

\*Magdalena Woźniak<sup>1</sup>, Izabela Ratajczak<sup>1</sup>, Bogdan Kędzia<sup>2</sup>, Tomasz Rogoziński<sup>3</sup>

## Zawartość wybranych pierwiastków w propolisie i jego etanolem ekstrakcie

<sup>1</sup>Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Kierownik Katedry: prof. dr hab. n. roln. Piotr Goliński

<sup>2</sup>Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu

Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. n. med. Grzegorz Spychalski

<sup>3</sup>Katedra Meblarstwa, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Kierownik Katedry: prof. dr hab. inż. Jerzy Smardzewski

### THE CONTENT OF SOME ELEMENTS IN PROPOLIS AND ITS ETHANOLIC EXTRACT

#### SUMMARY

Concentrations of 14 elements (Ca, Mg, K, Na, Fe, Zn, Mn, Cu, Si, Pb, Cd, Cr, Co and Ni) in propolis collected from two regions in Poland and their ethanolic extracts were determined by flame atomic absorption spectrometry (FAAS). The samples were collected from Greater Poland Voivodeship and Warmian-Masurian Voivodeship in 2014. The results showed that the contents of Mg, K, Na, Fe, Zn, Mn and Cu were much more higher in raw propolis collected from both regions than in their extracts. The levels of Pb, Cd, Cr, Co and Ni were not detected in raw propolis samples and their extracts.

KEYWORDS: PROPOLIS – ATOMIC ABSORPTION SPECTROMETRY (AAS) – ELEMENTS CONTENT

### Wprowadzenie

Propolis jest żywicznym materiałem pochodzenia roślinnego, zbieranym przez pszczoły z różnych gatunków drzew i roślin zielonych, który następnie wykorzystywany jest przez nie do uszczelniania i wzmocnienia konstrukcji ula, a także do higienizacji jego wnętrza oraz komórek plastra, w których matka pszczela składa jajeczka (1). Liczne badania naukowe dowiodły, że ekstrakty propolisu wykazują korzystne właściwości biologiczne, wśród których można wymienić: aktywność przeciwutleniającą, przeciwnowotworową oraz przeciw-wirusową (1-3). Ponadto ekstrakty propolisu powodują zahamowanie wzrostu różnych gatunków bakterii i grzybów (4, 5). Wszystkie te właściwości przyczyniają się do szerokiego zastosowania samego surowca, jak i jego ekstraktów, m.in. w przemyśle spożywczym,

kosmetycznym, farmaceutycznym, ale również optoelektronice czy ochronie drewna (1, 6-8).

Skład chemiczny propolisu jest bardzo zróżnicowany i zależy od wielu czynników. Do najczęściej oznaczanych związków występujących w próbkach tego surowca należą flawonoidy oraz kwasy fenolowe i ich estry (9-11). Jednak w doniesieniach naukowych można również znaleźć dane dotyczące zawartości pierwiastków, w tym także metali ciężkich, oznaczanych w próbkach propolisu pochodzących z różnych obszarów geograficznych, tj. Polski, Chin, Argentyny czy Brazylii (12-17).

Autorzy polskich publikacji oznaczali zawartość pierwiastków w surowym propolisie pochodzącym z województwa małopolskiego oraz obszarów Wrocławia i wykazali obecność ołowiu, kadmu i niklu w granicach dopuszczalnych przez polskie normy (12-14). Wyniki badań propolisu pochodzącego z Hiszpanii dodatkowo potwierdziły obecność ołowiu, chromu i kadmu, a z Chin ponadto niklu i kobaltu (16, 17). Formicki i wsp. (13) analizowali zawartość magnezu, żelaza i cynku w próbkach propolisu pochodzącego z różnych lokalizacji w województwie małopolskim i uzyskali bardzo zróżnicowane wyniki dla poszczególnych miejsc pozyskania. Zawartość magnezu oznaczono w zakresie 137-823 mg/kg, żelaza: 30-101 mg/kg, a cynku: 17,7-71,5 mg/kg. Zróżnicowane wyniki stężeń dla wapnia, potasu, żelaza, sodu, magnezu, cynku i manganu uzyskali również Lima i wsp. (15) w próbkach propolisu pochodzącego z różnych obszarów Argentyny.

