

## Kakvoća pilećeg mesa podrijetlom od tovnih pilića hranjenih uz dodatak prirodnog propolisa

D. Špoljarić<sup>1</sup>, G. Mršić<sup>2</sup>, M. J. Petek<sup>3</sup>, I. Špoljarić<sup>4</sup>, S. Srećec<sup>5</sup>, Ž. Cvrtlija Fleck<sup>4</sup>, K. Špiranec<sup>5</sup>, D. Mihelić<sup>5</sup>, L. Kozačinski<sup>4</sup>, M. Popović<sup>5</sup>

prethodno priopćenje

### Sažetak

Učinak dodatka nativnog propolisa na kvalitetu mesa tovnih pilića istražen je u ovom radu. Osim smolastih biljnih sastavnica, u propolisu se nalaze sekreti pčelinjih žlijezda slinovnica poput lipoifolne tvari, sluzi, ljepila, ulja, pa i voska. Propolis ima brojna terapijska djelovanja poput antimikrobnog (antibakterijsko, antivirusno, antifungalno), protuupalno, regeneracijskog (zacjeljuje rane i obnavlja oštećeno tkivo), imunostimulacijskog, anestetičkog, spazmatičnog, te antikancerogenog (antitumorsko), kardiovaskularnog (učvršćuje strukturu kapilara) i naposljetku antioksidativnog. Upotreba antibiotskih poticatelja rasta napuštena je u peradarskoj proizvodnji i nužno je pronaći alternativne strategije kontrole i prevencije infekcija. U istraživanju su korišteni bataci i bijelo meso od deset tovnih pilića iz svake pokusne skupine kako bi se ispitalo utjecaj dodatka prirodnog propolisa standardnoj krmnoj smjesi za tovnice pilića na kemijsku kvalitetu mesa pomoću standardnih kemijskih metoda. Rezultati ovog istraživanja pokazuju pozitivan učinak prirodnog propolisa na kvalitetu mesa tovnih pilića.

**ključne riječi:** tovnici pilići, propolis, kvaliteta mesa

### Uvod

Apiterapija u suvremenoj biomedicini sve je učestaliji odabir u prevenciji i terapiji ljudi i životinja, pri čemu se sve veća pažnja pridaje ljekovitim svojstvima propolisa. Smatra se da riječ propolis potječe od grčkih riječi pro (pred, za) i polis (grad) što znači zaštita grada, odnosno košnice, ili od riječi propolis, što na grčkom ili na latinskom znači zamazati odnosno zagladivati. Naime, pčele tijekom proljeća i ljeta prikupljaju smolaste konzistencije žuto-zelene do smeđe ili crveno-smeđe boje izlučevine tkiva pupoljaka i/ili kore najčešće topole, joha, jablana, breze, jasena i kestena, čime premazuju unutrašnjost košnice kako bi se zimi zaštitile od hladnoće, propuha, vremenskih nepogoda i potresa. Također propolisom poliraju i stanice sača koje im služe kao skladišta za med, cvjetni prah ili

za leglo. Osim kao gradbeni materijal košnica, propolis zahvaljujući lako hlapljivim eteričnim uljima ima izrazit protumikrobni učinak na patogenu mikrofloru košnice. Sklonost raznih vrsta pčela za sakupljanje propolisa nije jednaka. Tako, Kavkaska pčela (*Apis mellifera caucasica*) koristi velike količine propolisa (300 g), dok talijanska i ukrajinska manje. Pčele rasprostranjene u Indiji *Apis dostra*, *Apis indica* i *Apis florea*, te afrička podvrsta obične medonosne pčele (*Apis mellifera scutellata*) ne sakupljaju propolis ili ga sakupe u neznatnoj količini. Osim smolastih biljnih sastavnica, u propolisu se nalaze sekreti pčelinjih žlijezda slinovnica poput lipoifolne tvari, sluzi, ljepila, ulja, pa i voska (Špoljarić, 2013) Na osnovi dostupnih literaturnih podataka uporaba propolisa oralno i/ili parenteralno u većim količinama nije toksična

