

www.czs.si



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

Poročilo aplikativne raziskave Karakterizacija čebeljih pridelkov

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, avgust 2020

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

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)

Sodelavci: dr. Nataša Lilek, Tomaž Samec, ČZS
dr. Jasna Bertoncelej, dr. Mojca Korošec, dr. Helena Abramovič,
dr. Sonja Smole Možina, dr. Katarina Šimunović, Marinka Jan, Blaž Ferjančič,
Anja Bolha, Mateja KokaljUNI- LJ, 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 Bertoncelej
(UL BF), dr. Mojca Korošec (UL BF)

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, 31. 8. 2020

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 CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA	12
2.6	VSEBNOST ELEMENTOV V CVETNEM PRAHU OSMUKANCU.....	13
2.7	SENZORIČNE LASTNOSTI CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA.....	13
3	MATERIAL IN METODE	14
3.1	ZBIRANJE VZORCEV.....	14
3.2	ANALIZE CVETNEGA PRAHU	15
3.2.1	Določanje botaničnega porekla (von der Ohe in sod., 2004).....	15
3.2.2	Določanje protimikrobne aktivnosti	15
3.2.3	Določanje antioksidativne učinkovitosti (AU)	16
3.2.4	Določanje vsebnosti elementov (XRF) (Nečemer in sod., 2010).....	16
3.2.5	Senzorična analiza	17
3.2.6	Statistična analiza	17
3.3	REZULTATI	18
3.3.1	Botanično poreklo cvetnega prahu osmukanca	18
3.3.2	Protimikrobna aktivnost v izvlečkih cvetnega prahu osmukanca.....	20
3.3.3	Antioksidativna učinkovitost (AU) cvetnega prahu osmukanca	22
3.3.4	Elementna sestava cvetnega prahu osmukanca	23
3.3.5	Senzorična analiza cvetnega prahu osmukanca	27
4	ZAKLJUČEK.....	32
5	VIRI.....	33
6	PREGLED OBJAV O MATIČNEM MLEČKU	38
6.1	NASTANEK MATIČNEGA MLEČKA	39
6.2	LASTNOSTI SVEŽEGA MATIČNEGA MLEČKA.....	39
6.2.1	Senzorične značilnosti svežega matičnega mlečka.....	39
6.3	SESTAVA MATIČNEGA MLEČKA.....	40

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

6.3.1	Voda.....	41
6.3.2	Beljakovine	41
6.3.3	Vrednost pH in vsebnost kislin.....	42
6.3.4	Ogljikovi hidrati.....	43
6.3.5	Pepel.....	43
6.3.6	Maščobe	43
6.3.7	Antioksidativna učinkovitost matičnega mlečka	44
6.4	SKLADIŠČENJE MATIČNEGA MLEČKA.....	45
7	MATERIAL IN METODE	46
7.1	ZBIRANJE VZORCEV	46
7.2	ANALIZE MATIČNEGA MLEČKA	47
7.2.1	Senzorična analiza	47
7.2.2	Fizikalno-kemijske analize	47
7.2.3	Statistične metode	48
8	REZULTATI Z RAZPRAVO	49
8.1	SENZORIČNA OCENA	49
8.2	FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI	51
9	ZAKLJUČEK	52
10	VIRI	53
11	PREGLED OBJAV O PROPOLISU	58
11.1	NASTANEK IN POMEN PROPOLISA	59
11.2	SESTAVA PROPOLISA.....	59
11.2.1	Flavonoidi	60
11.2.2	Fenolne spojine	60
11.2.3	Terpenoidi	60
11.2.4	Druge snovi.....	60
11.3	VRSTE PROPOLISA	61
11.4	LASTNOSTI PROPOLISA	62
11.5	PRIDOBIVANJE PROPOLISA	63
12	MATERIAL IN METODE	64
12.1	NAČRT ZBIRANJA VZORCEV	64
12.2	ANALIZA PROPOLISA	65
13	REZULTATI IN RAZPRAVA	66
13.1	SENZORIČNA OCENA PROPOLISA	66

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

13.2	VSEBNOST FENOLNIH SPOJIN.....	66
14	ZAKLJUČEK.....	68
15	VIRI.....	72
16	PREGLED OBJAV O MEDU	74
16.1	PROTIMIKROBNA AKTIVNOST MEDU	74
16.2	PEROKSIDNA PROTIMIKROBNA AKTIVNOST.....	74
16.3	MOŽNI VIRI NEPEROKSIDNE PROTIMIKROBNE UČINKOVITOSTI MEDU	75
16.4	IZVOR PROTIMIKROBNE AKTIVNOSTI MEDU	75
16.5	ANTIOKSIDATIVNE LASTNOSTI MEDU	76
17	MATERIAL IN METODE	77
17.1	ZBIRANJE VZORCEV.....	77
17.2	ANALIZE MEDU	79
17.2.1	Določitev vrste medu	79
17.2.2	Določanje skupnih fenolnih spojin in antioksidativne učinkovitosti.....	79
17.2.3	Določanje protimikrobne aktivnosti medu	81
17.3	REZULTATI	82
17.3.1	Vsebnost skupnih fenolnih spojin in antioksidativna učinkovitost medu.....	82
17.3.2	Protimikrobna učinkovitost	87
18	ZAKLJUČEK.....	95
19	VIRI.....	95

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.....	14
Preglednica 4: Vzorci cvetnega prahu osmukanca z določenim botaničnim poreklom.....	18
Preglednica 5: Protimikrobna aktivnost posameznih analiziranih vrst izvlečkov cvetnega prahu osmukanca.....	21
Preglednica 6: Protimikrobna aktivnost izvlečkov cvetnega prahu osmukanca javorja in regrata	22
Preglednica 7: Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih cvetnega prahu, izražena kot mg galne kisline na gram cvetnega prahu (mg _{GK} /g) in AU izvlečkov, izražena kot koncentracija fenolnih spojin v reakcijski zmesi, ki za 50 % zniža začetno vsebnost radikala DPPH• (EC ₅₀)	22
Preglednica 8: Antioksidativna učinkovitost cvetnega prahu osmukanca javorja in regrata ...	23
Preglednica 9: Vsebnost makroelementov v cvetnem prahu osmukanca različnega botaničnega porekla.....	24
Preglednica 10: Vsebnost makroelementov v cvetnem prahu osmukanca javorja in regrata ..	24

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Preglednica 11: Vsebnost mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu različnega botaničnega porekla.....	25
Preglednica 12: Vsebnost mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu javorja in regrata...	26
Preglednica 13: Barva vzorcev cvetnega prahu	28
Preglednica 14: Rezultati senzorične analize vzorcev cvetnega prahu	31
Preglednica 15: Sestava svežega in liofiliziranega matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016)	40
Preglednica 16: Analizirani vzorci matičnega mlečka	46
Preglednica 17: Rezultati senzorične analize vzorcev matičnega mlečka	50
Preglednica 18: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz slovenskega matičnega mlečka	51
Preglednica 19: Analizirani vzorci propolisa	64
Preglednica 20: Rezultati senzorične ocene posameznih vzorcev propolisa pridelanega v letu 2019 in analiziranega v letu 2020	66
Preglednica 21: Vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa.	70
Preglednica 22: Povprečne vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa	71
Preglednica 23: Analizirani vzorci medu	78
Preglednica 24: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti akacijevega medu	83
Preglednica 25: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti cvetličnega medu	83
Preglednica 26: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti gozdnega medu...	84
Preglednica 27: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti lipovega medu	84
Preglednica 28: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti medu oljne ogrščice	85
Preglednica 29: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti kostanjevega medu	85
Preglednica 30: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti ajdovega medu ...	85
Preglednica 31: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti smrekovega medu	86
Preglednica 32: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti mešanice lipovega in kostanjevega medu	86
Preglednica 33: Rezultati protimikrobne aktivnosti akacijevega medu	88
Preglednica 34: Rezultati protimikrobne aktivnosti cvetličnega medu.....	89
Preglednica 35: Rezultati protimikrobne aktivnosti gozdnega medu.....	90
Preglednica 36: Rezultati protimikrobne aktivnosti lipovega medu	91
Preglednica 37: Rezultati protimikrobne aktivnosti medu oljne ogrščice.....	92
Preglednica 38: Rezultati protimikrobne aktivnosti kostanjevega medu	92
Preglednica 39: Rezultati protimikrobne aktivnosti ajdovega medu	93
Preglednica 40: Rezultati protimikrobne aktivnosti smrekovega medu.....	93
Preglednica 41: Rezultati protimikrobne aktivnosti medu mešanice lipovega in kostanjevega medu	93
Preglednica 42: Povprečne vrednosti MIK (%) za posamezno vrsto medu	94

KAZALO SLIK

Slika 1: Priprava vzorcev za določanje elementne sestave cvetnega prahu.	17
Slika 2: Porazdelitev analiziranih vzorcev cvetnega prahu osmukanca z uporabo metode PCA	26
Slika 3: Porazdelitev in povezava vektorjev elementov glede na botanično poreklo cvetnega prahu osmukanca.....	27
Slika 4: Barvna pestrost cvetnega prahu osmukanca (vzorci KCP1–KCP20).....	29
Slika 5: Senzorični profil cvetnega prahu javorja	30
Slika 6: Barva matičnega mlečka	39
Slika 7: Propolis, pridobljen na namensko vstavljenih pripomočkih.....	58
Slika 8: Povprečna sestava propolisa	61
Slika 9: Pripravljen vzorec propolisa za analizo	65
Slika 10: Izguba vijolične barve DPPH• reagenta.....	80
Slika 11: Vizualno odčitavanje vrednosti MIK za bakterijo <i>S. aureus</i> na mikrotitrski ploščici	82
Slika 12: Primerjava vsebnosti skupnih fenolnih spojin (FC) ter antioksidativne učinkovitosti s FRAP in DPPH• metodo (pri vrstah označnih z * zaradi majhnega števila vzorcev prikazujemo dejansko vrednost).....	86
Slika 13: Povprečne vrednosti (MIK) za posamezno vrsto medu (pri vrstah označnih z * zaradi majhnega števila vzorcev prikazujemo dejansko vrednost).....	94

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 mlčeka ter propolisa, 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 treh različnih sezon ter treh statističnih regij Slovenije.

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), Inštitutu 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.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV DELNO POROČILO ZA LETO 2020

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-Vashev 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 ($\mu\text{g/g}$) (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, čebelarsko prakso (Feás in sod., 2012) in čas pridobivanja. Cvetni prah osmukanec v večini sestavljajo ogljikovi hidrati (sladkorji in prehranska vlaknina), beljakovine, maščobe, aminokisliline, maščobne kisline, fenolne spojine, encimi, vitamini in ostale bioaktivne spojine (Campos in sod., 2008; Campos in sod., 2010).

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 štejem 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 fenolnih spojin. 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.

Glede na različne študije, ki so dostopne v strokovni literaturi, 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 CVETNEGA PRAHU OSMUKANCA

Cvetni prah osmukanec vsebuje tudi 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 cimetine 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.

Almaraz-Abarca in sod. (2004) ugotavljajo, da ima vsebnost flavonoidov v cvetnem prahu velik vpliv na antioksidativno učinkovitost cvetnega prahu. 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).

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).

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.

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 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 šestih 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, leto pridelave, statistična regija) so zbrani v preglednici 3.

Preglednica 3: Analizirani vzorci cvetnega prahu

Zap. št.	Številka vzorca	Statistična regija	Leto pridelave
1	KCP1	Obalno-kraška	2019
2	KCP2	Pomurska	2020
3	KCP3	Osrednjeslovenska	2020
4	KCP4	Osrednjeslovenska	2019
5	KCP5	Jugovzhodna	2019
6	KCP6	Gorenjska	2019
7	KCP7	Gorenjska	2020
8	KCP8	Osrednjeslovenska	2020
9	KCP9	Osrednjeslovenska	2019
10	KCP10	Gorenjska	2020
11	KCP11	Gorenjska	2020
12	KCP12	Osrednjeslovenska	2020
13	KCP13	Osrednjeslovenska	2020
14	KCP14	Osrednjeslovenska	2020
15	KCP15	Gorenjska	2020
16	KCP16	Savinjska	2020
17	KCP17	Osrednjeslovenska	2020
18	KCP18	Osrednjeslovenska	2020
19	KCP19	Osrednjeslovenska	2020
20	KCP20	Osrednjeslovenska	2020

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 krogličnega homogenizatorja.

3.2 ANALIZE CVETNEGA PRAHU

3.2.1 Določanje botaničnega porekla (von der Ohe in sod., 2004)

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.

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*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli* in *C. jejuni*.

Vzorce 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 µL vzorca prenašali v 50 µL gojišča. Tako smo pripravili dvakratne redčitve vzorca. V vsako posamezno luknjico smo po tem dodali po 50 µL 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 fenolne spojine 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 ustrezni zatehti cvetnega prahu dodali ekstrakcijsko topilo v razmerju 1 : 3 (masa cv. prahu (g) : volumen ekstr. topila (mL)). Ekstrakcija je potekala 6,5 ur na stresalniku v temi pri sobni temperaturi z vmesnim tretiranjem v ultrazvočni kopeli. Po ekstrakciji smo vzorce filtrirali in filtrat centrifugirali 10 min pri 4000 obr/min. Za vsak vzorec smo opravili ekstrakcijo v najmanj v treh ponovitvah in tako pridobili za vsak vzorec cvetnega prahu najmanj tri izvlečke. Ponovljivost ekstrakcije fenolnih spojin je bila v okviru 5 %.

Skupne fenolne spojine smo določili v vsakem posameznem izvlečku po Folin-Ciocalteu metodi, ki jo je opisal Gutfinger (1981). V reakciji Folin-Ciocalteu reagenta s fenolnimi spojinami nastane modro obarvan kompleks, ki smo ga določili spektrofotometrično z merjenjem absorbance pri valovni dolžini 765 nm. Analizo smo za vsak izvleček opravili v najmanj v treh ponovitvah. Napaka določitve je manj kot 3 %. Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih cvetnega prahu smo izrazili v ekvivalentih galne kisline kot mg galne kisline (GK) na gram cvetnega prahu ($\text{mg}_{\text{GK}}/\text{g}$). Rezultati za vsebnost fenolnih spojin 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).

Vzorce cvetnega prahu smo sušili 24 h na 60 °C in jih nato v ahatni terilnici strli v fin prah. S hidravlično stiskalnico in modelom za tablete smo iz fino mletga, 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 1: Priprava vzorcev za določanje elementne sestave cvetnega prahu.

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).

3.3 REZULTATI






3.3.1 Botanično poreklo cvetnega prahu osmukanca

Vzorci cvetnega prahu osmukanca smo pred izvedbo analiz razvrstili po barvi cvetnega prahu, ki je bila najbolj zastopana v mešanici vzorca in določili botanično poreklo. Seznam vzorcev z določeno botanično vrsto cvetnega prahu je prikazan v preglednici 4.

Preglednica 4: Vzorci cvetnega prahu osmukanca z določenim botaničnim poreklom

Številka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	Barva cvetnega prahu
KCP1	Bršljan (<i>Hedera helix</i>)	
KCP2	Oljna ogrščica (<i>Brassica napus</i>)	
KCP3	Javor (<i>Acer</i> spp.)	
KCP4	Regrat (<i>Taraxacum</i> spp.)	
KCP5	Javor (<i>Acer</i> spp.)	
KCP6	Regrat (<i>Taraxacum</i> spp.)	

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
 DELNO POROČILO ZA LETO 2020

KCP7	Javor (<i>Acer</i> spp.)	
KCP8	Regrat (<i>Taraxacum</i> spp.)	
KCP9	Iglavci (<i>Picea</i> spp., <i>Pinus</i> spp., <i>Abies</i> spp.)	
KCP10	Regrat (<i>Taraxacum</i> spp.)	
KCP11	Javor (<i>Acer</i> spp.)	
KCP12	Njivsko grebljišče (Dipsacaceae)	
KCP13	Javor (<i>Acer</i> spp.)	
KCP14	Javor (<i>Acer</i> spp.)	

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
 DELNO POROČILO ZA LETO 2020

KCP15	Regrat (<i>Taraxacum</i> spp.)	
KCP16	Navadna ajda in detelja (<i>Fagopyrum esculentum</i> , <i>Trifolium</i> spp.)	
KCP17	Pravi kostanj (<i>Castanea sativa</i>)	
KCP18	Sadno drevje in javor (<i>Prunus</i> spp., <i>Pyrus</i> spp., <i>Malus</i> spp., <i>Acer</i> spp.)	
KCP19	Trpotec (<i>Plantago</i> spp.)	
KCP20	Javor (<i>Acer</i> spp.)	

