

ЕКСТРАКТИ ПРОПОЛИСА ИЗ ЈУЖНЕ СРБИЈЕ ДОБИЈЕНИ РАЗЛИЧИТИМ ТЕХНИКАМА ЕКСТРАКЦИЈЕ

Маријана Васић¹, Катарина Рајковић², Валентина Симић³

Апстракт

Главни циљ рада био је да се утврди утицај технике екстракције на принос и укупан садржај фенола у екстрактима прополиса из јужне Србије. Представљено је поређење ефикасности три технике екстракције прополиса: мацерација, топлотна рефлукс екстракција и ултразвучна екстракција, у погледу приноса и садржаја укупних фенола у добијеним екстрактима прополиса. Екстракти добијени топлотном рефлукс екстракцијом садрже веће количине екстрахованих супстанци, као и фенолних једињења, од екстраката добијених мацерацијом и ултразвучном екстракцијом.

Кључне речи: екстракти прополиса, рефлукс екстракција, мацерација, ултразвучна екстракција

Увод

Прополис је смоласта природна супстанца коју сакупљају медоносне пчеле из пупољака и ексудата из различитих биљних извора, а која се користи у народној медицини због својих корисних биолошких и фармаколошких својстава као антиоксиданс (Ahnet et al., 2007; Jug et al., 2014; Moreira et al., 2008; Miguel et al., 2010; Miguel et al., 2014). Такође, прополис показује антимикуробну (Jug et al., 2014; Castro et al., 2009; Neves et al., 2016; Prytyk et al., 2003) и антитуморску активност (Castro et al., 2009). Хемијски састав прополиса варира у зависности од вегетације одређеног географског подручја (Kumazawa et al., 2004). Прополис се обично састоји од смоле и биљних балзама (50-70%), есенцијалних и ароматичних уља, пчелињег воска (30-50%), полена (5-10%) и осталих састојака. Флавоноиди, ароматичне киселине, дитерпеноидне киселине, тритерпеноиди и фенолна

¹ Маријана Васић, др, Професор струковних студија, Висока техничко-технолошка школа струковних студија Крушевац, Косанчићева 36, 37000 Крушевац, Србија, Тел: +38164155 0304, Е-mail: vasicmarijana72@gmail.com

² Катарина Рајковић, др, Ванредни професор, Фармацеутски факултет, Универзитет „Бијељина“, Павловића пут бб, 76300 Бијељина, Босна и Херцеговина, Тел: +381 641633299, Е-mail: katar1970@gmail.com

³ Валентина Симић, др, Доцент, Универзитет „Унион- Никола Тесла, Београд, Факултет примењених наука, Обреновићева 46, Ниш, Србија, Тел: +381698014251, Е-mail: valentinasic70@yahoo.com

једињења главни су секундарни метаболити прополиса (Castro et al., 2009; Silva et al., 2008; El Sohaimy et al., 2014).

У овом раду представљена је карактеризација екстракта прополиса из Јужне Србије. Екстракти прополиса са подручја Јужне Србије су добијени мацерацијом, топлотном рефлуксном екстракцијом и ултразвучном екстракцијом. Ове технике упоређене су у односу на релевантне карактеристике екстрата: принос екстракције и укупан фенолни садржај.

Материјали и методе

Хемикалије

Све хемикалије и реагенси су аналитичког квалитета и испоручени су из Sigma-e (St. Louis, USA) и Merck-Alkaloid-a (Скопље, Северна Македонија).

Узорци прополиса

Узорци прополиса прикупљени су на подручјима јужне Србије. Узорци су чувани на 0–5°C и заштићени од собне светлости до анализе. Сирови узорци прополиса су замрзнути на -20°C преко ноћи, а затим су брзо самлевени у авану до добијања хомогених прашкова.

Технике екстракције

96% етанол је коришћен као растварач за екстракцију екстрактивних материја из узорака прополиса код свих примењених метода екстракције.

Мацерација

Припремљени прополис (2,0g) и 20 cm³ растварача стављени су у Ерленмејерове боце, које су потом смештене у термостатирано водено купатило. Екстракција је изведена на 25°C током 48h.

Топлотна рефлукс екстракција

Припремљени прополис (2,0g) и 20 cm³ растварача стављени су у апаратуру за рефлукс. Екстракција је изведена на температури кључања растварача (*T_k*) 4h.

Ултразвучна екстракција

Прикупљени биљни материјал (2,0g) екстрахован је са 20 cm³ растварача у присуству нискофреквентног ултразвука. Соникација је извршена током 1,5 h коришћењем ултразвучне каде (Sonic, Ниш, Србија; унутрашњих димензија: 30 cm × 15 cm × 20cm; укупне номиналне снаге: 3 × 50W; фреквенције: 40 kHz). Температура је одржавана на 40 °C.

На крају сваког поступка екстракције, течни екстракт је одвојен од чврстог остатка вакуум филтрацијом. Добијени екстракти чувани су у замрзивачу за касније анализе. Екстракт прополиса је упарен у вакуму до константне масе.

