

*Magdalena Woźniak¹, Anna Kwiatkowska², Elżbieta Hołderna-Kędzia³,
Katarzyna Sosnowska⁴, Lucyna Mrówczyńska⁴, Izabela Ratajczak¹

Aktywność biologiczna ekstraktów z propolisu

Biological activity of propolis extracts

¹Katedra Chemii, Wydział Leśny i Technologii Drewna, Uniwersytet Przyrodniczy w Poznaniu
Kierownik Katedry: dr hab. inż. Izabela Ratajczak, prof. UPP

²Pszczela Pasja, Gospodarstwo pasieczne, Poznań

³Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, Poznań

Dyrektor Instytutu: dr hab. inż. Małgorzata Zimmiewska, prof. nadzw. IWNiRZ

⁴Zakład Biologii Komórki, Wydział Biologii, Uniwersytet im. Adama Mickiewicza w Poznaniu
Kierownik Zakładu: dr hab. n. biol. Andrzej Lesicki, prof. nadzw. UAM

SUMMARY

Introduction. Propolis, also known as bee glue, is a resinous material collected by honeybees with numerous biological properties, including antibacterial, antifungal, antioxidant and anticancer effects. Due to its health-promoting properties, propolis is a component of many products, including dietary supplements, cosmetics and healthy food.

Aim. The aim of the study was to determine the antibacterial, antifungal and antioxidant activity of propolis extracts, as well as to compare the biological activity of propolis extracts, depending on the solvent used – ethyl alcohol or propylene glycol.

Material and methods. Two propolis extracts were used in the research – the first was prepared in ethyl alcohol, and the second in propylene glycol. The antimicrobial activity of the examined extracts was determined against *S. aureus*, *E. coli* and *C. albicans*. The antioxidant activity was determined on the basis of the evaluation of their antiradical activity in the DPPH· test and Fe²⁺ chelating activity. Moreover, the total content of phenolic compounds and flavonoids in the tested extracts was determined using the colorimetric method.

Results. The tested propolis extracts, regardless of the solvent used (ethyl alcohol or propylene glycol), showed high antibacterial (against *S. aureus*), antifungal (against *C. albicans*) and antioxidant (antiradical activity in the DPPH· test and ferrous iron chelating potency in the ferrozine test) activity. Moreover, both tested extracts were characterized by a high and similar content of bioactive compounds – phenolic compounds and flavonoids.

Conclusions. The results of the conducted tests showed that the solvent used did not affect determined biological activity and the content of bioactive substances in the tested propolis extracts.

Keywords: propolis, antibacterial activity, antioxidant properties, antifungal activity

STRESZCZENIE

Wstęp. Propolis, nazywany także kitem pszczelim, jest żywicznym materiałem zbieranym przez pszczoły miodne, który charakteryzuje się licznymi właściwościami biologicznymi, m.in. aktywnością przeciwbakteryjną, przeciwgrzybiczą, przeciwutleniającą oraz przeciwnowotworową. Ze względu na swoje właściwości prozdrowotne, propolis jest składnikiem wielu produktów, w tym suplementów diety, kosmetyków oraz zdrowej żywności.

Cel pracy. Celem pracy było określenie aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwgrzybiczej oraz przeciwutleniającej ekstraktów z propolisu, jak również porównanie aktywności biologicznej ekstraktów z propolisu w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika – alkoholu etylowego lub glikolu propylenowego.

Materiał i metody. W badaniach wykorzystano dwa ekstrakty z propolisu – pierwszy został przygotowany przy użyciu alkoholu etylowego, natomiast drugi – glikolu propylenowego. Aktywność przeciwdrobnoustrojową badanych ekstraktów określono względem *S. aureus*, *E. coli* oraz *C. albicans*. Aktywność przeciwutleniającą określono na podstawie oceny ich aktywności przeciwrodnikowej w teście z DPPH· oraz zdolności chelatowania jonów Fe²⁺. Ponadto, w badanych ekstraktach oznaczono całkowitą zawartość związków fenolowych i flawonoidów metodą kolorymetryczną.

Wyniki. Badane ekstrakty z propolisu, bez względu na zastosowany rozpuszczalnik (alkohol etylowy lub glikol propylenowy), wykazywały wysoką aktywność przeciwbakteryjną (względem *S. aureus*), przeciwgrzybiczą (względem *C. albicans*) oraz przeciwutleniającą (aktywność przeciwrodnikowa w teście z DPPH·). Ponadto, oba badane ekstrakty charakteryzowały się wysoką i zbliżoną zawartością związków bioaktywnych – związków fenolowych oraz flawonoidów.