za životinje i ljude, već naprotiv ima brojna terapijska djelovanja poput antimikrobnog (antibakterijsko, antivirusno, antifungalno), protuupalnog, regeneracijskog (zacjeljuje rane i obnavlja oštećeno tkivo), imunostimulacijskog, anestetičkog, spazmatičnog, te antikancerogenog (antitumorsko), kardiovaskularnog (učvršćuje strukturu kapilara) i naposljetku antioksidativnog (Sforčin, 2007). Shodno tome, pripravci prirodnog propolisa mogli bi biti i važne sastavnice alternativne strategije nekliničkoj uporabi antibiotika, napose u proizvodnji stočne hrane za životinje namijenjene ljudskoj prehrani. Stoga, cilj ovog rada bio je prikazati kemijsku ocjenu kakvoće pilećeg mesa podrijetlom od tovnih pilića hranjenih tijekom proizvodnog procesa uz prirodni propolis.



Slika 1. Pčelinje košnice OPG Špoljarić



Slika 2. Elektronskim mikroskopom SEM-u Tescan Mira3 FEG vizualizirana pčela *Apis Mellifera Carnica* OPG-a Špoljarić (Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja Ivan Vučetić, Zagreb, Hrvatska).

### Materijal i metode

Istraživanje je provedeno u okviru VIP projekta No: 2012-11-17. Istraživanje je 38 dana provedeno na OPG Živković, Kvarter, Perušić na 90 tovnih pilića (soja ROSS 308, 45 muškog spola, 45 ženskog spola). Piliće su razvrstali u 2 skupine sa po 45 jedinki u svakoj. Skupine su držane odvojeno, ali u istom objektu. Pilići skupine C tijekom pokusa hranjeni su kontroliranom hranom namijenjenom za tov pilića (starter u dobi od 0. do 14. dana starosti, finišer I od 14. do 28. dana starosti, finišer II od 28. do 38. dana starosti). Pilićima skupine A tijekom cijelog pokusa u kontroliranu hranu za tov pilića dodavan je praškasti pripravak prirodnog propolisa u koncentraciji od 0,1%. Tijekom cijelog pokusa pilićima su hrana i voda bili dostupni *ad libitum*. Za umješavanje u kontroliranu hranu za

tovnih pilića dodavan je praškasti pripravak prirodnog propolisa proizvođača OPG Špoljarić, Zagreb (Slika 1).

Propolis je uzeti iz zajednica pčela *Apis Mellifera Carnica* (Slika 2.) sa područja Ivančić Grada. Nakon oduzimanja, hlađen je jedan sat na -20 °C, te je potom usitnjen. Nakon što su uzeti uzorci za analitičke i mikrobiološke analize, uzorci usitnjenog prirodnog propolisa analizirani su metodom vezanog sustava plinske kromatografije - spektrometrija masa (GC-MS, Perkin Elmer, SAD) (Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja Ivan Vučetić, Zagreb, Hrvatska) te elektronskim mikroskopom SEM Philips XL 30 s EDX detektorom pomoću programskog paketa Genesis verzija 6.02 (proizvođač Edax), i EDX detektora aktivne površine 10 mm<sup>2</sup> (proizvođač EDAX, model 135-10 PV9760/68) (Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja Ivan Vučetić, Zagreb, Hrvatska). Potom je prirodni propolis u prahu umješavan u komercijalnu hranu za tov pilića u koncentraciji 0,1% (Slika 3,4).

Na kraju pokusa, 38. dana, u klonici od po deset pilića iz svake pokusne skupine uzeti su po dva uzorka bataka i mesa prsju kako bi se ispitalo učinak dodanog pripravka prirodnog propolisa u komercijalnu hranu za tov pilića na kemijski sastav pilećeg mesa. Na Zavodu za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane Veterinarskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu u pilećem mesu određeni su udjeli: vode (metoda po ISO 1442 standardu), masti (metoda po ISO 1443 standardu), bjelancevina (metodom ISO 937 standardu) te pepela (metoda po ISO 936 standardu). Statistička provjera dobivenih analitičkih rezultata u udjelu masti i bjelancevina u mesu kontrolne (C skupina) grupe i tretirane grupe (A) pilića, provedena je uporabom t-testa za vezane uzorke.