3.3.2 Protimikrobna aktivnost v izvlečkih cvetnega prahu osmukanca

Protimikrobna aktivnost je določena pri 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.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Preglednica 5: Protimikrobna aktivnost posameznih analiziranih vrst izvlečkov cvetnega prahu osmukanca

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	bršljan	3,12	12,5	12,5	50,0
KCP2	oljna ogrščica	25,0	12,5	> 50,0	1,56
KCP3	javor	25,0	> 50,0	> 50,0	50,0
KCP4	regrat	12,5	25,0	> 50,0	25,0
KCP5	javor	12,5	25,0	> 50,0	25,0
KCP6	regrat	6,25	12,5	50,0	50,0
KCP7	javor	6,25	25,0	50,0	25,0
KCP8	regrat	12,5	12,5	25,0	25,0
KCP9	iglavci	25,0	50,0	50,0	25,0
KCP10	regrat	25,0	12,5	> 50,0	50,0
KCP11	javor	25,0	12,5	> 50,0	25,0
KCP12	njivsko grebljišče	12,5	25,0	> 50,0	25,0
KCP13	javor	12,5	50,0	> 50,0	25,0
KCP14	javor	25,0	50,0	> 50,0	50,0
KCP15	regrat	12,5	6,25	> 50,0	50,0
KCP16	navadna ajda, detelja	25,0	25,0	50,0	50,0
KCP17	pravi kostanj	50,0	25,0	> 50,0	50,0
KCP18	sadno drevje in javor	12,5	12,5	50,0	25,0
KCP19	trpotec	12,5	6,25	50,0	12,5
KCP20	javor	12,5	6,25	> 50,0	25,0

Ugotovili smo, da ima najboljšo protimikrobno aktivnost proti *S. aureus* in *L. monocytogenes* izvleček vzorca cvetnega prahu bršljana (KCP1), saj je bila v tem vzorcu minimalna inhibitorna koncentracija (MIK) najnižja med vsemi analiziranimi vzorci. Najboljšo protimikrobno aktivnost proti *C. jejuni* pa smo določili v izvlečku vzorca cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP2). Najboljšo protimikrobno aktivnost proti *E. coli* so izkazovali izvlečki vzorcev cvetnega prahu regrata (KCP15), trpotca (KCP19) in en izvleček vzorca cvetnega prahu javorja (KCP20) (preglednica 5). V primeru izvlečkov vzorcev cvetnega prahu javorja in regrata, kjer je bilo število pridobljenih vzorcev večje, v povprečju nekoliko boljše protimikrobno aktivnost proti *E. coli* in *L. monocytogenes* ugotavljamo pri izvlečkih vzorcev cvetnega prahu regrata (preglednica 6).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Preglednica 6: Protimikrobna aktivnost izvlečkov cvetnega prahu osmukanca javorja in regrata

Botanično poreklo	N		MIK (mg/mL)			
			<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Campylobacter jejuni</i>
Javor	7	MIN	6,25	6,25	> 50,0	25,0
		MAKS	25,0	50,0	> 50,0	50,0
		povprečje	17,7	28,75	> 50,0	33,3
		S.D.	7,58	18,4	/	11,8
Regrat	5	MIN	6,25	6,25	25,0	25,0
		MAKS	25,0	25,0	50,0	50,0
		povprečje	13,75	13,75	37,5	40,0
		S.D.	6,12	6,12	12,5	12,3

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

3.3.3 Antioksidativna učinkovitost (AU) cvetnega prahu osmukanca

Preglednica 7: Vsebnost skupnih fenolnih spojin v vzorcih cvetnega prahu, izražena kot mg galne kisline na gram cvetnega prahu (mg_{GK}/g) in AU izvlečkov, izražena kot koncentracija fenolnih spojin v reakcijski zmesi, ki za 50 % zniža začetno vsebnost radikala DPPH• (EC₅₀)

Oznaka vzorca	Botanično poreklo cvetnega prahu	Vsebnost skupnih fenolov		EC ₅₀	
		mg _{GK} /g		mg/L reakc. zm.	
		povprečje	SD ±	povprečje	SD ±
KCP1	bršljan	7,8	0,4	17,4	1,1
KCP2	oljna ogrščica	15,3	0,2	5,4	0,2
KCP3	javor	9,6	0,2	12,0	0,2
KCP4	regrat	9,6	0,0	78,9	1,3
KCP5	javor	11,9	0,3	10,5	0,3
KCP6	regrat	9,5	0,6	42,4	2,8
KCP7	javor	10,9	0,7	12,0	1,1
KCP8	regrat	9,3	0,2	39,8	0,4
KCP9	iglavci	2,5	0,2	40,9	2,9
KCP10	regrat	8,8	0,1	58,2	1,5
KCP11	javor	11,3	0,2	12,7	0,3
KCP12	njivsko grebljišče	2,5	0,2	28,4	2,2
KCP13	javor	9,9	0,1	9,2	0,2
KCP14	javor	11,6	0,4	16,1	0,8
KCP15	regrat	9,7	0,4	50,6	4,0
KCP16	navadna ajda, detelja	3,8	0,6	20,7	3,0
KCP17	pravi kostanj	17,3	0,3	6,2	0,3
KCP18	sadno drevje in javor	10,9	0,2	16,2	0,8
KCP19	trpotec	7,9	0,2	24,6	0,6
KCP20	javor	9,6	0,3	10,0	0,5

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

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Med vzorci cvetnega prahu osmukanca so opazne razlike v vsebnosti fenolnih spojin in v AU. Najvišjo AU ima vzorec cvetnega prahu oljne ogrščice (KCP2), ki vsebuje tudi veliko skupnih fenolnih spojin (15,3 mg_{GK}/g). Na dobro AU kaže tudi vzorec cvetnega prahu pravega kostanja (KCP17), ki ima največjo vsebnost skupnih fenolnih spojin med vsemi analiziranimi vzorci (17,3 mg_{GK}/g). Najslabšo AU učinkovitost kažejo vzorci cvetnega prahu regrata in vzorec cvetnega prahu iglavcev. Vzorca cvetnega prahu iglavcev in njivskega grabljišča imata tudi najmanjšo vsebnost skupnih fenolnih spojin (2,5 mg_{GK}/g) (preglednica 7).

Preglednica 8: Antioksidativna učinkovitost cvetnega prahu osmukanca javorja in regrata

Botanično poreklo	N		Vsebnost skupnih fenolov mg _{GK} /g	EC ₅₀ mg/L reakc. zm.
Javor	7	MIN	9,6	9,2
		MAKS	11,9	16,1
		povprečje	10,7	11,8
		S.D.	0,9	2,1
Regrat	5	MIN	8,8	39,8
		MAKS	9,7	78,9
		povprečje	9,4	54,0
		S.D.	0,3	14,0

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

Vzorci cvetnega prahu javorja in regrata imajo v povprečju podobno vsebnost skupnih fenolnih spojin (10,7 mg_{GK}/g; 9,4 mg_{GK}/g), vendar se občutno razlikujejo v AU, saj je v povprečju AU cvetnega prahu regrata (54,0 mg/L reakc. zm.) veliko slabša v primerjavi z AU cvetnega prahu javorja (11,8 mg/L reakc. zm.) (preglednica 8).

3.3.4 Elementna sestava cvetnega prahu osmukanca

Cvetni prah osmukanec je vir nekaterih elementov, ki so potrebni za normalno delovanje človeškega organizma. V preglednici 9 so predstavljeni rezultati vsebnosti makroelementov (K, P, S Ca, Cl) v preglednici 11 pa rezultati vsebnosti mikroelementov (Fe, Mn, Zn, Rb, Br, Sr, Cu in Ti) v cvetnem prahu osmukancu različnega botaničnega porekla. Preglednici 10 in 12 opredeljujeta razlike v vsebnosti makro in mikroelementov med vzorci cvetnega prahu javorja in regrata (N > 1).

Največ K vsebuje vzorec mešanega cvetnega prahu navadne ajde in detelje (10,5 mg/g), največ P smo določili v vzorcu cvetnega prahu njivskega grabljišča (6,44 mg/g). Z S je najbolj bogat cvetni prah oljne ogrščice (2,70 mg/g). Največ Ca smo določili v cvetnem prahu pravega kostanja (2,33 mg/g) in mešanem cvetnem prahu navadne ajde in detelje (2,44 mg/g). Največjo vsebnost Cl pa so vsebovali vzorci cvetnega prahu regrata (1,25–1,67 mg/g).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

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

Številka vzorca	N	Botanično poreklo	K (mg/g)	P (mg/g)	S (mg/g)	Ca (mg/g)	Cl (mg/g)
KCP3	7	javor	6,65	6,05	2,50	1,14	0,45
KCP5			6,70	4,82	2,00	1,11	0,37
KCP7			7,21	5,80	2,16	1,10	0,40
KCP11			6,53	4,68	2,09	1,22	0,22
KCP13			6,82	5,15	2,07	1,10	0,48
KCP14			5,29	3,53	1,54	1,84	0,30
KCP20			7,03	5,38	2,23	1,06	0,46
KCP4	5	regrat	1,92	1,28	1,07	1,12	1,28
KCP6			2,58	1,93	1,36	1,12	1,51
KCP8			3,53	2,52	1,45	1,06	1,35
KCP10			2,96	1,99	1,43	1,01	1,55
KCP15			2,55	2,24	1,58	1,08	1,67
KCP1	1	bršljan	5,14	3,59	1,77	1,34	0,47
KCP2	1	oljna ogrščica	5,52	5,09	2,70	1,98	0,20
KCP9	1	iglavci	4,13	1,04	0,49	0,24	0,42
KCP12	1	njivsko grabljišče	9,83	6,44	1,13	0,80	0,69
KCP17	1	pravi kostanj	5,37	3,67	1,74	2,33	0,23
KCP16	1	navadna ajda, detelja	10,5	7,51	1,19	2,44	0,26
KCP18	1	sadno drevje, javor	6,87	5,19	2,02	1,15	0,46
KCP19	1	trpotec	6,34	3,82	1,64	1,26	1,02

Preglednica 10: Vsebnost makroelementov v cvetnem prahu osmukancu javorja in regrata

Botanično poreklo	N		K (mg/g)	P (mg/g)	S (mg/g)	Ca (mg/g)	Cl (mg/g)
Javor	7	MIN	5,29	3,53	1,54	1,06	0,22
		MAKS	7,21	6,05	2,50	1,84	0,48
		povprečje	6,60	5,06	2,08	1,22	0,38
		S.D.	0,58	0,77	0,27	0,26	0,09
Regrat	5	MIN	1,92	1,28	1,07	1,01	1,28
		MAKS	3,53	2,52	1,58	1,12	1,67
		povprečje	2,71	1,99	1,38	1,08	1,47
		S.D.	0,53	0,41	0,17	0,04	0,14

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

V povprečju cvetni prah javorja vsebuje več K, P, S in Ca v primerjavi s cvetnim prahom regrata. Ima pa manjšo vsebnost Cl (preglednica 10). Pridobljeni rezultati o vsebnosti K, P, S, Ca in Cl za cvetni prah pravega kostanja, oljne ogrščice, bršljana in trpotca so primerljivi z rezultati objavljenimi v doktorski disertaciji Nataše Lilek (Lilek, 2020) za cvetni prah osmukanec, pridobljen med leti 2014–2015.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

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 cvetnem prahu pravega kostanja (168 µg/g) (preglednica 11), veliko vsebnost Fe vsebuje tudi cvetni prah javorja (123–165 µg/g) (preglednica 11 in 12). Vsebnost Mn je bila največja v vzorcih cvetnega prahu pravega kostanja (128 µg/g) in mešanici cvetnega prahu navadne ajde in detelje (157 µg/g) (preglednica 11) ter v cvetnem prahu javorja (v povprečju 70,6 µg/g) (preglednica 12). Mešan cvetni prah navadne ajde in detelje vsebuje največ Rb (71,9 µg/g). Cvetni prah regrata, trpotca in njivskega grabljišča vsebuje največ Br (preglednica 11). Največjo vsebnost Sr smo določili v vzorcu cvetnega prahu pravega kostanja (2,31 µg/g). Največ Cu je vseboval vzorec cvetnega prahu bršljana (21,2 µg/g) (preglednica 11), v primerjavi z drugimi vrstami cvetnega prahu v povprečju pa veliko Cu vsebujejo tudi vzorci cvetnega prahu javorja (17,8 µg/g) (preglednica 12).

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)	Cu (µg/g)	Ti (µg/g)
KCP3	7	javor	125	43,3	43,8	14,3	0,77	0,59	18,2	5,50
KCP5			142	37,5	47,8	22,1	0,79	0,24	22,0	3,61
KCP7			136	50,4	50,2	12,9	1,02	0,52	20,7	1,29
KCP11			123	39,2	60,9	24,9	0,54	0,25	17,7	3,89
KCP13			162	49,7	42,1	14,8	1,26	0,65	18,2	2,43
KCP14			165	221	40,5	15,1	1,44	0,90	10,7	5,44
KCP20			135	53,4	40,5	12,8	1,23	0,73	16,8	1,66
KCP4	5	regrat	86,3	13,9	24,5	19,7	6,72	0,67	9,63	2,88
KCP6			84,3	13,0	22,7	10,8	4,09	0,41	11,4	2,70
KCP8			85,5	20,0	32,1	15,3	19,6	0,21	13,7	2,50
KCP10			73,9	12,8	18,5	18,9	3,77	0,20	9,32	3,38
KCP15			78,2	11,3	20,6	11,2	3,13	0,36	9,61	10,1
KCP1	1	bršljan	102	49,2	56,6	6,67	1,21	1,73	21,2	1,60
KCP2	1	oljna ogrščica	128	25,7	35,4	6,73	0,48	1,39	11,0	3,77
KCP9	1	iglavci	66,9	57,4	26,2	21,5	2,12	0,35	5,21	3,20
KCP12	1	njivsko grebljišče	115	21,2	40,1	56,2	7,83	0,35	13,1	9,18
KCP17	1	pravi kostanj	168	128	54,7	29,6	1,36	2,09	14,1	5,90
KCP16	1	navadna ajda, detelja	121	157	25,6	71,9	0,58	2,31	9,71	1,12
KCP18	1	sadno drevje, javor	110	37,4	59,4	26,7	1,10	0,26	15,9	1,76
KCP19	1	trpotec	92,9	34,7	34,2	28,8	11,5	0,76	12,7	1,87

V primerjavi z rezultati analiz o vsebnosti mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu pravega kostanja, oljne ogrščice, navadne ajde, bršljana in trpotca, ki jih navaja Lilek (2020), beležimo nekoliko višje vrednosti posameznih mikroelementov v cvetnem prahu, kar je lahko posledica botaničnega porekla cvetnega prahu in deleža zastopanosti določene vrste cvetnega prahu v samem vzorcu.

