



Trajnostni projekt – Za medeno prihodnost

# Poročilo o raziskovalnem delu v čebelnjaku HOFER za leto 2022



## Lukovica, februar 2023

*Rezultati so nastali v letu 2022 v okviru trajnostnega projekta - Za medeno prihodnost podjetja HOFER trgovine d.o.o. POGODBA o sodelovanju pri raziskovalno-izobraževalnem projektu Hoferjev čebelnjak med HOFER trgovino d.o.o. in ČZS iz dne 03.01.2019*



## KAZALO VSEBINE

1	UVOD .....	4
1.1	CILJI RAZISKAVE .....	5
2	VITAMINI .....	5
2.1	Vitamini topni v vodi .....	5
2.2	Vitamini topni v maščobah.....	7
3	VITAMINI V CVETNEM PRAHU .....	9
4	CVETNI PRAH IZKOPANEC .....	10
5	DOLOČANJE POVZROČITELJEV MEDENJA.....	11
6	VSEBNOST SLADKORJA V MEDU .....	12
7	REZULTATI .....	13
7.1	BOTANIČNO POREKLO VZORCEV CVETNEGA PRAHU.....	13
7.2	VITAMINI.....	14
7.3	DOLOČANJE POVZROČITELJEV MEDENJA .....	17
7.4	VSEBNOST SLADKORJA V MEDU .....	23
7.5	ČEBELJI STRUP .....	23
8	POVZETEK OPRAVLJENEGA DELA 2022 .....	26
9	VIRI.....	27



## KAZALO PREGLEDNIC

Preglednica 1: Priporočeni dnevni vnosi elementov in vitaminov pri odraslih (19-65 let) (Referenčne vrednosti ..., 2020). .....	8
Preglednica 2: Vsebnost vitaminov v cvetnem prahu izkopancu letnik 2022 s statističnimi parametri min, max, povprečje in SD .....	14
Preglednica 3: Povprečne vrednosti vitaminov v cvetnem prahu leta 2021 in 2022 .....	14
Preglednica 4: Delež priporočenega dnevnega vnosa vitaminov ob zaužitju 25 g cvetnega prahu .....	16
Preglednica 5: Sestava posameznih vzorcev, vizualna ocena čistosti, ter rezultati analize prisotnosti melitina, skupnih beljakovin in vode .....	24

## KAZALO SLIK

Slika 1: Cvetni prah izkopanec.....	11
Slika 2: Zmlet vzorec izkopanca in priprava mikroskopskega preparata.....	13
Slika 3: Povprečne vsebnosti vitaminov v cvetnem prahu leta 2021 in 2022.....	15
Slika 4: Sankey diagram za prikaz rodov bakterij.....	18
Slika 5: Sankey diagram za prikaz rodov gliv.....	19
Slika 6: Sankey diagram za prikaz rodov rastlin.....	20
Slika 7: Sankey diagram za prikaz rodov nevretenčarjev. ....	21



## 1 UVOD

---

Čebelarstvo je v Sloveniji tradicionalna dejavnost, saj Slovenija po svetu slovi kot dežela avtohtone čebelje rase kranjske sivke (*Apis mellifera carnica*). Čebele in njihovi pridelki pa slovijo kot indikatorji čistosti okolja in v primeru propadanja čebeljih družin lahko takoj posumimo, da je nekaj v našem okolju hudo narobe. Seveda si čebelarji prizadevajo, da ohranjajo čebele, še posebej zaradi tega, ker so čebele glavne opraševalke različnega sadnega drevja, vrtnin in tudi nekaterih gospodarsko pomembnih kulturnih rastlin. S svojo dejavnostjo v naravi skrbijo za ohranjanje botanične raznovrstnosti.

Ob vsem tem pa nam čebele dajejo tudi čebelje pridelke, ki jih pogosto potrošniki poimenujejo zakladi čebeljega panja. Gre za edinstvena živila, ki ne bi smela manjkati na nobeni domači mizi, saj gre za popolnoma naravna živila, brez dodanih konzervansov, barvil in emulgatorjev, kar je v današnjem času prej izjema kot pa pravilo.

Za enkrat je najbolj prepoznaven čebelji pridelek med, vse bolj pa se v zadnjem času povečuje med potrošniki zanimanje tudi za ostale čebelje pridelke, še posebej za cvetni prah. Zaradi slednjega je nujno potrebno raziskati značilnosti in lastnosti tega pridelka z namenom, da se potrošnikom zagotovi zdrava in varna hrana. Cvetni prah je tudi dober indikator onesnaženosti v okolju, zaradi česar je izredno zanimiv proizvod. S pomočjo čebeljih družin, ki prebivajo v HOFERJEVEM raziskovalnem čebelnjaku, ki je postavljen v upravno-logističnem centru podjetja, smo v letu 2022 pozornost namenili proučevanju medu, cvetnega prahu in čebeljega strupa.

V letu 2022 smo poleg zbranih vzorcev medu, cvetnega prahu in čebeljega strupa, uspeli natočiti tudi nekaj kilogramov gozdnega medu, kar je znak dobrega dela s čebelami in dobre čebelarске sezone. Kljub temu smo nekaj medu, ki so ga čebele nabrale ob zadnjih pašah pustili v panjih za boljše prezimovanje čebeljih družin.

Čebeljak HOFER ima pridobljen certifikat ekološke pridelave medu in cvetnega prahu, ki je vsako leto kontroliran s strani certifikacijske organizacije. Poleg tega, pa je vključen tudi v evropsko shemo višje kakovosti Slovenski med z zaščiteno geografsko označbo.



## 1.1 CILJI RAZISKAVE

Z letom 2019 smo začeli s proučevanjem funkcionalnih lastnosti čebeljih pridelkov, kar smo nadaljevali tudi v preteklih treh letih. V cvetnem prahu smo v letu 2020 določali vsebnosti vitaminov in nekaterih elementov. V cvetnem prahu in medu smo se ukvarjali tudi s postopki za uspešno liofilizacijo obeh pridelkov ter vplivov liofilizacije na kemijske in funkcionalne lastnosti medu in cvetnega prahu. V letu 2021 smo pozornost namenili vsebnosti vitaminov v cvetnem prahu, sestavi čebeljega strupa in medenim masažam. V letu 2022 pa smo nadaljevali z ugotavljanjem vsebnosti vitaminov v cvetnem prahu, tokrat v cvetnem prahu izkopancu, nadaljevali smo tudi z ugotavljanjem sestave čebeljega strupa, pri medu pa smo raziskovali izvor in povzročitelje medenja. Poleg naštetega smo raziskovalni čebelnjak uporabljali za izobraževalne namene (tečaji za čebelarje začetnike in seminarji o vzreji matic v lastnem čebelarstvu). Z naštetim smo prispevali k delni realizaciji dolgoročnega cilja:

- spremljanje kakovosti, varnosti in proučevanje funkcionalnosti čebeljih pridelkov.

## 2 VITAMINI

---

Vitamine človeški organizem nujno potrebuje. Vključujejo se v presnovo in so pomembni za normalen potek nekaterih biokemijskih sprememb v našem organizmu. Zadosten vir vitaminov lahko zagotovimo le z uravnoteženo in zdravo prehrano z živili rastlinskega in živalskega izvora. Vitamine v osnovi delimo na tiste, ki so topni v vodi (Vitamini B kompleksa in vitamin C) in na tiste, ki so topni v maščobah (vitamin A, D, E in K).

### 2.1 VITAMINI TOPNI V VODI

V vodi topni vitamini se presnavljajo hitro in se ne morejo kopičiti v tkivih, zaradi tega lahko pride tudi do njihovega pomanjkanja.