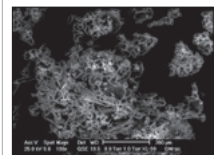
### Rasprava i rezultati

U suvremenom intenzivnom uzgoju

konzumnih životinja znatni se napore ulažu u razumijevanje crijevnih infekcijskih bolesti, njihove dijagnoze, uključujući i biologiju uzročnika, otpornosti domaćina i liječenja, pri čemu se malo se zna o preventivi tih bolesti s pomoću imunomodulacijskih i nutritivnih strategija. Naime, svi ti problemi do sada bili su rješavani dodavanjem subterapijskih doza antibiotskih promotora rasta u stočnu hranu. Bojazan od mogućeg rizika po ljudsko zdravlje zbog uporabe i/ili zlouporabe antibiotskih promotora rasta u hrani za konzumne životinje, dovela je do zabrane njihove uporabe u zemljama EU (propis EK broj 1831/2003). Radi prilagodavanja na povlačenje antibiotskih promotora rasta iz uporabe (u EU od 2006. godine), sada postaje nužno i za Hrvatsku, kao zemlju članicu EU od 01.07.2013. godine, da prihvati propise EU te da se priključi europskim znanstvenim trendovima u veterinarskoj medicini u cilju utvrđivanja relevantnih zdravstvenih kriterija, kao i znanstveno utemeljenih preporuka



Slika 3. Uzorak suhe biomase u prahu nativnog propolisa



Slika 4. Elektronskim mikroskopom SEM-u Tescan Mira3 FEG vizualizirana ultrastruktura biomase u prahu prirodnog propolisa (Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja Ivan Vučetić, Zagreb, Hrvatska).

<sup>1</sup> dr. sc. Daniel Špoljarić, prof. dr. sc. Maja Popović, Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zavod za biologiju, Heinzelova 55, Zagreb

<sup>2</sup> doc. dr. sc. Gordana Mršić, dr. sc. Maja Jelena Petek, Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja, Ivan Vučetić MUP-a RH, Illica 335, Zagreb

<sup>3</sup> dr. sc. Sinisa Srećec, prof. Visoka gospodarska učilište u Križevcima, Miloslava Demetera 1, Križevci

<sup>4</sup> prof. dr. sc. Željka Cvrtlija Fleck, prof. dr. sc. Lidija Kozačinski, Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zavod za higijenu, tehnologiju i sigurnost hrane, Heinzelova 55, Zagreb

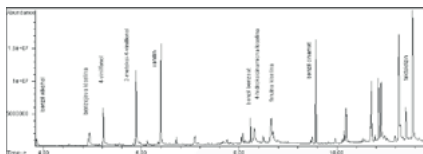
<sup>5</sup> Katarina Špiranec, dr. med. vet., prof. dr. sc. Damir Mihelić, Sveučilište u Zagrebu, Veterinarski fakultet, Zavod za anatomiju, histologiju i embriologiju, Heinzelova 55, Zagreb

Tablica 1. GC-MS kvalitativna analiza pokusnih pripravaka.

GC-MS kvalitativna analiza pripravka prirodnog propolisa
benzil alkohol
benzojeva kiselina
4-vinilfenol
2-metoksi-4-vinilfenol
vanilin
benzil-benzoat
4-hidroksicinamična kiselina
ferulna kiselina
tektokrizin

