

*Magdalena Woźniak¹, Patrycja Kwaśniewska-Sip², Marta Babicka¹,
Agnieszka Waśkiewicz¹, Grzegorz Cofta², Bogdan Kędzia³, Izabela Ratajczak¹

Skład chemiczny etanolowego ekstraktu z propolisu i jego aktywność biologiczna wobec grzybów pleśniowych

The chemical composition of the ethanolic propolis extract and its biological activity against moulds

¹Katedra Chemii, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Kierownik Katedry: dr hab. nauk leśnych Izabela Ratajczak

²Instytut Chemicznej Technologii Drewna, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu

Dyrektor Instytutu: prof. dr hab. nauk leśnych Bartłomiej Mazela

³Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Poznań

Dyrektor Instytutu: dr n. ekon. Robert Sobków

SUMMARY

Introduction. Propolis is a natural material whose extracts indicate numerous biological activities, including antifungal, antibacterial, antioxidant and anticancer. Phenolic compounds (flavonoids as well as phenolic acids and their esters) are one of the most frequently mentioned group of propolis components responsible for the biological activity of propolis extracts. Another group of components identified in propolis is elements, including macro- and microelements as well as heavy metals.

Aim. The aim of the study was to determine the biological activity of the ethanolic propolis extract originated from Warmian-Masurian Voivodeship against moulds and to analyze concentration of selected flavonoids and elements present in the extract.

Material and methods. The biological activity of the propolis extract obtained from a raw propolis originated from Warmian-Masurian Voivodeship against moulds was determined by dilution in nutrient solution. The content of selected flavonoids (apigenin, pinocembrin, kaempferol and galangin) in the propolis extract was determined using ultra-performance liquid chromatography photodiode array detection tandem mass spectrometric method. The concentration of elements in the propolis extract was analyzed by flame atomic absorption spectrometry.

Results. The propolis extract was characterized by activity against all tested fungal strains. It showed the highest activity towards *Chaetomium globosum* and *Penicillium cyclopium*. Among analyzed flavonoids, the highest concentration in the propolis extract was determined for pinocembrin. In addition, high concentrations of Na, Mg, K, Ca and Fe were found in the propolis extract, and no toxic heavy metals were found.

Conclusions. The ethanolic propolis extract of national origin shows biological activity against tested moulds and it is a valuable source of flavonoids, as well as macro- and microelements.

Keywords: propolis extract, antifungal activity, flavonoids, bioelements

STRESZCZENIE

Wstęp. Propolis jest naturalnym surowcem, którego ekstrakty wykazują liczne właściwości biologiczne, w tym przeciugrzybicze, przeciwbakteryjne, przeciwutleniające i przeciwnowotworowe. Związki fenolowe (flawonoidy oraz kwasy fenolowe i ich estry) są jedną z najczęściej wymienianych grup składników propolisu odpowiedzialnych za aktywność biologiczną ekstraktów z propolisu. Inną grupą składników zidentyfikowaną w propolisie są pierwiastki, w tym makro- i mikroelementy, oraz metale ciężkie.

Cel pracy. Celem pracy było określenie aktywności biologicznej etanolowego ekstraktu z propolisu pochodzącego z województwa warmińsko-mazurskiego wobec grzybów pleśniowych i analiza ilościowa wybranych związków flawonoidowych oraz pierwiastków zawartych w ekstrakcie.

Materiał i metody. Aktywność biologiczną ekstraktu z propolisu otrzymanego z surowca pochodzącego z województwa warmińsko-mazurskiego wobec grzybów pleśniowych określono metodą rozcieńczeń w pożywce. Zawartość wybranych flawonoidów (apigenina, pinocembryna, kemferol i galangina) w ekstrakcie z propolisu oznaczono, wykorzystując ultrasprawną chromatografię cieczową z detekcją fotodiodową oraz masową. Stężenie pierwiastków w ekstrakcie oznaczono, stosując spektrometrię absorpcji atomowej z atomizacją w płomieniu.

