ROYAL JELLY AND THE ROLE OF 10-HYDROXY-2-DECENOIC ACID ON HUMAN ORGANISM
MATIČNA MLIJEČ I ULOGA 10-HIDROKSI-2-DECENSKE KISELINE NA ORGANIZAM ČOVJEKA

Suzana Jahić, Arabella Musić
Biotechnical faculty University of Bihać, Luke Marjanovića bb, 77 000 Bihać
e-mail: suzanajahic2002@gmail.com

Keywords: royal jelly, functional components, 10-HDA, health effects

ABSTRACT:

Royal Jelly is a secretion from the hypofaringeal and mandibular glands of queen bees which serves as food for queen and bee larvae. It is a homogeneous, creamy white to pale-yellow color substance with a characteristic smell and an acid-sweet flavor (pH 3.5 to 4.5). Functional components of royal jelly have biological activity and are classified in this paper on macronutrients (water, proteins, lipids, carbohydrates) and micronutrients (vitamins and minerals). In the lipid fraction of royal jelly there is an unsaturated fatty acid, 10-hydroxy-2-decenoic acid (10-HDA), which is considered a criterion for authentication and quality of royal jelly and is present exclusively in royal jelly and on the basis of her presence we conclude whether if the royal jelly is forged. 10-HDA has demonstrated a variety of biological properties that have a beneficial effect on a human body such as: antimicrobial, antibacterial and anticancer activity.

Ključne riječi: matična mliječ, funkcionalne komponente, 10-HDA, zdravstveni učinci

SAŽETAK:

Matična mliječ je izlučevina hipofaringealnih i mandibularnih žlijezda koju pčele radilice koriste za ishranu matice i ličinki. To je homogena, kremasta tvar bijele do blijedožućkaste boje, sa karakterističnim mirisom i kiselo-slatkim okusom (pH 3.5- 4.5). Funkcionalne komponente matične mliječi imaju biološki aktivno djelovanje i svrstane su u ovom radu na makronutrijente (voda, proteini, lipidi, ugljikohidrati) i mikronutrijente (vitamini i minerali). U lipidnoj frakciji matične mliječi nalazi se nezasićena masna kiselina, 10-hidroksi – 2 decenska kiselina (10-HDA), koja se smatra kriterijumom za provjeru autentičnosti i kvalitete matične mliječi i prisutna je isključivo u matičnoj mliječi, te na osnovu njenog prisustva možemo zaključiti da li se radi o krivotvorenoj matičnoj mliječi. 10-HDA je pokazala niz bioloških svojstava koji imaju povoljan učinak na organizam čovjeka kao što su: antimikrobno, antibakterijsko i antikancerogeno djelovanje.

1. UVOD

Američka Akademija nauka (Food and Nutrition Board) definirala je funkcionalne namirnice kao grupu prehrambenih proizvoda koje imaju povoljan učinak, uključujući i svaku namirnicu kojoj je izmijenjen

