



Kaasrahastanud Euroopa Liit
Euroopa Põllumajanduse Tagatisfond

Tallinna Tehnikaülikool
Keemia ja biotehnoloogia instituut

EESTI TARUVAIGU UURING

Aruanne

Tallinn 2024

Sisukord

Uuringu eesmärk ja sisu.....	4
Sissejuhatus.....	5
1. Taruvaigu proovide kogumine.....	8
2. Analüüsimeetodid.....	10
3. 3 Antioksidandid taruvaigus.....	12
3.1. Ekstraktsiooniprotseduuri väljatöötamine.....	12
3.2. Polüfenoolide ja flavonoidide sisaldused.....	14
3.3. Flavonoidide profiil.....	18
4. Lenduvad ühendid.....	21
5. Antibakteriaalsed omadused ja bioloogilise aktiivsuse korreleerimine taruvaigu keemilise koostisega.....	27
Kokkuvõte.....	31

Uuringu tellis Eesti Mesinduskogu volitusel Eesti Mesinike Liit

Uuringu viis läbi Tallinna Tehnikaülikooli Keemia- ja biotehnoloogia instituut

Merike Vaher, Piia Jõul, Olga Bragina, Kristin Düüna (magistrant), Annabel Taniel (magistrant)

Töövõtuleping MS-24-4-TA, sõlmitud 01.03.2024

Uuringu eesmärk ja sisu

Uuringu eesmärgiks on määrata Eesti erinevatest maakondadest kogutud 30-ne taruvaigu (*propolis*) proovide keemiline koostis, uurida nende antioksüdatiivset ja antibakteriaalset toimet.

Teadmised erinevatest piirkondadest pärit taruvaigu keemilise koostise ja bioloogiliste omaduste kohta on väga väärtuslikud nii erinevate taruvaigutüüpidega seotud omaduste kui ka nende standardiseerimise seisukohast.

Sisu kirjeldus:

- 30 taruvaigu proovi kogumine erinevatest Eesti piirkondadest (tellijal kindlustab proovidega).
- Ultraheli-assisteeritud (UHAE) ekstraktsiooniprotseduuri arendamine bioaktiivsete ainete (antioksidandid, bakteritsiidid) eraldamiseks taruvaigust.
- Antioksidantide kogusisalduse (polüfenoolid, flavonoidid) määramine 30-s taruvaigu proovis.
- Flavonoidse profiili määramine kasutades HPLC-M/MS analüüsi.
- Lenduvate ühendite (terpenoidid) GC-MS analüüs.
- Antibakteriaalse aktiivsuse uurimine (näit. *Borrelia burgdorferi*).
- Taruvaigu proovide bioloogiliste aktiivsuste korreleerimine nende keemilise koostisega
- Uuringu lõpparuande koostamine.

Sissejuhatus

Sõna "taruvaik" tuleneb hellenistlikust Vana-Kreeka sõnast προπόλις (eeslinn, mesilasliim), mis pärineb kreeka tegusõnast προμαλάσσω (*promalasso*) Att. προμαλάττω, "eelnevalt pehmendada, hõõrudes või sõtkudes elastseks teha". Lewis ja Short on määratlenud seda kui "kolmandat alust mee valmistamisel, kummitaolist ainet, millega mesilased sulgevad oma tarude praod, mesilasliimi"¹. Üldiselt on teada, et mesilased toodavad taruvaiku taru kaitsmiseks. Lisaks oma rollile aukude sulgemisel, pragude blokeerimisel ja siseseinte silumisel on see ka antiseptiline, mis takistab vastsete, meevarude ja kõrgede mikroobset nakatumist. Nagu Seeley ja Morse märkisid, kannavad mesilased taruvaiku kohtadele, kus kärjed tuleb kinnitada, luues seeläbi siledad ja mikroobivabad pinnad. Kuna mesilased elavad tihedas kontaktis, võib ühe mesilase haigus kiiresti levida kogu tarule. Ometi jäävad tarud terveks, sest mesilased toodavad ise oma antibiootikumi ehk taruvaiku, mis vähendab mikroobide kasvu taruseintel. Veelgi enam, taruvaik kaitseb taru kontrollimatu õhuvoolu ja välise niiskuse eest. Õhuke taruvaigu kiht tagab läbilaskmatu voodri, mis piirab vee väljapääsu ja hoiab tarus püsivat niiskust^{2,3}.

