

SAPIENTIA ERDÉLYI MAGYAR TUDOMÁNYEGYETEM,
KOLOZSVÁR
CSÍKSZEREDAI KAR

A mézelő méhek által gyűjtött virágpor antimikrobiális aktivitásának vizsgálata

XXVII. AGRÁRTUDOMÁNYI ERDÉLYI TUDOMÁNYOS DIÁKKÖRI
KONFERENCIA (ETDK)

Szerző: Salamon Brigitta - Fenntartható biotechnológiák
mesterképzés, I. év

Konzulens: dr. György Éva - Élelmiszertudományi Tanszék

Marosvásárhely

-2024-

Tartalomjegyzék

1. Bevezetés	5
2. Célkitűzés	7
3. Irodalmi áttekintés	8
3.1. A virágpor fizikai-kémiai tulajdonságai	8
3.1.1. A polifenolok és azok jelentősége	10
3.1.2. A virágpor antimikrobiális aktivitása	12
3.2. A méhek által gyűjtött virágpor táplálkozás-élettani hatása. A virágpor, mint funkcionális élelmiszer	14
3.3. A virágpor felhasználása	18
4. Anyagok és módszerek	21
4.1. A virágporokban előforduló allochton mikrobák kimutatása	21
4.2. Virágporkivonatok előállítása etanolos extrakció segítségével	23
4.3. A nyers virágporkivonatok antimikrobiális hatásának vizsgálata	23
4.4. Legkisebb gátlási koncentráció (MIC) meghatározása	24
4.5. A virágporok kémiai összetétele és antimikrobiális hatása közötti korreláció meghatározás	25
5. Eredmények és kiértékelésük	26
5.1. A virágporokban előforduló allochton mikrobák kimutatása	26
5.1.1. Ferde agar tenyészetek készítése	29
5.1.2. Ellenőrző vizsgálatok	31
5.1.3. Az allochton mikrobák vizsgálata során kifejlődött mikroszkópikus penészgombák azonosítása	34
5.2. Virágporkivonatok előállítása etanolos extrakció segítségével	35
5.3. A nyers virágporkivonatok antimikrobiális hatásának vizsgálata	40
5.3.1. Baktériumokkal szembeni antimikrobiális aktivitás vizsgálata	40

5.3.2. A virágpor-kivonatok antifungális hatásának vizsgálata különböző mikroszkópikus gombákkal szemben	42
5.4. Legkisebb gátlási koncentráció (MIC) meghatározása.....	43
5.5. A virágporok kémiai összetétele és antimikrobiális hatása közötti korreláció meghatározás	44
6. Összefoglalás	46
7. Irodalomjegyzék	48
8. Köszönetnyilvánítás	50

Kivonat

A méhészeti termékek ősidők óta a legértékesebb termékek közé tartoznak, amelyek táplálkozási és terápiás tulajdonságaik miatt nélkülözhetetlenek az emberek számára. Az utóbbi években egyre nagyobb érdeklődés mutatkozik a méhpollen antimikrobiális tulajdonságai iránt a kórokozók újonnan kialakuló antimikrobiális rezisztenciája miatt. Éppen ezért a méhpollen kivonatok nagy ígéretet jelentenek korunk újszerű gyógyászatában, hiszen gazdag forrást jelentenek a biológiailag aktív vegyületekben, célzottan hatnak a kórokozók ellen, és prebiotikus módon befolyásolják az emberi szervezet mikrobiomját.

Kutatásom során három különböző virágpor etanolos extrakció segítségével nyert kivonatának antimikrobiális aktivitását vizsgáltam különböző élelmiszerrel terjedő kórokozó baktériumokkal (*Escherichia coli*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus faecalis*), valamint mikotoxintermelő penészgombákkal (*Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *A. niger*, *Penicillium expansum*, *P. citrinum*) illetve élesztőgombával (*Saccharomyces cerevisiae*) szemben mikrobiológiai tenyésztési módszerek segítségével, továbbá meghatároztam a virágporok kémiai összetétele és antimikrobás hatása közötti korreláció értékét (R programcsomag felhasználásával). Az összpolicfenolok mennyisége a különböző virágporokban 26,29 és 33,93 mg GAE/g szárazanyag között változott. A három virágpor eredményeit összevetve a legnagyobb gátlási zóna sugara a *S. enterica* ($12,1 \pm 1,1$ mm) és a *S. aureus* ($11,9 \pm 2,4$ mm) esetében volt megfigyelhető, míg a legkisebb a *P. aeruginosa* ($3,39 \pm 1,1$ mm) esetében volt tapasztalható. A jénőfalvi virágporból nyert kivonat hatására a *P. aeruginosa* baktérium esetében nem jött létre gátlás. A virágporokon előforduló allochton mikrobák kimutatását is elvégeztem tenyésztési eljárásokkal, különféle szelektív táptalajokon.

1. Bevezetés

A méhészeti termékeket (méz, méhpempő, méhkenyér, méhpollen, propolisz, méhméreg, méhviasz) ősidők óta széles körben használják hagyományos gyógymódként. Napjainkban egyre nagyobb érdeklődés övezi a méhészeti termékeket, azok bioaktivitását és alkalmazását az alternatív gyógyászatban és az apiterápiában, ezáltal a virágpor termelés az elmúlt években a kereskedelmi keresletre válaszolva megnőtt (Didaras és mtsai. 2020; Barth és mtsai. 2010).

A mézelő méhek által gyűjtött virágpor, az úgynevezett méhpollen egy növényi eredetű, kémiai összetételében változó méhészeti termék. A virágpor összetétele a különböző éghajlati övezetekben jelen lévő növényvilágtól függ. A méhek által a légyszárú növények és fák virágairól nyert virágpor gazdag forrást jelent a biológiailag aktív anyagoknak (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013). Természetes termék, amely értékes tápanyagokat tartalmaz, többek között magas ásványianyag-tartalommal rendelkezik. Tápanyag-összetételét figyelembe véve és a hagyományos felhasználás szerint a méhek által gyűjtött virágport az emberek mindennap fogyaszthatják, mint étrend-kiegészítő, hozzájárulva a szervezet funkcionális és harmonikus egyensúlyához (Didaras és mtsai. 2020).

Az 1.1.ábrán látható *Apis mellifera* a legjobb pollenszállító, főként a trópusi országokban, ahol a rovarok általi beporzás dominál (Barth és mtsai. 2010), így tehát a méhpollen tulajdonképpen a méhek által saját táplálkozási céllal gyűjtött virágok virágpora, mivel a virágpor (a növények hímivarsetjeinek reprodukív részei) hihetetlenül tápanyagdús, és a méhek számára biztosítja a növekedéshez és fejlődéshez szükséges összes tápanyagot (Didaras és mtsai. 2020; Aurel 1971).



1.1. ábra. A mézelő méh és pollen-rakománya

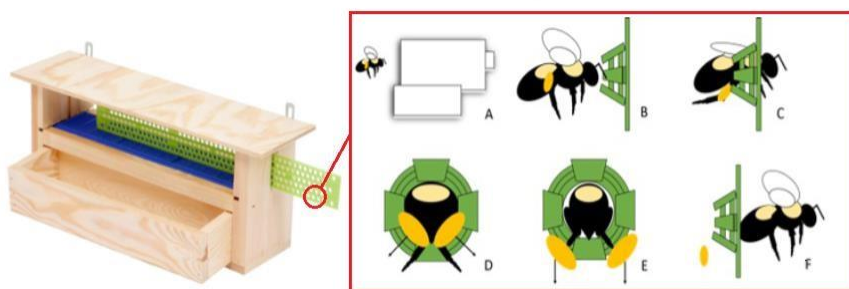
(<https://dteklivebeeremoval.com/wp-content/uploads/2021/08/beePollen.jpg>)

Megtekintés dátuma: 2024.02.17

A méhpollenek megjelenése (mérete, alakja, színe stb.) eltérő lehet, elsősorban attól függően, hogy milyen földrajzi régióból és milyen növényfajoktól gyűjtötték a polleneket. Kétféle méhpollen létezik, a "monoflorális pollen", amelynél a pollenszemek legalább 45%-a egy növényfajból származik, és egységes érzékszervi és biokémiai tulajdonságokat mutat, valamint a "poliflorális pollen", amely különböző növényi forrásokból származó pollenszemekből áll (Alimoglu és mtsai. 2021). Színe az élénksárgától a feketéig terjed (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015).

A méhek virágpor gyűjtése két szakaszból tevődik össze: az első szakasz során a szájszervének segítségével a méh a virág porzóiból kirázza a virágport, amely a testét borító apró szőrök miatt a testük teljes felületére rátapad, a második szakasz a virágporgömböcskék kialakításáról szól, amely egy időigényesebb folyamat, ugyanis ekkor a méh a lábai segítségével a testére tapadt virágpor szemcséket összeszedi és a mézgyomorból származó nektárral nedvesíti meg, majd ezt alaposan összegyúrva, a virágporprélen keresztül haladva a hátulsó pár lábukon lévő kosárcákba juttatják. A folytonos préselés során a virágporgömböcske elnyeri a jellegzetes alakját. A méhek ezeket a mozdatokat (betakarítás és rögzítés) olyan gyorsan végzik, hogy csupán a gömböcskék növekedése figyelhető meg (Aurel 1971).

A méhészek különböző módszereket és eszközöket használnak annak érdekében, hogy a kaptárakba hazatérő méhek „pollenrakományait” megszerezzék, ilyen, a virágpor begyűjtésére szolgáló felszerelés a virágporgyűjtő, amelyet a 1.2.ábra szemléltet (Barth és mtsai. 2010; Aurel 1971).



1.2.ábra. A virágporgyűjtő és annak elvi működése

(<https://cloudfront.jove.com/>, <https://www.meheszbolt.com/kis-meheszeti-eszkoezoek/>)

Megtekintés dátuma: 2024.02.19

A kaptárba visszatérő méh a röpdeszakára felszerelt 5 mm átmérőjű virágporgyűjtő rácson áthaladva a virágporgömböcskéjének egy részét hátra hagyja, ami egy kis dobozba jut (Aurel 1971).

2. Célkitűzés

A kutatás célja a mézelő méhek (*Apis mellifera*) által gyűjtött virágporok antimikrobiális aktivitásának vizsgálata különböző élelmiszerrel terjedő kórokozó baktériumokkal, valamint mikotoxin termelő penészgombákkal szemben mikrobiológiai tenyésztési módszerek segítségével, továbbá a virágporok kémiai összetétele és antimikrobás hatása közötti korreláció meghatározása.

3. Irodalmi áttekintés

3.1. A virágpor fizikai-kémiai tulajdonságai

A méhpollen szinte minden, az ember számára szükséges tápanyagot tartalmaz, így teljes értékű tápláléknak minősül, és számos olyan összetevőt tartalmaz, amely az állati eredetű élelmiszerekben nem található meg, továbbá fehérjékben is gazdagabb, ráadásul a fehérjék mintegy fele szabad aminosavakként van jelen, és ezeket a szervezet közvetlenül felhasználhatja (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013; Rzepecka-Stojko és mtsai. 2015).



3.1. ábra. Virágport gyűjtő méh

(<https://support.honeyflow.com>)

Megtekintés dátuma: 2024.02.13

A növényi eredetű méhészeti termékek, például a méz és a virágpor fizikai, fizikai-kémiai, kémiai és bioaktív tulajdonságai változnak az olyan tényezők függvényében, mint a földrajzi elhelyezkedés, az éghajlati jellemzők, a gyűjtési idő és legfőképpen a növényi források. Ezzel a ténnyel magyarázható, hogy a virágpor színe és íze függ a szezonálisan virágzó növények diverzitásától, így annak íze lehet keserűbb vagy édesebb (Daglia 2012). Természetes eredetéből adódóan könnyen emészthető (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013).

A méhek által gyűjtött virágport (3.1.ábra) elsősorban magas tápértékük miatt értékelik, mivel a méhek elsődleges fehérjeforrása, így az ember számára is potenciális energia- és fehérjeforrásnak tekinthető. A virágpor olyan esszenciális aminosavakat tartalmaz, mint a treonin, fenilalanin, hisztidin, lizin, metionin, triptofán, elágazó lánc exogén aminosavak, azaz valin, izoleucin és leucin (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013). Ezenkívül emészthető szénhidrátokat, redukáló cukrokat, glükózt és fruktózt, lipideket, zsírsavakat (beleértve a ω -3 és ω -6 esszenciális telítetlen zsírsavakat), fenolos vegyületeket, vitaminokat, makro- és mikroelemeket, de bioaktív anyagokat, például flavonoidokat is tartalmaz (Didaras és mtsai.

2020; Carpes és mtsai. 2007; Daglia 2012). Ezenkívül nemcsak az emberi táplálkozást szolgáló potenciális energiaforrásnak, hanem funkcionális élelmiszernek is tekintik, mivel jelentős antioxidáns tulajdonságú polifenolos vegyületekben gazdag. Ezek a polifenolos vegyületek a növények fiziológiájában alapvető fontosságúak, mivel hozzájárulnak a morfológiai felépítéshez (forma és szerkezet), továbbá részt vesznek a növények növekedésében és szaporodásában; a fitoalexinek hatása révén pedig ellenálló képességet biztosítanak a kórokozókkal szemben, és védelmet nyújtanak a kártevők ellen, valamint hozzájárulnak a fanyarság érzetének növeléséhez (Didaras és mtsai. 2020; Carpes és mtsai.2007; Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013). Emellett számos más, a funkcionális élelmiszerekben jelenlévő egészségvédő vegyület is jelen van benne, mint például prebiotikumok, rostok, lignánok, triterpének, karotinoidok, bioaktív peptidok és szerves savak, valamint tartalmazhat hasznos baktériumokat (probiotikumok) (Didaras és mtsai. 2020). A polifenolok a növények egyik legfontosabb anyagcsere-csoportját alkotják, és szerves részét képezik az emberek és állatok táplálkozásának (Carpes és mtsai.2007).

A virágpor átlagosan 22,7% fehérjét tartalmaz, ebből 10,4% esszenciális aminosavakat, ezek a fehérjeelemek életfontosságúak, és a szervezet nem tudja őket saját maga szintetizálni. A virágporban továbbá jelentős mennyiségű nukleinsav, különösen ribonukleinsav található. Az emészthető szénhidrátok átlagosan 30,8%-ban fordulnak elő a virágporban. A redukáló cukrok, főként a fruktóz és a glükóz, körülbelül 25,7%-ban vannak jelen ebben a termékben (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015).

A pollenben mintegy 5,1%-ban jelen lévő lipidek közül elsősorban az esszenciális zsírsavakat kell megemlíteni. Az olyan savak, mint a linolsav, a γ -linolsav és az arachidsav 0,4%-ban vannak jelen. A foszfolipidek 1,5%-ot tesznek ki, míg a fitoszterolok, különösen a p-szitoszterol, 1,1%-ban vannak jelen (Komosinska-Vassev és mtsai.2015).

Egy másik csoportot a fenolos vegyületek alkotnak, amelyek átlagosan 1,6%-ot tesznek ki. Ebbe a csoportba tartoznak a flavonoidok, a leukotriének, a katechinek és a fenolsavak. A virágporban 1,4%-ban előforduló flavonoidok közül főként a kaempferol, a kvercetin és az izarhamnetin, míg a fenolsavak csoportjában, 0,2%-ban főként a klorogénsav található (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015).