sastav ili sastojak hrane koji može postići zdravstveni efekat van okvira onog kojeg ima tradicionalna hrana. Nakon konzumiranja funkcionalne namirnice, u digestivnom traktu se oslobađa biološki aktivno jedinjenje, koje djeluje na mjestu oslobađanja ili se resorbuje i distribuira do ciljnih tkiva, gdje će ispoljiti povoljno dejstvo. Biološki aktivno jedinjenje mora biti prisutno u funkcionalnoj namirnici u količini za koju je pokazan povoljni efekat (Miletić i sar., 2008). Matična je mliječ pčelinji proizvod s brojnim biološki aktivnim sastojcima zdrave hrane. Izlučevina je posebnih žlijezda (hipofaringealnih i mandibularnih) koju pčele radilice (*Apis mellifera L.*) koriste za hranjenje matice i ličinki. To je homogena, gusta, neprozirna i kremasta tvar, bijele do blijedožućkaste boje, karakterističnog mirisa i specifičnog kiselo-slatkog okusa (Oršolić, 2013). Osim što se koristi kao kozmetički i prehrambeno-dijetni dodatak, matična mliječ ima i biostimulativni te regenerativni učinak na ljudsko zdravlje. Spektar korisnoga djelovanja matične mliječi na oporavak organizma te prevencija mnogih nefizioloških stanja pod njenim utjecajem temelji se na značajnom hemijskom sastavu. Matična mliječ pokazuje brojne fiziološke i farmakološke učinke kao što su: vazodilatacija i sniženje krvnog tlaka, sniženje vrijednosti holesterola, usporavanje procesa starenja, imunomodulacijski te protuupalni, antimikrobni, estrogenski, antiosteoporozni i protutumorski učinak (Oršolić, 2013). Matičnu mliječ čine voda 60- 70%; proteini 10- 18%, šećeri 9- 15%, lipidi 1,5- 7%, anorganske tvari 0,7- 1,5 %, vitamini (336 do 351 mg). Značajna komponenta matične mliječi je nezasićena masna kiselina, 10-hidroksi-2-decenska kiselina (10-HDA) koja postoji samo u matičnoj mliječi i čini glavni kriterij za provjeru autentičnosti i kvalitete matične mliječi. Sadržaj 10-HDA u matičnoj mliječi je obično oko 1,5% - 2,0%. Budući da ima funkciju antikancerogenog i antibakterijskog djelovanja, može se kao aktivni sastojak dodati zdravoj hrani ili kozmetici (Barnutiu i sar., 2011).

2. HEMIJSKI SASTAV MATIČNE MLIJEČI

U Tabeli 1. je prikazan hemijski sastav matične mliječi.

Tabela 1. Sastav svježe matične mlječi (Jašić i sar., 2016)

Sastojak	Svježa matična mliječ
Voda [g/100g]	60- 70
Lipidi [g/100g]	3- 8
10- HDA [g/100g]	>1,4
Proteini [g/100g]	9- 18
Fruktoza [g/100g]	3- 13
Glukoza [g/100g]	4- 8
Saharoza [g/100g]	0,5- 2,0
Pepeo [g/100g]	0,8- 3,0
pH	3,4- 4,5
Kiselost [mL 0,1 M NaOH/ g]	3,0- 6,0
Furozin [mg/ 100g proteina]	<50

Proteini su važan sastojak matične mliječi i čine od 17% do 45% suhe tvari. Među azotnim spojevima su i slobodne aminokiseline kojih ima u matičnoj mliječi 0,6 do 1,5%. Najprepoznatljivije su prolin i lizin. Slobodne aminokiseline su relativno stabilne, tako da se čuvanjem na 4 °C tokom 10 mjeseci ne dešavaju značajnije promjene u sastavu aminokiselina, dok se skladištenjem na sobnoj temperaturi sadržaj prolina i lizina povećava, zbog proteolitičke aktivnosti enzima. Glavni protein matične mliječi

