
РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ПАЛИНОМОРФОЛОГИЧЕСКОГО АНАЛИЗА ПРОПОЛИСА

**Е.Ю. Бабаева, Е. А Данилина,
В.В. Вандышев**

Кафедра ботаники, физиологии растений и агробиотехнологии
Российский университет дружбы народов
ул. Миклухо-Маклая, 8, Москва, Россия, 117198

Е.Э. Северова

Кафедра морфологии и систематики высших растений
МГУ им. Ломоносова
Ленинские Горы, 1/12, Москва, Россия, 119991

Разработана методика палиноморфологического изучения прополиса, изучен пыльцевой спектр в 13 образцах из разных регионов, проанализирована частота встречаемости пыльцевых типов в исследованных образцах прополиса.

Ключевые слова: прополис, микроскопия, палиноморфология.

По современным представлениям прополис — это продукт пчеловодства, представляющий собой смесь смолистых, фенольных веществ, терпеноидов, воска и других соединений природного происхождения.

Вещества, составляющие основу прополиса и обладающие высокой бактерицидной активностью, пчелы собирают с растений, в которых эти соединения выполняют функцию защиты от неблагоприятных внешних условий. Об этом свидетельствует сходство химического состава и биологических свойств веществ растений и прополиса [6]. Наибольшее количество прополиса пчелы вырабатывают во второй половине лета, т.е. в период подготовки улья к зимовке. [2]. Его используют как строительный материал для замазывания щелей в улье, придания ячейкам сотов большей прочности и стерильности [1; 2]. Благодаря широкому спектру биологической активности природных соединений в прополисе, лекарственные препараты из него используются в современной медицине, а также в ветеринарии. Так, в Государственном реестре лекарственных средств РФ имеются препараты противовоспалительного, болеутоляющего, антисептического действия на основе прополиса: настойка прополиса, таблетки «Прополин», мазь «Пропоцеум», аэрозоль «Пропосол», суппозитории «Простопин» и др. [5].

Состав прополиса сложен и полностью не изучен [7]. По мнению Т.В. Вахиной, необходимо стремиться, чтобы прополис, используемый как лекарственное сырье, содержал не более 5% каждой из балластных составляющих механических примесей и воска [1]. Прополис как природное сырье должен соответствовать требованиям ГОСТ 28886-90 «Прополис» (табл. 1) [4]. При контроле качества прополиса для установления подлинности используется ряд органолептических показателей (внешний вид, цвет, запах и др.).

Технические требования к прополису (ГОСТ 28886-90 «Прополис»)

Технические требования к прополису (ГОСТ 28886-90 «Прополис») Наименование показателя	Характеристика и норма
Внешний вид	Комки, крошки или брикеты
Цвет	Темно-зеленый, бурый или серый с зеленоватым, желтым или коричневым оттенком
Запах	Характерный — смолистый, ароматный (смесь запахов меда, душистых трав, хвои, тополя)
Вкус	Горький, слегка жгучий
Структура	Плотная, в изломе неоднородная
Консистенция	При 20—40 °С — вязкая, Ниже 20 °С — твердая
Окисляемость, сек., не более	22,0
Массовая доля воска, %, не более	25,0
Массовая доля механических примесей, %, не более	20,0
Массовая доля флавоноидных и других фенольных соединений, %, не менее	25,0
Йодное число не менее	35,0
Количество окисляемых веществ в 1 см ³ раствора окислителя на 1 мг прополиса, не менее	0,6

Тестирование таких показателей проводится на основании скорее субъективных ощущений контролера, что не соответствует сегодняшним требованиям контроля качества любой продукции, в частности, природных продуктов. Как любой натуральный продукт пчеловодства, прополис должен содержать пыльцу в количестве около 5% [1]. Признаки морфологии пыльцевых зерен в прополисе не изучены. Между тем это одна из наиболее стабильных и информативных характеристик таксонов надвидового ранга, которая может помочь фармацевтическим предприятиям при работе с данным сырьем. Палиноморфологический метод успешно используется при анализе меда и включен в НД на него [3].

Целью работы является разработка методики пыльцевого анализа прополиса методом микроскопии.