Wyniki. Ekstrakt z propolisu charakteryzował się aktywnością wobec wszystkich badanych szczepów grzybów pleśniowych. Najwyższą aktywność wykazywał wobec *Chaetomium globosum* i *Penicillium cyclopium*. Spośród oznaczanych flawonoidów w najwyższym stężeniu występowała pinocembryna. Ponadto w ekstrakcie z propolisu oznaczono wysoki poziom Na, Mg, K, Ca i Fe. Nie stwierdzono obecności toksycznych metali ciężkich.

Wnioski. Etanolowy ekstrakt z propolisu krajowego wykazuje aktywność biologiczną względem testowych grzybów pleśniowych oraz stanowi cenne źródło flawonoidów, a także makro- i mikroelementów.

Słowa kluczowe: ekstrakt z propolisu, aktywność przeciwgrzybicza, flawonoidy, biopierwiastki

Wprowadzenie

Propolis jest naturalnym produktem, którego ekstrakty dzięki licznym właściwościom biologicznym znajdują zastosowanie w wielu dziedzinach, takich jak przemysł spożywczy, farmaceutyczny czy kosmetyczny (1-3).

Najwięcej doniesień piśmiennictwa dotyczących propolisu skupia się wokół analizy jego składu chemicznego oraz na określeniu aktywności przeciwgrzybiczej, przeciwbakteryjnej, przeciwutleniającej i przeciwnowotworowej jego ekstraktów (1-7). Wyniki badań wskazują, że ekstrakty z propolisu hamują rozwój wielu gatunków grzybów. Przykładem tego jest etanolowy ekstrakt z propolisu argentyńskiego powodujący zahamowanie rozwoju m.in. *Schizophyllum commune*, *Penicillium notatum* czy *Fusarium oxysporum*, a także etanolowe oraz metanolowe ekstrakty z propolisu słowackiego, które hamowały rozwój *Aspergillus flavus*, *Geotrichum candidum* i różnych gatunków z rodzaju *Candida* (8, 9). Z kolei etanolowe ekstrakty z propolisu pochodzącego z różnych regionów geograficznych (m.in. z Kolumbii, Polski i Włoch) powodowały zahamowanie rozwoju *Trichoderma viride*, *A. niger*, *P. chrysogenum* i *Saccharomyces cerevisiae* (10). Natomiast etanolowe ekstrakty z propolisu tureckiego w stężeniu 10% całkowicie hamowały wzrost *A. versicolor* i *P. aurantiogriseum*, czyli gatunków rozwijających się na produktach spożywczych i odpowiedzialnych za biosyntezę mykotoksyn (11).

Według danych piśmiennictwa aktywność biologiczna, w tym także aktywność przeciwgrzybicza, ekstraktów z propolisu związana jest z synergistycznym działaniem jego wszystkich składników, jednak jedną z najczęściej wymienianych grup związków, które mogą odpowiadać za tę aktywność, są związki fenolowe (flawonoidy oraz kwasy fenolowe i ich estry), a także terpeny i inne składniki identyfikowane we frakcji lotnej propolisu (9, 12-17). Wykazano, że w próbkach propolisu pochodzącego z różnych regionów świata odmienne grupy związków odpowiedzialne są za jego właściwości biologiczne (18, 19). Peng i wsp. (20) podają, że pinocembryna wyizolowana

z propolisu hamowała rozwój *P. italicum*, natomiast Yang i wsp. (17) stwierdzili, że za właściwości przeciwgrzybicze ekstraktów z propolisu względem *P. italicum* odpowiedzialne mogą być, poza pinocembryną, także inne flawonoidy – galangina, pinostrobin i chryzyna, które zidentyfikowano we frakcji surowca charakteryzującej się najwyższą aktywnością przeciwgrzybiczą. W innych badaniach Agüero i wsp. (12) wyizolowali z frakcji argentyńskiego propolisu, odznaczającej się najwyższą aktywnością przeciwgrzybiczą, 5 związków: chryzynę, pinocembrynę, galanginę, kwas 3-metylnordihydrogwaretowy (MNGDA) oraz kwas nordihydrogwaretowy (NDGA) i analizowali ich właściwości przeciwgrzybicze. Kwasy NDGA i MNDGA wykazywały silne właściwości przeciwgrzybicze wobec *Trichophyton mentagrophytes*, *Microsporum gypseum* i *T. rubrum*, a NDGA dodatkowo powodował zahamowanie rozwoju *Candida albicans*, *C. tropicalis* i *Cryptococcus neoformans*. Spośród flawonoidów galangina i pinocembryna wykazały działanie hamujące wzrost *C. albicans*, *C. tropicalis*, *Saccharomyces cerevisiae*, *C. neoformans*, a dodatkowo wobec *T. mentagrophytes* i *T. rubrum* podobną aktywność wykazywała galangina. Natomiast, chryzyna charakteryzowała się niewielką zdolnością hamowania rozwoju wszystkich gatunków grzybów użytych w badaniach (12).