Аналитичке методе

Принос екстракта прополиса

Принос екстрактивних материја израчунат је као однос између количине припремљених сувих екстраката и количине екстрахованог сировог прополиса, израженог у процентима, % (w/w).

Укупни фенолни садржај

Укупан садржај фенола у екстрактима одређен је спектрофотометријски према Folin–Ciocalteu методи користећи галну киселину као стандард (Mouhoubi-Tafinine et al., 2016). Укупни фенолни садржај изражен је у еквивалентима галне киселине у mg по 1 g екстракта прополиса (mg GAE g⁻¹ екстракта).

Статистичка анализа

Резултати су изражени као средња вредност ± стандардна девијација (SD) три независна експеримента. Bonferroni тест је коришћен за процену постојања значајних разлика у приносу екстракта, количини укупних фенола за екстракте добијене различитим техникама екстракције. Ниво значајности коришћен у статистичкој анализи података био је 95%.

Резултати и дискусија

У Табели 1 приказани су различити приноси екстракта прополиса, добијени различитим техникама екстракције.

Табела 1. Принос и садржај укупних фенола у екстрактима прополиса добијеним различитим техникама екстракције, приказани као средње вредности ± стандардна девијација.

Технике екстракције	<i>T</i> (°C)	<i>t</i> (h)	Принос екстракта прополиса (%)	Укупни феноли (mg GAE g ⁻¹ PE)
Мацерација	25	24	50,7± 2,1*	103,7 ±2,4*
Топлотна рефлукс екстракција	<i>T_к</i>	4	69,8± 2,0*	155,7 ±3,5*
Ултразвучна екстракција	40	1,5	65,3± 2,3*	114,8± 1,6*

T—температура екстракције; *T_к*—тачка кључања; *t*—време трајања екстракције; *Вредности у истој колони се значајно разликују по Bonferroni тесту (P<0.05).

Највећи принос је добијен рефлукс екстракцијом, међутим, слична вредност приноса добијена је ултразвучном екстракцијом за краће време трајања екстракције (**табела 1**). Екстракт прополиса, добијен мацерацијом после 24 h, имао јенајнижи принос, што је у складу са претходним студијама (Jug et al., 2014; Trusheva et al., 2007). Међутим, предност мацерације јенискатемпература током поступка екстракције, што није само економска предност, већ се смањује могућност деградације биоактивних екстрахованих супстанци (Jug et al., 2014; Mouhoubi-Tafinine et al., 2016; Trusheva et al., 2007).

Највећи принос екстракта прополиса при температури кључања растварача рефлукс екстракцијом може се приписати повећањурастворљивости екстрахованих супстанци (Milić et al., 2013). Нижи принос добијен ултразвучном екстракцијом у односу на рефлукс екстракцију може се приписати мањој деградацији честица прополиса под дејством ултразвучних таласа.

Садржај укупних фенола

Садржај фенолних једињења у екстрактима прополиса је приказан у **табели 1**. Највећа концентрација фенолних једињења била је у екстракту добијеном рефлукс екстракцијом, док је најнижа концентрације фенолних једињења била у екстрактима добијеним мацерацијом. Добијени резултати показују да метода екстракције утиче на количину укупних фенола на исти начин као и на принос екстракта прополиса у складу са претходним студијама (Jug et al., 2014; Trusheva et al., 2007).

Наши резултати показују да се садржај фенолних једињења у прополису из јужне Србије (**табела 1**) налази у опсегу вредности добијених за прополис са других географских локација и врло су близу резултатима из Бразила, Јужне Африке, Уругваја и Узбекистана, али значајно ниже од вредности добијених у Аустралији и Кини (Kumazawa et al., 2004). Варијација у садржају укупних фенола прополиса из различитих географских региона углавном се може приписати разлици у регионалним биљкама које користе пчеле (Kumazawa et al., 2004; Cottica et al., 2015).

Закључак

У овом истраживању смо показали утицај техника екстракције на принос и садржај укупних фенола у екстрату прополиса из јужне Србије. Екстракти добијени топлотном рефлукс екстракцијом садрже веће количине екстрахованих супстанци као и фенолних једињења у односу на екстракте добијене мацерацијом и ултразвучном екстракцијом. Наши резултати показују да је прополис из јужне Србије богат фенолним једињењима исто као и прополиси са других географских локација.