(engl. Major Royal Jelly Protein) rojalaktin, ima ne samo prehrambenu vrijednost, nego i važne funkcije za razvoj pčelinje ličinke i matice. Rojalaktin je glikoprotein koji ima važnu ulogu u razvoju pčelinje ličinke i matice; potiče diferencijaciju matica u pčelama Maleszka (2018). Značajniji proteini i peptidi u matičnoj mliječi su još i rojalisin, apisimin, želin i apalbumin. Želin (engl. jelleines) i rojalisin (engl. royalisin) pčele radilice proizvode i izlučuju u matičnu mliječ. Ovi peptidi i proteini pružaju zaštitu širokog spektra za košnice pčela protiv mikrobnih infekcija (Jašić i sar., 2016). Za rojalizin je utvrđeno da ima snažno antibakterijsko djelovanje protiv Gram-pozitivnih bakterija pri niskim koncentracijama, ali ne i protiv Gram-negativnih bakterija. Rojalizin može sudjelovati u odbrambenom sistemu aktivnom protiv bolesti pčela. Stabilan je pri niskom pH i visokim temperaturama. Pokazuje antibakterijsko djelovanje naročito prema patogenu pčela, *Paenibacillus* larvi koja prouzrokuje Američku gnjiloću pčelinjeg legla, opasnu bolest koja napada larve pčela (Barnutiu i sar., 2011). Ukupni ugljhikohidrati su još jedan važan faktor koji može utjecati na određivanje kasti. Hrana ličinki matica koje su stare od 1 do 3 dana sadrže 12,4% ukupnih ugljikohidrata, a približno četiri puta više ih je pronađeno u radiličkoj mliječi. Studije su također pokazale da dodavanje šećera (ukupnih ugljikohidrata) radiličkoj mliječi sprječava larve da postanu matice (Wang i sar, 2015). Glukoza i fruktoza su šećeri sa najvećim udjelom u matičnoj mliječi, i to uglavnom u omjerima sličnim onima u medu. Zajedno čine oko 90% ukupno prisutnih šećera. Ostatak su saharoza i znatno manje količine maltoze, trehaloze, melibioze, riboze i erloze (Jašić, 2016). U prosjeku taj dio čini 30% suhe tvari matične mliječi. Također je moguće pronaći oligosaharide kao što su gentiobioza, izomaltoza, rafinoza, melezitoza; iako prisutni u vrlo malim koncentracijama korisni su za prepoznavanje karakterističnog uzorka koji je usporediv s medom i u nekim slučajevima indicirajući istinitost produkta. Ti sastojci stoga imaju korisnu ulogu u provjeravanju autentičnosti proizvoda (Barnutiu i sar., 2011). U lipidnoj frakciji matične mliječi nalaze se masne kiseline, neutralni lipidi, steroli i lipidni ugljikovodici. Većina organskih kiselina se nalazi u slobodnom stanju, a njihova struktura rijetko se nalazi na drugim mjestima i organizmima u prirodi. U matičnoj mliječi se uglavnom nalaze mono i dihidroksi kiseline s osam i deset C-atoma, karakteristično raspoređenih u molekuli. Karakteristična supstanca uvijek prisutna u matičnoj mliječi je jedinstvena i dominantna nezasićena masna kiselina, 10-hidroksi-2-decenska kiselina (10-HDA), koje obično ima oko 1,5 - 2,0%. Lipidna frakcija matične mliječi sadrži i nešto neutralnih lipida, sintetske sterole, uključujući i holesterol (Jašić, 2016). Matična mliječ sastoji se od naročito hidrosolubilnih vitamina B1, B2, B6, B5 (velike količine), B8, B9, C i PP. Vitamin C je prisutan u tragovima (Barnutiu i sar., 2011).

Matična mliječ je također bogata mineralima, naročito kalijumom, magnezijem, kalcijem, željezom, fosforom, sumporom, manganom, silicijem i olovom. Sadržaj pepela, tj. maseni udio ostatka koji je zaostaje nakon spaljivanja matične mliječi, predstavlja 0,8-3,0 % sadržaja matične mliječi. Hipoteze o kvantitativnoj prisutnosti (količini) tih metala temelje se na vanjskim faktorima (okoliš, nabava hrane, razdoblje proizvodnje) i do određene mjere unutrašnjim faktorima (biološki faktori vezani za pčele) (Barnutiu i sar., 2011).

3. BIOLOŠKI AKTIVNI UČINCI MATIČNE MLIJEČI

Proteini i peptidi iz matične mliječi mogu sudjelovati u obrambenom mehanizmu pčele protiv mikrobnih patogena izravnom inaktivacijom mikroorganizama koji se pojavljuju u proizvodima pčela. Fizičko-hemijska svojstva ovih proteina slična su svojstvima albumina (kao što je ovalbumin, serumski albumin).

Peptidi matične mliječi pokazali su ukupnu inhibiciju bakterijskog rasta prema *Staphylococcus aureus* (Gram pozitivna bakterija koja može izazvati bolesti, stafilokokoze), *Listeria monocytogenes* (uzročnik zarazne bolesti listerioze) i *Salmonella typhimurium* (uzročnik najopasnijeg oblika salmoneloze, trbušnog tifusu) samo pri vrlo visokim koncentracijama (≥200 μg/ml). U hemijskom sastavu matične mliječi identificirani su brojni antimikrobni peptidi, uključujući rojalizin, apisimin, želein, I, II, III, 10-HDA (Barnutiu i sar., 2011). Matična mliječ djeluje na kardio-vaskularni sistem i na krv kao regulator