Wnioski. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że zastosowany rozpuszczalnik nie wpływa na oznaczaną aktywność biologiczną oraz zawartość substancji bioaktywnych w badanych ekstraktach propolisowych.

Słowa kluczowe: propolis, aktywność przeciwbakteryjna, właściwości przeciwutleniające, aktywność przeciwgrzybicza

Wprowadzenie

Propolis, nazywany także kitem pszczelim, jest żywnym materiałem zbieranym przez pszczoły miodne (*Apis mellifera*) z różnych części drzew, krzewów i roślin zielarskich (1, 2). Surowiec ten składa się z żywicy, wosku pszczelego, wosku roślinnego, substancji lotnych i garbnikowych oraz domieszek mechanicznych, w tym głównie pyłku kwiatowego (3). Zastosowanie propolisu w medycynie ludowej sięga już czasów starożytnych, kiedy surowiec ten wykorzystywany był przez starożytnych Egipcjan, Greków oraz Rzymian. W XVII wieku propolis znalazł się na liście leków w londyńskiej farmakopei, a pomiędzy XVII a XX wiekiem zyskał jeszcze większą popularność (4). Obecnie stosowany jest jako środek o właściwościach prozdrowotnych, będąc składnikiem wielu suplementów diety, maści, kosmetyków oraz zdrowej żywności. Popularną formą tego produktu pszczelego, dostępną również handlowo, są jego ekstrakty, głównie etanolewe, ale coraz częściej dostępne są również ekstrakty tego surowca przygotowane przy użyciu innych rozpuszczalników.

Szerokie zastosowanie propolisu związane jest z jego aktywnością biologiczną. Ekstrakty z propolisu charakteryzują się m.in. aktywnością przeciwbakteryjną, przeciwgrzybiczą, przeciwwirusową, przeciwnowotworową oraz przeciwzapalną (2, 5-11). Według danych literaturowych, ekstrakty z propolisu hamują rozwój takich grup drobnoustrojów, jak bakterie Gram-dodatnie (*Staphylococcus aureus*, *Diplococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecium*, *Bacillus cereus*), bakterie Gram-ujemne (*Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*), grzyby drożdżoidalne (*Candida albicans*) czy grzyby pleśniowe (*Aspergillus flavus* oraz *Penicillium italicum*) (7, 9, 11-13). Ponadto, ekstrakty z propolisu wykazują właściwości przeciwutleniające oraz wysoką aktywność cytoochronną ludzkich erytrocytów przed hemolitycznym działaniem wolnych rodników, co może mieć znaczenie w zapobieganiu przez ten surowiec chorobom cywilizacyjnym i wieku starczego wywoływanych przez stres oksydacyjny (14). Aktywność biologiczna europejskiego propolisu jest związana z jego złożonym składem chemicznym, a przede wszystkim z obecnością związków fenolowych, w tym flawonoidów oraz kwasów fenolowych i ich estrów (2, 4). Dane literaturowe wskazują, że głównymi składnikami propolisu pochodzenia krajowego z grupy związków fenolowych są m.in. chryzyna, apigenina, galangina, kemferol, pinostrobin, pinobanksyna, naringenina, kwercetyna oraz kwasy fenolowe (kawowy, ferulowy, cynamonowy, kumarowy, wanilinowy) (11, 14-17). Ponadto, w próbkach surowca

pochodzącego z różnych regionów świata oznaczane są związki należące do terpenów, aldehydów, kwasów tłuszczowych, aminokwasów oraz węglowodanów (8, 11, 13, 16, 17). Skład chemiczny oraz aktywność biologiczna propolisu określana jest dla jego ekstraktów otrzymywanych przy wykorzystaniu do procesu ekstrakcji różnych rozpuszczalników, w tym najczęściej stosowany jest alkohol etylowy o zróżnicowanym udziale wody, rzadziej alkohol metylowy, aceton oraz woda (9, 18-20). Dane literaturowe wskazują ponadto, że wybór rozpuszczalnika do procesu ekstrakcji propolisu wpływa na jego aktywność biologiczną, w tym przeciwgrzybiczą oraz przeciwutleniającą (14, 20-22).

