

**FAKULTETA ZA VARSTVO OKOLJA**

DIPLOMSKO DELO

**PREIZKUS METOD ZA UGOTAVLJANJE PRISOTNOSTI  
MIKROPLASTIKE V VZORCIH NARAVNEGA IN  
INDUSTRIJSKO PREDELANEGA MEDU**

KLARA HOHKRAUT

VELENJE, 2024

**FAKULTETA ZA VARSTVO OKOLJA**

DIPLOMSKO DELO

**PREIZKUS METOD ZA UGOTAVLJANJE PRISOTNOSTI  
MIKROPLASTIKE V VZORCIH NARAVNEGA IN  
INDUSTRIJSKO PREDELANEGA MEDU**

KLARA HOHKRAUT

Varstvo okolja in ekotehnologije

MENTORICA: viš. pred. dr. Anja Bubik

VELENJE, 2024

Številka: 726-1/2024-2

Datum: 18. 1. 2024

Na podlagi Diplomskega reda izdajam naslednji

### SKLEP O DIPLOMSKEM DELU

Študentka Fakultete za varstvo okolja **Klara Hohkraut** lahko izdela diplomsko delo z naslovom v slovenskem jeziku:

**Preizkus metod za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v vzorcih naravnega in industrijsko predelanega medu**

Naslov diplomskega dela v angleškem jeziku:

**Testing methods for determining the presence of microplastics in samples of natural and industrially processed honey**

Mentorica: **viš. pred. dr. Anja Bubik**

Diplomsko delo mora biti izdelano v skladu z Diplomskim redom FVO.

Pouk o pravnem sredstvu: zoper ta sklep je dovoljena pritožba na Senat FVO v roku 8 delovnih dni od prejema sklepa.



Prof. dr. Boštjan Pokorny  
dekan

Fakulteta za varstvo okolja  
Trg mladosti 7 | 3320 Velenje  
t: 03 898 64 10 | e: info@fvo.si  
www.fvo.si





### Izjava o avtorstvu

Podpisana Klara Hohkraut, z vpisno številko 34200008, študentka dodiplomskega študijskega programa Varstvo okolja in ekotehnologije, sem avtorica diplomskega dela z naslovom Preizkus metod za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v vzorcih naravnega in industrijsko predelanega medu, izdelanega pod mentorstvom viš. pred. dr. Anje Bubik.

S svojim podpisom zagotavljam, da:

- je predloženo delo moje avtorsko delo, torej rezultat mojega lastnega raziskovalnega dela;
- da oddano delo ni bilo predloženo za pridobitev drugih strokovnih nazivov v Sloveniji ali tujini;
- da so dela in mnenja drugih avtorjev, ki jih uporabljam v predloženem delu, navedena oz. citirana v skladu z navodili FVO;
- da so vsa dela in mnenja drugih avtorjev navedena v seznamu virov, ki je sestavni element predloženega dela in je zapisan v skladu z navodili FVO;
- se zavedam, da je plagiatorstvo kaznivo dejanje;
- se zavedam posledic, ki jih dokazano plagiatorstvo lahko predstavlja za predloženo delo in moj status na FVO;
- je diplomsko delo jezikovno korektno in da je delo lektorirala prof. Gabrijela Pirš;
- da dovoljujem objavo diplomskega dela v elektronski obliki na spletni strani FVO;
- da sta tiskana in elektronska verzija oddanega dela identični.

V Velenju, dne \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_  
podpis avtorice

## **ZAHVALA**

Zahvaljujem se mentorici viš. pred. dr. Anji Bubik za strokovno vodenje in nasvete pri izvedbi ter zaključku diplomskega dela.

Prav tako se zahvaljujem moji družini za razumevanje in vzpodbudo skozi celoten proces študija ter fantu za podporo in potrpežljivost.

Na koncu pa bi se zahvalila tudi kmetiji Pr' Pirnat za zagotovitev vzorcev medu, ki so bili pomembni za izvedbo analiz v tem diplomskem delu.

## IZVLEČEK

V današnjem svetu je plastika postala nepogrešljiv del našega življenja. Zaradi široke uporabnosti in priročnosti se njena uporaba vsako leto povečuje, posledično pa plastični odpadki predstavljajo eno najhitreje rastočih oblik antropogenega onesnaževanja v okolju. V naravi se ne razgrajuje popolnoma, ampak razpada na vedno manjše delce, ki jih imenujemo mikroplastika. Mikroplastika so majhni plastični delci, veliki do 5 mm, ki zaradi svoje majhnosti predstavljajo resno okoljsko grožnjo, saj se nahajajo v vseh ekosistemih. Takšni delci ogrožajo živali, zlasti vodne organizme, in prek prehranjevalne verige vstopajo tudi v našo prehrano.

Najnovejše raziskave so potrdile prisotnost mikroplastike, ne le v morski hrani, ampak tudi v drugih živilih, vključno z medom. V diplomskem delu smo preizkušali različne metode priprave vzorca za ugotavljanje vsebnosti mikroplastičnih delcev v medu. Analizirali smo šest različnih vzorcev medu – tri različne vrste (akacijev, cvetlični in lipov) – z dvema različnima načinoma pridelave (naravnim in industrijskim). Po začetnem preizkusu 3 metod z uporabo industrijsko predelanega cvetličnega medu smo se v nadaljevanju odločili za testiranje ene same metode, ki se je izkazala kot najbolj praktična. Ta je temeljila na osnovi filtracije in oksidacije vzorca, delce, zbrane na filter papirju, pa smo na koncu poskusili identificirati z mikroskopsko analizo ter FTIR spektroskopijo.

Rezultati so pokazali možnost potencialne onesnaženosti vzorcev medu s sintetičnimi delci in predvsem vlakni, vendar za nadaljnjo identifikacijo s FTIR spektroskopijo zaradi velikosti vlaken noben vzorec ni bil primeren. Največ potencialne mikroplastike je bilo prisotne v lipovem medu, saj smo tam zaznali kar 14 barvnih vlaken, ki lahko nakazujejo na prisotnost nenaravnih delcev. Medtem ko so pri naravnem cvetličnem medu bili prisotni le 3, pri industrijsko predelanem medu ni bilo prisotnega nobenega. Naraven akacijev med prav tako ni imel prisotnih barvnih vlaken, industrijsko predelan med pa je imel prisotnih 5 barvnih vlaken.

Sklepamo, da večji del mikroplastike v medu izvira iz zunanjih virov, saj čebele med nabiranjem nektarja prenesejo delce v panj. Prav tako je verjetno, da do kontaminacije pride med predelavo in pakiranjem medu. Ugotovljene koncentracije potencialne mikroplastike v medu variirajo, kar kaže na potrebo po nadaljnjih raziskavah in vzpostavitvi standardiziranih metod za ocenjevanje in nadzor prisotnosti mikroplastike v živilih.

Prisotnost mikroplastike v medu predstavlja potencialno tveganje za zdravje potrošnikov, saj lahko ti delci vstopijo v človeško telo in povzročijo različne zdravstvene težave. Nadaljnje raziskave so nujne za boljše razumevanje vplivov mikroplastike na zdravje ljudi ter za razvoj ukrepov za zmanjšanje onesnaženosti živil z mikroplastiko. To diplomsko delo prispeva k boljšemu razumevanju prisotnosti mikroplastike v medu ter postavlja temelje za prihodnje raziskave in regulativne ukrepe na tem področju.

**Ključne besede:** mikroplastika, naravni med, industrijski med, mikroskopiranje, filtracija, oksidacija, sintetični delci

## ABSTRACT

In today's world, plastic has become an indispensable part of our lives. Due to its wide applicability and convenience, its use expands every year, and subsequently, plastic waste represents one of the fastest growing forms of anthropogenic pollution in the environment. In nature, it does not break down completely less, but breaks down into more and more particles, which we call microplastics. Microplastics are small plastic particles, up to 5 mm in size, which, due to their small size, pose a serious environmental threat, as they are found in all ecosystems. Such particles endanger animals, especially aquatic organisms, and through the food chain also enter our diet.

Recent research has confirmed the presence of microplastics, not only in seafood, but also in other foods, including honey. In the thesis, we tested different methods of sample preparation to determine the content of microplastic parts in honey. We analyzed six different samples of honey - three different types (acacia, flower and linden) - with two different methods of production (natural and industrial). After an initial test of 3 methods using industrially processed flower honey, we decided to test the same method, which proved to be the most practical. This was based on the filtration and oxidation of the sample, and we finally tried to identify the particles collected on the filter paper by microscopic analysis and FTIR spectroscopy.

The results showed the possibility of potential contamination of the honey samples with synthetic particles and especially fibers, but no sample was suitable for further identification by FTIR spectroscopy due to the size of the fibers. The most potential microplastics were present in linden honey, as we detected as many as 14 colored fibers, which may indicate the presence of unnatural particles. While only 3 were present in natural floral honey, none were present in industrially processed honey. Natural acacia honey also had no colored fibers present, while industrially processed honey had 5 colored fibers present.

We conclude that the majority of microplastics in honey originate from external sources, as bees transfer the particles to the hive during nectar collection. It is also likely that contamination occurs during the processing and packaging of honey. The identified concentrations of potential microplastics in honey vary, which indicates the need for further research and the establishment of standardized methods for assessing and controlling the presence of microplastics in foods.

The presence of microplastics in honey poses a potential risk to the health of consumers, as these particles can enter the human body and cause various health problems. Further research is necessary to better understand the effects of microplastics on human health and to develop measures to reduce food contamination with microplastics. This thesis contributes to a better understanding of the presence of microplastics in honey and lays the groundwork for future research and regulatory measures in this area.

**Key words:** microplastics, natural honey, industrial honey, microscopy, filtration, oxidation, synthetic particles

## KAZALO VSEBINE

1 UVOD.....	1
1.1 Opis problema .....	1
1.2 Namen in cilji .....	2
1.3 Hipoteze .....	2
2 MED .....	3
2.1 Sestava medu .....	3
2.2 Nastanek medu.....	3
2.3 Raznolikost medu .....	4
2.4 Lastnosti medu .....	6
3 MIKROPLASTIKA .....	12
3.1 Viri mikroplastike.....	13
3.2 Prisotnost mikroplastike v hrani.....	13
3.3. Vplivi mikroplastike na okolje .....	18
3.4 Raziskave mikroplastike v Sloveniji.....	20
4 MATERIALI IN METODE.....	22
4.1 Preizkus metod za izolacijo mikroplastike iz vzorcev medu .....	23
4.2 Preizkus izbrane metode izolacije mikroplastike na različnih vrstah naravnega in industrijsko predelanega medu .....	28
5 REZULTATI Z DISKUSIJO .....	32
5.1 Preizkus metod za izolacijo mikroplastike iz vzorcev medu .....	32
5.2 Preizkus izbrane metode izolacije mikroplastike na različnih vrstah naravnega in industrijsko predelanega medu .....	37
6 SKLEPI.....	41
7 POVZETEK .....	43
8 SUMMARY .....	44
9 LITERATURA.....	45

## Kazalo slik

Slika 1: Problematika mikroplastike v medu (Vir: Sweet Sneak, 2020) .....	1
Slika 2: Potencialni viri vnosa mikroplastike v med (Prirejeno po: Toxics, 2021).....	16
Slika 3: Spiranje raztopine skozi jekleno sito (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	23
Slika 4: Ultrazvočno izpostavljanje filtrov v etanolu (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	24
Slika 5: Sušenje filtrov Ci1A in Ci1B na sobni temperaturi (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	24
Slika 6: Posušen filter poskusne paralelke (Ci1) (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	25
Slika 7: Priprava raztopine medu in vode za presejevanje (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	25
Slika 8: Vakuumska filtracija oksidirane raztopine - M2 (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	26
Slika 9: Segrevanje vzorca medu in vode za pripravo raztopine (Foto: K. Hohkraut, 2024) ..	26
Slika 10: Sušenje filtrov vzorcev Ci2 in Ci2A na sobni temperaturi (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	27
Slika 11: Pregled filtrov s stereolupo in DinoCapture programom (Foto: K. Hohkraut, 2024)	27
Slika 12: FTIR spektrometer (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	28
Slika 13: Vzorca naravnega medu (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	28
Slika 14: Presajanje raztopine vzorca medu skozi 63 mikronsko sito (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	29
Slika 15: Vakuumska filtracija oksidirane raztopine vzorca naravnega medu (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	29
Slika 16: Euromex stereolupa in Dino-Eye kamera (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	30
Slika 17: Vzorca industrijsko predelanega medu (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	30
Slika 18: Spiranje filtra za odstranitev ostanka voska (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	31
Slika 19: Pregled in dokumentiranje vsebine filtrov (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	31
Slika 20: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci1 vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	32
Slika 21: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci1A vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	33
Slika 22: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci1B vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	33
Slika 23: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci1C vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	34
Slika 24: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci1D vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	34
Slika 25: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci2 vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	34
Slika 26: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci2A vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	35
Slika 27: Delec vzorca Ci1, ki smo ga izolirali z variiranjem metode M1 (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	35
Slika 28: Delec vzorca Ci2, ki smo ga izolirali z M2 (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	36
Slika 29: Vsebina filtra naravnega akacijevega medu - An (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	37
Slika 30: Vsebina filtra naravnega cvetličnega medu - Cn (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	37
Slika 31: Vsebina filtra naravnega lipovega medu - Ln (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	38
Slika 32: Vsebina filtra industrijsko predelanega akacijevega medu - Ai (Foto: K. Hohkraut, 2024).....	39
Slika 33: Vsebina filtra industrijsko predelanega lipovega medu - Li (Foto: K. Hohkraut, 2024) .....	39

## **Kazalo preglednic**

Preglednica 1: Raziskave o določenih živilih in prisotnosti mikroplastike v njih .....	14
Preglednica 2: Potencialni načini vnosa mikroplastike pri postopkih obdelovanja medu.....	18
Preglednica 3: Označbe posameznih vzorcev medu.....	23
Preglednica 4: Opis vzorcev narejenih z M1 in M2.....	23
Preglednica 5: Primerjava praktične izvedbe metod za izolacijo mikroplastike v medu.....	36
Preglednica 6: Povzetek rezultatov analiz naravnega medu.....	38
Preglednica 7: Povzetek rezultatov analiz industrijsko predelanega medu.....	39
Preglednica 8: Povzetek celotnih rezultatov analiz naravnega in industrijsko predelanega medu.....	40

## 1 UVOD

### 1.1 Opis problema

Globalno onesnaževanje s plastiko predstavlja naraščajoč problem, saj se uporaba plastike neprestano povečuje, medtem ko je količina reciklirane plastike še vedno zelo omejena. Ko plastika razpade v okolju, ustvari manjše delce, znane kot mikroplastika. Študije iz preteklega desetletja so opozorile na prisotnost mikroplastike v raznolikih naravnih okoljih (1, 2).

Mikroplastiko danes najdemo povsod; našli so jo že v hrani in pijači, med drugim v pivu, medu in vodi (3, 4). Številne študije pa so tudi že dokazale kopičenje mikroplastike v živih organizmih po zaužitju. Človek je lahko izpostavljen mikroplastiki tudi z uživanjem hrane in vdihavanjem, če so delci prisotni v zraku (5, 6, 7). Ker je mikroplastika tako splošno razširjena, je zelo pomembno tudi to, da jo znamo v različnih virih tudi najti, identificirati ter posledično vplivati na zmanjšanje njenega vnosa že na viru samem.

Problem mikroplastike v medu je širši del problema onesnaženja okolja s plastiko.

Pomembno je zavedanje, da se čebele pasejo na cvetovih, ki so izpostavljeni industrijskemu in prometnemu prahu, ki lahko vsebujeta mikroplastiko. Po oceni organizacije IUCN namreč 24 % mikroplastike v morjih izvira iz mestnega prahu (8). Ti delci lahko končajo tudi v panju, kjer čebele predelajo medicino v med. Čebelarji nato pri pridelavi medu ne morejo vedno preprečiti prisotnosti mikroplastike (9).

To postavlja vprašanja glede varnosti uživanja medu in potencialnih zdravstvenih tveganj, ki jih lahko predstavlja prisotnost mikroplastike. Čeprav so raziskave na tem področju še v začetni fazi, obstaja skrb, da lahko mikroplastika prinese škodljive učinke za zdravje ljudi. V odgovor na ta problem se izvajajo raziskave o stopnji kontaminacije medu z mikroplastiko, prav tako pa se razvijajo ukrepi za zmanjšanje uporabe plastike in ustvarjanje bolj trajnostnih alternativ. To vključuje prizadevanja za zmanjšanje onesnaženosti okolja s plastiko, kar bi posredno zmanjšalo tudi prisotnost mikroplastike v medu.



Slika 1: Problematika mikroplastike v medu (Vir: Sweet Sneak, 2020)

## 1.2 Namen in cilji

Namen diplomskega dela je bil izpostaviti problematiko mikroplastike v naravnem in industrijsko predelanem medu; in sicer s preizkusom laboratorijskih metod za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v različnih vzorcih medu.

Med pisanjem diplomskega dela smo si zastavili tri cilje. Prvi cilj je bila raziskava že obstoječih študij o izolaciji in/ali identifikaciji mikroplastike v medu. Drugi cilj je bil preizkus izbranih metod na eni vrsti medu. Tretji, končni cilj, pa je bil iz izbranih metod določiti eno in z njo poskusiti izolirati mikroplastiko iz 3 vrst naravnega medu in 3 vrst industrijsko predelanega medu. V kolikor je katera od metod bila uspešna in smo uspeli mikrodelce izločiti iz vzorca medu tudi mi, bi mikroplastiko identificirali s pomočjo FTIR spektrometrije ter tako primerjali vsebnost mikroplastike v naravnem in industrijsko predelanem medu.

Z izvedbo teh analiz smo želeli pridobiti podatke o prisotnosti mikroplastike v vzorcih medu, preučiti morebitne variacije med različnimi vzorci in ugotoviti učinkovitost analiz. Raziskava je bila po našem mnenju ključna zaradi naraščajoče zaskrbljenosti glede vpliva mikroplastike na okolje in zdravje ljudi, še posebej v prehrabnih proizvodih, kot je med, hkrati pa spodbuja k iskanju trajnostnih rešitev pri pridelavi in pakiranju medu.

## 1.3 Hipoteze

Pred pričetkom raziskovanja izbrane problematike smo si postavili naslednji dve hipotezi:

H1: Najbolj učinkovita metoda za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v medu je metoda vakuumske filtracije, z uporabo filtra s porami premera 8 $\mu$ m.

H2: Način pridelave ne vpliva na prisotnost mikroplastike v medu, saj je mikroplastika prisotna tako v naravnem kot tudi v industrijsko predelanem medu.

## 2 MED

Med je bil poznan in uporabljen že pred več tisoč leti. Prijubljenost medu sega nazaj v zgodovino, saj so ga uporabljali kot hrano, zdravilo in celo na poročnih slovesnostih. Kljub temu, da je sladkor kasneje izpodrinil med, se danes znova uveljavlja zaradi svojih edinstvenih lastnosti in koristi za zdravje (10).

Med je naravna sladka snov, ki jo izdelajo čebele *Apis mellifera* iz nektarja cvetov ali izločkov iz živih delov rastlin ali izločkov žuželk, ki sesajo rastlinski sok na živih delih rastlin, ki jih čebele zberejo, predelajo z določenimi lastnimi snovmi, shranijo, posušijo in pustijo dozoreti v satju. Lahko je tekoč, viskozen ali delno do popolnoma kristaliziran. Barva, okus, vonj in aroma medu se razlikujejo glede na rastlinski izvor (11).

