



**УНИВЕРЗИТЕТ „СВ. КЛИМЕНТ ОХРИДСКИ“ – БИТОЛА**  
**ФАКУЛТЕТ ЗА БИОТЕХНИЧКИ НАУКИ**

**Технологија и безбедност на прехранбени производи**

**„ ИСПИТУВАЊЕ НА ФИЗИЧКИТЕ ПАРАМЕТРИ И БИОАКТИВНИТЕ МАТЕРИИ  
КАЈ ПРОПОЛИСОТ И МОЖНОСТА ЗА УПОТРЕБА ВО БРОЈЛЕРСКОТО  
ПРОИЗВОДСТВО“**

**ДОКТОРСКИ ПРОЕКТ**

**Кандидат: Бардха Ибиши**

**број на досие: 26 / ТБШ**

**Ментор:**

**Проф. д-р Весна Карапетковска- Христова**

**Битола, 2024**

## СОДРЖИНА

|  |    |
|--|----|
| Апстракт .....   | 3  |
| 1. Вовед .....   | 4  |
| 2. Преглед на литературата .....   | 5  |
| 2.1. Хемиски состав и биоактивни компоненти на прополисот .....  | 5  |
| 2.2. Методологии на екстракција на прополисот .....  | 6  |
| 2.3. Употреба на прополисот во сточарското производство .....  | 6  |
| 3. Методи и материјали .....   | 6  |
| 3.1. Анализа на методи за екстракција на суров прополис - лабораториски испитувања .....                       | 7  |
| 3.2. Мерење на физички параметри .....   | 8  |
| 3.3. Определување на вкупните феноли со методот Folin-Ciocalteu .....  | 8  |
| 3.4. Одредување на релативната антиоксидативна активност со методот 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH) .....  | 9  |
| 4. Резултати и дискусија .....   | 10 |
| 4.1. Резултати за физичките параметри на етанолните екстракти од прополис (ЕЕП) со различни концентрации ..... | 10 |
| 4.2. Резултати од вкупните феноли во прополисот со методот Folin-Ciocalteu (GAE mg/g) .....                    | 12 |
| 4.3. Релативна антиоксидативна активност (%) кај ЕЕП (со методот DPPH) .....                                   | 13 |
| 5. Заклучок .....  | 14 |
| 6. Користена литература .....  | 15 |

# „ИСПИТУВАЊЕ НА ФИЗИЧКИТЕ ПАРАМЕТРИ И БИОАКТИВНИТЕ МАТЕРИИ КАЈ ПРОПОЛИСОТ И МОЖНОСТА ЗА УПОТРЕБА ВО БРОЈЛЕРСКОТО ПРОИЗВОДСТВО“

Бардха Ибиши

Факултет за биотехнички науки -Битола, Универзитет „Св.Климент Охридски“,

Р.С. Македонија

ORCID iD 0009-0006-3928-1147

[Ibishibardha@gmail.com](mailto:Ibishibardha@gmail.com)

## Апстракт

Прополисот, смолеста супстанција произведена од пчелите, покажува значителна варијабилност во својот состав, зависна од ботаничките извори, географската положба и климатските услови. Целта на ова истражување беше да се испитаат физичко-хемиските параметри и биоактивните материи на прополисот, со акцент на вкупната содржина на феноли и антиоксидантната активност. Примероците беа собрани од различни региони во Македонија (Полошки, Пелагониски и Источен регион) во периодот 2023-2024 година.

Етанолските екстракти од прополис беа подготвени според стандардизирани протоколи, при што се испитуваше зависноста меѓу концентрацијата на растворувачот и растворливоста на екстрактите. Физичките карактеристики, како рН, електроспроводливост, растворливост и точка на топење, исто така беа анализирани. Вкупната содржина на феноли беше определена спектрофотометриски со методот на Folin-Ciocalteu, а антиоксидантната активност со методата на DPPH, на инструментот UV-Vis Shimadzu 1800.

Резултатите покажаа значителни регионални варијации, со содржина на феноли од 53 до 260 GAE mg/g и антиоксидантна активност од 12,9% до 47,77%, со статистички значајни разлики ( $p < 0,05$ ). Добиените резултати ја истакнуваат важноста на географското потекло, ботаничките извори и методите на екстракција врз биоактивните својства на прополисот, нагласувајќи ја потребата од стандардизација на методите за екстракција со цел оптимизирање на здравствениот потенцијал на прополисот. Ова истражување претставува основа за понатамошно испитување на ефектите од суров прополис во различни концентрации како додаток во исхраната на бројлери, особено во органското производство. Дополнително, резултатите укажуваат на потенцијалот на прополисот како функционален додаток во исхраната, кој може да придонесе за подобрување на имунолошкиот статус и здравјето на животните.

**Клучни зборови:** Прополис, вкупни феноли, антиоксидантна активност, методи на екстракција, бројлерско производство.

## 1. Вовед

Проучувањето на природните производи, како што е пчелниот прополис, претставува значајна област на научен интерес поради неговите бројни терапевтски својства и потенцијалната примена во хуманата и ветеринарната медицина, како и во сточарското производство. Прополисот е природен биолошки производ што пчелите го создаваат од растителни смоли, комбинирајќи ги со свои секрети и восок. Оваа сложена материја служи за одржување на здравјето и хигиената во кошницата, како и за заштита од надворешни закани. Благодарение на богатството на биоактивни состојки, прополисот привлекува значителен интерес во научните кругови (Банкова и сор. – Bankova et al., 2000; Кумазава и сор. – Kumazawa et al., 2004; ЕФСА – EFSA, 2018; Живковиќ и сор. – Živković et al., 2020; Банкова – Bankova et al., 2021; Ибиши и сор. – Ibishi et al., 2023; Коловски, 2023).

Основната мотивација за истражувањето на овој докторски труд произлегува од потребата за детално испитување на ефектите од употребата на природните адитиви, како што е прополисот, врз различни параметри поврзани со здравјето и продуктивноста на животните. Прополисот, со своите антиоксидантни, антиинфламаторни и антибактериски својства, има потенцијал да се користи како природен додаток во исхраната на бројлерите, особено во органското производство (Омар – Omar, 2016; Џенгиз и сор. - Cengiz et al., 2019; Сураи и сор. – Surai et al., 2019)

Истражувањето е оправдано поради значењето на прополисот како природен производ со докажани терапевтски својства. Развивањето нови методи за обработка и примена на прополисот може да има важни импликации за добивање на животински производи со висок квалитет и безбедни за потрошувачите.