Najczęściej publikowane są wyniki zawartości pierwiastków w surowym propolisie. Niewiele jest danych

dotyczących ich poziomu w ekstraktach tego surowca. W etanolowym ekstrakcie propolisu (EEP) pochodzącego z Polski oznaczono takie mikro- i makroelementy jak: sód, wapń, mangan, potas, żelazo, krzem, miedź, cynk, glin, selen i tytan (18, 19). Kaleta (19) oznaczyła ołów i kadm w etanolowych ekstraktach propolisu, wykazując obecność kadmu tylko w jednej z analizowanych prób na poziomie 0,06 mg/kg, natomiast ołowiu w przedziale 0,12-0,31 mg/kg. Oznaczone wartości stężeń tych pierwiastków w EEP znajdowały się poniżej limitu podanego w Polskiej Normie (19). Ponadto Kędzia i wsp. (20) wykazali, że stężenia metali szkodliwych dla zdrowia (arsenu, kadmu, miedzi, cynku i ołowiu), oznaczonych w próbkach surowego propolisu, były znacznie wyższe w porównaniu z wartością tych pierwiastków w ekstraktach.

### **Cel pracy**

Celem pracy było porównanie zawartości wybranych pierwiastków, w tym także metali ciężkich, w propolisie oraz jego etanolowych ekstraktach.

### **Materiał i metody**

#### ***Ekstrakty propolisu***

Do badań wykorzystano próbki propolisu pochodzące z województwa wielkopolskiego oraz warmińsko-mazurskiego zebrane wiosną 2014 roku. Ekstrakty propolisu uzyskano poprzez ekstrakcję 20 g surowca 70% alkoholem etylowym w stosunku 1:10 (m/v). Proces ekstrakcji prowadzony był z wykorzystaniem wytrząsarki, bez dostępu światła i w temperaturze pokojowej, przez okres 5 dni. Po tym czasie ekstrakty przesączono, a następnie zagęszczono do suchej masy pod zmniejszonym ciśnieniem (EEP). W celu przygotowania 70% EtOH oraz roztworów do analizy AAS wykorzystywano wodę dejonizowaną o czystości Millipore.

#### ***Przygotowanie próbek***

Surowy propolis oraz jego ekstrakty odważano do teflonowych naczyń, do których następnie dodawano stężony kwas azotowy(V) cz.d.a. AAS firmy Sigma. Próbkę mineralizowano wykorzystując piec mikrofalowy firmy CEM. Po procesie mineralizacji otrzymane roztwory przesączono i rozcieńczono wodą dejonizowaną do objętości 50 ml. Procedurę tę powtórzono trzykrotnie dla każdej próbki.

#### ***Wykonanie oznaczenia zawartości pierwiastków***

W próbkach surowego propolisu oraz jego etanolowych ekstraktach oznaczono zawartość wapnia, magnezu, potasu, żelaza, sodu, cynku, manganu, miedzi,

krzemu, ołowiu, kadmu, chromu, kobaltu i niklu za pomocą atomowej spektroskopii absorpcyjnej z atomizacją w płomieniu (FAAS). Do oznaczeń wykorzystano spektrometr AA Duo AA280FS/AA280Z firmy Agilent Technologies. Krzywa kalibracyjna została oparta na serii rozcieńczeń roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków. Przedstawiane wyniki są wartością średnią z trzech oznaczeń.

### **Wyniki i ich omówienie**

Wydajność ekstrakcji (70% alkohol etylowy) propolisu pochodzącego z województwa wielkopolskiego oraz warmińsko-mazurskiego, wyrażona w procentach wagowych, była bardzo zbliżona i wynosiła odpowiednio 59,10 i 59,62%.

W próbkach propolisu oraz jego etanolowych ekstraktach oznaczono stężenie mikro- i makroelementów oraz metali ciężkich (tab. 1). W surowym propolisie, pochodzącym z obu województw oraz w jego ekstraktach, zawartość ołowiu, kadmu, chromu, kobaltu i niklu występowała poniżej granicy oznaczalności stosowanej techniki analitycznej. Fakt ten może świadczyć o tym, iż pasieki, z których został zebrany surowiec, znajdują się w okolicy, w której nie występują źródła emitujące szkodliwe związki, w tym także szkodliwe metale ciężkie.