Taruvaik on sama vana kui mesi ja inimene on seda kasutanud juba ammustest aegadest. On andmeid, et juba muistsed egiptlased, pärslased ja roomlased kasutasid seda⁴. Muistsed egiptlased kujutasid taruvaiku valmistavaid mesilasi vaasidel ja muudel kaunistustel ning kasutasid seda paljude vaevuste leevendamiseks⁵. Egiptlased olid õppinud mesilastelt kasutama taruvaiku "palsameeriva" ainaena. Mesilased katsid sissetungija korjuse, mis hukkus, kuid mida tarust välja transportida ei saanud, taruvaigu ja vahaga⁶. Nii pidurdasid mesilased lagunevast rümbast põhjustatud nakkuse levikut. 1960. aastatel näitasid Derevici jt, et taruvaik on vastutav bakterite väiksema esinemissageduse eest tarus⁷.

Keskajal ei olnud taruvaik kuigi populaarne teema ja selle kasutamine tavameditsiinis kadus peagi. Taruvaiku käsitlevaid käsikirju on vähe säilinud. Mõned 12. sajandi allikad kirjeldavad taruvaiku sisaldavaid ravimpreparaate, mida kasutati suu- ja neelupõletike ning hambakaarise raviks.

Õnneks säilisid teadmised taruvaigu raviomadustest traditsioonilises rahvameditsiinis ja pealegi kasutati taruvaiku Ida-Euroopa aladel veel laialdaselt nn taimeravis. Taruvaiku on sageli nimetatud ka "vene penitsilliiniks"⁸. Araabia kaupmehed mainisid mesilaste ja mee rohkust 9. ja 10. sajandil slaavi maades ning esimene viide Poola metsmesilaste pidajatele pärineb 11. sajandi algusest.

¹ Lewis ChT, Short C. A Latin Dictionary. 2012.

<http://www.perseus.tufts.edu/hopper/text?doc=Perseus:text:1999.04.0059:entry=propolis>.

² Seeley TD, Morse RA. The nest of the honey bee (*Apis mellifera* L.) *Insectes Sociaux*. 1976;23(4):495–512.

³ Visscher P. Adaptations of honey bees (*Apis mellifera*) to problems of nest hygiene. *Sociobiology*. 1980;5:249–260.

⁴ Houghton PJ. Propolis as a medicine. Are there scientific reasons for its reputation? In: Munn P, editor. *Beeswax and Propolis for Pleasure and Profit*. Cardiff, UK: International Bee Research Association; 1998. p. p. 10.

⁵ Langenheim JH. *Plant Resins: Chemistry, Evolution, Ecology, Ethnobotany*. Cambridge, UK: Timber Press; 2003.

⁶ Nicolas A. *Cire d'Abeilles et Propolis*. Nancy, France: Thomas; 1947.

⁷ Derevici A, Popesco A, Popesco N. Biological properties of propolis. *Revue de Pathologie Comparee*. 1965;2:21–24. (Fre).

⁸ An interview with Sergey Alekseevich Popravko—part 2: 'Russian Penicillin' 2013, <http://en.popravko.com/parts.php?id=128>.

Diplomaat ja kaupmees Al-Andaluses asuvast mauride linnast Tortosast, keda tunti araabiakeelse nimega Ibrahim ibn Jakub kirjutas aastal 965, et Meshko (Poola esimese kroonitud kuninga Boleslav Khrobry isa) maa on rikas teravilja, liha, mee ja põldude poolest⁹. Levanti piiskopi Herbordi sõnul on Pommeris ohtralt mett ja nisu, kanepit ja moone ja igasuguseid köögivilju¹⁰.

Huvi taruvaigu vastu naasis Euroopas koos renessansiaegse *ad fontes*'i teooriaga, mis tõi tagasi huvi iidse õpetuse ja meditsiini vastu. Tänu meditsiinihumanistidele taasavastati ja kasutati uuesti mõned vanad ja unustatud vahendid ja ravimeetodid. John Gerard viitab oma kuulsas taimeraamatus "Taimede ajalugu" (1597) musta paplipuu pungade vaigu või niiske aine kasutamisele tervendavate salvide jaoks. Ta nendib, et papli pungadest valmistatud salv on hea kõigi põletike, marrastuste, venituste, villide jms vastu¹¹. Taruvaik on kantud Inglismaa farmakopöadesse XVII sajandil tervendavate salvide peamise koostisosana¹².

Taruvaik on vaigutaoline aine, mida mesilased koguvad erinevate taimede pungadest, taimeeksudaatidest või vaikudest, mida leidub erinevate taimede vartes, okstes ja lehtedes. Üldiselt koosneb toores taruvaik ligikaudu 50% vaikudest, 30% vahadest, 10% eeterlikest õlidest, 5% õietolmust ja 5% muudest orgaanilistest ainetest¹³.

Morfoloogia, käitumise ja biogeograafia põhjal eristatakse kolme peamist taruvaigu tüüpi: parasvöötme taruvaik, troopilise piirkonna taruvaik ja Vaikse ookeani piirkonna taruvaik. Esimest tüüpi taruvaigu iseloomulike komponentide hulka kuuluvad B-tsükli asendajateta flavonoidid, nagu krüsiin, galangiin, pinotsembriin, pinobanksiin. Olenemata geograafilisest päritolust on suure bioloogilise aktiivsusega parasvöötme taruvaigu peamine komponent kofeiinhappe fenetüülester (CAPE)^{14,15}.