krvnog tlaka, stimulira i osnažuje organizam. Alternativa medicina preporučuje matičnu mliječ u liječenju anemije (tretman od 2-3 sedmice značajno poboljšava broj i kvalitetu crvenih krvnih stanica), hipo- i hipertenzije i ateroskleroze. Studije ukazuju da trans-2-oktanoična kiselina i 10-HDA iz matične mliječi mogu biti odgovorne za antihipertenzivno djelovanje (smanjenje visokog krvnog tlaka), s njenim različitim frakcijama koje imaju veće ili manje učinke na trajanje djelovanja. Matična mliječ je također povezana s zaštitnim i terapijskim djelovanjem u slučaju poremećaja srčanog ritma ili aritmije (Pavel i sar., 2011). Za matičnu mliječ je utvrđeno da pokazuje fiziološke i farmakološke učinke kod sisavaca, uključujući vazodilatativnu aktivnost (proces širenja krvnih sudova) i hipotenzivnu aktivnost (aktivnosti protiv niskog krvnog tlaka), anti-hiperholesterolemijsku aktivnost (protiv povišene koncentracije holesterola u organizmu) i protuupalne funkcije. Također, utvrđeno je da matična mliječ je ublažava tzv. autonomnu neravnotežu kod žena u menopauzi, što dovodi do hipoteze da matična mliječ imitira učinke estrogena (Suzuki i sar., 2008).

Posebno, kineska i japanska medicina koriste matičnu mliječ za liječenje dijabetesa i održavanje normalnog nivoa šećera u krvi. Matična mliječ može smanjiti nivo šećera u krvi pomoću peptida sličnih inzulinu i drugih spojeva (poput hroma, sumpora, vitamina B3 i H). Matična mliječ također ima sposobnost održati optimalan nivo šećera u krvi sudjelovanjem u oksidaciji glukoze, kako bi se dobila energija (Pavel i sar., 2011). Kod bolesnika sa dijabetesom tipa 2 (inzulinska rezistencija), matična mliječ je utjecala na značajno smanjenje sadržaja šećera u krvi za 33%, 3 sata nakon primjene putem injekcije. Ove informacije upućuju na to da matična mliječ može biti funkcionalni dijetetski proizvod za prevenciju inzulinske rezistencije povezane s razvojem hipertenzije kod pacijenata sa dijabetesom. Matična mliječ je učinkovita u snižavanju i kontroli triglicerida i holesterola. Također, matična mliječ sadrži velike količine acetilholina, neurotransmitera u oba dijela perifernog i središnjeg živčanog sistema. Dokazano je da je oralna primjena matične mliječi odgovorna za poboljšanje kognitivnih procesa kod ljudi (Pavel i sar., 2011).

Od davnina se vjerovalo da matična mliječ može produžiti život sličnim učinkom, kao onaj koji omogućava mnogo duži život matice od radilice. Kliničke studije o ulozi matične mliječi u gerijatriji su rijetke, premda se mnogo govori o anti-age potencijalu ovog proizvoda. Neki liječnici su matičnu mliječ priznali kao velikog saveznika gerijatrije; 2-3 sedmice primjene matične mliječi koja se ponavljaju svaka 3 mjeseca su bila dovoljna da "aktiviraju" (ubrzaju) organizam starijih osoba (Pavel i sar., 2011). Kroz svoj složeni sastav, matična mliječ je nutritivni stimulans vitamina i prirodnog anabolizma. Kod ljudi je primijećeno da matična mliječ ima učinak povećanja energije i mentalne aktivnosti (nakon najmanje 3 mjeseca liječenja). Matična mliječ je povećala kapacitet mišićnog napora, vitalni kapacitet, respiratornu funkciju, poboljšala apetit, snagu i tjelesnu masu u slučajevima pothranjenosti, depresije i anoreksije. Posebno istaknute su povećane razine energije koje su pozitivno djelovale kod bolesnika sa sindromom hroničnog umora (Pavel i sar., 2011).