A virágporra jellemző a triterpén kötések meglehetősen jelentős tartalma. A leggyakoribb vegyületek az oleanolsav, a 3-ursolsav és a betulinalkohol (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015). Ezenkívül a vitaminok és a bioelemek is az értékes anyagok közé tartoznak. A virágpor elég jelentős forrása mind a zsírban oldódó vitaminoknak (0,1%-a az összvitamin-

tartalomnak), mint például az A-provitamin és az E- és D- vitamin, mind a vízben oldódó vitaminoknak (0,6%-a az összvitamin-tartalomnak), mint például a B1, B2, B6 és C, valamint a savaknak: pantotén-, nikotin- és folsav, biotin, rutin és inozitol. Ezek teljes mennyisége a teljes termékben 0,7% (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015; Szabat és mtsai. 2019).

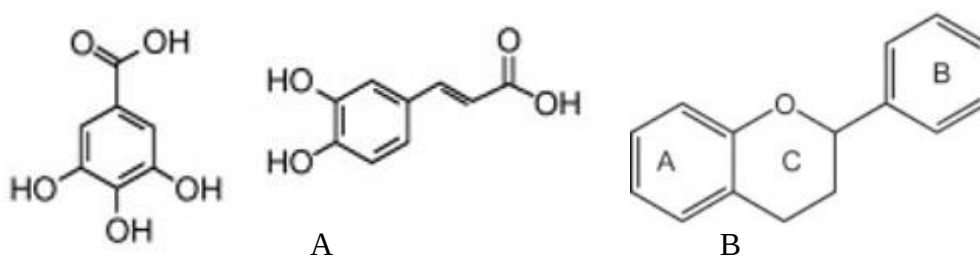
A bioelemek mintegy 1,6%-ban vannak jelen, beleértve a makrotápanyagokat (kalcium, foszfor, magnézium, nátrium és kálium) és a mikrotápanyagokat (vas, réz, cink, mangán, szilícium és szelén). Ez utóbbi 0,02%-ban van jelen (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015; Szabat és mtsai. 2019).

3.1.1. A polifenolok és azok jelentősége

A polifenolok a magasabb-rendű növények által termelt másodlagos anyagcseretermékek, amelyek számos alapvető szerepet játszanak a növényi fiziológiában, fontos szerepet játszanak a növényi kórokozók és az állati növényevők elleni védekezésben, valamint a különböző abiotikus stresszhatásokra, például az esőzésre és az ultraibolya sugárzásra adott válaszként termelődnek, nem utolsósorban potenciális egészségvédő hatásokkal rendelkeznek az emberi szervezetre nézve, elsősorban antioxidáns-, antiallergiás-, gyulladáscsökkentő-, rákellenes-, vérnyomáscsökkentő- és antimikrobiális szernek tekintik (Daglia 2012). Az elmúlt években megnőtt az érdeklődés a növényekből származó bioaktív összetevők, például a polifenolok élelmiszerekhez való hozzáadása iránt. A polifenolokban gazdag, helyesen összeállított étrend számos betegség kialakulását ellensúlyozhatja. A polifenolok, mint hatékony antioxidánsok, megvédik szervezetünket az olyan betegségekkel szemben, mint a rák, a cukorbetegség, a szív- és érrendszeri betegségek és az érelmeszesedés (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013).

Kémiai szerkezetüket tekintve sokféle szerkezetű molekulát tartalmaznak, és flavonoidokra és nem flavonoidokra oszthatók ezek a vegyületek. A flavonoidok közös szénváza a difenilpropán, két benzolgyűrű (A és B gyűrű), amelyeket egy lineáris három szénatomos lánc köt össze. A központi három szénatomos lánc egy zárt pirángyűrűt (C gyűrű) alkot az A benzolgyűrűvel. A központi pirángyűrű oxidációs állapotától függően a flavonoidok maguk is számos alosztályra oszthatók: flavonolok, flavonok, flavanonok, antocianidinek, flavanolok és izoflavonok (Daglia 2012). A polifenolok ideális kémiai szerkezettel rendelkeznek a szabad gyökök elnyeréséhez és a fémionokkal való kelátképzéshez, ami hatékony antioxidánssá teszi őket (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013).

A flavonoidokat (3.2.ábra B) és a fenolsavakat (3.2.ábra A) magas antioxidatív potenciál jellemzi, amely szorosan összefügg kémiai szerkezetükkel.



3.2. ábra. A fenolsav(A) (Daglia 2012) és a flavonoid (B)

(<https://www.sciencedirect.com/topics/agricultural-and-biological-sciences/flavonoid>)

általános kémiai szerkezete

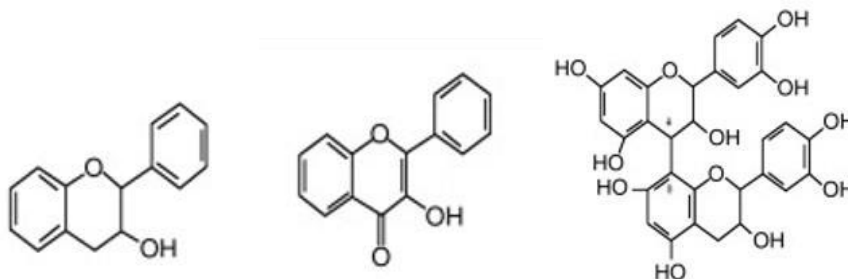
Megtekintés dátuma: 2024.03.11

A fenolsavak magas antioxidáns potenciálja a hidroxilcsoportok jelenlétének és elhelyezkedésének, az orto-difenolos szubsztituensek közvetlen közelében lévő karboxilcsoportnak, valamint a fenilgyűrű és a karboxilcsoport közötti etilén-csoportnak köszönhető. A flavonoidok esetében az alapvető szerkezeti elemek a hidroxilcsoportok az A gyűrű C5 és C7 pozíciójában, valamint a C3' és C4' pozíciókban a B gyűrűben, és egy hidroxilcsoport a C3 pozícióban a C gyűrűben. Továbbá a C2 és C3 közötti kettős kötés és a C gyűrű C4 pozíciójában lévő ketoncsoport egyaránt fokozza e vegyületek antioxidatív potenciálját (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013; Alimoglu és mtsai. 2021; Komosinska-Vassev és mtsai. 2015).

A polifenolok gyógyászati tulajdonságait a szabadgyök-leválasztó biológiai aktivitásukkal összefüggésben Rice Evans és munkatársai vizsgálták. A polifenolokat az egyik leglényegesebb nem tápanyagtartalmú komponensként határozták meg. A méhpempő olyan méhészeti termék, amelyet gazdag polifenol-összetétele miatt biológiai aktivitás jellemez. A polifenolok erőteljes antioxidatív tulajdonságai a kettős kötések jelenlétéből és az aromás gyűrűn található hidroxilcsoportok elhelyezkedéséből adódnak. A polifenolok gyűrűszerkezete határozza meg lipofil tulajdonságaikat, különösen a flavonoidok esetében. A hidrofób antioxidánsok védő szerepet játszanak a lipidmembránok számára. A polifenolok képesek elnyelni a reaktív oxigénfajokat (ROS) és inaktiválni a szerves gyököket, valamint képesek komplexet képezni az oxidációs reakciókat katalizáló fémionokkal (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013).

A polifenolok közül a flavan-3-olok, a flavonolok és a tanninok (3.3.ábra) kapták a legnagyobb figyelmet, mivel széles spektrumú és más polifenolokhoz képest nagyobb antimikrobiális aktivitással rendelkeznek, valamint mivel legtöbbjük képes számos mikrobiális

virulenciafaktort elnyomni (például gátolja a biofilmképződést, semlegesíti a bakteriális toxinokat), és szinergizmust mutat az antibiotikumokkal (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013; Daglia 2012).



3.3. ábra. A flavan-3-ol, a flavonol és a tannin kémiai szerkezeti képlete (Daglia 2012)

Nemrégiben kimutatták, hogy egyes teakatechinek, mint például a (-)-gallokatechin-3-gallát, (-)-epigallokatechin-3-gallát, (-)-catechin-3-gallát és (-)-epikatechin-3-gallát nanomoláris szinten aktívak néhány más, élelmiszerrel terjedő patogén baktériummal, például a *Bacillus cereus*-szal szemben. E vegyületek többsége hasonló koncentrációban aktívabbnak bizonyult, mint az antibiotikumok, például a tetraciklin vagy a vankomicin: ez arra utalt, hogy a teakatechinek pozitív hatást fejthetnek ki a gyomor-bélrendszeri megbetegedések ellen (Daglia 2012).

A vírusellenes, antibakteriális, antioxidációs, öregedésgátló, gyulladáscsökkentő, daganatellenes és fájdalomcsillapító hatású flavonoidok a méhpollen fő bioaktív anyagai közé tartoznak, és a méhpempő minőségének fontos mutatói. Ezen anyagoknak az aránya a méhpollenben nagymértékben függ olyan tényezőktől, mint a talaj típusa, a meteorológiai körülmények és a méhfajták, amelyek a növény eredetétől és földrajzi származásától függően változnak (Daglia 2012; Didaras és mtsai. 2020).

3.1.2. A virágpor antimikrobiális aktivitása

A botanikai gazdagság lehetővé teszi a méhészek számára, hogy különböző kémiai és fizikai tulajdonságokkal rendelkező méhészeti termékeket állítsanak elő. A méhészeti termékek ősidők óta a legértékesebb termékek közé tartoznak, amelyek táplálkozási és terápiás tulajdonságaik miatt nélkülözhetetlenek az emberek számára. A virágpor, mint e méhtermékek egyike, számos bioaktív összetevőt tartalmaz, amelyek közvetlenül a botanikai eredettől, közvetve pedig olyan tényezőktől függenek, mint az éghajlat és a talaj. Ezenkívül a pollen

antioxidáns tulajdonságainak különbségei szorosan kapcsolódnak ezen összetevők kémiai szerkezetéhez. Továbbá számos kutató állította, hogy a virágpor magas antibakteriális, gombaellenes, gyulladáscsökkentő és antimutagén hatással rendelkezik (Yolcu 2022).

Az utóbbi években egyre nagyobb érdeklődés mutatkozik a méhpollen antimikrobiális tulajdonságai iránt a kórokozók újonnan kialakuló antimikrobiális rezisztenciája miatt (Didaras et al. 2020). Éppen ezért a méhpollen kivonatok nagy ígéretet jelentenek korunk újszerű gyógyászatában (Mărgăoan és mtsai. 2015), hiszen gazdag forrást jelentenek a biológiailag aktív vegyületekben. Továbbá a virágpor célzottan hat a kórokozók ellen, és prebiotikus módon befolyásolja a gazdaszervezet mikrobiomját (Didaras és mtsai. 2020).

Az antibiotikumok olyan biológiai vegyületek, amelyeket baktériumok vagy más mikroorganizmusok termelnek, annak érdekében, hogy gátolják más baktériumok növekedését és szaporodását, vagy elpusztítsák azokat. Számos vizsgálat javasolta a növények által a fitofág rovarok, gombák vagy baktériumok elleni védekezési stratégiaként kifejlesztett másodlagos metabolitok (polifenolos vegyületek, terpének, tanninok, savak) kombinálását antibiotikumokkal, annak céljából, hogy fokozzák azok hatékonyságát, csökkentsék a gyógyszerek adagját, és ezáltal csökkentsék az antibiotikumok mellékhatásait (Daglia 2012).

A virágpor antimikrobás hatása több mechanizmus által valósul meg: baktériumok anyagcseréjének megzavarása, különösen sejtfalszintézis-, a transzlációs mechanizmusba és a DNS-replikációs mechanizmusba való beavatkozás, baktériumsejtre gyakorolt aggregáló hatás (Daglia 2012). A gén szintű módosulások, amelyek a bioaktív vegyületeknek tudható be, maga után vonhatja a baktériumsejt pusztulását (baktericid hatás).

A bioaktív vegyületek bakteriosztatikus (baktériumok szaporodását gátló) hatását többféle mechanizmus magyarázhatja, mint például a citoplazmamembrán destabilizálása, a sejtmembrán permeabilizálása, az extracelluláris mikrobiális enzimek gátlása, a mikrobiális anyagcserére gyakorolt közvetlen hatás, vagy a mikrobiális növekedéshez szükséges szubsztátok, különösen az olyan esszenciális ásványi mikrotápanyagok, mint a vas és a cink (a fémekkel való proantocianidin kelátképzés révén) megkötése, ezáltal ezek hiánya súlyosan korlátozhatja és befolyásolhatja a baktériumok növekedését (Daglia 2012). Az utóbbi elven működnek a tanninok egy csoportja, a hidrolizálható tanninok (ellagitanninok, gallotannin), ugyanis a fémionok iránti erős affinitásuk révén képesek inaktiválni vagy akár kicsapni a fehérjéket és/vagy eltávolítani a fémkofaktorokat, ezáltal mikrobiális gátként működnek.

Továbbá különböző mértékben gátolják a Gram-negatív bélbaktériumok (*Salmonella*, *Helicobacter*, *E. coli*, *Campylobacter*) és a Gram-pozitív baktériumok (*Staphylococcus*, *Clostridium* és *Bacillus* törzsek) növekedését, de nem aktívak a jótékony hatású Gram-pozitív probiotikus tejsavbaktériumokkal szemben (pozitív hatást fejtenek ki a bélrendszeri mikrobiomra) (Daglia 2012).

Érdemes kiemelni, hogy az 1.2.1 alfejezetben bemutatott flavonolok hidrofób jellegük miatt képesek áthatolni a sejtek foszfolipidmembránján, így képesek antibakteriális hatásukat a sejten belül is kifejteni. Ráadásul a ramnetin aktívabbnak bizonyult, mint a kvercetin és a morin, valószínűleg az A-gyűrűben lévő metoxicsoport miatt, amely hidrofóbbá teszi ezt a molekulát (Daglia 2012).

Egyes fenolsavak (gallusz-, kávésav) antibakteriális hatást mutattak Gram-pozitív (*S. aureus* és *L. monocytogenes*) és Gram-negatív baktériumokkal (*E. coli* és *Pseudomonas aeruginosa*) szemben. Ezek a vegyületek hatékonyabbnak bizonyultak a megemlített baktériumokkal szemben, mint a hagyományos antibiotikumok, például a gentamicin és a streptomycin. Ettől eltérően a klorogénsav nem mutatott aktivitást Gram-pozitív baktériumokkal szemben (Daglia 2012).

3.2. A méhek által gyűjtött virágpor táplálkozás-élettani hatása. A virágpor, mint funkcionális élelmiszer

Azzal a felismeréssel, hogy a természetes/funkcionális élelmiszerek pozitív hatással vannak a betegségek megelőzésére és kezelésére, ezek az élelmiszerek egyre népszerűbbé váltak a lakosság körében. Ennek megfelelően számos természetes termék, köztük a méhészeti termékek is jelen vannak a piaci polcokon, és elkezdtek felkelteni a fogyasztók érdeklődését (Daglia 2012).