Целта на истражувањето е да се анализираат физичко-хемиските својства на прополисот и неговата антиоксидантна активност преку етанолни екстракти добиени од прополис од различни региони на Македонија. Основната цел на истражувањето е да се утврди влијанието на прополисот како природен адитив врз различни параметри, вклучувајќи производствените, кланичните, хистолошките, микробиолошките и крвните параметри. Воведувањето на прополисот како додаток во исхраната на бројлерите може да доведе до значителни подобрувања во продуктивноста и здравјето на животните, што е од особено значење за органската и одржливата производствена индустрија. Дополнителната цел на експерименталниот дел од докторскиот труд е да се испита влијанието на *Thymus vulgaris* (подготвен инфузионен раствор од мајчина душица) врз ембрионалниот развој на кокошкините јајца, со цел да се истражат ефектите на екстрактот од мајчина душица во одредени фази на онтогенезата и да се проценат придобивките или потенцијалните последици од неговата доза врз макроскопските и хистопатолошките промени.

Очекуваните резултати вклучуваат значителни варијации во параметрите на прополисот, како рН и содржина на вкупни феноли, условени од климатските и ботаничките услови на регионот од кој потекнува. Се очекуваат и различни нивоа на антиоксидантна активност на прополисот од различни региони. Воведувањето на прополисот како природен адитив во исхраната на бројлерите ќе доведе до значајни подобрувања во продуктивноста и здравјето на живината, вклучувајќи подобрување на дневниот раст и конверзијата на храна. Инфузијата од мајчина душица, применета во различни фази на инкубација, ќе има позитивен ефект на ембрионалниот развој на кокошкините јајца, со подобрување на органската диференцијација и васкуларизацијата, што ќе се одрази на макроскопските и хистопатолошките резултати.

Ограничувањата на ова истражување можат да вклучуваат варијабилност во составот на прополисот поради различните климатски и географски услови. Дополнително, методолошките ограничувања можат да влијаат на прецизноста на резултатите.

## **2. Преглед на литературата**

Прополисот е природна смоласта супстанција произведена од медоносните пчели (*Apis mellifera*), која служи како основен компонент во изградбата и одржувањето на пчелините кошници, обезбедувајќи изолација, стабилност и заштита од патогени. Пчелите собираат смоли и восок од различни делови на растенијата, како што се цветови, пупки, ексудати, смоли и гуми, и ги комбинираат со нивната  $\beta$ -глукозидазна ензимска плунка (Ванг – Wang, 2013). Овие смоли и восок пчелите ги преработуваат во пчелините кошници за да создадат прополис, кој обезбедува заштита и стабилност. Прополисот има долгогодишна употреба во традиционалната медицина поради неговите антимикуробни, антивирусни, антибактериски и антиинфламаторни својства, што го прави вреден за различни терапевтски апликации (Банкова – Bankova, 2005; Салатино и сор. – Salatino et al., 2011; Зулхендри – Zuhendri, 2021, Маркучи - Marcucci, 1995). Во многу култури, прополисот е долго време признат по своите медицински и терапевтски својства и бил историски документиран од древните Египќани, Грци и Римјани (Куропатнички – Kuropatnicki, 2013).

### **2.1. Хемиски состав и биоактивни компоненти на прополисот**

Истражувањата потврдуваат дека хемискиот состав и квалитетот на прополисот зависат од географската локација, климатските услови и видот на вегетација околу пчеларникот (Банкова и сор. - Bankova et al., 2014; Коловски - Kolovski, 2023). Обично, прополисот содржи липиди, пчелин восок, етерични масла, полен и органски компоненти. Пчелите собираат смоли и восок од различни делови на растенијата, како што се цветови и пупки, ексудати, смоли, гуми и слуз, и ги збогатуваат со нивната  $\beta$ -глукозидазна ензимска плунка (Ванг – Wang, 2013). Потенцијалните активни фитохемиски компоненти на прополисот вклучуваат флавоноиди, фенолни соединенија, полифеноли, терпени, терпеноиди, кумарини, стероиди, аминокиселини и ароматични киселини (Банкова - Bankova et al., 2000).

Со продлабочувањето на истражувањето на нутритивните и функционалните карактеристики на суровиот прополис и неговите екстракти, интересот за неговата примена продолжува да расте (Коловски – Kolovski, 2023). Флавоноидите и фенолните соединенија се важна класа на секундарни метаболити од растенија. Меѓу флавоноидите, кверцетин и хрисин се најчесто присутни и распределени во прополисот на различни видови пчели (Салатино – Salatino, 2011). Слично на флавоноидите, фенолните соединенија исто така покажуваат биолошки активности како антиоксидантна, антибактериска, антиканцерогенска, антиинфламаторна, антимикуробна, плазмодицидна и анти-HIV активности (Фарук – Farooqui, 2012). Истражувањата на Дурацо и сор. (Дурацо и сор. -Durazzo et al., 2021) нагласуваат дека прополисот може да има антиканцерогенски ефекти преку инхибирање на растот на туморските клетки и подобрување на терапевтските исходи.

## **2.2. Методологии на екстракција на прополисот**

Методологијата на екстракција на прополисот игра клучна улога во одредувањето на неговиот квалитет и ефективност. Различни методи за екстракција се користат, вклучувајќи етанолни, водени и глицерински екстракти. Студиите на Пиози и сор. (Piozzi et al., 2005) покажуваат дека етанолската екстракција е особено ефикасна за добивање на фенолните соединенија и флавоноидите, додека водените екстракти можат да бидат подобри за добивање на поларни соединенија. Примената на различни методи за екстракција може да влијае на концентрацијата на активните компоненти и нивната биолошка активност. За да се обезбеди максимална ефикасност, важно е да се стандардизираат методите за екстракција и анализа на прополисот, како и да се утврдат критериумите за дозирање и чистота на комерцијалните производи (Петреска-Станоева – Petreska Stanoeva, 2024). Сепак, постојат предизвици во стандардизацијата на производите од прополис, при што многу од нив не го специфицираат составот на активните соединенија и не нудат точни упатства за дозирање. Овие недостатоци ја нагласуваат потребата од дополнителни истражувања и развој на унифицирани протоколи за производствени и аналитички стандарди (Хусаин и сор. - Hossain et al., 2022; Ибиши и сор. – Ibishi et al., 2023). Потребата за прецизни спецификации и стандардизирани методи за екстракција и анализа е клучна за да се обезбеди ефикасноста и безбедноста на прополисот во неговата медицинска и диететска примена.

