

PROPOLIO, SURINKTO SKIRTINGUOSE LIETUVOS RAJONUOSE, CHEMINĖS SUDĖTIES IR ANTIMIKROBINIO AKTYVUMO TYRIMAS

D.MAJIENĖ, A.ŠIDLAUSKAITĖ, A.PAVILONIS, S.TRUMBECKAITĖ,
A.GENDROLIS, A.SAVICKAS
Kauno medicinos universitetas

Raktažodžiai: *propolio etanolinis tirpalas, fenoliniai junginiai, flavonoidai.*

Santrauka

Iš 8 skirtingų Lietuvos rajonų buvo surinkta 10 propolio pavyzdžių ir iš jų paruošti propolio etanoliniai tirpalai (PET). Atlikus kokybines reakcijas fenoliniams junginiams ir flavonoidams identifikuoti, teigiamos kokybinės reakcijos fenoliniams junginiams gautos visais atvejais, viename propolio pavyzdyje flavonoidai buvo neidentifikuoti. Nustatyta, jog fenolinių junginių ir flavonoidų koncentracijos statistiškai patikimo skirtumo tarp atskirų Lietuvos regionų nėra. Daugiausia fenolinių junginių nustatyta propolio pavyzdžiuose, surinktuose iš avilių, esančių netoli mišraus miško (vidutinė koncentracija $4,26 \pm 0,11$ proc.), mažiausiai – netoli pušynų ir pievų (vidutinė koncentracija $2,46 \pm 0,71$ proc.). Didžiausia flavonoidų koncentracija nustatyta propolio pavyzdžiuose, surinktuose iš pievose esančių avilių ($0,43 \pm 0,08$ proc.), mažiausia – aviluose, esančiuose šalia lapuočių miškų ($0,11 \pm 0,04$ proc.). Tai rodo, jog propolio cheminė sudėtis nepriklauso nuo propolio geografinės kilmės, bet priklauso nuo netoli bičių buvimo vietos augančių medžių ir augalų įvairovės. Visi propolio pavyzdžiai pasižymėjo antimikrobinio aktyvumu gramteigiamoms ir gramneigiamoms bakterijoms bei grybų etaloninėms kultūroms. Vidutinė fenolinių junginių koncentracija, slopinanti etaloninių mikroorganizmų kultūrų augimą ir dauginimąsi gramteigiamoms bakterijoms (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*), yra $0,42 \pm 0,04$ proc., gramneigiamoms (*E.coli* β -lac (+), *E.coli* β -lac (-), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*) – $0,8 \pm 0,05$ proc., gramteigiamoms sporas formuojančioms (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*) – $0,75 \pm 0,05$ proc., o grybams (*Candida albicans*) – $0,25 \pm 0,03$ proc.

IVADAS

Pasaulyje intensyviai kuriami vis nauji sintetiniai vaistai, tačiau preparatai iš natūralių žaliavų taip pat yra dažnai naudojami daugeliui ligų gydyti bei profilaktikai, nes jie turi platų farmakologinį ir mažą šalutinį poveikį, prie jų nepriprantama. Šių dienų medicinos praktikoje dažnai vartojamas propolis, nes jis pasižymi ne tik stipriu antibakteriniu, antigrybeliniu, antivirusiniu, bet ir imunitetą stiprinančiu, skausmą bei uždegimą slopinančiu, žaizdų gijimą skatinančiu, antioksidantiniu poveikiu [1].

Propolis yra kompleksas biologiškai aktyvių medžiagų. Kiekviename propolio pavyzdyje nustatoma daugiau nei 80-100 cheminių junginių [2]. Tačiau identifikuojamų medžiagų sudėtis yra labai skirtinga ir ji priklauso nuo daugelio veiksnių [3]. Be to, skirtinguose propolio pavyzdžiuose nustatoma ne tik nevienoda veikliųjų medžiagų sudėtis, bet ir jų kiekiai, o tai lemia skirtingą farmakologinį poveikį.