Kõige tavalisem ja maailmas levinum taruvaik on *Populus* (papli) tüüpi, mis võib pärineda nii Euroopast, Põhja-Ameerikast, Aasia mittetroopilistest piirkondadest, Uus-Meremaalt ja isegi Aafrikast. *Populus*liigid on taruvaigu peamine taimne allikas kogu maailmas, eriti parasvöötme piirkondades. Paplitüübil on iseloomulik keemiline profiil, mis sisaldab palju flavanoone, flavoone

⁹ Bury JB. The Cambridge Medieval History. Cambridge, UK: 1923.

¹⁰ Ebo D, Herbordus D. The life of Otto Apostle of pomerania 1060–1139. In: Robinson H, editor. Translations of Christian Literature. New York, NY, USA: The Macmillan Company; 1920. p. p. 103.

¹¹ Gerard J. The Herball or Generall Historie of Plants. London, UK: J. Norton; 1597.

¹² Murray MT, Pizzorno JE., Jr. Bee products: pollen, propolis, and royal jelly. In: Pizzorno JE Jr., Murray MT, editors. Textbook of Natural Medicine. chapter 70. Elsevier Health Sciences; 2005.

<http://books.google.pl/books?id=e9mcO1EhfokC&pg=PT2302&lpg=PT2302&dq#v=onepage&q&f=false>

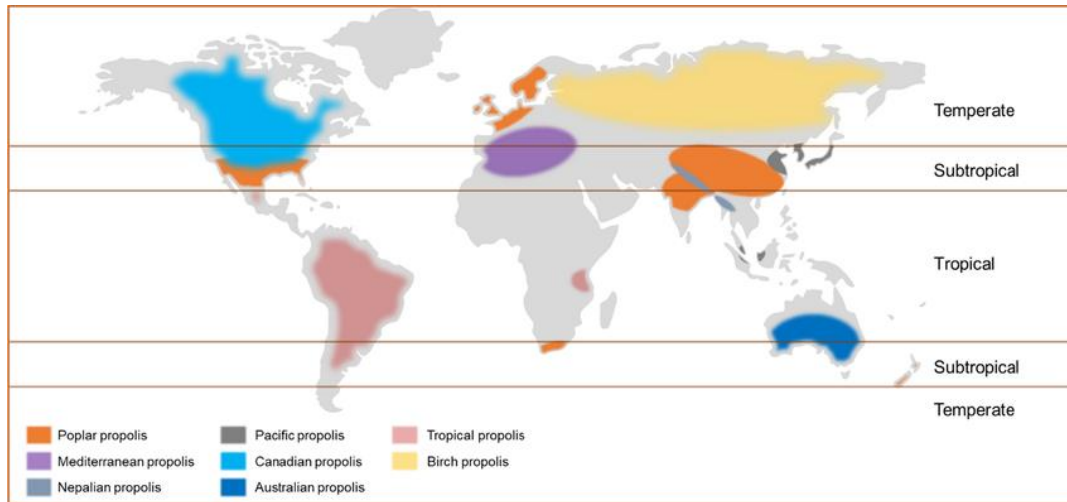
¹³ Huang S., Zhang C.P., Wang K., Li G.Q., Hu F.L. Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*. 2014;19:19610–19632. doi: 10.3390/molecules191219610.

¹⁴ Alvear M., Santos E., Cabezas F., Pérez-SanMartín A., Lespinasse M., Veloz J. Geographic Area of Collection Determines the Chemical Composition and Antimicrobial Potential of Three Extracts of Chilean Propolis. *Plants*. 2021;10:1543. doi: 10.3390/plants10081543.

¹⁵ Dezmirean D.S., Paşca C., Moise A.R., Bobiş O. Plant Sources Responsible for the Chemical Composition and Main Bioactive Properties of Poplar-Type Propolis. *Plants*. 2021;10:22. doi: 10.3390/plants10010022.

ja vähe fenoolhappeid ja nende estreid^{14,15,16,17}. Headeks taruvaigu allikateks on ka pappel, paju, kask, jalakas, lepp, pöök, okaspuud ja hobukastanid¹⁸.

Taruvaigu kategoriseerimisel keemiliste omaduste järgi tuleks arvesse võtta vastavaid botaanilisi allikaid (Joonis 1).



Joonis 1. Erinevatest geograafilistest piirkondadest pärit taruvaigutüüpide globaalne klassifikatsioon keemilise koostise alusel. Kohandatud Salatino et al¹⁹.

¹⁶ Mohammadzadeh S., Shariatpanahi M., Hamed M., Ahmadkhaniha R., Samadi N., Ostad S.N. Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. Food Chem. 2007;103:1097–1103. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.10.006.