## **2.3. Употреба на прополисот во сточарското производство**

Со напредокот на современите технологии во фармацијата, интересот за истражување на прополисот и неговите биолошки активни компоненти значително се зголемува. Прополисот успешно се применува во третманот на дијабетес, изгореници, рани, гинеколошки проблеми, ларинголошки, дерматолошки и невродегенеративни заболувања, гастроинтестинални болести, заболувања на респираторниот тракт и кардиоваскуларни нарушувања (Зулкифли и сор. –Zulkifli et al., 2022).

Прополисот е одобрен како додаток во исхраната и е достапен на пазарот во различни формулации, но тие се подготвени со различни видови на прополис, каде што главните активни соединенија не се идентификувани и не постои прецизна спецификација на етикетата ниту критериуми за дозирање (Петреска Станоева– Petreska Stanoeva, 2024).

Во последните години, прополисот сè повеќе се проучува за неговата примена во сточарското производство, особено поради неговите природни антимицробни својства и потенцијалот за подобрување на здравјето и продуктивноста на животните. Пример за ова е студијата на Севен и сор. (Seven et al., 2008), која покажа дека прополисот значително го намалува нивото на малондалдехид (биомаркер за оксидативен стрес) и го подобрува телесниот прираст кај бројлери. Други истражувања покажуваат дека додавањето на прополис во исхраната на животни може да доведе до подобрување на имунолошкиот систем, намалување на оксидативниот стрес и зголемување на продуктивноста кај бројлери и други видови добиток (Силици и Кутлука – Silici & Kutluca, 2005).

## **3. Методи и материјали**

Методологија и материјали - во првиот дел на истражувањето, примероците од прополис беа собрани од различни региони во Македонија, и тоа од Полошки, Пелагониски и Источен регион (пчеларници „М“, „Д“ и „Т“) во периодот 2023-2024 година со примена на стандардизирани протоколи. Од собраниот прополис беа подготвени

етанолни екстракти (4% и 10%), кои беа анализирани за определените физички параметри, вкупните феноли и антиоксидантната активност со примена на методите на Folin-Ciocalteu и DPPH.

### **3.1. Анализа на методи за екстракција на суров прополис - лабораториски испитувања**

Процесот на подготовка на екстракти од прополис започна со мерење на 4 g суров прополис, кој беше замрзнат на -20 °C. Замрзнувањето предизвика формирање на микро пукнатини, што го олесни мелењето и подобри растворливоста во различни растворувачи. За мелење се користеше блендер, со којшто се обезбеди темелна микронизација на прополисот.

Микронизируваниот прополис беше измешан со етанол во блендер, што овозможи брзо растворање на растворливите компоненти. За дополнително растворање, беа употребени две магнетни мешалки, при што мешањето се изведуваше на 500 вртежи во минута по 1 час на температури од 20°C, 25°C и 30°C, кои не надминаа 30°C за да се избегне деградација на нестабилните компоненти.

Откако прашкастиот прополис беше потопен во етанол, се мешаше со голема брзина (>10.000 вртежи во минута) за 2 минути. Добиената смеса потоа беше префрлена во затворен сад и подложена на циклуси на мешање и загревање на истите температури, со вкупно време на обработка од 180 минути, контролирано со прецизна опрема (Коловски – Kolovski, 2023).

| <b>Реден бр.</b> | <b>Прополис (g)</b> | <b>Етанол 70% (g)</b> | <b>Вкупно (g)</b> | <b>Суров прополис во мешавина (%)</b> |
|------------------|---------------------|-----------------------|-------------------|---------------------------------------|
| 1                | 4                   | 78.93                 | 82.93             | 4.82%                                 |
| 2                | 10                  | 78.93                 | 88.93             | 11.24%                                |

Табела 1: Мерење на масата на состојките - прополис и етанол (g)

На табелата прикажани се разликите во концентрацијата на прополисот помеѓу два примерока: Примерок 1, кој содржи 4 g прополис измешан со 78,93 g етанол, достигна концентрација од 4,82%, со вкупна маса од 82,93 g. Од друга страна, Примерок 2, составен од 10 g прополис во истиот волумен на етанол, резултираше со повисока концентрација од 11,24%, со вкупна маса од 88,93 g. Оваа разлика во концентрацијата на прополис е значајна за оценување на ефикасноста на екстракцијата и квалитетот на добиениот екстракт.

Споредувајќи ги процентите на прополис во мешавините според волумен и маса, доследните вредности го потврдуваат прецизноста и доверливоста на експерименталните мерења. За вакуум филтрацијата се користеше Buchner-ов филтер, вакуум филтрирачка колба и лабораториска вакуум пумпа „Јастребац“ (P = 500 W). Овој метод се покажа како најбрз и најефикасен за одвојување на екстрактот од прополисот. По филтрацијата, етанолниот екстракт беше разреден за да се добијат раствори од прополис со концентрации од 4% и 10%.

### 3.2. Мерење на физички параметри

Физичките параметри на екстрактите од прополис (ЕЕП) беа измерени со употреба на следниве инструменти:

Растворливост (g): Гравиметриски метод (Cussler, 2009).

Спроводливост: Мерена со Xiaomi и TDS & EC мерачи на спроводливост (единици:  $\mu\text{S}/\text{cm}$ , ppm; точност:  $d = 0,01$ ).

Температура на топење: Капиларна цевка во комбинација со грејна бања и термометар.