Nors Lietuvoje propolis ir jo etanoliniai tirpalai gana plačiai naudojami įvairioms ligoms gydyti ir profilaktikai, tačiau jo cheminė sudėtis nėra pakankamai gerai iširta. Vieno propolio pavyzdžio etanoliniame ekstrakto dujų chromatografijos – masių spektrometrijos metodu buvo identifikuotos 68 cheminės medžiagos, tačiau šiame ekstrakto pagrindinė biologiškai aktyvių junginių klasė buvo terpenoidai, o ne flavonoidai, kurie, manoma, būdingi Europoje surinktam propoliui [4]. Duomenų apie skirtinguose Lietuvos rajonuose surinkto propolio cheminę sudėtį nėra. Be to, visame pasaulyje susiduriama su propolio veikliųjų medžiagų kiekybinio įvertinimo problema [5]. Dėl to siūlomi nauji metodai tikslesniam biologiškai aktyvių medžiagų kiekiui nustatyti propolyje [6]. Šiuos metodus aktualu įsisavinti ir palyginti su jau praktikoje naudojamais metodais.

Buvo tirtas Lietuvoje surinkto propolio antimikrobinis poveikis ir nustatyta, kad propolio etanolinio ekstrakto minimali inhibicinė koncentracija priklauso nuo bakterijų sienelės savybių [7,8]. Tačiau iki šiol nėra žinoma,

ar skiriasi įvairiose Lietuvos vietovėse surinkto propolio antimikrobinis aktyvumas.

Darbo tikslas – nustatyti ir palyginti propolio, surinkto iš įvairių Lietuvos rajonų, cheminę sudėtį ir antimikrobinį aktyvumą.

TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

Propolis

Iš 8 skirtingų Lietuvos administracinių rajonų buvo surinkta 10 propolio pavyzdžių. Lietuva pagal klimatą skirstoma į 4 klimato rajonus: pajūrio, žemaičių, vidurio žemumos, pietryčių aukštumos (LŽŪM Žemėtvarkos institutas – Klimato rajonavimo kartografinis žemėlapis). Geografinė propolio kilmė pateikiama 1 lentelėje.

Iki tirpalo ruošimo propolis buvo laikomas sausoje tamsioje vietoje. PET gamybai propolio milteliai buvo užpilami 70 proc. etanoliumi. Ekstrakcija buvo vykdoma kambario temperatūroje 24 val. maišant, o paruoštas tirpalas filtruojamas pro filtro popierių.

Kokybinė ir kiekybinė propolio tirpalų analizė

Fenolinių junginių tapatybę ekstraktuose nustatyta naudojant bazinį švino acetato tirpalą. Flavonoidų tapatybę nustatyta į ekstraktus įberiant magnio miltelių ir

1 lentelė. Propolio pavyzdžiai, suskirstyti pagal geografinę kilmę.

Kilmės regionas	Administracinis Lietuvos rajonas	Pavyzdžio numeris	Pastabas
Pajūris	Klaipėdos	1	Propolis surinktas iš avilčių, esančių už kelių kilometrų nuo jūros pakraščio. Nuošalus yra lapuočių miškas.
Žemaičių	Telšiai	2	Avilčiai, iš kurių buvo surinktas propolis, yra vienkameryje, apaugtame kultūriniais pievomis, už kelių kilometrų – miškas miškas.
Vidurio žemumos	Kelšiadorys	3	Avilčiai pildomi pašarais iš avilčių, esančių atskaitoje kolkoltyviškame sode, šalia Kauno miesto ir Šėdros. Miškas net už 1 km yra miškas miškas.
	Kauno	4	Avilčiai, iš kurių buvo surinktas propolis, yra kolkoltyviškame sode, šalia Kauno miesto ir Šėdros. Miškas net už 1 kilometrą – lapuočių miškas.
	Kėdaičiai	5	Propolis surinktas iš kolkoltyviškame sode, esančių sėdų bendrystėje, aplink kurį atskaitoje miškas miškas.
	Kupiškis	6	Avilčiai, iš kurių buvo surinktas propolis, yra vienkameryje, apaugtame ogių ir dirbaliu sode, 1 km spinduliu plyti miškas miškas.
Pietryčių aukštumos	Alytus	7	Avilčiai, iš kurių buvo surinktas propolis, yra už kelių kilometrų nuo Alytaus į šilkinis miškas miškas.
		8	Von kolkoltyviškame sode sėdų bendrystėje ir aplink kurį atskaitoje miškas miškas.
		9	Propolis surinktas iš avilčių, esančių palytinis apaugtame Alytaus priemiestyje (už 0,5 kilometrų nuo miesto centro). Šilkinis miškas miškas.
Leonių	10	Propolis surinktas iš avilčių, esančių vienkameryje su dirbaliu sode ir šilkinis miškas net už kelių kilometrų.	