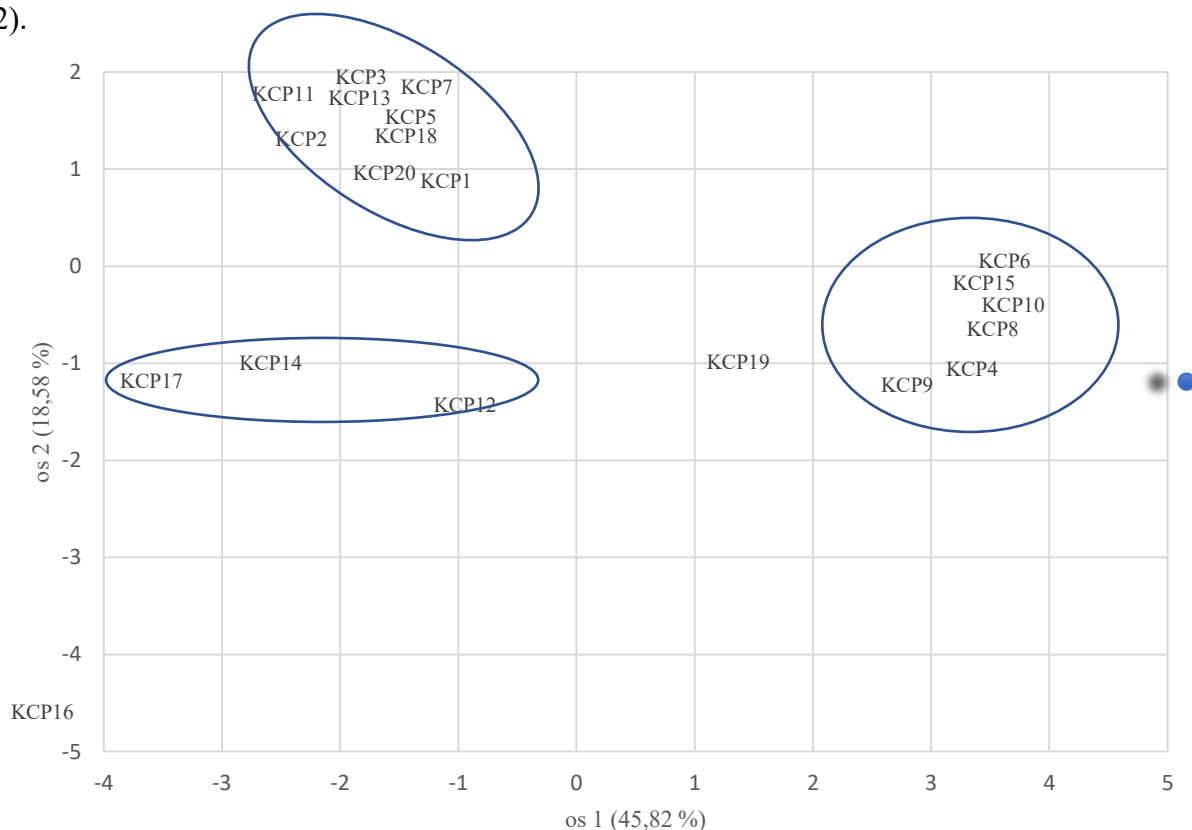
APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Preglednica 12: Vsebnost mikroelementov v cvetnem prahu osmukancu javorja in regrata

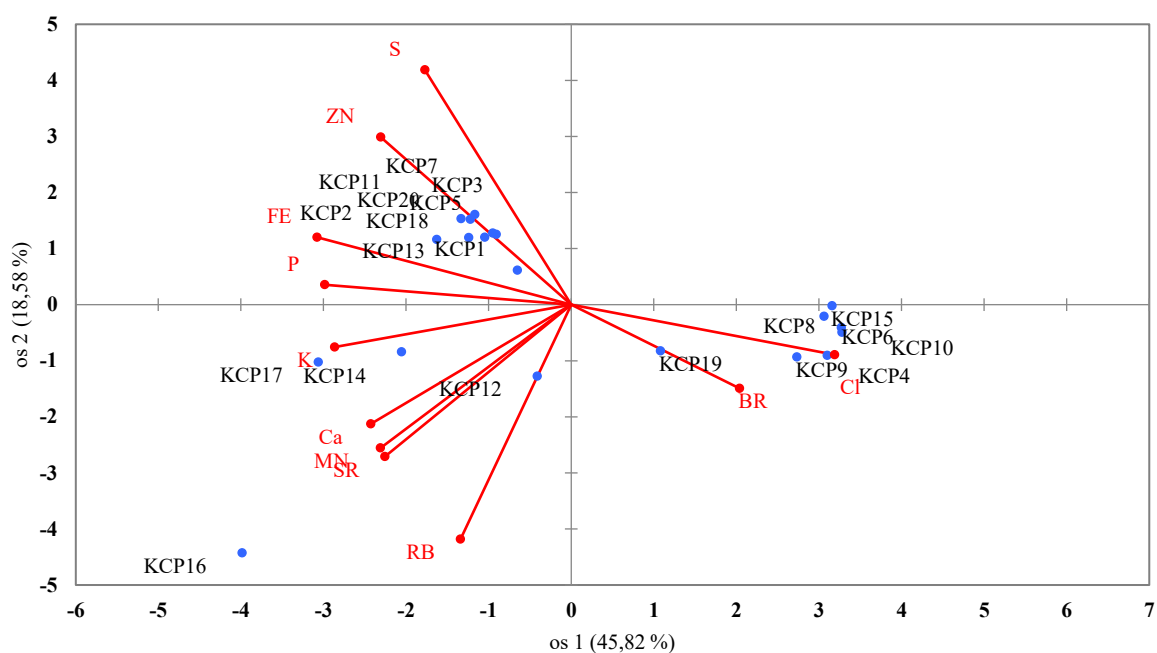
Botanično o poreklo	N		Fe (µg/g)	Mn (µg/g)	Zn (µg/g)	Rb (µg/g)	Br (µg/g)	Sr (µg/g)	Cu (µg/g)	Ti (µg/g)
Javor	7	MIN	123	37,5	40,5	12,8	0,54	0,24	10,7	1,29
		MAKS	165	221	60,9	24,9	1,44	0,90	22,0	5,50
		povprečje	141	70,6	46,5	16,7	1,01	0,55	17,8	3,40
		S.D.	15,4	61,6	6,78	4,44	0,30	0,22	3,33	1,57
Regrat	5	MIN	73,9	11,3	18,5	10,8	3,13	0,20	9,32	2,50
		MAKS	86,3	20,0	32,1	19,7	19,6	0,67	13,7	10,1
		povprečje	81,6	14,2	23,7	15,2	7,46	0,37	10,7	4,31
		S.D.	4,80	3,02	4,67	3,72	6,19	0,17	1,66	2,91

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

Rezultate analiz elemente sestave smo modelirali z multivariatno statistično metodo glavnih osi PCA. Z uporabo metode PCA smo s prvo osjo pojasnili 45,82 %, z drugo pa 18,58 % variabilnosti podatkov, kar skupaj predstavlja 64,40 % variabilnosti osnovnih podatkov (slika 2).



Slika 2: Porazdelitev analiziranih vzorcev cvetnega prahu osmukanca z uporabo metode PCA



Slika 3: Porazdelitev in povezava vektorjev elementov glede na botanično poreklo cvetnega prahu osmukanca

V zgornjem levem kvadrantu so razporejeni vzorci cvetnega prahu javorja, oljne ogrščice, mešanice sadnega drevja in javorja ter bršljana (slika 2). Predvsem cvetni prah javorja in bršljana v primerjavi z drugimi vzorci vsebuje veliko vsebnost Zn. Cvetni prah oljne ogrščice javorja in mešanice sadnega drevja in javorja pa veliko vsebnost S (slika 3). V desnem spodnjem kvadrantu so razporejeni vzorci cvetnega prahu iglavcev, trpotca in regrata (slika 2), za katere v literaturi zasledimo, da gre za cvetni prah, ki v prehrani čebel ni najbolj kakovosten. Za cvetni prah regrata in trpotca je značilna večja vsebnost Cl in Br v primerjavi z drugimi vzorci (slika 3). V levem spodnjem kvadrantu pa se nahajajo vzorci cvetnega prahu pravega kostanja, mešanice ajde in detelje ter njivskega grabljišča (slika 2). Cvetni prah pravega kostanja in mešanice ajde in detelje vsebuje v primerjavi z ostalimi vzorci več Ca, cvetni prah njivskega grabljišča in mešanice cvetnega prahu ajde in detelje pa več K. Cvetni prah pravega kostanja ter mešanice navadne ajde z deteljo je bogat tudi z Mn (slika 3).

3.3.5 Senzorična analiza cvetnega prahu osmukanca

Z metodo kvantitativne opisne senzorične analize smo ovrednotili 20 vzorcev cvetnega prahu različnega botaničnega prekla. Število vzorcev posamezne vrste je razvidno iz preglednice 4.

Vzorci cvetnega prahu smo pred pričetkom senzorične analize razdelili v skupine glede na botanični izvor cvetnega prahu. Barva cvetnega prahu se razlikuje med različnimi vrstami

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

cvetnega prahu, razlike v barvi so opazne tudi znotraj posamezne vrste v primeru cvetnega prahu javorja, kjer je število vzorcev večje (preglednica 13, slika 4).

Preglednica 13: Barva vzorcev cvetnega prahu

Oznaka vzorca	Vrsta cvetnega prahu	Barva
KCP3	javor (N = 7)	svetlo rjava
KCP5		sivo rumeno-zelena
KCP7		svetlo rjava z zelenim odtenkom
KCP11		svetlo zeleno-rjava
KCP13		svetlo rjava
KCP14		sivo rjava
KCP20		svetlo rjava
KCP4	regrat (N = 5)	oranžno-rdeča
KCP6		oranžna
KCP8		oranžna
KCP10		oranžna
KCP15		oranžna
KCP17	pravi kostanj (N = 1)	rumeno-rjava
KCP9	iglavci (N = 1)	rumena
KCP2	oljna ogrščica (N = 1)	rumeno-zelena
KCP1	bršljan (N = 1)	svetlo oranžna
KCP16	navadnaajda, detelja (N = 1)	olivno zelena
KCP19	trpotec (N = 1)	svetlo rjava (bež)
KCP12	njivsko grabljišče (N = 1)	temno rdeča
KCP18	sadno drevje, javor (N = 1)	zeleno-rjava



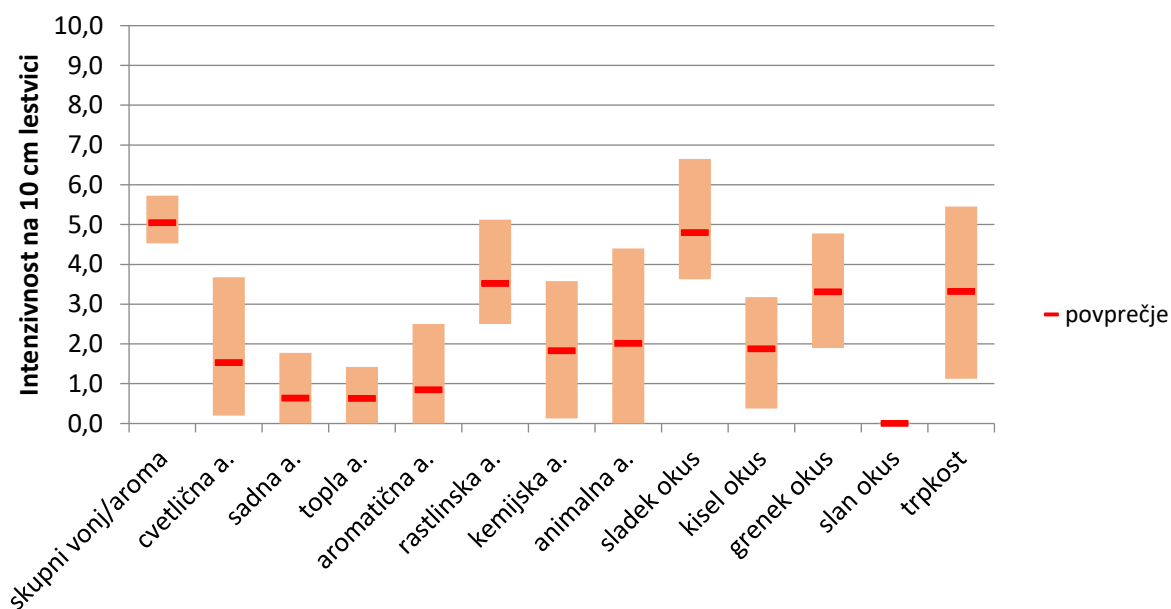
Slika 4: Barvna pestrost cvetnega prahu osmukanca (vzorci KCP1–KCP20)

V preglednici 14 so podani rezultati kvantitativne opisne analize za analizirane vzorce cvetnega prahu. Intenzivnost vonja in arome ter posameznih parametrov arome, štirih okusov in trigeminalne zaznave trpkosti smo vrednotili na 10 centimetrski lestvici. Vrednosti so podane kot povprečje ocen štirih preskuševalcev. V povprečni intenzivnosti vonja in arome ocenjenih vzorcev ni bilo značilnih razlik, vrednosti so znašale od 4,0 do 6,1. Pričakovano so se vzorci očitneje razlikovali v prisotnosti in intenzivnosti posameznih parametrov arome, npr. sadna aroma. Med okusi je bil najbolj intenzivno zaznaven sladek okus, pri posameznih vzorcih tudi kisel in grenek. Slanega okusa v analiziranih vzorcih cvetnega prahu nismo zaznali. Posamezni vzorci so bili tudi izraziteje trpki, med njimi dva vzorca cvetnega prahu javorja, medtem ko je

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV DELNO POROČILO ZA LETO 2020

bila v drugih vzorcih trpkost šibkejša ali komaj zaznavna, v vzorcu cvetnega prahu iglavcev pa nezaznavna.

Rezultati opisne senzorične analize vzorcev cvetnega prahu posameznih vrst predstavljajo prve tovrstne podatke v Sloveniji. Zaradi raznovrstnosti vzorcev cvetnega prahu in majhnega števila vzorcev, z izjemo vzorcev cvetnega prahu javorja, iz rezultatov še ne moremo poročati o senzoričnih profilih. Na osnovi rezultatov analize sedmih vzorcev smo z uporabo kvantitativne opisne analize za profiliranje arome pripravili predlog profila vonja in arome cvetnega prahu javorja. Predlagani profil temelji na ovrednotenju intenzivnosti vonja in arome cvetnega prahu javorja glede na sedem glavnih skupin vonjev in arome. Na sliki 5 so prikazana območja intenzivnosti skupnega vonja/arome, opisnikov glavnih skupin arome, štirih osnovnih okusov in trpkosti. Te rezultate bomo v nadaljevanju aplikativne raziskave še preverili in potrdili, saj je profil izdelan na osnovi senzorične analize zgolj sedmih vzorcev.



Slika 5: Senzorični profil cvetnega prahu javorja

V primeru, da bo število vzorcev določenih vrst cvetnega prahu v prihodnjih letih zadostno, bomo pripravili tudi senzorične profile ostalih vrst cvetnega prahu osmukanca.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

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	
Javor (N = 7)	KCP3	5,7	0,7	0,1	1,4	1,2	5,1	2,5	0,0	4,5	3,1	3,6	0,0	1,9
	KCP5	4,9	0,4	0,0	0,0	1,2	3,4	2,7	4,4	3,6	2,3	3,2	0,0	3,4
	KCP7	4,5	2,2	0,9	0,6	0,1	3,3	3,6	2,1	4,2	3,2	3,5	0,0	5,5
	KCP11	4,5	1,5	0,0	0,6	0,7	2,5	1,4	3,2	5,1	1,5	1,9	0,0	1,1
	KCP13	5,3	3,7	1,8	0,0	2,5	2,7	1,1	0,1	6,7	0,4	3,1	0,0	2,3
	KCP14	5,4	0,2	1,3	1,3	0,0	2,8	1,4	4,3	4,2	1,7	3,2	0,0	4,2
	KCP20	5,1	2,2	0,5	0,6	0,4	4,8	0,1	0,1	5,4	1,1	4,8	0,0	4,9
Regrat (N = 5)	KCP4	5,7	0,0	4,4	0,7	1,9	0,7	1,0	0,0	4,7	4,7	1,0	0,0	1,3
	KCP6	4,4	2,3	0,2	0,4	0,9	1,8	2,2	1,0	4,6	1,4	1,4	0,0	2,4
	KCP8	4,9	2,3	0,1	2,7	0,5	2,4	2,4	1,6	4,1	1,1	1,4	0,0	2,2
	KCP10	4,7	1,7	2,3	0,7	1,1	1,8	1,7	0,4	4,0	2,4	0,9	0,0	1,7
	KCP15	5,0	0,6	0,0	0,7	0,3	2,3	3,3	0,8	4,5	0,9	2,4	0,0	3,1
Pravi kostanj (N = 1)	KCP17	5,1	1,1	0,0	1,7	1,6	2,4	3,2	0,7	3,6	0,4	4,9	0,0	2,8
Iglavci (N = 1)	KCP9	4,0	0,0	0,0	2,2	3,1	1,9	1,1	0,3	3,9	0,8	0,3	0,0	0,0
Oljna ogrščica (N = 1)	KCP2	4,9	0,8	0,0	0,6	0,0	2,2	2,8	1,8	3,1	4,6	1,9	0,0	1,3
Bršljan (N = 1)	KCP1	4,3	2,3	0,3	1,5	1,6	2,2	2,7	0,3	5,0	0,9	0,9	0,0	1,0
Ajda, detelja (N= 1)	KCP16	6,1	0,0	0,0	0,6	0,0	3,8	2,7	4,6	3,1	1,8	2,6	0,0	2,1
Trpotec (N = 1)	KCP19	5,2	0,2	0,0	0,4	1,1	4,0	2,4	1,8	2,9	4,0	3,7	0,0	1,2
Njivsko grabljišče (N = 1)	KCP12	5,1	0,8	0,0	0,9	0,2	3,0	3,9	1,6	4,0	0,7	3,7	0,0	4,1
Sadno drevje, javor (N = 1)	KCP18	5,5	0,6	0,0	0,7	0,5	2,4	2,9	1,4	3,1	5,1	2,4	0,0	3,7

4 ZAKLJUČEK

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

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

Protimikrobna učinkovitost cvetnega prahu osmukanca je v zadnjem času predmet 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. Na podlagi naših raziskav ugotavljamo dobro protimikrobno učinkovitost izvlečkov cvetnega prahu bršljana proti *S. aureus* in izvlečkov cvetnega prahu oljne ogrščice proti *C. jejuni*.