¹⁷ Stanciauskaite M., Marksa M., Liaudanskas M., Ivanauskas L., Ivaskiene M., Ramanauskiene K. Extracts od Poplar Buds (*Populus balsamifera* L., *Populus nigra* L.) and Lithuanian Propolis: Comparison of Their Composition and Biological Activities. Plants. 2021;10:828. doi: 10.3390/plants10050828.

¹⁸ Ghisalberti E.L. Propolis—Review. BeeWorld. 1979;60:59–84. doi: 10.1080/0005772X.1979.11097738.

¹⁹ Salatino A, Fernandes-Silva CC, Righi AA, Salatino MLF. Propolis research and the chemistry of plant products. Nat Prod Res. 2011;28(5):925–936.

1. Taruvaigu proovide kogumine

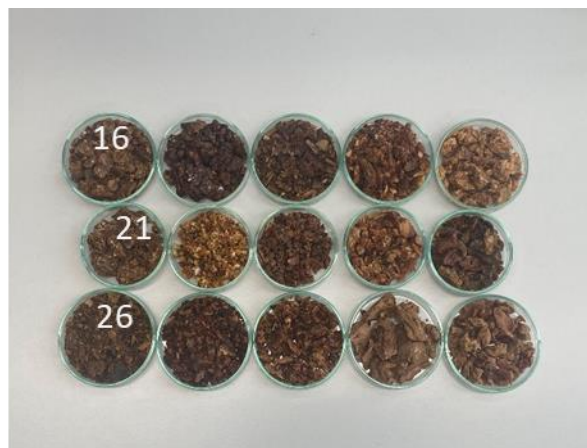
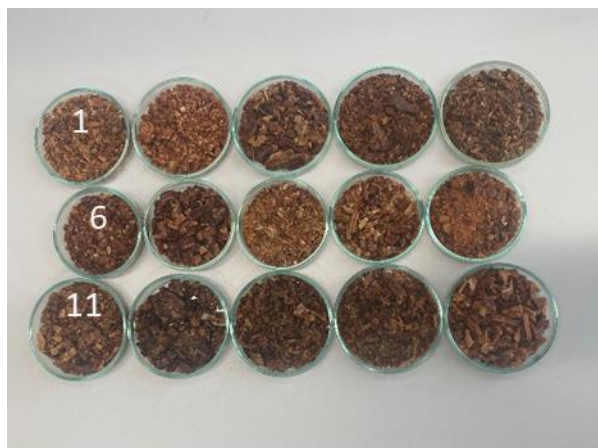
Ajavahemikus 02.03.24-01.04.24.a. koguti analüüsimiseks kokku 30 taruvaigu proovi, sealhulgas 22 proovi otse tootjatelt (OÜ-d/mesindustalud, FIE) ja 8 proovi hobimesinikelt (Tabel 1). Enamus proove saabusid posti teel ja mõned tõi tootja ise kohale. Kogutud taruvaigu proovid olid pärit 13 Eesti maakonnast. Viljandimaalt 4, Harjumaalt, Tartumaalt, Saaremaalt ja Jõgevamaalt 3, Raplamaalt, Valgamaalt, Põlvamaalt, Hiiumaalt, Lääne-Virumaalt ja Läänemaalt 2, Pärnumaalt ja Võrumaalt 1 proov. Enamus proovidest (28) oli 2023. aastal kogutud taruvaik (nendest 17 puhastatud ja kuivatatud ning 13 puhastamata taruvaigu proovi). Proovide kogus oli 30 – 50 g.

Tabel 1. Analüüsitavate taruvaigu proovide päritolu

Tähis	Maakond	Tootja	Kogmise aasta	Märkused
TV-1	Tartumaa	Apsimel OÜ	2024	Puhastamata
TV-2	Saaremaa	Apifera OÜ	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-3	Pärnumaa	Aasa mesi OÜ	2023	Puhastamata
TV-4	Hiiumaa	Hobimesinik Kaar	2023	Puhastamata
TV-5	Hiiumaa	Hobimesinik Nisumaa	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-6	Viljandimaa	Olustvere Teenindus- ja Maamajanduskool	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-7	Läänemaa	Tamme Mesila OÜ	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-8	Põlvamaa	Lambri talu	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-9	Lääne-Virumaa	OÜ Ehe Mesi, Põhjamaa meetootmisühistu	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-10	Saaremaa	FIE Urmas Lember	2024	Puhastatud ja kuivatatud
TV-11	Saaremaa	Susimesi OÜ	2023	Puhastamata
TV-12	Lääne-Virumaa	Taali Mesila OÜ	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-13	Jõgevamaa	Hobimesinik Laumets	2023	Puhastamata
TV-14	Valgamaa	Sangaste mesi OÜ	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-15	Jõgevamaa	Meemeistrid OÜ	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-16	Viljandimaa	Hobimesinik Kilk	2023	Puhastamata
TV-17	Jõgevamaa	Vaiksevälja OÜ	2023	Puhastamata
TV-18	Võrumaa	Kalveti Mesi OÜ	2023	Puhastatud ja kuivatatud