### 2.1 Sestava medu

Sestava medu je izjemno raznolika in odvisna od različnih dejavnikov, vključno z vrsto medicīne, vremenskimi pogoji in načinom pridobivanja. Je kompleksno živilo, ki vsebuje več kot 200 različnih snovi (12, 13). Razlikuje se lahko po barvi, vonju in okusu ter vsebuje različne sladkorje, arome, kisline, beljakovine, vitamine in minerale ter hidroksimetil furfural (HMF), ki je kazalec svežosti medu. Pomembno je poudariti, da med vsebuje tudi nekatere esencialne aminokislino, vitamine skupine B, C, E, A, D in K ter folno kislino. Prav tako vsebuje nekatere mineralne snovi, kot so kalij, natrij, kalcij in magnezij, ter elemente v sledih, vključno z železom, manganom in drugimi. V redkih primerih lahko med vsebuje tudi strupene snovi, ki izvirajo iz nekaterih rastlin, vendar so prisotni samo v nekaterih državah. Ta raznolika sestava prispeva k različnim koristim medu za človeško telo. Med je tako naravno bogat z različnimi hranili, kar mu omogoča številne uporabe v prehrani in tradicionalni medicīni (13).

Mikroorganizmi se v medu ne morejo razmnoževati zaradi visoke koncentracije sladkorjev. A med lahko vsebuje nečistoče iz onesnaženega okolja ali kmetijskih dejavnosti, kot so težke kovine, radioaktivno sevanje in ostanki kemičnih sredstev, uporabljenih v čebelarstvu (12).

### 2.2 Nastanek medu

Čebelarji po vsem svetu skrbijo za milijone kolonij čebel in pridelajo ogromne količine medu različnih vrst in okusov. Čebele nabirajo medicīno na cvetovih različnih vrst rastlin, kar daje medu raznolikost okusov (14). Med je produkt biokemične spremembe nektarja ali mane, ki jo naredijo čebele. Medicīna, ki jo čebele naberejo, še ni med; proces se zgodi v panju s pomočjo čebel in encimov, ki jih izločajo. Proces predelave medicīne v med je zelo natančen proces, ki se odvija v panju pod skrbnim nadzorom čebel (13).

Medicīna, ki jo čebela nabira, se že začne spreminjati v med, ko ta že leti domov. Čebela medicīni začne dodajati encime, kot je npr. invertaza, ki saharozo v medicīni razgradi v enostavnejša sladkorja: glukozo in fruktozo (14). Ko prispe v panj, iz medenega trebuščka izloči že delno predelano medicīno in jo preda čebelam delavkam, ki so specializirane za sprejemanje in shranjevanje medicīne. S procesom trofalaksije se medicīna iz čebele v čebelo prenaša, kot majhne mikroskopske kapljice prepojene z izločki posebnih žlez čebel. Izločki vsebujejo encime, kot sta diastaza in invertaza, ki medicīno spreminjajo iz kompleksnih sladkorjev v enostavne sladkorje, ki omogočajo lažjo presnovo (13). Med tem procesom s posebnimi gibi iztisnejo tudi odvečno vodo iz medicīne, ki jo z medno golšo prenašajo na konec svojega rilčka, dokler vsebnost vode v medicīni ne pade na približno 20 % (12).

Voda iz medičine izhlapi tudi s pomočjo izhlapevanja v toplu panju ali pa ta proces opravijo čebele delavke s pihanjem toplega zraka preko celic satja (14). Ko se vsebnost vlage zmanjša in raztopina postane bolj koncentrirana, se v čebeljem proizvodu zgodi več kemičnih sprememb. Ko so celice satja v panju napolnjene skoraj do roba in vsebnost vlage pade na 18 %, čebele celice zatesnijo s plastjo voska, kar preprečuje nadaljnjo izgubo vlage in zaščiti vsebino (14).

Med iz panja poberejo čebelarji s satjem vred in ga z različnimi procesi obdelajo, da je med pripravljen za uživanje ali prodajo. Ta postopek je sestavljen iz naslednjih korakov:

1. Odkrivanje medenih satov
2. Odvzemanje medenih satov
3. Zrelost medu
4. Točenje medu
5. Kristalizacija medu
6. Utekočinjanje medu
7. Pasteriziranje medu
8. Filtracija medu
9. Etiketiranje medu
10. Kvarjenje medu
11. Shranjevanje in skladiščenje medu
12. Ponarejanje medu (14)

## **2.3 Raznolikost medu**

### **2.3.1 Izvor medu**

Poznamo različne tipe medu ki se razlikujejo glede na geografski in botanični izvor, način pridobivanja ter letni čas. Poimenovanje medu je običajno odvisno od rastline, na kateri so čebele nabirale nektar ali mane. Direktiva Sveta 2001/110/ES z dne 20. decembra 2001 o medu (*UL. L 010*, 12. 1. 2002, str. 47-52) razdeljuje čebelji pridelek glede na izvor in način pridobivanja (15). Po izvoru ločujemo med iz nektarja, pridobljen predvsem iz nektarja cvetov, in med iz mane, ki je proizveden iz izločkov žuželk ali izločkov živih delov rastlin. Med iz nektarja vključuje različne tipe, kot so cvetlični, akacijev, ajdov, regratov, sončnični, rešeljikin, oljne ogrščice, lipov in kostanjev med. Med iz mane zajema gozdni med, smrekov, hojev, lipov in kostanjev med (16).

Med iz nektarja je prepoznaven po vonju in aromi cvetja, ki je vir nektarja, ter vsebuje cvetni prah te rastline. Pogosto je svetlejša barva in ima značilen sladek okus. Vsebuje pa tudi nekoliko mineralov, beljakovin, eteričnih olj ter cvetnega prahu. Nasprotno je med iz mane temnejši, bolj moten in lepljiv. Ima višjo vrednost pH ter vsebuje več mineralov, različnih sladkorjev, aminokislin in encimov (16).

### **2.3.2 Vrstni med**

Vrstni med pomeni, da je bil med pridobljen pretežno iz nektarja ali mane ene same rastlinske vrste. Če ima tudi značilno barvo, okus in vonj te specifične rastline, se lahko označi kot vrstni med, dopolnjen z navedbo določenih cvetov, rastlin ali vrste mane. Slovenski vrstni medovi vključujejo akacijev, lipov, kostanjev, ajdov, hojev, smrekov, regratov med ter med oljne ogrščice in rešeljike. V tujini so priznani tudi žajbljev, resin, sivkin, rožmarinov, timijanov med in med citrusov (16). Ker je redko, da med izvira iz nektarja ene same rastline, so postavljena splošna merila. Vrstni med mora vsebovati vsaj 45 % cvetnega prahu te določene rastline.

Povezava med odstotkom peloda in vsebnostjo nektarja velja le za normalno zastopan cvetni prah. Pomembno je razlikovati med prevladujočim in malo zastopanim cvetnim prahom. Pelodna zrna nekaterih medovitih rastlin se štejejo za prevladujoča, če je odstotek pelodnih zrn v sedimentu višji kot odstotek ustreznega nektarja v medu. Nasprotno pa je pri malo zastopanem pelodu prevladujoča količina nektarja. Na splošno ima med, pridobljen iz medovitih rastlin s prevladujočim pelodom, večjo absolutno vsebnost pelodnih zrn, kot med iz rastlin z normalnim ali malo zastopanim pelodom (16).

### 2.3.3 Različne oblike medu

#### Medeno satje

To je sistem pakiranja, ki ga izberejo same čebele. Če je med namenjen prodaji, mora biti svež iz panja in ne sme vsebovati nobenih jajčec ali ličink. Pred izumom stroja za izločanje medu je večina ljudi uživala v medu v takšni obliki, danes pa je takšen med težko dobiti (14). Med v satju je posebna poslastica. Da bi ga pridobili, satnik razdelimo na manjše dele različnih oblik, v katere čebele zgradijo satje in nato nanesejo med med ugodno pašo. Pri tej vrsti medu je uporabnik v neposrednem stiku z voskom, saj ga žveči. Zato mora biti vosek brez ostankov sredstev za zatiranje škodljivcev, predvsem varoe in voščenih vešč (12).

#### Nepredelani med

Naravni pridelek, ki ga dobimo iz satja, potem ko odstranimo voščene pokrovčke na celicah, se imenuje nepredelani med. V njem bomo našli nekaj peloda in drobcev voska. Če pri tem procesu uporabljamo pritisk, nastane tako imenovan iztisnjen med. V komercialnem jeziku to pomeni, da je bil ta med izpostavljen le minimalnemu procesiranju in nizkim temperaturam (14).

#### Tekoči med

Tekoči med, ki vsebuje koščke satja, je priljubljena oblika, vendar tudi nestabilna. Med, ko je potegnjen iz satja, vsebuje delce voska, propolisa in pelodnih zrn. Obstaja tržišče za naravni med s temi delci, še posebej za zdravstvene namene. Čebelarji med filtrirajo skozi fino mrežico, ki odstrani vosek in propolis, pelod pa ohrani. Ta med je na videz moten, prodaja pa se v trgovinah z zdravo hrano in na tržnicah (14).

#### Pasterizirani ali toplotno obdelani med

Pasterizacija medu ni potrebna iz zdravstvenih ali higienskih razlogov, saj visoka vsebnost sladkorja preprečuje razvoj bakterij, vključno z nevarno bakterijo *Clostridium botulinum*, ki jih toplota ne uniči. Postopek se običajno izvaja zaradi industrijskih zahtev, da med ohrani tekočo konsistenco in prepreči kristalizacijo ali fermentacijo, kar je pomembno za trgovske verige. Takšno segrevanje razgradi "semena kristalov" v medu, kar zmanjšuje verjetnost za kristalizacijo (14).

#### Strjeni med

Kristalizacija medu je naraven proces, ki se pojavi zaradi kristaliziranja sladkorja v njem. Hitrost tega procesa je odvisna od vrste medu in običajno se zgodi hitreje pri tistih z visokim deležem glukoze. Kristaliziran med postane zrnat in ga je težko zajeti iz kozarca, vendar postane tekoč, če ga nežno segrejemo. Temperatura v čebeljih panjih lahko doseže približno 35 °C, zato rahlo segrevanje medu običajno ne vpliva na njegove sestavine. Pomembno pa je, da medu ne segrevamo nad 40 °C, saj lahko s tem uničimo encime in vitamine ter spremenimo njegovo teksturo in barvo (14).

### Cementni med

Med, ki vsebuje visoko koncentracijo melicitoze, se strdi že v satju, kar otežuje ali celo onemogoča proces točenja. Ta vrsta medu ni priljubljena med potrošniki in predstavlja izziv tudi za čebele med prezimovanjem, saj lahko povzroči bolezni in izgubo čebeljih družin. Tako imenovani cementni med dodajamo čebelarjem naslednja poletja, v brez pašni dobi. Čebele ga porabijo ali odnašajo iz satov ter zmešajo z drugim medom (14).

### Kremni med

Med, imenovan tudi bičani, pinjeni ali obdelani med, je namerno kristaliziran pod nadzorom, da se ustvari gladka mešanica. Ta postopek se izvaja z medom, ki vsebuje veliko glukoze in hitro kristalizira, kot so detelja, sončnica in bleščiča evkrifija. Med se segreje, filtrira, ohladi in strdi, nato pa se sveži med zmeša z že kristaliziranim medom iste vrste. To zahtevno opravilo zahteva natančnost, da ohrani majhne in enakomerne kristale. Končni izdelek je kremast med, primeren za shranjevanje v steklenih kozarcih (14).

### Organski med

Za pridobitev medu z organskim certifikatom je potrebno upoštevati natančna navodila. Navodila zapisana v Uredba (EU) 2018/848 Evropskega parlamenta in Sveta z dne 30. maja 2018 o ekološki pridelavi in označevanju ekoloških proizvodov ter o razveljavitvi Uredbe Sveta (ES) št. 834/200 (*UL L 150*, 14.6.2018, str. 1–92). Ta uredba določa standarde pridelave, predelave, označevanja in certificiranja za vse ekološke pridelke, vključno z medom. Za pridobitev ekološkega certifikata morajo izvajalci upoštevati pogoje iz te uredbe in biti registrirani pri pooblaščenih organizacijah, kot sta Inštitut KON-CERT Maribor ali Bureau Veritas, ki zagotavljata certificiranje skladno z navedenimi evropskimi standardi. Čebelji panji morajo biti postavljeni na zemljišču, ki je uradno potrjeno kot organsko. V območju, s premerom 6 kilometrov okoli panjev, morajo biti viri medicine organsko pridelani ali pa neobdelane divje cvetlice. To območje ne sme vsebovati avtomobilskih cest, mestnih naselij, večjih odlagališč ali drugih potencialnih virov onesnaženja (14).

## **2.3.4 Nevarne vrste medu**

Nekatere rastline, ki vsebujejo toksične snovi, predstavljajo potencialno nevarnost za živali in človeka. Med, ki ga čebele pridelajo iz nektarja teh rastlin, lahko povzroči resne težave. Med takšnimi rastlinami so karolinski jasmín, ladonja, naprstec, navadni kristavec, oleander, podlesek, preobjeda, volčja češnja (beladona), Rhododendron ponticum, in drugi. Zato je pomembno biti pozoren na izvor medu in preveriti, ali vsebuje medicino s strupenih rastlin (13).

## **2.4 Lastnosti medu**

### **2.4.1 Senzorične (organoleptične) lastnosti**

Pri ocenjevanju vrste in kakovosti medu igrajo ključno vlogo določene senzorične lastnosti, kot so barva, vonj, okus in aroma. Te lastnosti so odvisne od botaničnega in geografskega izvora, količine ter razmerja posameznih sestavin v medu (barvil, sladkorjev, organskih kislin, mineralnih snovi, beljakovin, aminokislin), vremenskih razmer, obdobja medenja, individualnih čebelarjskih praks ter ravnanja z medom med skladiščenjem. Senzorične lastnosti predstavljajo ključno merilo kakovosti medu za potrošnike, saj pomembno vplivajo na njegovo sprejemljivost (16).

### Barva medu

Barva medu je zelo raznolika, značilna za vsak posamezen tip medu, sega od svetlo rumene do skoraj črne. Odvisna je od medicine ali medene rose, ki jo čebele uporabljajo za pridobivanje medu. Različni rastlinski pigmenti, kot so karoteni, ksantofili, klorofili, antociani in drugi, prav tako vplivajo na barvo, kot tudi količina beljakovin, aminokislin in drugih dušikovih snovi. Med dobi temnejšo barvo zaradi Maillardove reakcije in karamelizacije sladkorjev med toplotno obdelavo in skladiščenjem (13, 16).

### Vonj medu

Vonj posameznih vrst medu se razlikuje glede na kakovost in aromatične snovi v medicini. Vsaka vrsta medu ima značilno vonjavo, ki odraža različne aromatične sestavine nektarja ali mane posameznih rastlin. Nekateri ljudje imajo raje zelo aromatične vrste medu, kot so rožmarinov, timijanov, sivkin itd., medtem ko drugi prisegajo na bolj nevtralne vonje. Plinska kromatografija omogoča identifikacijo številnih hlapnih vonjalnih sestavin v medu (13, 16).

### Okus medu

Vse vrste medu so izjemno sladke, pri čemer okus vedno odraža prevladujoč okus osnovne rastline (1). Okus medu je kompleksen in odvisen od razmerja med sladkorji, kislinami in mineralnimi snovmi. Sladek okus, ki izhaja predvsem iz fruktoze, glukoze in saharoze, je najbolj izrazit, vendar se različni tipi medu razlikujejo v stopnji sladkosti glede na razmerje teh sladkorjev. Poleg sladkega okusa lahko prispevajo k okusu tudi mineralne snovi, proste kisline in beljakovine. Kislost je še ena značilnost okusa, zlasti v cvetličnih medih, ki jo povzročajo različne organske in anorganske kisline (16).

### Aroma medu

Zaznavanje vonjalnih, okusnih in tipnih značilnosti v ustih tvori tisto, kar imenujemo značilna aroma. Vsak tip medu ima svojo specifično aromo, ki jo odlikujejo edinstvena nota, intenzivnost in obstojnost. Aromatične spojine, prisotne v medu, so precej hlapne in se hitro sproščajo, še posebej pri višjih temperaturah. K značilni aromi medu prispevajo raznolike organske spojine, vključno z alkoholi (alifatskimi in aromatskimi), aldehidi, ketoni ter kisline in njihovi estri (8). Aromatične lastnosti medu so lahko cvetlične, sadne, zeliščne ali celo oreškaste, odvisno od okolja, v katerem čebele nabirajo nektar (14).

## **2.4.2 Fizikalne lastnosti**

Fizikalne lastnosti medu zajemajo različne vidike njegove sestave in vplivajo na njegovo kakovost ter uporabnost (12).

### Vsebnost vode v medu

Vsebnost vode v medu je ključno merilo njegove kakovosti. Pravilnik o medu določa, da lahko med vsebuje do 20 % vode. Čim manjša je vsebnost vode, tem bolj viskozen, gost in obstojen je med, saj se v takih pogojih preprečuje fermentacija. Vsebnost vode ni odvisna od botaničnega izvora, vendar pomembno vpliva na senzorično kakovost in fizikalno-kemijske parametre medu. Delež vode v medu je odvisen od različnih dejavnikov, vključno z vrsto in intenzivnostjo paše, podnebnimi razmerami, vrsto panja in delom čebelarjev. Med z manj kot 15 % vode je bolj viskozen, slabo tekoč in hitro kristalizira, medtem ko je med z večjim odstotkom vode bolj tekoč (16).

### Konsistenca

Med se lahko po konsistenci razlikuje, bodisi je gost, redko tekoč ali kremen. V večjih posodah se lahko opazi, da se med sčasoma loči v več plasti, kar kaže na različen izvor medicine (16). Med se naravno razlikuje glede na svojo konsistenco, ki sega od redke do goste. Vsebnost vlage v medu je zelo variabilna. Med nekaterih vrst redko kristalizira, medtem ko druge tako hitro postanejo trdne, da jih je težko odstraniti iz panja. Določene vrste medu so celo tiksotropne, kar pomeni, da so v poltrdnem stanju v posodi, vendar postanejo tekoče, če jih pretresemo. Za mnoge ljudi je tekstura medu, torej način, kako se občuti v ustih, pomemben element pri ocenjevanju njegovega okusa (14).

### Toplotna prevodnost

Toplotna prevodnost medu je podobna vodi in veliko manjša v primerjavi s kovinami. Kristaliziran med ima desetkrat manjšo toplotno prevodnost kot tekoč med, kar pomeni, da je pri segrevanju brez ustrezne skrbi izpostavljen poškodbam (12).

### Električna prevodnost

Električna prevodnost medu je pomemben parameter, ki prinaša koristne informacije o njegovi kakovosti in morebitni ponarejenosti. Ta parameter je zlasti uporaben pri prepoznavanju različnih vrst medu, še posebej pri razlikovanju med medom iz nektarja in medom iz mane. Pravilnik o medu določa, da mora biti električna prevodnost medu iz nektarja enaka ali manjša od 0,8 mS/cm, razen v primeru kostanjevega medu. Nasprotno pa mora biti električna prevodnost medu iz mane in kostanjevega medu večja od 0,8 mS/cm. Električna prevodnost medu je odvisna od vsebnosti mineralnih soli, kot so sladkorji in poliola. Ker pa je specifična električna prevodnost medu zaradi visoko koncentriranega sladkornega medija razmeroma nizka, jo merimo v raztopinah medu z 20 do 30 % suhe snovi (16).

## **2.4.3 Fizikalno-kemijske lastnosti**

### Ogljikovi hidrati

Ogljikovi hidrati, kot osnovna sestavina medu, pomembno vplivajo na njegove fizikalno-kemijske lastnosti, kot so viskoznost, kristalizacija in higroskopnost. Vsebnost in razmerje različnih sladkorjev v medu sta odvisna od različnih dejavnikov, kot so botanični izvor, encimi, sestava in intenzivnost izločanja nektarja, podnebje, vrsta medu, fiziološko stanje čebel in moč čebelje družine. Večina ogljikovih hidratov v medu (65-95 %) predstavlja invertni sladkor, mešanica monosaharidov fruktoze in glukoze. V medu iz nektarja je vsebnost invernega sladkorja večja kot v medu iz mane. Fruktoza je higroskopična, dobro topna v vodi in počasi kristalizira, medtem ko je glukoza manj topna in kristalizira pri nižjih temperaturah. Razmerje med fruktozo in glukozo (F/G) je značilno za posamezen tip medu, in večje vrednosti F/G običajno kažejo na manjšo stopnjo kristalizacije. Med oligosaharidi v medu najdemo predvsem trisaharide, kot sta maltotrioza in melecitoza, ter druge, kot so panoza, erloza in rafinoza. Melecitoza, trisaharid, se hitro kristalizira in je značilna za med iz mane, kar omogoča ugotavljanje njegovega izvora (16).