Cel pracy

Celem pracy było określenie aktywności przeciwbakteryjnej, przeciwgrzybiczej oraz przeciwutleniającej ekstraktów z propolisu, jak również porównanie aktywności biologicznej ekstraktów z propolisu, w zależności od zastosowanego rozpuszczalnika – alkoholu etylowego lub glikolu propylenowego.

Materiał i metody

Ekstrakty z propolisu

W badaniach wykorzystano dwa ekstrakty z propolisu pochodzącego z tej samej partii, o stężeniu 100 mg/ml: etanolewy (EP1) i przygotowany przy zastosowaniu glikolu propylenowego (EP2).

Aktywność przeciwutleniająca

Ocena aktywności przeciwrodnikowej w teście DPPH·

Aktywność przeciwrodnikową ekstraktów z propolisu oceniono, określając ich zdolność do zmiatania kationorodnika DPPH·. Do 0,2 ml ekstraktów o stężeniu 0,1 mg/ml dodano 0,2 ml roztworu 0,1M DPPH (2,2-difenylo-1-pikrylohydrazyl) (Sigma-Aldrich) i inkubowano przez 30 min w temperaturze pokojowej, bez dostępu światła. Następnie mierzono absorbcję roztworów z wykorzystaniem spektrofotometru GENESYS 10uV (Thermo Scientific) przy długości fali $\lambda = 517$ nm. Jako związek referencyjny zastosowano Troloks (kwas 6-hydroksy-2,5,7,8-tetrametylochroman-2-karboksylowy, Sigma-Aldrich), rozpuszczalną w wodzie pochodną witaminy E. Na podstawie uzyskanych wartości absorbcji obliczono aktywność przeciwrodnikową (AP) badanych produktów, stosując następujące równanie:

$$AP (\%) = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100\%$$

gdzie: A_0 – absorbcja próby kontrolnej, A_1 – absorbcja prób zawierających ekstrakty z propolisu.

Analizę aktywności przeciwdrobnoustrojowej ekstraktów w teście z kationorodnikiem DPPH· przeprowadzono trzykrotnie, a przedstawione wyniki są wartością średnią ($n = 9$).

Ocena zdolności ekstraktów z propolisu do chelatowania jonów żelaza (Fe^{2+}) w reakcji z ferozyną

Zdolność ekstraktów z propolisu do chelatowania jonów żelaza (Fe^{2+}) oszacowano spektrofotometrycznie na podstawie oceny hamowania formowania kompleksu Fe^{2+} z ferozyną. Do 0,2 ml ekstraktu z propolisu o stężeniu 0,1 mg/ml dodano 0,05 ml roztworu $FeCl_2$ (Sigma-Aldrich) o stężeniu 0,6 mM. Następnie dodano 0,05 ml roztworu ferozyny (Sigma-Aldrich) o stężeniu 5 mM, wytrząsano i mierzono absorbancję przy $\lambda = 562$ nm z wykorzystaniem spektrofotometru GENESYS 10uV (Thermo Scientific). Jako związek referencyjny zastosowano EDTA (kwas etylenodiaminotetraoctowy, Sigma-Aldrich). Zdolność ekstraktów z propolisu do chelatowania jonów żelaza (II) wyrażono w %, stosując następujące równanie:

$$\text{Zdolność chelatowania } Fe^{2+} (\%) = [1 - (\text{Abs}_1 / \text{Abs}_0)] \times 100\%$$

gdzie: Abs_0 – wartość absorbancji próby bez ekstraktu z propolisu, Abs_1 – wartość absorbancji w obecności ekstraktu z propolisu.

Analizę aktywności chelatującej ekstraktów w teście z ferozyną przeprowadzono dwukrotnie, a przedstawione wyniki są wartością średnią ($n = 6$).

Aktywność przeciwdrobnoustrojowa

Aktywność przeciwdrobnoustrojową badanych ekstraktów z propolisu określono względem bakterii Gram-dodatnich (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538 P), bakterii Gram-ujemnych (*Escherichia coli* ATCC 8739) oraz grzybów drożdżoidalnych (*Candida albicans* PCM 1409 PZH). Z badanych ekstraktów przygotowano szereg rozcieńczeń w zakresie od 0,5 do 100,0 mg/ml. Rozcieńczenia przygotowywano w podłożu płynnym CASO Broth (Merck) lub agarowym CASO Agar (Merck), w przypadku bakterii i Sabourauda Agar (Merck) w przypadku grzybów. Przy ocenie aktywności ekstraktów z propolisu względem bakterii Gram-dodatnich preparaty rozcieńczano w podłożu płynnym CASO Broth w stężeniu 100 mg/ml, a następnie w podłożu agarowym CASO Agar w zakresie stężeń 0,5-10,0 mg/ml. W przypadku bakterii Gram-ujemnych badane preparaty przenoszono bezpośrednio do podłoża agarowego CASO Agar w granicach stężeń 10,0-100,0 mg/ml. Natomiast przy oznaczaniu aktywności względem grzybów drożdżoidalnych stosowano podobny sposób rozcieńczeń jak