Литература

1. Ahn, M.R., Kumazawa, S., Hamasaka, T., Bang, K.S., Nakayama, T. (2007): Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China, *Food Chemistry*, 101(4), 1383–1392. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.03.045>
2. Castro, M.L., do Nascimento, A.M., Ikegaki, M., Costa-Neto, C.M., Alencar, S.M., Rosalen, P.L. (2009): Identification of a bioactive compound isolated from Brazilian propolis type 6, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 17(14) 5332-5335. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bmc.2009.04.066>
3. Cottica, M.S., Sabik, H., Antoine, C., Fortin, J., Graveline, N., Visentainer, V.J., Britten, M.(2015): Characterization of Canadian propolis fractions obtained from two-step sequential extraction, *LWT - Food Science and Technology*, 60(1), 609-614. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.08.045>
4. El Sohaimy, S.A. and Masry, S.H.D. (2014): Phenolic Content, Antioxidant and Antimicrobial Activities of Egyptian and Chinese Propolis, *American-Eurasian J. Agric. & Environ. Sci.*, 14(10), 1116-1124. <https://doi.org/10.5829/idosi.ajeaes.2014.14.10.8648>
5. Jug, M., Končić, Z.M., Kosalec, I. (2014): Modulation of antioxidant, chelating and antimicrobial activity of poplar chemo-type propolis by extraction procures, *LWT Food Science and Technology*, 57(2), 530-537. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2014.02.006>
6. Kumazawa, S., Hamasaka, T., Nakayama, T. (2004): Antioxidant activity of propolis of various geographic origins, *Food Chemistry*, 84(3), 329-339.
7. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(03\)00216-4](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(03)00216-4)
8. Miguel, G.M., Nunes, S., Dandle, S.A., Cavaco, A.M., Antunes, M.D., (2014): Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal, *Food Science and Technology*, 34, 16-23. <http://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612014000100002>
9. Miguel, G.M., Nunes, S., Dandlen, S.A., Cavaco, A.M., Antunes, M.D. (2010): Phenols and antioxidant activity of hydro-alcoholic extracts of propolis from Algarve, South of Portugal, *Food and Chemical Toxicology*, 48(12), 3418-3423. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.09.014>
10. Milić, P.S., Rajković, K.M., Stamenković, O.S., Veljković, V.B., (2013): Kinetic modeling and optimization of maceration and

- ultrasound-extraction of resinoid from the aerial parts of white lady's bedstraw (*Gallium mollugo* L.), *Ultrasonics Sonochemistry*, 20(1), 525–534.<https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2012.07.017>
11. Moreira, L., Dias, L.G., Pereira, J.A., Estevinho, L. (2008): Antioxidant properties, total phenols and pollen analysis of propolis samples from Portugal, *Food and Chemical Toxicology*, 46(11), 3482-3485. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.08.025>
 12. Mouhoubi-Tafinine, Z., Ouchemoukh, S., Tamendjari, A. (2016): Antioxydant activity of some algerian honey and propolis, *Industrial Crops and Products*, 88, 85-90. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2016.02.033>
 13. Neves, M. V. M., Silva, T.M.S., Lima, E.O., Cunha, E.V.L., Oliveira, E.J., (2016): Isoflavone formononetin from red propolis acts as a fungicide against *Candida* sp., *Brazilian journal of microbiology*, 47(1), 159-166.<https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.11.009>
 14. Prytyk, E., Dantas, A.P., Salomão, K., Pereira, A.S., Bankova, V.S., De Castro, S.L., Neto, F.R. (2003): Flavonoids and trypanocidal activity of Bulgarian propolis, *Journal of Ethnopharmacology*, 88(2-3), 189-193. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00210-1](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00210-1)
 15. Silva, B.B., Rosalen, P.L., Cury, J.A., Ikegaki, M., Souza, V.C., Esteves, A., Alencar, S.M. (2008): Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis, *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine / eCAM*, 5(3), 313-316.<https://doi.org/10.1093/ecam/nem059>
 16. Trusheva, B., Trunkova, D., Bankova, V. (2007): Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study, *Chemistry Central Journal*, 1, 13-17.<https://doi.org/10.1186/1752-153X-1-13>

PROPOLIS EXTRACTS FROM SOUTHERN SERBIA OBTAINED BY VARIOUS EXTRACTION TECHNIQUES

Marijana Vasić¹, Katarina Rajković², Valentina Simić³

Abstract

The main goal was to define the influence of the extraction technique on the yield and total phenolics content in propolis extracts from South Serbia. There has been presented a comparison of the effectiveness of three propolis extraction techniques: Maceration, Heat reflux extraction and Ultrasound-assisted extraction with respect to yield and total phenolics content in propolis extracts. The extracts obtained by the Heat reflux extraction contained higher amounts of extractive substances as well as phenolic compounds than those obtained by Maceration and Ultrasound-assisted extraction.

Key words: Propolis extract, Heat reflux extraction, Maceration, Ultrasound-assisted extraction.

¹ Marijana Vasić, PhD, Professor of Professional Studies, College of Technical and Technological School of Professional Studies Kruševac, Kosančićeva 36, 37000 Kruševac, Serbia, Tel: +38164155 0304, E-mail: vasicmarijana72@gmail.com

² Katarina Rajković, PhD, Associate Professor, Faculty of Pharmacy, University of Bijeljina, Pavlovića put bb, 76300 Bijeljina, Bosnia and Herzegovina, Tel: +381 641633299, E-mail: katar1970@gmail.com

³ Valentina Simić, PhD, Assistant Professor, Union-Nikola Tesla University, Belgrade, Faculty of Applied Sciences, Obrenovićeveva 46, Niš, Serbia, Phone: +381698014251, E-mail: valentinasimic70@yahoo.com