Точката на топење на прополисот е одредена со капиларна метода, стандардна техника во хемиската анализа. Мала количина прополис во прав беше спакувана во стаклена капиларна цевка, прикачена на термометар и потопена во грејна бања. Бањата постепено се загреваше со помош на горилник и беше регистрирана почетната и крајната температура на топење. Опсегот на овие две температури беше означено како точка на топење.

### 3.3. Определување на вкупните феноли со методом Folin-Ciocalteu

Содржината на вкупните феноли беше определена спектрофотометриски од етанолан раствор на прополис, користејќи го реагенсот Folin-Ciocalteu. Овој реагенс е мешавина од фосфотангстична и фосфомолибдинска киселина, кои при оксидација на фенолите се редуцираат до волфрамов и молибденов оксид, создавајќи сина боја. Интензитетот на сината боја беше измерен на бранова должина од 750 nm (Берета – Beretta, 2005; Бертончељ – Bertonecelj, 2007).

- 7,5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  раствор: Подготвува се со растворање на 37,5 g кристализиран  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  во 500 ml дестилирана вода.
- 10% Folin-Ciocalteu раствор: Реагенсот се разредува 1:9 со дестилирана вода.

Постапка: Во една епрувета се пипетираат 100  $\mu\text{l}$  од 0,1% етанолан раствор на прополис, а во друга епрувета 100  $\mu\text{l}$  етанол (празна проба). Се додава 1 ml од 10% Folin-Ciocalteu реагенсот, се меша и се остава да стои 5 минути. Потоа се додава 1 ml од 7,5%  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  и се остава на темно место на собна температура 30 минути. Интензитетот на бојата се мери на спектрофотометар на бранова должина од 750 nm.

Калибрациона крива на галска киселина: За подготовка на стандардна крива, се прави почетен раствор на галска киселина со концентрација од 170 mg/l, по што се подготвуваат раствори со концентрации од 17 mg/l до 1,7 mg/l. Апсорпцијата на секоја концентрација се мери по истата постапка, со што се добива стандардна крива која се користи за пресметка на вкупната содржина на феноли во примероците од прополис.

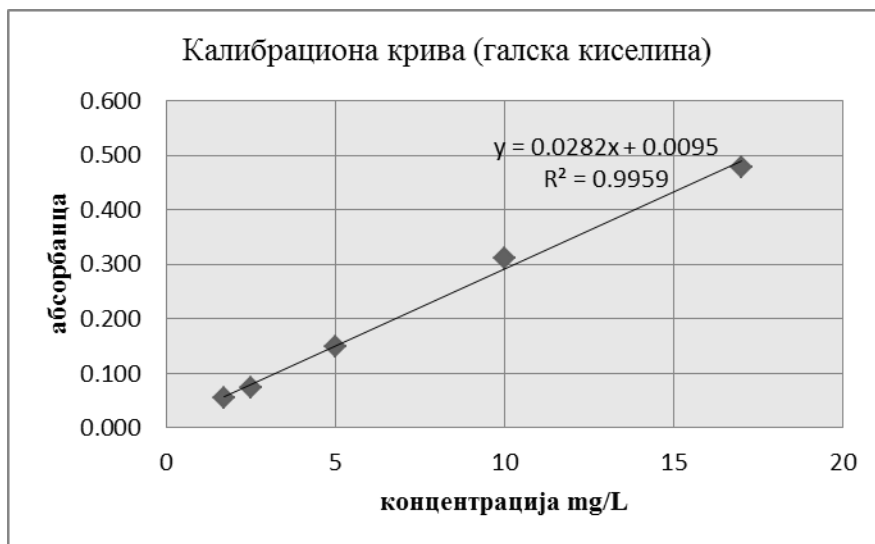
| $\gamma$ (GA) (mg/L) | A (750 nm) |
|----------------------|------------|
| 17                   | 0.479      |
| 10                   | 0.311      |
| 5                    | 0.148      |
| 2.5                  | 0.074      |



1.7

0.056

Табела 2: Апсорбанца на галска киселина од стандардни раствори



Графикон 1: Стандардна калибрациона крива на галска киселина

Вкупните феноли се изразуваат како mg еквиваленти на галска киселина (GAE-Еквиваленти на галска киселина) на g прополис.



Слика: 1а) и б): Анализа на вкупни феноли во ЕЕП (инструмент UV –Vis, Лаб.ФБН-Битола)

### 3.4. Одредување на релативната антиоксидативна активност со методот 1,1-дифенил-2-пикрилхидразил (DPPH)

Радикалот DPPH, кој содржи неспарен електрон, има максимална апсорпција на 517 nm и е виолетов по боја. Промената на бојата од виолетова во жолта се должи на спарувањето на неспарениот електрон на радикалот DPPH со водородот од

антиоксидансот, што резултира со редуциран DPPH-H. Оваа промена на бојата е стехиометриски поврзана со бројот на спарени електрони (Пракаш - Prakash, 2001). Додавањето на антиоксиданси предизвикува намалување на апсорпцијата, која е пропорционална на концентрацијата и антиоксидативната активност на соединението.

Постапка: Се измерија 0,00312 g DPPH и се растворија во 100 ml метанол. Апсорпцијата на свежо подготвениот раствор беше измерена на 517 nm и изнесуваше 0,898. За анализата беа користени разредени примероци на прополис со концентрација од 0,1%. Во епрувета се додаваат 0,1 ml екстракт од прополис (ЕЕП) и 4 ml раствор од DPPH, добро се промешува и се остава на темно место. По 45 минути, апсорпцијата се мери на 517 nm. Релативната антиоксидативна активност се пресметува според следната равенка:

$$\text{Релативна антиоксидативна активност (\%)} = (A_{DPPH} - A_{\text{примерок}}) / A_{DPPH} \times 100$$

#### 4. Резултати и дискусија

Прополисот е сложена мешавина која е под влијание на локалната флора, географијата и климатските услови. Во ова истражување беа анализирани етанолните екстракти од прополис (ЕЕП) од типот „топола“ за да ги оцени нивните физички параметри и биоактивни компоненти.