4. 10-HIDROKSI-2-DECENSKA KISELINA

10-hidroksi-2-decenska kiselina (10-HDA) je nezasićena masna kiselina, jedinstvena i dominantna, sa sadržajem oko 1,5% do 2% u matičnoj mliječi. Karakteristična je za matičnu mliječ, ne proizvodi se sintetski, a dominantna svojstva uključuju: antibakterijska svojstva, utjecaj na proizvodnju kolagena u fibroblastima kože, antioksidativno djelovanje, protutumorne aktivnosti (Oršolić, 2013).

Ima hemijsku strukturu koja je netipična za masnoće. Uobičajena struktura kiselina koje se nalaze u biljnim i životinjskim masnoćama je da imaju u lancu 14-20 ugljikovih atoma, dok 10-HDA ima 10 C-atoma karakteristično raspoređenih u molekuli (Jašić, 2016).

Sadržaj 10-HDA u matičnoj mliječi je međunarodni standard kakvoće matične mliječi i izravno određuje njenu cijenu na međunarodnom tržištu (Barnutiu i sar., 2011).

Neke studije su pokazale da 10-HDA potiče rast T- limfocitnih podskupova (podtip bijelih krvnih zrnaca koji imaju glavnu ulogu u ćelijskom imunitetu) i interleukina-2 (hemijske supstance koje pretežno djeluju kao faktor rasta T limfocita), što bi moglo upućivati na to da ova masna kiselina

pokazuje imunoregulacijske i antikancerogene aktivnosti. Time se dokazuje da 10-HDA ima značajne vrijednosti u domenama medicine i zdravstva. Proučeno je i antimikrobno djelovanje 10-HDA koja je ekstrahirana iz matične mliječi na niz bakterija. Istraživanje je pokazalo da 10-HDA može učinkovito inhibirati rast bakterija (Barnutiu i sar., 2011). Minimalna doza 10-HDA na odgovarajuće patogene mikroorganizme bi bila: *Escherichia coli* 0,625 mg /ml, *Bacillus subtilis* 1,25 mg / ml, *Staphylococcus aureus* 2,5 mg/ml.
Studije iz literature citiraju antimikrobnu aktivnost matične mliječi i ova je aktivnost ponekad atribut 10-HDA. Townsend i saradnici (1959) opisuju aktivnost 10-HDA u liječenju eksperimentalne leukemije. Antibiotska aktivnost 10-HDA bila je cilj istraživanja Blum -a i saradnika (1959); autori su naveli da je 10-HDA glavna komponenta lipidne frakcije matične mliječi i predstavlja glavni činilac antimikrobne aktivnosti matične mliječi protiv bakterija i plijesni. Amoedo i Muradian (2007) su primijetili da je so ovog spoja manje aktivna u usporedbi sa slobodnom kiselinom.

Antibakterijska aktivnost 10-HDA se smanjuje neprikladnim i dugotrajnim čuvanjem. Pri temperaturama skladištenja na -18 °C i 4 °C u periodu od 12 mjeseci ustanovljen je gubitak sadržaja 10-HDA (Maksimović i Rifatbegović, 2009). Kako 10 HDA ima antitumorski i antibakterijski učinak, može se dodati u zdravu hranu ili kozmetiku kao aktivni sastojak.
Za provjeru autentičnosti matične mliječi najpouzdaniji pokazatelj je količina 10-HDA, što je moguće provjeriti u specijaliziranim laboratorijima. Drugi način provjere, možda malo složeniji i omogućen samo pčelarima, ali daleko jeftiniji je taj da se matična mliječ vrati natrag pčelama. Ako pčele na toj matičnoj mliječi uspiju uzgojiti maticu, dokaz je ispravnosti matične mliječi; u slučaju neautentičnosti matične mliječi, pčele automatski izbacuju tu tvar iz košnice (Oršolić, 2013).