įpilant koncentruotos vandenilio chlorido rūgšties.

Nustatytas PET esančių fenolinių junginių ir flavonoidų kiekis. Bendra fenolinių junginių koncentracija įvertinta 2 metodais: (A) spektrofotometru „Hitachi 557“ 290 nm bangos ilgyje matuotas optinis tankis ir apskaičiuota bendra fenolinių junginių koncentracija [9], (B) modifikuotu Folin-Ciocalteu mikro metodu: 20 ml tinkamai praskiesto PET dedama į 1,58 ml distil. vandens ir 100 ml Folin-Ciocalteu reagento, gerai suplakama. Po keleto minučių dedama 300 ml sotos natrio karbonato tirpalo ir gerai suplakama. Tirpalas laikomas 2 val. kambario temperatūroje, po to 760 nm bangos ilgyje nustatomas tirpalų optinis tankis, naudojant palyginamąjį tirpalą. Fenolinių junginių kiekis nustatomas pagal galangino+pinocembrino kalibracinę kreivę. Fenolinių junginių koncentracija pateikta pagal galangino+pinocembrino ekvivalentą (GPE) [6,10]. Flavonoidų kiekis nustatytas 425 nm bangos ilgyje, atlikus reakciją su Al (III) chloridu [11].

Antimikrobinio poveikio nustatymas

PET antimikrobinis aktyvumas buvo nustatytas naudojant etalonines mikroorganizmų kultūras: gramteigiamas bakterijas (Staphylococcus aureus ATCC 25399, Enterococcus faecalis ATCC 79818, Streptococcus pneumoniae ATCC 33199), gramteigiamas sporas formuojančias bakterijas (Bacillus cereus ATCC 8035, Bacillus subtilis ATCC 6623), gramneigiamas bakterijas (Escherichia coli β-lac (+) ATCC 35218, Escherichia coli β-lac (-) ATCC 25922, Pseudomonas aeruginosa ATCC 27859, Proteus mirabilis ATCC 12459), grybus (Candida albicans ATCC 60193).

Antimikrobinis aktyvumas nustatytas 2 būdais: (1) ant kiekvienos kultūros, užaugintos triptozės sojos agarė (bakterijos) ar Sabūro dekstrozės agarė (grybai), buvo užlašintas 1 lašas PET. Antimikrobinį tirpalų aktyvumą rodo zonos, kurioje slopinamas etaloninių mikroorganizmų kultūrų augimas, diametras. PET pasižymi antimikrobinu poveikiu, jei zona, kurioje neauga mikroorganizmai, yra

2 lentelė. Fenolinių junginių koncentracija PET pavyzdžiuose.

Pvz. Nr.	Tichonovo metodu (A) Fenolinių junginių koncentracija, %	Folin-Ciocalteu metodu (B) Fenolinių junginių koncentracija, μg/100ml
1	3,92 ± 0,20	2,24 ± 0,17
2	4,12 ± 0,18	3,00 ± 0,13
3	4,39 ± 0,19	3,42 ± 0,23
4	3,53 ± 0,12	2,29 ± 0,27
5	4,12 ± 0,20	3,95 ± 0,32
6	4,19 ± 0,13	3,47 ± 0,28
7	1,06 ± 0,11	0,18 ± 0,05
8	3,34 ± 0,16	1,60 ± 0,24
9	2,95 ± 0,09	1,90 ± 0,17
10	3,30 ± 0,18	3,97 ± 0,07

didesnė nei 10 mm. Kontroliniai eksperimentai, atlikti su tirpikliu, parodė, jog jis antimikrobinio poveikio neturi. (2) PET antimikrobinis aktyvumas buvo nustatomas naudojant skirtingų skiedimų metodą [12].