Ważnym zagadnieniem w przypadku stosowania ekstraktów z propolisu w przemyśle spożywczym, farmaceutycznym czy kosmetycznym jest analiza ich składu chemicznego, której celem jest wykazanie, czy dany ekstrakt nie zawiera szkodliwych dla zdrowia składników, w tym metali ciężkich. Dane piśmiennictwa wskazują, że w propolisie pochodzącym z Chile, Rosji i Hiszpanii stwierdzono obecność kadmu, ołowiu, chromu i niklu (21, 22). Również propolis pochodzący z Chin i Polski zawierał metale szkodliwe dla zdrowia (23, 24). Według danych piśmiennictwa stężenie pierwiastków w ekstraktach propolisu jest niższe niż w surowcu, z którego ekstrakty te są otrzymywane (24, 25).

Cel pracy

Celem pracy było określenie aktywności biologicznej wobec grzybów pleśniowych i oznaczenie stężenia

wybranych związków flawonoidowych oraz pierwiastków w etanolowym ekstrakcie z propolisu pochodzącym z województwa warmińsko-mazurskiego.

Materiał i metody

Ekstrakt z propolisu

Wykorzystany w badaniach ekstrakt z propolisu otrzymano w wyniku ekstrakcji surowca pochodzącego z województwa warmińsko-mazurskiego za pomocą 96% alkoholu etylowego (Avantor Performance Materials Poland S.A.) w stosunku 1:10 (m/v). Proces ekstrakcji prowadzony był przez okres 5 dni w temperaturze pokojowej i bez dostępu światła, z wykorzystaniem wytrząsarki (Biosan). Po tym czasie ekstrakt przesączono i umieszczono w temperaturze 4°C w celu wytrącenia wosków, a następnie ponownie przesączono i odparowano rozpuszczalnik z wykorzystaniem wyparki próżniowej (Buchi Labortechnik AG). Zagęszczony ekstrakt wykorzystywano do dalszych analiz biologicznych i chemicznych.

Oznaczenie aktywności przeciwgrzybiczej

W badaniach wykorzystano 8 szczepów grzybów pleśniowych: *Aspergillus niger* ATCC 6275, *Aspergillus versicolor*, *Aureobasidium pullulans* ATCC 9348, *Chaetomium globosum* ATCC 6205, *Paecilomyces variotii* ATCC 9645, *Penicillium cyclopium*, *Penicillium funiculosum* ATCC 11797 i *Trichoderma virens* ATCC 9645. Szczepy grzybów testowych przechowywano na pożywkach stałych w temperaturze 4-6°C, przeszczepiając je raz w miesiącu na świeże podłoże agarowe Czapek-Doxa (Sigma-Aldrich), w celu zachowania czystości hodowli.

Aktywność przeciwgrzybiczą badanego ekstraktu z propolisu wobec gatunków grzybów testowych określono metodą rozcieńczeń w pożywce płynnej. Zagęszczony ekstrakt z propolisu rozpuszczono ponownie w 96% alkoholu etylowym, uzyskując stężenie 100 mg/ml. Z tego roztworu przygotowywano rozcieńczenia w płynnym podłożu Sabouraud Dextrose Broth (Sigma-Aldrich) w zakresie stężeń 0,5-10 mg/ml. Następnie do każdego z rozcieńczeń o objętości 1 ml dodawano po 0,1 ml zawiesiny każdego z badanych szczepów grzybów zawieszonych w tym samym podłożu płynnym co ekstrakt z propolisu. Liczba dodawanych zarodników mieściła się w zakresie 10^4 - 10^5 w 1 ml, co określono za pomocą komory Thoma. Inkubację prowadzono w temperaturze $27 \pm 2^\circ\text{C}$ przez okres 7 dni. Po tym czasie określano najmniejsze stężenie ekstraktu propolisu powodujące zahamowanie rozwoju badanego szczepu grzyba MIC (ang. *minimal inhibitory concentration*) oraz całkowite zahamowanie