TV-19	Harjumaa	TaruKaru OÜ	2023	Puhastamata
TV-20	Harjumaa	Hobimesinik Mätlik	2023	Puhastamata
TV-21	Viljandimaa	FIE Jorma Õigus	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-22	Harjumaa	OÜ Toimetav Mesilane	2023	Puhastamata
TV-23	Viljandimaa	Jaan Langebraun	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-24	Tartumaa	Alfalfa OÜ	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-25	Põlvamaa	Livia OÜ	2023	Puhastamata
TV-26	Valgamaa	Metsaserva Mesi OÜ	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-27	Raplamaa	Otsa	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-28	Raplamaa	Sepp	2023	Puhastamata
TV-29	Tartumaa	Saiser OÜ	2023	Puhastatud ja kuivatatud
TV-30	Läänemaa	Hobimesinik Aivar	2023	Puhastamata

Kogutud proovid olid väga heterogeensed - väiksematest tükikestest suuremate känkkrateni, mõned olid väga vaigused ja kleepusid kokku. Nende värvus varieerus helepruunist tumepruunini (Joonis 2). Maakondade kaupa selget erinevust ei ole märgata. Samuti pole selget vahet puhastamata ning puhastatud ja kuivatatud proovide vahel. Heledamad olid Tarumaalt (TV-1, TV-25, TV-29), Põlvamaalt (TV-8), Harjumaalt (TV-20, TV-22) ja Saaremaalt (TV-2) pärit proovid. Tumedamad aga Jõgeva (TV-13, TV-17), Valga (TV-26), Rapla (TV-27) ja Lääne-Virumaa (TV-12) proovid. Ilmselt sõltub taruvaigu värvus suuresti botaanilisest allikast, millelt eksudaat on kogutud.



Joonis 2. Laborisse saabunud taruvaikude proovid

Proovid jahvatati, jagati alikvootideks, tähistati korrektselt veekindla tähistusega (joonis 3) ja säilitati pimedas toatemperatuuril. Pärast jahvatamist on proovide värvus ühtasem ja tumedamad on need proovid, mis olid vaigusemad/kleepuvad.



Joonis 3. Jahvatatud ja markeeritud taruvaiguproovid

2. Analüüsimeetodid

Kõik analüüsid teostati Tallinna Tehnikaülikooli Keemia- ja biotehnoloogia instituudi Instrumentaalanalüüsi laboris.

Ekstraktsiooniprotseduuride väljatöötamiseks kasutati erinevaid keskkonnasõbralikke solvente (vesi, vesi-etanol segud) ja ultrahelivanni. Ultraheli-assisteeritud ekstraktsioon (UHAE) on mittetermiline meetod, mis kasutab ekstraktsiooniks ultrahelilainete energiat.

Polüfenoolide kogusisaldus määrati spektrofotomeetriliselt Folin-Ciocalteu meetodil, mis kohandati taruvaigu analüüsiks. Mõõtmised viidi läbi lainepikkusel 765 nm ja tulemused on esitatud gallushappe ekvivalentides 1 g taruvaigu kohta. Flavonoidide kogusisaldus määrati samuti spektrofotomeetriliselt, lainepikkusel 415 nm, kasutades standardainena kvartsetiini ja tulemused on esitatud kvartsetiini ekvivalentides 1 g taruvaigu kohta.

Flavonoidide profiili määramine (kvalitatiivne analüüs) viidi läbi UHAE ekstraktsioonil valmistatud 80% etanooli ekstraktidega, kasutades Waters I-Class Plus (SM-FL) UPLC® süsteemi (Waters Corporation, Milford, MA, USA), mis oli ühendatud Waters Vion IMS-QTOF massispektromeetriga. Ainete lahutamiseks kasutati Waters Acquity HSS T3 kolonni ja gradient elueerimist. Liikuvaks faasiks oli ülipuhas vesi ja atsetonitril, mis olid hapestatud 0,1% sipelghappega.

Ühendite tuvastamiseks kasutati MS/MS fragmentatsioonimustreid. Tulemused on antud taruvaigu proovides sisalduvate flavonoidide nimekirjana. Aine esinemine on märgitud plussmärgiga (+).

Lenduvate ühendite (sh terpenoidide) ekstraheerimine viidi läbi tahkefaasi mikroekstraktsiooni (SPME) abil. Lenduvate ühendite adsorbeerimiseks proovi proovi kohal gaasifaasis kasutati SPME sorbendiga kaetud fiibrit (30/50 µm DVB/Car/PDMS Stableflex, pikkus 2 cm). Adsorbeeritud lenduvad ühendid desorbeeriti seejärel otse GC-sse.