dla bakterii Gram-dodatnich, gdzie w pierwszym etapie wykonano rozcieńczenia w podłożu płynnym Sabouraud Broth, w drugim – w podłożu agarowym – Sabouraud Agar w granicach stężeń 0,5-10,0 mg/ml. Następnie na powierzchni płytek agarowych po ich zestaleniu wykonywano metodą kreskową posiewy badanych szczepów drobnoustrojów. Hodowle 24-godz. tych szczepów rozcieńczano w podłożu płynnym CASO Broth (bakterie) lub Sabouraud Broth (grzyby) do uzyskania gęstości 10^5 CFU w 1 ml. Po 24 godz. inkubacji płytek agarowych w temp. $37^\circ C$ określano najmniejsze stężenia badanych ekstraktów z propolisu hamujące wzrost wybranych drobnoustrojów (ang. *minimal inhibitory concentration* – MIC).

Całkowita zawartość związków fenolowych

W ekstraktach z propolisu oznaczono całkowitą zawartość związków fenolowych metodą Folina-Ciocalteu. Do 0,1 ml ekstraktu o stężeniu 0,5 mg/ml dodano 0,25 ml odczynnika Folina-Ciocalteu (Sigma-Aldrich) i po 3 minutach 3 ml 10% roztworu węgla sodu (Avantor Performance Materials). Następnie, po 40-minutowej inkubacji mierzono absorbancję roztworów, przy długości fali $\lambda = 765$ nm, wykorzystując spektrofotometr UV-VIS Varian Cary 300 Bio. Dla każdego z badanych ekstraktów wykonano trzy powtórzenia, a wynik wyrażono w przeliczeniu na kwas galusowy (mg GAeq/ml ekstraktu o stężeniu 100 mg/ml).

Całkowita zawartość flawonoidów

Stężenie flawonoidów w badanych ekstraktach z propolisu oznaczono metodą kolorymetryczną, opartą na zdolności tej grupy związków do tworzenia barwnych kompleksów z $AlCl_3$. Do 0,2 ml ekstraktów o stężeniu 0,5 mg/ml dodano 2 ml 2% alkoholowego roztworu $AlCl_3$, a następnie badane roztwory inkubowano przez 60 minut bez dostępu światła. Po inkubacji, mierzono absorbancję roztworów przy długości fali $\lambda = 430$ nm, wykorzystując spektrofotometr UV-VIS Varian Cary 300 Bio. Dla każdego z badanych ekstraktów wykonano trzy powtórzenia, a wynik wyrażono w przeliczeniu na kwercetynę (mg Qeq/ml ekstraktu o stężeniu 100 mg/ml).

Wyniki i ich omówienie

W pierwszym etapie badań określono aktywność przeciwdrobnoustrojową analizowanych ekstraktów z propolisu. W tabeli 1 przedstawiono wartości MIC (minimalne stężenie ekstraktu, powodujące zahamowanie wzrostu szczepu drobnoustroju) badanych ekstraktów z propolisu wobec bakterii: *S. aureus* oraz *E. coli*, a także wobec grzyba drożdżoidalnego z gatunku *C. albicans*.

Tab. 1. Aktywność przeciwbakteryjna oraz przeciwgrzybicza ekstraktów z propolisu

Ekstrakt z propolisu	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
	MIC [mg/ml]		
EP1 Rozpuszczalnik – alkohol etylowy	2,0	100,0	2,5
EP2 Rozpuszczalnik – glikol propylenowy	2,0	100,0	2,5