Med vitamine B kompleksa prištevamo naslednje vitamine za katere obstajajo tudi priporočeni dnevni vnosi tiamin (vitamin B1), riboflavin (vitamin B2), niacin (vitamin B3), piridoksin (vitamin B6), folno kislino (vitamin B9), kobalamin (vitamin B12). Za pantotensko kislino in biotin pa obstajajo ocenjene vrednosti za priporočen vnos.

Na podlagi *Uredbe Komisije št. 432/2012 o seznamu dovoljenih zdravstvenih trditvev na živilih* za posamezne vitamine B kompleksa obstajajo tudi predpisane zdravstvene trditve, ki se ob izpolnjevanju pogojev uporabe takšne oznake lahko označujejo tudi na živilih.\*

\*Tiamin (vitamin B1) - prispeva k sproščanju energije pri presnovi, delovanju živčnega sistema, normalnemu psihološkemu delovanju. Ima vlogo pri delovanju srca.

\*Riboflavin (vitamin B2) - prispeva k sproščanju energije pri presnovi, delovanju živčnega sistema, ohranjanju zdravih sluznic in kože. Ima vlogo pri ohranjanju normalnih rdečih krvničk, ohranjanju vida in pri presnovi železa.

\*Niacin (vitamin B3) – prispeva k sproščanju energije pri presnovi, delovanju živčnega sistema, normalnemu psihološkemu delovanju, ohranjanju zdravih sluznic, kože, zmanjšanju utrujenosti in izčrpanosti.

\*Piridoksin (vitamin B6) - prispeva k sproščanju energije pri presnovi, delovanju živčnega sistema, presnovi homocisteina, normalnemu psihološkemu delovanju, zmanjševanju utrujenosti in izčrpanosti. Ima vlogo pri sintezi cisteina, presnovi beljakovin in glikogena, nastajanju rdečih krvničk, delovanju imunskega sistema, uravnavanju delovanja hormonov.

\*Folna kislina (vitamin B9) - prispeva k razvoju materinega tkiva med nosečnostjo, sintezi aminokislin, nastajanju krvi, presnovi homocisteina, normalnemu psihološkemu delovanju, delovanju imunskega sistema, zmanjševanju utrujenosti in izčrpanosti. Ima vlogo pri delitvi celic.

\*Kobalamin (vitamin B12) – prispeva k sproščanju energije pri presnovi, delovanju živčnega sistema, presnovi homocisteina, normalnemu psihološkemu delovanju, zmanjšanju utrujenosti in izčrpanosti. Ima vlogo pri nastajanju rdečih krvničk, delovanju imunskega sistema in delitvi celic.



\*Pantotenska kislina - prispeva k sproščanju energije pri presnovi, zmanjševanju utrujenosti in izčrpanosti, umskim zmogljivostim. Ima vlogo pri sintezi in presnovi steroidnih hormonov, vitamina D in nekaterih prenašalcev živčnih impulzov.

\*Biotin – prispeva k sproščanju energije pri presnovi, delovanju živčnega sistema, presnovi makrohranil, normalnemu psihološkemu delovanju, ohranjanju zdravih las, zdravih sluznic in kože.

Največji vir vitamina C je predvsem sveža zelenjava in sadje. Sodi med manj obstojne vitamine, saj se ob neprimernem skladiščenju in neustrezno pripravo in toplotno obdelavo hrane njegova koncentracija zmanjšuje. Občutljiv je na toploto, svetlobo in kisik. Tudi za vitamin C na podlagi *Uredbe Komisije št. 432/2012 o seznamu dovoljenih zdravstvenih trditvev na živilih* obstajajo predpisane zdravstvene trditve, ki se ob izpolnjevanju pogojev uporabe takšne oznake lahko označujejo tudi na živilih.\*

\*Vitamin C - prispeva k sproščanju energije pri presnovi, delovanju živčnega sistema, normalnem psihološkem delovanju, k obnovi reducirane oblike vitamina E. Ima vlogo pri delovanju imunskega sistema med intenzivno telesno dejavnostjo in po njej, nastajanju kolagena za normalno delovanje žil, kosti, hrustanca, dlesni, kože in zob. Ima vlogo pri delovanju imunskega sistema, zaščiti celic pred oksidativnim stresom. Povečuje absorpcijo železa.

## 2.2 VITAMINI TOPNI V MAŠČOBAH

Presnova vitaminov topnih v maščobah poteka počasi, telo jih lahko shrani v maščobnem tkivu. V maščobah topni vitamini so vitamin A, D, E in K. Viri v maščobah topnih vitaminov so živila rastlinskega in živalskega izvora.

Za v maščobah topne vitamine na podlagi *Uredbe Komisije št. 432/2012 o seznamu dovoljenih zdravstvenih trditvev na živilih* za obstajajo tudi predpisane zdravstvene trditve, ki se ob izpolnjevanju pogojev uporabe takšne oznake lahko označujejo tudi na živilih.\*



## Trajnostni projekt – Za medeno prihodnost

\*Vitamin A – prispeva k ohranjanju zdravih sluznic in kože. Ima vlogo pri presnovi železa, ohranjanju vida, delovanju imunskega sistema in specializaciji celic.

\*Vitamin D - prispeva k normalni absorpciji Ca in P, normalni ravni Ca v krvi, ohranjanju zdravih kosti, zob, delovanju mišic in imunskega sistema. Ima vlogo pri delitvi celic.

\*Vitamin E - ima vlogo pri zaščiti celic pred oksidativnim stresom.

\*Vitamin K – prispeva k normalnemu strjevanju krvi in ohranjanju zdravih kosti.

Preglednica 1: Priporočeni dnevni vnosi elementov in vitaminov pri odraslih (19-65 let) (Referenčne vrednosti ..., 2020).

Potrebe po vitaminih	Moški	Ženske
vitamin A <sup>1</sup> (mg ekvivalent)	1,0	0,8
vitamin C <sup>1</sup> (mg)	110	95
vitamin D <sup>1</sup> (μg)	20	20
vitamin E <sup>2</sup> (mg ekvivalent)	13–15	12
vitamin K <sup>2</sup> (μg)	70–80	60–65
tiamin (B1) <sup>1</sup> (mg)	1,2–1,3	1,0
riboflavin (B2) <sup>1</sup> (mg)	1,3–1,4	1,0–1,1
niacin (B3) <sup>1</sup> (mg ekvivalent)	15–16	11–13
piridoksin (B6) <sup>1</sup> (mg)	1,6	1,4
folna kislina (B9) <sup>1</sup> (μg)	300	300
kobalamin (B12) <sup>1</sup> (μg)	4	4
pantotenska kislina <sup>2</sup> (mg)	6	6
biotin <sup>2</sup> (μg)	30–60	30–60

<sup>1</sup> Priporočeni dnevni vnos.

<sup>2</sup> Ocenjene vrednosti za priporočen vnos.





### 3 VITAMINI V CVETNEM PRAHU

---

V cvetnem prahu se nahajajo večinoma vsi vitamini v koncentracijah med 0,02 in 0,7 g/100 g (Farag in El-Rayes, 2016). V njem so zastopani v maščobah topni vitamini, kot so vitamin A, D, E, in v vodi topni vitamini, kot so vitamini skupine B (vitamin B1 (tiamin), vitamin B2 (riboflavin), vitamin B6 (piridoksin), niacin, pantotenska kislina, folna kislina (folat) in biotin) in vitamin C (Percie du Sert, 2006; Soares de Arruda in sod., 2013). Vsebnost vitaminov v cvetnem prahu se razlikuje glede na botanično poreklo in časovno obdobje pridobivanja (Soares de Arruda in sod., 2013).