Lenduvate ühendite identifitseerimine ja kvantitseerimine viidi läbi gaasikromatograafilise süsteemiga (2030; Shimadzu, Kyoto, Jaapan), mis oli varustatud massispektromeetriga (8050NX Triple Quadrupol; Shimadzu, Kyoto, Jaapan). ZB5-MS kolonni (pikkus 30 m × 0,25 mm i.d. × 1,0 µm kile paksus; Phenomenex, Torrance, CA, USA). Lenduvate ühendite identifitseerimiseks võrreldi eksperimentaalseid spektreid NIST17 raamatukogude omadega.

Antibakteriaalse aktiivsuse uurimine (*Borrelia burgdorferi*).

Taruvaigu erinevate ekstraktide võimaliku aktiivsuse hindmiseks patogeense bakteri *B. burgdorferi senso lato* suhtes lisati proovid seitsmepäevasele *B. burgdorferi* kultuurile tiiterplaadil. Plaate inkubeeriti 33 °C juures 5% CO₂-s järgmise 7 päeva jooksul. Elus- ja surnud rakkude hulka hinnati SYBR Green I/PI testiga ja elujõulisuse/elunemuse % on arvatud regressioonivõrrandi abil.

Niiskusesisaldus taruvaigus määrati gravimeetriliselt, kuivatades proove nii vaakumahjus 60 °C juures kui ka spetsiaalse niiskusemõõtjaga (Ohaus MB 90) 105 °C juures konstantse massini.

3. Antioksidandid taruvaigus

3.1. Ekstraktsiooniprotseduuri väljatöötamine

Taruvaiku ei tarbita tavaliselt naturaalsel kujul mõnede selles esinevate lisandite tõttu. Üldiselt puhastatakse neid lahustitega (ekstraheeritakse), et eemaldada inertne materjal ja rikastada polüfenoolide sisaldust²⁰. Ekstraktide ja fraktsioonide valmistamiseks on kasutatud arvukalt lahusteid, sealhulgas vett, etanooli, metanooli, kloroformi ja heksaani - kõige levinum on aga etanooli vesilahuse (70%) kasutamine^{21,22,23,24}.

Käesolevas uuringus töötati ekstraktsioonimetoodika välja kahe erineva taruvaigu proovi TV-2 ja TV-14 baasil. Ekstrahendina kasutati vett ja kahe erineva kontsentratsiooniga etanooli vesilahuseid (60% ja 80%), seejuures varieeriti taruvaigu proovi massi ja ekstrahendi suhet (1:10 ja 1:20). Vesi valiti sellepärast, et teha kindlaks, kas taruvaigu proovid sisaldavad suhkruid, 60% etanooli lahus aga on olnud eelnevalt tehtud katsete põhjal sobiv bakteriitsidse aktiivsuse määramiseks, 80% lahuses aga lahustub taruvaik kõige paremini. Ka kirjanduses leidub andmeid, et parim solvent bioaktiivsete ainete ekstraheerimiseks on etanool. Kõige keskkonnamõjulikumaks peetakse aga ülekritilist süsinikdioksiidiga ekstraktsiooni, mida on kasutatud etanoolsete ekstraktide fraktsioneerimiseks²⁵.

Taruvaigu ja ekstrahendi suhte tõstmisel 1:10-lt 1:20-le tõusis ekstraktsiooni saagis 60%-lise etanooli kasutamisel 12% , kuid 80% etanoolilahuse puhul 14%. Edasine proovi ja ekstrahendi suhte suurendamine enam olulist saagise lisa ei andnud. Edasisel meetoodika arendamisel kasutati taruvaigu massi ja ekstrahendi vahekorda 1:20. Nagu on näha jooniselt 3 saadi kõige kõrgema polüfenoolsete ühendite kogusaagisega ekstrakt, kui ekstrahendina kasutati 80% etanooli vesilahust. Sarnane tendents kehtis ka flavonoidide sisalduse puhul (joonis 4). Samale tulemusele jõudsid ka Horvaatia uurijad²⁶.

²⁰ Pobiega K, Kraśniewska K, Gniewosz M. Application of propolis in antimicrobial and antioxidative protection of food quality—a review. *Trends Food Sci Technol.* 2019;83:53–62. doi: 10.1016/j.tifs.2018.11.007.

²¹ Pietta P, Gardana C, Pietta A. Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia.* 2002;73:S7–S20. doi: 10.1016/S0367-326X(02)00186-7.

²² Alencar S, Oldoni TC, Castro M, Cabral I, Costa-Neto C, Cury J, et al. Chemical composition and biological activity of a new type of Brazilian propolis: red propolis. *J Ethnopharmacol.* 2007;113(2):278–283.