Задачи: провести органолептическое исследование образцов прополиса из разных географических зон пчеловодства, разработать методику приготовления микропрепарата для обнаружения пыльцевых зерен в прополисе, проанализировать пыльцевой спектр образцов прополиса разного происхождения.

Материалы и методы. Методика пыльцевого анализа, описанная в ГОСТ 19792-2001 «Мед натуральный. Технические условия» для прополиса не подходит [3].

Согласно ГОСТ, анализ проводится после обработки 20 г меда водой и последующего центрифугирования полученной суспензии. Прополис, в отличие от меда, более липофильный продукт. Кроме того, масса навески для пыльцевого анализа меда к прополису неприменима. Минимальная масса партии прополиса — 100 г, при этом масса навески для одного из анализов не может составлять ее пятую часть [4]. Для анализа состава пыльцевого спектра прополиса нами была впер-

вые разработана методика получения микропрепаратов. Подобраны навеска и растворитель (этанол). Навеску нагревали в этаноле на кипящей водяной бане 5 минут. При этом воск оставался в надосадочной жидкости в виде эмульсии. Выпавший осадок помещали на предметное стекло в каплю раствора хлоралгидрата. Микроскопирование проводили на временных препаратах под световым микроскопом при увеличении $\times 400$. Всего было проанализировано 13 образцов прополиса из Московской, Калужской и Саратовской областей, трех районов Республики Башкортостан, Республики Алтай, Луганской и Черниговской областей Украины, полученных в 2009—2010 гг. Благодарим всех, кто предоставил образцы. При подготовке к анализу одного из образцов осадок не образовался, что свидетельствует о его фальсификации.

Результаты и их обсуждение. По внешнему виду исследуемые нами образцы представляли собой комки или крошку темно- или светло-коричневого цвета, иногда с зеленоватым оттенком. Структура обычно плотная, в изломе неоднородная. Все образцы соответствуют ГОСТу [4].

Всего в 12 образцах были выявлены 20 пыльцевых типов. Краткая палинологическая характеристика образцов прополиса приведена в таблице 2, а частота встречаемости пыльцевых типов в образцах на рис. 1. Чаще всего в составе спектров отмечались пыльцевые зерна представителей семейства Астровых (*Asteraceae*). Они зарегистрированы в 10 образцах (рис. 1).