A méhpollen az egyik legfontosabb méhészeti termék, amely változatos egészségjavító hatással bíró funkcionális élelmiszerként egyre nagyobb népszerűségnek örvend, mivel magas koncentrációban tartalmaz a mentális és fizikai egészségre gyakorolt jótékony hatásáról ismert bioaktív vegyületeket, például fehérjéket, élelmi rostokat, lipideket, enzimeket, szénhidrátokat és ásványi anyagokat (Carpes és mtsai. 2007; Ilie és mtsai. 2024). Továbbá a méhpollent "teljes értékű élelmiszer" néven is ismerik, mivel erős antioxidáns potenciállal rendelkezik, ugyanis a polifenolok, flavonoidok, karotinoidok és vitaminok (A, C és E) jelenléte magas antioxidáns potenciált kölcsönöz ennek a terméknek. A természetes bioaktív molekulák e

magas értékű jelenléte miatt (méhpollenben lévő anyagok mintegy 70%-a biológiailag aktív), különböző tudományos tanulmányok arról számoltak be, hogy a méhpollen biológiai tulajdonságok széles spektrumával rendelkezik (többirányú hatás), például antioxidáns, hipoglikémiás, gyulladáscsökkentő, immunmoduláló és -stimuláló hatású, kardioprotektív, antibakteriális, gombaellenes, antivirális, májvédő (hepatoprotektív), anaemiaellenes hatású és rákellenes tulajdonságú (El Ghouizi és mtsai. 2023; Carpes és mtsai. 2007; Szabat és mtsai. 2019; Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013). A bioaktív vegyületek közül is, napjainkban a fenolos vegyületek iránti érdeklődés megnőtt az antioxidáns és szabadgyökfogó hatásuk miatt. Számos kutató megállapította, hogy a polifenolok redox tulajdonságokkal rendelkező antioxidánsok, amelyek lehetővé teszik számukra, hogy redukálószerként, hidrogéndonátorként működjenek. A polifenolok fémkelációs tulajdonságokkal is rendelkeznek. Ezek a vegyületek fémeket kötnek magukhoz (fémek kelátképzése), és reakcióba lépnek a szabad gyökökkel és a genotoxikus szubsztrátokkal (Carpes és mtsai. 2007).

A méhpollent funkcionális élelmiszerként jellemezhetjük, amely táplálkozási tulajdonságainak köszönhetően sokféle, az emberi egészséget javító hatással bír. Ahogy már korábban megjegyeztem, a pollenben lévő anyagok mintegy 70%-a biológiailag aktív, ezért ennek a természetes méhészeti terméknek többirányú hatása van: nutritív, antioxidatív, kardioprotektív, hepatoprotektív, gyulladáscsökkentő, antibakteriális, rákellenes, immunstimuláns és anaemiaellenes hatásokat mutat (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013).

A méhpollen továbbá hidrofil antioxidánsok forrása is, amelyek védelmet nyújtanak a citoplazma oxidatív szerkezeti károsodása ellen a sejtorganellumok belsejében és az extracelluláris folyadékban. A hidrofil antioxidánsok között megtalálható az aszkorbát (C-vitamin) és a fenolsavak. Ezek bizonyos mértékig hidrofilek, és vizes fázisban is hatékony antioxidánsok lehetnek, például a kávésav. Fogyasztásuk nagy jelentőséggel bír a betegségek megelőzésében, különösen a szív- és érrendszeri és neurodegeneratív betegségek megelőzésében, amelyek közvetlenül összefüggnek a sejtszintű oxidatív károsodásokkal (Alimoglu és mtsai. 2021). A fitokemikáliákat, például a fenolos vegyületeket az emberi egészség szempontjából előnyösnek tartják, mivel nemcsak az előbb említett oxidatív stressz csökkentére alkalmasak, hanem a makromolekuláris oxidáció gátlása révén csökkentik a degeneratív betegségek kockázatát. A természetes, funkcionális tulajdonságú termékeket étrend- kiegészítőként tanulmányozták és az utóbbi években egyre nagyobb figyelmet kaptak (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013).

Kísérleti (farmakológiai) vizsgálatok kimutatták, hogy a virágpor hipolipidémiás hatással rendelkezik, csökkentve a plazma teljes lipid- és triacilglicerintartalmát. Ezenkívül a szérumban lipid koncentrációjának csökkenése korrelált az olyan hormonok tartalmával, mint az inzulin, a tesztoszteron és a tiroxin, amelyek felelősek a magasabb lipid anyagcseréért. Klinikai vizsgálatok megerősítették, hogy képes a betegek vérében 20-35%-kal csökkenteni a lipid anyagok tartalmát és a koleszterinszintjét, így sikeresen alkalmazták hiperlipidémia és atherosclerosis kezeléseiben is. Ugyanakkor jelentős rövidlátással és részleges látóideg sorvadással járó érelmeszesedésben szenvedő betegeknél a virágpor növelte a látómezőt és stabilizálta a látásélességet (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015).

A telítetlen zsírsavak, foszfolipidek és fitoszterolok jelenléte azt jelenti, hogy a méhpollen hipoglikémiás tulajdonságokkal is rendelkezik, valamint csökkenti a vérlemezék aggregációs képességét és növeli a fibrinolitikus aktivitást. Ezen hatások összeadódása antiatherogén (érelmeszesedés gátló) tulajdonságot eredményez és megelőző hatású a szívbetegségekkel és a stroke-kal kapcsolatban. Az irodalmi adatok rámutatnak arra, hogy a virágpor szűkíti a hajszálereket, mérsékli a vese eredetű redellenségeket, görcsoldó hatással van a simaizmokra, különösen a hólyag és a húgycső esetében (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015). A gyulladáscsökkentő hatás mechanizmusa a ciklooxygenáz és a lipoxigenáz aktivitásának gátlásában rejlik, ezek az enzimek felelősek az arachidonsav olyan mérgező vegyületekké való átalakításáért, mint a prosztaglandin és a leukotriének, amelyek akut és krónikus gyulladásos állapotokat idéznek elő a szövetekben (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015).

A virágpor táplálkozási tulajdonságait és az anyagcsere-folyamatok szabályozását többek között az étvágytalanság, a fejlődési rendellenesség, valamint alultápláltsága esetén használják. Ezenkívül a virágpor fogyasztása ajánlott a lábadozási időszakban, műtétek után, valamint a fizikailag és szellemileg keményen dolgozó személyek számára. Továbbá a virágpor adaptogén tulajdonságait is jelezték, amelyek a káros fizikai, kémiai és biológiai tényezőkkel szembeni ellenálló képesség növelésén alapulnak:

- egyrészt növeli a szervezet fizikai alkalmasságát túlzott fizikai terhelés esetén, hat a központi idegrendszerre, az agyi funkciókra, mint például a memória, a tanulás, a megértés, a gondolkodás és a koncentrációs képesség javítása révén,
- másrészt növeli az immunrendszer ellenálló képességét a fertőzésekkel szemben, miközben fokozza az immunrendszer működését (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015).

A legújabb kutatások szerint a virágpor antiallergiás hatással rendelkezik. Megvédi a szervezet hízósejtjeit a degranulációtól, vagyis az allergiás reakciókat kiváltó hisztamin felszabadulásától. Számszerűsítve, például az anti-IgE-ellenes antitesteket tartalmazó szérum által kiváltott hisztamin felszabadulást a hízósejtekből 62%-ban gátolta a virágpor. Mi több, a virágporban található kaempferol két enzim aktivitását gátló képességének köszönhetően: a hialuronidáz, amely a hialuronsav depolimerizációját katalizáló enzim, és az elasztáz, amely hidrolizálja az elasztint, erősíti a kötőszövetet és szűkíti az ereket. Ennek eredményeképpen csökken a transzudátum, a gyulladásos reakciók és a duzzanatok száma. Az erekben javul a vérkeringés, ezért a bőr hidratálttá és feszesé válik. A flavonoidok ödéma-, gyulladáscsökkentő és fájdalomcsillapító hatása más vegyület bioaktivitásából is eredhet; például a kvercetin a hisztidin-dekarboxiláz aktivitásának gátlásával csökkenti a szervezet hisztaminszintjét. Továbbá az arachidonsav- metabolizmus gátolja, ami viszont csökkenti a proinflammatorikus prosztaglandinok szintjét, és gyulladáscsökkentő hatást fejt ki, megszünteti a helyi fájdalmat, és megakadályozza a vérlemezék aggregációját (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015; Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013).

A flavonoidok gyulladáscsökkentő tulajdonságokkal is rendelkeznek, gátolják az arachidonsav metabolizmusát, és emellett pozitív hatással vannak az immunrendszer sejtjeire: a makrofágokra, az NK-, T-, B-limfocitákra és a granulocitákra, amelyek a szervezet természetes védekezőképességét biztosítják (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013; Szabat és mtsai. 2019).

A virágport és kivonatait, különösen a zsírban oldódó kivonatokat sikeresen alkalmazzák az infarktus utáni állapotokban, valamint a szisztémás keringési zavarokban és az artériás magas vérnyomásban. Sőt, az idős embereknek adott kis dózisú virágpor lehetővé teszi mind az erek ateroszklerotikus elváltozásainak gátlását, mind az agyi véráramlás javulását. A virágpor-kivonat csökkentette az olyan enzimek aktivitását, mint az alanin-, aszpartát-transzamináz, a savas foszfatáz és a bilirubin, amelyek a szerves anyagokkal vagy gyógyszerekkel való mérgezés következtében kórosan megemelkedtek. A virágpor ajánlott akut és krónikus májgyulladásban, májbetegségekben, valamint toxikus és traumás sérülésekben (Szabat és mtsai. 2019).

További kísérletek bizonyították, hogy a virágport, amikor toxikus anyagokkal együtt adták be, megvédte a májsejteket azok károsító hatásától, ami viszont a toxikáció megelőzésére való képességét jelzi. A méregtelenítő folyamatban fontos szerepet játszanak a polifenolok,

elsősorban a flavonoidok és a fenolsavak (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015). A méhpollent sikeresen lehetett alkalmazni a jóindulatú prosztatagyulladás egyes eseteiben, valamint allergiás gyermekek orális deszenzibilizációjára, illetve a függőségben szenvedők esetében, mivel a virágpor képes helyreállítani a szervezet kémiai folyamatait (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013).

3.3. A virágpor felhasználása

A méhpollent "életadó pornak" nevezik, és a népi gyógyászatban számos terápiás tulajdonsága miatt használják. Medeiros és mtsai. (2008) szerint a méhpollent a népi gyógyászatban megfázás, fekélyek, vérszegénység és allergia enyhítésére, alternatív diétákra használják. További egészségügyi hatásai közé tartoznak a bőrproblémák (száraz bőr, csecsemők esetében pelenkakiütés vagy ekcéma), a meddőség, az asztma, a függőség és az alkoholizmus különösen, illetve a gyomorproblémák kezelése. Egyes gyógynövényszakértők azt állítják, hogy a méhpollen (3.4.ábra) fokozza a sportteljesítményt, és minimalizálja a kemoterápia káros hatásait is. Továbbá a méhpollen fontos szerepet játszik a testsúly szabályozására és stabilizálására irányuló diétában, mivel korrigálhatja a test anyagcseréjének kémiai egyensúlyját, amely összefügghet a szokatlan súlygyarapodással vagy -vesztéssel (Guiné 2015; Rzepecka-Stojko és mtsai. 2015).



3.4. ábra. Méhek által gyűjtött virágpor (saját kép)

Táplálkozási- és biotikus tulajdonságainak köszönhetően a méhpollenből készült készítményeket étrend-kiegészítőként, funkcionális élelmiszer alapanyagként használják, míg a méhpollen-kivonatokat az élelmiszerek egészségvédő hatású anyagokkal való dúsítására, valamint speciális gyógyhatású készítmények előállítására lehet felhasználni (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013).

A méhek által gyűjtött virágport begyűjtése után gyógyszeripari, kozmetikai vagy táplálkozási célú alapanyaggá való alakítása céljából szárítják, majd tableta, kapszula és granulátum formájában használják fel a továbbiakban, vagy késztermékként bocsájtják ki a kereskedelmi forgalomba. A méhpollenből készült kivonatok felhasználhatók funkcionális élelmiszerek előállítására, de antimikrobiális aktivitása miatt alkalmas élelmiszer-tartósításra is (Daglia 2012). Továbbá a húsiparban és a takarmánygyártásban is egyre inkább alkalmazzák, annak köszönhetően, hogy az állat- és baromfitápok virágporral való kiegészítése javította a növekedési teljesítményt, az immunválaszt, és a hasított féltestek (húsipari termékek) minőségét, nem utolsósorban az antibiotikumok kiváló helyettesítőjének tekintették (hús- és tejiparban való kiemelkedő fontosságú) (Didaras és mtsai. 2020).

Felnőtteknél naponta 20-40 g-ot ajánlanak fogyasztani terápiás céllal. Ha egy teáskanál 7,5 g virágport jelent, akkor megállapítható, hogy egy adag felnőtteknél 3-5 teáskanálnyi, gyermekeknél 1-2 teáskanálnyi ebből a méhészeti termékből. A virágport naponta 3-szor étkezés előtt kell bevenni. A kezelés/kúra időtartama 1-3 hónap, de évente 2-4 alkalommal megismételhető. A kezelés legmegfelelőbb időszaka a tél és tavasz, illetve a nyár és ősz közötti időszak. Általában kisebb dózisú virágport alkalmaznak más gyógyszerek melletti kombinált terápiákban és a krónikus betegségekben szenvedőknél (Komosinska-Vassev és mtsai. 2015).

A világ népességének gyors növekedése miatti megugró élelmiszer-ellátás maga után vonja a mezőgazdasági tevékenységekben a szintetikus kémiai növényvédő szerek, az ásványi műtrágyák, a növekedésszabályozók és hormonok használatának növekedését, és ennek következtében a növekvő környezetszennyezés a polleneket is érinti (Yolcu 2022; Çobanoğlu és mtsai. 2023).

Számos tanulmány hangsúlyozta, hogy a méhek által gyűjtött polleneket a környezetszennyezés bioindikátoraként használják. Azokat az anyagokat, amelyek minimális mennyiségben szükségesek az élőlények, különösen a növények fennmaradásához, nyomelemeknek nevezzük. Ha ezeknek az elemeknek a mennyisége meghaladja a tolerálható határértékeket, akkor toxikus szennyezőanyagokként definiálják őket. A pollenekben lévő, az emberi egészségre káros hatást okozó esszenciális és toxikus elemeket számos országban

vizsgálták. Ilyen elemek a magnézium (mikroelem); a vas, a mangán, a nikkel, a réz (nyomelemek); a szelén, a króm, a kobalt (ultranyomelemek); kadmium (mérgező elem) (Yolcu 2022; Çobanoğlu és mtsai. 2023). Éppen ezért, a virágpor élelmiszer-biztonsági szempontból számos rizikó faktort hordozhat, ilyen tényezők a toxikus nehézfémek, a mikroorganizmusok (baktérium spórák, penészgombák), és azok tevékenységeiből származó emberre káros hatású vegyületek (mikotoxinok), a növényvédőszer-maradványok (nevezetesen peszticidek), növény eredetű szennyező, heterogyűrűs karcinogén anyagok (pirrolizidin alkaloidok) (Végh és mtsai. 2022).