De Arruda in sod. (2013) so v sedmih svežih in posušenih vzorcih cvetnega prahu iz Brazilije določili vsebnost v vodni topnih vitaminov B kompleksa. V svežih vzorcih cvetnega prahu so določili vsebnost tiamina (vitamina B1) v koncentraciji med 0,59 in 1,09 mg/100 g suhe snovi. Vsebnost riboflavina (vitamina B2) je bila v območju 1,73 do 2,56 mg/100 g suhe snovi. Vsebnost niacina (vitamina B3) je bila v območju 6,43 do 15,34 mg/100 g suhe snovi, vsebnost piridoksina (vitamina B6) pa od 0,33 do 0,79 mg/100 g suhe snovi. V raziskavi so potrdili, da se koncentracije vitaminov niso statistično značilno razlikovale med vzorci svežega cvetnega prahu in vzorci posušenega cvetnega prahu. Vzorce so nato izpostavili različnim pogojem skladiščenja: na sobni temperaturi v temi, na sobni temperaturi na svetlobi in zmrzovanju. Po letu dni skladiščenja je ostala nespremenjena koncentracija vitamina B1, medtem ko je bila vsebnost ostalih vitaminov variabilna predvsem glede na čas skladiščenja in ne toliko glede na pogoje skladiščenja.

Podobno študijo so prav tako opravili de Arruda in sod. (2013) na sedmih posušenih vzorcih cvetnega prahu iz Brazilije. Določene koncentracije vitaminov B kompleksa so bile v naslednjih koncentracijah: vitamin B1 od 0,64–1,01 mg/100 g, vitamin B2 od 1,77–2,56 mg/100 g, niacin (vitamin B3) od 7,27–14,43 mg/100 g in vitamin B6 od 0,33–0,77 mg/100 g.

Almeida Muradian in sod. (2005) so analizirali deset različnih vzorcev cvetnega prahu iz južne Brazilije. Prevladujoči pelod so predstavljale botanične družine Asteraceae, Arecaceae in Myrtaceae. Potrdili so pomanjkanje vitamina C in beta karotena v vzorcih iz navedenih botaničnih družin.



Barajas in sod. (2009) so spremljali vpliv toplotne obdelave cvetnega prahu na spremembo vsebnosti vitamina C in provitaminov (beta karoteni), ki so perkurzorji za sintezo vitamina A. Ugotovili so, da se vsebnost vitamina C zmanjšuje z višanjem temperature sušenja cvetnega prahu. Proces sušenja pospeši oksidacijo askorbinske kisline, kar vpliva na zmanjšanje vsebnosti vitamina C v posušenem cvetnem prahu. Karotenoidi so zelo občutljivi na kisik in svetlobo. V odsotnostih slednjih pa so lahko zelo stabilni tudi pri visokih temperaturah. Njihovo razpadanje pospešujejo radikali, ki nastajajo kot posledica maščobne oksidacije v hrani. Med sušenjem cvetnega prahu se zmanjša vodna aktivnost, kar lahko privede do koncentriranja antioksidantov in ohranitve karotenoidov. Raziskovalci so ugotovili, da se cvetni prah med seboj razlikuje v vsebnosti karotenoidov glede na botanično in geografsko poreklo. V vsebnosti karotenoidov ni bilo statistično značilnih razlik med svežim cvetnim prahom in cvetnim prahom sušenim na 34 °C. Sušenje cvetnega prahu na 45 °C pa povzroči večje izgube vsebnosti karotenoidov.

Zaradi ohranitve biološke učinkovitosti cvetnega prahu je pri njegovi obdelavi vedno potrebno izbrati takšen postopek, ki najmanj vpliva na slabšanje oz. izgubo biološko aktivnih spojin.

Baky in sod. (2023) so povzeli raziskave o fizikalno-kemijskih lastnostih in prehranski vrednosti cvetnega prahu osmukanca in izkopanca. Cvetni prah v obeh oblikah vsebuje v maščobi topne vitamine A, D, E in K, ter v vodi topne vitamine C in B kompleks, vsebnosti pa so odvisne od botaničnega izvora in časa nabiranja. Poročajo o relativno visoki vsebnosti vitamina E (tokoferol) tako v osmukancu kot v izkopancu. Analize 20 vzorcev cvetnega prahu iz južne Brazilije so pokazale vsebnosti  $\alpha$ -tokoferola od 5-73  $\mu\text{g/g}$ . Vzorci cvetnega prahu izkopanca iz severne Portugalske so vsebovali bistveno večje koncentracije tokoferola od vzorcev cvetnega prahu osmukanca. Poročajo o višjih vsebnostih vitamina C v cvetnem prahu osmukancu (14-797  $\mu\text{g/g}$ ) kot v cvetnem prahu izkopancu (0,06-0,11  $\mu\text{g/g}$ ).

## 4 CVETNI PRAH IZKOPANEC

---

Čebele v panj prinesejo cvetni prah na posebni strukturi, ki ji pravimo košek. Vsaka čebela prinese cvetni prah z izvorom iz bolj ali manj ene rastlinske vrste, katero obišče tekom svojega

izleta iz panja. Če nastavimo na panje osmukalnike, lahko te grude cvetnega prahu čebelam odvzamemo pred vhodom v panj, potem pa jih lahko preberemo po različnih barvah in tako dobimo cvetni prah določenega botaničnega porekla. Ko pa čebele prinesejo cvetni prah v panj, ga odložijo v celice satja. Da zapolnijo eno celico, morajo vanjo natlačiti kar nekaj grudic, ki so lahko različnega porekla. Ko je celica dovolj polna, jo čebele zalijejo z medom. Tako skladiščen cvetni prah prične fermentirati, posledično se spreminjajo njegove fizikalno-kemijske lastnosti. V letu 2022 smo se osredotočili na vsebnost vitaminov v cvetnem prahu izkopancu, z namenom primerjave rezultatov prejšnjih let, s cvetnim prahom osmukancem. Zaradi procesa skladiščenja cvetnega prahu v panju, težje dobimo cvetni prah izkopanec določenega botaničnega porekla, čeprav ga pridobivamo iz sosednjih celic enega sata.



*Slika 1: Cvetni prah izkopanec*

## 5 DOLOČANJE POVZROČITELJEV MEDENJA

---

Na vzorcu medu, ki smo ga pridobili s Hoferjevega čebelnjaka smo opravili molekularne analize. V vzorcu medu smo z molekularnimi metodami analizirali molekularni odtis. S tem smo ugotavljali prisotnost specifičnih zaporedij DNK bakterij, gliv, rastlin in nevretenčarjev. Zastopanost organizmov se lahko med vzorci močno razlikuje.

Molekularna metoda za določanje prisotnosti DNK botaničnega, entomološkega, glivnega in bakterijskega izvora temelji na dognanjih, da čebele ob nabiranju mane, nektarja in cvetnega prahu iz okolja hkrati prinašajo tudi ostanke živih organizmov, ki so kakorkoli povezani z medenjem. DNK metabarcoding je pristop, ki temelji na identifikaciji vrst na podlagi



medvrstnih razlik v kratkih regijah na njihovi DNK. Na podlagi podatkov, ki jih pridobimo v teh regijah, lahko določimo vrste, ki ustrezajo določenemu taksonu.

Podatke, pridobljene s tovrstno analizo lahko uporabimo za določanje rastlinskega izvora medu in ugotavljanje ostalih izvorov okoljske DNK, med katere sodijo nekatere vrste rodu Hemiptera (polkrienci, to so žuželke, ki proizvajajo mano s sesanjem floemskega soka rastlin), bakterije in glive. Njihova DNK je dovolj obstojna, da na podlagi prisotnosti značilnih nukleotidnih zaporedij sklepamo o posrednem ali neposrednem vplivu teh organizmov na kakovost medu ter njegove kemijske in fizikalne lastnosti.