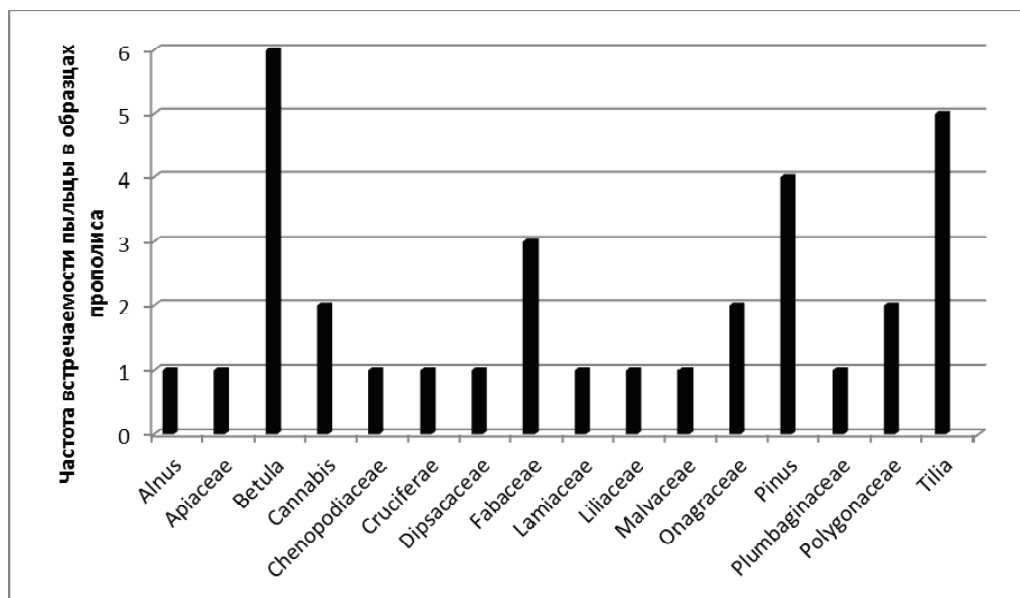


Рис. 1. Частота встречаемости пыльцевых типов в исследованных образцах прополиса

Среди пыльцы растений этого семейства были идентифицированы пыльцевые зерна родов *Ambrosia*, *Artemisia*, *Centaurea*. Доминирование в составе спектров пыльцы Астровых, а также обнаружение пыльцевых зерен растений семейств *Cannabaceae*, *Dipsacaceae*, *Plumbaginaceae*, *Onagraceae*, *Polygonaceae* дает основа-

ние предположить, что время выработки прополиса приходится на июль-август, так как именно в этот период происходит цветение растений указанных семейств. Аналогичный вывод можно сделать и на основании наличия пыльцы липы (*Tilia*) в прополисе из Башкортостана.

Помимо растений, цветущих в конце лета, во многих образцах прополиса была зарегистрирована пыльца деревьев, цветущих ранней весной — березы (6 образцов), ольхи (1 образец) и сосны (4 образца). Для этих растений характерна анемофилия и, как следствие, высокая пыльцевая продуктивность, что и определяет обнаружение единичных пыльцевых зерен в спектрах разного генезиса. В многочисленных аэробιологических исследованиях показано, что пыльца березы, например, отмечается в составе воздушного спектра вплоть до конца вегетационного сезона, хотя собственно сезон пыления березы в средней полосе России заканчивается во второй половине мая [10]. Анализ состава пыльцевых спектров изученных образцов прополиса показал, что их состав в целом соответствует «региональным» предпочтениям пчел во флоре второй половине мая [10].

Таблица 2

Характеристика исследованных образцов прополиса

Характеристика исследованных образцов прополиса. Регион происхождения	Число обнаруженных пыльцевых типов	Доминирующий пыльцевой тип спектра
1. Украина, Луганская область, Троицкий район (2010 г.)	2	<i>Compositae</i>
2. Россия, Калужская область (2010 г.)	При кипячении образца с экстрагентом осадка не было, получилась эмульсия, что свидетельствует о его фальсификации	
3. Украина, Черниговская область (2009 г.)	5	<i>Compositae</i>
4. Украина, Черниговская область (2010 г.)	5	<i>Betula, Centaurea</i>
5. Образец неизвестного места сбора	5	<i>Centaurea</i>
6. Московская область, Шатурский район (2009 г.)	2	<i>Compositae</i>
7. С ярмарки в Царицыно (2010 г.)	5	<i>Pinus</i> <i>Centaurea</i>
8. Московская область, Пущино 2009	3	<i>Compositae</i>
9. Республика Башкортостан, Туймазинский район (2009 г.)	5	<i>Tilia</i> <i>Compositae</i>
10. Республика Башкортостан, Бурзянский район (2009 г.)	3	<i>Tilia</i>
11. Республика Башкортостан, Белорецкий район (2009 г.)	4	<i>Tilia</i>
12. Саратовская область (2009 г.)	6	<i>Compositae</i> , особенно <i>Ambrosia Chenopodiaceae</i> <i>Fabaceae</i> <i>Lamiaceae</i>
13. Горный Алтай (2010 г.)	4	Доминирующий тип отсутствует <i>Liliaceae</i> <i>Apiaceae</i> <i>Artemisia</i> другие <i>Compositae</i>

Анализ состава пыльцевых спектров изученных образцов прополиса показал, что их состав в целом соответствует «региональным» предпочтениям пчел во флоре.

В образцах прополиса из Нечерноземной зоны РФ (Шатурский и Пушкинский районы Московской области) и с Украины (Черниговская и Луганская области) в спектре преобладают пыльцевые зерна растений, встречающихся в центральной Европе. В этой зоне пчелы в основном посещают растения родов Подсолнечник, Василек, Золотарник, Клевер, Люцерна, Эспарцет, Донник, Гречиха.