A méhek által begyűjtött virágpor ragadós állaga miatt nem képes a széllel történő vándorlásra, így ez nem képes allergiát okozni, ellentétben azzal a pollennel, melynek súlya sokkal könnyebb, és sokkal apróbb (nem látszik a levegőben olyannyira apró) méretű, ezáltal képes a szél magával ragadni. A méhpollen rendszeres fogyasztása mérsékeli a pollen-allergia tüneteit, ami a benne található flavonoidnak, nevezetesen a kvercetinnek köszönhető, hiszen ez a polifenolos vegyület antimikrobás hatása mellett képes az allergiás reakciónál jelen lévő mediátor -hisztamin- termelődést és működését gátolni, ezáltal a szénanátha elleni deszenzibilizáló kezelésre is használható kis mennyiségben (Fatrcová-Šramková és mtsai. 2013).

4. Anyagok és módszerek

A kutatásom során három virágport használtam fel, ezek közül kettőt két különböző méhésztől (Kosza István és Kosza Andor) szereztem be, míg a harmadik egy kereskedelmi forgalomba kapható szárított virágpor (SZ) volt. A helyi termelőktől származó virágporokat a méhek eltérő helyekről és eltérő hónapokban gyűjtötték be, az egyik a karcfalvi (K) Madicsa területéről, míg a másik a jenőfalvi (J) Dereglye területéről származik. Az előbbit 2023. június elején, az utóbbit 2023. július végén lett begyűjtve a virágporszedők által. Jelen kutatásom során a szárított virágporból nem vizsgáltam a benne lévő allochton mikroorganizmusokat, csupán kivonatot állítottam elő, annak céljából, hogy összehasonlítsam a különböző tartósítási módszerek által kezelt vegyes virágporok összpolicfenol tartalmát. A két termelőtől származó feldolgozatlan nyers virágporok mélyhűtőben voltak tárolva -18 °C-on, míg a kereskedelmi forgalomból vásárolt virágpor szárításon ment keresztül, mielőtt a piacok polcaira került, így a csökkentett víztartalma és alacsony vízaktivitása miatt szobahőmérsékleten (20-25°C) is tárolható. Mindhárom virágporból származó kivonatot hűtőszekrényben tároltam sötét helyen elemzésig és további felhasználásig.

4.1. A virágporokban előforduló allochton mikrobák kimutatása

A virágporokban jelen lévő allochton mikrobák kimutatását különböző szelektív táptalajokon végeztem szélesztés segítségével. Annak érdekében, hogy pontosabb eredményeket kapjak, a szélesztést az alapszuspenzióból és az 1:10 arányú hígításából is elvégeztem. A *Clostridium perfringens* kimutatása szelektív táplevesben történt. Az általam felhasznált szelektív táptalajokat és az általuk kimutatható baktériumokat, illetve más mikroorganizmusokat az alábbi 4.1.táblázatba foglaltam össze:

4.1.táblázat Összefoglaló táblázat

Táptalaj	Mikroorganizmus
Bacillus Cereus Agar Base	Aerob spórás baktériumok
Manitol Salt Agar	<i>Staphylococcus aureus</i>
Nutrient Agar	Mezofil aerob baktériumok
Clostridial Differential Broth	<i>Clostridium perfringens</i>
XLD Agar	<i>Salmonella enterica</i> , <i>Shigella spp</i> , <i>Proteus vulgaris</i>
L.mono Differential Agar Base	<i>Listeria monocytogenes</i>

ChromoBio® Coliform	Koliform baktériumok, <i>Escherichia coli</i>
Enterococcus Selective Agar	<i>Enterococcus faecalis</i>
Pseudomonas Agar Base	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
MRS Broth + Bacteriological Agar	Tejsavbaktériumok
Clostridium Botulinum Agar Base	<i>Clostridium botulinum</i>
Rose Bengal Chloramphenicol Agar	Mikroszkópikus gombák (élesztő és penészgombák)

A sterilizált szelektív táptalajokat és táplevest steril Petri-csészékbe, illetve kémcsőbe öntöttem ki. Miután megszilárdult, az alapszuszpénziókból (5 g virágpó +45 mL fiziológiás oldat) és a hígításokból (1 mL alapszuszpénzió + 9 mL fiziológiás oldat) 0,1 mL mennyiséget steril szélesztőbot segítségével alaposan és egyenletesen szétkentem az adott táptalaj felületére. Az aerob spórás baktériumok vizsgálata esetében hőkezelést végeztem a szuszpenziókból, tehát 10 percig 80 °C-os vízfürdőbe tartottam, majd ezt szélesztettem a megfelelő táptalajra. A szulfitredukáló anaerob spórás baktériumok esetében 10 mL tápleveshez 1 mL mintát adagoltam, és parafin segítségével alakítottam ki az anaerob körülményeket. A kémcsövet 10 percen keresztül 80 °C-os vízfürdőbe hőkezelttem, majd hideg vízbe lehűtöttem.

A tejsavbaktériumok vizsgálatára tápleves állt rendelkezésemre, így agart adagolva hozzá szilárd táptalajt kaptam, amire már széleszthetőek voltak a virágpó mintáim. A baktériumok tenyésztését anaerob és aerob körülmények között egyaránt elvégeztük. A baktériumok kimutatása során az inkubálás 37 °C-on 48 órán át történt. A mikroszkópikus gombák vizsgálatára szolgáló Petri-csészék kivételével a többit 37 °C-on 48 órán át inkubáltam. A mikroszkópikus gombák számára az optimális inkubálási idő és hőmérséklet 5-7 nap és 28 °C.

A *Clostridium botulinum* (és anaerob tejsavbaktériumok) kimutatására szolgáló Petri-csészéket úgynevezett anaerob tenyésztő edénybe (dobozba) helyeztem, az inkubálás szintén 37 °C-on végeztem, 48-72 óráig történt.

A szelektív táptalajokon kifejlődött baktérium telepekből tiszta tenyészeteket hoztam létre, majd mikroszkópi preparátumokat készítettem a Gram festési eljárással. A kifejlődött mikroszkopikus penészgombák esetében natív mikroszkópi preparátumokat készítettem az azonosítás céljából.

4.2. Virágpor kivonatok előállítása etanolos extrakció segítségével

Az antimikrobiális aktivitás vizsgálatához a kutatásom során a virágporokból extrakció segítségével kivontam a biológiailag aktív polifenolokat. Annak érdekében, hogy minél eredményesebb legyen a kivonás, többféle módszert hasonlítottam össze. Első módszer során 85°-os alkoholt virágporral kevertem, majd 12 órán keresztül hagytam állni szobahőmérsékleten (1. minta). Második eljárás során Soxhlet extraháló berendezés segítségével 6 óra alatt 80 °C hőmérsékleten 85°-os alkohol segítségével vontam ki a polifenolokat (2. minta). A harmadik módszer az ultrahangos kivonás volt. A virágpor mintákat 70°-os alkohollal 50 °C hőmérsékletű vízfürdőbe ultrahangos kivonásnak vettem alá. Különböző időintervallum elteltével (15 perc, 30 perc, 45 perc, 60 perc, 75 perc és 90 perc) a megszámozott Erlenmeyer-lombikok tartalmát leszűrtem, majd visszamértem a benne található kivont polifenol tartalmat (3. minta). A negyedik módszer során a virágpor mintámat először abszolút alkohollal (4. minta), másodszor pedig 70°-os alkohollal (5. minta) kezeltem szobahőmérsékleten 24 órán keresztül mágneses keverőt használva. Mindegyik módszer által kapott kivonatokot visszamértem és értelmeztem a kapott eredményeket. Számomra az a legideálisabb módszer, amely során legtöbb mennyiségű polifenolt tartalmazó kivonatot nyertem. Annak céljából, hogy a kivonatokot fel tudjam használni el kellett távolítani a benne található alkoholt rotációs párologtató berendezés segítségével (Rotovap). A berendezés segítségével nyers kivonatot tudtam előállítani, miközben a benne található alkoholt visszanyertem (további extrakciókhoz tudtam felhasználni).

4.3. A nyers virágpor kivonatok antimikrobiális hatásának vizsgálata

Az antimikrobiális aktivitás vizsgálata során az általam előállított nyers polifenol kivonatokot használtam fel különböző élelmiszerrel terjedő kórokozó baktériumokkal (*Escherichia coli* B.00200, *Salmonella enterica subsp. enterica* B.00834, *Staphylococcus aureus* B.01055, *Bacillus cereus* B.00076, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* B.01064, *Enterococcus faecalis* B.01054), valamint mikotoxintermelő penészgombákkal (*Aspergillus flavus* F.00048, *A. ochraceus* F.00850, *A. niger* F.00071, *Penicillium expansum* F.00601, *P. citrinum* F.00815) illetve élesztőgombával (*Saccharomyces cerevisiae* Y.00481) szemben.

A fent említett baktériumok és mikroszkópikus gombák törzsgyűjteményből származnak. Első lépésben a baktérium törzsekből 24 órás ferde agar tenyésztetet hoztam létre. A tenyészetekről steril oltókacs segítségével 2-3 kacsnyi mennyiséget 10 mL steril fiziológiás oldatot tartalmazó kémcsőbe helyeztem, majd Vortex Mixer segítségével homogén baktérium

szuszpenziót állítottam elő. Közben az autoklávozott táptalajból steril, feliratozott Petri-csészékbe megközelítőleg 20-20 mL mennyiséget öntöttem, majd miután kellően megszilárdult, a baktérium szuszpenziókból párhuzamosan háromszoros ismétléssel 0,1 mL-t pipettáztam minden Petri-csészébe, majd szélesztőbot segítségével alaposan szétkentem a táptalaj felületén.

A következő lépésben steril pipettahegy segítségével kisebb átmérőjű lyukat készítettem a táptalaj közepére. Ebbe pipettáztam 0,1 mL mennyiségű nyers virágpor-kivonatot. A Petri-csészéket 37 °C-on 24 órán át inkubáltam. Az inkubálást követően lemértem a kialakult gátlási zónákat.

A virágpor-kivonatok különböző mikroszkópikus gombákkal (*Aspergillus flavus*, *A. ochraceus*, *A. niger*, *Penicillium expansum*, *P. citrinum*, *Saccharomyces cerevisiae*) szembeni antifungális hatásának vizsgálata hasonló módszerrel zajlott, mint a fentebb leírt antimikrobiális hatás vizsgálata. A már meglévő penészgomba tenyészetekből friss tenyészeteket hoztam létre komplex táptalajon. A komplex táptalaj összetétele: 10 g pepton, 40 g glükóz, 10 g élesztőkivonat, 20 g agar, 1000 mL desztillált víz. Az inkubálás 5 napig tartott 28°C-on. Az inkubálási idő leteltével a friss tenyészetekből gomba szuszpenziót hoztam létre (kémcsőbe 10 mL fiológias hígítófolyadékhoz penészgombák esetében 3 kacsnyi mennyiséget adtam, míg az élesztőgomba esetében elég volt 2 oltókacsnyi mennyiség is). Az így elkészített gomba szuszpenziókból (ugyanúgy, mint a baktérium szuszpenziókból is) 0,1 mL pipettáztam komplex táptalajra, szélesztőbottal egyenletesen szétoszlattam a táptalaj felületén. Steril pipettahegy segítségével kis lyukat vágtam a táptalaj közepére, ebbe került a 0,1 mL-nyi virágpor kivonat. Az 5 napig tartó inkubálás után a Petri-csészéken megjelenő gátlási zóna sugarakat megmértem és lejegyeztem.

4.4. Legkisebb gátlási koncentráció (MIC) meghatározása

A virágpor-kivonatok antimikrobiális aktivitásának vizsgálata során felhasznált törzsgyűjteményekből származó baktériumok közül a *Salmonella enterica*, a *Staphylococcus aureus* és a *Pseudomonas aeruginosa* esetében határoztam meg azt a legkisebb kivonat koncentrációt, amely képes gátolni az említett baktérium növekedését. A legkisebb gátlási koncentrációt mikrodilúciós eljárás segítségével határoztam meg friss tenyészetek (24 óras) felhasználásával és 96 lyukú microplate-t alkalmazva.

A MIC meghatározásához szükségem volt autoklávozott Nutrient táplevesre, steril pipetta hegyekre, mikrotiter lemezre (steril), autoklávozott 0,01 % rezazurin oldatra, baktérium szuszpenziókra (0.8-1 OD) és természetesen a virágpor kivonatokra.

Első lépésként homogén baktérium szuszpenziót állítottam elő a már elkészített 24 órás ferde agar szintenyészetek 2 kacsnyi mennyiségéből és 10 mL steril fiziológiás oldatból. A microplate első két oszlopába 100 μ L táplevest pipettáztam majd 20 μ L baktérium szuszpenziót adtam hozzá. Így a rendelkezésemre álló megmaradt szabad terület 8 sort és 10 oszlopot tartalmaz. Ebből egy-egy sorba mindkét virágpor kivonathoz rendre 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 és 100 μ L mennyiséget pipettáztam, amelyeket a Nutrient táplevessel 120 μ L-re egészítettem ki. Ez a két sor a későbbi színreakciók viszonyítási alapjául fognak szolgálni.

Hasonló módon, mint a kontroll soroknál 10, 20, ..., 90, 100 μ L kivonatot pipettáztam a zsebekbe, amihez ugyanebbe a sorrendbe 90, 80, ..., 10, 0 μ L Nutrient táplevest adtam. Így mindegyik kicsi zseb 100 μ L-nyi mennyiséget tartalmaz összesen, ezáltal létrehoztam egy növekvő koncentrációjú hígítást a kivonatokból (10%, 20%, ..., 100%). Mindegyik zsebhez 20 μ L baktérium szuszpenziót pipettáztam. Mindegyik zseb tehát 120 μ L-t tartalmaz, függetlenül attól, hogy tartalmaz-e kivonatot vagy baktérium szuszpenziót. A vizsgálatot háromszoros ismétléssel végeztem el mindhárom baktériumra mindegyik kivonat esetében. A mikroplate-teket 24 órán keresztül 37 °C hőmérsékleten inkubáltam.

Az inkubálás után minden zsebbe steril körülmények között 10 μ L 0,01 % rezazurin oldatot pipettáztam, ezt 2 óra inkubálás követte. Azokban a zsebekben, amelyekben az adott baktérium képes volt szaporodni, rózsaszínűek lesznek, míg azok a zsebek, amelyekben nincs szaporulat, kék színűek maradnak.