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 postreglo z možnostmi načrtovanega pridobivanja določenih botaničnih vrst s pomočjo prebiranja cvetnega prahu. Ugotavljamo, da cvetni prah osmukanec pravega kostanja in oljne ogrščice kaže dobro AU, vendar bo analize potrebno opraviti na večjem številu vzorcev.

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 z določenimi potrebami

po posameznem elementu. Raziskava bo v nadaljnjih letih z večjim številom podatkov postregla s konkretnjšimi zaključki o protimikrobni in antioksidativni učinkovitosti ter elementni sestavi cvetnega prahu različnega botaničnega porekla.

5 VIRI

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): 3774–79

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): 159–60

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

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 technological properties of bee pollen collected in Serbia. *LWT- Food Science and Technology*, 62, 1: 301–309

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

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.

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

Mavri A., Abramovič H., Polak T., Bertonselj J., Jamnik P., Smole Možina S., Jeršek B. 2012. Chemical Properties and Antioxidant and Antimicrobial Activities of Slovenian Propolis. *Chemistry & Biodiversity* 9 (8): 1545–58

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

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

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

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

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

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

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

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

Szczęsna 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

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

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

6 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,... 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 (Božnar, 2011).

O svetovni proizvodnji matičnega mlečka ni uradnih podatkov, vendar strokovnjaki ocenjujejo, da približno 60 % svetovne proizvodnje, to je okrog 2000 ton, proizvede Kitajska (Sabatini in sod., 2009), več ga proizvedejo tudi Japonska, Koreja 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 potvorjenosti 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, maščobnokislinska sestava matičnega mlečka slovenskega porekla. Obstoječa raziskava bo zbirko podatkov dopolnila tudi z antioksidativno učinkovitostjo.

6.1 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 dojlje. 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).

6.2 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 matični mleček pri temperaturi 15 °C rumen, zaradi prisotnosti albumina, ki nastane med sušenjem (Popescu in sod., 2008).

6.2.1 Senzorične značilnosti svežega matičnega mlečka

Barva: od umazano bele do belo rumene.



Slika 6: Barva matičnega mlečka

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).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

6.3 SESTAVA MATIČNEGA MLEČKA

Sestava matičnega mlečka je dokaj kompleksna. Sestavljajo ga voda, maščobe, beljakovine, sladkorji, aminokisliline, 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 15: Sestava svežega in liofiliziranega matičnega mlečka (Sabatini in sod., 2009; ISO, 2016)

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

Sestava je odvisna od sezonskih in okoljskih dejavnikov (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). Na vsebnost sladkorjev vpliva med drugim čas pridelave (Ramadan in Al-Ghamdi, 2012). Sicer v sestavi matičnega mlečka različnega geografskega porekla niso ugotovili značilnih razlik. Do razlik 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).

6.3.1 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 higroskopsnosti 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, s časom se spreminja. 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 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).

6.3.2 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 (Bärnuþiu 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 čebele matice, saj vključujejo številne esencialne aminokislino (Schmitzova in sod., 1998). Čebele izločajo na stotine proteinov, predvsem iz krmilnih in mandibularnih žlez ter žlez slinavk. Čebelja matica, ki je hranjena 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 (Bärnuþiu 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).

6.3.3 Vrednost pH in vsebnost kislin

Matični mleček ima nizko vrednost pH (od 3,6 do 4,2) (Šimúth in sod., 2003). V slovenskih vzorcih je vrednost pH variirala 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 in 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 bila 4,19, območje pa od 3,64 do 4,77 mL 0,1 M NaOH/g. Primerjava 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.

6.3.4 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 so vsebovali 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 sutrezal postavljenim kriterijem (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

6.3.5 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 slovenskih ga je 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) (Bărnăuțiu 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).

6.3.6 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 približno 8-19 g/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 razponu 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 mlečkav okviru projekta karakterizacija 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 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 potrdjenosti 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).

6.3.7 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 (Özök in sod., 2017), v maroškem, španskem in portugalskem pa od 300 do 890 mg_{GK}/100 g (El-

Guendouz in sod., 2020). 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. V desetih vzorcih slovenskega matičnega mlečka so določili od 31,0 do 41,0 mg skupnih fenolnih spojin, izraženih kot ekvivalent galne kisline/100 g, antioksidativna učinkovitost, določena z DPPH• metodo in izražena kot odstotek inhibicije, pa je bila od 18,3 do 29,9 % (Rak, 2018). Po DPPH• metodi ima turški matični mleček koncentracijo učinkovitosti (EC₅₀) v povprečju 113,5 mg/ml, maroški, portugalski in španski pa od 0,2 do 11,7 mg/mL (El-Guendouz in sod., 2020).

6.4 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 MATERIAL IN METODE

7.1 ZBIRANJE VZORCEV

V raziskavo smo vključili 20 vzorcev svežega matičnega mlečka iz petih statističnih regij Slovenije (preglednica 16).

Preglednica 16: Analizirani vzorci matičnega mlečka

Zap. št.	Številka vzorca	Statistična regija	Leto pridelave
1	K. MLEČEK 2020-1	Podravska	maj 2020
2	K. MLEČEK 2020-2	Podravska	maj 2020
3	K. MLEČEK 2020-3	Podravska	maj 2020
4	K. MLEČEK 2020-4	Podravska	maj 2020
5	K. MLEČEK 2020-5	Posavska	maj 2020
6	K. MLEČEK 2020-6	Gorenjska	maj 2020
7	K. MLEČEK 2020-7	Gorenjska	maj 2020
8	K. MLEČEK 2020-8	Osrednjeslovenska	maj 2020
9	K. MLEČEK 2020-9	Gorenjska	maj 2020
10	K. MLEČEK 2020-10	Savinjska	maj 2020
11	K. MLEČEK 2020-11	Osrednjeslovenska	maj 2020
12	K. MLEČEK 2020-12	Posavska	junij 2020
13	K. MLEČEK 2020-13	Gorenjska	julij 2020
14	K. MLEČEK 2020-14	Osrednjeslovenska	julij 2020
15	K. MLEČEK 2020-15	Osrednjeslovenska	julij 2020
16	K. MLEČEK 2020-16	Podravska	april 2020
17	K. MLEČEK 2020-17	Podravska	julij 2020
18	K. MLEČEK 2020-18	Podravska	julij 2020
19	K. MLEČEK 2020-19	Posavska	julij 2020
20	K. MLEČEK 2020-20	Osrednjeslovenska	julij 2020

Zastopanost vzorcev matičnega mlečka iz posamezne regije ni bila enakomerna, ker število proizvajalcev matičnega mlečka v Sloveniji med regijami ni primerljivo. Največ vzorcev je iz podravske regije (7), štirje (4) so iz gorenjske, pet (5) iz osrednjeslovenske, trije (3) iz posavske in en (1) vzorec iz savinjske regije, vsi so bili pridelani v letu 2020.

7.2 ANALIZE MATIČNEGA MLEČKA

7.2.1 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, cvetličen, kemijski, animalen, po žarkem), okus (sladko, kislo, 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).

7.2.2 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 referencami so opisani v nadaljevanju.

Določanje vsebnosti vode (Sesta in Lusco, 2008)

Princip metode temelji na refraktometričnem določanju in preračunu vsebnosti vode na osnovi odčitane lompne 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 36 mg/mL) in analizo 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.

7.2.3 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.)

8 REZULTATI Z RAZPRAVO

8.1 SENZORIČNA OCENA

Barva matičnega mlečka je svetla, lahko je belo rumena, blede rumena ali slonokoščena. Podobno za barvo matičnega mlečka navajajo tudi drugi avtorji. V dostopni literaturi nismo zasledili senzorične analize posameznih lastnosti matičnega mlečka. Z namenom izdelave senzoričnega profila matičnega mlečka smo uporabili metodo kvantitativne opisne analize, sestavili seznam opisnikov vonja in arome na osnovi mednarodno harmonizirane opisne metode za med in za vrednotenje njihove intenzivnosti uporabili 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 je bila za vzorce matičnega mlečka v povprečju srednje intenzivna, intenzivnost arome pa srednje do močno intenzivna. Pri parametrih arome najbolj izstopa kemijska (rezkost), z zaznano intenzivnostjo med 3 in 4. Topla aroma (po vosku) je v matičnem mlečku večinoma šibko izražena, animalna komaj zaznavna do šibko intenzivna. Aroma po cvetju je, odvisno od vzorca, nezaznavna do šibko intenzivna. Ker so bili vsi vzorci matičnega mlečka sveži, pričakovano ni bilo zaznati arome po žarkem. Okus matičnega mlečka je komaj zaznavno do šibko sladek ter srednje do močno kisel. Grenkega okusa nismo zaznali. Značilno lastnost matičnega mlečka je tudi astringenca, ki je bila srednje do močno intenzivna.

Občutek v ustih je bil pri 75 % vzorcev matičnega mlečka gladek, pri 5 vzorcih pa zrnat oz. drobno zrnat, kot je razvidno iz preglednice 17.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Preglednica 17: Rezultati senzorične analize vzorcev matičnega mlečka

Vzorec	Barva	Celokupna intenzivnost vonja	Celokupna intenzivnost arome	Aroma					Okus			Trigeminalna zaznava (zbadanje, astringenca)	Občutek v ustih
				topla (vosek)	cvetlična (cvetje)	kemijska (rezek)	animalna (hlev)	po žarkem	sladek	kisel	grenek		
K. MLEČEK 2020-1	belo rumena	3	3,5	1,5	0	3,5	2,5	0	1	4	0	3	gladek
K. MLEČEK 2020-2	belo rumena	3,5	3,5	2	0	3,5	1,5	0	1,5	4	0	3	zrnat
K. MLEČEK 2020-3	belo rumena	3	3	2	0	3	2	0	1,5	3,5	0	3	drobno zrnat
K. MLEČEK 2020-4	bledo rumena	3	4	1,5	0	4	1,5	0	1	4	0	4	gladek
K. MLEČEK 2020-5	belo rumena	3	3,5	2	0	3	2	0	1,5	3,5	0	3,5	gladek
K. MLEČEK 2020-6	bledo rumena	2	3	2,5	1	3	1,5	0	2	3	0	3	gladek
K. MLEČEK 2020-7	bledo rumena	2,5	3	2,5	1	3	1,5	0	2	3	0	3	gladek
K. MLEČEK 2020-8	bledo rumena	3	3,5	2	1,5	3,5	1,5	0	2	3	0	4	gladek
K. MLEČEK 2020-9	bledo rumena	3	3,5	2	0	3,5	1,5	0	1,5	4	0	3	gladek
K. MLEČEK 2020-10	bledo rumena	2,5	3,5	2	1,5	3,5	1,5	0	2	3	0	4	gladek
K. MLEČEK 2020-11	belo rumena	2	3	2,5	1	3	1,5	0	2	3	0	3	gladek
K. MLEČEK 2020-12	bledo rumena	3	3,5	3	2	3	1,5	0	2	3	0	3,5	gladek
K. MLEČEK 2020-13	bledo rumena	2,5	3,5	3	2	3	1,5	0	2	3	0	3	gladek
K. MLEČEK 2020-14	bledo rumena	3	3	2,5	2	3	1,5	0	2	3	0	3	gladek
K. MLEČEK 2020-15	bledo rumena	2	3	2,5	1,5	3	1,5	0	2	3	0	3	gladek
K. MLEČEK 2020-16	bledo rumena	3	3,5	2	1,5	3	1,5	0	2	3,5	0	3,5	gladek
K. MLEČEK 2020-17	slonokoščena	4	3,5	2	2	3	1,5	0	1,5	3,5	0	4	gladek
K. MLEČEK 2020-18	slonokoščena	3,5	3,5	3	2	3	1,5	0	2	3	0	3	zrnat
K. MLEČEK 2020-19	slonokoščena	3	3,5	2	1,5	3	1,5	0	2	3,5	0	3,5	zrnat
K. MLEČEK 2020-20	slonokoščena	3	3	2	1,5	3	1,5	0	2	3,5	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 2020

8.2 FIZIKALNO-KEMIJSKI PARAMETRI

V preglednici 18 so predstavljeni rezultati vsebnosti vode, beljakovin, kislost, vrednost pH, vsebnosti skupnih fenolnih spojin ter antioksidativne učinkovitosti.

Preglednica 18: Rezultati fizikalno-kemijskih analiz slovenskega matičnega mlečka

Oznaka vzorca	Parameter					
	Vsebnost vode (g/100 g)	Vsebnost beljakovin (g/100 g)	Vrednost pH	Kislost (mL 0,1 M NaOH/g)	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GK} /100 g)	AU (DPPH• -EC ₅₀) (mg/mL)
K. MLEČEK 2020-1	66,1	12,02	4,09	4,13	31,8	22,9
K. MLEČEK 2020-2	65,8	12,08	4,12	4,07	31,3	21,8
K. MLEČEK 2020-3	64,0	12,84	4,11	4,04	30,0	25,2
K. MLEČEK 2020-4	64,9	12,58	4,07	3,86	27,3	27,8
K. MLEČEK 2020-5	66,2	11,97	4,08	3,80	22,0	27,9
K. MLEČEK 2020-6	64,8	12,47	4,05	3,78	37,0	24,8
K. MLEČEK 2020-7	65,0	12,23	4,13	3,67	32,0	24,3
K. MLEČEK 2020-8	63,8	12,74	4,20	4,14	26,0	34,5
K. MLEČEK 2020-9	62,7	12,78	3,98	4,58	33,3	25,9
K. MLEČEK 2020-10	64,9	12,78	4,11	4,09	33,9	20,3
K. MLEČEK 2020-11	66,2	12,73	4,10	4,15	33,8	25,2
K. MLEČEK 2020-12	66,5	12,78	4,21	3,91	23,5	29,5
K. MLEČEK 2020-13	66,1	12,38	4,21	3,61	25,4	30,3
K. MLEČEK 2020-14	65,5	13,33	4,19	3,87	30,6	26,2
K. MLEČEK 2020-15	66,1	12,44	4,14	4,01	27,4	30,2
K. MLEČEK 2020-16	63,5	12,98	4,01	4,32	37,9	25,3
K. MLEČEK 2020-17	64,5	12,46	4,08	4,12	39,7	20,1
K. MLEČEK 2020-18	65,8	13,16	4,11	3,82	27,4	27,9
K. MLEČEK 2020-19	65,0	13,06	4,19	3,92	31,5	22,7
K. MLEČEK 2020-20	67,8	12,45	4,18	3,81	36,5	17,9
Povprečje	65,2	12,61	4,12	3,98	30,9	25,5
S.D.	1,2	0,37	0,06	0,23	4,9	4,0
MIN	62,7	11,97	3,98	3,61	22,0	17,9
MAKS	67,8	13,33	4,21	4,58	39,7	34,5

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 62,7 in 67,8 g/100 g, skoraj v obsegu, kar je podoben obseg, kot smo ga določili v pretekli raziskavi o matičnem mlečku (Kandolf Borovšak in sod., 2019),

in pomeni, da so vsi vzorci 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 11,97 do 13,33 g/100 g, s povprečno vrednostjo 12,61 g/100 g. 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). Rezultati vsebnosti beljakovin so znotraj območja, ki smo ga v matičnem mlečku določili v preteklem programskem obdobju (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Vrednosti pH se gibljejo od 3,98 do 4,21, v povprečju 4,12, povprečna kislost vzorcev slovenskega matičnega pa je bila 3,98 mL 0,1 M NaOH/g, v območju od 3,61 do 4,58 mL 0,1 M NaOH/g. 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 znašala od 22,0 do 39,7 mg_{GK}/100 g (preglednica 18). Rezultati so primerljivi z vrednostmi, ki jih za slovenski matični mleček navaja Rak (2018), ki je analizirala 10 vzorcev slovenskega matičnega mlečka in določila med 31 in 41 mg_{GK}/100 g mlečka. Nekolike manjše vsebnosti (9,1 do 30,1 mg_{GK}/100 g) navajajo Kolayli in sod. (2016), v drugih objavljenih študijah pa za matični mleček različnega geografskega porekla večinoma navajajo večje vsebnosti skupnih fenolnih spojin (Pavel in sod., 2014; Özkök in Silici, 2017; Adaškevičiūtė in sod., 2019; El-Guendouz in sod., 2020).

Koncentracija učinkovitosti matičnega mlečka, ki smo jo izrazili kot EC₅₀ (koncentracija antioksidanta, potrebna za 50 % zmanjšanje absorbance radikala DPPH•) je bila za obravnavane vzorce matičnega mlečka v območju od 17,9 do 34,5 mg/mL. Vzorci z večjo AU (nižja vrednost EC₅₀) imajo praviloma večjo vsebnost skupnih fenolnih spojin. Korelacija med vsebnostjo skupnih fenolnih spojin in AU je značilna ($p < 0,05$), koeficient korelacije znaša 0,74. Drugi avtorji za vrednost EC₅₀ navajajo zelo različne vrednosti, kar je verjetno posledica različnih modifikacij uporabljene DPPH• metode.

