00	12,50	125,00	6,30	250,00	12,50
MAKS	31,30	1,60	62,50	3,10	250,00	12,50	500,00	25,00	125,00	6,30	250,00	12,50	250,00	12,50	500,00	25,00	250,00	12,50	500,00	25,00

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

Vzorci iz leta 2022 so bili učinkoviti na vse analizirane bakterijske vrste, največjo aktivnost imajo po pričakovanju vzorci kostanjevega, hojevega in gozdnega medu. Proti pričakovanjem se je odrezal ajdov med, ki ima nekoliko slabšo aktivnost v primerjavi s preteklima letoma (preglednice 33-40). Večjo protimikrobno učinkovitost od pričakovane imajo vzorci medu oljne ogrščice, njihova protimikrobna učinkovitost se ujema z antioksidativno učinkovitostjo (preglednica 28). Vzorci so na splošno najbolj učinkoviti proti *S. aureus* (slika 14). Vsi vzorci medu kažejo tudi na baktericidno (MBK) aktivnost, ki pa je pri vseh vzorcih manjša kot bakteriostatična (preglednice 33-40).



Slika 14: Povprečne vrednosti (MIK) za posamezno vrsto medu

20 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 slovenskega medu kažejo tako antioksidativno učinkovitost kot protimikrobno delovanje proti analiziranim vrstam bakterij. Večjo učinkovitost imajo manini medovi (gozdni, in hojev med) ter kostanjev in ajdov med. V letošnjem letu smo dobro protimikrobno učinkovitost zaznali tudi pri medu oljne ogrščice. Vzorci, analizirani v letu 2022, niso bili enakomerno razporejeni po vrstah. Med vzorci sta prevladovala kostanjev in hojev med. V raziskavo smo uspeli vključiti tudi nekaj medov akacije in oljne ogrščice iz letošnje čebelarke sezone.

Pri vseh vrstah medu je bila vsebnost vode manjša od 18 %, kar nakazuje, da pridelujemo kakovosten med, ki je v obsegu slovenskega povprečja (Pravilnik o medu, 2011).

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 v predhodnih letih tega programskega obdobja (Kandolf Borovšak in sod., 2020; Kandolf Borovšak in sod., 2021).

21 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 spectrophotometric/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

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

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

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. Bertoncej, J., Korošec, M. 2020. Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov. Lukovica: Čebelarska zveza Slovenije: 72-94

Kandolf Borovšak A., Lilek, N., Samec, T. Bertoncej, 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., Oravecz 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](https://doi.org/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

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