##### 4.1. Резултати за физичките параметри на етанолните екстракти од прополис (ЕЕП) со различни концентрации

| Концентрација на растворувач (%) | Нерастворливи материји од Пелагонија (g) | Растворени материји од Пелагонија (g) | Нерастворливи материји од Полог (g) | Растворени материји од Полог (g) | Почетна кол. прополис (g) |
|----------------------------------|--|---------------------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|---------------------------|
| 4.00%                            | 0.12                                     | 0.85                                  | 0.24                                | 0.79                             | 1                         |
| 10.00%                           | 0.92                                     | 1.58                                  | 1.27                                | 1.23                             | 2.5                       |

Табела 3: Зависност на растворливоста од количината на цврсти материји наспроти концентрацијата на растворувачи

Во Табела 3, прикажана е зависноста помеѓу количината на цврсти материји и концентрацијата на растворувачот во однос на растворливоста на екстрактите од прополис од Пелагонија и Полошкиот регион. Податоците покажуваат дека при пониски концентрации на растворувачот (4%), се раствора поголем процент на цврсти материји. На пример, Пелагонискиот екстракт од прополис (ЕЕП) содржи растворени 0.85 g од 1 g прополис при концентрација на растворувач од 4%, додека кај Полошкиот ЕЕП се добиваат 0.79 g од истата почетна количина. Сепак, со зголемувањето на концентрацијата на растворувачот на 10%, растворливоста на цврстите материји значително се намалува. При концентрација од 10%, во Пелагонискиот ЕЕП се раствораат 1,58 g цврсти материји од 2,5 g прополис, додека во Полошкиот ЕЕП се раствораат 1,23 g од истата почетна количина. Овој тренд укажува дека зголемувањето на количината на цврсти материји и намалувањето на растворувачот во однос на содржината на цврстите материји ја намалува растворливоста. Како резултат на тоа, заситеноста на растворувачот значително се зголемува од 4% цврсти материји (96% растворувач) на 10% цврсти материји (90% растворувач) (Ибиши и сор. – Ibishi et al., 2023).

За поголема ефикасност при растворањето на цврстите материи, препорачливо е да се започне со поголема количина растворувач и постепено да се концентрира растворот, наместо да се обидува да се раствори голема количина цврсти материи во мал волумен растворувач. Овој метод овозможува да не се надмине границата на растворливоста на растворувачот, што ја зголемува ефикасноста на процесот на растворање (Банкова и сор. – Bankova et al., 2021; Коловски – Kolovski, 2023).

| Примерок | pH (I) | pH (II) | pH (III) | $\bar{x} \pm SD$ |
|----------|--------|---------|----------|------------------|
| М        | 4.97   | 4.99    | 4.98     | 4.98 $\pm$ 0.008 |
| Д        | 5.01   | 4.99    | 4.98     | 4.99 $\pm$ 0.012 |
| Т        | 5.37   | 5.41    | 5.39     | 5.39 $\pm$ 0.016 |

Табела 4: Средната вредност и стандардната девијација ( $\pm SD$ ) за pH вредностите кај ЕЕП (три повторувања)

На Табела 4 се прикажани pH вредностите на испитаните примероци 10% ЕЕП од трите различни пчеларници (М, Д и Т). Прополисот од пчеларникот М има просечна pH вредност од 4.98, со стандардна девијација од 0.008, што укажува на висока прецизност и мала варијација помеѓу повторувањата. Ова покажува стабилен киселински состав на прополисот.

Прополисот од пчеларникот Д има просечна pH вредност од 4.99, со стандардна девијација од 0.012. Овие резултати се слични на оние од пчеларникот М, но со малку поголема варијација помеѓу повторувањата, што може да укаже на поголема варијабилност во составот на прополисот.

Прополисот од пчеларникот Т има највисок просечна pH вредност од 5.39, со стандардна девијација од 0.016. Оваа вредност укажува на највисоко pH и најголема варијација помеѓу повторувањата. Високото pH на примерокот од пчеларникот Т може да укаже на помала киселинска средина, што би можело да биде резултат на различен состав на прополисот, вклучувајќи помала концентрација на киселински компоненти или присуство на алкални соединенија.

| Примерок | Температура на топење (°C) | Спроводливост ( $\mu S/cm$ ) |
|----------|----------------------------|------------------------------|
| М        | 57-62                      | 16.27                        |
| Т        | 58-63                      | 15.16                        |
| Д        | 59-63                      | 20.04                        |

Табела 5: Температура на топење и спроводливост на 10% ЕЕП

Температурата на топење на прополисот е слична за сите примероци и се движи помеѓу 57 и 63 °C. Спроводливоста на прополисот варира помеѓу примероците. Примерокот од пчеларникот Д има највисока спроводливост од 20.04  $\mu S/cm$ , додека примероците од пчеларниците М и Т покажуваат пониска спроводливост, со вредности од 16.27  $\mu S/cm$  и 15.16  $\mu S/cm$ , соодветно. Овие разлики во спроводливоста можат да укажуваат на варијации во концентрацијата на минерали или други растворливи супстанции во прополисот од различни региони. Различните температури на топење и

спроводливости на примероците можат да укажуваат на хемиска разновидност во прополисот, која може да биде резултат на различните ботанички извори и присуството на различни хемиски компоненти.

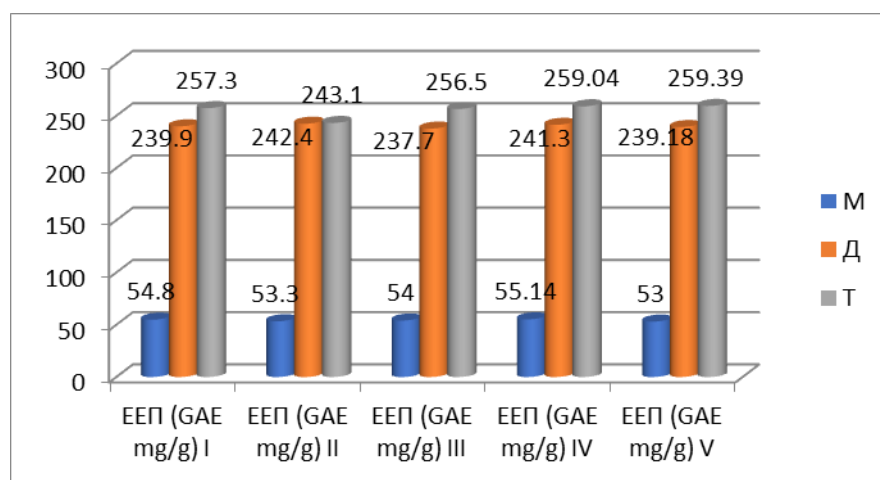
Добиените податоци можат да помогнат во разбирањето на квалитетот и потенцијалните применливости на прополисот од различни региони (Банкова и сор. – Bankova et al., 2002; Банкова – Bankova, 2005).