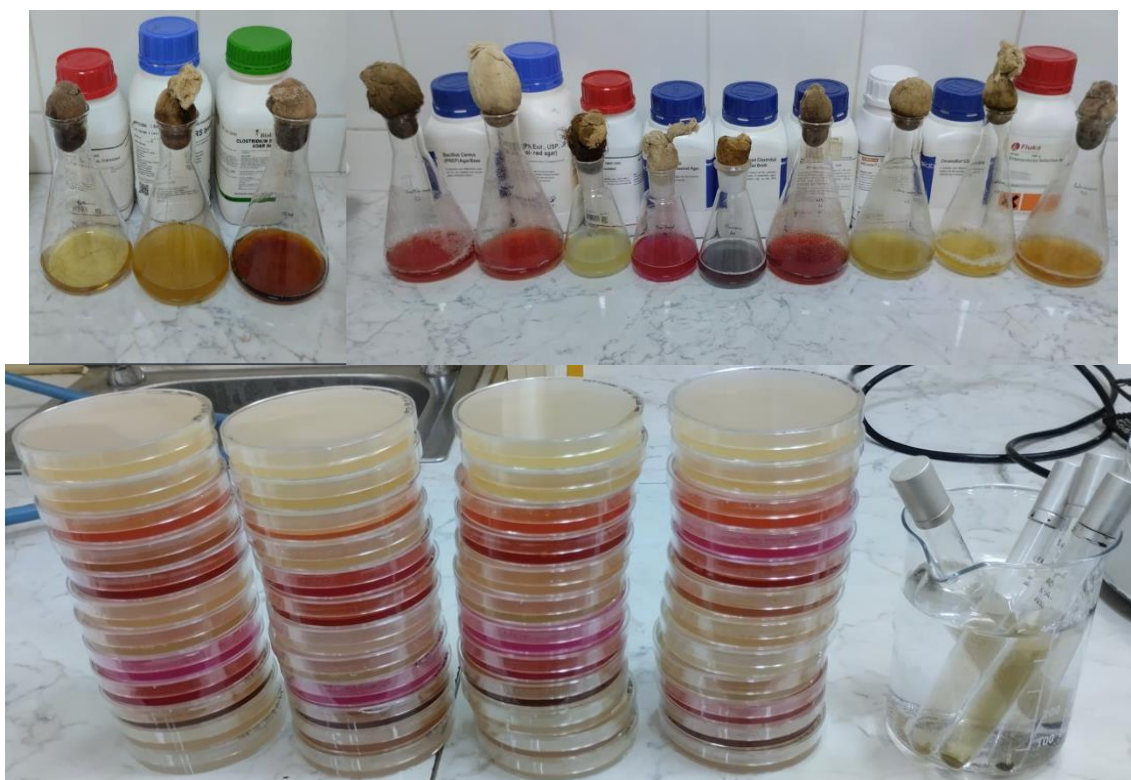
4.5. A virágporok kémiai összetétele és antimikrobiális hatása közötti korreláció meghatározás

Kutatásom során a kapott eredményeket feldolgoztam és összefüggéseket mutattam ki egyes tulajdonságok között statisztikai program felhasználásával, meghatározva a virágporok kémiai-fizikai tulajdonságai és antimikrobiális hatásai közötti korrelációk nagyságát. Első lépésben mindegyik virágporból külön-külön kimértem 50 g-ot és szín szerint szétválogattam, majd visszamértem. Ezután összesítettem és vizsgáltam általam kapott laboratóriumi mérésekből származó eredményeket.

5. Eredmények és kiértékelésük

5.1. A virágporokban előforduló allochton mikrobák kimutatása

A virágporokban előforduló allochton mikrobák vizsgálata során 12 különféle táptalajt 56 darab Petri-csészét, steril Petri-csészéket és kémcsöveket használtam fel a munka során (5.1.ábra).



5.1. ábra. Az általam felhasznált táptalajok és az inkubálás előtti minták

Az inkubálási idő leteltével a szelektív táptalajok felületén, ha az adott baktérium/gomba jelen volt, telepeket hozott létre. Leszámolva a telepeket meghatároztam a virágporok grammonkénti élősejtszámait. Ezen eredményeket az alábbi 5.1.táblázatba foglaltam össze:

5.1. táblázat Az allochton mikroorganizmusok vizsgálata során kapott eredmények

Vizsgált mikroorganizmus		Jenőfalvi (TKE/g virágpor)	Karcfalvi (TKE/g virágpor)
Mezofil aerob baktérium		$3,5 \cdot 10^4$	$1,4 \cdot 10^3$
Aerob spórás baktérium (<i>B. cereus</i>)		$5 \cdot 10$	$1 \cdot 10^2$
<i>Staphylococcus aureus</i>		$1 \cdot 10$	$5 \cdot 10$
XLD táptalaj	<i>Shigella spp.</i>	0	0
	<i>Proteus vulgaris</i>	$4,1 \cdot 10^3$	0
	<i>Salmonella enterica</i>	$5 \cdot 10$	0
	Ismeretlen baktérium	$2,5 \cdot 10^3$	0
Mikroszkopikus	penészgomba	$2,8 \cdot 10^2$	$1 \cdot 10$
	élesztőgomba	$1 \cdot 10$	$3,5 \cdot 10^4$
<i>Clostridium perfringens</i>		+	+
Koliform baktériumok	barna színű telep	$3,08 \cdot 10^4$	0
	sárga színű telep	$3,9 \cdot 10^3$	0
<i>Escherichia coli</i>		0	0
<i>Enterococcus faecalis</i>		0	0
<i>Listeria monocytogenes</i>		$4 \cdot 10^2$	0
Tejsavbaktériumok	aerob	$4,9 \cdot 10^3$	$1,2 \cdot 10^3$
	anaerob	$3,17 \cdot 10^4$	$1,2 \cdot 10^4$
<i>Clostridium botulinum</i>		$3,89 \cdot 10^4$	0
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		0	0
Ismeretlen baktérium		$1,62 \cdot 10^4$	$5 \cdot 10^2$

A Nutrient táptalaj segítségével határoztam meg a mezofil aerob baktériumok összcsíraszámát, amely során információt kaptam a virágporok mikrobiológiai szennyezettségéről. Az összcsíraszám következtetni enged az aerob spórás baktériumok mennyiségére. Ha az adott virágpor szennyezettebb, akkor a spórás baktériumok is jelentős számmal lesznek jelen. Ha magas a mezofil aerob baktériumok száma, feltételezhető, hogy a mintában kórokozó baktériumok is előfordulhatnak.

A 5.1.táblázatból kiolvasható, hogy a kapott eredmények alapján a Karcfalvi virágpor kevésbé volt terhelt mikrobiológiai szempontból, mint a Jenőfalvi virágpor. A Karcfalvi virágpor nem tartalmazott fekális szennyeződésre utaló indikátor baktériumokat, míg a Jenőfalvi virágpor esetében ugyan nem volt jelen *E. coli* baktérium, viszont jelentős számú koliform baktérium volt benne jelen, valamint a *Clostridium perfringens* is. Továbbá azt összcsíraszámot

tekintve is a Jenőfalvi 25x több mezofil aerob baktériumot tartalmazott. Ennek magyarázata a méhészet közvetlen környezetben lelhető fel, a Jenőfalvi Dereglye területén lévő méhészettől légvonalban nem messze egy kisebb tanya található, ahol állatokkal is gazdálkodnak. Ezen kívül kisebb távolságon belül a virágos rétek (méhlegelő), termőföldek és szántóföldek vannak. A méhek a kaptártól számítva akár 5 kilométeres távolságra is képesek elrepülni nektár és virágporgyűjtés céljából. Így előfordulhat, a földek trágyázása vagy éppen a gazdálkodásból származó szennyezett vizek nem megfelelő tisztítása során a környéken lévő virágok is szennyeződhetnek különféle baktériumokkal (főként fekális eredetű baktériumokkal).

A Jenőfalvi virágporból sokkal kevesebb mikroszkópikus élesztőgomba és 5x kevesebb *S. aureus* baktérium volt kimutatható.

A 5.1.táblázatot elemezve látható, hogy a vizsgálat során kifejlődött baktériumok nagy része a környezetből (talaj, levegő, víz) illetve a méhekről kerülhetett a virágpорок felszínére. Az MRS táptalajon kifejlődő viszonylag nagy számú tejsavbaktériumok jelenléte várható volt, ugyanis természetes módon jelen vannak ezek a baktériumok a növényi felületeken, ugyanakkor ezek a baktériumok akár hasznos tejsavbaktériumok is lehetnek, de romlást is okozhatnak.

Az anaerob szulfít redukáló baktériumok vizsgálata során mindkét virágpор esetén pozitív visszajelzést kaptam, tehát mindkét kémcső tartalma befeketedett, és a parafin megemelkedett, ami gázfejlődésre utal, illetve a kémcső felnyitása után jellegzetes, kénes szag érződött (5.2.ábra).



5.2. ábra. A Jenőfalvi és Karcfalvi virágpорból kimutatott anaerob szulfít redukáló baktériumok

Annak érdekében, hogy megállapítsuk valóban *Clostridium perfringens* van jelen a virágporokban ellenőrző vizsgálatot végeztem.

5.1.1. Ferde agar tenyészetek készítése

Az általam kitenyésztett baktériumokból ferde agar tenyészeteket hoztam létre, hogy szintenyészeteket hozzak létre. Ehhez szükségem volt autoklávozott Nutrient táptalajra, MRS táptalajra, kémcsövekre, oltókacsra. A még folyékony meleg táptalajt kémcsövekbe öntöttem ki, majd vízszintes helyzetbe, enyhén dőlt szögbe hagytam megszilárdulni. Az egyes Petri-csészékben kifejlődött telepek közül egyet kiválasztva a lesterilizált oltókacs segítségével felvettem és a ferde agar felszínére cikk-cakkos alagzatba alaposan szétkentem.

A ferde agar tenyészeteket 37 °C-on 2 napig inkubáltam. Az alábbi 5.3.ábra mutatja be az inkubálás utáni kémcsöveket, látható, hogy mind a 41 darab kémcsőbe sikeres volt a szintenyészet létrehozása.



5.3. ábra. Az inkubálás utáni képek a szintenyészetekről

Az izolálás után Gram-festést végeztem, annak céljából, hogy csoportosíthassam és ellenőrizhessem az általam létrehozott szintenyészeteket. A Gram-festés után vannak olyan baktériumok, amelyek megtartják az első festékanyag színét és kékeslila színűek lesznek (ezek a Gram-pozitív baktériumok) és vannak olyan baktériumok, amelyek nem képesek megtartani az első színezőanyag színét, így az alkoholos mosás után színtelenné válnak, a második festőanyag segítségével ezek a baktérium sejtek rózsaszínes vagy pirosas színűek lesznek (ezek

a Gram-negatív baktériumok). A vizsgálathoz szükségem volt kristályibolya és káliumjodidos jódooldatra (első festék), alkoholra a mosáskor, safraninra (második festék), tárgylemezre. Első lépésben a tárgylemezre az adott tenyészet szuszpenziójából kenetet készítettem, majd levegőn állni hagyva megszáritottam. Annak érdekében, hogy ne mosódjanak le a tárgylemezről a baktériumok a festés és a mosás során, lánggal rögzítettem azokat. Ezt követte a festés. Először kristályibolya festéket használtam, amelyet káliumjodidos jódooldattal (Lugol-oldattal) kezeltem pár percig. Alkoholos mosással eltávolítottam a festéket a tárgylemezről, majd vízzel is lemostam a tárgylemezt. Következett a festés utolsó lépése. A tárgylemezre safranint, mint kontrasztfestéket vittem fel, amit 1-2 percig hagytam, majd vízzel leöblítve a lemezről a festéket megszáritottam. Mindegyik preparátumot mikroszkóppal megvizsgáltam és az eredményeket az alábbi 5.2.táblázatba foglaltam össze.

5.2. táblázat A Gram-festés során kapott eredmények

Nr.	Vizsgált baktérium izolátum	Gram jelleg	Sejtmorfológia
1	Coliform. J H B	Gram-negatív	bacillus
2	Coliform. J H S	Gram-negatív	bacillus
3	XLD. J A R	Gram-negatív	bacillus
4	XLD. J H S	Gram-negatív	bacillus
5	XLD. J A F	Gram-negatív	bacillus
6	XLD. J A S	Gram-negatív	coccobacillus
7	Pseudo. J H S	Gram-negatív	bacillus
8	Pseudo. J H F	Gram-negatív	bacillus
9	Man. J A S	Gram-pozitív	staphylococcus
10	Man. K A S	Gram-pozitív	bacillus
11	List. J H KK	Gram-pozitív	coccus
12	List. J H KF	Gram-pozitív	bacillus
13	B. cereus. K A	Gram-pozitív	bacillus
14	Speudo. K A N	Gram-pozitív	bacillus
15	Nutr. J H S	Gram-pozitív	bacillus
16	Nutr. K H. Köz.	Gram-pozitív	bacillus
17	Nutr. J H F	Gram-pozitív	streptococcus
18	Nutr. J H HF	Gram-pozitív	bacillus
19	Nutr. K H N	Gram-pozitív	bacillus

20	Nutr. J H FS	Gram-pozitív	bacillus
21	Nutr. K H KI	Gram-negatív	bacillus

A 5.2.táblázatban szereplő jelölések a következők:

- Coliform - ChromoBio® Coliform táptalajon kifejlődött baktériumtelep;
- J – Jenőfalvi virágpor;
- H – virágpor alapszuszpenzióból származó hígítás;
- A – virágpor alapszuszpenziója;
- K – Karcfalvi virágpor;
- B – barna színű telep;
- S – sárga színű telep;
- R – rózsaszínű telep;
- XLD – XLD Agar táptalajon kifejlődött baktériumtelep;
- Pseudo – Pseudomonas Agar Base táptalajon kifejlődött baktériumtelep;
- Man – Manitol Salt Agar táptalajon kifejlődött baktériumtelep;
- List – L. mono Differential Agar Base táptalajon kifejlődött baktériumtelep;
- KI – kis méretű különálló telep;
- N – nagy méretű különálló telep;
- Köz – közepes méretű különálló telep;
- HF – halvány fehér színű különálló telep;
- FS – fehér, belül sárga színű különálló telep;
- KF – szélén kék, belül fehér színű különálló telep;
- KK – kék színű telep.

5.1.2. Ellenőrző vizsgálatok

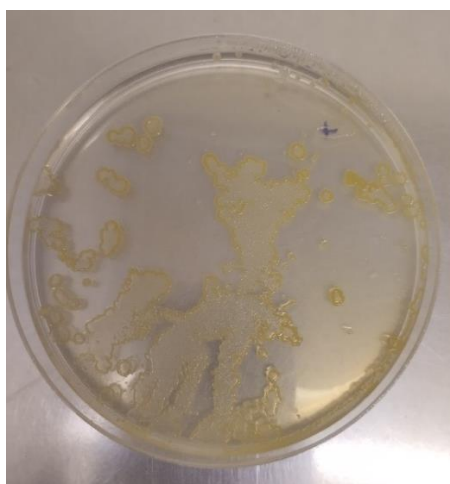
Az allochton mikrobák vizsgálata során az általam vizsgált virágporokból több mikroorganizmust is kimutattam, amelyek között akadtak feltételezett patogén baktériumok (pl a spóráképző *Clostridium perfringens* baktériumok). Ellenőrző vizsgálatokkal igazolható, hogy valóban a feltételezett baktériumok voltak jelen a virágporokban vagy sem. Esetemben mind a két virágpor alapszuszpenziójából kimutatható volt a *Clostridium perfringens* anaerob szulfitredukáló baktérium. Ellenőrző vizsgálat során 10 mL pasztörözött tejre volt szükségem, amelyet steril kémcsőbe raktam. A tejhez 1 mL *C. perfringens* mintát pipettáztam, összeráztam, majd 24 órán át inkubáltam 37 °C-os hőmérsékleten. Az inkubálás után

szemrevételeztem a kémcsőket. Pozitív visszaigazolást kaptam, ugyanis mind a két kémcsőbe a tej kicsapódott, szivacsos jelleg alakult ki (5.4.ábra).