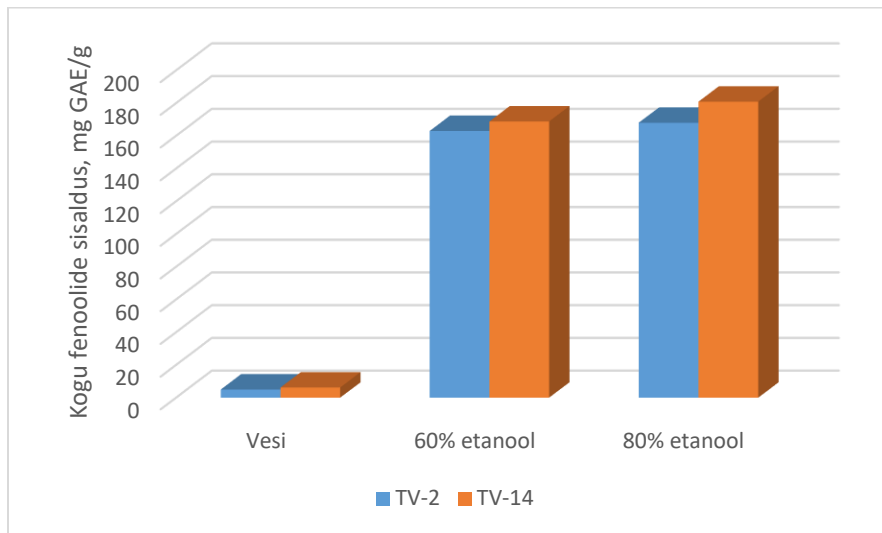
²³ Miguel MG, Antunes MD. Is propolis safe as an alternative medicine? *J Pharm Bioallied Sci.* 2011;3(4):479. doi: 10.4103/0975-7406.90101.

²⁴ Sforcin JM, Bankova V. Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol.* 2011;133(2):253–260. doi: 10.1016/j.jep.2010.10.032.

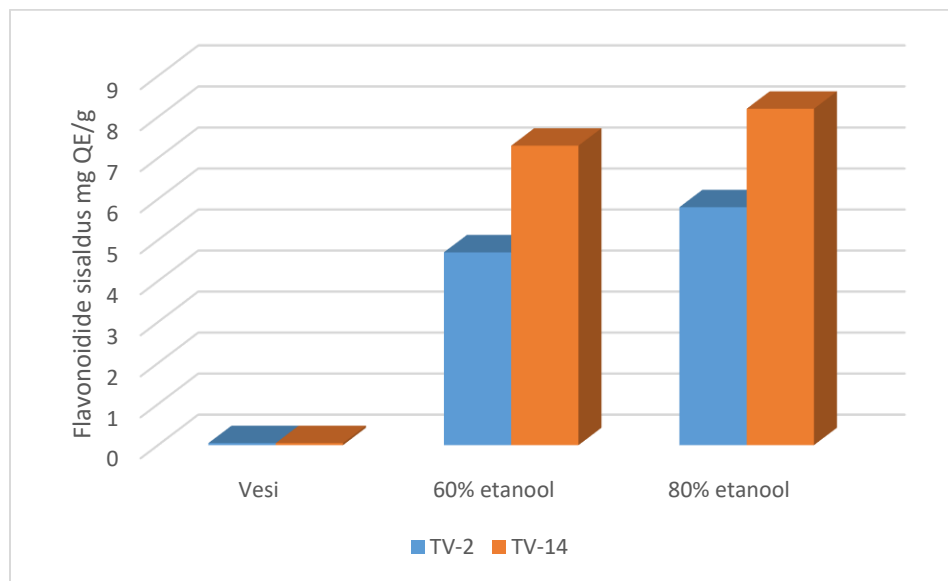
²⁵ Paviani LC, Dariva C, Marcucci MC, Cabral FA. Supercritical carbon dioxide selectivity to fractionate phenolic compounds from the dry ethanolic extract of propolis. *J Food Process Eng.* 2010;33(1):15–27. doi: 10.1111/j.1745-4530.2008.00256.x.

²⁶ Cvek J, Medić-Šarić M, Jasprica I, Zubčić S, Vitali D, Mornar A, et al. Optimisation of an extraction procedure and chemical characterisation of Croatian propolis tinctures. *Phytochem Anal.* 2007;18(5):451–459. doi: 10.1002/pca.1001.

Edasises uuringus kasutati 80% etanooli ekstrakte nii polüfenoolide ja flavonoidide üldsisalduse määramiseks kui ka fenoolse profiili kindlaks tegemiseks. Lyme tõbe põhjustava bakteri *Borrelia burgdorferi* elunevuse hindamiseks kasutati 60% etanooli vesilahuseid.