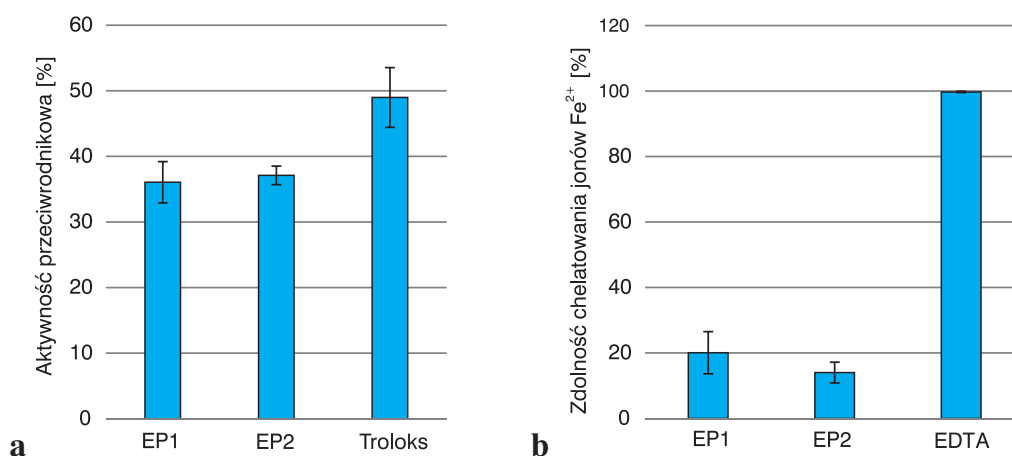
Badane ekstrakty z propolisu, bez względu na zastosowany rozpuszczalnik, wykazywały taką samą aktywność wobec badanych szczepów drobnoustrojów. Ekstrakty najsilniej hamowały wzrost szczepów *S. aureus* oraz *C. albicans* (MIC odpowiednio 2,0 i 2,5 mg/ml). Natomiast szczep *E. coli* charakteryzował się wyższą opornością na działanie badanych ekstraktów z propolisu, co jest zgodne z danymi literaturowymi wskazującymi, że ekstrakty z propolisu odznaczają się wyższą aktywnością wobec bakterii Gram-dodatnich niż Gram-ujemnych (5, 12). Ponadto, aktywność ekstraktów z propolisu pochodzenia zarówno krajowego, jak i z innych regionów geograficznych wobec badanych drobnoustrojów potwierdzają liczne dane literaturowe (5, 6, 8, 9, 11, 12, 16). Ekstrakty z propolisu hamowały ponadto rozwój innych drobnoustrojów, w tym m.in. *Mycobacterium smegmatis*, *Listeria innocua*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus niger*, *Trichophyton rubrum*, *Penicillium chrysogenum* czy *Candida tropicalis* (21, 23-26).

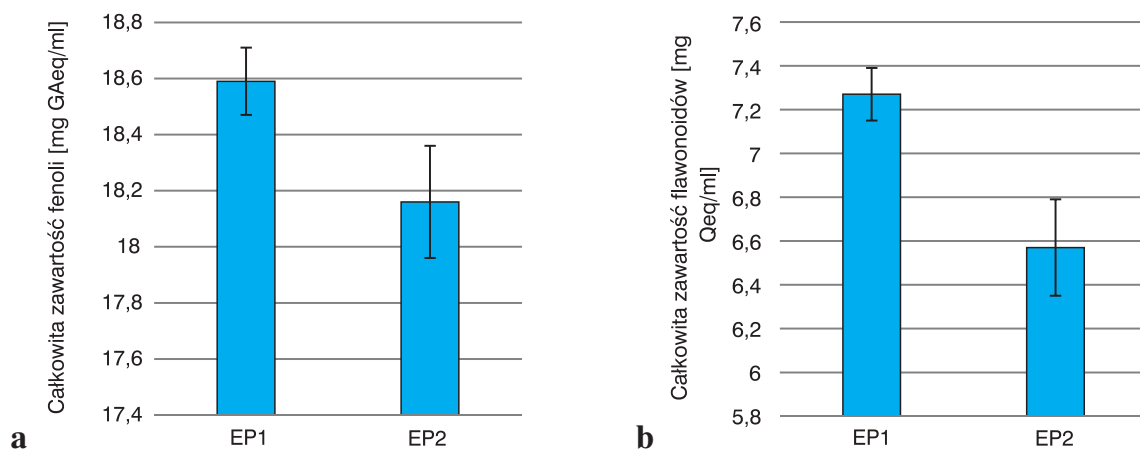
W kolejnym etapie badań określono aktywność przeciwutleniającą ekstraktów z propolisu poprzez wyznaczenie ich aktywności przeciwrodnikowej oraz zdolności chelatowania jonów Fe^{2+} . Na rycinie 1a przedstawiono wyniki aktywności przeciwrodnikowej uzyskane dla ekstraktów z propolisu, a na rycinie 1b

zaprezentowano zdolność chelatowania jonów żelaza (II) badanych ekstraktów.