za uporabu alternativa antibiotičkim poticateljima rasta u hrani. Stoga, danas, kada se napušta uporaba antibiotičkih poticatelja rasta i u peradarskoj proizvodnji, jedna od mogućih alternativnih strategija za kontrolu i prevenciju infekcija pilića u intenzivnom uzgoju mogla bi biti i umješavanje prirodnog propolisa u stočnu hranu, pri čemu je nužno provjeriti i definirati njegove moguće probiotičke i imunomodulacijske učinak na zdravlje i proizvodnost pilića u tovu. Na osnovi literaturnih podataka poznato je da sastav propolisa ovisi o biljnim vrstama s kojih ga pčele prikupljaju pri čemu su njegove osnovne sastavnice: flavonoidi, derivati cinaminske kiseline, terpeni, alkoholi, ketoni, fenoli, kalcioni, heteroaromatski spojevi, ugljikohidrati, te 22 minerala i sedam vitamina (Dobrowolski i sur., 1991; Bankova i sur., 2000). U ovim istraživanjima metodom vezanog sustava plinske kromatografije-spektrometrije masa (GC-MS) u pripravku prirodnog propolisa, umješavanom u standardnu hranu za piliće, nije utvrđeno prisustvo toksičnih spojeva štetnih po zdravlje hranjenih pilića (Tablica 1, Slika 5). Također niti elementnom kemijskom analizom uzorka pripravka prirodnog propolisa na prisustvo teških metala rađenog na elektronskom mikroskopu SEM-u Philips XL 30 s EDX detektorom (EDAX), aktivne površine 10mm<sup>2</sup>, u ovom radu nije utvrđeno njihovo prisustvo, dok su samo u tragovima utvrđeni natrij, sumpor i kalcij (Slika 6).

Oršolić i sur. (2008) napominju da se



Slika 5. Histogramski prikaz GC-MS kvalitativne analize pripravka prirodnog propolisa korištenog u pokusu (Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja Ivan Vučetić, Zagreb, Hrvatska).

Tablica 2. Kemijski sastav mesa pilića hranjenih uz dodatak prirodnog propolisa tijekom 38 dana pokusa (n=10 po svakoj skupini)

Pokusne skupine	Rasjek pilećeg mesa	Voda, %	Pepeo, %
C	Batak	72,19	1,02
	Bijelo meso	70,58	1,14
A	Batak	73,00	1,06
	Bijelo meso	72,85	1,13

Tablica 3. Razlike u udjelu masti i bjelančevina (%) u mesu bataka pilića (n=10 po svakoj skupini)

Tretmani	C		A	
	Mast	Bjelančevine	Mast	Bjelančevine
Prosjek	7,46	17,90	6,94	17,38
St. Pogreš.	0,19	0,075	0,08	0,092
Usporedbe	C vs A	C vs A	-	-
Razlika	0,52*	0,52**	-	-
Stand. Dev. Razlike	0,623	0,478	-	-
t	2,656	3,414	-	-
p	0,0261	0,0076	-	-

\*\*\*: p<0.01; \*\*: p<0.05; ns: nije signifikantno; C=Kontrola, A=tretman s 0,1% propolisa

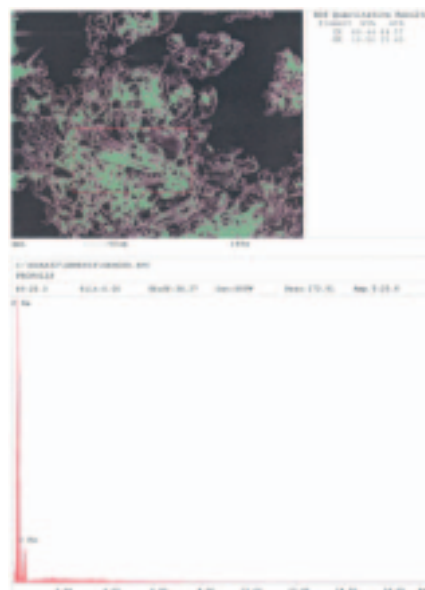
Tablica 4. Razlike u udjelu masti i bjelančevina u bijelom mesu pilića (n=10 po svakoj grupi); A grupa – pilići hranjeni prirodnim propolisom tijekom 38 dana, C-kontrola (bez propolisa)

Tretmani	C		A	
	Mast	Bjelančevine	Mast	Bjelančevine
Prosjek	5,656	20,076	6,035	19,801
St. Pogreš.	0,128	0,101	0,127	0,102
Usporedbe	-	C vs A	A vs C	-
Razlika	-	0,275 ns	0,379*	-
Stand. Dev. Razlike	-	0,466	0,434	-
t	-	1,864	2,757	-
p	-	0,095	0,022	-