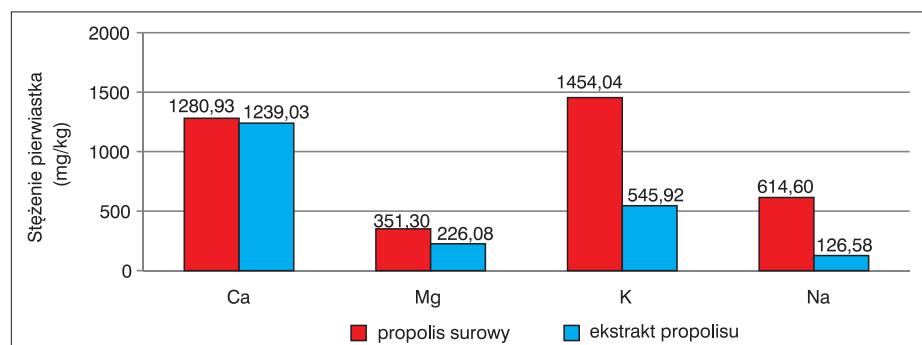
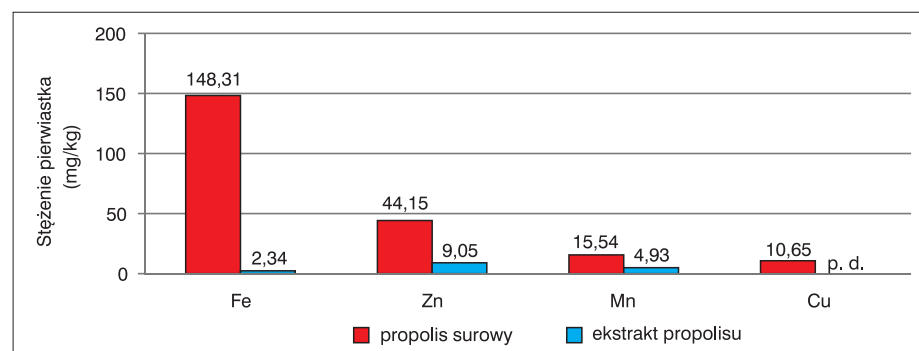
Na rycinach 1-4 przedstawiono porównanie zawartości wybranych pierwiastków, zarówno w propolisie, jak i EEP, w zależności od miejsca pozyskania surowca. Rycina 1 przedstawia wyniki oznaczeń stężenia wapnia, magnezu, potasu i sodu w surowym propolisie pochodzącym z województwa warmińsko-mazurskiego oraz w jego etanolowym ekstrakcie. Wartości stężenia wapnia były bardzo zbliżone zarówno dla surowca, jak i jego ekstraktu, i wynosiły odpowiednio 1280,93 i 1239,03 mg/kg. W przypadku zawartości pozostałych makroelementów, zauważyć można wyraźnie wyższe wartości stężenia pierwiastków w surowym materiale w porównaniu z jego ekstraktem etanolowym. Największą różnicę w wartościach stężeń zaobserwowano w przypadku sodu, oznaczając jego zawartość w propolisie na poziomie 614,60 mg/kg, a w jego ekstrakcie etanolowym ponad 4,5 razy niższą. Również zawartość potasu była najwyższa w surowym propolisie pochodzącym z województwa warmińsko-mazurskiego (1454,04 mg/kg) i dużo niższa w jego etanolowym ekstrakcie (545,92 mg/kg).

Na rycinie 2 przedstawiono zawartość żelaza, cynku, manganu i miedzi w propolisie i w jego ekstrakcie pochodzącym z obszaru Warmii i Mazur. Wartości stężeń wszystkich wymienionych powyżej pierwiastków oznaczone w etanolowym ekstrakcie propolisu były znacznie niższe lub znajdowały się poniżej granicy