rozwoju określone jako minimalne stężenie grzybobójcze MFC (ang. *minimal fungicidal concentration*). Wartości te wyrażano w mg/ml. Jako substancję referencyjną zastosowano 4,5-dichloro-2-oktylo-2H-izotiazol-3-on.

Oznaczenie stężenia flawonoidów

W ekstrakcie z propolisu oznaczano stężenie 4 wybranych flawonoidów: apigeniny, kemferolu, galanginy i pinocembryny. Zagęszczony ekstrakt z propolisu rozpuszczono w alkoholu metylowym o czystości HPLC (Sigma-Aldrich) i wykorzystywano do oznaczeń wymienionych związków z użyciem ultrasprawnej chromatografii cieczowej z detekcją fotodiodową (Aquity PDA eλ Detector, $\lambda = 280$ i 309 nm) oraz masową (UPLC/PDA/TQD) z zastosowaniem aparatu Waters Aquity™ (Waters Company).

Identyfikację jakościową i ilościową flawonoidów przeprowadzono z użyciem kolumny chromatograficznej ACQUITY UPLC HSS T3 (Waters, 1,8 μm , 2,1 x 150 mm), stosując jako fazę nośną roztwory: linia A – 0,1% wodny roztwór HCOOH; linia B – 0,1% roztwór HCOOH w acetonitrylu (Sigma-Aldrich) w trybie gradientowym. Identyfikacji jonów macierzystych dokonywano w trybie jonów dodatnich, stosując jonizację typu Elektrospray. Przedstawione wyniki są wartością średnią z trzech pomiarów.

Oznaczanie stężenia pierwiastków

Zagęszczony ekstrakt z propolisu o masie 0,5000 g przenoszono do teflonowych naczyń, a następnie dodawano 8 ml stężonego kwasu azotowego(V) (Sigma-Aldrich) i mineralizowano, wykorzystując piec mikrofalowy (CEM). Po procesie mineralizacji otrzymane roztwory przesączono i rozcieńczono wodą dejonizowaną czystości Millipore do objętości 50 ml. Procedurę powtarzano trzykrotnie. W badanym ekstrakcie z propolisu oznaczono stężenie 14 wybranych pierwiastków: wapnia, potasu, magnezu, sodu, żelaza, cynku, miedzi, manganu, ołowiu, krzemu, kadmu, chromu, kobaltu i niklu z wykorzystaniem spektrometru absorpcji atomowej z atomizacją w płomieniu (FAAS) (AA280FS, Agilent Technologies). Krzywe kalibracyjne zostały przygotowane na bazie serii rozcieńczeń roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków o stężeniu wyjściowym 1000 mg/ml (Sigma-Aldrich). Przedstawione wyniki są wartością średnią z trzech oznaczeń.

Wyniki i ich omówienie

Aktywność biologiczną ekstraktu z propolisu wobec badanych grzybów pleśniowych przedstawiono w tabeli 1.

Tab. 1. Aktywność biologiczna ekstraktu z propolisu wobec grzybów pleśniowych

Grzyb testowy	Ekstrakt z propolisu (mg/ml)		4,5-dichloro-2-oktylo-2H-on (mg/ml)	
	MIC	MFC	MIC	MFC
<i>Aspergillus niger</i>	5,0	7,5	0,75	1,0
<i>Aspergillus versicolor</i>	2,0	2,0	0,75	1,0
<i>Aureobasidium pullulans</i>	1,0	1,0	1,0	1,0
<i>Chaetomium globosum</i>	0,5	1,0	0,5	0,75
<i>Paecilomyces variotii</i>	2,5	5,0	0,75	1,0
<i>Penicillium cyclopium</i>	0,5	1,0	1,0	1,0
<i>Penicillium funiculosum</i>	5,0	7,5	0,75	1,0
<i>Trichoderma virens</i>	2,0	2,5	1,0	1,0