## 6 VSEBNOST SLADKORJA V MEDU

---

V medu je prisotnih več sladkorjev, bistveno največji delež pa predstavljata fruktoza in glukoza. Po Pravilniku o medu (Uradni list RS, št. 4/11, 26/14 – ZKme-1B in 9/15) mora biti skupna vsebnost fruktoze in glukoze za cvetlični med najmanj 60 g /100 g medu, za gozdni med in mešanico medu pa najmanj 45 g/100 g medu. Povprečno razmerje med fruktozo in glukozo v slovenskem medu je 1,3, za gozdni med pa 1,2 (Korošec in sod., 2016). Določena je tudi najvišja vsebnost sladkorja saharoze in sicer 5 g/100 g medu, oziroma največ 10g /100 g medu za akacijev med. Višje vsebnosti saharoze so lahko posledica dodajanja večje količine saharoznega sirupa za krmljenje družin. Čebele izločajo encim  $\alpha$ -glukozidazo, ki saharozo razgradi do fruktoze in glukoze, zato je vrednost saharoze povišana zgolj v primeru dodatka večjih količin takšnega sirupa (Kandolf Borovšak, 2019).

## 7 REZULTATI

---

### 7.1 BOTANIČNO POREKLO VZORCEV CVETNEGA PRAHU

V analizo smo poslali 5 vzorcev cvetnega prahu izkopanca, ki smo jih nabrali iz različnih panjev v čebelnjaku. Vsak vzorec pa je nabran iz enega sata. Najprej smo s pelodno analizo ugotavljali botanični izvor vzorcev cvetnega prahu.

V vseh petih vzorcih prevladuje cvetni prah pravega kostanja v deležih od 56% do 74%. V vseh vzorcih je v manjših deležih prisoten tudi cvetni prah plazeče detelje, nebinovk in trpotca.



Slika 2: Zmlet vzorec izkopanca in priprava mikroskopskega preparata



## 7.2 VITAMINI

Podatki o vsebnosti vitaminov v cvetnem prahu so še vedno redki, v nadaljevanju bodo predstavljeni rezultati analize vsebnosti vitaminov v cvetnem prahu izkopenca. V analizo smo poslali 5 vzorcev cvetnega prahu izkopenca.

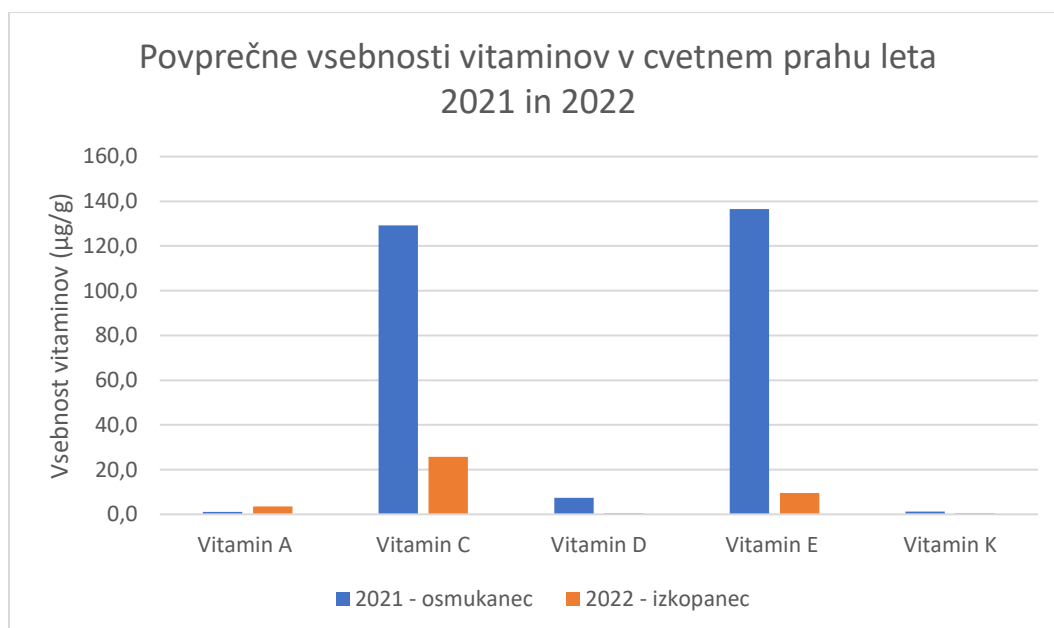
Preglednica 2: Vsebnost vitaminov v cvetnem prahu izkopenca letnik 2022 s statističnimi parametri min, max, povprečje in SD

vzorec	Vitamin A ( $\mu\text{g/g}$ )	Vitamin C ( $\mu\text{g/g}$ )	Vitamin D ( $\mu\text{g/g}$ )	Vitamin E ( $\mu\text{g/g}$ )	Vitamin K ( $\mu\text{g/g}$ )
H1	3,1	24,5	0,5	12,6	0,2
H2	3,5	24,0	0,3	11,2	0,4
H3	3,6	24,0	0,5	8,7	1,0
H4	3,8	23,5	0,4	7,7	0,6
H5	3,3	32,9	0,9	7,7	0,1
MIN	3,1	23,5	0,3	7,7	0,1
MAX	3,8	32,9	0,9	12,6	1
POVPREČJE	3,5	25,8	0,5	9,6	0,5
SD $\pm$	0,24	3,57	0,20	1,98	0,32

Preglednica 3: Povprečne vrednosti vitaminov v cvetnem prahu leta 2021 in 2022

Vzorci	Povprečne vrednosti				
	Vitamin A ( $\mu\text{g/g}$ )	Vitamin C ( $\mu\text{g/g}$ )	Vitamin D ( $\mu\text{g/g}$ )	Vitamin E ( $\mu\text{g/g}$ )	Vitamin K ( $\mu\text{g/g}$ )
2021 - osmukanec	1,1	129,3	7,37	136,6	1,27
2022 - izkopenec	3,5	25,8	0,5	9,6	0,5





Slika 3: Povprečne vsebnosti vitaminov v cvetnem prahu leta 2021 in 2022

Leta 2022 analiziran cvetni prah izkopanec je tako kot leta 2021 analiziran cvetni prah osmukanec vseboval največ vitamina C in vitamina E. (preglednica 3 in slika 1)

Če primerjamo vsebnosti vitaminov med cvetnim prahom osmukancem in izkopancem analiziranim v okviru te projektne naloge vidimo, da je cvetni prah osmukanec vseboval vseh vitaminov več, razen vitamina A, katerega smo v izkopancu določili trikrat več. (preglednica 3)

Baky in sod. (2023) v svojem članku navajajo višje vsebnosti vitamina E v izkopancu v primerjavi z osmukancem nabranem na Portugalskem. Tudi vrednosti so bistveno višje, saj navajajo vsebnost  $\alpha$ -tokoferola (vitamin E) v izkopancu od 1000-37000  $\mu\text{g/g}$ , naši vzorci pa so ga vsebovali od 7 – 12,6  $\mu\text{g/g}$ . Glede vsebnosti vitamina C navajajo višje vsebnosti v osmukancu (14-797  $\mu\text{g/g}$ ), enako kot je bilo pri naših vzorcih (1,7-514,7  $\mu\text{g/g}$ ). Pri izkopancu navajajo manjše vrednosti vitamina C (0,06-0,11  $\mu\text{g/g}$ ), pri naših vzorcih pa so bile te vrednosti nekoliko višje (23,5-32,9  $\mu\text{g/g}$ ) (preglednici 2 in 3).

Aylanc in sod. (2021) navajajo višje vsebnosti vitamina K v cvetnem prahu izkopancu, v naših vzorcih pa ga je bilo več v osmukancu (preglednica 3).