5.4. ábra. Inkubálás előtti és utáni képek a *Clostridium perfringens* vizsgálata során

A *Pseudomonas aeruginosa* baktérium vizsgálata esetében ugyan nem fejlődött ki egy telep sem egyik mintám esetében sem, viszont a Jenőfalvi virágporból ismeretlen eredetű baktérium telepeket számoltam le (5.5.ábra). UV fény alá helyezve a Petri-csészét, a telepek nem világítottak kék színűen, így az ismeretlen baktérium nem *P. fluorescens* baktérium, hanem más a *Pseudomonas* nemzetségbe tartozó baktérium.



5.5. ábra. *Pseudomonas* spp. baktériumtelepek *Pseudomonas* Agar Base táptalajon

A *C. botulinum* baktérium esetében mikroszkópikus preparátumot készítettem. Egy tiszta tárgylemezre egy csepp desztillált vizet helyeztem, majd egy oltókacs segítségével egy különálló fehér színű telepet a táptalaj felületéről a tárgylemezre vittem át, fedőlemezt helyeztem rá és mikroszkóp alá helyeztem (natív preparátum). A mikroszkóp alatt elérve a megfelelő nagyítást, figyeltem a baktériumsejteket. A sejtek gömb alakúak voltak (anaerob kókuszosok), nem pálcák alakúak, valamint ezek a sejtek nem mozogtak. Tehát a megerősítő vizsgálat alapján kijelenthető, a Jenőfalvi virágpor nem tartalmaz *C. botulinum* baktériumot.

A *Lactobacillus* baktériumok esetében szintén mikroszkópi preparátumot készítettem mind az aerob, mind az anaerob körülmények között kifejlődött telepekből. Hasonló módon jártam el, mint a *C. botulinum* baktérium vizsgálata esetében. Először az aerob tenyészetek mintáit hasonlítottam össze, a pálcika alakú sejtek helyett inkább *Streptococcus* változatok voltak megfigyelhetők a Karcfalvi virágpornál, míg a Jenőfalvi virágpornál már a *Streptococcus* mellett a *Lactococcus* változatok is előfordultak. Az anaerob tenyészetek vizsgálata során a Karcfalvi virágpornál szintén *Streptococcus*-ok voltak jelen, a Jenőfalvinál viszont a *Streptococcus*-okon kívül pálcák alakú *Lactobacillus* baktériumok is láthatóak voltak (5.6.ábra).



5.6. ábra. Natív mikroszkópi preparátum a *J. anaerob* tejsavbaktériumokról (*Lactobacillus* spp.)

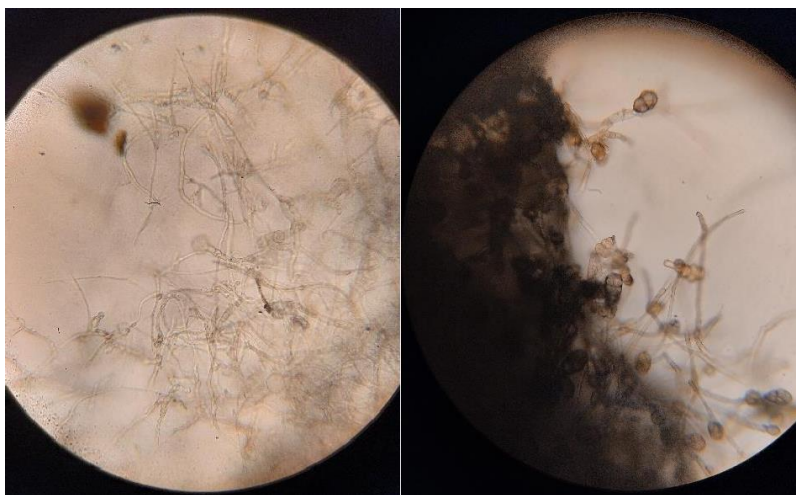
5.1.3. Az allochton mikrobák vizsgálata során kifejlődött mikroszkópikus penészgombák azonosítása

A Rose Bengal Chloramphenicol Agar táptalajon a Jenőfalvi virágpor esetén több, míg a Karcfalvi virágpor esetén 1 mikroszkópikus penészgomba fejlődött ki az inkubálás után (5.7.ábra).



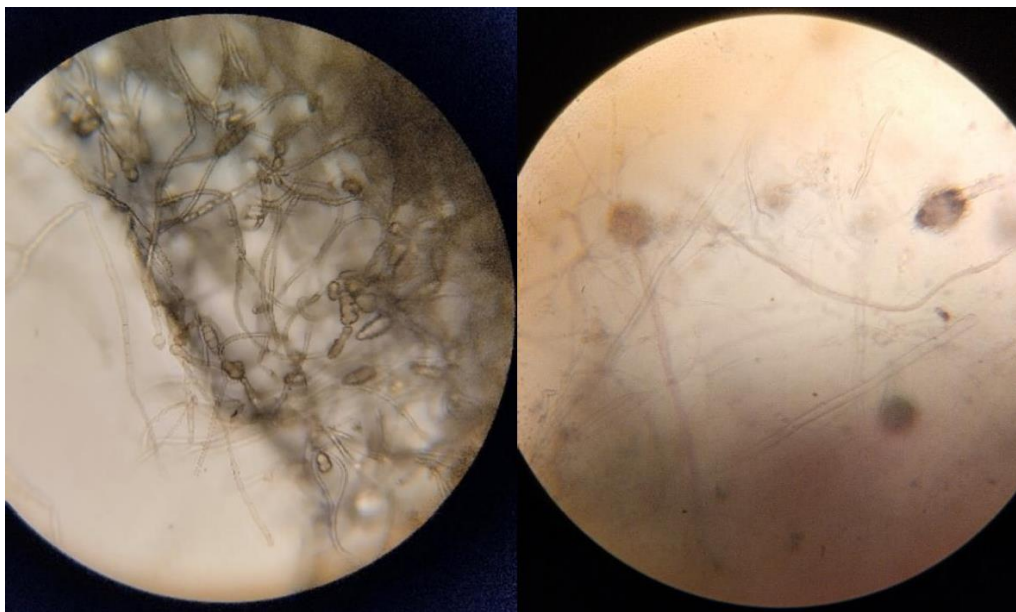
5.7. ábra. A két virágporból kifejlődött penészgomba és élesztőgomba telepek

Ezekből a telepekből külön-külön natív preparátumot készítettem, majd mikroszkóp segítségével azonosítottam. Összesen 10 különböző telepről készítettem preparátumot steril csipesz felhasználásával. A Jenőfalvi virágpor *Mucor*, *Alternaria*, *Cladosporium*, *Microsporum* nemzetségekbe tartozó penészgombákat tartalmazott (5.8.ábra).



5.8. ábra. *Mucor* és az *Alternaria* nemzetségbe tartozó penészgombák mikroszkópi képe

Míg a Karcfalvi virágporból *Aspergillus flavus* penészgomba volt azonosítható (5.9.ábra).



5.9. ábra. *Microsporum* és az *Aspergillus* nemzetségbe tartozó penészgombák mikroszkópi képe

5.2. Virágporkivonatok előállítása etanolos extrakció segítségével

Annak céljából, hogy meg tudjam határozni a polifenolok mennyiségét, előzetesen készítettem egy kalibrációs görbét galluszsav oldatokból, ugyanis az összpolicenol tartalmat galluszsav egyenértékben lehet kifejezni.

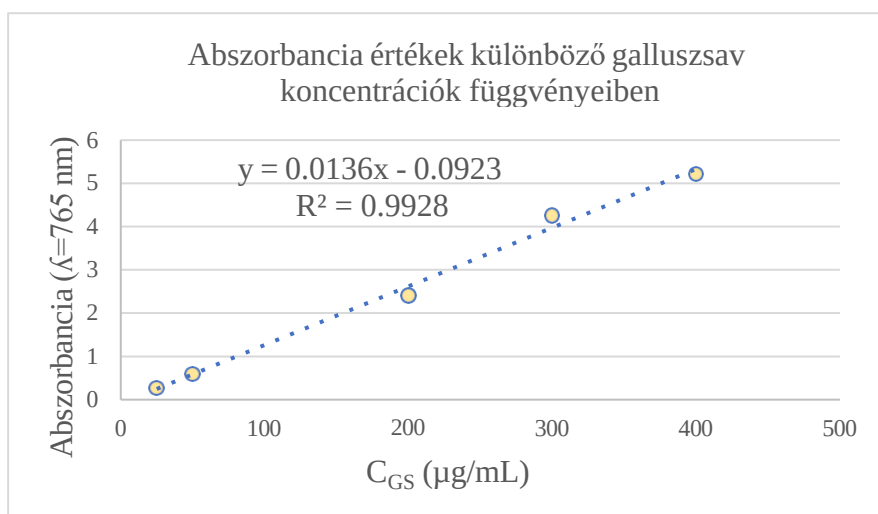
A standard kalibrációs görbe elkészítéséhez szükségem volt 25, 50, 200, 300, 400 µg/mL koncentrációjú galluszsav oldatokra. Törzsoldatnak első lépésben egy 1000 µg/mL koncentrációjú oldatot készítettem el, ebből állítottam elő megfelelő mértékű hígítással a fentebb leírt oldatokat. Mindegyik koncentrációjú oldat 0.5 mL mennyiségéhez 2 mL (1:10-es hígítású) Folin–Ciocâlteu reagenst (FCR) adtam, pár percig állni hagytam, szintén 2 mL 4 w/v %-os Na₂CO₃ oldatot adagoltam, a kémcsöveket sötétbe helyezve két órát állni hagytam (5.10.ábra).



5.10. ábra. Standard kalibrációs oldatok

A hígításokkal párhuzamosan vakoldatot is készítettem. Az idő leteltével az oldatok abszorbanciáját $\lambda = 765 \text{ nm}$ hullámhosszágon megmértem. Abban az esetben, ha az abszorbancia értéke meghaladta az 1-et, hígítást végeztem (ha az abszorbancia ≥ 1 , az abszorbancia és koncentráció közötti összefüggése nem lineáris).

A Microsoft Excel táblázatkezelő program segítségével ábrázoltam az abszorbancia értékeket az ismert koncentrációk függvényében, meghatároztam az egyenes egyenletét. Az ábrázolás során az alábbi grafikont kaptam (5.11.ábra).



5.11. ábra. Kalibráció során kapott görbe egyenlet

A virágpor kivonatok során ugyanígy jártam el. A különböző mozzanatok az alábbi 5.12. ábra mutatja be.





5.12. ábra. A különböző módszerekkel kinyert kivonatok polifenoltartalmának meghatározása

A mért abszorbancia értékekből és a kalibrációs görbe egyenletével számított gallusszav koncentrációk értékeit az alábbi táblázatba foglaltam össze (5.3.táblázat).

5.3. táblázat Különböző módszerek hatékonyságát összefoglaló táblázata

Minta jelölése	Gallusszav koncentráció ($\mu\text{g/mL}$)
1. minta	3795,40
2. minta	8070,28
3. minta 15	4536,20
3. minta 30	4374,43
3. minta 45	4896,49
3. minta 60	5065,61
3. minta 1h 15	4955,32
3. minta 1h 30	4484,73
4. minta	6103,85
5. minta	5803,85

Az eredményeket összehasonlítva, látható, hogy a legmagasabb polifenol-tartalmat az etanolos Soxhlet extrakció során tudtam kivonni, így a továbbiakban ezzel a módszerrel haladtam tovább. A Soxhlet extrakció után, a második leghatásosabb módszer a mágneses kevertetővel 96°-os alkohollal történő extrahálás volt. A két keverős módszert összehasonlítva az eredmények azt mutatják, hogy az abszolút alkohollal történő kivonás egy kis különbséggel

is, de eredményesebbnek bizonyult. A legkisebb fenol-tartalmat a kevertetés nélküli 12 órán keresztüli 85°-os alkoholba való tartással kaptam.

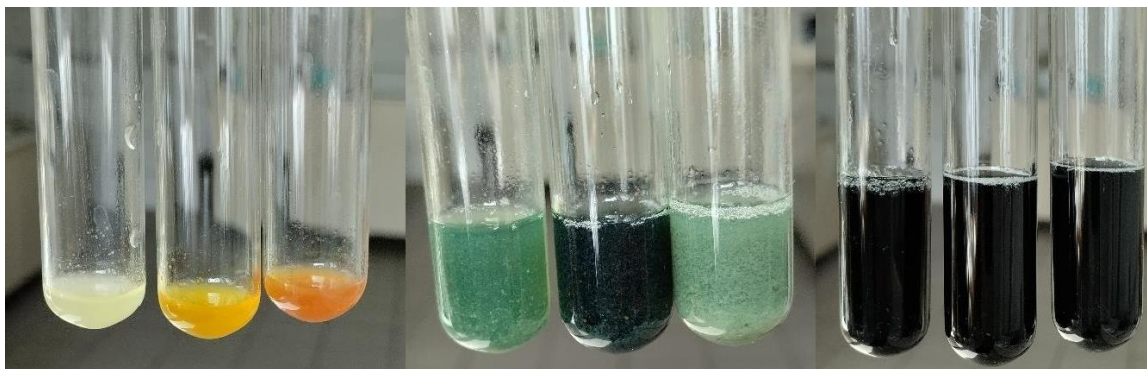
Mind a három virágporból tehát a következtetések levonása után, Soxhlet extrakció során vontam ki a polifenolokat, majd az alkohol eltávolítása után kaptam meg a nyers kivonatokat. Annak céljából, hogy tovább tudjak számolni, meghatároztam a különböző virágporok nedvességtartalmát nedvességmérő mérleg segítségével.

Az alábbi 5.4.táblázatba foglaltam össze a lényegesebb eredményeimet és számításaimat.

5.4. táblázat A különböző virágporok főbb paraméterinek összesítő táblázata

Vizsgált paraméter	Karcfalvi virágpor és annak kivonata	Jenőfalvi virágpor és annak kivonata	Szárított virágpor és annak kivonata
Nedvességtartalom (m/m%)	24,26	17,16	3,33
Extrakció során bemért virágpor tömege	15,028	15,133	15,053
Abszorbancia értéke ($\lambda=765$ nm)	5,16	5,165	5,11
Galluszsavban számított polifenol koncentráció ($\mu\text{g/mL}$)	386,20	386,57	382,52
Polifenol-tartalom száraz tömegre viszonyítva (GAE/ sz.t.)	33,93	30,84	26,29

A 5.4.táblázatban található adatokat figyelve kijelenthető, hogy a nedvességtartalmon kívül a többi paraméter függvényében nincs nagy eltérés a három virágpor között. A legnagyobb nedvességtartalommal és polifenol-tartalommal a Karcfalvi virágpor rendelkezett, ezt követte a Jenőfalvi, majd a kereskedelmi forgalomban kapható szárított virágpor. A kivonatokhoz adagolt Folin–Ciocâlțeu reagens (FCR) és a Na_2CO_3 oldat, majd a pihentetés utáni színváltozást az alábbi képek mutatják be (5.13.ábra).