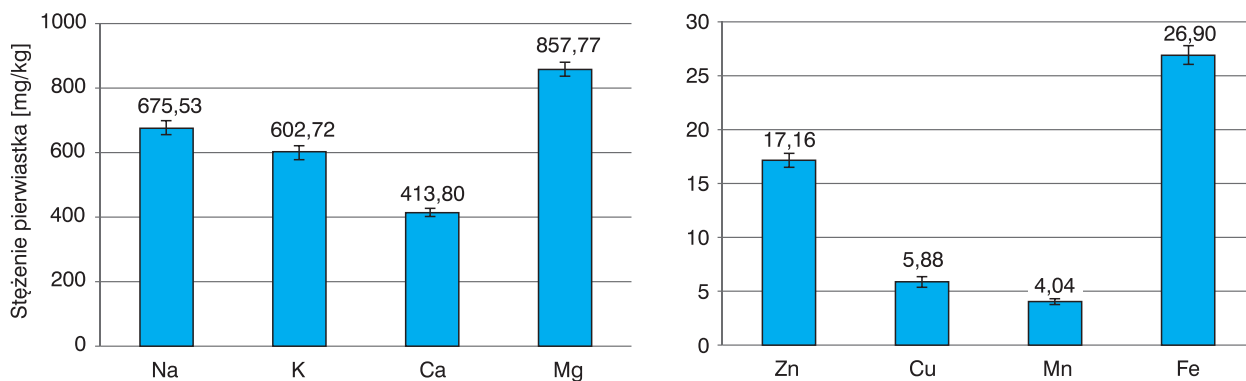
Na podstawie wyników MIC i MFC można stwierdzić, że ekstrakt z propolisu odznaczał się największą aktywnością wobec szczepów *C. globosum* i *P. cyclopium*, dla których wartości te mieściły się w granicach 0,5-1,0 mg/ml. Z kolei najmniejszą aktywność przeciwgrzybiczą badanego ekstraktu z propolisu odnotowano wobec szczepów *A. niger* i *P. funiculosum*, a mianowicie wartości MIC i MFC wynosiły odpowiednio 5,0 i 7,5 mg/ml. Porównując właściwości przeciwgrzybicze wobec testowych gatunków grzybów pleśniowych ekstraktu z propolisu i 4,5-dichloro-2-oktylo-2H-onu, można zauważyć, że związek referencyjny w większości przypadków charakteryzował się wyższą zdolnością hamowania rozwoju tych drobnoustrojów. Wyjątek stanowiły szczepy *A. pullulans* i *C. globosum*, które hamowane były przez obie substancje na takim samym poziomie. Wyniki te wskazują na potencjalne zastosowanie propolisu w preparatach komercyjnych jako substancji zabezpieczającej przed rozwojem pleśni.

Oznaczona aktywność przeciwgrzybicza ekstraktu z propolisu kształtowała się na podobnym lub nawet wyższym poziomie w porównaniu do aktywności etanolowych ekstraktów z propolisu opisywanych w piśmiennictwie (4). Badany w pracy ekstrakt z propolisu pochodzący z województwa warmińsko-mazurskiego wykazywał wyższą aktywność biologiczną wobec użytych szczepów grzybów pleśniowych, aniżeli acetonowy i etanolowe ekstrakty z propolisu opisane we wcześniejszej pracy autorów (26).