Preglednica 4: Delež priporočenega dnevnega vnosa vitaminov ob zaužitju 25 g cvetnega prahu

	Vitamin A %	Vitamin C %	Vitamin D %	Vitamin E %	Vitamin K %
2021 - osmukanec	2,8	2,9	920,8	24,4	42,4
2022 - izkopanec	8,7	0,6	65,0	1,7	15,3

V preglednici 4 so predstavljeni deleži vnosa vitaminov glede na priporočene vrednosti (Referenčne vrednosti ..., 2020) za odraslega moškega ob zaužitja 25 g cvetnega prahu s povprečno vsebnostjo vitaminov po podatkih naše raziskave. Bistveno izstopa visoka prekoračitev dnevne priporočene vrednosti pri vitaminu D za cvetni prah osmukanec, ki znaša kar 920,8 % priporočenega dnevnega vnosa. Ker podatkov drugih raziskav o vsebnosti vitamina D v cvetnem prahu do tega časa praktično ni, ne moramo narediti primerjave. V nadaljevanju je smiselno dodatno raziskovanje vsebnosti vitamina D v cvetnem prahu ki predstavlja potencialno zelo dober vir omenjenega vitamina. Tudi izkopanec je povprečno vseboval visoke vrednosti vitamina D in bi z uživanjem 25 g dnevno pokrili 65 % dnevnega vnosa za vitamin D. Z uživanjem cvetnega prahu lahko glede na naše podatke v večjem deležu zagotovimo tudi potrebam po vitaminu K (42,4 % za osmukanec in 15,3 % za izkopanec), po vitaminu E pri uživanju osmukanca (24,4 %), ter potrebi po vitaminu A z uživanjem izkopanca (8,7%). Kljub temu, da analiziran cvetni prah vsebuje veliko vitamina C glede na vsebnost ostalih vitaminov, z uživanjem tega čebeljega pridelka pokrijemo majhen delež dnevne potrebe po vitaminu C, priporočen dnevni vnos je bistveno višji.

Pri cvetnem prahu izkopancu so vrednosti vitaminov med vzorci precej primerljive, za razliko od vsebnosti vitaminov pri cvetnem prahu osmukancu, kjer so bile razlike večje, posamezni vzorci so izstopali po vsebnosti določenega vitamina. Razlog za to so različne lastnosti cvetnega prahu osmukanca določenega botaničnega porekla, cvetni prah izkopanec pa je mešanica cvetnega prahu različnih rastlin, vzorci pa so bili nabrani na isti lokaciji (HOFERjev raziskovalni čebelnjak), zato so vsebnosti vitaminov različnih vzorcev zelo podobne.



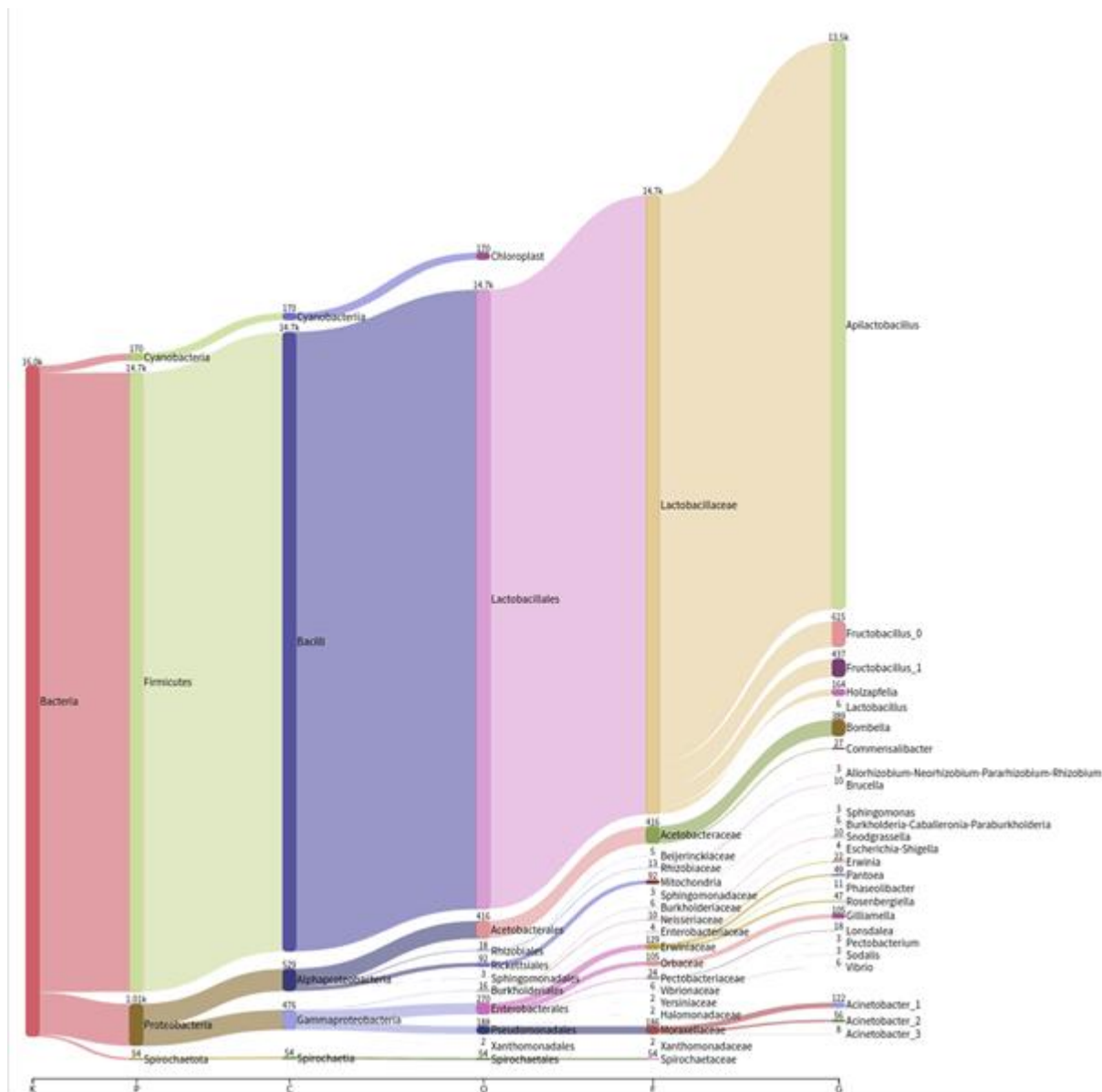
### 7.3 DOLOČANJE POVZROČITELJEV MEDENJA

#### **Prikaz rezultatov (Sankey diagram)**

Slike 4, 5, 6 in 7 prikazujejo zastopanost predstavnikov štirih kraljestev – bakterije, glive, nevretenčarje in rastline – ki smo jih z molekularnimi analizami in bioinformatično analizo določili v vzorcu medu z oznako H22.

Na x osi so kratice za posamezne taksonomske ravni (K-kraljestvo oz. Kingdom; P-deblo oz. Phylum; C-razred oz. Class; O-red oz. Order; F-družina oz. Familia; G-rod oz. Genus; S – vrsta oz. Species). Uvrstitve v taksonomijo so v latinščini.