Če primerjamo bioaktivne lastnosti matičnega mlečka s cvetnim prahom osmukancem, ugotovimo, da vsebuje cvetni prah bistveno več skupnih fenolnih spojin in ima večjo antioksidativno učinkovitost. V primerjavi z medom pa je vsebnost skupnih fenolnih spojin v mlečku lahko večja ali manjša prav tako antioksidativna učinkovitost, odvisno od vrste medu.

9 ZAKLJUČEK

Rezultati analiziranih 20 vzorcev matičnega mlečka slovenskega porekla letnika 2020, kažejo da matični mleček v analiziranih parametrih ustreza vrednostim, ki jih predvideva ISO standard za matični mleček (ISO, 2016), podatkovno zbirko o slovenskem matičnem mlečku pa smo

dopolnili še z opisom senzoričnih lastnosti, vsebnostjo skupnih fenolnih spojin ter antioksidativno učinkovitostjo.

Za matični mleček je značilna svetla barva (belo do blede rumena ali slonokoščena). Intenzivnost vonja matičnega mlečka je v povprečju srednje intenzivna, intenzivnost arome pa srednje do močno intenzivna. Pri parametrih arome najbolj izstopa kemijska (rezkost), večinoma šibko izražena je topla aroma (po vosku). Okus matičnega mlečka je komaj zaznavno do šibko sladek ter srednje do močno kisel. Značilna lastnost matičnega mlečka je tudi astringenca, ki je srednje do močno intenzivna.

Vsebnost skupnih fenolnih spojin v slovenskih vzorcih matičnega mlečka je podobna vsebnosti v matičnem mlečku iz nekaterih drugih držav, nekateri tuji vzorci pa imajo tudi manjše in večje vsebnosti. Če primerjamo bioaktivne lastnosti matičnega mlečka s cvetnim prahom osmukancem, ugotovimo, da vsebuje cvetni prah bistveno več skupnih fenolnih spojin in ima večjo antioksidativno učinkovitost. V primerjavi z medom je vsebnost skupnih fenolnih spojin v mlečku lahko večja ali manjša prav tako antioksidativna učinkovitost, odvisno od vrste medu.

10 VIRI

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

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. Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo, doktorska disertacija

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, Čebelarstva 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
- 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
- Guo H., Kouzuma Y., Yonekura M. 2009. Structure and properties of antioxidative peptides derived from royal jelly protein. *Food Chemistry*, 113: 238-245. doi: 10.1016/j.foodchem.2008.06.081
- 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.

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

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 Complemnartry & 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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

Schmitzova J., Klaudivny 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

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

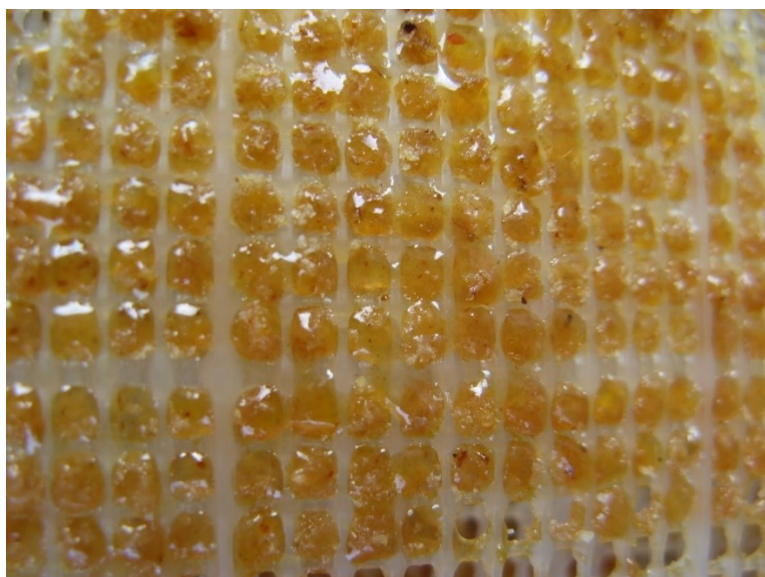
Žohar T. 2018. Vpliv skladiščenja na nekatere parametre matičnega mlečka. Diplomsko delo. Ljubljana, Univerza v Ljubljani, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 23 str.

11 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 grobo standardizacijo osnovnih količin nekaterih sestavin v propolisu, kar je zelo težavno, saj so med njimi ogromne razlike, kljub vsemu pa vsi kažejo podobno mikrobiološko aktivnost (Medić-Šarić in sod., 2013), ki je lahko posledica sinergističnega delovanja sestavin propolisa (Huang in sod., 2014).



Slika 7: Propolis, pridobljen na namensko vstavljenih pripomočkih

11.1 NASTANEK IN POMEN PROPOLISA

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

Nabiralni nagon po nabiranju 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 za propolis. 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 uporabno zmečajo pri okoli 20 °C, čebele so na delu med 10. in 16. uro dneva. Čez dan tovor odlagajo na stične točke delov v panju, najraje v reže, in propolizirajo šele po 16. uri (Jedlovčnik in Pušnik, 2011). Nabranim smolam čebele dodajo še izloček žlez slinavk ter vosek, da snov postane bolj lepljiva (Burdock, 1998).

Največ smol naberejo čebele na iglastem drevju, topolih, brezi, vrbah, jelšah, divjem kostanju, brestu in na koščičastih sadnih drevesih (Burdock, 1998) in to v avgustu, septembru in oktobru. Letni pridelek je odvisen od geografske in klimatske lege čebelnjaka, od 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 površine panja, zamašijo reže in odprtine v panjskih delih, v krajih z zelo nizkimi temperaturami včasih celo zožijo žrela. Najbolj propolizirajo prostore tik ob žrelu. Čebele z njim razkužijo celice, ki jih bo matica zaleгла, pritrjujejo premične dele v panju in ga dodajajo pri izdelavi satja. S propolisom premažejo tudi vse vsiljivce, ki so jih ubile v panju, s čimer preprečijo razpad teh organizmov in razmnoževanje klic v razpadajočem telesu vsiljivcev in okužbo družine (Jedlovčnik in Pušnik, 2011).

11.2 SESTAVA PROPOLISA

Sestava propolisa je raznolika, odvisna je od rastlin, na katerih so čebele nabirale surovine zanj, od klimatskih razmer v času nabiranja pa tudi od načina pridobivanja in vrste čebel, ki imajo močno preferenco do posameznega tipa rastlin (Bankova in sod., 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 amino kisline, vitamini, minerali in netopne snovi (Burdock, 1998; Sforcin, 2007; Coneac in sod., 2008).

Doslej so v propolisu identificirali več sto različnih sestavin. Glavne so fenolne spojine: flavonoidi (flavoni, flavonoli in flavanoni) ter fenolne kisline in njihovi estri, ki so odgovorni za antivirusno in protivnetno delovanje propolisa. Naravni fenoli delujejo kot antioksidanti. Najbolj značilne fenolne spojine propolisa so: pinocembrin, pinobanksin, fenetilni ester kavne

kislina (CAPE), artepilin C, cimetna, kumarna, kavna, ferulna in izoferulna kislina ter krizin, galangin, kamferol in kvercetin (Huang in sod., 2014).

11.2.1 Flavonoidi

Največ je v propolisu flavonoidov, ki tudi prispevajo največ 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 zmerne klimatskega pasu so od flavonoidov najbolj zastopani: krizin, galangin, pinocembrin in pinobaksin. Propolis, ki ga pridelata *Apis mellifera carnica*, ima manjšo protimikrobno 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).

11.2.2 Fenolne spojine

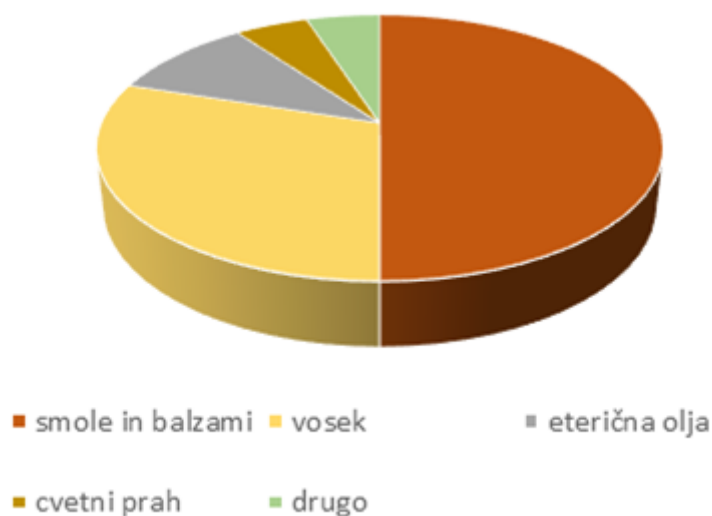
Najbolj značilne fenolne spojine v propolisu so cimetna, kumarna, kavna, ferulna kislina in njihovi derivati. Fenetilni ester kavne kisline (CAPE) je glavna sestavina propolisa zmerne klimatskega pasu in ima široko biološko vlogo (Bankova, 2009). Vsebnost fenolov v propolisu je zelo različna in je odvisna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

11.2.3 Terpenoidi

Propolis vsebuje le 10 % hlapnih sestavin, vendar te 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).

11.2.4 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, pa tudi vosek, ki je proizvod čebel, in ne izvira iz rastlin (Huang in sod., 2014). Znano je, da je vsebnost voska v propolisu mnogo večja, kadar ga pridobivamo iz medišča (Jedlovčnik in Pušnik, 2011).



Slika 8: Povprečna sestava propolisa

11.3 VRSTE PROPOLISA

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

Propolis se deli v več vrst. Za Evropo, Severno Ameriko in netropske predele Azije je značilen *topol tip propolisa*, ki je v glavnem sestavljen iz aktivnih snovi, kot so flavoni, flavanoni ter cimetna kislina in njeni estri. V Rusiji prevladuje *tip breze*, ki prav tako vsebuje flavone in flavonole, vendar drug tip. Za Brazilijo je značilen *zeleni propolis*, poznamo pa še *rdeči propolis* (Kuba, Venezuela), s pacifiškega območja je *pacifiški propolis*, s Kanarskih otokov pa *kanarski*, za katere 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 »propolis topol tipa«, 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 (Hunag 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 % 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 %, (Medić-Šarić in sod., 2013).

Slovenski vzorci propolisa vsebujejo **p-kumarno kislino** v območju od 0,18 do 3,21 %, v povprečju 1,33 %, **ferulno kislino** v območju od 0,16 do 3,10 %, v povprečju 1,11 %. Večina vzorcev vsebuje **kavno kislino** od 0,11 do 0,69 %, v povprečju 0,23 %. Pogosto slovenski vzorci vsebujejo tudi **CAPE** od 0,11 do 1,39 %, v povprečju 0,37 %, **pinocembrin** v območju od 0,11 do 4,70 %, v povprečju 1,23 % in **galangin** v območju od 0,11 do 3,42 %, v povprečju 0,78 %. Prisoten je tudi **krizin** od 0,17 do 4,21 %, v povprečju 1,51 %, pa tudi **cimetna kislina** v območju od 0,13 do 1,79 %, v povprečju 0,74 %, **apigenin** od 0,10 do 0,34 %, v povprečju 0,21%, nekateri vzorci vsebujejo **naringenin** od 0,11 do 0,38 %, v povprečju 0,16 % pa tudi **kamferol** v območju od 0,12 do 0,38 %, v povprečju 0,25 %, **kvercetin** od 0,10 do 0,30 %, v povprečju 0,22 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

11.4 LASTNOSTI PROPOLISA

Barva svežega propolisa je od zeleno rumene do temno rjave, odvisno od izvora rastlin in tudi starosti (Marcucci, 1995). Breza daje propolis temnejših odtenkov, jelša rumenega, divji kostanj rdečega. Sčasoma posamezne barve potemniijo. Star propolis je črne barve, odvisno od začetne barve. Nekateri 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 določenih 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 mešanica eter-etanol (Jedlovčnik in Pušnik, 2011).

11.5 PRIDOBIVANJE PROPOLISA

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

Posebej pomembno je, da čebelja družina v panju, v katerem čebelar pridobiva propolis, ni bila zdravljena s 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 neoporečni 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 MATERIAL IN METODE

12.1 NAČRT ZBIRANJA VZORCEV

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 katerim so bile določene fenolne spojine v propolisu. Obstoječa raziskava bo zbirko podatkov dopolnila.

V raziskavo smo vključili 20 vzorcev propolisa slovenskega porekla, pridelanega v letu 2019, iz devetih statističnih regij Slovenije. Analizirali smo po dva (2) vzorca propolisa iz savinjske in gorenjske regije, po štiri (4) iz goriške, pomurske in podravske regije ter po en (1) iz zasavske, posavske, obalno kraške in osrednjeslovenske regije. Podatki o analiziranih vzorcih (št. vzorca, statistična regija in letnik pridelave) so zbrani v preglednici 19.

Preglednica 19: Analizirani vzorci propolisa

Zap. št.	Št. vzorca	Statistična regija	Leto pridelave
1	PR2020-1	Savinjska	2019
2	PR2020-2	Savinjska	2019
3	PR2020-3	Goriška	2019
4	PR2020-4	Goriška	2019
5	PR2020-5	Goriška	2019
6	PR2020-6	Goriška	2019
7	PR2020-7	Pomurska	2019
8	PR2020-8	Zasavska	2019
9	PR2020-9	Posavska	2019
10	PR2020-10	Gorenjska	2019
11	PR2020-11	Podravska	2019
12	PR2020-12	Podravska	2019
13	PR2020-13	Obalno-kraška	2019
14	PR2020-14	Gorenjska	2019
15	PR2020-15	Osrednjeslovenska	2019
16	PR2020-16	Podravska	2019
17	PR2020-17	Pomurska	2019
18	PR2020-18	Pomurska	2019
19	PR2020-19	Podravska	2019
20	PR2020-20	Pomurska	2019

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



Slika 9: Pripravljen vzorec propolisa za analizo

12.2 ANALIZA PROPOLISA

V propolisu so najbolj zastopane sestavine: 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), 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). Vzorci so bili analizirani tudi z bolj robustnimi sprektrofometričnimi metodami: vsebnost skupnih fenolnih spojin s Folin-Ciocalteujevo metodo, vsebnost skupnih flavonov ter flavolov je bila določena z aluminijevim kloridom, vsebnost flavanonov ter dihidroflavonolov pa z 2,4-dinitrofenilhidrazinom (Kamenšek, 2011).

Pred kemijsko analizo smo vzorcem s senzorično analizo ocenili videz, barvo in vonj.

13 REZULTATI IN RAZPRAVA

13.1 SENZORIČNA OCENA PROPOLISA

Zbrani vzorci propolisa so bili že po samem videzu zelo različni: od finega prahu, prahu, drobnih zrn do večjih zrn. Prav tako so se zbrani vzorci propolisa razlikovali po barvi od svetle do temno rjave barve in do svetlo rdeče barve. Po vonju je bilo od skupno 20 vzorcev propolisa 13 vzorcev srednje aromatičnih, štirje (4) so bili malo aromatični, trije (3) močno aromatični. Najbolj aromatični vzorci so prihajali iz savinjske (1 vzorec) in pomurske regije (2 vzorca) (preglednica 20).