Właściwości biologiczne ekstraktów z propolisu przypisywane są kilku grupom związków występujących w surowcu, wśród których najczęściej wymieniane są związki fenolowe, w tym flawonoidy (1, 7, 18, 27). W badanym ekstrakcie oznaczono stężenie 4 wybranych flawonoidów: apigeniny ($6,13 \pm 0,68$ mg/g), kemferolu ($12,15 \pm 0,39$ mg/g), galanginy ($15,08 \pm$

$0,27$ mg/g) i pinocembryny ($26,17 \pm 0,61$ mg/g) metodą chromatografii cieczowej. Najwyższe stężenie w ekstrakcie z propolisu odnotowano dla pinocembryny. Stężenie tego flawonoidu w badanym ekstrakcie było wyższe niż w etanolowych ekstraktach surowca pochodzącego z Chin ($3,90-22,20$ mg/g) oraz Włoch ($17,72-24,37$ mg/g), jednak niższe niż stężenie oznaczone w ekstraktach propolisu z Hiszpanii ($60,3$ mg/g), Bułgarii ($94,4$ mg/g) i Nowej Zelandii ($99,7$ mg/g) (6, 28-30). Stężenia pozostałych flawonoidów w badanym ekstrakcie z propolisu były znacznie niższe niż stężenie pinocembryny, jednak występowały one w większym stężeniu niż w ekstraktach propolisu pochodzącego m.in. z Włoch i Chin (28, 29). Z kolei wyższe stężenia apigeniny i galanginy odnotowano w ekstraktach propolisu pochodzącego z Argentyny, Australii i Nowej Zelandii (6). Wszystkie oznaczane flawonoidy były już wcześniej wykrywane w ekstraktach z propolisu pochodzenia krajowego, co potwierdzają liczne dane piśmiennictwa (5, 31-34).

W zagęszczonym ekstrakcie z propolisu oznaczono także stężenie wybranych pierwiastków (ryc. 1). Spośród analizowanych makroelementów w najwyższym stężeniu występował magnez ($857,77 \pm 18,41$ mg/kg). W nieco niższych stężeniach oznaczono sód i potas, odpowiednio w ilościach $675,53 \pm 17,20$ i $602,72 \pm 14,92$ mg/kg. Stężenia magnezu i sodu kształtowały się na wyższym poziomie niż w ekstraktach surowca pochodzącego z województw wielkopolskiego i warmińsko-mazurskiego, które wynosiły odpowiednio dla magnezu $181,72 \pm 3,72$ i $226,08 \pm 3,31$ mg/kg oraz dla sodu $303,53 \pm 4,03$ i $126,58 \pm 3,29$ mg/kg (25). Natomiast stężenie wapnia w badanym ekstrakcie było wyższe niż w ekstrakcie otrzymanym z surowca pochodzącego z województwa wielkopolskiego ($250,60 \pm 3,47$ mg/kg) i niższe niż



Ryc. 1. Stężenie makro- i mikroelementów w badanym ekstrakcie z propolisu

w ekstrakcie z surowca pozyskanego w województwie warmińsko-mazurskim ($1239,03 \pm 4,72$ mg/kg). Z kolei stężenie potasu było wyższe niż oznaczone w ekstrakcie z Warmii i Mazur ($545,92 \pm 3,57$ mg/kg), a niższe niż dla ekstraktu surowca pochodzącego z Wielkopolski ($741,24 \pm 6,00$ mg/kg) (25).

Wśród oznaczanych mikroelementów (ryc. 1) najwyższe stężenie odnotowano dla żelaza – $26,90 \pm 0,80$ mg/kg. Stężenie tego pierwiastka w analizowanym ekstrakcie było wyższe niż w ekstraktach oznaczonych przez Woźniak i wsp. (25), które mieściły się w przedziale $2,34-6,20$ mg/kg i niższe niż w ekstraktach z propolisu analizowanych przez Kaletę ($32,5-72,4$ mg/kg) (35). Stężenie cynku w badanym ekstrakcie wynosiło $17,16 \pm 0,28$ mg/kg i było wyższe niż dopuszczalne stężenie tego pierwiastka w koncentraty propolisu określone przez Polską Normę PN-A-77627 (36). Stężenie cynku oznaczone w ekstraktach z propolisu według danych piśmiennictwa jest bardzo zróżnicowane i mieści się w granicach $5,6-31,6$ mg/kg (25, 35). Stężenie miedzi w badanym ekstrakcie wynoszące $5,88 \pm 0,28$ mg/kg było wyższe niż w ekstraktach opisanych w piśmiennictwie ($1,7-2,6$ mg/kg), ale nie przekraczało dopuszczalnego stężenia według PN-A-77627 (24, 25, 36). Z kolei stężenie manganu w badanym ekstrakcie ($4,04 \pm 0,11$ mg/kg) było wyższe niż w ekstrakcie z województwa wielkopolskiego ($2,47 \pm 0,23$ mg/kg), a niższe niż stężenie oznaczone w ekstrakcie z propolisu pochodzącego z województwa warmińsko-mazurskiego ($4,93 \pm 0,18$ mg/kg) (25). Natomiast stężenie ołowiu, krzemu, kadmu, kobaltu, niklu i chromu w badanym ekstrakcie kształtowało się poniżej granicy oznaczalności stosowanej techniki analitycznej. Występowanie kadmu i ołowiu