В пыльцевых спектрах данных образцов прополиса доминирующей была пыльца растений из семейств *Asteraceae*, *Fabaceae* и *Polygonaceae*. В образцах прополиса, полученных из Республики Башкортостан, доминирует пыльца липы (*Tilia*), которая является ценнейшим медоносом в лесном фонде Башкортостана [9]. Образец прополиса из Саратовской области характеризовался многочисленным присутствием пыльцевых зерен растений рода *Ambrosia*. Многие растения этого рода являются карантинными сорняками, а пыльца их обладает высокой аллергенностью. В данном регионе складывается тревожная ситуация с распространением сорной растительности — площадь земель, засоренных карантинными сорняками, включая амброзию трехраздельную, составляет 62,9 тыс. га. В Балашовском районе области также появился другой вид карантинного сорняка — амброзия полыннолистная [8]. Характерная пыльца рода Амброзия была обнаружена в изученном нами образце прополиса из этого региона.

Образец прополиса из Республики Алтай содержал пыльцевые зерна растений семейств *Liliaceae*, *Apiaceae* и *Asteraceae* в небольшом количестве и большом разнообразии, поэтому выделить доминирующий пыльцевой тип не представлялось возможным. Кроме того, этот образец характеризовался значительным количеством воска.

Заключение. Целесообразно дефиницию понятия «прополис» дать в следующей редакции «Прополис — продукт пчеловодства, представляющий собой смесь смолистых, фенольных веществ, терпеноидов, воска и других соединений природного происхождения, содержащий пыльцевые зерна». Предлагаем ввести в нормативный документ на прополис раздел «Микроскопия». Рекомендовать использовать предложенную нами методику микроскопического анализа для характеристики происхождения прополиса.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Вахонина Т.В. Пчелиная аптека. — СПб.: Лениздат, 1995. — 240 с.
- [2] Головнев В.И., Кочевой М.М., Шеметков М.Ф. Советы пчеловоду. — Минск: Ураджай, 1991. — 397 с.
- [3] ГОСТ 19792-2001 «Мед натуральный. Технические условия» Межгосударственный совет по стандартизации и метрологии. — Минск, 2001. — 19 с.
- [4] ГОСТ 28886-90 «Прополис» ИПК Изд-во стандартов. — М., 1990. — 9 с.
- [5] Государственный реестр лекарственных средств РФ. Т. 2. — М., 2008.
- [6] Иванов Ц.И., Шкендеров С.В. Пчелиные продукты. — София: Земиздат, 1983. — 228 с.

- [7] *Корнева Н.В., Орлов Б.Н.* Прополис и воск пчелам и человеку. — Н. Новгород: Изд. Ю.А. Николаев, 2009. — 192 с.
- [8] *Кутафин А.И., Тарбаев Ю.А., Уполовников Д.А. и др.* Современное карантинное фитосанитарное состояние хозяйств Саратовской области // Вестник Саратовского ГАУ им. Н.И. Вавилова. — 2007. — № 6. — С. 19—22.
- [9] *Кучеров Е.В., Галева А.Х.* Ресурсы основных видов лекарственных растений в Башкирии. — Уфа, 1986. — 150 с.
- [10] *Северова Е.Э.* Особенности пыления березы по результатам многолетних наблюдений // Бюлл. МОИП. — 2003. — Т. 109. — Вып. 1. — С. 53—55.

DEVELOPMENT OF POLLEN MORPHOLOGY ANALYSIS TECHNIQUES IN PROPOLIS

**E.Ju. Babaeva, E.A. Danilina,
V.V. Vandishev**

Department of botany, physiology and agrobiotechnology
Peoples' Friendship University of Russia
Miklukho-Maklaya str., 8/2, Moscow, Russia, 117198

E.E. Severova

Department of morphology and taxonomy of high plants
Biological faculty
Moscow State University
Leninskie Gory, 1/12, Moscow, Russia, 119991

The methodology of obtaining micropreparations of propolis was developed, pollen spectrum 13 samples from different regions was studied. Frequency of pollen types in the samples of propolis was analyzed.

Key words: propolis, microscopic preparation, pollen.