a. Bakterije



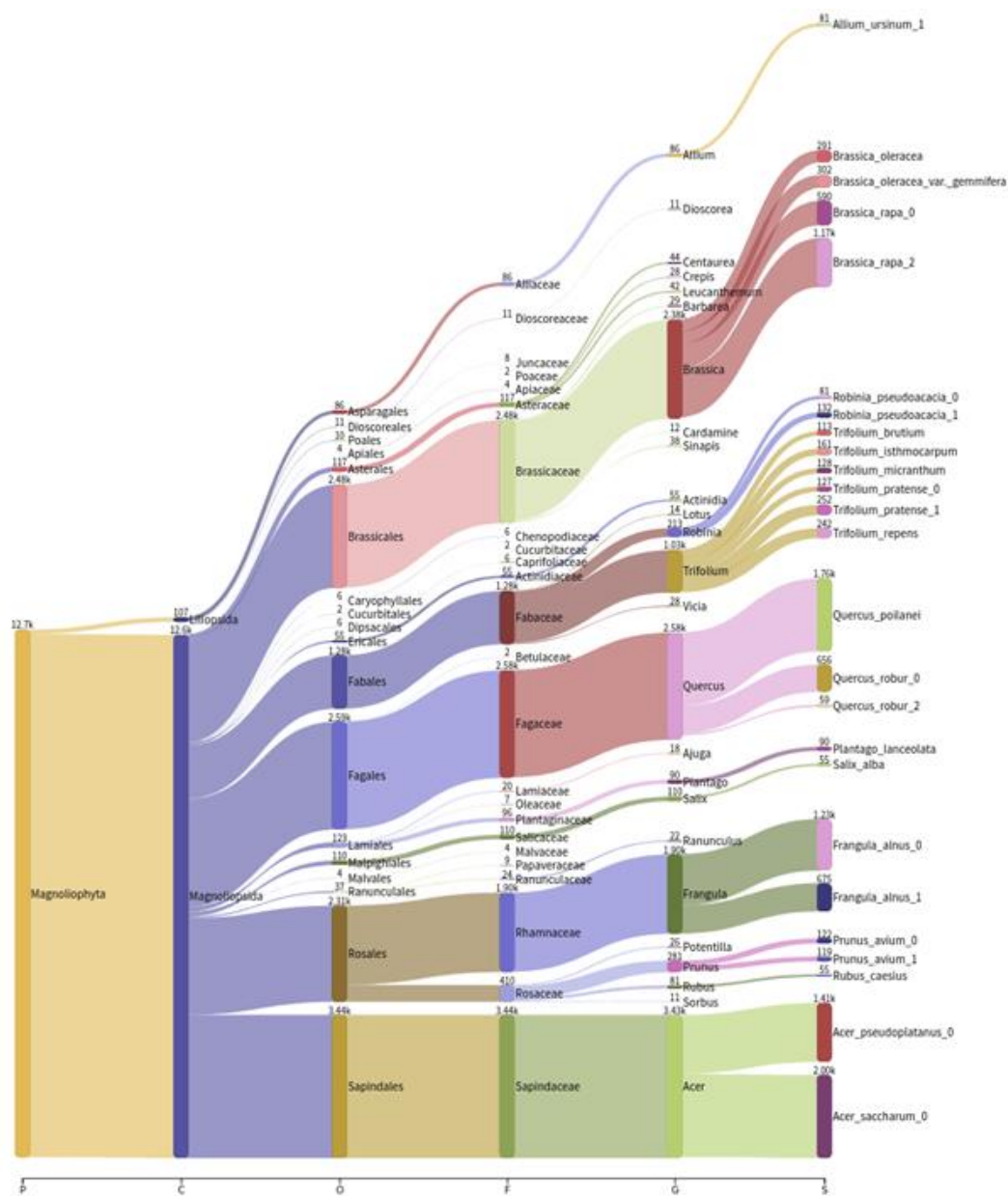
Slika 4: Sankey diagram za prikaz rodov bakterij.

Med bakterijami smo v vzorcu H22 identificirali 29 rodov. Največji delež pomnoženih zaporedij predstavlja rod *Apilactobacillus*, kamor spada tudi vrsta *A. kunkeei*, simbiot čebel, ki naj bi ugodno vplival na zdravje čebel. Pomemben del črevesne biote čebel so tudi



Med glivami smo skupno identificirali 30 rodov. Med njimi prisotni rodovi *Candida*, *Rhodotorula* in *Zygosaccharomyces* so običajno zastopani v medu. V vzorcu nismo identificirali zaporedij, značilnih za rod *Aspergillus*.

c. Rastline

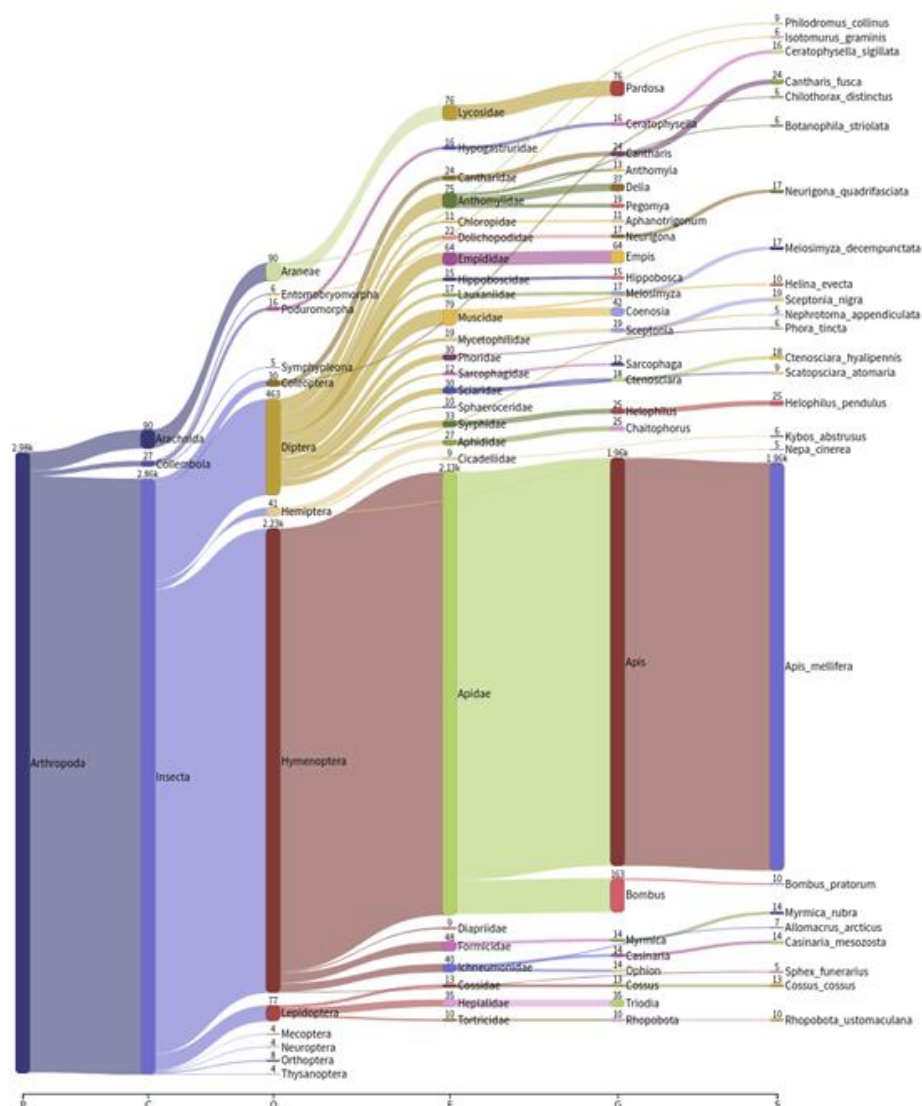


Slika 6: Sankey diagram za prikaz rodov rastlin.



Med rastlinami smo skupno identificirali 46 rodov. Široko zastopan je rod *Acer* (javor), *Quercus* (hrast), *Trifolium* (detelja), *Brassica* (ogrščica), *Frangula* (krhlika), *Rubus* (robida), *Prunus* (sliva), *Robinia* (robinija) itd. Pričakovano bi moral biti v analizi prisoten tudi pravi kostanj (*Castanea sativa*), vendar v regiji ITS, ki je bila uporabljena v tokratni analizi, ni mogoče nedvoumno razločevati med bližnje sorodnima rodovoma *Quercus* in *Castanea*. Bolj natančno razločevanje bo mogoče ob razvoju referenčne baze rastlinskih vrst in z dodatno prilagojenimi protokoli za izbor informativnih regij.

#### d. Nevretenčarji



Slika 7: Sankey diagram za prikaz rodov nevretenčarjev.