### Sladkorji

Med je koncentrirana vodna raztopina invertnega sladkorja, ki ga čebele pripravljajo iz nektarja ali medene rose. Poleg saharoze vsebuje tudi maltozo in v nekaterih vrstah gozdnega medu tudi melecitozo. Različne vrste medu se razlikujejo po sestavi sladkorjev, kar vpliva na barvo, vonj in okus medu. Cvetlični med vsebuje približno 40 % fruktoze, 34 % glukoze in 1 – 4 % saharoze, medtem ko gozdni med vsebuje tudi maltozo in melecitozo (10).

### Hidroksimetilfurfural (HMF)

HMF je pomemben pokazatelj kakovosti medu, saj nastaja pri razgradnji fruktoze v kislem okolju, pri čemer je njegova koncentracija odvisna od temperature. Svež med običajno vsebuje minimalne količine HMF (0,06 do 0,2 mg/kg), višje vrednosti pa kažejo na neustrezno segrevanje ali skladiščenje medu. Pravilnik o medu (*Ur. l. RS*, št. 4/2011, 26/2014 – ZKme-1B, 9/2015) dopušča do 40 mg HMF na kilogram medu, v tropskih državah pa je ta vrednost nekoliko višja, do 80 mg/kg. Ta parameter je zato pomemben za oceno postopkov priprave in shranjevanja medu (16).

### Koloidi

V medu se nahajajo različne primesi v koloidnem stanju, z delci, velikimi od 1 do 200 nm. Med te primesi sodijo dekstrini, beljakovine, zrnca cvetnega prahu, voščeni drobci in drugi. Beljakovine, ki vključujejo encime, prispevajo k potemnitvi in včasih tudi kristalizaciji medu. Skoraj vsaka vrsta medu vsebuje nekaj dekstrinov, ki so hitreje prebavljivi od običajnega škroba. Svetle vrste medu vsebujejo malo dekstrinov, medtem ko so temnejše vrste, zlasti gozdni med, lahko bogatejše z njimi, vplivajo pa tudi na tekočnost medu (10).

### Beljakovine in encimi

Kljub majhni količini beljakovin v medu so pomembne za njegovo obarvanost, saj aminokisljine tvorijo temne spojine, imenovane melanoidini. Beljakovine vključujejo encime, kot so invertaza, amilaza in katalaza, ki pospešujejo kemične reakcije. Invertaza omogoča hidrolizo saharoze v glukozo in fruktozo, njen delež pa izvira iz nektarja in čebeljih izločkov. Njena aktivnost je višja pri mladih čebelah in se zmanjšuje pri starejših. Med obilno pašo se saharoza manj hidrolizira zaradi hitre obdelave medičine. V primeru starega medu lahko encimska aktivnost popolnoma preneha, še posebej, če je bil med neustrezno hranjen ali preveč segret zaradi pasterizacije, ki lahko denaturira beljakovine, vključno z encimi v medu (10).

### Rudninske snovi

Med poleg osnovnih hranil vsebuje tudi rudninske snovi, ki so ključne za normalno delovanje telesa. Te vključujejo železo, natrij, kalij, kalcij, magnezij, fosfor, žveplo, klor, jod in druge. Rudninske snovi v medu se merijo v vsebnosti pepela. Cvetlični med vsebuje manj kot 0,35 % mineralnih snovi, medtem ko gozdni med lahko vsebuje do 0,90 % mineralnih snovi, kar se odraža tudi v temnejši barvi (10).

### Vitamini

Med vsebuje nekatere vitamine, predvsem tiste, ki so topni v vodi, kot so vitamini B kompleksa in C-vitamin. V 100 g medu najdemo približno 0,004 g vitamina B1, 0,025 g vitamina B2, 0,01 g nikotinske kisline, 0,055 g pantotenske kisline, 0,01 g piridoksina, 0,003 g folne kisline in nekaj C-vitamina. Vitamini B kompleksa in C-vitamin igrajo pomembno vlogo pri fiziološki presnovi v telesu, njihovo pomanjkanje pa lahko povzroči hude okvare organizma, imenovane hipovitaminoze. Z uživanjem medu torej ne zagotavljamo le visokokalorične hrane, ampak tudi prispevamo k vnosu vitaminov, ki so ključni za normalno presnovo v živih celicah (10).

### Kisljine

Med vsebuje številne organske (ocetna, maslena, citronska, mravljinčna, mlečna, jabolčna, oksalna, fumarna, jantarna, glikolna in vinska) ter anorganske kisljine, ki prispevajo k značilnemu okusu in aromi, hkrati pa vplivajo na obstojnost, antibakterijske in antioksidativne lastnosti. Kisljine so odgovorne za različne vidike kakovosti medu. Med iz mane ima višjo vsebnost mineralov, kar povzroča višjo vrednost pH in manj kisel okus (16).

### Anorganske snovi

Med vsebuje tudi sledi različnih anorganskih snovi, ki prispevajo k njegovi sestavi. V skladu z nekdanjim Pravilnikom o medu je bil dovoljen odstotek anorganskih snovi v svetlem medu do 0,6 %, v temnem medu pa do 1 %. V aktualnem Pravilniku o medu ni predpisan določen odstotek vsebnosti pepela, saj je potrjeno, da lahko temnejši med vsebuje tudi več kot 1 % pepela (16).

### Elementi

Elementi, ki so prisotni v medu, razvrščeni od najpogostejšega do manj pogostega, vključujejo kalij, kalcij, klor, magnezij, natrij, fosfor, žveplo, mangan, železo, baker, cink in rubidij, med drugimi. Raziskave so pokazale, da je največ kalija prisotnega v temnih vrstah medu, kjer njegova vsebnost presega 2000 mg/kg, medtem ko je v svetlejših vrstah, kot je na primer akacijev med, ta vsebnost precej nižja in znaša približno 400 mg/kg (16).

### Prolin

Aminokislina, ki prevladuje med vsemi aminokislinami v medu, je prolin, ki predstavlja od 50 do 85 % celotne količine aminokislin v medu. Prolin ne le, da deluje kot indikator morebitne potvorjenosti medu, temveč mu pripisujemo tudi sposobnost odstranjevanja prostih radikalov. Količina prolina se lahko razlikuje glede na vrsto medu; najmanjše količine so prisotne v akacijevem medu (približno 300 mg/kg), medtem ko kostanjev med vsebuje največ prolina (>600 mg/kg) (16).

## **2.4.4. Ostale lastnosti**

### Strjevanje medu

Med je znan po svoji sposobnosti, da se strdi, kar je pogosto imenovano "sladkanje". To je naraven proces, ki se zgodi, ko se v medu začnejo izločati kristali grozdnega sladkorja. Kristalizacija se običajno začne pri nižjih temperaturah, zlasti če je med shranjen na hladnem. Kristali glukoze se oblikujejo, ko je med nasičen s to sladkorno spojino. Temperaturne razlike vplivajo na topnost glukoze, kar lahko privede do kristalizacije, še posebej, če je med shranjen pri temperaturah pod 20° C. Kristalizacija ni znak ponarejanja medu, ampak povsem naraven pojav, ki ga lahko preprečimo z ustreznim shranjevanjem pri višjih temperaturah (10).

### Vrenje ali fermentacija medu

Vrenje je posledica delovanja določenih vrst kvasovk, ki se lahko razmnožujejo, če sladkorji v medu niso popolnoma predelani. To je pogosto opazno, kadar proces predelave sladkorjev preneha, kar omogoča razmnoževanje kvasovk. Kvasovke so občutljive na različne vrste tekočin, še posebej na sadne sokove, kot so grozdni in jabolčni sok. V medu, bogatem s sladkorji, se rast običajnih kvasovk zavira, vendar obstajajo nekatere zelo odporne vrste, kot je *Zygosaccharomyces*, ki lahko povzročijo fermentacijo v medu, če je vlažnost previsoka, preseže 21 % (10).

### Higroskopsnost medu

Med ima lastnost higroskopsnosti, kar pomeni, da lahko absorbira vlago iz okolice ali oddaja vlago nazaj. Ta lastnost je tehnološko pomembna, saj med, ki pride v stik z atmosfersko vlago, začne vreti in se redči. Nasprotno, v zelo suhem okolju med odda nekaj svoje vlage. Pri temperaturi 20 °C med privlači vlago pri relativni vlažnosti nad 60%, medtem ko oddaja vlago pri vlažnosti pod 60 %. Higroskopsnost medu je pomembna tudi pri pripravi medenih izdelkov, saj ohranja svežino in okus, saj se manj izsuši v primerjavi z izdelki, ki vsebujejo običajen trsni sladkor (10).

### Tekočnost medu

Tekočnost medu je značilnost, ki je odvisna od sestave in temperature. Največje spremembe v tekočnosti se pojavijo pri segrevanju medu s sobne temperature na 35 °C, kar ga naredi izjemno tekočega. Nadaljnje segrevanje nad to temperaturo ima le malo vpliva na njegovo tekočnost. Sestava medu, vključno z vsebnostjo vode in dekstrinov, igra ključno vlogo pri njegovi židkosti. Gozdni med in nekatere temnejše vrste cvetličnega medu so bolj viskozni od svetlejših vrst, kar otežuje iztočenje nekaterih vrst medu zaradi viskoznosti (10).

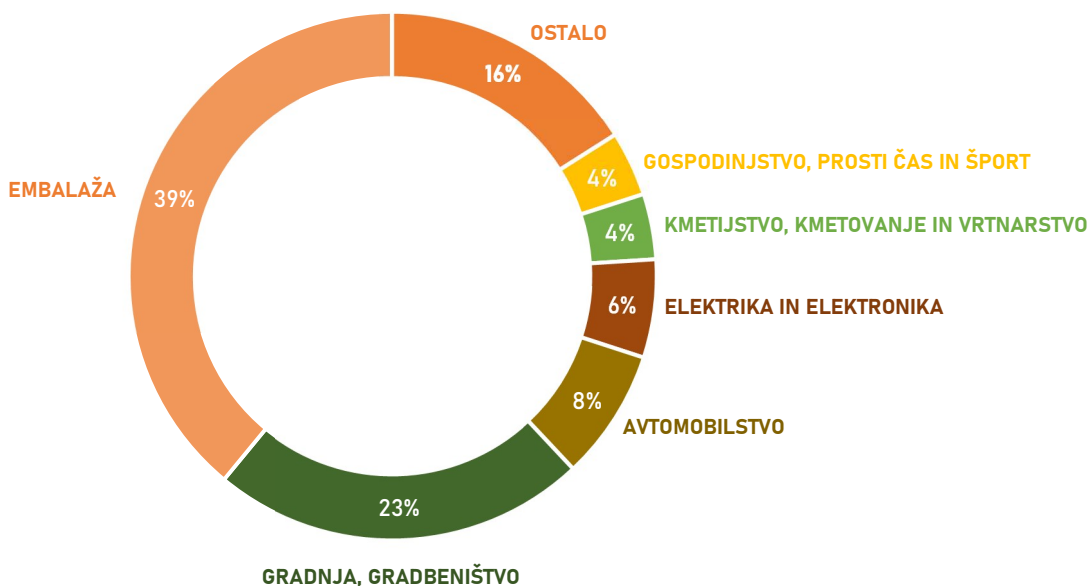
### Specifična teža medu

Prvovrstne vrste medu, ki vsebujejo več fruktoze kot glukoze, običajno kažejo večjo tekočnost. Količina prvega razreda medu na liter mora znašati najmanj 1,413 kg, lahko pa tudi več, v nobenem primeru pa manj. Specifična teža je tesno povezana z odstotkom vlage v medu. Pri specifični teži prvovrstnega medu, torej 1,413, vsebnost vlage ne sme presegati 18,8 %. Če opazimo nizke specifične teže, lahko sumimo na ponarejen ali nedozorel med (10).

### 3 MIKROPLASTIKA

Mikroplastika so drobni delci plastike, katerih velikost je manjša od 5 mm (15, 17). To vključuje vlakna oblačil, mikrokroglice, plastične granule, gumene delce in zdrobljeno plastiko, ki se sproščajo v okolje med naravnimi vremenskimi procesi razgradnje plastičnih izdelkov ali ob rabi, uporabi oz. drgnjenju materiala. Nastanek mikroplastike izhaja iz dveh glavnih procesov: mehanske obrabe plastike in naravnega razkroja. Ko mikroplastika enkrat vstopi v okolje, postane le še vprašanje časa, kdaj bo prizadela vse dele ekosistema, vključno s človekom. Kljub neizogibnosti pa lahko z drastičnim zmanjšanjem izpostavljenosti naredimo pomemben korak v korist sebi, naravi in prihodnjim generacijam (18).

V zadnjih desetih letih smo na svetu proizvedli več plastike kot v vsem prejšnjem stoletju. Plastiko najdemo že povsod okoli nas, največkrat je uporabljena za pakiranje hrane, izdelovanje oblačil, ter celo v kozmetičnih izdelkih, kot so zobne paste in pilingi. Po zadnjih podatkih združenja Plastic Europe smo v Evropi v letu 2022 kar 39 % proizvedene plastike uporabili za embalažo, le po 4 % pa za gospodinjsko posodo, šport, prosti čas ter 4 % za kmetijstvo in vrtnarjenje (19).



Graf 1: Prikaz porabe plastike na svetovni ravni za leto 2022 (PlasticEurope)

Odstotek recikliranja plastike na svetovni ravni ostaja zelo nizek, pri čemer večina odpadne plastike konča na odlagališčih (kar 80 odstotkov), del se reciklira, vendar prevelika količina konča v morju, kjer postane nevarnost za živali. Plastični odpadki pogosto zmotijo prehranjevalne vzorce živali, ki jih zamenjajo za hrano. Mnoge morske želve so bile najdene s plastiko v prebavilih, pogosto v obliki plastičnih vrečk, ki jih zamenjajo za meduze. Tudi ptice, kot so albatrosi, cevonosci in vihariki, so privlačne za plastiko zaradi njenega vonja, kar pogosto privede do tega, da jo zaužijejo. Od pregledanih 144 morskih ptic jih je kar 82 odstotkov imelo v prebavilih prisotno plastiko (20).

Mikroplastika, ki nastaja zaradi razgradnje večjih plastičnih izdelkov, predstavlja resno okoljsko grožnjo. S potovanjem po morju se širi tudi na območja, kjer ni bila prvotno prisotna (20).

Najpogostejša plastika, ki se uporablja v živilski embalažni industriji, vključuje sedem vrst: polietilen tereftalat (PET), visokogostoni polietilen (HDPE), nizkogostotni polietilen (LDPE), polikarbonat (PC), poliviniliden klorid (PVDC), polipropen (PP), polistiren (PS). V zadnjem času se je povečala skrb za uporabo polivinil klorida (PVC) v embalaži za živila, predvsem zaradi potencialne migracije mehčal, ki lahko predstavljajo tveganje za zdravje. Kljub tem skrbem uporaba PVC-ja v EU ni prepovedana in ustreza veljavnim harmoniziranim predpisom (21).

### 3.1 Viri mikroplastike

Mikroplastiko lahko glede na njen izvor razdelimo v dve glavni kategoriji:

#### Primarna mikroplastika

Primarna mikroplastika je tista, ki je že načrtno proizvedena manjša od 5 mm. Sem uvrščamo plastične pelete, granule, vlakna in druge delce. Glavni viri njenega nastanka so po podatkih iz leta 2017 pranje sintetičnih oblačil (35 % primarne mikroplastike), površinska obraba pnevmatik zaradi vožnje (28 %) ter uporaba proizvodov za osebno nego, kot so mikrozrnca v kremah za piling obraza (2 %) (21, 22).

#### Sekundarna mikroplastika

Nastaja pri razgradnji večjih plastičnih predmetov, kot so plastične vrečke, plastenke ali ribiške mreže, in predstavlja 69–81 % vse mikroplastike v oceanih (22).

Mikroplastiko lahko danes pravzaprav najdemo povsod okrog nas. Nastaja med uporabo in razgradnjo plastičnih izdelkov za vsakdanjo rabo, sintetična vlakna se sproščajo iz naših oblačil, do pred kratkim smo mikroplastiko lahko našli tudi v kozmetiki in izdelkih za osebno nego. A na slednjem področju se je zakonodaja v zadnjih mesecih 2023 precej izostrila v prid uporabnika in varovanja našega zdravja, pa tudi okolja, saj je Evropska komisija namensko uporabljeno plastiko v kozmetiki prepovedala oziroma zelo omejila (23). Mikroplastiko lahko najdemo v tleh, v vodi, v zraku odprtih in zaprtih prostorov. Vedno večkrat pa lahko zasledimo, da je mikroplastika lahko prisotna tudi v naši pijači in hrani.

### 3.2 Prisotnost mikroplastike v hrani

Mikrodelci plastike so prisotni v prehranjevalni verigi morskih in sladkovodnih organizmov, vključno z želvami, morskimi pticami, ribami, raki, školjkami in celo zooplanktonom (17). Poleg morskih virov mikroplastiko najdemo tudi v drugih živilih, kot so mineralna voda, pivo, med in celo piščančje meso. Raziskovalci opozarjajo, da bi lahko bili drugi viri hrane, ki niso morskega izvora, še bolj zaskrbljujoči v smislu prisotnosti mikroplastike (24). Raziskave kažejo, da se največja količina mikroplastike v ribah nahaja v njihovih prebavilih, zato je odstranitev prebavil pri pripravi ribe lahko koristna. Pri uživanju školjk in manjših rib pa je potrebna večja previdnost glede morebitnega zaužitja mikroplastike (17).

Mikroplastika se pogosto pojavlja v hrani in pijači zaradi različnih virov, vključno z embalažo, kozmetiko in tekstilnimi izdelki. Ti mikroskopski delci plastike se nevede širijo skozi predmete vsakodnevne uporabe, predstavljajoč nevidno onesnaženje (24).

Študije mikroplastike v različnih živilih (hrani in pijači) so povzete v Preglednici 1.

*Preglednica 1: Raziskave o določenih živilih in prisotnosti mikroplastike v njih*

VIRI MIKROPLASTIKE	ŠTUDIJE
Voda	Koelmans et al. 2019; Kosuth, Mason in Wattenberg 2018; Schymanski idr. 2018; Shruti, Pérez-Guevara in Kutralam Muniasamy 2020; Vega-Herrera et al. 2022; Wiesheu et al. 2016
Čaj	Afrin, Rahman, Akbor, et al. 2022; Shruti, Pérez-Guevara, Elizalde-Martínez, et al. 2020,
Pivo	Diaz-Basantes, Conesa in Fullana 2020; Kosuth, Mason in Wattenberg 2018; Lachenmeier et al. 2015; Liebezeit in Liebezeit 2014; Shruti, Pérez-Guevara, Elizalde-Martínez, et al. 2020; Shruti et al. 2021
Vino	Prata et al. 2020
Energijske pijače	Shruti, Pérez-Guevara, Elizalde-Martínez, et al. 2020
Brezalkoholne pijače	Shruti, Pérez-Guevara, Elizalde-Martínez idr. 2020
Ribe	Karami, Golieskardi, Bin Ho et al. 2017; Karami et al. 2018; Karthik et al. 2018; O'Connor et al. 2022; Pan et al. 2022; Peters et al. 2018,
Školjke	Chinfak et al. 2021; Daniel et al. 2021; Ding et al. 2020; Fernández Severini idr. 2020; Li et al. 2015; Pan et al. 2022
Sol	Gündoğdu 2018; Iñiguez, Conesa in Fullana 2017; Karami, Golieskardi, Choo, et al. 2017; Kosuth, Mason, in Wattenberg 2018; Manimozhi idr. 2022; Yang et al. 2015
Sladkor	Afrin, Rahman, Hossain et al. 2022; Liebezeit in Liebezeit 2013
Med	Liebezeit in Liebezeit 2013, Liebezeit in Liebezeit 2014, Liebezeit in Liebezeit 2015
Mleko	Kutralam-Muniasamy et al. 2020,
Perutninsko meso	Kedzierski et al. 2020
Sadje, zelenjava	Oliveri Conti et al. 2020

### 3.2.1 Školjke in ribe

Leta 2015 je skupina portugalskih raziskovalcev analizirala tkivo 263 rib, ujetih v Lizboni, in ugotovila prisotnost mikroplastike v 19,8 % primerov, kar pomeni, da je bila mikroplastika prisotna v enem od petih vzorcev (25).