**Tab. 1.** Zawartość pierwiastków w propolisie i jego etanolowych ekstraktach (EEP)

Pierwiastek	Zawartość (mg/kg)			
	Województwo warmińsko-mazurskie		Województwo wielkopolskie	
	propolis	EEP	propolis	EEP
Ca	1280,93 ± 15,71	1239,03 ± 4,72	3239,30 ± 3,32	250,60 ± 3,47
Mg	351,30 ± 2,57	226,08 ± 3,31	696,73 ± 4,28	181,72 ± 3,86
K	1454,04 ± 9,60	545,92 ± 3,57	1218,31 ± 2,66	741,24 ± 6,00
Na	614,60 ± 12,06	126,58 ± 3,29	3335,28 ± 35,56	303,53 ± 4,03
Fe	148,31 ± 1,67	2,34 ± 0,56	40,15 ± 0,48	6,20 ± 0,46
Zn	44,15 ± 0,56	9,05 ± 0,32	28,74 ± 0,19	7,35 ± 0,05
Mn	15,54 ± 1,81	4,93 ± 0,18	6,90 ± 0,13	2,47 ± 0,23
Cu	10,65 ± 0,17	p. d.	9,80 ± 0,06	1,91 ± 0,11
Si	p. d.	p. d.	229,30 ± 12,77	p. d.
Pb	p. d.	p. d.	p. d.	p. d.
Cd	p. d.	p. d.	p. d.	p. d.
Cr	p. d.	p. d.	p. d.	p. d.
Co	p. d.	p. d.	p. d.	p. d.
Ni	p. d.	p. d.	p. d.	p. d.

p. d. – próg detekcji, poniżej granicy oznaczalności

**Ryc. 1.** Zawartość wapnia, magnezu, potasu i sodu w propolisie pochodzącym z województwa warmińsko-mazurskiego i w jego etanolowym ekstrakcie**Ryc. 2.** Zawartość żelaza, cynku, manganu i miedzi w propolisie pochodzącym z województwa warmińsko-mazurskiego i w jego etanolowym ekstrakcie

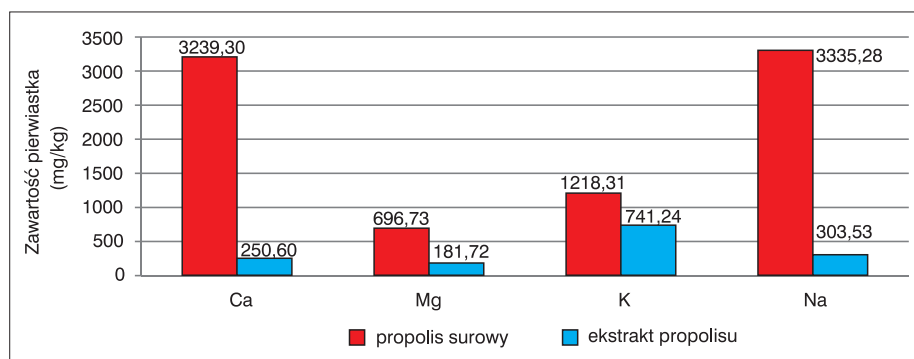
oznaczalności w porównaniu z wysokimi wartościami w surowym propolisie. Szczególnie ta różnica widoczna była dla żelaza, które w surowym propolisie występowało na poziomie 148,31 mg/kg, natomiast w jego ekstrakcie na poziomie kilkakrotnie niższym, wynoszącym 2,34 mg/kg.

Porównując zawartość wapnia, magnezu, potasu i sodu w surowym propolisie pochodzącym z obszarów Wielkopolski oraz w jego etanolowym ekstrakcie, można zauważyć, że oznaczone stężenia wszystkich wymienionych pierwiastków występowały na znacznie niższym poziomie w ekstrakcie niż w surowym propolisie (ryc. 3). Największa różnica pomiędzy zawartością pierwiastka w propolisie z Wielkopolski i w jego ekstrakcie obserwowana była dla wapnia (odpowiednio 3239,30 i 250,60 mg/kg), który w przypadku propolisu i jego ekstraktu z województwa warmińsko-mazurskiego oznaczony został na bardzo zbliżonym poziomie stężeń. Natomiast najmniejszą różnicę stężeń zaobserwowano dla potasu, odpowiednio w propolisie 1218,31 mg/kg i jego ekstrakcie 741,24 mg/kg.