#### 4.2. Резултати од вкупните феноли во прополисот со методот Folin-Ciocalteu (GAE mg/g)

| Примерок | ЕЕП (I) | ЕЕП (II) | ЕЕП (III) | ЕЕП (IV) | ЕЕП (V) | $\bar{x} \pm SD$            |
|----------|---------|----------|-----------|----------|---------|-----------------------------|
| М        | 54.8    | 53.3     | 54.0      | 55.14    | 53.0    | 54.05 <sup>ab</sup> ± 0.92  |
| Д        | 239.9   | 242.4    | 237.7     | 241.3    | 239.18  | 240.10 <sup>ac</sup> ± 1.83 |
| Т        | 257.3   | 243.1    | 256.5     | 259.04   | 259.39  | 255.07 <sup>bc</sup> ± 6.80 |

\*(p < 0.05)

Табела 6: Концентрација на вкупни феноли во ЕЕП (пет повторувања)



Графикон 2: Концентрација на вкупни феноли кај ЕЕП од различни региони

На Табела 6 и Графикон 2 се прикажани значителни варијации во концентрацијата на вкупните феноли меѓу трите примероци на прополис. Примерокот од пчеларникот М има најниска просечна концентрација на феноли (54.05 mg/g), во споредба со примероците од пчеларниците Д и Т, кои покажуваат значително повисоки нивоа на феноли (240.10 mg/g и 255.07 mg/g, соодветно). Оваа разлика е статистички значајна (p < 0.05).

Присуството на значителни разлики во концентрацијата на феноли помеѓу различните примероци на прополис укажува на потенцијална голема биолошка и хемиска разновидност на прополисот. Оваа разновидност може да влијае на антиоксидативната активност на прополисот и неговите потенцијални здравствени придобивки. Сигнификантни разлики на средните вредности се обележани со еднакви суперскрипти по колони. Овие разлики можат да бидат резултат на различните ботанички извори и

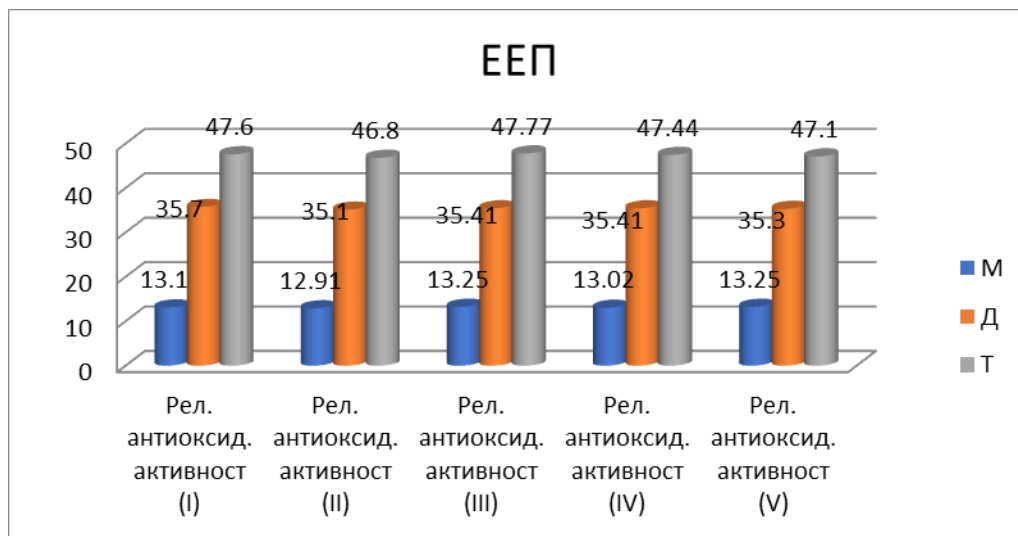
климатски услови кои влијаат на составот на фенолните соединенија во прополисот од различните пчеларници (Ибиши и сор. - Ibishi et al., 2024).

#### 4.3. Релативна антиоксидативна активност (%) кај ЕЕП (со методот DPPH)

| Примерок | Рел. антиоксид. активност (I) | Рел. антиоксид. активност (II) | Рел. антиоксид. активност (III) | Рел. антиоксид. активност (IV) | Рел. антиоксид. активност (V) | $\bar{x} \pm SD$               |
|----------|-------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|--------------------------------|-------------------------------|--------------------------------|
| М        | 13.1                          | 12.91                          | 13.25                           | 13.02                          | 13.25                         | 13.11 <sup>ab</sup> $\pm$ 0.13 |
| Д        | 35.7                          | 35.1                           | 35.41                           | 35.41                          | 35.3                          | 35.38 <sup>ac</sup> $\pm$ 0.19 |
| Т        | 47.6                          | 46.8                           | 47.77                           | 47.44                          | 47.1                          | 47.34 <sup>bc</sup> $\pm$ 0.35 |

\*( $p < 0.05$ )

Табела 7: Мерење на релативната антиоксидативна активност кај прополис (пет повторувања)



Графикон 3: Релативна антиоксидативна активност кај ЕЕП од различни региони

На Табела 7 и Графикон 3 се прикажани значителни разлики во релативната антиоксидантска активност меѓу примероците од три пчеларници. Примерокот од пчеларникот М има најниска просечна активност (13.11%), додека примероците од пчеларниците Д и Т покажуваат значително повисоки вредности (35.38% и 47.34%, соодветно). Овие разлики се во корелација со концентрацијата на феноли прикажана во Табела 6, при што примероците од пчеларниците Д и Т, кои имаат поголема концентрација на феноли, покажуваат и повисока антиоксидантска активност. Тестот на значајност покажува дека разликите во антиоксидативната активност помеѓу различните примероци се статистички значајни ( $p < 0.05$ ). Суперскриптите (a, b, c) во табелата

укажуваат на значителни разлики помеѓу средните вредности, при што примероците од пчеларникот М се значително различни од оние од пчеларниците Д и Т. Овие разлики можат да бидат резултат на варијации во составот на фенолните соединенија, кои влијаат на антиоксидативната активност.