Ribe, ujete z vlečnimi mrežami v bližini metropolitanskega območja Lizbone in ob ustju reke Tejo, so najbolj kontaminirane z mikroplastiko. Tretjina teh rib je zaužila več različnih vrst plastičnih polimerov, med katerimi prevladujejo polipropilen, polietilen, alkidna smola, rajon, poliester, najlon in akril. Večina mikroplastike, ki so jo našli, je bila v obliki vlaken, predvsem v ribah, ki živijo in se hranijo na morskem dnu, kot so sipa, trska, oslič, cipelj in brancin. V nekaterih primerih so bili polimeri v obliki delcev, zlasti v pelagičnih ribah, ki se prehranjujejo v odprtih vodah, kot so tuna, mečarica in skuše. Med temi ribami je bila skuša, ki se poleti pogosto pojavlja na mizah Sredozemlja, najbolj onesnažena (25).

Raziskovalci so odkrili prisotnost mikroplastike v konzerviranih ribah, kot so sardele in papaline, pri 4 od 20 preučenih blagovnih znamk. Ni jasno, ali je mikroplastika posledica neustreznega čiščenja rib ali kontaminacije med predelavo.

Ugotavljajo, da uživanje takšnih rib lahko pomeni zaužitje do 5 kosov plastike na leto. Glavni vrsti mikroplastike, ki sta bili najdeni, sta polipropilen (PP) in polietilen tereftalat (PET) (25). Tudi v Sloveniji je bila leta 2020 narejena raziskava vsebnosti mikroodpadkov v ribah *Rutilus Rutilus* porečja reke Mure. V 94 % pregledanih rib so našli mikroodpadke, pri čemer so tekstilna vlakna predstavljala kar 96 % vseh najdenih delcev. Rezultati nakazujejo, da so glavni viri mikroodpadkov gospodinjstva, saj so bila vlakna pretežno sintetična ali polnaravna (26).

### 3.2.2 Mikroplastika v morski soli

Študije so pokazale, da je morska sol pomemben vir mikroplastike. Kitajska študija je leta 2015 analizirala 15 blagovnih znamk soli in odkrila do 681 plastičnih delcev na kilogram morske soli (27). Medtem pa turška študija konec leta 2017 poroča o prisotnosti 16 – 84 delcev na kilogram morske soli. Najpogostejša plastična polimera sta bila polietilen in polipropilen (28). Znanstveniki opozarjajo, da lahko zaužijemo do tri delce mikroplastike na dan samo z uživanjem priporočenega dnevnega odmerka soli, vendar pa mnogi ljudje zaužijejo več kot to priporočeno količino. Raziskovalci se soočajo tudi s težavami pri primerjavi študij zaradi pomanjkanja enotnih standardov za ocenjevanje mikroplastike (28).

### 3.2.3 Mikroplastika v perutnini

Skupina mehiških raziskovalcev je analizirala piščančje želodčke, ki so pogosta sestavina jedi v Mehiki, in ugotovila, da vsak piščančji želodec vsebuje povprečno 10 delcev mikroplastike. Večina teh (91,4 %) plastike je bila iz PE plasten, 6,9 % pa iz vlaken in 1,7 % iz polistirena. Ugotovljeno je bilo, da je prenos takšne plastike olajšan zaradi domačega načina priprave hrane, ker večina ljudi piščančje želodce samo zunanje opere, nato pa jih skuha v juhi in na koncu razreže (29).

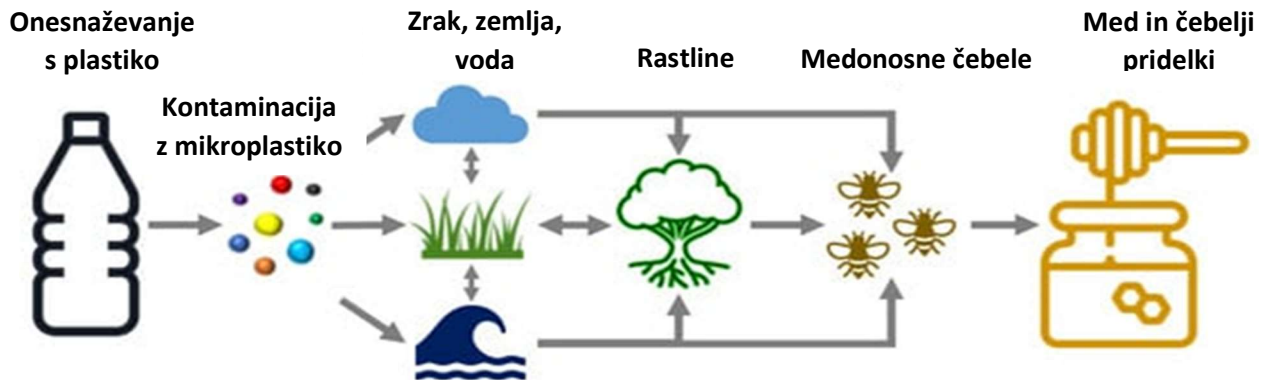
### 3.2.4 Mikroplastika v pivu in mineralni vodi

Leta 2014 so raziskovalci odkrili mikroplastiko tudi v pivu. Skupina nemških raziskovalcev je analizirala 24 nemških pivskih znamk in v vseh vzorcih našla mikroplastične delce, vključno z vlakni (2 do 79 na liter), drobci (12 do 109) in zrnca plastike (2 do 66). Stopnja kontaminacije je bila različna med posameznimi vzorci in med pivi iste znamke, ki so pripadala različnim proizvodnim serijam (6).

Nemški raziskovalci so konec leta 2017 analizirali 38 blagovnih znamk mineralne vode v različnih embalažah, vključno s PET plastenkami za enkratno in večkratno uporabo, steklenicami in kartonskimi embalažami. V vseh vzorcih so odkrili mikroplastiko, pri čemer so bile najvišje ravni mikrodeltcev v PET plastenkah za večkratno uporabo (do 118 delcev), v primerjavi s 14 delci v steklenicah za enkratno uporabo. Večina delcev je bila med 5 in 20 mikrometri. Ramanska spektrometrija je razkrila prisotnost poliestra (predvsem PET) in polipropilena v plastenkah za večkratno uporabo, medtem ko so bile v steklenicah za enkratno uporabo zaznane manjše količine PET delcev. Nedavne študije so potrdile prisotnost mikroplastike v vodi iz različnih vrst embalaže, kar kaže na možnost kontaminacije med proizvodnim procesom. Odkritja poudarjajo potrebo po nadaljnjem preučevanju vira mikroplastike in izboljšanju embalažnih standardov za zmanjšanje kontaminacije pitne vode (30).

### 3.2.5 Mikroplastika v medu

Čeprav so se raziskave o mikroplastiki v vodi, morskih organizmih in celo v zraku že izvajale v večjem obsegu, so raziskave o mikroplastiki v medu še relativno redke, a nič manj pomembne. Našli smo nekaj študij, kjer so analizirali različne vzorce medu ter iz njih izolirali in poskusili identificirati mikroplastiko. Osredotočili smo se na tri, katere so se nam zdele priročne tudi kasneje za izvedbo metod, ki so jih v študijah uporabili. Razumevanje prisotnosti mikroplastike v medu je ključno za oceno potencialnega tveganja za potrošnike in za razvoj smernic za kakovost medu v prihodnosti.



Slika 2: Potencialni viri vnosa mikroplastike v med (Prirejeno po: *Toxics*, 2021)

#### 1. Mikroplastika v medu, pivu, mleku in osvežilnih pijačah v Ekvadorju kot nastajajoči onesnaževalci

Raziskava iz leta 2020 je pokazala, da so izdelki pridelani ali pridobljeni iz morskega ekosistema najbolj izpostavljeni mikroplastiki, vendar pa je tudi kopenska hrana, kot je med, potencialno kontaminirana s temi delci, kar predstavlja potencialno nevarnost za okolje in zdravje ljudi. Medtem ko je prisotnost mikroplastike v vodi iz pipe, ustekleničeni vodi, soli, pivu in hrani, kot so polži, že preučena v Evropi in ZDA, pa v Latinski Ameriki še ni bila ustrezno ocenjena (31).

Predmet te študije sta bili dve pogosto zaužiti pijači - mleko in brezalkoholne pijače - ter vzorci medu in piva, pridobljeni iz Ekvadorja. Raziskava je vključevala, tako industrijsko, kot ročno predelane izdelke, da bi ocenili morebitne korelacije z antropogeno aktivnostjo. Za določitev mikroplastike v medu so avtorji izboljšali prejšnje metode, uporabili so mikrofiltracijo, razgradnjo organskih snovi z vodikovim peroksidom in nato izpiranje z deionizirano vodo. Velikosti delcev so varirale od 0,8 do 200  $\mu\text{m}$ , z najdenimi količinami med 10 in 100 MP/L, povprečno pa okrog 40 MP/L. Identificirane vrste mikroplastike so vključevale polietilen, polipropilen in poliakrilamid (31).

Rezultati so pokazali večjo prisotnost mikroplastike v primerjavi z nekaterimi evropskimi študijami, kar je verjetno posledica različnih metod predelave izdelkov in ne nujno posledica okoljske onesnaženosti.

## 2. Izvor sintetičnih delcev v medu

V tej študiji so 47 vzorcev medu in 22 cvetočih rastlin analizirani glede vsebnosti sintetičnih vlaken in drobcov mikroplastike. Ugotovljeno je bilo, da so v vseh analiziranih vzorcih medu prisotni tuji delci, med katerimi so bila najpogostejša sintetična vlakna in drobci. Ti delci so se nahajali v razponu od 10 do 336 delcev na kilogram medu, kar kaže na raznolikost kontaminacije med različnimi vzorci. Poleg sintetičnih vlaken so bili med najdenimi delci tudi delci črnega ogljika, ki predstavljajo dodatno kategorijo kontaminacije, čeprav niso bili podrobno naštet v analizi (4).

Prav tako so ugotovili, da se lahko večji delež mikroplastike v medu pripisuje zunanji kontaminaciji, ki jo v panj prinesejo čebele med nabiranjem nektarja iz cvetočih rastlin. To nakazuje, da lahko čebelje dejavnosti prispevajo k vnosu mikroplastike v med, kar je pomembno razumeti pri načrtovanju strategij za zmanjšanje kontaminacije (4).

Analiza cvetočih rastlin je dodatno pokazala, da je obremenitev z delci lahko odvisna od vrste rastlin, s katerimi čebele pridejo v stik. Različne rastline lahko predstavljajo različne vire kontaminacije, odvisno od njihovega okolja in značilnosti rastišča (4).

## 3. Necvetni delci v medu in sladkorju

Študija iz leta 2013 se je osredotočala na analizo necvetnih delcev v vzorcih medu in sladkorja ter njihove možne vire kontaminacije. V študiji so analizirali 19 vzorcev medu, pridobljenih iz Nemčije, Francije, Italije, Španije in Mehike, ter kvantificirali obarvana vlakna in drobce, medtem ko prozornih vlaken, ki veljajo za celulozna in bi jih lahko obarvali s fuksinom, niso kvantificirali. V vseh vzorcih so našli obarvane materiale, pri čemer je bilo število vlaken od 40 do 660 na kilogram medu, s povprečjem  $166 \pm 147$  na kilogram medu, drobcov pa je bilo manj (0–38 na kilogram medu, povprečje  $9 \pm 9$  na kilogram medu) (3).

Viri teh delcev so bili opredeljeni kot okoljski, kar pomeni, da so jih čebele prinesle v panj med nabiranjem nektarja ali pa so bili vneseni med predelavo medu ali oboje. Poleg tega so analizirali pet komercialnih sladkorjev, pri čemer so v vseh oplemenitenih vzorcih medu in sladkorja našli obarvana vlakna (povprečno  $217 \pm 123$  vlaken na kilogram sladkorja) in drobce ( $32 \pm 7$  delcev na kilogram sladkorja). Med analiziranimi sladkorji je najbolj izstopal nerafiniran trsni sladkor s 560 vlakni in 540 drobci na kilogram medu. V vzorcih medu in sladkorja so tudi opazili zrnast material brez cvetnega prahu (3).

Rezultati te študije kažejo, da so necvetni delci prisotni v vzorcih medu in sladkorja, pri čemer je najverjetnejši vir kontaminacije okoljski, torej delci, ki so jih čebele prinesle v panj ali so bili vneseni med predelavo. To poudarja potrebo po nadaljnjih raziskavah in previdnosti pri pridobivanju in predelavi medu ter sladkorja, da se zmanjša možnost kontaminacije s sintetičnimi delci.

Do vnosa mikroplastike lahko pride že v začetni fazi nastajanja medu. Nato pa je vnos potencialno možen tudi v vsakem izmed 12 korakov obdelovanja medu (Poglavje 2.3.)

*Preglednica 2: Potencialni načini vnosa mikroplastike pri postopkih obdelovanja medu*

	Postopek obdelave medu	Možni načini vnosa mikroplastike
1.	Odkrivanje medenih satov	iz zaščitnih oblačil, orodja ali pa iz okolja čebelnjaka (prah ali delci iz plastičnih materialov v bližini, promet)
2.	Odvzemanje medenih satov	zaradi uporabe plastičnih rokavic, posod ali opreme, ki pridejo v stik s satjem
3.	Zrelost medu	skozi zrak ali preko stika s plastično opremo za preverjanje zrelosti
4.	Točenje medu	iz plastičnih cevi, filtrov, posod ali druge plastične opreme
5.	Kristalizacija medu	iz posod ali orodij, ki se uporabljajo za pospeševanje in kontrolo procesa kontaminacije
6.	Utekočinjanje medu	med segrevanjem iz plastičnih posod
7.	Pasteriziranje medu	iz opreme, plastičnih posod, cevi ali filtrov, ki niso odporni na visoke temperature
8.	Filtracija medu	iz plastičnih filtrov, sit ali cevi, ki se uporabljajo za odstranjevanje nečistoč
9.	Etiketiranje medu	iz plastičnih etiket ali embalažnih materialov, ki se uporabljajo za končno pakiranje
10.	Kvarjenje medu	iz plastičnih posod, pokrovov ali okolja shranjevanja
11.	Shranjevanje in skladiščenje medu	iz skladiščnih posod, opreme ali okolja, kjer se skladišči
12.	Ponarejanje medu	iz plastičnih dodatkov, aditivov ali opreme, ki se uporablja pri ponarejanju

### 3.3. Vplivi mikroplastike na okolje

Mikroplastika je prisotna v vseh ekosistemih, vključno z morji, sladkovodnimi telesi, kopnim in atmosfero. Mikroplastika v oceanih predstavlja resen problem, saj delci velikosti od 300 mikrometrov do 5 milimetrov ne razpadejo, ampak se razgrajujejo na še manjše delce. Ti delci postanejo vir onesnaževanja, saj nase vežejo organska onesnaževala in mikroorganizme, vključno s patogenimi bakterijami. Pomembno je omejiti onesnaževanje s plastiko, saj trenutno ni jasnih prepovedi o odlaganju plastičnih odpadkov v morje, kar prispeva k globalnemu problemu onesnaženih oceanov. Raziskava iz leta 2015 je pokazala, da je za več kot polovico plastičnih odpadkov v oceanu odgovornih le pet držav (20).

Nekatere države, kot sta Južna Afrika in Kamerun, so že sprejele ukrepe za zmanjšanje uporabe plastike, na primer z uvedbo davka na tanke plastične vrečke. Številne afriške države, med njimi Gana, Kenija, Uganda in nekatere druge so uvedle popolno prepoved uporabe plastičnih vrečk. Med neafriškimi državami je Bangladeš že leta 2002 prepovedal uporabo teh vrečk zaradi hudih poplav, ki so jih povzročile zamašene odtočne cevi (20).

V zadnjih letih je Evropska unija sprejela več ukrepov za zmanjšanje onesnaženja z mikroplastiko, predvsem kot del Evropskega zelenega dogovora in povezanih okolijskih strategij. Leta 2023 je EU sprejela novo uredbo v okviru zakonodaje REACH, ki prepoveduje prodajo in uporabo izdelkov, ki vsebujejo namensko dodano mikroplastiko. Ta prepoved vključuje predvsem kozmetiko z mikroperlicami, detergente, polnila na umetni travi in druge izdelke, kjer se pričakuje, da bo preprečila sproščanje okoli 500.000 ton mikroplastike v okolje (32).

Za zmanjšanje onesnaženosti okolja lahko posamezniki prispevamo na več načinov, če:

- zmanjšamo uporabo plastičnih izdelkov,
- kupujemo koncentrate in izdelke v večjih pakiranjih,
- izberemo nepakirano, sveže sadje, zelenjavo in meso,
- uporabljamo nakupovalne vrečke iz blaga ali kartonaste škatle,
- nakupujemo v trgovinah brez embalaže, imenovanih ZERO WASTE trgovine in
- pravilno ločujemo odpadno embalažo in jo odlagamo v ekološkem otoku v rumen zabojnik.

Čeprav se le redki lahko popolnoma odpovejo plastiki, se moramo vsi potruditi, da čim bolj zmanjšamo uporabo predvsem plastične embalaže. Spremeniti moramo svoje nakupovalne navade, pri čemer lahko pričakujemo, da se bo ponudba v trgovinah prilagodila. Zato spremenimo način razmišljanja, kupujemo reciklabilne izdelke, izbirajmo kvaliteto in kupujemo manj. Škodo, ki je nastala, lahko še vedno popravimo (20).

Večja plastika se v okolje sprosti preko nepravilnega odstranjevanja odpadkov, naključnega ali namernega onesnaževanja ter uporabe plastike v različnih sektorjih, kot so ribištvo, kmetijstvo in promet. Sintetični tekstil med pranjem oddaja drobna vlakna, ki končajo v odpadnih vodah in čistilnih napravah, kjer se zadržujejo v aktivnem blatu. Preostali delci mikroplastike vstopijo v okolje preko iztokov iz čistilnih naprav. Aktivno blato npr. se pogosto uporablja kot gnojilo, kar pomeni, da se mikroplastika lahko prenese v tla in nato v vodna telesa z erozijo tal in površinskim odtokom. V morje mikroplastika vstopi preko iztokov kopenskih vodnih teles ali neposredno, na primer preko odpadnih ribiških mrež, ki se razkrojijo na manjše delce, ali zaradi nepravilnega odlaganja odpadkov v obalnih regijah, ki jih veter ali plima zanesejo v morje (18).

Ocena količine mikroplastike v oceanih je različna in se giblje med 93.000 in 263.000 tonami na površini vseh svetovnih oceanov ter med 11,6 in 21,1 milijoni ton v zgornjih 200 metrih Atlantskega oceana. Številne študije poročajo o prisotnosti mikroplastike v vodnih organizmih, pri čemer le del teh obravnava tudi toksikološke učinke. Ena takšnih študij je pokazala, da izpostavljenost mikroplastičnim delcem povzroča zmanjšano stopnjo hranjenja in reprodukcije pri vodnih bolhah. Sekundarna mikroplastika je pokazala več škodljivih učinkov kot primarna, vključno s podaljšanjem časa presnove in tvorbo skupkov v črevesju. Študija je razkrila tudi škodljive učinke realnih koncentracij polistirenske mikroplastike na ostrige, kar je vključevalo zmanjšanje števila jajčnih celic, premera jajčnih celic, hitrosti semenčic in razvoja ličink (18).