Duomenų statistiniam įvertinimui naudotas „Jandel Scientific“ programinis paketas, v 1,02. Apskaičiuoti eksperimentinių duomenų aritmetiniai vidurkiai ir jų vidutinės kvadratinės paklaidos. Skirtumai tarp vidurkių įvertinti Stjudento kriterijumi ir yra patikimi, jei $p < 0,05$.

REZULTATAI

Iš 8 skirtingų Lietuvos rajonų buvo surinkta 10 propolio pavyzdžių, kurie pasižymėjo skirtinga spalva, kvapu ir skoniu. Iš kiekvieno pavyzdžio buvo paruošta PET ir atlikta kokybinė analizė fenolinių junginių ir flavonoidų identifikavimui. Teigiamos kokybinės reakcijos fenoliniams junginiams gautos visais atvejais, bet flavonoidai viename propolio pavyzdyje buvo neidentifikuoti.

Vienas iš pagrindinių rodiklių, kuriais apibūdinama propolio ir jo tirpalų kokybė, yra fenolinių junginių koncentracija. Lietuvos farmakopėjinis straipsnis reglamentuoja, kad propolio etanoliniame tirpale (1:10), kuris yra dažniausiai naudojamas medicinos praktikoje, turi būti ne mažiau nei 2 proc. fenolinių junginių [13]. Kiekybinė fenolinių junginių analizė buvo atlikta (A) Tichonovo metodu, kuris yra plačiai taikomas Rusijoje bei Lietuvoje ir (B) Folin-Ciocalteu metodu, kurį rekomenduoja Europos farmakopėja bendram fenolinių junginių kiekiui nustatyti. Šio metodo modifikaciją, pritaikytą propolio tyrimams, naudoja daugelio pasaulio šalių specialistai. Tyrimų duomenys pateikti 2 lentelėje.

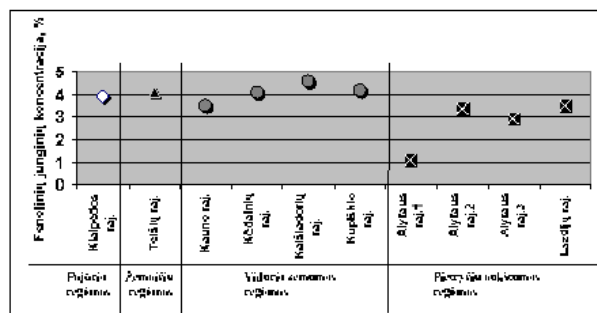
Iš 2 lentelėje pateiktų duomenų matome, kad tuose pačiuose PET nustatomas skirtingas fenolinių junginių kiekis naudojant skirtingą matavimo metodą. Tichonov ir kt. [14] teigė, kad spektrofotometrinio metodu 290 nm

bangos ilgyje propolio etanoliniuose ekstraktuose nustatoma tiek pat fenolinių junginių, kiek ir chromatografinės analizės būdu. Šis teiginys yra pagrįstas eksperimentais, kurių metu iširta iš Azijos ir Europos surinkti propolio pavyzdžiai ir nustatytas juose fenolinių junginių kiekis spektrofotometrinio ir chromatografinio metodu. Tačiau šiuo metodu atlikus tyrimus, gautus duomenis sunku palyginti su pasaulyje atliekamais propolio cheminės sudėties tyrimais, kadangi užsienio literatūroje propolio fenolinių junginių koncentracijos būdavo pateikiamos pagal Galo rūgšties ekvivalentą. 2004 m. šis metodas buvo modifikuotas ir dabar fenolinių junginių koncentracijos yra pateikiamos pagal galangino+pinocembrino ekvivalentą. Mokslininkai, pritaikę šį metodą propolio fenolinių junginių koncentracijos įvertinimui, taip pat įrodo, jog tiriant šiuo būdu, veikliųjų junginių nustatoma tiek pat kiek ir didelio slėgio skysčių chromatografijos metodu [6]. Mūsų tyrimai rodo, jog kai kuriais atvejais yra skirtumas tarp veikliųjų junginių kiekio, nustatyto skirtingais metodais. Taigi išlieka fenolinių junginių kiekio propolyje įvertinimo problema ir ateityje bus atliekami tyrimai tobulinant kiekybinio įvertinimo metodus.