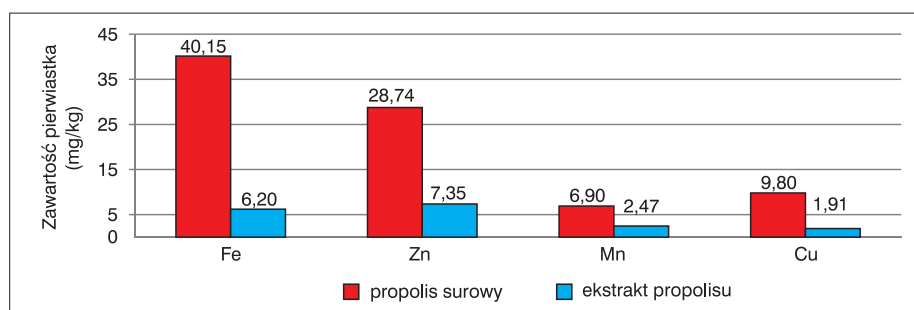
Rycina 4 przedstawia porównanie zawartości żelaza, cynku, manganu i miedzi oznaczone w propolisie pozyskanym w Wielkopolsce i w jego ekstrakcie. Na podstawie przedstawionych wyników można stwierdzić, że podobnie jak dla propolisu z obszaru

Warmii i Mazur, wielkopolski propolis charakteryzował się znacznie wyższą zawartością Fe, Zn, Mn i Cu w surowcu niż w ekstrakcie. Najwyższa różnica stężenia występowała dla żelaza, którego stężenie w surowym propolisie wynosiło 40,15 mg/kg, a w ekstrakcie zaledwie 6,20 mg/kg. Na najniższym poziomie oznaczono mangan, odpowiednio w surowym propolisie 6,90 mg/kg, a w ekstrakcie 2,47 mg/kg. W próbce surowego propolisu oznaczono również stężenie krzemu (229,30 mg/kg), w ekstrakcie natomiast pierwiastek ten występował poniżej granicy oznaczalności.

Porównując zawartości oznaczanych pierwiastków w surowym propolisie pochodzącym z województwa warmińsko-mazurskiego oraz wielkopolskiego można zauważyć, że stężenie wapnia, magnezu, sodu oraz krzemu było wyższe w przypadku propolisu pochodzącego z obszarów Wielkopolski, natomiast zawartość pozostałych pierwiastków była wyższa dla surowca pochodzącego z Warmii i Mazur. Największą różnicę w zawartości oznaczanych pierwiastków stwierdzono dla sodu, którego stężenie w wielkopolskim propolisie było ponad 5 razy wyższe niż to oznaczone w surowcu pochodzącym z obszarów Warmii i Mazur. Warmińsko-mazurski propolis charakteryzował się najwyższą zawartością potasu, a wielkopolski – sodu. Natomiast



Ryc. 3. Zawartość wapnia, magnezu, potasu, sodu w propolisie pochodzącym z województwa wielkopolskiego i w jego etanolowym ekstrakcie



Ryc. 4. Zawartość żelaza, cynku, manganu i miedzi w propolisie pochodzącym z województwa wielkopolskiego i w jego etanolowym ekstrakcie

w propolisie z Wielkopolski oznaczono najmniej manganu, a w propolisie z Warmii i Mazur – miedzi. Na podstawie przedstawionych wyników można również zauważyć, że w przypadku propolisu z województwa warmińsko-mazurskiego zawartość krzemu znajdowała się poniżej granicy oznaczalności, w przeciwieństwie do propolisu pochodzącego z województwa wielkopolskiego, gdzie zawartość tego pierwiastka wynosiła 229,30 mg/kg.

### Wnioski

1. Zawartość magnezu, potasu, sodu, żelaza, cynku, manganu i miedzi była znacznie wyższa w próbkach surowego propolisu pochodzącego zarówno z województwa warmińsko-mazurskiego, jak i wielkopolskiego, w porównaniu z wynikami stężeń uzyskanymi w ich etanolowych ekstraktach.
2. W surowym propolisie pochodzącym z obu województw i w ich ekstraktach etanolowych stężenie ołowiu, kadmu, chromu, kobaltu oraz niklu oznaczono poniżej granicy oznaczalności techniki FAAS. W ekstraktach propolisu, pozyskanych z obu badanych obszarów Polski, stężenie krzemu również znajdowało się poniżej granicy oznaczalności.
3. Pierwiastkiem występującym w najwyższym stężeniu w wielkopolskim surowcu był sód, a w warmińsko-mazurskim propolisie potas. W ekstrakcie propolisu z województwa warmińsko-mazurskiego dominował wapń, a z województwa wielkopolskiego potas.
4. Zawartość wapnia, magnezu i sodu była wyraźnie wyższa dla propolisu pochodzącego z obszarów Wielkopolski, natomiast stężenia pozostałych oznaczanych pierwiastków oznaczano na wyższym poziomie w surowcu z Warmii i Mazur.