Mikroplastika v kopenskih ekosistemih izvira iz neustreznega ravnanja z odpadki, atmosferskega nalaganja in drugih dejavnikov. Najbolj izpostavljena so kmetijska tla, ki so intenzivno uporabljena zaradi gnojenja, kompostiranja in uporabe kmetijske plastike. Ocena vnosa mikroplastike v kmetijska tla v Evropi je med 0,2 in 8 mg na hektar letno na prebivalca, kar skupaj znese več deset tisoč do več sto tisoč ton letno na vseh evropskih kmetijskih površinah. Raziskave so pokazale, da mikroplastika v prsti lahko vpliva na fizikalne lastnosti, rast rastlin in mikrobno združbo, pri čemer ti vplivi niso vedno negativni. Mikroplastika v prsti ima različne učinke, odvisno od njenih lastnosti. Na fizikalne lastnosti prsti lahko vpliva, na primer, poliester poveča sposobnost zadrževanja vode v ilovnatih peščenih tleh, medtem ko polietilen na ta parameter nima vpliva. Negativni učinki mikroplastike na živali v tleh so večinoma opazni, saj lahko povzročijo smrtnost in zmanjšanje telesne dolžine ter razmnoževanja pri nematodah. Pri deževnikih zmanjšuje stopnjo rasti ter se kopiči v njihovih telesih (18).

Lahka mikroplastika manjših dimenzij se lahko prenaša v atmosferi na dolge razdalje in se nato odlaga na zemeljsko površino. V nacionalnih parkih v ZDA so našli atmosferske usedline mikroplastike, ki so bile prisotne v 98 % zbranih vzorcev, pri čemer je stopnja odlaganja v povprečju znašala 132 mikroplastičnih delcev na m<sup>2</sup> dnevno. Podobno onesnaženje z mikroplastiko so opazili tudi v Parizu in Dongguanu na Kitajskem. Odkritja mikroplastike niso omejena le na območja z visoko populacijo ljudi, temveč so jo zaznali tudi na zelo oddaljenih lokacijah, kot so arktični sneg, Antarktika in francoski Pireneji (18).

### 3.4 Raziskave mikroplastike v Sloveniji

Slovenija, kot mnoge druge države, se sooča z izzivom onesnaženja z mikroplastiko. Kljub majhnosti države in njeni geografski raznolikosti, je mikroplastika prisotna v različnih okoljskih matricah, kot so voda, tla in zrak. Že v prejšnjem desetletju so se raziskovalci posvetili preučevanju razsežnosti tega problema, kar je privedlo do pomembnih odkritij in boljšega razumevanja vpliva mikroplastike na lokalne ekosisteme in zdravje prebivalcev.

V poglavju bomo predstavili študije, ki so bile izvedene v Sloveniji in se osredotočajo na analizo mikroplastike v različnih okoljskih vzorcih. Te raziskave ponujajo vpogled v stopnjo onesnaženosti z mikroplastiko ter potencialne vire in poti širjenja teh delcev v naravnem okolju. S tem želimo poudariti pomen nadaljnjega raziskovanja in implementacije ukrepov za zmanjšanje onesnaženja z mikroplastiko v Sloveniji.

#### 1. Makroodpadki in mikroplastika s slovenskih plaž

Rezultati študije, ki je leta 2014 ocenjevala prisotnost makroodpadkov in mikroplastike na slovenskih plažah, prinaša več pomembnih ugotovitev in priporočil. Količina morskih odpadkov v okolju narašča globalno, kar ima številne negativne vplive na biotske skupnosti. Ta problematika se odraža tudi na slovenskih plažah. Študija je pokazala, da več kot 64 % makroodpadkov na plažah sestavljajo plastični materiali, kar potrjuje prevlado plastičnih odpadkov v morskem okolju. Mikroplastika je bila prisotna v vseh vzorcih sedimenta, tako obalnega kot infralitoralnega, kar nakazuje na njeno razširjenost in trajnost v morskem okolju. Kljub pričakovanjem študija ni zaznala statistično pomembnega vpliva turizma na količino makroodpadkov ali mikroplastike na preučevanih plažah. Kar pomeni, da prisotnost odpadkov ni neposredno povezana s turističnimi dejavnostmi, temveč ima širše okoljske vzroke. Čistoča plaž je bila ocenjena z indeksom čiste obale, ki se je izkazal za koristen pri kvantificiranju stanja obale, vendar pa avtorji raziskave poudarjajo potrebo po bolj celovitih metodah ocenjevanja odpadkov (33).

Glede na visoko prisotnost plastičnih odpadkov, tako v obliki makroodpadkov kot mikroplastike, študija priporoča razvrstitev plastike med nevarne materiale, kar bi omogočilo strožje regulacije in boljše upravljanje plastičnih odpadkov. Za natančnejše ocene morskih odpadkov so potrebni standardizirani ukrepi in metode. Avtorji tu predlagajo razvoj celovitega indeksa odpadkov, ki bi zajemal različne vidike onesnaženja. Glede na specifične značilnosti Jadranske regije, študija podaja tudi posebna priporočila za prihodnje ocene in upravljanje morskih odpadkov v tej regiji (33).

Študija o makroodpadkih in mikroplastiki na slovenskih plažah prinaša pomembna spoznanja o razširjenosti plastičnih odpadkov in njihovi trajnosti v okolju. Kljub odsotnosti neposrednega vpliva turizma, ugotovitve kličejo po strožjih regulacijah in boljšem upravljanju plastičnih odpadkov. Implementacija predlaganih priporočil bi pripomogla k zmanjšanju onesnaževanja in zaščiti morskega ekosistema v Sloveniji in širši Jadranski regiji (33).

## 2. Mikroplastika morske površine v slovenskem delu severnega Jadrana

Študija mikroplastike v slovenskem delu Tržaškega zaliva iz leta 2016 prav tako razkriva, da je plastika najbolj prisoten material med morskimi odpadki, predstavljajoč globalen problem onesnaževanja (34).

V obdobju 20 mesecev so raziskovalci izvedli 17 vlečnih mrež, da bi ocenili koncentracijo mikroplastike na morski površini. Rezultati so pokazali visoko povprečno koncentracijo  $406 \times 103$  mikroplastičnih delcev na kvadratni kilometer. Več kot 80 % teh delcev so identificirali kot polietilen, kar kaže na prevladujoči vpliv te plastične vrste v preučevanem območju. Variabilnost koncentracij mikroplastike med različnimi vzorčnimi datumi so analizirali z uporabo kart površinskih tokov in modela porazdelitve morskih odpadkov Markovljeve verige za Jadransko morje. Razumevanje dinamike in porazdelitve mikroplastike v okolju je ključno za učinkovitejše upravljanje s tem onesnaženjem in razvoj ukrepov za zmanjšanje vpliva plastike na morsko okolje (22).

## 3. Mikroplastika na nasipih slovenskih plaž

Raziskava, ki je potekala marca in avgusta 2017, je analizirala vzorce sedimentov z devetih lokacij ob slovenski obali Jadranskega morja. Tu so uporabili gostotno ločevanje v nasičenih vodnih raztopinah NaCl za izolacijo mikrodelcev, ki so jih nato analizirali z infrardečo spektroskopijo (ATR-FTIR). Ugotovili so, da je bilo 11,3 % identificiranih delcev nedvoumno potrjenih kot mikroplastika. Dodatnih 8,2 % delcev je kazalo plastične lastnosti, vendar potrditev z ATR-FTIR ni bila uspešna. Naravno ekoloških delcev je bilo 4,3 %, medtem ko večina (76,2 %) ni bila identificirana. Povprečna gostota mikroplastike je bila marca  $0,5 \pm 0,5$  MP kg<sup>-1</sup>, avgusta pa  $1,0 \pm 0,8$  MP kg<sup>-1</sup>. Mikroplastika, najdena v sedimentih, je bila sestavljena iz drobcev, vlaken, filmov in pene, kar nakazuje na možen izvor iz plastičnih izdelkov za enkratno uporabo ter iz ribogojstva (35).

V primerjavi z drugimi raziskavami in lokacijami je bila onesnaženost slovenske obale z mikroplastiko ugotovljena za relativno nizko. V razpravi o veljavnosti rezultatov je bila izpostavljena porazdelitev mikroplastike, uporabljene strategije vzorčenja, metodologije ter znanstvene implikacije teh ugotovitev (35).

## 4. Mikroplastika v kozmetični izdelki v Sloveniji

Študija iz leta 2023 je zajemala pregled sestavin 202 kozmetičnih izdelkov v petih različnih trgovinah (DM, Nama, Mercator, Müller, Spar) s pomočjo aplikacije »Beat the microbead«, ki je omogočila identifikacijo mikroplastike in sintetičnih polimerov v različnih kategorijah izdelkov, kot so zobne paste, kreme, olja, ličila, šamponi in izdelki za nego dojenčkov (36).

Od skupno 202 pregledanih izdelkov je bila skoraj četrtina označena kot neustreznih. To pomeni, da so vsebovali mikroplastiko (22 od 47) ali pa sintetične polimere (26 od 47), katerih toksičnost je znana, vendar njihova uporaba ni ustrezno regulirana. Med identificiranimi spojinami so bile najpogostejše dimetikon in natrijev poliakrilat, med drugimi pa tudi polisorbitat. Največ neustreznih izdelkov je bilo najdenih v kategorijah mask, krem in dezodorantov. Pomembno pa je poudariti, da so bili vsi izdelki namenjeni dojenčkom in malim otrokom brez mikroplastike. Med proizvajalci pa so izstopali Garnier (4 od 8), Max Factor (4 od 10) in L'Occitane (6 od 16) (36).

Pregled vsebnosti mikroplastičnih kroglic v zobnih pastah v Sloveniji so leta 2020 prav tako izvedli tudi v diplomskem delu. V slovenskih drogerijah so analizirali 200 naključno izbranih zobnih past, od tega 162 za odrasle (81 %) in 38 otroških (19 %), kjer so ugotovili, da 104 zobnih past (52 %) vsebuje mikroplastiko, medtem ko jih 96 (48 %) ne vsebuje (37).

## 4 MATERIALI IN METODE

Pri eksperimentalnem delu smo uporabili 3 različne vrste medu:

### Akacijev med

Zelo svetlo jantarjeve barve, skoraj brezbarven, z nežnim sladkim vonjem in blagim okusom, v katerem se zazna le sladkost, ki je srednje do močno intenzivna. Ima značilno nizko električno prevodnost, najnižjo med vsemi tipi v Sloveniji, najnižja pa je prav tako tudi njegova pH vrednost. Akacijev med zelo redko kristalizira. Nepasteriziran je še posebej primeren za dojenčke in majhne otroke, še posebej pri težavah z dihalnimi sluznicami, želodcem in črevesjem. Z visoko vsebnostjo fruktoze ga lahko uživajo tudi diabetiki v majhnih odmerkih. Deluje tudi kot blago odvajalno sredstvo (13, 16).

### Cvetlični med

Čebele ustvarjajo najpogostejše vrste medu iz raznolikih pelodov, kar jasno kaže na mnogocvetni izvor. Mogoče so različne mešanice, ki so odvisne od značilnih cvetočih rastlin na območjih paše čebel. Običajno je svetle barve in ima močno sladek okus s pekočim pookusom ter rahlo kislostjo. Električna prevodnost tega medu mora biti nižja od 0,8 mS/cm, med pa lahko precej hitro kristalizira (13, 16).

### Lipov med

Lipov med je lahko proizveden iz nektarja in mane, kar mu daje lastnosti, tako nektarnih, kot tudi maninih medov. Je svetlo rumene do zelenkaste ali rjave barve ter nosi prijeten in izrazit vonj po lipovih cvetovih. Prevodnost tega tipa medu ni omejena; lahko je nizka, od 0,5 mS/cm naprej, lahko pa tudi visoka, več kot 1,0 mS/cm. Poleg svoje barvne in aromatične palete lipov med izkazuje pomirjevalne lastnosti in blaži krče. Priporočljiv je zlasti pri soočanju z živčnim nemirjem ter težavami s spanjem. Za lipov med je značilno, da je zelo osvežilen ter da po vonju in okusu spominja na lipovo cvetje. Ta tip medu zelo hitro kristalizira in tvori velike kristale (13, 16).

Izvedba eksperimentalnega dela je temeljila na treh mednarodnih raziskavah, kjer so ugotavljali prisotnost mikroplastike v živilih, tudi v medu. Najprej smo poiskali znanstvene članke, ki obravnavajo tematiko mikroplastike v medu, ter na podlagi uporabljenih eksperimentalnih metodologij izbrali 3, ki so imele metodologijo zelo dobro opisano, a so se postopki med seboj v nekaterih korakih razlikovali. Želeli smo najti metodo oz. optimizirati postopke, ki se v našem laboratoriju z našim materialom najbolje obnesejo.

Ti trije članki so bili:

1. M1: »Microplastics in honey, beer, milk and refreshments in Ecuador as emerging contaminants« (Diaz-Basantés in sod., 2020),
2. M2: »Origin of sythetic particles in honey« (Liebezeit in sod., 2015),
3. M3: »Non-pollen particles in honey and sugar« (Liebezeit in sod., 2013).

Naše eksperimentalno delo smo izvedli v dveh delih; najprej smo preizkusili izbrane 3 metode za izolacijo plastike iz medu (Poglavje 4.1.) ter nato najbolj optimalno metodo izolacije uporabili za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v različnih vrstah naravnega in industrijsko predelanega medu (Poglavje 4.2.).

Pred pričetkom dela smo vsak vzorec medu posebej označili glede na način pridelave in vrsto, da med izvajanjem analiz ni prišlo do zmede. Označbe so nakazane v Preglednici 3.

Preglednica 3: Označbe posameznih vzorcev medu

	Naraven med	Industrijski med
Akacijev med	<b>An</b>	<b>Ai</b>
Cvetlični med	<b>Cn</b>	<b>Ci</b>
Lipov med	<b>Ln</b>	<b>Li</b>

#### 4.1 Preizkus metod za izolacijo mikroplastike iz vzorcev medu

Za preizkus metod smo uporabili vzorec industrijsko predelanega cvetličnega medu (Ci). Med je bil znamke trgovine Lidl in madžarskega porekla. Naredili smo vzorca po M1 in M2 ter pri M1 še 4 dodatne vzorce, pri M2 pa en dodaten vzorec, kjer smo postopke adaptirali, da smo videli, kaj bi nam za nadaljnje delo bilo najbolj učinkovito.

Preglednica 4: Opis vzorcev narejenih z M1 in M2

	Metoda	Variacija
Vzorec Ci1	M1	začetni del po M1, vakuumaska filtracija s filtrom s porami, premera 0,8 µm
Vzorec Ci1A	M1	po M1, le da smo po oksidaciji organski snovi raztopino dali skozi 200 µm jekleno sito
Vzorec Ci1B	M1	/
Vzorec Ci1C	M1	vzeli etanol, v katerem smo ultrazvoku izpostavljali filter vzorca Ci1A eno uro.
Vzorec Ci1D	M1	vzeli etanol, v katerem smo ultrazvoku izpostavljali filter vzorca Ci1B eno uro.
Vzorec Ci2	M2	/
Vzorec Ci2A	M2	vzeli 63 µm jekleno sito ter segrevali destilirano vodo in vzorec medu.

##### **Metoda 1 (M1)**

Potek dela smo povzeli po raziskavi Diaz-Basantes in sod. (2020):

1. 450 mL vzorca medu smo razredčili s 450 mL destilirane vode.
2. Dobljeno raztopino smo presejali skozi 450 µm jekleno sito (LLG) v pladenj in ga počasi spirali s 500 mL destilirane vode.



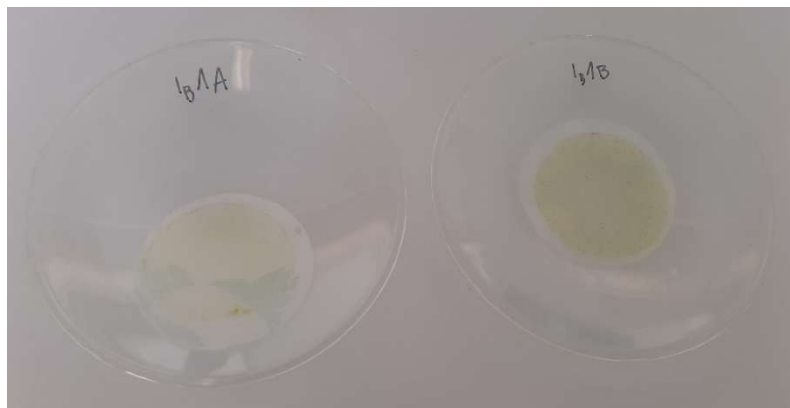
Slika 3: Spiranje raztopine skozi jekleno sito (Foto: K. Hohkraut, 2024)

3. Filtrirano raztopino smo prenesli v dve 1 L čaši in v vsako dodali po 100 mL 30 % vodikovega peroksida (LabExpert), nato pa pustili 72 ur na sobni temperaturi, da so organske snovi v raztopini oksidirale.
4. Oksidirani raztopini smo v vodni kopeli segrevali do 55 °C, nato pa smo eno raztopino presejali skozi 200 µm jekleno sito (LLG) - vzorec A, drugo pa skozi 450 µm jekleno sito (LLG) - vzorec B.
5. Obe raztopini smo nato še vakuumsko filtrirali skozi 47 mm najlonski membrani s porami, premera 10 µm (Merck Milipore).
6. Filtra smo potopili v 25 mL etanola in ju 1 uro izpostavljali ultrazvoku (Slika 4).
7. Po eni uri smo filtra potopili še v 25 mL destilirane vode in za 15 minut ponovno izpostavili ultrazvoku, da so delci na filterih odstopili v vodo.



Slika 4: Ultrazvočno izpostavljanje filtrov v etanolu (Foto: K. Hohkraut, 2024)

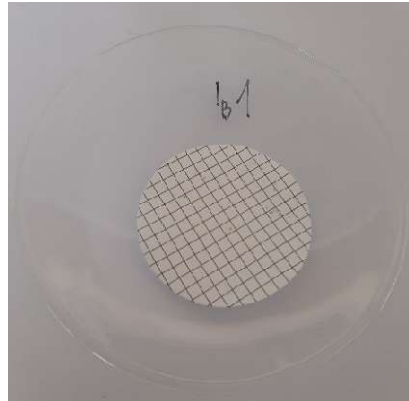
8. Vse štiri dobljene tekočine (dve z etanolom in dve z destilirano vodo), obdelane z ultrazvokom, smo vakuumsko filtrirali skozi 47 mm PTFE (politetrafluoroetilensko) membrano s porami, premera 1 µm (Merck Milipore).
9. Filtre smo na koncu obilno spirali s 500 mL destilirane vode, jih shranili v petrijevke, namočili z etanolom ter pustili, da so se posušili na sobni temperaturi (Slika 5).



Slika 5: Sušenje filtrov Ci1A in Ci1B na sobni temperaturi (Foto: K. Hohkraut, 2024)

Naredili smo še dodatno, poskusno paralelko, kjer smo eksperiment izvedli po raziskavi (Liebezeit in sod., 2013) – M3:

1. V petrijevko smo z destilirano vodo sprali material, ki je pri izvajanju M1 (Diaz-Basantes, 2020) ostal na 450  $\mu\text{m}$  jeklenem situ (LLG) in dodali 20 mL 30 % vodikovega peroksida (LabExpert) ter pustili oksidirati 72 ur, na sobni temperaturi, da so se organske snovi razgradile.
2. Vzorec smo vakuumsko filtrirali skozi 47 mm nitrocelulozno membrano s porami, premera 0,8  $\mu\text{m}$  (LLG Sartorius).
3. Filter smo nato segrevali na 75 °C petnajst minut v sušilniku, da smo iz filtra odstranili morebitne ostanke voska in ga shranili v petrijevko (Slika 6).