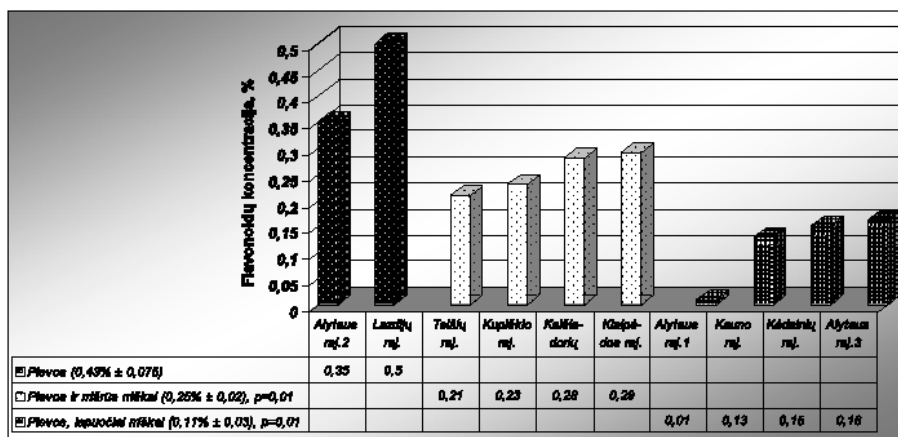
Kadangi iki šiol Lietuvoje buvo dažniausiai naudotas veikliųjų junginių kiekio nustatymas 290 nm bangos ilgyje, todėl tolimesniam šiame darbe pateikiamų duomenų aptarimui naudosime fenolinių junginių koncentracijas, pateiktas 2 lentelės A skiltyje. Šie duomenys rodo, jog Lietuvos pavyzdžiuose stebimas didelis fenolinių junginių koncentracijų skirtumas tarp atskirų propolio pavyzdžių. Norėdami įvertinti fenolinių junginių koncentracijos priklausomybę nuo regiono, visus surinktus pavyzdžius suskirstėme į 4 grupes (1 pav.). Gauti duomenys rodo, kad fenolinių junginių kiekio statistiškai reikšmingo skirtumo tarp atskirų Lietuvos regionų nėra. Tada tyrėme fenolinių junginių priklausomybę nuo netoli bičių buvimo vietos augančių augalų įvairovės.

Daugiausia fenolinių junginių rasta tuose propolio pavyzdžiuose, kurie paimti iš avilių, buvusių netoli mišrių miškų (Nr. 2, 3, 5, 6; vidutinė koncentracija $4,26 \pm 0,11$ proc.), aplink avilius esant pievoms ir lapuočių miškams veikliųjų junginių koncentracija mažesnė (Nr.1, 4, 10; vidutinė koncentracija $3,65 \pm 0,14$ proc.), mažiausiai – netoli pušynų ir pievų (Nr. 7, 8, 9; vidutinė koncentracija $2,46 \pm 0,71$ proc.).

Paskutiniai dešimtmečiais literatūroje atsirado daug duomenų, parodančių, jog flavonoidai pasižymi labai plačiu terapiniu poveikiu ir yra įrodytas jų antivirusinis, antibakterinis, laisvųjų radikalų gamybą slopinantis poveikis [15,16], todėl buvo aktualu nustatyti šių junginių koncentracijas mūsų tiriamuose propolio pavyzdžiuose.



1 pav. Fenolinių junginių pasiskirstymas pagal klimato regionus.



2 pav. Flavonoidų pasiskirstymas pagal augalų įvairovę.

Iš literatūros duomenų žinoma, kad Europoje vyraujančiame topolių tipo propolyje didelę dalį fenolinių junginių sudaro flavonoidai. Mūsų tyrimai parodė, jog Lietuvos propolyje daugiausia flavonoidų identifikuota pavyzdyje, kuris surinktas netoli žydėjusių liepų (flavonoidai sudaro 55 proc. fenolinių junginių), kituose lietuviško propolio pavyzdžiuose flavonoidų koncentracija nesudaro didelės fenolinių junginių dalies. Flavonoidų kiekio statistškai reikšmingo skirtumo tarp atskirų Lietuvos regionų taip pat nėra. Tačiau skirtumas buvo gautas analizuojant flavonoidų koncentracijos priklausomybę nuo augalų įvairovės, esančios keleto kilometrų spinduliu aplink avilius (2 pav.).