5.13. ábra. Rendre a Jenőfalvi, Karcfalvi, szárított virágpor-kivonatok színreakciói

Az utóbbi képet nézve, látható, hogy első ránézésre nem lehet megállapítani a színek alapján, hogy melyik az a virágporból nyert kivonat, amelyik a legtöbb polifenolt tartalmazná. Az abszorbancia értékek is ugyanezt sugallják. Annak ellenére, hogy a Jenőfalvi virágporból volt a legtöbb bemérve, illetve ebből a virágporból származó kivonat tartalmazta a legtöbb galluszsav koncentrációban átszámított polifenol mennyiséget, mégis a Karcfalvi rendelkezett a legnagyobb galluszsav egyenérték/száraz virágpor tömegben (GAE/sz.t.) kifejezett polifenoltartalommal. Ez az eltérő nedvességtartalommal magyarázható. Evidens, hogy minél nagyobb az abszorbancia értéke annál nagyobb a galluszsav koncentráció. A tömegekre számolt polifenoltartalom képletében szerepel a nedvességtartalom értéke, amely nagyban befolyásolja a kapott polifenoltartalmat. A nedvességtartalom csökkenésével nő a százalékban kifejezett száraz tömeg, mivel ez az érték a képletben az osztó szerepét tölti be, így a száraz tömeg növekedése maga után vonja a galluszsav egyenértékben kifejezett polifenol mennyiség csökkenését. Így ezek alapján következtethető számításokkal alátámasztva, hogy a legkisebb hatóanyag tartalom a legkisebb nedvességtartalmú szárított virágporban lesz, míg a legnagyobb, ugyanezen a vonalon haladva a legnagyobb nedvességtartalmú Karcfalvi virágporból készíthető a legtöbb hatóanyaggal rendelkező kivonat. A virágporból származó kivonatok antimikrobiális aktivitásának vizsgálata során feltevődik az a kérdés, hogy a legtöbb hatóanyaggal rendelkező kivonat adja-e majd a legnagyobb gátlási zóna értékeket, illetve a legkisebb gátlási koncentráció meghatározása során ez a kivonat esetében lesz-e a legalacsonyabb ez a koncentráció érték. A továbbiak ezekre a kérdésekre is kerestem a választ.

5.3. A nyers virágpor kivonatok antimikrobiális hatásának vizsgálata

5.3.1. Baktériumokkal szembeni antimikrobiális aktivitás vizsgálata

A 37 °C-on történő inkubálási idő leteltével a Petri-csészéket kivettem az inkubátorból és megmértem minden egyes kialakult gátlási zóna sugarát legalább három különböző pontban, majd a kapott eredményeket összesítettem, átlagokat számítottam ki és meghatároztam a szórás mértékét. A létrejövő gátlási zóna sugarát milliméterben kifejezve adtam meg (5.5.táblázat).

5.5. táblázat A Karcfalvi virágpor minták agárdiffúziós módszerrel meghatározott antimikrobiális aktivitása (mm-ben kifejezve)

<i>S. enterica</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>B cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>L. monocytogenes</i>
11	13	3	10	4	6	4
13	13	4	10	4	4	4
11	14	2	10	3	5	5
12	13	5	11	3	10	5
14	13	2	11	3	6	4
12	14	4	10	4	5	5
13	7	4	10	6	5	5
11	10	4	11	3	2	4
12	10	2,5	10	3,5	3	4

A Jenőfalvi virágpor-kivonat esetén a gátlási zónák értéke (5.6.táblázat) a következő módon alakultak:

5.6. táblázat A Jenőfalvi virágpor minták agárdiffúziós módszerrel meghatározott antimikrobiális aktivitása (mm-ben kifejezve)

<i>S. enterica</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>B cereus</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>L. monocytogenes</i>
9	12	0	6	6	7	-
8,5	9	0	6	5,5	9	-
9	9	0	6	5	4	-
8	12	0	7	6	8	3
8	10	0	6	5	6	3
8	9	0	6,5	5,5	3	4
9	8	0	6	4	9	4
7	10	0	7	5	6	3
8	11	0	6	4	5	2,5

A 5.6.táblázatban látható, hogy a *Listeria monocytogenes* baktériummal szembeni antimikrobiális aktivitás vizsgálata során az egyik Petri-csészét nem tudtam figyelembe venni, ugyanis a belepipettázott kivonat kifolyt a táptalaj felületére.

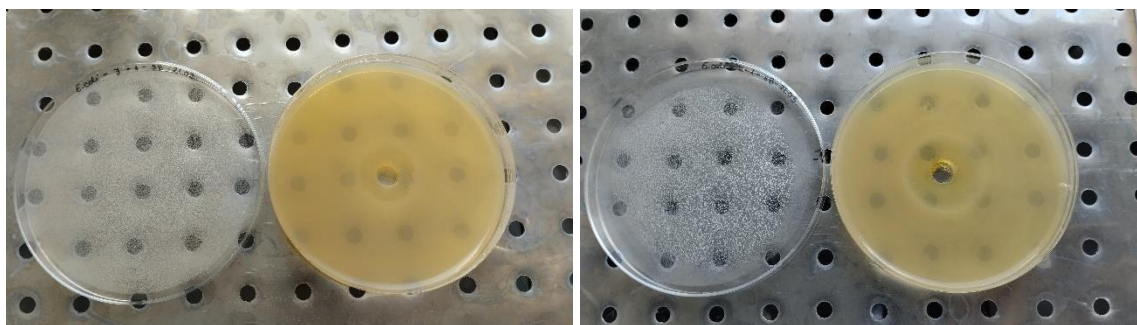
Összesítettem a kapott eredményeket a 5.7.táblázatba és összehasonlítottam a két virágpor-kivonat hatásait.

5.7. táblázat Az antimikrobiális aktivitást összesítő táblázat

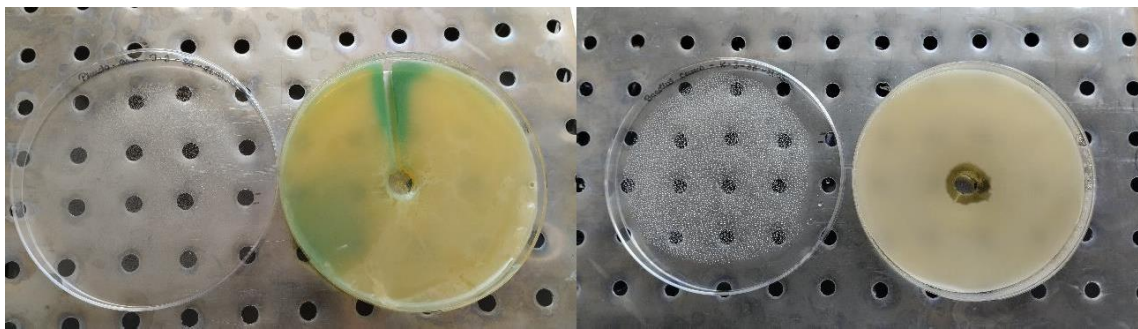
	Karcfalvi virágpor-kivonat	Jenőfalvi virágpor-kivonat
<i>Salmonella enterica</i>	12,11±1,05	8,28±0,67
<i>Staphylococcus aureus</i>	11,89±2,37	10,00±1,41
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,39±1,05	0
<i>Escherichia coli</i>	10,33±0,5	6,28±0,44
<i>Bacillus cereus</i>	3,72±0,97	5,11±0,74
<i>Enterococcus faecalis</i>	5,11±2,26	6,33±2,12
<i>Listeria monocytogenes</i>	4,44±0,53	3,25±0,61

A Microsoft Excel program segítségével számoltam ki a szórás és átlag értékeket a =STDEV.S() és =AVERAGE() függvények felhasználásával.

Összevetve a laboratóriumi mérések során kapott eredményeket, a Karcfalvi virágpor-kivonat a baktériumok többségében nagyobb antimikrobiális aktivitást mutatott, mint a Jenőfalvi virágpor-kivonat (5.14.ábra és 5.15.ábra), de a *Bacillus cereus* és az *Enterococcus faecalis* baktériummal szemben viszont hatásosabbnak bizonyult. A szórásokat figyelve kijelenthető, hogy a Karcfalvi sokkal nagyobb szórással jelentkezett, mint a Jenőfalvi.



5.14. ábra. A két virágpor- kivonat (J., K.) által kifejtett antimikrobiális hatás az *Escherichia coli* esetében



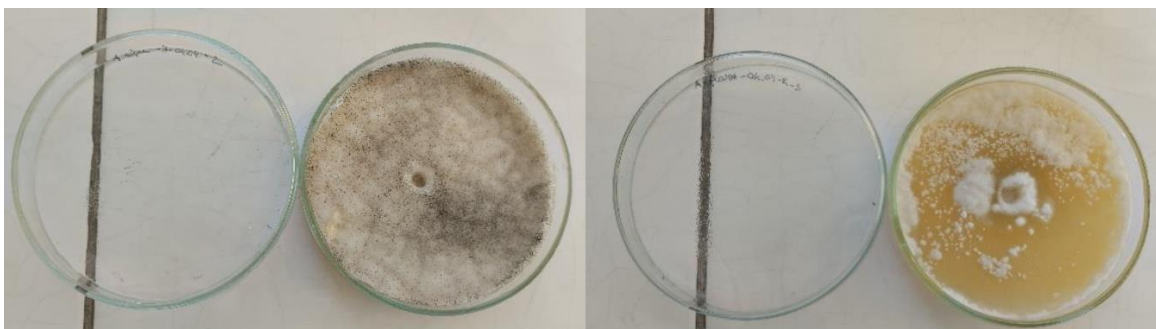
5.15. ábra. A két virágpor- kivonat (J., K.) által kifejtett antimikrobiális hatás a *Pseudomonas aeruginosa* (negatív) és a *Bacillus cereus* esetében

Az eredmények alapján látható, az etanolos extrakció során kinyert, majd az oldószer eltávolítása során kapott nyers virágpor-kivonatok bakteriosztatikus hatást fejtettek ki a vizsgált baktériumokkal szemben, tehát valóban nagy lehetőséget jelentenek korunk újszerű gyógyászatában és az élelmiszeripar számára egyaránt.

A szakirodalomban kapott eredmények és az általam kapott eredményeket összehasonlítva, a *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* esetében nagyon hasonló, míg a *Bacillus cereus* esetében nagyobb gátlási hatást tudtam elérni. Ugyanakkor az *E. coli* és a *Salmonella enterica* baktérium esetében jelentősen nagyobb értéket kaptam, mint az egyes szakirodalomban feltüntetett gátlási zónák mérete (Yolcu 2022; Fatrcová-Šramková et al. 2013).

5.3.2. A virágpor-kivonatok antifungális hatásának vizsgálata különböző mikroszkópikus gombákkal szemben

Az inkubálási idő leteltével egyik penészgomba esetében sem alakult ki gátlási zóna, ugyanígy történt az élesztőgomba esetében is. Következtetésként levonható, hogy míg a vizsgált baktériumok ellen a virágpor-kivonatok hatásosak voltak, addig a mikroszkópikus gombákkal szemben nem rendelkeznek antifungális hatással. Az alábbi pár kép szemlélteti a negatív eredményeket egyes penészgombák esetében (5.16.ábra).

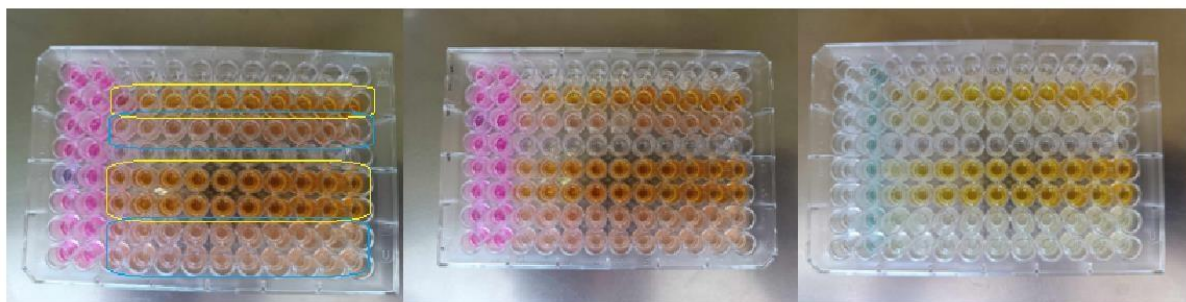




5.16. ábra. Negatív gátlási eredmények rendre az *A. niger* (J), *A. flavus* (K) és *P. expansum* (J) penészgombákkal szemben

5.4. Legkisebb gátlási koncentráció (MIC) meghatározása

A rezazurinos festés során láthatóvá válik a baktérium szaporulat azokban a zsebekben, ahol nincs gátlás. Esetemben a Karcfalvi virágpor kivonatnál nem látszott színváltozás sem a kontrol, sem a MIC meghatározására szolgáló zsebekben (5.17.ábra), hiszen a kivonat színe erőteljesen narancssárga lett.



5.17. ábra. A *S. enterica*, a *S. aureus* és a *P. aeruginosa* baktériumok esetében a minimális gátló koncentráció kimutatása (sárga keret-Karcfalvi kivonat, kék keret-Jenőfalvi kivonat)

Így a Karcfalvi virágpor-kivonat esetén a zsebek tartalmának zavarosságát vettem figyelembe. Azok a zsebek, amelyekben a baktérium képes volt túlélni és szaporodni zavarosak lettek, míg azok a zsebek, amelyekben a baktérium elpusztult vagy a szaporodása gátolva volt, tiszták maradtak. Az 5.17.ábraán látható, hogy a *P. aeruginosa* baktérium esetében nem használtam rezazurinos festést először, ugyanis a baktérium jellegéből adódóan látványosan észrevehető, hogy mely zsebekben volt szaporodás.

A Karcfalvi virágpornál mindhárom baktérium esetében az előbb leírt módon jártam el. A Jenőfalvi virágpor-kivonat vizsgálata során a *S. enterica*, és a *S. aureus* baktérium esetén

mindegyik zseb enyhén rózsaszínes lett. A kivonat koncentrációjának növekedésével viszont színintenzitás csökkenés volt megfigyelhető. Így a Karcfalvi kivonathoz hasonló módon, a zavarosságot és átlátszóságot vettem figyelembe a kiértékelés során. Az eredményeket az alábbi 5.8.táblázatba foglaltam össze.

5.8. táblázat A vizsgált baktériumok esetében meghatározott legkisebb gátlási koncentráció

	Jenőfalvi kivonat	Karcfalvi kivonat
<i>S. enterica</i>	20%	10%
<i>S. aureus</i>	Nincs jelentős gátlás	10%
<i>P. aeruginosa</i>	10%*	50%

A Jenőfalvi kivonat ugyan nem rendelkezett bakteriosztatikus hatással, de valamilyen szinten gátolta a *S. aureus* baktérium növekedését, illetve a *P. aeruginosa* esetében 10%-os kivonat koncentrációnál nagyobb koncentráció esetében szintén sejtszámcsökkenés volt megfigyelhető.