Slika 6: Posušen filter poskusne paralelke (Ci1) (Foto: K. Hohkraut, 2024)

### **Metoda 2 (M2)**

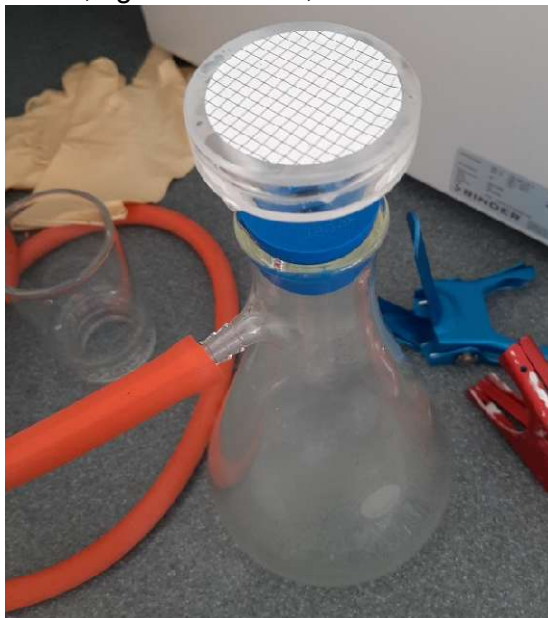
Potek dela smo povzeli po raziskavi Liebezeit in sod. (2015):

1. 450 mL vzorca medu smo razredčili s 450 mL destilirane vode, ki smo jo predhodno segreli na 40 °C in raztopino presejali skozi 200  $\mu\text{m}$  jekleno sito (LLG) (Slika 7).



Slika 7: Priprava raztopine medu in vode za presejevanje (Foto: K. Hohkraut, 2024)

2. Material, ki je ostal na situ, smo počasi spirali s 50 mL 30 % vodikovega peroksida (LabExpert) v petrijevko in 72 ur pustili na sobni temperaturi, da so organske snovi oksidirale.
3. Oksidirano raztopino smo vakuumsko filtrirali skozi 47 mm nitrocelulozno membrano s porami, premera 0,8  $\mu\text{m}$  (LLG Sartorius) (Slika 8) ter po manjših količinah večkrat spirali z destilirano vodo, ogreto na 90 °C, da smo odstranili morebitne ostanke voska.



Slika 8: Vakuumska filtracija oksidirane raztopine - M2 (Foto: K. Hohkraut, 2024)

4. Filter smo na urnem steklu posušili pri sobni temperaturi, nato pa ga shranili v petrijevko, da ni prišlo do kontaminacije.

Ker je postopek potekal učinkovito, smo se odločili, da preizkusimo enak postopek tudi s sitom z manjšimi režami:

1. 450 mL vzorca medu in 450 mL dest. vode smo 15 minut segrevali na 40 °C (Slika 9).
2. Raztopino smo nato presejali skozi 63  $\mu\text{m}$  jekleno sito (LLG).



Slika 9: Segrevanje vzorca medu in vode za pripravo raztopine (Foto: K. Hohkraut, 2024)

3. Material, ki je ostal na situ, smo spirali s 50 mL 30 % vodikovega peroksida (LabExpert) v petrijevko in prav tako pustili na sobni temperaturi 72 ur, da je prišlo do oksidacije organskih snovi.
4. Oksidirano raztopino smo vakuumsko filtrirali skozi 47 mm nitrocelulozno membrano s porami premera 0,8  $\mu\text{m}$  (LLG Sartorius) ter po manjših količinah večkrat spirali z 90 °C destilirano vodo, da smo odstranili morebitne ostanke voska.
5. Filter smo na urnem steklu posušili pri sobni temperaturi, nato pa ga shranili v petrijevko, da ni prišlo do kontaminacije (Slika 10).



Slika 10: Sušenje filtrov vzorcev Ci2 in Ci2A na sobni temperaturi (Foto: K. Hohkraut, 2024)

### **Metoda 3 (M3)**

Potek dela smo povzeli po raziskavi Liebezeit in sod. (2013):

1. 450 mL vzorca medu smo 15 minut segrevali na 40 °C, da se je utekočnil in ga presejali skozi 200  $\mu\text{m}$  jekleno sito (LLG).

Ker je že med prelivanjem, segrevanjem in presajanjem prišlo do večjih izgub, postopka ni bilo več smiselno nadaljevati, zato smo ga opustili.

Po končanih analizah smo izvedli pregled vsebine filtrov z uporabo stereolupe (Euromex) pod 2-kratno povečavo in kamere Dino-Eye (Dino-Lite). Uporabili smo program DinoCapture 2.0 (Dino-Lite), ki nam je omogočil natančen pregled vsebine vsakega filtra in prisotnost delcev, prav tako pa smo z njim sproti temeljito dokumentirali naša opazovanja. Program je prispeval k kakovostnemu in temeljitemu pregledu filtrov, kar je bilo ključnega pomena za naše nadaljnje delo (Slika 11).

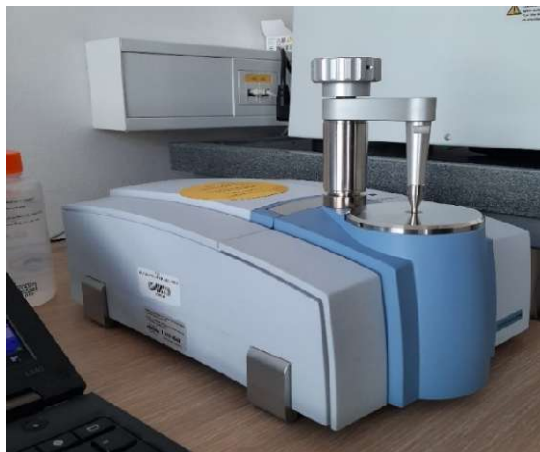


Slika 11: Pregled filtrov s stereolupo in DinoCapture programom (Foto: K. Hohkraut, 2024)

Hohkraut K.: Preizkus metod za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v vzorcih naravnega in industrijsko predelanega medu, FVO, 2024

Na koncu smo najdene potencialne delce mikroplastike poskusili identificirati s FTIR spektroskopijo – z infrardečo spektroskopijo s Fourierjevo transformacijo (Sliki 10 in 11). Analiza temelji na infrardeči oz. vibracijski spektroskopiji, ki izkorišča interakcijo med infrardečim sevanjem in snovjo. Ta tehnika se uporablja za indetifikacijo in analizo kemijske sestave snovi na osnovi njihove absorpcije infrardečega sevanja.

Slabost takšnega spektrometra je ta, da v primerjavi s FTIR mikroskopom ne moremo kemijsko identificirati delce oziroma vlakna, ki so manjša kot 1 mm.



Slika 12: FTIR spektrometer (Foto: K. Hohkraut, 2024)

#### 4.2 Preizkus izbrane metode izolacije mikroplastike na različnih vrstah naravnega in industrijsko predelanega medu

Na podlagi rezultatov, dobljenih s preizkusom metod za izolacijo mikroplastike iz vzorcev medu, kjer smo preizkušali 3 različne metode in 2 dodatni poskusni variaciji metod, smo se odločili, da eksperimentalni del nadaljujemo z Metodo 2, povzeto po Liebezeit in sod. (2015), pri kateri smo segrevali, tako destilirano vodo, kot tudi vzorce medu ter uporabili 63  $\mu\text{m}$  jekleno sito (LLG).

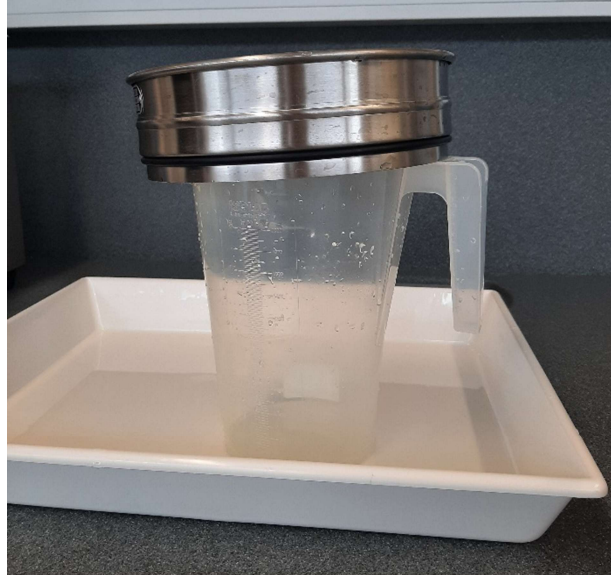
Uporabili smo nareven akacijev med (An), cvetlični med (n) in lipov med (Ln) (Kmetija Pr' Pirnat) (Slika 13).



Slika 13: Vzorci naravnega medu (Foto: K. Hohkraut, 2024)

Metodo smo izvedli za vsak vzorec posebej, in sicer:

1. 900 g vzorca medu in 900 mL destilirane vode smo zmešali in segrevali 15 minut do 40 °C ter naredili raztopino.
2. Raztopino smo dali skozi 63 µm jekleno sito (LLG) in sito obilno sprali s 500 mL destilirane vode (Slika 14).



Slika 14: Presajanje raztopine vzorca medu skozi 63 mikronsko sito (Foto: K. Hohkraut, 2024)

3. Material, ki je ostal na situ smo, v petrijevko sprali s 50 mL 30 % vodikovega peroksida (LabExpert) in na sobni temperaturi pustili 72 ur, da so organske snovi oksidirale.
4. Oksidirano raztopino smo prenesli v čašo in jo vakuumsko filtrirali skozi 47 mm nitrocelulozno membrano s porami, premera 0,8 µm (LLG Sartorius) (Slika 15).



Slika 15: Vakuumska filtracija oksidirane raztopine vzorca naravnega medu (Foto: K. Hohkraut, 2024)

5. Filter smo spirali z manjšimi količinami destilirane vode, segrete na 90 °C, da smo odstranili morebitne ostanke voska.
6. Filter smo pustili na sobni temperaturi, da se je posušil.
7. Na koncu smo z uporabo stereolupe (Euromex) pod 2-kratno povečavo in kamere Dino-Eye (Dino-Lite) izvedli pregled vsebine filtra. Uporabili smo program DinoCapture 2.0 (Dino-Lite), ki nam je omogočil natančen pregled vsebine vsakega filtra in prisotnost delcev. Prav tako pa smo z njim lahko sproti dokumentirali naša opazovanja (Slika 16).



Slika 16: Euromex stereolupa in Dino-Eye kamera (Foto: K. Hohkraut, 2024)

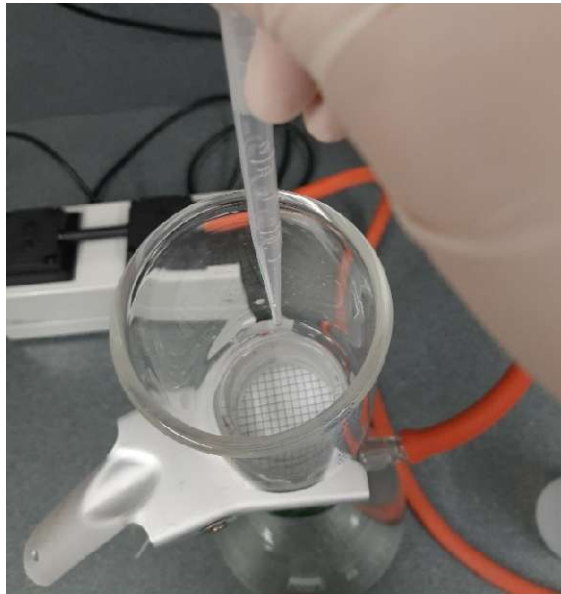
Pri vzorcih industrijsko predelanega medu smo se prav tako odločili, da izvedemo metodo, povzeto po Liebezeit in sod. (2015), kjer smo segrevali tako destilirano vodo, kot tudi vzorce medu. Uporabili pa smo 63  $\mu$ m jekleno sito (LLG).

Potencialne sintetične delce smo izolirali iz akacijevga medu (Ai) in lipovega medu (Li), znamke Medex.



Slika 17: Vzorca industrijsko predelanega medu (Foto: K. Hohkraut, 2024)

1. 900 g vzorca medu in 600 mL destilirane vode smo zmešali skupaj in segrevali 15 minut do 40 °C
2. Segreto raztopino smo presejali skozi 63 µm jekleno sito (LLG).
3. Material, ki je ostal na situ, smo spirali s 50 mL 30 % vodikovega peroksida (LabExpert) v petrijevko in na sobni temperaturi pustili 95 ur, da so organske snovi oksidirale.
4. Oksidirano raztopino smo vakuumsko filtrirali skozi 47 mm nitrocelulozno membrano s porami, premera 0,8 µm (LLG Sartorius).
5. Filter smo nato spirali z manjšimi količinami destilirane vode, segrete na 90 °C, da smo odstranili morebitne ostanke voska (Slika 18).



Slika 18: Spiranje filtra za odstranitev ostanaka voska (Foto: K. Hohkraut, 2024)

6. Filter smo pustili na sobni temperaturi, da se je posušil.
7. Na koncu smo vsebino filtra pregledali z uporabo stereolupe (Euromex) pod 2-kratno povečavo in Dino-Eye kamere (Dino-Lite). Za natančen pregled filtrov in iskanje potencialnih sintetičnih delcev pa smo uporabili tudi program DinoCapture (Dino-Lite), s katerim smo lahko tudi učinkovito dokumentirali naša opažanja (Slika 19).



Slika 19: Pregled in dokumentiranje vsebine filtrov (Foto: K. Hohkraut, 2024)

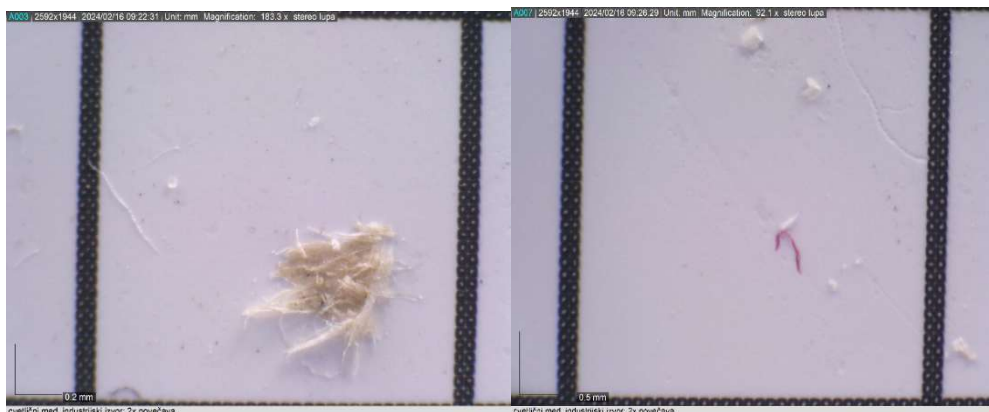
## 5 REZULTATI Z DISKUSIJO

### 5.1 Preizkus metod za izolacijo mikroplastike iz vzorcev medu

Preizkusili smo 3 različne metode za izolacijo potencialne mikroplastike iz vzorca industrijsko predelanega cvetličnega medu, znamke Lidl. Vse metode so temeljile na principu filtracije, oksidacije, sušenja, mikroskopiranja in FTIR (infrardeča spektroskopija s Fourierjevo transformacijo) analize. Med postopki so bile določene razlike, za katere smo ocenili, da bi lahko vplivale na potek izolacije – npr. rokovanje z viskoznim medom, velikost sita, tip filtrov, izpostavljanje ultrazvoku in volumen vodikovega peroksida.

Pri metodi M1 (Diaz-Basantés in sod., 2020) smo na vzorcu cvetličnega medu pripravili pet različnih vzorcev po M1 in adaptacijah njegovega postopka.

Vzorec Ci1 smo pripravili tako, da smo do oksidacije organski snovi vzorec pripravili po prvi metodi, končali pa smo s tretjo metodo. Izvajane metode je bilo enostavno in nezamudno, na slikah spodaj (Slika 20) pa je prikazano, kaj smo z uporabo kombinacije teh dveh metod uspeli izolirati iz vzorca medu.



Slika 20: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci1 vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024)

S slike je razvidno, da je vsebina na filtru zelo raznolika. Prisotna so tako vlakna, kot tudi različni delci. Največ je belih delcev, prisotni pa so tudi oranžni in črni delci. Vlakna so po večini bela, vmes pa je bilo tudi eno rdeče. Lepo viden pa je bil tudi malo večji delec, ki nekoliko spominja na skupek vlaken.

Vzorca Ci1A in Ci1B sta bila pripravljena po prvi metodi (Diaz-Basantes in sod., 2020). Razlikujeta se po tem, da smo vzorec Ci1A pred prvo vakuumsko filtracijo presejali skozi 200 µm sito, vzorec Ci1B pa skozi 450 µm.



Slika 21: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci1A vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024)

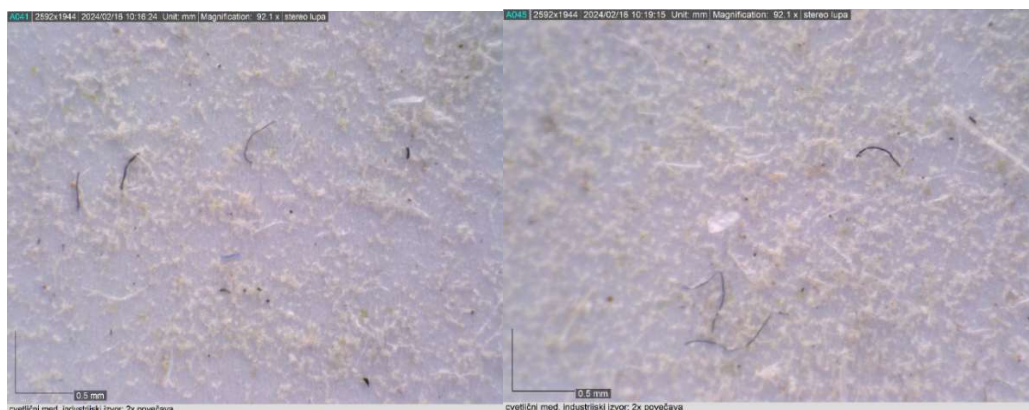


Slika 22: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci1B vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024)

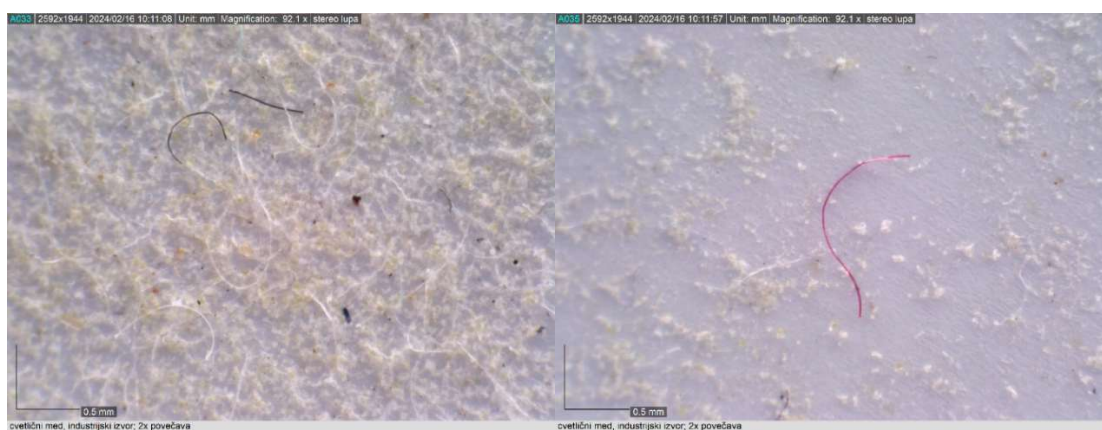
Vsebina na Ci1A in Ci1B filtru ni zelo raznolika, kot je razvidno s slik. Največ je belih vlaken in manjših oranžnih ter belih delcev, vmes pa je bilo vidno še eno modro vlakno. Pri vsebini Ci1b filtra pa najbolj prevladujejo belih delci in nekaj belih vlaken. Izstopal pa je tudi zelen delec ter 3 vlakna rdeče, modre in rjave barve.