Didžiausia flavonoidų koncentracija nustatyta propolio pavyzdžiuose, surinktuose iš pievų ir liepų apsuptyje esančių avilių (Nr. 8, 10). Mažesnė flavonoidų koncentracija yra propolyje, surinktame iš avilių, esančių

pievose, šalia mišrių miškų (Nr. 1, 2, 3, 6), o mažiausia – pievose šalia lapuočių miškų (Nr. 4, 5, 9). Flavonoidų koncentracijos skirtumas tarp propolio pavyzdžių, surinktų pievose ir šalia mišrių miškų, yra statistškai reikšmingas.

Nustačius PET esančias biologiškai aktyvių junginių koncentracijas, toliau buvo tiriama jų antimikrobinis poveikis. Visi PET pavyzdžiai slopino visų 10 tiriama mikroorganizmų augimą ant standžios terpės. Svarbu pažymėti, kad propolio pavyzdys Nr. 7, kuriame buvo nustatyta labai mažai fenolinių junginių, veikė antimikrobiškai panašiai, kaip ir daug fenolinių (Nr. 5, 6) ar flavonoidų (Nr. 8, 10) turinčių PET. Keturis kartus praskiestos PET slopino gramteigiamų, ne visais atvejais gramteigiamų sporas formuojančių bakterijų ir grybelių augimą ir silpnai veikė gramneigiamų bakterijų augimą ir dauginimąsi (3 lentelė). Didesni PET praskie-

Nr.	Fenolinių junginių koncentracija, %	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Escherichia coli</i> β-lac(+)	<i>Escherichia coli</i> β-lac(-)	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Candida albicans</i>
1	0,98	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-
2	1,03	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-
3	1,15	-	-	+	+	-	+	-	-	+	-
4	0,88	-	-	+	+	-	+	+	-	-	-
5	1,03	-	-	-	+	-	+	+	+	-	+
6	1,05	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-
7	0,27	+	-	+	+	-	+	+	+	-	+
8	0,84	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-
9	0,74	-	-	+	+	-	+	+	+	-	-
10	0,88	-	-	+	+	-	+	+	+	+	-

3 lentelė. PET Antimikrobinis aktyvumas.

„+“ – stebėtas mikroorganizmų augimas, eksperimentų skaičius – 3.

dimai slopino tik nedaugelio mikroorganizmų augimą (duomenys neparodyti). Vidutinė fenolinių junginių koncentracija, slopinanti etaloninių mikroorganizmų kultūrų augimą ir dauginimąsi gramteigiamoms bakterijoms (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*) yra $0,42 \pm 0,04$ proc. fenolinių junginių, gramneigiamoms (*E.coli* β -lac (+), *E.coli* β -lac (-), *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis*) – $0,8 \pm 0,05$ proc., gramteigiamoms sporas formuojančioms (*Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*) – $0,75 \pm 0,05$ proc., o grybams (*Candida albicans*) – $0,25 \pm 0,03$ proc. fenolinių junginių.

Nors kai kuriuose literatūros šaltiniuose nurodoma, jog yra gera koreliacija tarp fenolinių junginių koncentracijos ir minimalios inhibicinės koncentracijos [6], tačiau kiti autoriai rašo, kad propolio pavyzdžiai, turintys visiškai skirtingą cheminę sudėtį, pasižymi panašiu antimikrobinio aktyvumu [17]. Mūsų atliktuose antimikrobinio aktyvumo įvertinimo tyrimuose koreliacijos tarp fenolinių junginių, flavonoidų koncentracijų ir antimikrobinio poveikio nėra. Šie tyrimai dar kartą įrodo, kad visas propolis, kuris yra kompleksas įvairių biologiškai aktyvių medžiagų, naikina gramteigiamas, gramneigiamas bakterijas, grybelius ir yra puiki antimikrobinė, uždegimą slopinanti priemonė.

Padėka

Šiuos tyrimus dalinai finansavo VMSF ir Eurekos programa (V-095/2006).