Med nevretenčarji smo skupno identificirali 58 rodov. Pričakovano je prisoten rod *Apis* – vrsta *Apis mellifera* (medonosna čebela). Kljunate žuželke (red *Hemiptera*) so zastopane s tremi rodovi (*Nepa*, *Kybos* in *Chaitophorus*), od teh zgolj predstavniki rodov *Kybos* in *Chaitophorus* sesajo floemski sok rastlin in ga izločajo kot mano, čebele pa to mano nabirajo. Veliko je dvokrilcev, identificirali pa smo tudi DNK hroščev, metuljev, čmrljev, mravelj in pajkov. Ta raznolikost organizmov, ki so svoj molekularni odtis pustili v medu, priča o pestrosti okolja v katerem je med zorel.

### **Primerjava rezultatov**

V sorodni študijah, opravljeni na tem področju, so v več vzorcih identificirali skupno 552 rodov rastlin, 472 rodov bakterij, 122 rodov gliv in 23 rodov nevretenčarjev. Pojavnost rodov se lahko med vzorci močno razlikuje. Tako lahko v vzorcu identificiramo samo nekaj čez 20 rodov do več 100 različnih rodov. Pojavnost rodov je odvisna od okoljskih razmer in geografskega izvora. Vidimo, da so v medu lahko prisotne vse štiri komponente: bakterije, glive, rastline in nevretenčarji. Kot zanimivost, med vrstami, ki so bile identificirane v vseh vzorcih medu, ki so bili analizirani v sorodni študiji, se pojavlja bakterija *Apilactobacillus kunkeei*, simbiot čebel, ki naj bi ugodno vplival na njihovo zdravje. Za določanje botaničnega izvora si lahko v veliki meri pomagamo s pelodnimi analizami. Podatki o prisotnosti gliv, bakterij in nevretenčarjev pa do sedaj nismo bili dostopni. Prisotnost gliv in bakterij v medu nakazuje na možnost naravne prisotnosti za med tujih encimov, ki smo jih do sedaj povezovali zgolj s potvorbami medu.

### **Zaključek**

V analiziranem vzorcu medu smo identificirali 29 rodov bakterij, 30 rodov gliv, 46 rodov rastlin in 58 rodov nevretenčarjev. Med identificiranimi rodovi nismo zaznali večjih posebnosti. Zastopanost rastlinskih rodov se sklada z vrstno določitvijo, da gre za gozdni med. Izmed bakterijskih rodov, smo v analiziranem vzorcu identificirali čebelam simbiotske organizme. V vzorcu nismo zaznali prisotnosti bakterij hude gnilobe. Tudi v čebelnjakih, kjer ni prisotnih bolezenskih znakov hude gnilobe je možno zaznati DNK sekvence teh bakterij.

Raziskave na tem področju so še v povojih. Tovrstne raziskave prispevajo k vzpostavitvi podatkovnih zbirk taksonomskih zaporedij rastlin in povzročiteljev medenja v Sloveniji. Večje



število tovrstnih analiz bi omogočilo razumevanje na kakšen način določeni organizmi vplivajo na lastnosti medu.

#### 7.4 VSEBNOST SLADKORJA V MEDU

Od leta 2020 je HOFERjev raziskovalni čebelnjak vključen v evropsko shemo kakovosti Slovenski med z zaščiteno geografsko označbo, kar pomeni, da moramo višjo kakovost medu dodatno kontrolirati z laboratorijskimi analizami. V letošnjem letu smo pridelan gozdni med z lotom 1/2022 dodatno analizirali na vsebnost fruktoze, glukoze in saharoze. Vsota fruktoze in glukoze v vzorcu medu znaša 65,1 g/100 g medu, kar ustreza Pravilniku o medu, razmerje med fruktozo in glukozo pa znaša 1,31, kar je nekoliko več od povprečja za slovenski gozdni med, ki znaša 1,2 (Korošec in sod., 2016). Vsebnost saharoze v vzorcu gozdnega medu z lotom 1/2022 je pod mejo detekcije aparature, kar je skladno s Pravilnikom o medu in Pravilnikom o Slovenskem medu z zaščiteno geografsko označbo, kjer je navedeno, da mora med vsebovati <5 g saharoze na 100 g medu.

#### 7.5 ČEBELJI STRUP

Čebelji strup je zagotovo eden manj znanih in raziskanih čebeljih pridelkov, a kljub temu pridelek z velikim potencialom. Da bi čebelarjem približali, olajšali in da bi ne nazadnje tudi optimizirali njegovo pridelavo, smo na Čebelarski zvezi Slovenije v letu 2020 začeli izvajanje aplikativne raziskave: Optimizacija tehnologije pridelave čebeljega strupa. V sklopu omenjene raziskave smo strup pridobivali pri čebeljih družinah v standardnih deset satnih AŽ- in standardnih LR-panjih, ki so postavljeni na isti lokaciji, v raziskovalnem čebelnjaku podjetja Hofer v okolici Lukovice. V prvem letu smo med seboj primerjali različne naprave za pridobivanje strupa, v drugem letu različna mesta pridobivanja, v tretjem različno trajanje pridobivanja, v vseh treh letih pa smo spremljali tudi lastnosti čebeljih družin (mirnost, moč, kakovost in obseg zalege, zaloga medu in zaloga cvetnega prahu) ter preverjali vpliv omenjenih lastnosti čebeljih družin na pridelavo strupa ter vpliv pridobivanja strupa na čebelje družine in njihove lastnosti.

V tretjem letu trajanja raziskave, v letu 2022, smo na 12 čebeljih družinah strup pridobivali z zbiralniki fakultete za strojništvo in le na mestih LR zgoraj in AŽ zadaj ter med drugim



spremljali tudi vpliv trajanja pridobivanja na količino čebeljega strupa. Pri polovici čebeljih družin smo strup pridobivali 30 minut, pri drugi polovici pa 45 minut. Količina pridelanega strupa je bila pri 45-minutnem pridobivanju v povprečju večja za 22 %. Glede na to, da smo v tem letu uporabili naprave in mesta pridobivanja, ki so se v preteklih letih izkazali kot najboljši, razlik v oceni kakovosti čebeljega strupa med posameznimi skupinami vzorcev (AŽ- in LR-panj, 30- in 45-minutno pridobivanje) ni bilo.

Strup pridelan v Hoferjem raziskovalnem čebelnjaku v letu 2022 smo konec leta poslali tudi na analizo, z namenom preveriti vsebnost melitina, skupnih beljakovin in vsebnost vode. Vzorce številka 1, 2 in 3 smo sprva ocenili glede na vizualno oceno čistosti (ocene od 1 do 4, kjer 1 pomeni najboljšo, 4 pa najslabšo oceno). Sestava posameznih vzorcev, vizualna ocena čistosti, ter rezultati analize prisotnosti melitina, skupnih beljakovin in vode pa so razvidni iz preglednice 5.

*Preglednica 5: Sestava posameznih vzorcev, vizualna ocena čistosti, ter rezultati analize prisotnosti melitina, skupnih beljakovin in vode*

Številka vzorca	Ocena čistosti vzorca	Analiza vsebnosti melitina	Analiza vsebnosti skupnih beljakovin	Analiza vsebnosti vode
1	2	46,4 %	53,97 %	10,58 %
2	1	54,6 %	70,91 %	8,67 %
3	1	56,4 %	74,19 %	7,03 %

Tako kot analize vzorcev opravljene v letu 2021 tudi analize opravljene v letu 2022 nakazujejo na povezavo med vizualno oceno čistosti vzorcev čebeljega strupa in pa vsebnostjo melitina v samih vzorcih. Podatki iz literature namreč navajajo, da je vsebnost melitina glavni odločujoči faktor, ki označuje kvaliteto pridobljenega strupa. Opravljene analize pa so pokazale da strup s slabšo oceno čistosti vsebuje manj melitina kot strup z boljšo oceno čistosti. V primeru podatkov iz leta 2022 pa opazamo tudi da imata vzorca čebeljega strupa z enako oceno čistosti tudi zelo podobo vsebnost melitina.