### Piśmiennictwo

1. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia* 2002; suppl. 1:S1-S6. 2. Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjieva Y i wsp. Antibacterial, antifungal and

antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol* 1999; 64:235-40. 3. Yang H, Dong Y, Du H i wsp. Antioxidant compounds from propolis collected in Ashui, China. *Molecules* 2011; 16:3444-55. 4. Uzel A, Sorkun K, Oncag O i wsp. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiol Res* 2005; 160:189-95. 5. Augero MB, Svetaz L, Baroni V i wsp. Urban propolis from San Juan province (Argentina): Ethnopharmacological uses and antifungal activity against *Candida* and dermatophytes. *Ind Crop Prod* 2014; 57:166-73. 6. Budija F, Humar M, Krcej B i wsp. Propolis for wood finishing. *IRG/WP* 2008; 08-30464. 7. Drapak SI, Bakhtinov AP, Gavrylyuk SV i wsp. Structural and optical characterization of the propolis films. *Appl Surf Sci* 2006; 253:279-82. 8. Tosi EA, Re E, Ortega ME i wsp. Food preservative based on propolis: Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*. *Food Chem* 2007; 104:1025-9. 9. Socha R, Galkowska D, Bugaj M i wsp. Phenolic composition and antioxidant activity of propolis from various regions of Poland. *Nat Prod Res* 2015; 29(5):416-22. 10. Prytyk E, Dantas AP, Salomao K i wsp. Flavonoids and trypanocidal activity of Bulgarian propolis. *J Ethnopharmacol* 2003; 88:189-93. 11. Medana C, Carbone F, Aigotti R i wsp. Selective analysis of phenolic compounds in propolis by HPLC-MS/MS. *Phytochem Anal* 2008; 19:32-9. 12. Roman A, Madras-Majewska B, Popiel-Pleban E. Comparative study of selected toxic elements in propolis and honey. *J Apicult Sci* 2001; 55(2):91-106. 13. Formicki G, Greń A, Stawarz R i wsp. Metal content in honey, propolis, wax and bee pollen and implications for metal pollution monitoring. *Pol J Environ Stud* 2013; 22(1):99-106. 14. Szczęśna T, Rybak-Chmielewska H, Kim CW. Heavy metals (Cd and Pb) in propolis. *Pszczeln Zesz Nauk* 1999; 43:227-34. 15. Lima B, Tapia A, Luna L i wsp. Main flavonoids, DPPH activity and metal content allow determination of the geographical origin of propolis from the province of San Juan (Argentina). *J Agric Food Chem* 2009; 57:2691-8. 16. Finger D, Filho IK, Torres YR i wsp. Propolis as an indicator of environmental contamination by metals. *Bull Environ Contam Toxicol* 2014; 92:259-64. 17. Gong S, Luo L, Gong W i wsp. Multivariate analyses of element concentrations revealed the groupings of propolis from different regions in China. *Food Chem* 2012; 134:583-8. 18. Kędzia B. Skład chemiczny propolisu polskiego. Cz. I. Początkowy okres badań. *Post Fitoter* 2009; 1:39-44. 19. Kaleta J. Analiza fizykochemiczna propolisu i możliwości jego standaryzacji. Praca doktorska. Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Kraków 2007. 20. Kędzia B, Gnusowski B, Mścisz A i wsp. Badanie zawartości metali szkodliwych dla zdrowia w propolisie i koncentracji propolisowym. Materiały z XXXVIII Nauk Konf Pszczel, Puławy 2001.

### Konflikt interesów

#### Conflict of interest

Brak konfliktu interesów  
None

otrzymano/received: 7.12.2015  
zaakceptowano/accepted: 5.01.2016

Adres/address:  
\*mgr Magdalena Woźniak  
Katedra Chemii  
Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu  
ul. Wojska Polskiego 75, 60-625 Poznań  
tel. +48 (61) 848-78-38  
e-mail: magdalena.wozniak@up.poznan.pl