Во истражувањето на Петреска Станоева, беше испитан составот на фенолните соединенија во 13 екстракти од прополис користејќи HPLC-DAD-ESI-MS/MS. Со анализата беше овозможена идентификација на 36 различни фенолични соединенија, што покажува значителна разноликост во составот на прополисот. Резултатите покажуваат дека македонскиот прополис има повисока концентрација на феноли, која се движи од 43.75 до 637.94 mg/g, во споредба со претходно пријавената концентрација во регионот и Европа (< 80 mg/g) (Петреска Станоева - Petreska Stanoeva, 2024).

Разликите во концентрацијата на феноли можат да бидат резултат на различни ботанички извори и климатски услови. Проучувањата на Банкова и сор. (Bankova et al., 2002) покажуваат дека ботаничките извори и географските фактори можат да влијаат на составот на фенолните соединенија во прополисот. Оваа биолошка разновидност може да има значителен ефект на антиоксидативната активност и потенцијалните здравствени придобивки на прополисот.

Нашите наоди потврдуваат дека поголемата концентрација на вкупни феноли е во корелација со повисока антиоксидативна активност, што е во согласност со резултатите прикажани на Табела 7 и Графикон 3. Примероците од пчеларниците Д и Т, со повисоки концентрации на феноли, покажуваат и повисока антиоксидативна активност (35.38 и 47.34, соодветно) во споредба со примерокот од пчеларникот М (13.11). Слични резултати беа опишани во студијата на Селим и сор. (Selim et al., 2021), која истакнува дека антиоксидантските својства на прополисот се директно поврзани со концентрацијата на феноли.

Поголемата концентрација на феноли не само што ја подобрува антиоксидативната активност, туку може и да го зголеми потенцијалот на прополисот за здравствени придобивки. Присуството на висока концентрација на феноли во нашите примероци е значајно во контекст на употребата на прополисот во исхраната на бројлерите. Според Махфуз и сор. (Mahfuz et al., 2019), додавањето на фенолни соединенија во исхраната на бројлерите може да го подобри нивниот имунолошки одговор и да го зголеми квалитетот на месото. Овие наоди се потврдени од Сураи и сор. (Surai et al., 2019), кои истакнуваат дека фенолните антиоксиданти можат да ги подобрат перформансите на бројлерите, вклучувајќи го зголемувањето на дневниот раст и конверзијата на храната. Високата концентрација на феноли во македонскиот прополис укажува на неговиот потенцијал како природен додаток за подобрување на здравствената состојба и продуктивноста на бројлерите. Овие резултати може да имаат импликации за развој на нови додатоци во исхраната на птиците и за подобрување на нивната здравствена состојба и продуктивност.

## 5. Заклучок

Заклучоците укажуваат на значајни варијации во физичките параметри и биоактивните компоненти на прополисот во зависност од географското потекло и ботаничките извори. Разликите во содржината на вкупните феноли и антиоксидантната активност помеѓу различни региони укажуваат на тоа дека квалитетот и биолошката активност на прополисот се резултат на комплексна интеракција помеѓу локалните услови, ботаничките видови и методите на обработка. Исто така, е истакната потребата за стандардизација на

методите на екстракција, за да се обезбеди конзистентен и оптимален ефект, особено во примената на прополисот во исхраната на животните и во медицинските и фармацевтските препарати. Тековните истражувања за употреба на прополис како природен адитив во исхраната на бројлери ќе помогнат во оценувањето на неговиот потенцијал за подобрување на здравјето и продуктивноста на животните, со можност за широка примена во производството на органска храна. Овие наоди отвораат нови можности за развојни истражувања на прополисот како вреден природен ресурс со значителен потенцијал за различни области.

### **Благодарност:**

Изразувам искрена благодарност до истражувачкиот тим на Институтот за екологија и технологија при Универзитетот во Тетово, како и до научно-истражувачката лабораторија на Факултетот за медицински науки на Универзитетот во Тетово. Голема благодарност до наставниот и соработничкиот кадар на Факултетот за биотехнички науки - Битола, за поддршката при спроведување на дел од моето истражување во лабораторијата за екстракција на етерични масла и зачини.

### **6. Користена литература**

1. Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology*, 100(1-2), 114-117. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.05.009>
2. Bankova, V. S., Popova, M., Bogdanov, S., & Sabatini, A. G. (2002). Propolis: Recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 33(3), 123-145. <https://doi.org/10.1051/apido:2002002>
3. Bankova, V., Popova, M., & Trusheva, B. (2014). Propolis volatile compounds: Chemical diversity and biological activity: A review. *Chemistry Central Journal*, 8, 28. <https://doi.org/10.1186/s13065-014-0028-1>
4. Bankova, V., Popova, M., Bogdanov, S., & Sabatini, A. G. (2000). Chemical composition of propolis: Recent developments. In A. Rahman (Ed.), *Studies in Natural Product Chemistry* (Vol. 37, pp. 43-126). Elsevier.
5. Bankova, V., Trusheva, B., & Popova, M. (2021). Propolis extraction methods: A review. *Journal of Apicultural Research*, 60(5), 734-743. <https://doi.org/10.1080/00218839.2021.1907336>
6. Beretta, G., et al. (2005). Standardization of antioxidant properties of propolis by a combination of spectrophotometric and chromatographic methods. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 57(5), 761-767. <https://doi.org/10.1211/jpp.57.5.0002>
7. Bertonec, J., Doberšek-Urbanc, S., Jamnik, M., & Golc, W. (2007). Antioxidant properties of Slovenian honeys. *Food Chemistry*, 105(2), 822-828. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.03.043>
8. Cengiz, O., et al. (2019). Propolis supplementation in broiler diets: Effects on performance, carcass yield, and blood biochemical parameters. *South African Journal of Animal Science*, 49(5), 847-854. <https://doi.org/10.4314/sajas.v49i5.6>
9. Cussler, E. L. (2009). *Diffusion: Mass transfer in fluid systems*. Cambridge University Press.
10. Durazzo, A., Lucarini, M., Plutino, M., Pignatti, G., Karabagias, I. K., Martinelli, E., Souto, E. B., Santini, A., & Lucini, L. (2021). Antioxidant properties of bee products