5. ZAKLJUČAK

Matična mliječ je prirodni pčelinji proizvod sa velikim potencijalom za upotrebu u medicini. Sadrži niz funkcionalnih komponenti sa povoljnim utjecajem na funkcije ljudskog organizma. Te komponente su svrstane na makronutrijente (voda, proteini, lipidi, ugljikohidrati) i mikronutrijente (vitamini i minerali). Matična mliječ ima brojna dragocjena ljekovita svojstva koja se koriste od antičkih vremena do danas. Neke od njenih bioloških i terapijskih aktivnosti su potvrđene. Znanstvenici su tek počeli otkrivati mnoge zdravstvene dobrobiti matične mliječi, a neke od njih su: antimikrobno djelovanje, neurotropno djelovanje, estrogenska aktivnost matične mliječi, djelovanje matične mliječi slično inzulinu, anti-aging efekat, itd. Određivanje prisutnosti i sadržaja 10-hidroksi-2-decenske kiseline (10-HDA) postala je brza metoda za dokazivanje autentičnosti i kvalitete matične mliječi. 10-HDA, iako nedovoljno istražena, pokazuje antimikrobnu aktivnost na niz bakterija i antikancerogenu aktivnost.

6. LITERATURA

[1] Amoedo, G., Muradian, A. (2007). Physcochemical composition of pure and adultered royal jelly. Quim. Nova 30, 257-259, https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000200002.
[2] Barnutiu, L., Marghitas, L., Dezmirean, D.S., Mihai, C.M., Bobis, O. (2011). Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Royal Jelly – Review. Animal Science and Biotechnologies, 44 (2): 67-72.

[3] Blum, M., Novak, A., Taber S. (1959). 10-Hydroxy-delta 2-decenoic acid, an antibiotic found in royal jelly. PMID:13675771. https://doi:10.1126/science.130.3373.452.
[4] Jašić, M., Šubarić, D., Vahčić, N., Filipi, J., Bašić, M., Budimlić, A., Jozinovi,ć A., Spaseska-Aleksovska, E., Jusufhodžić, Z., Spahić, Bajrić A., Milićević, I., Jašić, A. (2016). Pčelinji proizvodi sa dodanom vrijednosti, Udruženje za nutricionizam i dijetetiku "Hranom do zdravlja" Tuzla. ISBN 978-9926-8127-1-3.
[5] Maksimović, Z., Rifatbegović M. (2009). Antibakterijski efekti svježe i konzervirane matične mliječi. Veterinaria 58 (1-2),11-16, Sarajevo.
[6] Maleszka, R., (2018). Beyond Royalactin and a master inducer explanation of phenotypic plasticity in honey bees. Nature, Communications Biology 1 (8): 1-7. DOI: 10.1038/s42003-017-0004-4.
[7] Miletić, I., Šobajić, S., Đorđević, B. (2008). Funkcionalna hrana – Uloga u unapređenju zdravlja. Institut za bromatologiju, Farmaceutski fakultet, Beograd, Srbija, DOI: 10.2478/v10011-008-0017-0.
[8] Oršolić, N. (2013). Učinkovitost biološki aktivnih sastavnica matične mliječi: analiza i standardizacija. Zavod za animalnu fiziologiju, Prirodoslovno-matematički fakultet, Sveučilište u Zagrebu, Hrvatska, DOI: 10.2478/10004-1254-64-2013-2332.
[9] Pavel, C., Marghitas, L., Bobis, O., Dezmirean, D., Sapcaliu, A., Radoi, I., Madas, M. (2011). Biological Activities of Royal Jelly – Review, Animal Science and Biotechnologies 44: 108–118.
[10] Suzuki, K.M., Isohama, Y., Maruyama, H., Yamada, Y., Narita, Y., Ohta, S., Araki, Y., Miyata, T., Mishima, S. (2008). Estrogenic activities of Fatty acids and a sterol isolated from royal jelly. Alternat Med. 5(3):295-302. doi: 10.1093/ecam/nem036.
[11] Townsed, G., Morgan, J., Hazlett, B. (1959). Activity of 10-Hydroxydecenoic Acid from Royal Jelly against Experimental Leukemia and Ascitic Tumours. ResearchGate, DOI: 10.1038/1831270a0.
[12] Wang, Y., Zhang, W., Lanting, M., Cui, X., Wang, H., Xu, B. (2015). Comparison of the nutrient composition of royal jelly and worker jelly of honey bees (*Apis mellifera).* Research Gate, DOI: 10.1007/s13592-015-0374-x.