5.5. A virágporok kémiai összetétele és antimikrobiális hatása közötti korreláció meghatározás

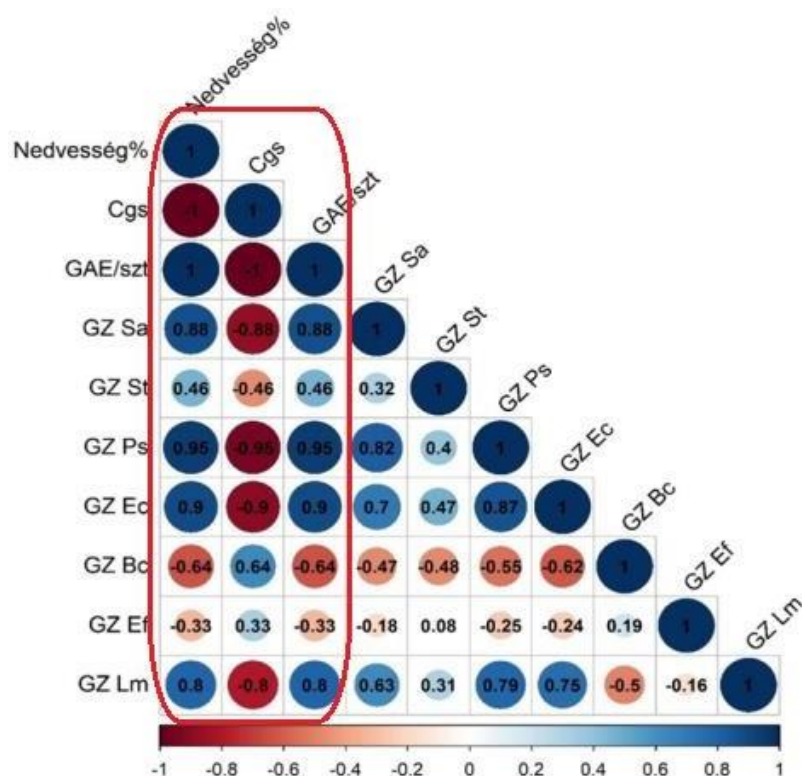
Az általam vizsgált virágporok eltérő tulajdonsággal rendelkeztek mind szerkezetileg, mind kémiai összetételben. A kutatásom során két nyers virágpor széleskörű tanulmányozást lehetett végig követni az allochton mikroorganizmusok vizsgálatától az extrakciós polifenol kivonáson át egészen gátlási koncentrációk meghatározásáig. Mindkét virágpor azonos tárolási műveletnek volt alávetni, de mégis a Karcfalvi nagyobb nedvességtartalommal rendelkezett, mint a Jenőfalvi virágpor. Ennek lehetséges magyarázata az lehet, mint már korábban leírtam, hogy a két virágpor eltérő hónapban lett begyűjtve, különböző virágokról, változó időjárási körülmények mellett. Ha a virágporok állagát vesszük figyelembe, a Jenőfalvi sokkal jobban bírta a tárolási körülményeket, a kis “pollengömbök” megtartották formájukat, míg a Karcfalvi virágpor szemcsék szétestek, porózusabbá váltak. Szín szempontjából a Karcfalvi virágpor élénkebb színnel rendelkezett, a Jenőfalvi virágporban főként a zöld szín dominált, ami a virágpornak egy sötétebb árnyalatot kölcsönzött. A színek eloszlását 100 g virágporban az alábbi grafikon szemlélteti (5.18.ábra), amelyet a Microsoft Excel táblázatkezelő programot használta fel.



5.18. ábra. A két virágporban lévő pollen szemcsék szín szerinti megoszlása

A kutatás során feltevődött kérdésekre is választ kaptam a laboratóriumi vizsgálatok elvégzésével. A Karcfalvi virágporból nyert kivonat rendelkezett a legnagyobb polifenol tartalommal, de ez nem garantálta azt a feltételezést, hogy ez a kivonat esetében lesznek a gátlási zónák értékei a legnagyobbak (lásd 4.3.1 fejezet). Illetve nem minden baktérium esetén rendelkezett ez a kivonat a legkisebb gátlási koncentráció értékkel (lásd 4.4 fejezet). Ez a különböző tulajdonságú fenoloknak tudható be, ugyanis a növényi részekben lévő polifenol vegyületek diverzitása nagy és mindegyik vegyületnek megvan a maga szerepe és hatása. Így a két eltérő virágpor a környezetbeli különbségekből adódóan más és más hatással rendelkeztek. A szárított virágport összehasonlítva a nyers virágporokkal, látható, hogy kereskedelmi piacok polcán található szárított pollen csekély különbséggel, de kevesebb összpolicfenol-tartalommal rendelkezett. Ez részben a szárítás során lebomló fenolvegyületek miatt alakulhat ki, mivel ezek az emberi szervezet számára előnyös tulajdonságokkal (bővebben a 1.2.1 fejezetben írtam) rendelkező vegyületek hőre és fényre érzékenyek, könnyen el tudnak bomlani.

A továbbiakban összegyűjtöttem a kutatásom során kapott főbb paramétereket és összefüggéseket mutattam ki a virágporok fizikai-kémiai és antimikrobiális tulajdonságai között. Az alábbi 5.19. ábra az R statisztikai programcsomag felhasználásával készült. Az ábra elkészítéséhez felhasználtam még a Microsoft Excel programot, amelybe összesítettem a laboratóriumi vizsgálatok során kapott eredményeimet.



5.19. ábra. A kutatás során vizsgált virágporok Spearman-korrelációja

Az 5.19.ábraán szereplő rövidítések a következők: Nedvesség%- virágporok nedvességtartalmának értéke %-ban kifejezve; Cgs- galluszsav koncentrációba átszámolt polifenoltartalom; GAE/szt- a virágpor száraz tömegére vonatkoztatott galluszsav egyenértékben kifejezett polifenoltartalom; GZ- az adott baktérium esetében mért gátlási zóna értéke; Sa-*Salmonella enterica*; St-*Staphylococcus aureus*; Ps-*Pseudomonas aeruginosa*; Ec-*Escherichia coli*; Bc-*Bacillus cereus*; Ef-*Enterococcus faecalis*; Lm-*Listeria monocytogenes*.

Az 5.19.ábra alapján értelmezhető, hogy a virágporok nedvességtartalma és a belőlük kinyert nyers kivonatok polifenoltartalma teljes mértékben korreláltak egymáshoz ($r=1$), ami várható volt, hiszen a nedvességtartalom képes befolyásolni a kivonatok polifenoltartalmát. Továbbá a legtöbb baktérium esetében mért gátlási zóna értéke és a virágpor polifenoltartalma között pozitív korrelációt lehet leolvasni ($r=0.46\div 0.95$), ami azt jelenti, hogy minél nagyobb a kivonat polifenoltartalma, annál valószínűbb, hogy a gátlási zóna sugarának értéke is nagyobb lesz (egyenese arányosság). Ugyanez mondható el a nedvességtartalom és a gátlási zóna közötti összefüggésre. A legnagyobb korreláció érték a *Pseudomonas aeruginosa* baktérium esetében vizsgált antimikrobás hatás esetében volt tapasztalható ($r=0,95$).

6. Összefoglalás

Jelen kutatásomban három különböző virágpor kémiai és mikrobiológiai tulajdonságait vizsgáltam. Ebből két virágpor nyers állapotú volt, amelyek két helyi, de különböző méhészetből származtak, míg a harmadik egy kereskedelmi forgalomban kapható szárított virágpor volt.

A virágpor minták között különbségeket véltem felfedezni a laboratóriumi mérések elvégzésével. A legnagyobb polifenoltartalmat a legnagyobb nedvességtartalommal rendelkező Karcfalvi nyers virágpor tartalmazta, ugyanakkor a *Bacillus cereus* és *Enterococcus faecalis* baktériummal szemben a Jenőfalvi virágpor-kivonat hatásosabbnak bizonyult. A különböző mikrobiológiai tenyésztési módszerek (agardiffúziós módszer, táplevesben való hígítási módszer) segítségével kimutattam, hogy az etanolos extrakcióval előállított, majd az alkohol eltávolításával kinyert kivonatok antimikrobiális és bakteriosztatikus hatással rendelkeztek az általam vizsgált különböző élelmiszerrel terjedő kórokozó baktériumokkal szemben, viszont nem rendelkeztek antifungális hatással a mikotoxint termelő penészgombákkal és az élesztőgombával szemben.

Annak érdekében, hogy szélesebb körben megbecsülhessük a virágporok lehetséges felhasználását különböző élelmiszeripari termékek előállítása céljából, ismernünk kell a virágporok és azok kivonatainak tulajdonított hatásmechanizmusokat és az emberre kifejtett hatásait. Éppen ezért további kutatás szükséges a kivonatokban található bioaktív vegyületek (főként polifenolok) azonosítására és azok hatásának vizsgálatára többféle mikroorganizmusokkal szemben.

7. Irodalomjegyzék

- Alimoglu, Gunce, Etil Guzelmeric, Parla Isil Yuksel, Cansel Celik, Inci Deniz, and Erdem Yesilada. 2021. "Monofloral and Polyfloral Bee Pollens: Comparative Evaluation of Their Phenolics and Bioactivity Profiles." *LWT* 142 (May): 110973. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2021.110973>.
- Aurel, Malaiu. 1971. *Stuparitul*. Cluj: Ceres Editura.
- Barth, Ortrud M., Alex S. Freitas, Érika S. Oliveira, Rosana A. Silva, Fernanda M. Maester, Raquel R. S. Andrella, and Gina M. B. Q. Cardozo. 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 Ciências* 82 (December): 893–902. <https://doi.org/10.1590/S0001-37652010000400011>.
- Carpes, Solange Teresinha, Rosicler Begnini, Severino Matias de Alencar, and Maria Lúcia Masson. 2007. "Study of Preparations of Bee Pollen Extracts, Antioxidant and Antibacterial Activity." *Ciência e Agrotecnologia* 31 (December): 1818–25. <https://doi.org/10.1590/S1413-70542007000600032>.
- Çobanoğlu, Duygu Nur, İlginç Kizilpinar Temizer, Esra Deniz Candan, Ufuk Yolcu, and Aytaç Güder. 2023. "Evaluation of the Nutritional Value of Bee Pollen by Palynological, Antioxidant, Antimicrobial, and Elemental Characteristics." *European Food Research and Technology* 249 (2): 307–25. <https://doi.org/10.1007/s00217-022-04117-5>.
- Daglia, Maria. 2012. "Polyphenols as Antimicrobial Agents." *Current Opinion in Biotechnology* 23 (2): 174–81. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2011.08.007>.
- Didaras, Nikos Asoutis, Katerina Karatasou, Tilemachos G. Dimitriou, Grigoris D. Amoutzias, and Dimitris Mossialos. 2020. "Antimicrobial Activity of Bee-Collected Pollen and Beebread: State of the Art and Future Perspectives." *Antibiotics* 9 (11): 811. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9110811>.
- El Ghouizi, Asmae, Meryem Bakour, Hassan Laaroussi, Driss Ousaid, Naoual El Menyiy, Christophe Hano, and Badiaa Lyoussi. 2023. "Bee Pollen as Functional Food: Insights into Its Composition and Therapeutic Properties." *Antioxidants* 12 (3): 557. <https://doi.org/10.3390/antiox12030557>.
- Fatrcová-Šramková, Katarína, Janka Nôžková, Miroslava Kačániová, Magda Máriássyová, Katarína Rovná, and Michal Stričík. 2013. "Antioxidant and Antimicrobial Properties of Monofloral Bee Pollen." *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 48 (2): 133–38. <https://doi.org/10.1080/03601234.2013.727664>.
- Guiné, Raquel. 2015. "Bee Pollen: Chemical Composition and Potential Beneficial Effects on Health." *Current Nutrition & Food Science* 11 (November): 301–8. <https://doi.org/10.2174/1573401311666150630181615>.
- Ilie, Cornelia-Ioana, Angela Spoiala, Elisabeta-Irina Geana, Cristina Chircov, Anton Fica, Lia-Mara Ditu, and Eliza Oprea. 2024. "Bee Bread: A Promising Source of Bioactive Compounds with Antioxidant Properties—First Report on Some Antimicrobial Features." *Antioxidants* 13 (3): 353. <https://doi.org/10.3390/antiox13030353>.
- Komosinska-Vashev, Katarzyna, Pawel Olczyk, Justyna Kaźmierczak, Lukasz Mencner, and Krystyna Olczyk. 2015. "Bee Pollen: Chemical Composition and Therapeutic Application." *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* 2015 (March): e297425. <https://doi.org/10.1155/2015/297425>.
- Mărgăoan, Rodica, Liviu Al. Mărghitaș, Daniel S. Dezmarean, Bogdan Gherman, Flore Chirilă, Iulia Zacharias, and Otilia Bobiș. 2015. "Antimicrobial Activity of Bee Pollen Ethanolic and Methanolic Extracts on Staphylococcus Aureus Bacterial Strain." *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca. Animal*

- Science and Biotechnologies* 72 (1): 78–80. <https://doi.org/10.15835/buasvmcn-asb:10791>.
- Rzepecka-Stojko, Anna, Jerzy Stojko, Anna Kurek-Górecka, Michał Górecki, Agata Kabała-Dzik, Robert Kubina, Aleksandra Moździerz, and Ewa Buszman. 2015. “Polyphenols from Bee Pollen: Structure, Absorption, Metabolism and Biological Activity.” *Molecules* 20 (12): 21732–49. <https://doi.org/10.3390/molecules201219800>.
- Szabat, Przemysław, Julita Poleszak, Marta Szabat, Grzegorz Boreński, Magdalena Wójcik, and Joanna Milanowska. 2019. “Apitherapy – the Medical Use of Bee Products.” *Journal of Education, Health and Sport* 9 (8): 384–96.
- Végh Rita, Puter Dorina, Vaskó Áron, and Csóka Mariann. 2022. “Mézek és virágporok beltartalmi összetételének és színjellemzőinek vizsgálata.” *Élelmiszervizsgálati Közlemények* 68 (1): 3779–92. <https://doi.org/10.52091/EVIK-2022/1-4-HUN>.
- Yolcu, Ufuk. 2022. “Antioxidant Properties, Element Contents and Antimicrobial Activities of Bee Pollen Collected by *Apis Mellifera* L. in Türkiye,” December. <https://www.scopus.com/inward/record.uri?partnerID=HzOxMe3b&scp=85144109441&origin=inward>.

8. Köszönetnyilvánítás

Ezúton szeretnék köszönetet mondani témavezetőmnek, **dr. György Éva** tanszékvezetőnek a tudományos dolgozatom elkészítésében nyújtott önzetlen segítségéért, az Élelmiszer-tudományi tanszék oktatóinak és munkatársainak, akik ezen dolgozat elkészítésében segítséget nyújtottak. Köszönöttem tartozok **Kosza Andor** méhésznek, aki a kutatás alapját szolgáló virágpor jelentős hányadát szolgáltatta. Köszönöttem tartozok **dr. András Csaba-Dezső** egyetemi adjunktusnak a virágpor-kivonatok elkészítésében nyújtott útmutatásáért.