## Trajnostni projekt – Za medeno prihodnost

Na podlagi pridobljenih podatkov lahko sklepamo da pri pridelavo strupa že na pogled ločimo manj kakovitosten strup od bolj kakovitnega saj ima največ melitina tisti strupa ki ob vizualnem pregledu ne kaže prisotnosti delcev nečistoč ter ima belo do sivo belo barvo.



## 8 POVZETEK OPRAVLJENEGA DELA 2022

---

- v čebelnjaku smo izvajali izobraževanja za čebelarje začetnike in s področja vzreje matic v lastnem čebelarstvu,
- izvajalo se je delo na področju optimizacije tehnologije pridelave čebeljega strupa,
- pridobili smo podatke o sestavi slovenskega čebeljega strupa pridobljenega na lokacija raziskovalnega čebelnjaka,
- nadaljevali smo s spremljanjem in proučevanjem funkcionalnih lastnosti cvetnega prahu,
- pridobili smo prve podatke o vsebnosti vitaminov v slovenskem cvetnem prahu izkopancu,
- na podlagi rezultatov vsebnosti vitaminov v cvetnem prahu smo podali priporočene dnevne vnose cvetnega prahu izkopanca po določenih vitaminih,
- v bodoče nadaljujemo s podobnimi raziskavami proučevanja funkcionalnih lastnosti slovenskega cvetnega prahu in ostalih čebeljih pridelkov,
- določili smo vsebnosti naravno prisotnih sladkorjev v medu,
- določili smo povzročitelje medenja v okolici Hoferjevega čebelnjaka in rezultate primerjali z ostalimi vzorci slovenskega medu.

Pripravili:

Aljaž Debelak, svetovalec za zagotavljanje varne hrane

Simon Golob, svetovalec za tehnologijo čebelarjenja

Ana Janžekovič, svetovalka za zagotavljanje varne hrane





## 9 VIRI

---

Aylanc, V., Falcão, S. I., Ertosun, S., & Vilas-Boas, M. (2021). From the hive to the table: Nutrition value, digestibility and bioavailability of the dietary phytochemicals present in the bee pollen and bee bread. *Trends in Food Science & Technology*, 109, 464-481.

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

Baky, M.H.; Abouelela, M.B.; Wang, K.; Farag, M.A. Bee Pollen and Bread as a Super-Food: A Comparative Review of Their Metabolome Composition and Quality Assessment in the Context of Best Recovery Conditions. *Molecules* 2023, 28, 715. <https://doi.org/10.3390/molecules28020715>

Barajas J., Cortes-Rodriguez M., Rodriguez-Sandoval E. 2009. Effect of temperature on the drying process of bee pollen from two zones of Colombia. *Journal of Food Process Engineering* 35: 134–148

Carvalho, C.M.; Meirinho, S.; Estevinho, L.; Choupina, A. Yeast Species Associated with Honey: Different Identification Methods. *Arch Zootec* 2010, 59, 103–113.

De Graff D. C. in sod (2020). Standard methods for *Apis mellifera* venom research

European Commission. 2018. Technical round table on honey authentication. Meeting report, JRC-Geel Belgium, 25 January 2018. Brussels, European Commission: 18 str.

[https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/ares181569074-1\\_technical\\_round\\_table\\_on\\_honey\\_adulteration\\_report.pdf](https://ec.europa.eu/jrc/sites/jrcsh/files/ares181569074-1_technical_round_table_on_honey_adulteration_report.pdf)

Eyer M., Neumann P., Dietemann V. 2016. A look into the cell: Honey storage in honey bees, *Apis mellifera*. *PLoS One*, 11, 8: e0161059, doi: 10.1371/journal.pone.0161059: 20 str



- Farag S. A., El-Rayes T. K. 2016. Effect of bee-pollen supplementation on performance, carcass traits and blood parameters of broiler chickens. *Asian Journal of Animal and Veterinary Advances*, 11: 168–177
- Guler A., Bakan A., Nisbet C., Yavuz O. 2007. Determination of important biochemical properties of honey to discriminate pure and adulterated honey with sucrose (*Saccharum officinarum* L.) syrup. *Food Chemistry*, 105: 1119–1125
- Kast C., Roetschi A. 2017. Evaluation of baker's yeast in honey using a real-time PCR assay. *Food Microbiology*, 62: 282–288
- Kandolf Borovšak A., Moškrič A., Janžekovič A. 2022. Aktivnost encimov v medu v povezavi z izvorom medu. Lukovica: Čebelarstva zveza Slovenija, 84 str.
- Kandolf Borovšak A. 2019. Zagotavljanje pristnosti medu s tehnologijo prestavljanja satja in krmljenja čebel. Doktorska disertacija. Ljubljana, Biotehniška fakulteta, Oddelek za živilstvo: 153 str.
- Korošec M., Kandolf Borovšak A., Božič J., Bertonec J., Justinek J., Lilek N, Jurc M. 2016. Končno poročilo projekta Karakterizacija slovenskega medu v skladu z Uredbo o izvajanju programa ukrepov na področju čebelarstva v Republiki Sloveniji v letih 2014–2016 (Uradni list RS, 6/14). Lukovica, Čebelarstva zveza Slovenije, Biotehniška fakulteta: 62 str.
- Markovic, O., & Mollnar, L. (1954). Isolation of and determination of bee venom. *Chemicke Zvesti*, 8, 80–90. [Google Scholar]
- Moran, N.A. Genomics of the Honey Bee Microbiome. *Curr Opin Insect Sci* 2015, 10, 22–28, doi:10.1016/j.cois.2015.04.003.
- 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
- Nedić N., Zlatanović I., Rudonja N., Lazarević K., Dražić M., Gligorević K., Pajić M. 2020. Study of vacuum and freeze drying of bee honey. *Thermal Science*



Nowak, A.; Szczuka, D.; Górczyńska, A.; Motyl, I.; Kręgiel, D. Characterization of *Apis Mellifera* Gastrointestinal Microbiota and Lactic Acid Bacteria for Honeybee Protection—A Review. *Cells* 2021, 10, 701, doi:10.3390/cells10030701.

Percie du Sert P. 2006. The healing powers of pollen. Paris, Guy Tredaniel Editeur: 214 str.

Pravilniku o medu (Uradni list RS, št. 4/11, 26/14 – ZKme-1B in 9/15)

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

Referenčne vrednosti za energijski vnos ter vnos hranil. Tabela priporočila za otroke (od 1. leta starosti naprej), mladostnike, odrasle, starejše, nosečnice ter doječe matere. Dopolnjena izdaja 2020. Ljubljana, Nacionalni inštitut za javno zdravje: 10 str. [https://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/referencne\\_vrednosti\\_2020\\_3\\_2.pdf](https://www.nijz.si/sites/www.nijz.si/files/uploaded/referencne_vrednosti_2020_3_2.pdf)

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

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

Sopade P. in sod. (2003). Application of the Williams-Landel-Ferry model to the viscosity-temperature relationship of Australian honeys. *Journal of Food Engineering* 56, 1: 67–75

Uredba komisije (EU) št. 37/2010 z dne 22. decembra 2009 o farmakološko aktivnih snoveh in njihovi razvrstitvi glede mejnih vrednosti ostankov v živilih živalskega izvora

Uredba Komisije (ES) 396/2005 o mejnih vrednostih ostankov pesticidov v ali na hrani in krmi rastlinskega in živalskega izvora ter o spremembi Direktive Sveta 91/414/EGS

Uredba Komisije št. 432/2012 o seznamu dovoljenih zdravstvenih trditev na živilih

Zábrodská B., Vorlová L. 2014. Adulteration of honey and available methods for detection- a review. *Acta Veterinaria Brno*, 83: 85-102