Preglednica 20: Rezultati senzorične ocene posameznih vzorcev propolisa pridelanega v letu 2019 in analiziranega v letu 2020

Št. vzorca	Videz	Barva	Vonj
PR2020-1	zrnca, prah, fini prah	svetlo rjav	malo
PR2020-2	zrnca, fini prah	svetlo rjav z rdečimi odtenki	močno
PR2020-3	velika zrna, prah	temno rjav	srednje
PR2020-4	velika zrna	svetlo do temno rjav	srednje
PR2020-5	velika zrna, prah	rjav	srednje
PR2020-6	zrnca, prah, fini prah	svetlo rjav	srednje
PR2020-7	drobna zrna, fini prah	svetlo rjav	močno
PR2020-8	fini prah	temno rjav	srednje
PR2020-9	zrna	svetlo rjav	srednje
PR2020-10	velika zrna	svetlo do temno rjav	srednje
PR2020-11	prah, fini prah	svetlo rdeč	malo
PR2020-12	drobna zrna	svetlo rjav z rdečimi odtenki	srednje
PR2020-13	drobna zrna	svetlo rjav	srednje
PR2020-14	zrna	rjav z rdečimi odtenki	malo
PR2020-15	zrna	temno rjav	malo
PR2020-16	velika zrna	rjav z rdečimi odtenki	srednje
PR2020-17	zrna	rjav	močno
PR2020-18	drobna zrna, prah	svetlo rjav	srednje
PR2020-19	zrna	rjav	srednje
PR2020-20	velika zrna	rjav z rdečimi odtenki	srednje

13.2 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 dosedaj identificirali več sto različnih sestavin. Glavne so fenolne spojine: flavonoidi (flavoni (apigenin), flavonoli (kamferol, galangin, kvercetin) in flavanoni (naringenin, pinocembrin)) ter fenolne kisline in njihovi estri (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 analiziranih fenolnih spojin v vzorcih je bila v območju od 3,31 do 12,43 %, v povprečju 6,60 %. Največ fenolnih spojin je vseboval vzorec številka PR2020-17 iz pomurske regije, ki je bil po senzoričnih lastnosti med močno aromatičnimi. Najmanj fenolnih spojin je vseboval vzorec številka PR2020-16 iz podravske regije, ki je bil med srednje aromatičnimi. Med vzorci pridelanih v različnih regijah nismo našli statistično značilnih razlik, variabilnost je velika znotraj regij.

Tako kot v raziskavi v obdobju 2017-2019, so vsi vzorci propolisa vsebovali **p-kumarno kislino** v območju od 0,44 do 2,27 %, v povprečju 1,16 %. V prejšnjem obdobju je bilo povprečje večje in sicer 1,33 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Vsi vzorci so tako v obdobju 2017-2019 kot tudi v letu 2020 vsebovali **ferulno kislino**, v letu 2020 v območju od 0,27 do 1,92 %, v povprečju 1,03 %. V obdobju 2017-2019 je bilo povprečje večje in sicer 1,11 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Vsi vzorci propolisa v letu 2020 so vsebovali tudi **pinocembrin** od 0,15 do 4,18 %, v povprečju 1,53 %. V obdobju 2017-2019 je bilo v povprečju **pinocembrina** manj in sicer 1,23% (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

19 vzorcev je vsebovalo **kavno kislino** v območju od 0,11 do 0,56 %, v povprečju 0,30 %. V obdobju 2017-2019 je bilo povprečje manjše, 0,23 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

18 vzorcev je vsebovalo **CAPE** v območju od 0,16 do 1,19 %, v povprečju 0,58 %, v vzorcih iz leta 2017-2019 je bilo povprečje **CAPE** manjše in sicer 0,37 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Galangin je vsebovalo sedemnajst vzorcev propolisa v območju od 0,10 do 2,75 %, v povprečju 0,90 %. V obdobju 2017-2019 je bilo **galangina** v povprečju 0,78 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Krizin je bil prisoten v štirinajstih vzorcih v območju od 0,43 do 3,27 %, v povprečju 1,30 %. V obdobju 2017-2019 je bilo **krizina** v povprečju 1,51 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Apigenin je vsebovalo dvanajst vzorcev v območju od 0,10 do 0,20 %, v povprečju 0,14%. V obdobju 2017-2019 je bilo **apigenina** v povprečju več, in sicer 0,21 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Prav tako je dvanajst vzorcev vsebovalo **kamferol** v območju od 0,10 do 0,29 %, v povprečju 0,18 %. V obdobju 2017-2019 je bilo **kamferola** v povprečju 0,25 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Pet vzorcev je vsebovalo tudi **naringenin** v območju od 0,11 do 0,18 %, v povprečju 0,14 %. V obdobju 2017-2019 je bilo **naringenina** v vzorcih propolisa v povprečju 0,16 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019). Pet vzorcev je vsebovalo tudi **cimetno kislino** v območju od 0,12 do 1,13 %, v povprečju 0,51 %. V obdobju 2017-2019 je bilo **cimetne kisline** v vzorcih propolisa v povprečju več in sicer 0,74 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Kvercetin je bil prisoten v štirih vzorcih v območju od 0,11 do 0,20 %, v povprečju 0,17 %. V obdobju 2017-2019 je bilo **kvercetina** v vzorcih propolisa v povprečju več in sicer 0,22 % (Kandolf Borovšak in sod., 2019).

Rezultate vsebnosti posameznih fenolnih spojin prikazujeta preglednici 21 in 22.

V vzorcih smo s spektrofotometrično metodo izmerili največ 28,60 % skupnih fenolnih spojin, od tega flavonov/flavonolov največ 0,44 %, flavanonov/dihidroflavonolov pa največ 3,71 %. Kamenšek (2011) je v svoji raziskavi slovenskega propolisa določila skupnih fenolnih spojin v povprečju 31,99 %, največ 50,89 %, najmanj pa 1,55 %, kar je v povprečju več kot smo določili v okviru naše raziskave. Flavonov/flavonolov je določila v povprečju 3,58 %, v območju od 0,08 do 9,82 %, flavanonov/dihidroflavonolov pa v povprečju 4,66 %, v območju od 0,39 % do 8,72 % (Kamenšek, 2011).

14 ZAKLJUČEK

Fenolne spojine so v propolisu zelo značilne. Kljub majhnim koncentracijam posameznih fenolnih spojin, ki smo jih v sklopu aplikativne raziskave analizirali, lahko zaključimo, 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 drevesih kot tudi podrasti.

Pridobljene rezultate je težko primerjati z drugimi študijami, saj ni uveljavljene standardne metode za določanje fenolnih spojin, uporabljajo se tudi različne metode ekstrakcije fenolnih spojin iz propolisa.

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 katerih so bile določene fenolne spojine v propolisu. Dodatni

vzorci propolisa, ki smo jih analizirali v letu 2020, bodo pripomogli k dopolnitvi podatkovne zbirke o vsebnosti fenolnih spojin v propolisu na slovenskih tleh. Z raziskavo je potrebno nadaljevati in dopolnjevati zbirko o vsebnosti fenolnih spojin v propolisu.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Preglednica 21: Vrednosti posameznih fenolnih spojin v analiziranih vzorcih propolisa.

Fenolna spojina (%)	Številka vzorca																			
	PR2020-1	PR2020-2	PR2020-3	PR2020-4	PR2020-5	PR2020-6	PR2020-7	PR2020-8	PR2020-9	PR2020-10	PR2020-11	PR2020-12	PR2020-13	PR2020-14	PR2020-15	PR2020-16	PR2020-17	PR2020-18	PR2020-19	PR2020-20
<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.	0,11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,15	n.d.	0,13	0,18	0,12	n.d.	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	n.d.	0,11	n.d.	n.d.	0,1	0,12	0,2	0,13	0,18	0,2	n.d.	0,13	0,12	n.d.	0,16	n.d.	0,11	n.d.	n.d.	0,11
kamferol	n.d.	n.d.	0,1	0,14	0,12	0,17	0,29	0,14	0,17	0,29	n.d.	0,16	n.d.	n.d.	0,2	n.d.	0,18	n.d.	n.d.	0,22
krizin	0,8	1,11	0,77	1	0,65	1,95	3,27	0,49	0,43	0,88	n.d.	1,17	n.d.	n.d.	1,81	n.d.	2,31	n.d.	n.d.	1,54
galangin	0,25	0,1	0,67	0,75	0,51	1,09	1,88	0,95	1,08	0,54	0,29	0,99	0,19	n.d.	1,1	n.d.	2,75	0,14	n.d.	2,09
kavna kislina	0,28	0,37	0,45	0,32	0,27	0,56	0,52	0,3	0,31	0,27	0,17	0,28	0,2	n.d.	0,39	0,11	0,28	0,17	0,14	0,27
<i>p</i> -kumarna kislina	0,52	0,52	0,8	0,65	1,17	0,74	0,44	1,15	1,89	0,66	2,27	0,83	1,54	2,06	0,91	1,49	0,65	2,12	1,82	1,02
ferulna kislina	0,48	0,27	0,89	0,6	0,99	0,71	0,42	1,16	1,66	0,63	1,83	0,91	1,76	1,17	0,5	1,56	0,49	1,92	1,82	0,91
cimetna kislina	n.d.	n.d.	0,14	n.d.	0,15	n.d.	n.d.	0,12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	1,13	n.d.	n.d.	1,02
pinocembrin	1,02	1,12	1,49	1,46	1,03	2,1	3,65	1,53	1,65	1,36	0,54	2,37	0,22	0,34	2,75	0,15	4,18	0,26	0,2	3,25
CAPE	0,75	1,19	0,64	0,52	0,6	0,98	0,82	0,56	0,46	1,17	0,16	0,62	0,26	n.d.	0,62	n.d.	0,35	0,18	0,2	0,29
kvercetin	n.d.	n.d.	n.d.	0,11	n.d.	0,19	0,2	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,19	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	4,1	4,79	5,95	5,55	5,7	8,61	11,69	6,53	7,83	6,15	5,26	7,59	4,47	3,69	8,63	3,31	12,43	4,79	4,18	10,72
n.d.: pod mejo detekcije																				

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

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

vzorec št.	naringenin (%)	apigenin (%)	kamferol (%)	krizin (%)	galangin (%)	kavna kislina (%)	<i>p</i> -kumarna kislina (%)	ferulna kislina (%)	cimetna kislina (%)	pinocembrin (%)	CAPE (%)	kvercetin (%)
PR2020-1	n.d.	n.d.	n.d.	0,8	0,25	0,28	0,52	0,48	n.d.	1,02	0,75	n.d.
PR2020-2	n.d.	0,11	n.d.	1,11	0,1	0,37	0,52	0,27	n.d.	1,12	1,19	n.d.
PR2020-3	n.d.	n.d.	0,1	0,77	0,67	0,45	0,8	0,89	0,14	1,49	0,64	n.d.
PR2020-4	n.d.	n.d.	0,14	1	0,75	0,32	0,65	0,6	n.d.	1,46	0,52	0,11
PR2020-5	0,11	0,1	0,12	0,65	0,51	0,27	1,17	0,99	0,15	1,03	0,6	n.d.
PR2020-6	n.d.	0,12	0,17	1,95	1,09	0,56	0,74	0,71	n.d.	2,1	0,98	0,19
PR2020-7	n.d.	0,2	0,29	3,27	1,88	0,52	0,44	0,42	n.d.	3,65	0,82	0,2
PR2020-8	n.d.	0,13	0,14	0,49	0,95	0,3	1,15	1,16	0,12	1,53	0,56	n.d.
PR2020-9	n.d.	0,18	0,17	0,43	1,08	0,31	1,89	1,66	n.d.	1,65	0,46	n.d.
PR2020-10	0,15	0,2	0,29	0,88	0,54	0,27	0,66	0,63	n.d.	1,36	1,17	n.d.
PR2020-11	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,29	0,17	2,27	1,83	n.d.	0,54	0,16	n.d.
PR2020-12	0,13	0,13	0,16	1,17	0,99	0,28	0,83	0,91	n.d.	2,37	0,62	n.d.
PR2020-13	0,18	0,12	n.d.	n.d.	0,19	0,2	1,54	1,76	n.d.	0,22	0,26	n.d.
PR2020-14	0,12	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	2,06	1,17	n.d.	0,34	n.d.	n.d.
PR2020-15	n.d.	0,16	0,2	1,81	1,1	0,39	0,91	0,5	n.d.	2,75	0,62	0,19
PR2020-16	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,11	1,49	1,56	n.d.	0,15	n.d.	n.d.
PR2020-17	n.d.	0,11	0,18	2,31	2,75	0,28	0,65	0,49	1,13	4,18	0,35	n.d.
PR2020-18	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,14	0,17	2,12	1,92	n.d.	0,26	0,18	n.d.
PR2020-19	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	n.d.	0,14	1,82	1,82	n.d.	0,2	0,2	n.d.
PR2020-20	n.d.	0,11	0,22	1,54	2,09	0,27	1,02	0,91	1,02	3,25	0,29	n.d.
povprečje	0,14	0,14	0,18	1,30	0,90	0,30	1,16	1,03	0,51	1,53	0,58	0,17
min	0,11	0,1	0,1	0,43	0,1	0,11	0,44	0,27	0,12	0,15	0,16	0,11
maks	0,18	0,2	0,29	3,27	2,75	0,56	2,27	1,92	1,13	4,18	1,19	0,2
n.d.: pod mejo detekcije												

15 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

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 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.

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

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

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

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

16 PREGLED OBJAV O MEDU

16.1 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 bakteriostatski kot baktericidni učinek (De Melo in sod., 2017).

Prve objave o protimikrobni aktivnosti medu segajo v leto 1982. 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 odvisno od botaničnega vira, metabolizma čebel, okoljskih, sezonskih ter klimatskih pogojev, ki vplivajo na sestavo medu (De Melo in sod., 2017).

16.2 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, kar je okrog 1000 krat manj, za inhibicijo rasti bakterije *E. coli* je dovolj od 0,02 do 0,05 mmol/L vodikovega peroksida. Negativni vpliv vodikovega peroksida v medu je še dodatno zmanjšan, zaradi inaktivacije prostega železovega iona, ki prispeva k nastanku prostih kisikovih radikalov. Antioksidanti v medu polovijo proste radikale, zato med zmanjša vnetje in poškodbe tkiv (Molan, 2001). Rana, okužena s *S. aureus*, postane sterilna, potem ko jo namažemo z medom. Med s srednjo ravnjo protimikrobne aktivnosti preprečuje rast *S. aureus*, tudi če je toliko razredčen, da se vpliv sladkorjev izniči (French in sod., 2005).

16.3 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).

Med naj bi vseboval tudi **lizocime**, ki so dobro znani protimikrobni agensi (Bogdanov, 1997), visoka vsebnost glukoze in nizek pH, pa lahko da pomagata makrofagom pri uničenju bakterij (Molan, 2001).

Glavna vira neperoksidne protimikrobne lastnosti medu sta **metilglioksal** in **rojalizin**. Med iz manuke, ki je proizveden iz nektarja nabranega na grmovju *Leptospermum scoparium*, vsebuje velike količine metilglioksala. Tudi nekatere druge vrste ga vsebujejo, vendar bistveno manj kot med iz 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).

16.4 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 medicinske oz. mane. Medova rodedondrona in evkaliptusa imata najmanjšo protimikrobno aktivnost, večjo pa 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, kostanjevi medovi imajo tudi največjo protiglivično delovanje proti nekaterim glivicam (Kralj Kunčič in sod., 2012). Protimikrobna aktivnost izvira torej tako iz rastlin kot iz čebel.

Z največjo protimikrobno aktivnostjo se ponaša med manuke, ki izvira iz drevesa *L. scoparium* (Myrtaceae) in raste na Novi Zelandiji. Neperoksidna aktivnost tega medu naj bi izvirala iz rastlin. Vsi manukini medovi namreč ne vsebujejo neperoksidne protimikrobne aktivnosti (Weston, 1999), ampak samo tisti iz vzhodne regije severnega otoka Nove Zelandije (Weston, 2000).

Med ima tudi protivnetno aktivnost in deluje tudi kot probiotik zaradi prisotnosti bakterij *Bifidus* in *Lactobacilus*. Rast aktivnosti ter sposobnost preživetja lactobacilov lahko povečamo, če med dodamo v mlečne proizvode (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).

16.5 ANTIOKSIDATIVNE LASTNOSTI MEDU

Med deluje tudi antioksidativno, saj vsebuje flavonoide, amino kisline, organske kisline, encime, askorbinsko kislino, α -tokoferol karotenoid, proteine, produkte Maillardove reakcije, minerale (baker, železo), in več kot 150 fenolnih spojin kot so katehin, galna kislina, benzojska kislina, ferulna kislina, kavna kislina, hesperetin, 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 (Bertoncelj, 2008). Viri fenolnih spojin v medu so propolis, vosek, nektar in cvetni prah (Soler in sod., 1995).

Fenolni antioksidanti inhibirajo rast velikega števila gram negativnih in pozitivnih bakterij in odstranjujejo proste radikale. 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).

Antioksidanti so uporabni tudi v živilski industriji, saj preprečuje encimsko porjavenje sadja ter rast organizmov, ki zmanjšujejo kakovost živil. V mesu aminokislina 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 želeno 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).

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

17 MATERIAL IN METODE

17.1 ZBIRANJE VZORCEV

V raziskavo smo vključili 40 vzorcev medu iz 11 statističnih regij Slovenije. Deset (10) vzorcev je bilo iz pomurske statistične regije, devet (9) iz goriške, pet (5) iz savinjske, štiri (4) iz osrednjeslovenije, trije (3) iz podravske, po dva (2) iz posavske, obalno-kraške in primorsko-notranjske regije, po en (1) pa iz koroške in gorenjske statistične regije ter JV Slovenije (preglednica 23).