Badane ekstrakty z propolisu charakteryzowały się wysoką oraz zbliżoną aktywnością przeciwrodnikową (36,06% dla EP1 oraz 37,10% dla EP2), która wynosiła ponad 70% aktywności Troloksu, stosowanego w badaniach jako standardowy antyoksydant. Z kolei, wyniki aktywności chelatowania jonów Fe^{2+} wskazują, że badane ekstrakty wykazują niższą aktywność niż EDTA użyty jako związek referencyjny. Nieznacznie niższa zdolność chelatowania jonów Fe^{2+} obserwowana dla ekstraktu z propolisu, gdzie jako rozpuszczalnik zastosowano glikol propylenowy (14,03% dla EP2, zaś 20,09% dla EP1), może być efektem niższej całkowitej zawartości flawonoidów w tym ekstrakcie, co przedstawiono na rycinie 2b. Według danych literaturowych związki flawonoidowe odpowiedzialne są za tworzenie połączeń z metalami zwanych chelatami (27). Flawonoidy mają zdolność wiązania się z wieloma pierwiastkami, w tym również metalami szkodliwymi dla zdrowia człowieka, takimi jak ołów, kadm, rtęć czy kobalt (27-29).

W badanych ekstraktach z propolisu oznaczono całkowitą zawartość związków fenolowych oraz flawonoidów, a wyniki tych oznaczeń przedstawiono odpowiednio na rycinie 2a i 2b.

**Ryc. 1a, b.** Aktywność przeciwrodnikowa (a) oraz zdolność chelatowania jonów Fe^{2+} (b) wyznaczone dla ekstraktów z propolisu



Ryc. 2a, b. Całkowita zawartość związków fenolowych (a) oraz flawonoidów (b) w badanych ekstraktach z propolisu

Analiza całkowitej zawartości związków fenolowych oraz flawonoidów w ekstraktach z propolisu wskazuje, że ekstrakt, dla którego jako rozpuszczalnik zastosowano alkohol etylowy (EP1), charakteryzuje się wyższą zawartością tych substancji bioaktywnych. Różnice w oznaczonej całkowitej zawartości zarówno związków fenolowych ($18,16 \pm 0,20$ mg GAeq/ml dla EP1 oraz $18,59 \pm 0,12$ GAeq/ml dla EP2), jak i flawonoidów ($6,57 \pm 0,22$ mg Qeq/ml dla EP1 oraz $7,27 \pm 0,12$ mg Qeq/ml dla EP2) w obu badanych ekstraktach są niewielkie. Jednakże należy zaznaczyć, że zawartość związków fenolowych i flawonoidów oraz aktywność biologiczna propolisu jest zależna od wielu czynników, nie tylko od rodzaju rozpuszczalnika stosowanego do procesu ekstrakcji surowca, ale także miejsca i czasu jego pozyskania, dlatego ważna jest kontrola jakości dostępnych handlowo preparatów opartych na produktach pszczelich (3, 17, 18, 20, 30, 31).

Wnioski

1. Badane ekstrakty z propolisu, bez względu na zastosowany rozpuszczalnik (alkohol etylowy lub glikol propylenowy), wykazywały wysoką aktywność względem *S. aureus* oraz *C. albicans*.
2. Analiza właściwości przeciwutleniających ekstraktów z propolisu wykazała ich wysoką aktywność przeciwrodnikową w teście z DPPH \cdot oraz niższą zdolność chelatowania jonów Fe $^{2+}$.
3. Ekstrakty z propolisu charakteryzowały się zbliżoną i zarazem wysoką zawartością związków fenolowych oraz flawonoidów.
4. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały, że zastosowane rozpuszczalniki nie wpływały znacząco na analizowaną aktywność biologiczną oraz zawartość substancji bioaktywnych w badanych ekstraktach propolisowych.