w etanolowych ekstraktach z propolisu krajowego było odnotowywane w piśmiennictwie, jednak ich stężenia mieściły się w dopuszczalnych limitach stężeń określonych przez PN-A-77627 (24, 35).

Wyniki badań przedstawione w pracy wskazują, że etanolowy ekstrakt z propolisu otrzymany z surowca pochodzącego z województwa warmińsko-mazurskiego wykazuje działanie przeciwgrzybicze oraz stanowi źródło cennych składników – flawonoidów o znanym działaniu farmakologicznym oraz mikro- i makroelementów niezbędnych do prawidłowego funkcjonowania organizmu.

Wnioski

1. Etanolowy ekstrakt z propolisu otrzymany z surowca pochodzącego z województwa warmińsko-mazurskiego wykazał właściwości przeciwgrzybicze wobec badanych grzybów pleśniowych. W największym stopniu hamował on wzrost *C. globosum* i *P. cyclopium*.
2. Zahamowanie wzrostu *A. pullulans* i *P. cyclopium* pod wpływem etanolowego ekstraktu z propolisu było porównywalne z komercyjnym fungicydem 4,5-dichloro-2-oktylo-2H-on.
3. W badanym ekstrakcie z propolisu wśród analizowanych związków flawonoidowych (apigenina, kemferol, galangina i pinocembryna) w największej ilości występowała pinocembryna.
4. Wyniki analizy zawartości pierwiastków w ekstrakcie propolisu wskazują, że stanowi on cenne źródło makro- i mikroelementów, szczególnie magnezu i żelaza. Ponadto, w analizowanym ekstrakcie nie stwierdzono obecności szkodliwych metali ciężkich.