Hohkraut K.: Preizkus metod za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v vzorcih naravnega in industrijsko predelanega medu, FVO, 2024

Vzorca Ci1C in Ci1D sta bila pripravljena po metodi M1, poleg vzorcev Ci1A in Ci1B, le da smo tu uporabili še etanol, kjer smo ultrazvoku izpostavljali filtre iz prve vakuumske filtracije.



Slika 23: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci1C vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024)



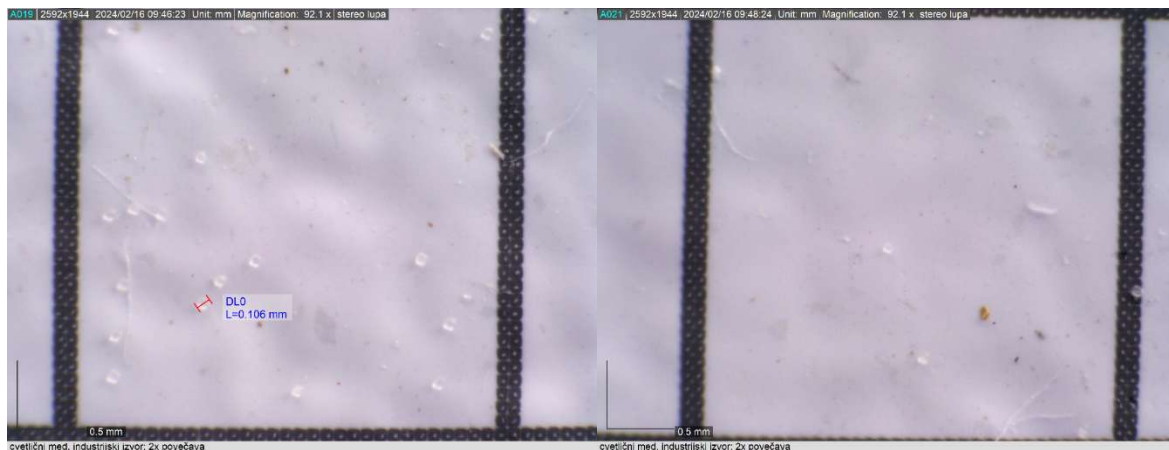
Slika 24: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci1D vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024)

S slike je razvidno, da pri vzorcu Ci1C prevladujejo bela vlakna in manjši trdni beli delci, prisotna pa so tudi črna in modra vlakna. Tudi pri Ci1D so najbolj prisotna bela vlakna in manjši trdni beli delci. Vidnih pa je bilo tudi nekaj črnih delcev in vlaken ter eno rdeče vlakno.

Pri metodi M2 smo iz cvetličnega medu pripravili dva vzorca; prvi je bil po postopku M2, pri drugem pa smo segrevali tako destilirano vodo, kot tudi vzorec ter uporabili 63  $\mu$ m sito.



Slika 25: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci2 vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024)



Slika 26: 2-kratna povečava vsebine filtra Ci2A vzorca (Foto: K. Hohkraut, 2024)

Z zgornjih slik je razvidno, da je pri vzorcu Ci2 bilo največ prisotnih belih vlaken in večjih belih delcev. Prisotnih je bilo tudi kar nekaj črnih vlaken, nekaj turkiznih vlaken in rjav delec. Pri vzorcu Ci2A bilo največ prisotnih veliko okroglih prozornih delcev, poleg tega pa tudi nekaj belih vlaken in nekaj oranžnih oziroma rjavih delcev.

Pri delu po tretji metodi (Liebezeit in sod., 2013) je že pri pripravi vzorca in presajanju prišlo do prevelikih izgub, zaradi česar smo metodo opustili.

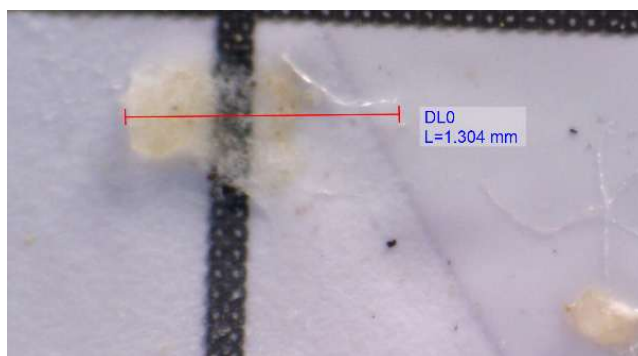
FTIR analizo smo lahko opravljali le z delci, večjimi od 1 mm, za kar sta bila primerna le dva vzorca:

- prvi iz prve metode, v kombinaciji s tretjo (Ci1) (Slika 27),
- drugi delec pa iz druge metode (Ci2) (Slika 28).

Noben izmed obeh delcev, ki smo jih analizirali s FTIR spektrometrom, ni bil polimernega izvora. Prvi delec je bil zaznan kot »starch«, pri čemer lahko sklepamo, da je šlo le za celulozo. Drugi delec pa je bil 95 % v korelaciji s »carnauba wax«, se pravi karnauba voskom.



Slika 27: Delec vzorca Ci1, ki smo ga izolirali z variiranjem metode M1 (Foto: K. Hohkraut, 2024)



Slika 28: Delec vzorca Ci2, ki smo ga izolirali z M2 (Foto: K. Hohkraut, 2024)

Glede na dobljene rezultate pri preizkusu metod se nam je zdelo najbolj smiselno, da nadaljnje vzorce analiziramo le z drugim postopkom, kjer bi uporabili 63  $\mu\text{m}$  jekleno sito, da imamo večjo možnost zajeti delce mikroplastike, dovolj velike za FTIR-AR analizo. Ob koncu preizkusa metod smo glavna opažanja praktičnih izvedb povzeli v Preglednici 5.

Preglednica 5: Primerjava praktične izvedbe metod za izolacijo mikroplastike v medu

	<b>Metoda 1</b>	<b>Metoda 2</b>	<b>Metoda 3</b>
<b>Hitrost eksperimenta</b>	Priprava vzorca za oksidacijo: 20 minut Oksidacija: 72 ur Zaključek: 2 uri	Priprava vzorca za oksidacijo: 30 minut Oksidacija: 72 ur Zaključek: 30 minut	Izvedbo postopka smo zaključili že pri presajanju
<b>Praktičnost postopka</b>	Manj praktična metoda; koraki so kompleksni in zamudni	Praktična metoda; nezahtevni koraki, ki nam dajo dobre rezultate	Postopek ni praktičen
<b>Izgube med postopki</b>	Možne so izgube pri presajanju in pri zaključku postopka*	Možne so minimalne izgube pri presajanju in spiranju sita	Izgube že pri presajanju viskozne vzorca medu
<b>Število vseh potencialnih mikroplastičnih delcev</b>	<b>39</b> potencialnih mikroplastičnih delcev	<b>65 in več</b> potencialnih mikroplastičnih delcev	/
<b>Število vlaken</b>	cca. <b>33</b> vlaken	<b>40 in več</b> vlaken	/
<b>Število delcev</b>	<b>6</b> delcev	<b>25</b> delcev	
<b>Število FTIR analiz</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	/

\* do izgub lahko pride že pri presajanju skozi sita po oksidaciji, vzorce pa smo nato vakuumsko filtrirali in jih uro in 15 minut izpostavljali ultrazvoku (tu so lahko potencialni mikroplastični delci ostali na filtru), vodo smo nato po ultrazvoku še vakuumsko filtrirali.

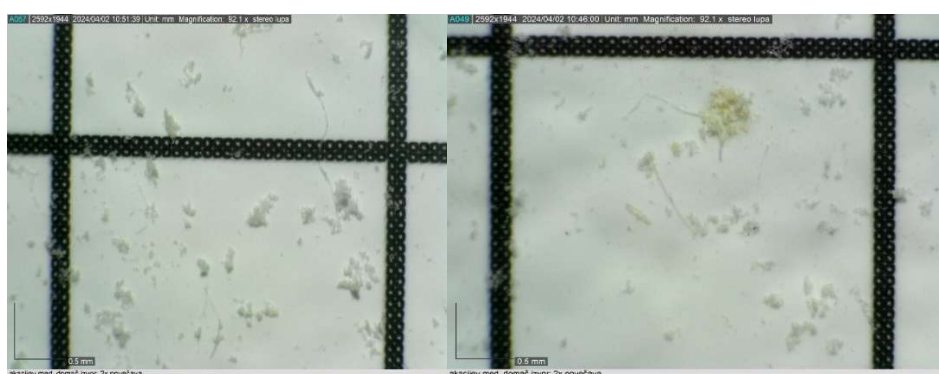
## 5.2 Preizkus izbrane metode izolacije mikroplastike na različnih vrstah naravnega in industrijsko predelanega medu

Za izolacijo mikroplastike iz **naravnega medu** smo uporabili med lokalnega proizvajalca, Kmetije Pr' Pirnat. Eksperiment smo izvedli po drugi metodi M2 (Liebezeit in sod., 2015), ki je temeljila na principu filtracije, oksidacije, sušenja in mikroskopiranja.

Vzorci smo poimenovali:

- Akacijev med – An
- Cvetlični med – Cn
- Lipov med – Ln

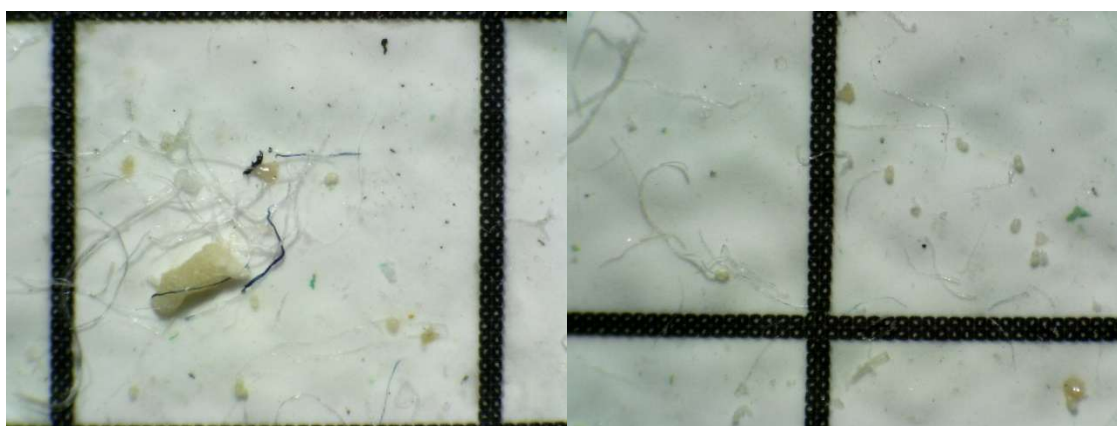
Na spodnji sliki je na mikroskopskih slikah prikazano, kaj smo z uporabo druge metode uspeli izolirati iz vzorca akacijevga medu – An (Slika 29).



Slika 29: Vsebina filtra naravnega akacijevga medu - An (Foto: K. Hohkraut, 2024)

S slike je razvidno, da so na An filtru v večini le beli, potencialno sintetični delci in nekaj belih vlaken. Poleg tega je na filtru tudi malo večji rumen delec, za katerega lahko sklepamo, da je ostanek voska.

Na spodnji sliki je na mikroskopskih slikah prikazana vsebina filtra, ki smo jo z uporabo druge metode uspeli izolirati iz vzorca cvetličnega medu (Slika 30).

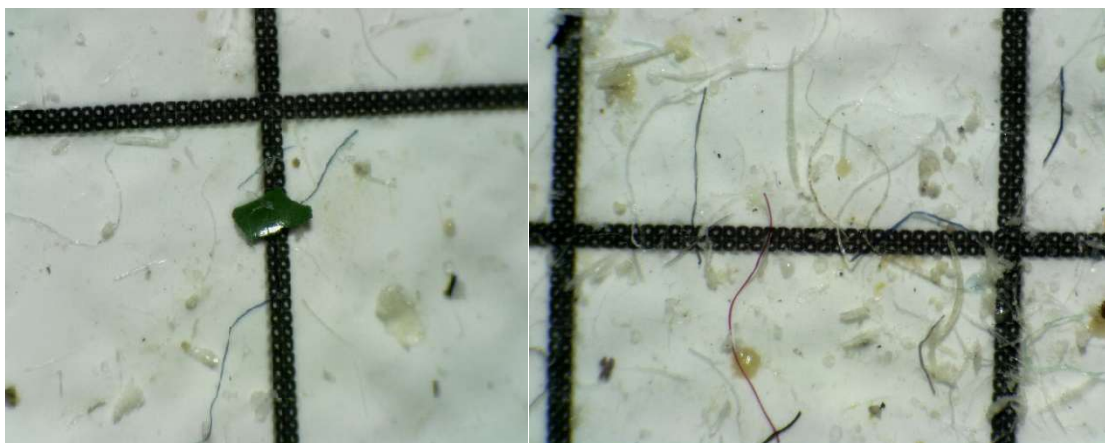


Slika 30: Vsebina filtra naravnega cvetličnega medu - Cn (Foto: K. Hohkraut, 2024)

Hohkraut K.: Preizkus metod za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v vzorcih naravnega in industrijsko predelanega medu, FVO, 2024

Na sliki je vidno, da je vsebina filtra zelo raznolika. V večini so na filtru bela vlakna in malo manj belih delcev, med drugim pa tudi nekaj črnih in zelenih delcev ter modrih vlaken. Kot vidimo, pa je prisoten tudi malo večji delec, ki je potencialno lahko sintetičnega izvora.

Na sliki spodaj je prikazano, kaj smo z uporabo druge metode uspeli izolirati iz vzorca lipovega medu (Slika 31).



Slika 31: Vsebina filtra naravnega lipovega medu - Ln (Foto: K. Hohkraut, 2024)

Na sliki lahko opazimo, da je vsebina zelo raznolika. Veliko je belih in modrih vlaken, vmes tudi kakšno rdeče vlakno. Veliko je tudi belih delcev in nekaj črnih, prav tako pa tudi eden zelen delec, ki je potencialna mikroplastika. Rumeni delci, vidni na sliki, pa so po vsej verjetnosti ostanki voska.

Zelen delec je sicer bil primerne velikosti za izvedbo FTIR analize, vendar ko smo ga želeli prenesti na FTIR spektrometer, se je ta pod pritiskom pincete zdrobil.

Rezultati analize naravnega medu so podani v preglednici:

Preglednica 6: Povzetek rezultatov analiz naravnega medu

NARAVNI MED	Oznaka	Število vlaken	Število delcev
Akacijev med	<b>An</b>	<b>8</b>	<b>30</b> in več
Cvetlični med	<b>Cn</b>	<b>20</b> in več	<b>40</b> in več
Lipov med	<b>Ln</b>	<b>35</b>	<b>20</b> in več

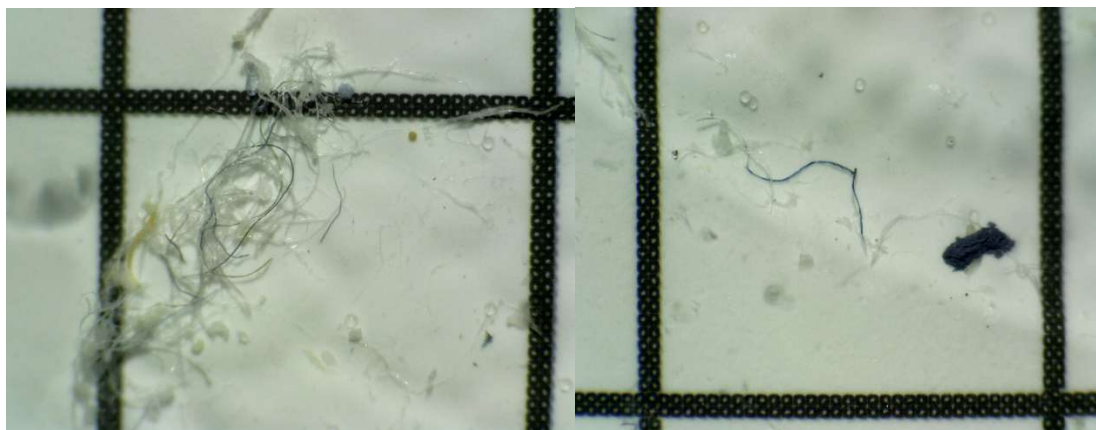
Za izolacijo mikroplastike iz **industrijsko predelanega medu** smo uporabili akacijev in lipov med, znamke Medex. Eksperiment smo izvajali po metodi M2 (Liebezeit in sod., 2015), ki je temeljila na principu filtracije, oksidacije, sušenja in mikroskopiranja.

Vzorke smo poimenovali:

- Akacijev med – Ai
- Cvetlični med – Ci (Poglavje 4.1.)
- Lipov med – Li

Hohkraut K.: Preizkus metod za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v vzorcih naravnega in industrijsko predelanega medu, FVO, 2024

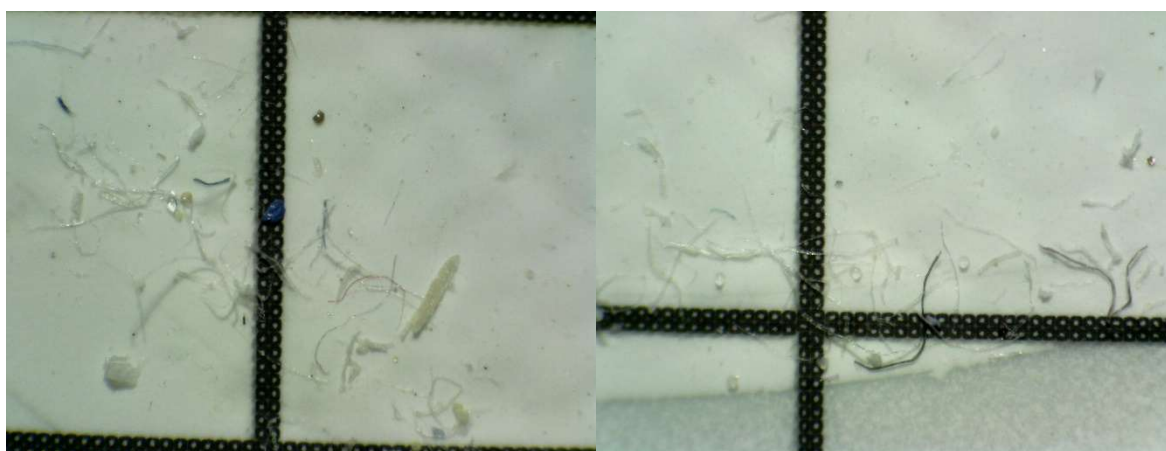
Na sliki spodaj je prikazana vsebina filtra, ki smo jo z uporabo druge metode uspeli izolirati iz akacijevega medu (Slika 32).



Slika 32: Vsebina filtra industrijsko predelanega akacijevega medu - Ai (Foto: K. Hohkraut, 2024)

Na sliki opazimo, da je največ belih vlaken in malo manj belih delcev, prisotna pa so tudi modra vlakna in rumeno vlakno. Prisoten pa je bil tudi malo večji moder delec, ki je potencialno sintetičnega izvora.

Na spodnji sliki je prikazana vsebina filtra, ki smo jo z drugo metodo uspeli izolirati iz lipovega medu (Slika 33).