- derived from medicinal plants as beekeeping sources. *Agriculture*, 11(11), 1136. <https://doi.org/10.3390/agriculture11111136>
11. European Food Safety Authority (EFSA). (2018). Technical report on propolis extract for use in plant protection. EFSA Supporting Publication EN-1494, 56 pages.
  12. Farooqui, T. A. (2012). Beneficial effects of propolis on human health and neurological diseases. *Frontiers in Bioscience-Elite*.
  13. Hossain, R., Quispe, C., Khan, R. A., Saikat, A. S. M., Ray, P., Ongalbek, D., Yeskaliyeva, B., Jain, D., Smeriglio, A., Trombetta, D., Kiani, R., Kobarfard, F., Mojgani, N., Saffarian, P., Ayatollahi, S. A., Sarkar, C., Islam, M. T., Keriman, D., Uçar, A., Martorell, M., Sureda, A., Pintus, G., Butnariu, M., Sharifi-Rad, J., & Cho, W. C. (2022). Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. *Chinese Medicine*, 17(1), 100. <https://doi.org/10.1186/s13020-022-00651-2>
  14. Ibishi, B., Karapetkovska-Hristova, V., Kolovski, V., Beadini, N., & Pavlović, I. (2024). Comparative evaluation of physical and phenolic profiles in propolis from N. Macedonian regions. *Asian Journal of Advanced Research and Reports*, 18(8), 234-241. <https://doi.org/10.9734/ajarr/2024/v18i8725>
  15. Ibishi, B., Kolovski, V., Xhezairi, B., & Karapetkovska-Hristova, V. (2023). Study on methods for extracting propolis collected in mountain apiaries. *Journal of Agriculture and Sustainable Rural Development (JASRD)*, 1(1-2), 32-37. <https://sites.google.com/unite.edu.mk/jard/vol-1-no-1-2-2023>
  16. Kolovski, V. (2023). Nutritional value and functional properties of raw propolis and its extracts (Master's thesis). Faculty of Biotechnical Sciences, University of Bitola.
  17. Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 84(3), 329–339.
  18. Kuropatnicki, A. K. (2013). Propolis: A review of its pharmacological properties and therapeutic applications. *Phytotherapy Research*, 27(5), 673-683.
  19. Mahfuz, S., Shang, Q., & Piao, X. (2021). Phenolic compounds as natural feed additives in poultry and swine diets: A review. *Journal of Animal Science and Biotechnology*, 12(1), 48. <https://doi.org/10.1186/s40104-021-00565-3>
  20. Marcucci, M. C. (1995). Propolis: Chemical composition, biological properties, and therapeutic activity. *Apidologie*, 26(2), 83-99. <https://doi.org/10.1051/apido:19950205>
  21. Omar, A., et al. (2016). The effects of propolis on the performance, carcass characteristics, and gut microbiota of broiler chickens. *Poultry Science*, 95(12), 2876-2884. <https://doi.org/10.3382/ps/pew290>
  22. Petreska Stanoeva, J. (2024). Phenolic fingerprint of Macedonian propolis. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 43(1), 87-98.
  23. Petreska Stanoeva, J., et al. (2024). Phenolic content in Macedonian propolis extracts: A comparative analysis. *Journal of Natural Products*. [In press]
  24. Piozzi, F., Bruno, M., Rosselli, S., & Maggio, A. (2005). Advances on the chemistry of furanoditerpenoids from *Teucrium* genus. *Heterocycles*, 65(5), 1221-1234.
  25. Prakash, A. (2001). Antioxidant activity. *Analytical Progress*, 19, 2.
  26. Salatino, A., Fernandes-Silva, C. C., Righi, A. A., & Salatino, M. L. (2011). Propolis research and the chemistry of plant products. *Natural Product Reports*, 28(5), 925-936. <https://doi.org/10.1039/c0np00072h>
  27. Selim, S., Hussein, E., Abdel-Megeid, N. S., Melebary, S. J., Al-Harbi, M. S., & Saleh, A. A. (2021). Growth performance, antioxidant activity, immune status, meat quality,



- liver fat content, and liver histomorphology of broiler chickens fed rice bran oil. *Animals* (Basel), 11(12), 3410. <https://doi.org/10.3390/ani11123410>
28. Seven, P. T., Yilmaz, S., & Tülay, D. (2008). The effects of dietary Turkish propolis and vitamin C on performance and digestibility of nutrients in laying hens under different environmental temperatures. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*, 92(5), 645-653. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0396.2008.00800.x>
  29. Silici, S., & Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*, 99(1), 69-73. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.01.018>
  30. Surai, P. F., Kochish, I. I., Fisinin, V. I., & Kidd, M. T. (2019). Antioxidant defence systems and oxidative stress in poultry biology: An update. *Antioxidants* (Basel), 8(7), 235. <https://doi.org/10.3390/antiox8070235>
  31. Wang, H. (2013). Propolis: Its chemical composition and medicinal applications. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 408-422. <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.12.011>
  32. Živković, J., Velicković, J., Adamović, D., Đorđević, N., & Mihajlović, I. (2020). Biological properties and chemical composition of propolis from different regions of Serbia. *Journal of Apicultural Research*, 59(2), 220-230. <https://doi.org/10.1080/00218839.2019.1683567>
  33. Zuhendri, F., Ravalia, M., Kripal, K., Chandrasekaran, K., Fearnley, J., & Perera, C. O. (2021). Propolis in metabolic syndrome and its associated chronic diseases: A narrative review. *Antioxidants*, 10(3), 348. <https://doi.org/10.3390/antiox10030348>
  34. Zullkiflee, N., Taha, H., & Usman, A. (2022). Propolis: Its role and efficacy in human health and diseases. *Molecules*, 27(18), 6120. <https://doi.org/10.3390/molecules27186120>