\*\*\*: p<0.01; \*\*: p<0.05; ns: nije signifikantno; C=Kontrola, A=tretman s 0,1% propolisa

flavonoidnim sastavnicama propolisa pripisuje probiotički i imunostimulacijski učinak, da je intenzitet tih učinaka

ovisi o samoj koncentraciji flavonoida u pripravku propolisa koja varira s obzirom na različita geografska područja

Slika 6. Elementna kemijska analiza uzorka pripravka prirodnog propolisa na prisustvo teških metala rađena na elektronskom mikroskopu SEM-u Philips XL 30 s EDX detektorom (EDAX), aktivne površine 10mm<sup>2</sup> (Centar za forenzična ispitivanja, istraživanja i vještačenja Ivan Vučetić, Zagreb, Hrvatska).

i biljke koje tamo obitavaju. Za pripravak prirodnog propolisa u ovom radu dodavanog u hranu za piliće, u našim do sada neobjavljenim istraživanjima, utvrdili smo njegove povoljne učinke na zdravstvene, imunostimulativne i proizvodne pokazatelje u pilića. Međutim, u mesu pilića hranjenih uz dodatak prirodnog propolisa utvrdili smo promijenjeni kemijski sastav. Naime, meso pilića hranjenih uz dodatak pripravka prirodnog propolisa nije imalo promijenjen kemijski sastav s obzirom na udjele vode i pepela u mesu prse

muskulature (bijelo meso) i batacima (tamno meso) pokusnih pilića u odnosu na meso 38 dana starih tovnih pilića hranjenih komercijalnom hranom (Tablica 2).

Međutim, iz Tablice 3 posve je razvidno da su udjele masti i bjelančevina u mesu bataka pilića hranjenih prirodnim propolisom signifikantno veći u usporedbi s kontrolnom skupinom (na razini pogreške p<0,05 za udjel masti odnosno p<0,01 za udjel bjelančevina).

Nadalje, u bijelom mesu udjel masti u tretiranoj (A skupini) pilića, signifikantno je veći u usporedbi s kontrolom (p<0,05), dok nema signifikantnih razlika u udjelu bjelančevina između kontrolne i tretirane grupe pilića.

### Zaključak

Promijenjeni kemijski sastav mesa pilića hranjenih uz dodatak prirodnog propolisa, neovisno o njegovim utvrđenim povoljnim učincima na zdravstvene, imunostimulativne i proizvodne pokazatelje, indikativni je pokazatelj opravdanosti daljnjeg istraživanja umješavanja propolisa u krmne smjese za konzumne životinje i to ovisno o koncentraciji umješavanja, te duljini perioda dodavanja tijekom uzgojnog razdoblja.

### Zahvala

Ovaj rad je financiran od strane VIP projekta broj 2012-11-17, Ministarstva znanosti, obrazovanja i sporta (053-0532265-2255).

### Literatura

- Bankova, V., S. L. De Castro, M. C. Marucci (2000): Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, 31, 3-15.
- Dobrowolski, J. W., S. B. Vohora, K. Sharma, S. A. Shah, S. A. Naqvi, P. C. Dandiya (1991): Antibacterial, antifungal, anti-inflammatory, antipyrretic studies on propolis bee products. *J. Ethnopharmacol.*, 35(1), 77-82.
- Oršolić, N., A. Horvat Knežević, V. Benković, I. Bašić (2008): Benefits of use of propolis and related flavonoids against the toxicity of chemotherapeutic agents. In *Scientific evidence of the use of propolis in ethnomedicine*. Edited by Oršolić N., I. Bašić. Transworld Research Network, 195-222.
- Sforzin, J. M. (2007): Propolis and the immune system: a review. *J. Ethnopharmacol.*, 113, 1-14.
- Špoljarić, D. (2013): Modulacijski učinci nativnog propolisa, pripravka plemenite pečurke i β-glukana na imunostimulativne pokazatelje odbijene prasadi. *Dissertacija*, Veterinarski fakultet Sveučilišta u Zagrebu
- Dostavljeno: 10.9.2013.  
Prihvaćeno: 28.10.2013.