Slika 33: Vsebina filtra industrijsko predelanega lipovega medu - Li (Foto: K. Hohkraut, 2024)

Na sliki je vidno, da je na filtru največ prisotnih belih vlaken in nekaj modrih vlaken, opazimo pa tudi nekaj malo večjih belih delcev in črno vlakno.

Rezultati analize industrijsko predelanega medu so podani v Preglednici 7:

*Preglednica 7: Povzetek rezultatov analiz industrijsko predelanega medu*

INDUSTRIJSKI MED	Oznaka	Vlakna	Delci
Akacijev med	<b>Ai</b>	<b>30</b> in več	<b>27</b>
Cvetlični med	<b>Ci</b>	<b>6</b>	<b>39</b>
Lipov med	<b>Li</b>	<b>20</b> in več	<b>25</b>

Na koncu smo rezultate za lažjo primerjavo združili in povzeli še v Preglednici 8:

*Preglednica 8: Povzetek celotnih rezultatov analiz naravnega in industrijsko predelanega medu*

	<b>Št. delcev</b>	<b>Št. vseh vlaken</b>	<b>Št. barvnih vlaken</b>	<b>Št. vse potencialne mikroplastike</b>	<b>Število FTIR analiz</b>
<b>Akacijev (N)</b>	30	6	/	36	/
<b>Cvetlični (N)</b>	26	30	3	56	/
<b>Lipov (N)</b>	23	30	8	53	/
<b>Akacijev (I)</b>	17	30	5	47	/
<b>Cvetlični (I)</b>	39	6	/	45	1
<b>Lipov (I)</b>	20	25	6	45	/

Ob koncu testiranja je potrebno poudariti možnost kontaminacije vzorcev med postopki izolacije potencialne mikroplastike, ki je ni mogoče povsem izključiti. Kljub uporabi steklenega in jeklenega inventarja, kot so stekleni lijaki, jeklene pincete in posode ter skrbnim ukrepom za zagotavljanje higiene in čistoče, lahko med samimi eksperimenti pride do vnosa neželenih delcev v vzorce. Mikroplastika in mikrovlakna so pogosto prisotna v zraku, tudi v zaprtih prostorih, kjer se lahko prenašajo z zračnim tokom ali usedajo na različne površine.

## 6 SKLEPI

Glavni cilj diplomskega dela je bil preizkusiti in oceniti različne metode za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v vzorcih naravnega in industrijsko predelanega medu. Želeli smo izbrati učinkovito in zanesljivo metodo za izolacijo in identifikacijo mikroplastičnih delcev, kar bo prispevalo k boljšemu razumevanju stopnje onesnaženosti medu s mikroplastiko. Poleg tega želimo z delom ozaveščati javnost o problematiki mikroplastike v živilih ter spodbuditi stroko k iskanju trajnostnih rešitev pri pridelavi in pakiranju medu.

Diplomsko delo temelji na preizkusu različnih metod, ki smo jih izbrali iz že obstoječih študij o identifikaciji mikroplastike v medu. Izbrane metode – M1 (Diaz-Basantes in sod., 2020), M2 (Liebezeit in sod., 2015) ter M3 (Liebezeit in sod., 2013) smo preizkusili z vzorcem industrijsko predelanega cvetličnega medu, znamke Lidl. Glede na dobljene rezultate, smo delo nadaljevali z drugo metodo (M2 (Liebezeit in sod., 2015)), ki je temeljila na filtraciji, oksidaciji, sušenju in mikroskopiranju. Nato smo poskušali iz naravnega akacijevega, cvetličnega in lipovega medu ter industrijsko predelanega akacijevega in lipovega medu izolirati sintetične delce.

Na podlagi rezultatov preizkusa metod, lahko ovrednotimo hipotezi, ki smo si ju pred pričetkom dela zastavili.

### **Hipoteza 1: Najbolj učinkovita metoda za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v medu je metoda vakuumske filtracije, z uporabo filtra s porami premera 8 $\mu$ m.**

Rezultati raziskave so pokazali, da je metoda vakuumske filtracije z uporabo filtra s porami 8  $\mu$ m najbolj primerna za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v medu. Ta metoda se je izkazala za najbolj učinkovito, saj je imela najmanj izgub, bila je najpreprostejša za izvajanje in je omogočala zaznavanje največ delcev in vlaken med testiranimi metodami, to je 25 potencialnih mikroplastičnih delcev in 40 potencialnih sintetičnih vlaken, kar potrjuje, da je ta metoda najučinkovitejša za tovrstno analizo. Na podlagi teh ugotovitev lahko potrdimo prvo hipotezo.

### **Hipoteza 2: Način pridelave ne vpliva na prisotnost mikroplastike v medu, saj je mikroplastika prisotna tako v naravnem kot tudi industrijsko predelanem medu.**

Analiza vzorcev naravnega in industrijsko predelanega medu je pokazala, da so delci in vlakna prisotni v obeh vrstah medu, kar nakazuje na prisotnost mikroplastičnih snovi v obeh vrstah medu. To potrjuje, da način pridelave medu ne vpliva na prisotnost mikroplastike, kar pomeni, da je problematika mikroplastike v medu prisotna ne glede na način pridelave. Vendar pa je treba poudariti, da zaradi velikosti delcev nismo mogli izvesti nadaljnje FTIR analize, zato ne moremo z gotovostjo potrditi, da so vsi zaznani delci sintetičnega izvora. Kljub temu lahko drugo hipotezo potrdimo na podlagi zaznane prisotnosti potencialnih mikroplastičnih delcev in vlaken v obeh vrstah medu, predvsem na osnovi barvnih vlaken, ki so v literaturi navedeni kot največkrat prisotna sintetična vlakna v naravi. Poleg tega pa smo na podlagi mikroskopskega pregleda vlaken zaznali njihov precej nenaraven izgled.

Naši rezultati kažejo, da je problematika mikroplastike v medu prisotna in zahteva nadaljnje raziskave ter večjo ozaveščenost javnosti. Pomembno je, da se razvijejo in implementirajo strožji standardi in smernice za proizvodnjo, pakiranje in nadzor kakovosti medu, da se zmanjša tveganje kontaminacije z mikroplastiko. Priporočamo tudi nadaljnje raziskave o vplivih mikroplastike na zdravje ljudi in preučevanje možnosti uporabe alternativnih materialov za embalažo, ki bi zmanjšali tveganje za kontaminacijo medu.

Hohkraut K.: Preizkus metod za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v vzorcih naravnega in industrijsko predelanega medu, FVO, 2024

Na podlagi naših ugotovitev lahko potrdimo, da je prisotnost mikroplastike v medu pogost okoljski problem, ki se ga v Sloveniji premalo zavedamo. Zavedanje o resnosti problematike mikroplastike in njenega vpliva na okolje ter zdravje ljudi je ključnega pomena za zaščito prihodnjih generacij. Zato je nujno, da spremenimo miselnost in se odločimo za bolj trajnostne in okolju prijazne alternative, pri čemer je pomembno, da smo dober vzgled mlajšim generacijam.

## 7 POVZETEK

V današnjem svetu je plastika postala nepogrešljiv del našega življenja. Zaradi široke uporabnosti in priročnosti se njena uporaba vsako leto povečuje, kar vodi do hitrega kopičenja plastičnih odpadkov, ki predstavljajo eno najhitreje rastočih oblik antropogenega onesnaževanja v okolju. V naravi se plastika ne razgrajuje popolnoma, ampak razpada na vedno manjše delce, imenovane mikroplastika. Mikroplastika so majhni plastični delci, veliki do 5 mm, ki zaradi svoje majhnosti predstavljajo resno okoljsko grožnjo, saj se nahajajo v vseh ekosistemih. Ti delci ogrožajo živali, zlasti vodne organizme, in prek prehranjevalne verige vstopajo tudi v našo prehrano. Prisotnost mikroplastike v medu predstavlja potencialno tveganje za zdravje potrošnikov, saj lahko ti delci vstopijo v človeško telo in povzročijo različne zdravstvene težave.

V diplomskem delu smo se posvetili raziskovanju mikroplastike v naravnem in industrijsko predelanem medu, s poudarkom na testiranju različnih metod za izolacijo potencialnih mikroplastičnih delcev iz medu.

Analizirali smo vzorce treh različnih vrst medu (akacijevega, cvetličnega in lipovega) naravne in industrijske pridelave. Na začetku smo s industrijsko predelanim medom preizkusili tri različne metode ter se kasneje odločili za nadaljevanje z eno metodo, ki temelji na filtraciji in oksidaciji. Dobljene rezultate smo nato preverili in zajeli z mikroskopom. Rezultati analiz so pokazali, da je metoda vakuumske filtracije z uporabo filtra s porami 8 µm najbolj primerna za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v medu. Ta metoda se je izkazala za najbolj učinkovito, saj je imela najmanj izgub, bila je najpreprostejša za izvajanje in je omogočala zaznavanje največjega števila potencialnih delcev. Metoda je omogočila zaznavanje 25 potencialnih mikroplastičnih delcev in 40 potencialnih sintetičnih vlaken, kar potrjuje njeno učinkovitost.

Analiza vzorcev naravnega in industrijsko predelanega medu je pokazala, da je mikroplastika prisotna v obeh vrstah medu. Prisotnost potencialnih mikroplastičnih delcev smo zaznali, tako v naravnem, kot tudi v industrijsko predelanem medu, kar potrjuje, da način pridelave medu ne vpliva na prisotnost mikroplastike. Vendar je treba poudariti, da zaradi velikosti delcev ni bila mogoča nadaljnja FTIR analiza, zato ne moremo z gotovostjo potrditi, da so vsi zaznani delci sintetičnega izvora.

Naši rezultati kažejo, da je problematika mikroplastike v medu resna in zahteva nadaljnje raziskave ter večjo ozaveščenost javnosti. Pomembno je, da se razvijejo in implementirajo strožji standardi in smernice za proizvodnjo, pakiranje in nadzor kakovosti medu, da se zmanjša tveganje kontaminacije z mikroplastiko. Priporočamo tudi nadaljnje raziskave o vplivih mikroplastike na zdravje ljudi ter preučevanje možnosti uporabe alternativnih materialov za embalažo, ki bi zmanjšali tveganje za kontaminacijo medu.

## 8 SUMMARY

In today's world, plastic has become an indispensable part of our lives. Due to its wide applicability and convenience, its use increases every year, which leads to the rapid accumulation of plastic waste, which represents one of the fastest growing forms of anthropogenic pollution in the environment. In nature, plastic does not break down completely, but breaks down into smaller and smaller particles called microplastics. Microplastics are small plastic particles, up to 5 mm in size, which, due to their small size, pose a serious environmental threat, as they are found in all ecosystems. These particles endanger animals, especially aquatic organisms, and also enter our diet through the food chain. The presence of microplastics in honey poses a potential risk to the health of consumers, as these particles can enter the human body and cause various health problems.

In the thesis, we devoted ourselves to researching microplastics in natural and industrially processed honey, with an emphasis on testing different methods for isolating potential microplastic particles from honey.

We analyzed samples of three different types of honey (acacia, flower and linden) from natural and industrial production. At the beginning, we tested three different methods with industrially processed honey and later decided to continue with one method based on filtration and oxidation. The obtained results were then checked and captured with a microscope. The results of the analyzes showed that the vacuum filtration method using a filter with pores of 8  $\mu\text{m}$  is the most suitable for determining the presence of microplastics in honey. This method proved to be the most efficient, having the least losses, being the simplest to implement and allowing the detection of the largest number of potential particles. The method enabled the detection of 25 potential microplastic particles and 40 potential synthetic fibers, which confirms its effectiveness.

Analysis of samples of natural and industrially processed honey showed that microplastics are present in both types of honey. We detected the presence of potential microplastic parts in both natural and industrially processed honey, which confirms that the method of honey production does not affect the presence of microplastics. However, it should be noted that further FTIR analysis is not possible due to the size of the particles, so we cannot confirm with certainty that all detected particles are of synthetic origin.

Our results show that the problem of microplastics in honey is serious and requires further investigation research and greater public awareness. It is important that stricter standards and guidelines for the production, packaging and quality control of honey are developed and implemented to reduce the risk of microplastic contamination. We also recommend further research on the effects of microplastics on human health and studying the possibility of using alternative packaging materials that would reduce the risk of honey contamination.

## 9 LITERATURA

- [1] Allen S., Allen D., Karcalaei S., Maselli V., Walker T.R. (2022): Micro(nano)plastics sources, fate, and effects: What we know after ten years of research. *Journal of Hazardous Materials Advances*, 6.
- [2] Zavod Republike Slovenije za šolstvo. Medmrežje: <https://nak.zrss.si/okoljska-problematika-mikroplastike-viri-in-ucinki-na-organizme/> (19.11.2023).
- [3] Liebezeit G., Liebezeit E. (2013): Non-pollen particulates in honey and sugar. *Food Additives & Contaminants: Part A*, 30(12): 2136–2140.
- [4] Liebezeit G., Liebezeit E. (2015). Origin of Synthetic Particles in Honey. *Poland Journal of Food and Nutrition Sciences*, 65 (2).
- [5] Kadac-Czapska K., Knez E., Grembecka M. (2022): Food and human safety: the impact of microplastics. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*.
- [6] Liebezeit G., Liebezeit E. (2014): Synthetic particles as contaminants in German beers.
- [7] Srda. Medmrežje: <https://srda.rs/mikroplastika-i-u-medu-nasi-istrzivaci-otkrili-da-stetne-materije-dospevaju-i-u-zdrav-proizvod/> (19.11.2023).
- [8] Boucher J., Friot D. (2017). Primary microplastics in the oceans. IUCN.
- [9] Legradić, V. (2022): Kako se izogniti mikroplastiki, ko pa je ta povsod: v okolju in naših telesih (celo materinem mleku). Medmrežje: <https://www.metropolitan.si/zdravje/kako-se-izogniti-mikroplastiki-ko-pa-je-ta-ze-povsod-v-okolju-in-nasih-telesih-celo-materinem-mleku/> (19.11.2023).
- [10] Javornik, F. Kastelic, L. Kranjc, A. Mihelič, J. Senegačnik, E. Senegačnik, J. Vidmar, U. (1982). Čebelarstvo. Ljubljana, ČZP Kmečki glas.
- [11] Kozmus, P. Noč, B. Vrtačnik, K. (2017). Brez čebel ne bo življenja. Žirovnica, Beebooks.
- [12] Meglič, M. (2004). Čebelji pridelki: pridobivanje in trženje. Brdo pri Lukovici, Čebelarstva zveza Slovenije.
- [13] Pedrotti, W. (2003). Med, cvetni prah, matični mleček, propolis in strup. Ljubljana, Pisanica d.o.o.
- [14] Fleetwood, J. (2008). Med: Praktični vodnik o uporabi čudežne naravne sestavine tako pri zdravljenju, pomirjanju in začinjanju kot sladkanju in konzerviranju. Ljubljana, Učila.
- [15] ECHA. Medmrežje: <https://echa.europa.eu/hot-topics/microplastics> (15.7.2024)
- [16] Bertoncej, J. Božič, J. Goljat, A. Golob, T. Jamnik, M. Kandolf, A. Kropf, U. Meglič, M. Zdešar, P. (2008). Med: značilnosti slovenskega medu. Brdo pri Lukovici, Čebelarstva zveza Slovenije
- [17] Nacionalni inštitut za javno zdravje (NIJZ): Mikroplastika v živilih. Medmrežje: <https://nijz.si/moje-okolje/varnost-zivil/mikroplastika-v-zivilih/> (17.11.2023).
- [18] Revija Pamfil: Mikroplastika in trajnostni razvoj. Medmrežje: <https://revijapamfil.si/clanki/2021/4/27/mikroplastika-in-trajnostni-razvoj> (17.11.2023).
- [19] Plastic Europe. Medmrežje: <https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-fast-facts-2023/> (15.7.2024)

Hohkraut K.: Preizkus metod za ugotavljanje prisotnosti mikroplastike v vzorcih naravnega in industrijsko predelanega medu, FVO, 2024

[20] Kmetijsko gozdarska zbornica Slovenije (KGZS): Kaj je mikroplastika? Medmrežje: <https://www.ksda.si/novice/2018-03/kaj-je-mikroplastika> (17.11.2023).

[21] Delo: Mikroplastika - nevidni sovražnik življenja. Medmrežje: <https://old.delo.si/novice/okolje/mikroplastika-nevidni-sovraznik-zivljenja.html> (15.6.2024).

[22] Evropski parlament – Novice. Medmrežje: <https://www.europarl.europa.eu/news/sl/headlines/society/20181116STO19217/mikroplastika-izvor-vpliv-in-resitve> (19.11.2023).

[23] Uredba komisije (EU) 2023/2055. Medmrežje: <https://eur-lex.europa.eu/legal-content/SL/TXT/PDF/?uri=CELEX:32023R2055> (15.7.2024)

[24] Great Italian Food Trade: Le microplastiche nella nostra dieta. Medmrežje: <https://greatitalianfoodtrade.it/sl/salute/le-microplastiche-nella-nostra-dieta/> (17.11.2023).

[25] Neves D., Sobral P., Ferreira J.L., Pereira T. (2015): Ingestion of microplastics by commercial fish off the Portuguese coast. *Marine Pollution Bulletin*, 101 (1): 119–126.

[26] Bogdan, D., Kolerič, T., Meznarič, M., Kozjek, M., & Kovač Viršek, M. (2022). Meritve mikroodpadkov v ribah rdečeokah (*Rutilus rutilus*) v porečju reke Mure na območju Slovenije. *Acta Biologica Slovenica*, 65 (1), 80–92.

[27] Kim J.-S., Lee H.-J., Kim S.-K., Kim H.-J. (2018): Global Pattern of Microplastics (MPs) in Commercial Food-Grade Salts: Sea Salt as an Indicator of Seawater MP Pollution.

[28] Gündoğdu S. (2018): Contamination of table salts from Turkey with microplastics. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*, 35 (5): 1006–1014.

[29] Huerta Lwanga E., Mendoza Vega J., Ku Quej V., de los Angeles Chi J., Sanchez del Cid L., Chi C., Escalona Segura G., Gertsen H., Salánki T., van der Ploeg M., Koelmans A.A., Geissen V. (2017): Field evidence for transfer of plastic debris along a terrestrial food chain.

[30] Oßmann B.E., Sarau G., Holtmannspötter H., Pischetsrieder M., Christiansen S.H., Dicke W. (2018): Small-sized microplastics and pigmented particles in bottled mineral water.

[31] Diaz-Basantes M.F., Conesa J.A., Fullana A. (2020): Microplastics in Honey, Beer, Milk and Refreshments in Ecuador as Emerging Contaminants. *Sustainability*, 12 (14): 5514.

[32] Evropska komisija. Medmrežje: [https://ec.europa.eu/commission/presscorner/api/files/document/print/en/ip\\_23\\_4581/IP\\_23\\_4581\\_EN.pdf](https://ec.europa.eu/commission/presscorner/api/files/document/print/en/ip_23_4581/IP_23_4581_EN.pdf) (2.11.2024)

[33] Laglbauer B. J. L., Melo Franco-Santos R., Andreu-Cazenave M., Brunelli L., Papadatou M., Palatinus A., Grego M., Deprez T. (2014): Macrodebris and microplastics from beaches in Slovenia. *Marine Pollution Bulletin*.

[34] Gajšt T., Bizjak T., Palatinus A., Liubartseva S., Kržan A. (2016): Sea surface microplastics in Slovenian part of the Northern Adriatic. *Marine Pollution Bulletin*, 113 (1–2): 392-399.

[35] Korez Š., Gutow L., Saborowski R. (2019): Microplastics at the strandlines of Slovenian beaches. *Marine Pollution Bulletin*, 145, 334–342.

[36] EBM: Mikroplastika v kozmetiki. Medmrežje: <https://ebm.si/prispevki/mikroplastika-v-kozmetiki> (23.6.2024).

[37] Školnik Škrabe, K. (2020). Prisotnost mikroplastike v zobnih pastah v Sloveniji (Diplomsko delo). Visoka šola za varstvo okolja, Velenje.