V letu 2020 v Sloveniji prevladuje cvetlični med, zato smo tudi mi analizirali največ (13) vzorcev cvetličnega medu. Sledi gozdni med (9 vzorcev), nato lipov (5), medu oljne ogrščice in akacijevega smo imeli po štiri (4) vzorce, kostanjevega dva (2) vzorca, smrekovega ter ajdovega po enega (1), en (1) vzorec je bil mešan lipov in kostanjev med. 12 vzorcev je bilo iz leta 2019, 28 iz leta 2020.

Vzorci smo zbrali glede na razpoložljivost medenja v letu 2020 ter deloma 2019. Hoja in ajda v času poteka programskega leta še nista medila, kostanj pa je medil malo pred iztekom programskega obdobja, tako da bomo v jesenskem času naslednjega programskega leta analizirali tudi več vzorcev kostanjevega medu. Smreka in akacija v letu 2020 nista oz. sta slabo medila, tako da smo v raziskavo vključili nekaj vzorcev iz leta 2019, vendar zaradi slabega medenja oz. trdenja medu v satju ti vzorci niso najbolj reprezentativni. En vzorec je mešanica lipovega in kostanjevega medu, ki se zaradi istočasnega medenja tudi pogosto pojavlja v Sloveniji.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Preglednica 23: Analizirani vzorci medu

Zap. št.	Številka vzorca	Statistična regija	Leto pridelave	Vrsta medu
1	K. MED 2020-1	Savinjska	2020	CVETLIČNI
2	K. MED 2020-2	Osrednjeslovenska	2020	CVETLIČNI
3	K. MED 2020-3	Podravska	2020	CVETLIČNI
4	K. MED 2020-4	Pomurska	2020	CVETLIČNI
5	K. MED 2020-5	Posavska	2019	CVETLIČNI
6	K. MED 2020-6	Pomurska	2020	AKACIJEV
7	K. MED 2020-7	Koroška	2020	GOZDNI
8	K. MED 2020-8	Pomurska	2020	OLJNA OGRŠČICA
9	K. MED 2020-9	Pomurska	2019	GOZDNI
10	K. MED 2020-10	Pomurska	2020	CVETLIČNI
11	K. MED 2020-11	Goriška	2019	LIPOV
12	K. MED 2020-12	Osrednjeslovenska	2019	AJDOV
13	K. MED 2020-13	Savinjska	2019	GOZDNI
14	K. MED 2020-14	Savinjska	2019	GOZDNI
15	K. MED 2020-15	Goriška	2020	CVETLIČNI
16	K. MED 2020-16	Pomurska	2020	OLJNA OGRŠČICA
17	K. MED 2020-17	Obalno-kraška	2020	CVETLIČNI
18	K. MED 2020-18	Goriška	2020	CVETLIČNI
19	K. MED 2020-19	Pomurska	2019	OLJNA OGRŠČICA
20	K. MED 2020-20	Pomurska	2020	OLJNA OGRŠČICA
21	K. MED 2020-21	Goriška	2020	CVETLIČNI
22	K. MED 2020-22	Podravska	2020	GOZDNI
23	K. MED 2020-23	Goriška	2020	GOZDNI
24	K. MED 2020-24	Primorsko-notranjska	2020	GOZDNI
25	K. MED 2020-25	Goriška	2020	CVETLIČNI
26	K. MED 2020-26	Pomurska	2019	AKACIJEV
27	K. MED 2020-27	Goriška	2019	AKACIJEV
28	K. MED 2020-28	Posavska	2020	LIPOV
29	K. MED 2020-29	Obalno-kraška	2020	CVETLIČNI
30	K. MED 2020-30	Savinjska	2019	SMREKOV
31	K. MED 2020-31	Pomurska	2019	AKACIJEV
32	K. MED 2020-32	Savinjska	2019	CVETLIČNI
33	K. MED 2020-33	Podravska	2020	GOZDNI
34	K. MED 2020-34	Gorenjska	2020	LIPOV
35	K. MED 2020-35	Osrednjeslovenska	2020	KOSTANJEV
36	K. MED 2020-36	Primorsko-notranjska	2020	GOZDNI
37	K. MED 2020-37	Osrednjeslovenska	2020	KOSTANJEV
38	K. MED 2020-38	Goriška	2020	LIPOV
39	K. MED 2020-39	Goriška	2020	LIPOV
40	K. MED 2020-40	Jv slovenija	2020	LIPOV-KOSTANJEV

17.2 ANALIZE MEDU

17.2.1 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.

17.2.2 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.

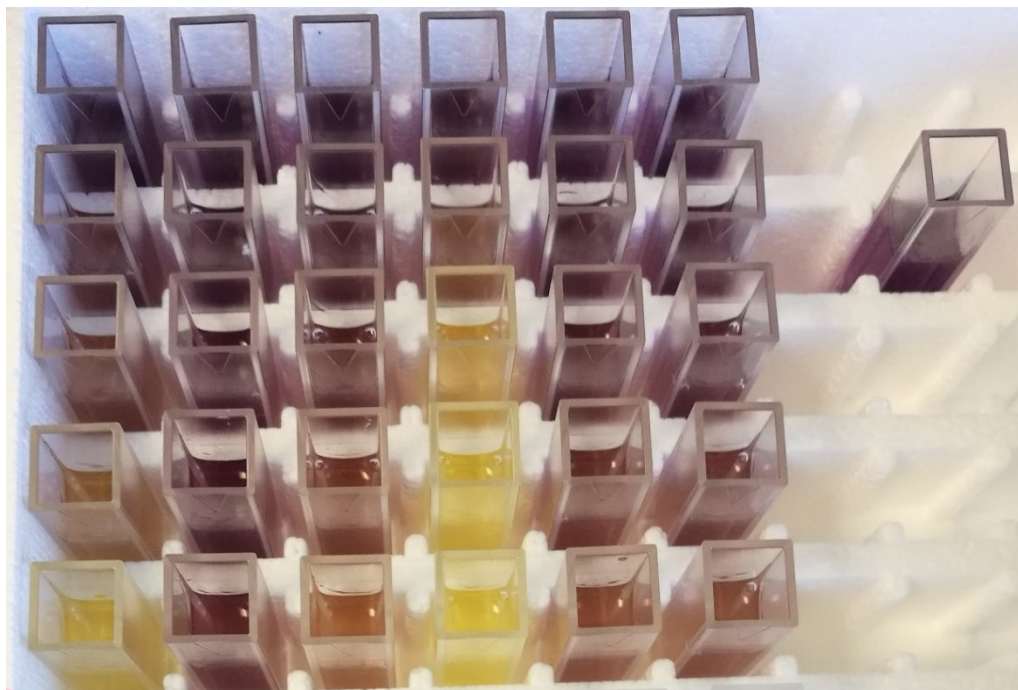
Določanje antioksidativne učinkovitosti - DPPH• metoda (Beretta in sod., 2005)

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

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



Slika 10: 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 μL 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 μL vzorca in dodali 1,8 mL FRAP reagenta ter inkubirali 10 min pri 37 °C. Nato smo izmerili absorbanco pri 593 nm proti slepemu vzorcu. Za slepi vzorec smo raztopini medu dodali 1,8 mL vode.

Za analizo smo odpipetirali 200 μL vzorca in dodali 1,8 mL FRAP reagenta ter inkubirali 10 min pri 37 °C. Nato smo izmerili absorbanco pri 593 nm proti slepemu vzorcu. Za slepi vzorec smo raztopini medu dodali 1,8 mL vode.

17.2.3 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 mikrotitrski ploščice na sveže gojišče ob ponovni kultivaciji na svežem gojišču (MBK).

Testni mikroorganizmi so bili *S. aureus*, *Listeria monocytogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *B. cereus*.

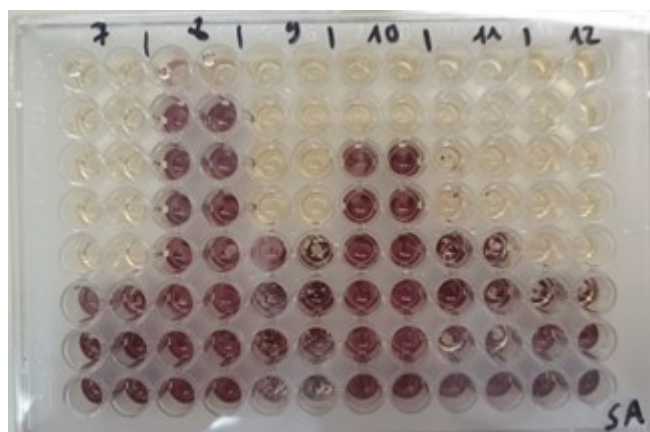
Za vsak vzorec medu smo pripravili svežo 50 % raztopino s koncentracijo 1000 mg/mL v tekočem gojišču Tryptic soy broth (TSB). Raztopino smo aseptično filtrirali preko filtra z velikostjo por 0,45 μm .

Protimikrobno učinkovitost različnih vrst medu smo določili z metodo razredčevanja v mikrotitrski ploščici. Pripravljene vzorce s koncentracijo 1000 mg/mL smo serijsko redčili v mikrotitrski ploščici tako, da smo po 50 mL vzorca prenašali v 50 μL gojišča. Tako smo

pripravili dvakratne redčitve vzorca, vse do koncentracije 3,9 mg/mL. Na koncu smo v vsako posamezno luknjico dodali po 50 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* pa na 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 11: Vizualno odčitavanje vrednosti MIK za bakterijo *S. aureus* na mikrotitrski ploščici

(vzorci medu 7-12 v dveh paralelnih testiranjih, ki sta v vseh primerih dali ponovljiv rezultat: prva neobarvana luknjica pomeni minimalno inhibitorno koncentracijo, ki je najnižja pri vzorcih 7 (gozdni med) in 12 (ajdov med), sledita vzorca 9 (kostanjev med) in 11 (lipov med) ter vzorec 10 (cvetlični med), najvišja vrednost MIK, ki označuje najmanjšo protimikrobno aktivnost, pa je bila ugotovljena pri vzorcu 8 (med oljne ogrščice).

17.3 REZULTATI

17.3.1 Vsebnost skupnih fenolnih spojin in antioksidativna učinkovitost medu

Vsebnost skupnih fenolnih spojin smo določili s Folin-Cicoltaeu metodo pri kateri smo kot standard uporabili galno kislino, antioksidativno učinkovitost pa smo določili z DPPH• in FRAP metodo. Rezultate naših vzorcev smo primerjali z rezultati za slovenski med, ki so bili pridobljeni v okviru doktorske disertacije (Bertoncelj, 2008).

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

AKACIJEV MED (N=4)

Preglednica 24: 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 2020-6	16,2	0,20	Brassicaceae, <i>Brassica</i> tip, <i>Robinia pseudacacia</i>	77,5	113,0	78,0
K. MED 2020-26	15,2	0,26	<i>Robinia pseudacacia</i>	120,7	119,6	78,0
K. MED 2020-27	14,5	0,25	<i>Robinia pseudacacia</i>	100,7	122,2	74,0
K. MED 2020-31	16,6	0,19	<i>Robinia pseudacacia</i>	41,0	168,9	77,0
Povprečje	15,6	0,22		85,0	130,9	76,8
S.D.	0,95	0,04		34,2	25,6	1,9
MIN	14,5	0,19		41,0	113,0	74,0
MAKS	16,6	0,26		120,7	168,9	78,0

Vzorci akacijevga medu niso bili najbolj tipični predstavniki svoje vrste, saj v zadnjih dveh letih akacija zaradi slabih vremenskih razmer ni medila, zato je v teh vzorcih poleg akacijevga nektarja prisoten tudi nektar drugih rastlin. Temu primerne so večje vsebnosti skupnih fenolnih spojin in antioksidativna učinkovitost (preglednica 24), kot so značilne za tipičen akacijev med slovenskega porekla (Bertoncelj, 2008).

CVETLIČNI MED (N=13)

Preglednica 25: 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 2020-1	18,2	0,80	/	219,0	209,9	29,0
K. MED 2020-2	16,4	0,59	<i>Castanea sativa</i>	287,3	200,8	35,0
K. MED 2020-3	16,4	0,50	Brassicaceae, <i>Brassica</i> tip	234,0	207,5	35,0
K. MED 2020-4	14,6	0,37	Sadno drevje	220,7	158,9	54,0
K. MED 2020-5	15,0	0,72	/	310,7	199,1	18,0
K. MED 2020-10	16,9	0,62	/	55,7	246,8	23,0
K. MED 2020-15	16,3	0,46	/	105,7	155,1	59,0
K. MED 2020-17	14,5	0,32	/	87,3	217,7	31,0
K. MED 2020-18	15,3	0,24	/	265,7	178,0	30,2
K. MED 2020-21	15,7	0,41	Sadno drevje	207,3	152,5	26,0
K. MED 2020-25	15,5	0,88	Sadno drevje	110,7	231,5	29,0
K. MED 2020-29	14,4	0,45	/	137,3	215,6	19,0
K. MED 2020-32*	14,3	0,72	/	302,0	278,4	14,0
Povprečje	15,8	0,53		186,8	197,8	32,4
S.D.	1,1	0,20		54,4	30,6	12,6
MIN	14,4	0,24		55,7	152,5	18,0
MAKS	18,2	0,88		310,7	246,8	59,0

*vzorec smo zaradi neznačilnih lastnosti za cvetlični med izvzeli iz statistične analize

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Tako vsebnost fenolnih spojin kot antioksidativna učinkovitost naših vzorcev cvetličnega medu so v območju značilnih za slovenski med (Bertoncelj, 2008), le povprečne vrednosti so nekoliko večje (preglednica 25).

GOZDNI MED (N=9)

Preglednica 26: 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 2020-7	16,3	0,99	/	144,0	233,7	13,0
K. MED 2020-9	15,3	1,00	<i>Castanea sativa</i>	100,7	261,3	18,0
K. MED 2020-13	16,0	0,96	<i>Castanea sativa</i>	250,0	256,3	21,0
K. MED 2020-14	17,8	1,49	<i>Castanea sativa</i>	130,7	226,5	16,0
K. MED 2020-22	14,8	0,87	<i>Castanea sativa</i>	139,0	240,1	15,0
K. MED 2020-23	16,2	1,00	<i>Myosotis</i> sp.	172,3	206,5	13,0
K. MED 2020-24	16,6	0,94	<i>Myosotis</i> sp.	215,7	252,0	14,8
K. MED 2020-33	14,0	1,41	<i>Castanea sativa</i>	354,0	303,4	10,0
K. MED 2020-36	14,8	1,14	<i>Castanea sativa</i>	215,7	324,6	16,5
Povprečje	15,8	1,09		191,3	256,0	15,2
S.D.	1,1	0,21		77,7	37,1	3,2
MIN	14,0	0,87		100,7	206,5	10,0
MAKS	17,8	1,49		354,0	324,6	21,0

Razpon vsebnosti fenolnih spojin in antioksidativne učinkovitosti gozdnega medu je od vseh medov največji (Bertoncelj, 2008). Naši vzorci so imeli nekoliko manjše vrednosti (preglednica 26), vendar primerljive z rezultati Bertonecljeve (Bertoncelj, 2008).

LIPOV MED (N=5)

Preglednica 27: 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 2020-11	15,3	0,76	<i>Castanea sativa</i> , <i>Tilia</i> sp. (1,56 %)	181,0	189,9	22,2
K. MED 2020-28	16,4	1,02	<i>Tilia</i> sp.	202,0	358,7	17,8
K. MED 2020-34	16,6	1,08	<i>Castanea sativa</i> <i>Tilia</i> sp.	67,3	211,0	32,0
K. MED 2020-38	14,8	0,92	<i>Castanea sativa</i> <i>Tilia</i> sp.	212,0	241,3	31,2
K. MED 2020-39	14,5	0,79	<i>Castanea sativa</i> <i>Tilia</i> sp.	42,0	193,4	34,0
Povprečje	15,5	0,98		124,7	237,2	24,9
S.D.	0,8	0,20		81,7	62,7	8,9
MIN	14,5	0,76		42,0	189,9	12,0
MAKS	16,6	1,31		212,0	358,7	34,0

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Vzorci lipovega medu so primerljivi s slovenskimi vzorci (Bertoncelj, 2008), le en vzorec v antioksidativni aktivnosti izmerjeni s FRAP metodo odstopa od ostalih (preglednica 27).