Literatūra

- Burdock G.A. Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). *Food Chem Toxicol*, 1998;36:347-63.
- Marcucci M.C., Ferreres F., Garcia-Viguera C., Bankova V.S., de Castro S.L., Dantas A.P., et al. Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities. *J Ethnopharmacol*, 2001;74:105-12.
- Salatino A., Teixeira E.W., Negri G., Message D. Origin and Chemical Variation of Brazilian Propolis. *Evid Based Complement Alternat Med*, 2005;2:33-8.
- Majiene D., Trumbeckaitė S., Grunoviene D., Ivanauskas L., Gendrolis A. [Investigation of chemical composition of propolis extract]. *Medicina (Kaunas)*, 2004;40:771-4.
- Bankova V., Popova M., Bogdanov S., Sabatini A.G. Chemical composition of European propolis: expected and unexpected results. *Z Naturforsch [C]*, 2002;57:530-3.
- Popova M., Bankova V., Butovska D., Petkov V., Nikolova-Damyanova B., Sabatini A.G., et al. Validated methods for the quantification of biologically active constituents of poplar-type propolis. *Phytochem Anal*, 2004;15:235-40.
- Cerkasinas G., Gendrolis A., Pavilonis A., Klimas R. Antimicrobial activeness of propolis collected in Lithuania. *Medicina (Kaunas)*, 1997;33:1193-8.
- Pavilonis A., Cerkasinas G., Gendrolis A. Analysis of propolis antimicrobial activeness. *Medicina (Kaunas)*, 1999;35:223-8.
- Tichonov A.I., Salo D.P., Priachin O.P., Gricenko V.I. O standartizacii propolisa. *Chim -Farm*, 1987;125:311-8.
- Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventos R.M. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu Reagent. 1999;152-78.
- Woisky R.G., Salatino A. Analysis of propolis: some parameters and procedures for chemical quality control. *J Apicult Res*, 1998;37:99-105.
- National Committee for Laboratory Standards (NCCLS). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. NCCLS document M100-S8 M7-A4 Pennsylvania, 1998.
- Propolisi tinctura. 2003.
- Tichonov A.I., Salo D.P. Биологически активные субстанции прополиса. 1987;96-101.
- Havsteen B.H. The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacol Ther*, 2002;96:67-202.
- Middleton E Jr, Kandaswami C., Theoharides T.C. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacol Rev*, 2000;52:673-751.
- Kujungiev A., Tsvetkova I., Serkedjieva Y., Bankova V., Christov R., Popov S. Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *J Ethnopharmacol*, 1999;64:235-40.

CHEMICAL COMPOSITION AND ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF PROPOLIS COLLECTED FROM DIFFERENT REGIONS IN LITHUANIA

D.Majienė, A.Šidlauskaitė, A.Pavilonis, S.Trumbeckaitė, A.Gendrolis, A.Savickas

Summary

Key words: propolis ethanol extract, phenolic compounds, flavonoids.

10 samples of propolis were collected from 8 different districts of Lithuania. These samples were extracted with 70% ethanol. After qualitative analysis polyphenolic compounds were identified in all propolis samples, one sample didn't show the presence of flavonoids. Data show that there is no statistically reliable difference between the concentration of phenolic compounds or flavonoids and separate regions of Lithuania. The highest concentration of phenolic compounds were detected in propolis samples, collected from beehives standing near mixed forest (the average concentration of total phenolics 4.26 ± 0.11), lowest – near pine forests and meadow (the average concentration of phenolic compounds 2.46 ± 0.71). The highest concentration of flavonoids was determined in propolis samples, collected from beehives standing in meadows (0.43 ± 0.08), lowest – from beehives near foliage forests (0.11 ± 0.04). This improves, that propolis chemical composition doesn't depend on geographic origin, but depend on the plant source near beehive. All propolis samples showed antimicrobial activity against test microorganisms and yeast, which in most cases depends on the concentration of phenolic compounds and the structure of bacteria. The average concentration of total phenolics, which suppresses the growth and reproduction of microorganism cultures is: for Gram-positive bacteria – 0.42 ± 0.04 of total phenolic compounds, for Gram-negative – 0.8 ± 0.05 , Gram-positive spore-forming bacteria – 0.75 ± 0.05 , yeast – 0.25 ± 0.03 of total phenolic compounds.

Gauta 2006 -10-31