Piśmiennictwo

1. 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 Vol 2013; Article ID 697390.
2. Wagh VD. Propolis: A wonder bees product and its pharmacological potentials. Evid Based Compl Alt Vol 2013; Article ID 308249.
3. Kędzia B. Skład chemiczny i aktywność biologiczna propolisu pochodzącego z różnych regionów świata. Post Fitoter 2006; (1):23-35.
4. Castaldo S, Capasso F. Propolis, an old remedy used in modern medicine. Fitoter 2002; Suppl. 1:S1-S6.
5. Przybyłek I, Karpiński TM. Antibacterial properties of propolis. Molecules 2019; 24:2047.
6. Silva JC, Rodrigues S, Feas X i wsp. Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. Food Chem Toxicol 2012; 50:1790-5.
7. 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.
8. Kalogeropoulos N, Konteles SJ, Troullidou E i wsp. Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus. Food Chem 2009; 116:452-61.
9. Mavri A, Abramovic H, Polak T i wsp. Chemical properties and antioxidant activity of Slovenian propolis. Chem Biodivers 2012; 9:1545-57.
10. 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.
11. Popova M, Giannopoulou E, Skalicka-Woźniak K i wsp. Characterization and biological evaluation of propolis from Poland. Molecules 2017; 22:1159.

12. Woźniak M, Mrówczyńska L, Sip A i wsp. Aktywność biologiczna roślinnych produktów pszczelich pochodzących z Gór Sowich. *Post Fitoter* 2020; 21(2):67-72.
13. Kędzia B, Hołderna-Kędzia E. Aktywność antybiotyczna propolisu krajowego i europejskiego. *Post Fitoter* 2013; (2):97-107.
14. Woźniak M, Mrówczyńska L, Kwaśniewska-Sip P i wsp. Effect of the solvent on propolis phenolic profile and its antifungal, antioxidant, and *in vitro* cytoprotective activity in human erythrocytes under oxidative stress. *Molecules* 2020; 25:4266.
15. Kędzia B. Skład chemiczny propolisu polskiego. Cz. I. Początkowy okres badań. *Post Fitoter* 2009; (1):39-44.
16. Kędzia B. Skład chemiczny propolisu polskiego. Cz. II. Nowe badania. *Post Fitoter* 2009; (2):122-8.
17. 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.
18. Miguel MG, Nunes S, Dandlen SA i wsp. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal. *Food Sci Technol* 2014; 34(1):16-23.
19. 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.
20. Cottica SM, Sawaya ACHF, Eberlin MN i wsp. Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *J Braz Chem Soc* 2011; 22(5):929-35.
21. 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):927-34.
22. Woźniak M, Ratajczak I, Kwaśniewska P i wsp. Badanie aktywności ekstraktów propolisowych wobec wybranych gatunków grzybów pleśniowych. *Post Fitoter* 2015; 16(4):205-9.
23. Garew A, Schmolz E, Lamprecht I. Microbiological and calorimetric investigations on the antibacterial actions of different propolis extracts: an *in vitro* approach. *Thermochim Acta* 2004; 422:115-24.
24. Agüero MB, Svetaz L, Sanchez M i wsp. Argentinean Andean propolis associated with the medical plant *Larrea nitida* Cav. (*Zygophyllaceae*). HPLC-MS and GC-MS characterization and antifungal activity. *Food Chem Toxicol* 2011; 49:1970-8.
25. Mohammadzehl S, Shariatpanahi M, Hamedí M i wsp. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. *Food Chem* 2007; 103:1097-103.
26. 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.
27. Kędzia B, Hołderna-Kędzia E. Usuwanie metali szkodliwych dla zdrowia z organizmu za pomocą produktów pszczelich. *Herba Pol* 2009; 55:98-108.
28. Malesev D, Kuntić V. Investigation of metal-flavonoid chelates and the determination of flavonoids via metal-flavonoid complexing reactions. *J Serb Chem Soc* 2007; 72:921-39.
29. Soczyńska-Kordala M, Bąkowska A, Oszmiański J i wsp. Metal ion-flavonoid associations in bilayer phospholipid membranes. *Cell Molec Biol Lett* 2001; 6:277-81.
30. Kumazawa S, Hamasaka T, Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origin. *Food Chem* 2004; 84:329-39.
31. Sun Ch, Wu Z, Wang Z i wsp. Effect of ethanol/water solvents on phenolic profile and antioxidant properties of Beijing propolis extracts. *Evid Based Compl Alt Vol* 2015; Article ID 595393.

Konflikt interesów**Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów

None

otrzymano/received: 01.03.2021

zaakceptowano/accepted: 08.03.2021

Adres/address:

*dr n. leśn. 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