MED OLJNE OGRŠČICE (N=4)

Preglednica 28: 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 2020-8	17,8	0,42	Brassicaceae, <i>Brassica</i> tip	202,3	236,3	33,0
K. MED 2020-16	15,8	0,55	Brassicaceae, <i>Brassica</i> tip	170,7	232,2	24,0
K. MED 2020-19	17,4	0,29	Brassicaceae, <i>Brassica</i> tip	235,7	158,9	23,0
K. MED 2020-20	15,5	0,23	Brassicaceae, <i>Brassica</i> tip	135,7	237,2	23,0
Povprečje	16,6	0,37		186,1	216,2	25,8
S.D.	1,1	0,14		42,8	32,3	4,9
MIN	15,5	0,23		135,7	158,9	23,0
MAKS	17,8	0,55		235,7	237,2	33,0

Podatkov o antioksidativni učinkovitosti slovenskega medu oljne ogrščice ni, naši rezultati so po pričakovanjih višji od rezultatov za akacijev med ter nižji od rezultatov za gozdni med, primerljivi so z lipovim medom (preglednica 28).

KOSTANJEV MED

Preglednica 29: 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 _{GA} /kg)	FRAP metoda (μM (FeII))	DPPH• metoda EC ₅₀ (mg/mL)
K. MED 2020-35	15,3	1,60	<i>Castanea sativa</i>	272,3	235,1	19,0
K. MED 2020-37	16,7	1,92	<i>Castanea sativa</i>	245,7	318,4	19,0

AJDOV MED

Preglednica 30: 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 _{GA} /kg)	FRAP metoda (μM (FeII))	DPPH• metoda EC ₅₀ (mg/mL)
K. MED 2020-12	16,8	0,71	<i>Castanea sativa</i> , <i>Fagopyrum esculentum</i>	200,7	259,1	10,0

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

SMREKOV MED

Preglednica 31: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti smrekovega medu

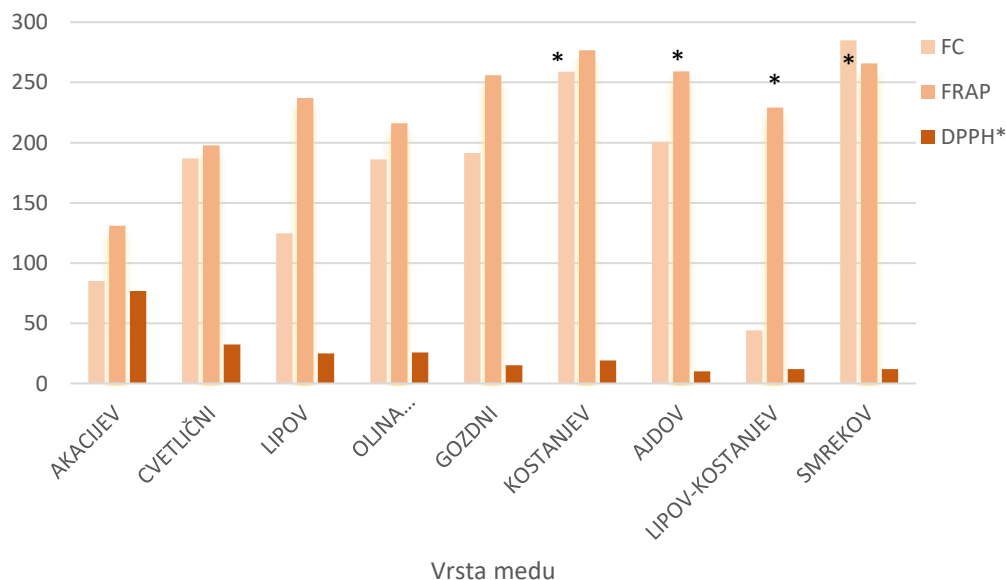
Oznaka vzorca	Vsebnost vode (%)	Električna prevodnost (mS/cm)	Dominanten/ vrstno značilen pelod (%)	Vsebnost skupnih fenolnih spojin (mg _{GA} /kg)	FRAP metoda (μM (FeII))	DPPH• metoda EC ₅₀ (mg/mL)
K. MED 2020-30	14,7	1,65	/	285,0	265,8	12,0

MED MEŠANICE LIPOVEGA IN KOSTANJEVEGA

Preglednica 32: Rezultati fizikalno-kemijskih ter mikroskopskih lastnosti mešanice lipovega in kostanjevega 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 2020-40	15,6	1,31	<i>Castanea sativa</i> <i>Tilia</i> sp.	44,0	229,1	12,0

Vzorcev kostanjevega, ajdovega, smrekovega medu smo imeli zaradi sezone in časa trajanja projekta zelo malo, zato bomo več rezultatov za te vrste medu pridobili tekom projekta v naslednjih programskih letih.



Slika 12: Primerjava vsebnosti skupnih fenolnih spojin (FC) ter antioksidativne učinkovitosti s FRAP in DPPH• metodo (pri vrstah označenih z * zaradi majhnega števila vzorcev prikazujemo dejansko vrednost)

Temni medovi (kostanjev, smrekov, hojev, gozdni) vsebujejo več fenolnih spojin ter imajo višjo antioksidativno učinkovitost (Bertoncelj, 2008). V naši raziskavi imata višjo antioksidativno učinkovitost kot cvetlični ter akacijev med tudi med oljne ogrščice ter lipov med (slika 12). Vzorci lipovega medu so bili glede na električno prevodnost maninega izvora, zato je višja aktivnost pričakovana, za med oljne ogrščice pa v slovenski literaturi ni podatkov.

17.3.2 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 pa 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. 41. Za kostanjev, smrekov ter ajdov zaradi majhnega števila vzorcev rezultate prikazujemo brez statističnih parametrov, saj je bilo vzorcev za statistično obdelavo premalo.

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

AKACIJEV MED (N=4)

Preglednica 33: Rezultati protimikrobne aktivnosti akacijevga medu

Št. vzorca	<i>Staphylococcus aureus</i>				<i>Escherichia coli</i>				<i>Listeria monocytogenes</i>				<i>Bacillus cereus</i>				<i>Pseudomonas aeruginosa</i>			
	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 2020-6	62,5	3,1	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-26	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2020-27	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2020-31	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25
Povprečje	390,6	19,5	-	-	375,0	18,8	-	-	437,5	21,9	-	-	375,0	18,8	-	-	437,5	21,9	-	-
S.D.	218,8	10,9	-	-	144,3	7,2	0,0	0,0	125,0	6,3	-	-	144,3	7,2	-	-	125,0	6,3	-	-
MIN	62,5	3,1	125,0	6,3	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
MAKS	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	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; -:povprečna vrednosti ne more biti izračunana, ker MBK ni prikazana kot število

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

CVETLIČNI MED (N=13)

Preglednica 34: 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 2020-1	500,0	25,0	>500	>25	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 2020-2	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2020-3	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2020-4	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2020-5	31,3	1,6	62,5	3,1	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	125,0	6,3	250,0	12,5
K. MED 2020-10	250,0	12,5	500,0	25,0	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 2020-15	62,5	3,1	125,0	6,3	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-17	500,0	25,0	>500	>25	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 2020-18	31,3	1,6	62,5	3,1	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5
K. MED 2020-21	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2020-25	31,3	1,6	62,5	3,1	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-29	500,0	25,0	>500	>25	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 2020-32*	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0	500	25	>500	>25
Povprečje	12,5	14,2	-	-	447,9	22,4	-	-	333,3	16,7	-	-	447,9	22,4	-	-	395,8	19,8	-	-
S.D.	208,3	10,4	-	-	124,5	6,2	-	-	123,1	6,2	-	-	124,5	6,2	-	-	158,4	7,9	-	-
MIN	31,3	1,6	62,5	3,1	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5
MAKS	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	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; -:povprečna vrednosti ne more biti izračunana, ker MBK: ni prikazana kot število

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

GOZDNI MED (N=9)

Preglednica 35: 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 2020-7	15,6	0,8	31,3	1,6	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
K. MED 2020-9	31,3	1,6	62,5	3,1	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-13	31,3	1,6	62,5	3,1	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-14	15,6	0,8	31,3	1,6	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-22	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2020-23	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-24	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5
K. MED 2020-33	500,0	25,0	>500	>25	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 2020-36	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
Povprečje	177,1	8,9	273,4	13,7	243,1	12,2	-	-	236,1	11,8	472,2	23,6	250,0	12,5	437,5	21,9	277,8	13,9	-	-
S.D.	165,9	8,3	242,5	12,1	160,7	8,0	-	-	41,7	2,1	83,3	4,2	108,3	5,4	115,7	5,8	136,6	6,8	-	-
MIN	15,6	0,8	31,3	1,6	62,5	3,1	125,0	6,3	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5
MAKS	500,0	25,0	>500	>25	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;
-: povprečna vrednosti ne more biti izračunana, ker MBK: ni prikazana kot število

APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV
DELNO POROČILO ZA LETO 2020

LIPOV MED (N=9)

Preglednica 36: 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 2020-11	62,5	3,1	125,0	6,3	125,0	6,3	250,0	12,5	250	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-28	250,0	12,5	500,0	25,0	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
K. MED 2020-34	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-38	250,0	12,5	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-39	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
Povprečje	212,5	10,6	-	-	225,0	11,3	450,0	22,5	250,0	12,5	-	-	250,0	12,5	-	-	225,0	11,3	450,0	22,5
S.D.	83,9	4,2	-	-	55,9	2,8	111,8	5,6	176,8	8,8	-	-	176,8	8,8	-	-	55,9	2,8	111,8	5,6
MIN	62,5	3,1	125,0	6,3	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5	125,0	6,3	250,0	12,5
MAKS	250,0	12,5	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	>500	>25	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0

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 2020

MED OLJNE OGRŠČICE (N=4)

Preglednica 37: 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 2020-8	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2020-16	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2020-19	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25
K. MED 2020-20	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25
Povprečje	375,0	18,8	-	-	437,5	21,9	-	-	437,5	21,9	-	-	375,0	18,8	-	-	500,0	25,0	-	-
S.D.	144,3	7,2	-	-	125,0	6,3	-	-	125,0	6,3	-	-	144,3	7,2	-	-	0,0	0,0	-	-
MIN	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	500,0	25,0	>500	>25
MAKS	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	500,0	25,0	>500	>25	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;
-: povprečna vrednosti ne more biti izračunana, ker MBK ni prikazana kot število

KOSTANJEV MED (N=2)

Preglednica 38: 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 2020-35	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0
K. MED 2020-37	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0	250,0	12,5	500,0	25,0

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 2020

AJDOV MED

Preglednica 39: 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 2020-12	15,63	0,78	31,25	1,56	62,50	3,13	125,00	6,25	500,00	25	>500	>25	125,00	6,25	250,00	12,50	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

SMREKOV MED

Preglednica 40: Rezultati protimikrobne aktivnosti smrekovega 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 2020-30	250,0	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0

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

MED MEŠANICE LIPOVEGA IN KOSTANJEVEGA MEDU

Preglednica 41: 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 2020-40	250	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0	250	12,5	500,0	25,0

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

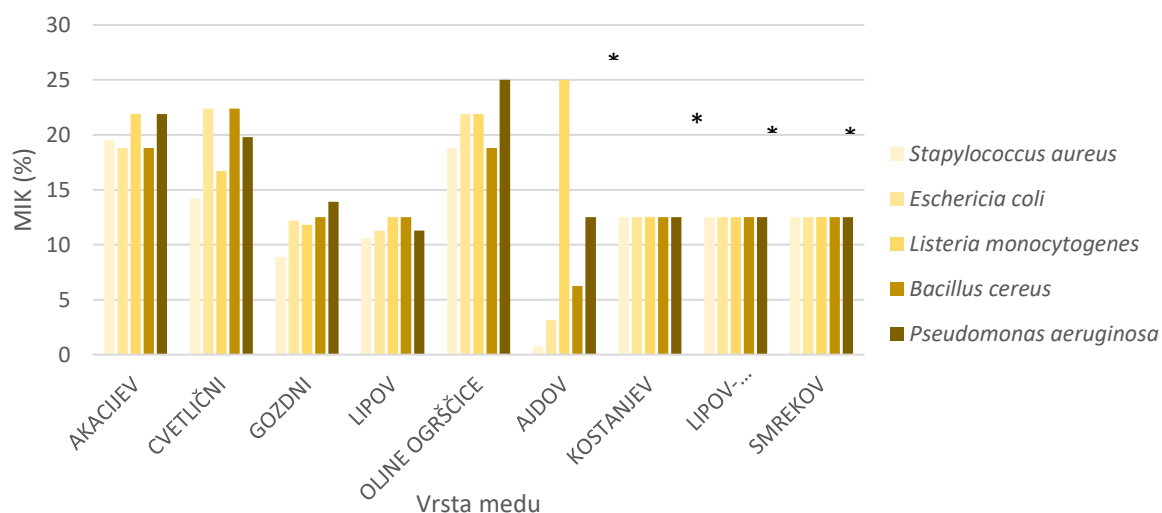
APLIKATIVNA RAZISKAVA KARAKTERIZACIJA ČEBELJIH PRIDELKOV DELNO POROČILO ZA LETO 2020

Vzorci slovenskega medu so bili učinkoviti na vse analizirane bakterijske vrste, največjo aktivnost kažejo vzorci gozdnega ter lipovega medu, sicer pa daleč največjo kaže ajdov med, vendar bolj konkretnih podatkov za ta med ne moremo podati, saj smo imeli samo en vzorec. Ajdov med je imel na *S. aureus* ter *E. coli* celo večjo protimikrobno aktivnost kot manukin med, ki slovi kot med z največjo protimikrobno aktivnostjo (Kralj Kunčič in sod., 2012). Povprečne MIK vrednosti prikazujeta preglednica 42 in slika 13. Večjo protimikrobno učinkovitost kažejo tudi vzorci kostanjevega in smrekovega medu, vendar pa bomo bolj točne zaključke podali v nadaljevanju raziskave, ko bomo imeli več vzorcev te vrste medu. Rezultati se ujemajo z raziskavo Kralj Kunčič in sod. (2012). Zanimivo je, da je imel vzorec ajdovega medu največjo protimikrobno aktivnost, kljub temu, da je bil pridobljen v letu 2019, kar kaže na to, da se protimikrobna učinkovitost s staranjem medu ne zmanjšuje. Vzorci so bili najbolj učinkoviti na bakterijo *S. aureus*, najmanj pa na *B. cereus* in *P. aeruginosa*. Ajdov med je imel od vseh vzorcev najmanjšo protimikrobno učinkovitost na bakterijo *L. monocytogenes*.

Preglednica 42: Povprečne vrednosti MIK (%) za posamezno vrsto medu

VRSTA MEDU	AKACIJEV MED		CVETLIČNI MED		GOZDNI MED		LIPOV MED		MED OLJNE OGRŠČICE	
	povprečje	S.D.	povprečje	S.D.	povprečje	S.D.	povprečje	S.D.	povprečje	S.D.
<i>Stapylococcus aureus</i>	19,5	10,9	14,2	10,4	8,9	8,3	10,6	4,2	18,8	7,2
<i>Eschericia coli</i>	18,8	7,2	22,4	6,2	12,2	8	11,3	2,8	21,9	6,3
<i>Listeria monocytogenes</i>	21,9	6,3	16,7	6,2	11,8	2,1	12,5	8,8	21,9	6,3
<i>Bacillus cereus</i>	18,8	7,2	22,4	6,2	12,5	5,4	12,5	8,8	18,8	7,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	21,9	6,3	19,8	7,9	13,9	6,8	11,3	2,8	25	0

S.D.: standardni odklon



Slika 13: Povprečne vrednosti (MIK) za posamezno vrsto medu (pri vrstah označnih z * zaradi majhnega števila vzorcev prikazujemo dejansko vrednost)

Vsi vzorci kažejo tudi na baktericidno aktivnost, ki pa je pri vseh manjša kot bakteriostatična. Med antioksidativno in protimikrobno učinkovitostjo slovenskega medu, tako kot tudi Kralj Kunčič in sod. (2012), ugotavljamo povezavo.

18 ZAKLJUČEK

Vzorci slovenskega medu kažejo tako antioksidativno kot protimikrobno učinkovitost proti analiziranim vrstam bakterij. Večjo učinkovitost imajo manini medovi (gozdni, kostanjev) pa tudi vzorci lipovega medu, ki je bil v veliki meri maninega izvora. V nadaljevanju raziskave upamo, da bodo medile tudi smreka, hoja in ajda, da bomo uspeli zagotoviti tudi te vrste medu, ki kažejo na večjo antioksidativno in protimikrobno učinkovitost.

19 VIRI

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

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

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

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

Bogdanov S., Jurendic T., Sieber R., Gallmann P. 2009. Honey for Nutrition and Health: A Review. *Journal of the American College of Nutrition*, 27, 6: 677-89

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

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

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>

Molyneux P. 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH•) for estimating antioxidant activity. *Songlanakarin 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 Chemistra*, 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

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 pf French honeys with different floral origin. *Apidologie*, 26, 1: 53-60

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