Piśmiennictwo

- Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoter (suppl. 1)* 2002; S1-S6.
- Toreti VC, Sato HH, Pastore GM i wsp. Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evid Based Compl Alt* 2013.
- Banskota AH, Tezuka Y, Kadota S. Recent progress in pharmacological research of propolis. *Phytother Res* 2001; 15:561-71.
- Kędzia B, Hołderna-Kędzia E. Aktywność antybiotyczna propolisu krajowego i europejskiego. *Post Fitoter* 2013; 2:97-107.
- Szliszka E, Sokół-Łętowska A, Kucharska AZ i wsp. Ethanolic extract of Polish propolis: chemical composition and TRAIL-R2 death receptor targeting apoptotic activity against prostate cancer cells. *Evid Based Compl Alt* 2013.
- Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem* 2004; 84:329-39.
- Wagh VD. Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. *Evid Based Compl Alt Vol* 2013.
- Kacaniova M, Vukovic N, Chlebo R i wsp. The antimicrobial activity of honey, bee pollen loads and beeswax from Slovakia. *Arch Biol Sci* 2012; 64(3):1545-57.
- Quiroga EN, Sampietro DA, Soberon JR i wsp. Propolis from the northwest of Argentina as a source of antifungal principles. *J Appl Microbiol* 2006; 101:103-10.
- Garedew A, Schmolz E, Lamprecht I. Microbiological and calorimetric investigations on the antimicrobial actions of different propolis extracts: an *in vitro* approach. *Thermochim Acta* 2004; 422:115-24.
- Temiz A, Mumcu AS, Ozkok A i wsp. Antifungal activity of propolis samples collected from different geographical regions of Turkey against food-related molds, *Aspergillus versicolor* and *Penicillium aurantiogriseum*. *Gida* 2013; 38(3):135-42.
- Aguero 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.
- Aguero MB, Gonzalez M, Lima B i wsp. Argentinean propolis from *Zuccagnia punctata* Cav. (Caesalpinieae) exudates: phytochemical characterization and antifungal activity. *J Agric Food Chem* 2010; 58:194-201.
- Kartal M, Yildiz S, Kaya S i wsp. Antimicrobial activity of propolis samples from two different regions of Anatolia. *J Ethnopharmacol* 2003; 86:69-73.
- Meneses EA, Durango DL, Garcia CM. Antifungal activity against postharvest fungi by extracts from Colombian propolis. *Quim Nova* 2009; 32(8):2011-7.
- Popova MP, Chinou IB, Marekov IN i wsp. Terpenes with antimicrobial activity from Cretan propolis. *Phytochemistry* 2009; 70:1262-71.
- Yang SZ, Peng LT, Su XJ i wsp. Bioassay-guided isolation and identification of antifungal components from propolis against *Penicillium italicum*. *Food Chem* 2011; 127:210-5.
- 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.
- Silici S, Unlu M, Vardar-Unlu G. Antibacterial activity and phytochemical evidence for the plant origin of Turkish propolis from different regions. *World J Microbiol Biotechnol* 2007; 23:1797-803.
- Peng L, Yang S, Cheng YJ i wsp. Antifungal activity and action mode of pinocembrin from propolis against *Penicillium italicum*. *Food Sci Biotechnol* 2012; 21(6):1533-9.
- Golubkina NA, Sheshnitsan SS, Kapitalchuk M i wsp. Variations of chemical element composition of bee and beekeeping products in different taxons of the biosphere. *Ecol Indic* 2016; 66:452-7.
- Gonzalez-Martin MI, Escuredo O, Revilla I i wsp. Determination of the mineral composition and toxic element contents of propolis by near infrared spectroscopy. *Sensors* 2015; 13:27854-68.
- 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.
- Kędzia B, Gnusowski B, Mścisz A i wsp. Badanie zawartości metali szkodliwych dla zdrowia w propolisie i koncentracje propolisowym. *Mat z XXXVIII Nauk Konf Pszczel, Puławy* 2001.
- Woźniak M, Ratajczak I, Kędzia B i wsp. Zawartość wybranych pierwiastków w propolisie i jego etanolowym ekstrakcie. *Post Fitoter* 2016; 17(1):3-7.
- Woźniak M, Ratajczak I, Kwaśniewska P i wsp. Badanie aktywności ekstraktów propolisowych wobec wybranych gatunków grzybów pleśniowych. *Post Fitoter* 2015; 16(4):205-9.
- 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.
- Papotti G, Bertelli D, Bortolotti L i wsp. Chemical and functional characterization of Italian propolis obtained by different harvesting methods. *J Agric Food Chem* 2012; 60:2852-62.
- Ahn MR, Kumazawa S, Usui Y i wsp. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chem* 2007; 101:1383-92.
- Kumazawa S, Bonvehi JS, Torres C i wsp. Chemical and functional characterisation of propolis collected from East Andalusia (Southern Spain). *Phytochem Anal* 2013; 24:608-15.
- Kędzia B. Skład chemiczny i aktywność biologiczna propolisu pochodzącego z różnych regionów świata. *Post Fitoter* 2006; (1):23-35.
- Kędzia B. Skład chemiczny propolisu polskiego. Cz. I. Początkowy okres badań. *Post Fitoter* 2009; (1):39-44.
- Kędzia B. Skład chemiczny propolisu polskiego. Cz. II. Nowe badania. *Post Fitoter* 2009; (2):122-8.
- Socha R, Gałkowska 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.
- Kaleta J. Analiza fizykochemiczna propolisu i możliwości jego standaryzacji. Praca doktorska. Uniwersytet Jagielloński, Collegium Medicum, Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Kraków 2007.
- PN-A-77627 (1996): Koncentrat propolisu.

Konflikt interesów

Conflict of interest

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 29.03.2018

zaakceptowano/accepted: 15.05.2018

Adres/address:

*dr nauk leśnych 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