Joonis 4. Ekstraksiooniprotseduuri optimeerimine kogu polüfenoolide eraldamiseks taruvaigust
Suhteline standardhälve jäi alla 10%.



Joonis 5. Ekstraksiooniprotseduuri optimeerimine flavonoidide eraldamiseks taruvaigust.
Suhteline standardhälve jäi alla 10%.

Taruvaigu vesilahustes jäi nii üldfenoolide kui ka flavonoidide sisaldus väga madalaks, samuti leiti ka suhkruid ainult jälgedena. Seetõttu vesiekstrakte rohkem ei uuritud.

3.2. Polüfenoolide ja flavonoidide sisaldused

Polüfenoolid, nagu flavonoidid, fenoolhapped ja nende estrid, fenoolalkoholid, aldehüüdid ja ketoonid on oma laialdase bioloogilise aktiivsuse tõttu olulised taruvaigu koostisosade rühmad^{27,28}.

Taruvaiguetraktide keemiline koostis (fenoolide ja flavonoidide üldsisaldus ning fenoolne profiil) ja seega bioloogiline aktiivsus sõltuvad paljudest teguritest, nagu taruvaigu proovi geograafiline päritolu, selle kogumise aastaaeg, mesilaste liik, taruvaigu kogumise meetod ja ekstraheerimisprotsess.

Kirjandusallikates leidub andmeid erinevat geograafilist päritolu taruvaigu üldfenoolide sisalduste kohta, olenevalt nii analüüsis kasutatud standardist kui ka lahustist. Kasutades standardina gallushapet ja lahustina metanooli jäid Portugali ja Brasiilia taruvaikude üldfenoolide sisaldused vahemikku 29,5–137 mg/g^{29,30}. Kasutades standardina gallushapet ja lahustina etanooli, saadi Hispaania^{31,32}, Poola³³ ja Hiina³⁴ taruvaigu jaoks suuremad üldfenoolide kogused (150–340 mg/g), mis langevad hästi kokku käesolevas uuringus saadud tulemustega. Sancho jt³⁵ uurisid erinevate geograafiliste piirkondade (sh Põhja- ja Ida-Euroopa) taruvaigu polüfenoolisisaldusi, mis jäid vahemikku 65,49–228,40 mg GAE/g.

Kõikide antud uuringus analüüsitud taruvaikude polüfenoolide ja flavonoidide üldsisaldused on esitatud tabelis 2, (kõrgeimad väärtused on märgitud rasvases kirjas). Polüfenoolide keskmine

²⁷ Kurek-Górecka A., Rzepecka-Stojko A., Górecki M., Stojko J., Sosada M., Swierczek-Zieba G. Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*. 2014;19:78–101. doi: 10.3390/molecules19010078.

²⁸ Pang Z., Chen J., Wang T., Gao C., Li Z., Guo L., Xu J., Cheng Y. Linking Plant Secondary Metabolites and Plant Microbiomes: A Review. *Front. Plant Sci.* 2021;12:300. doi: 10.3389/fpls.2021.621276.

²⁹ Feás X., Pacheco L., Iglesias A., Estevinho L.M. Use of propolis in the sanitization of lettuce. *Int. J. Mol. Sci.* 2014;15:12243–12257. doi: 10.3390/ijms150712243.

³⁰ Woisky R.G., Salatino A. Analysis of propolis: Some parameters and procedures for chemical quality control. *J. Apic. Res.* 1998;37:99–105.

³¹ Serra-Bonvehí J., Lacalle-Gutiérrez A. Antioxidant activity and total phenolics of propolis from the Basque country (Northeastern Spain) *J. Am. Oil Chem. Soc.* 2011;88:1387–1395. doi: 10.1007/s11746-011-1792-1.

³² Osés S.M., Pascual-Maté A., Fernández-Muñoz M.A., López-Díaz T.M., Sancho M.T. Bioactive properties of honey with propolis. *Food Chem.* 2016;196:1215–1223. doi: 10.1016/j.foodchem.2015.10.050.

³³ Socha R., Galkowska D., Bugaj M., Juszczak L. Phenolic composition and antioxidant activity of propolis from various regions of Poland. *Nat. Prod. Res.* 2015;29:416–422. doi: 10.1080/14786419.2014.949705.

³⁴ Yang H., Dong Y., Du H., Shi H., Peng Y., Li X. Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. *Molecules*. 2011;16:3444–3455. doi: 10.3390/molecules16043444.

³⁵ Osés S.M., Marcos P., Azofra P., Pablo A., Fernández-Muñoz M.A., Sancho T. Phenolic Profile, Antioxidant Capacities and Enzymatic Inhibitory Activities of Propolis from Different Geographical Areas: Needs for Analytical Harmonization, *Antioxidants (Basel)*. 2020 Jan; 9(1): 75. doi: 10.3390/antiox9010075

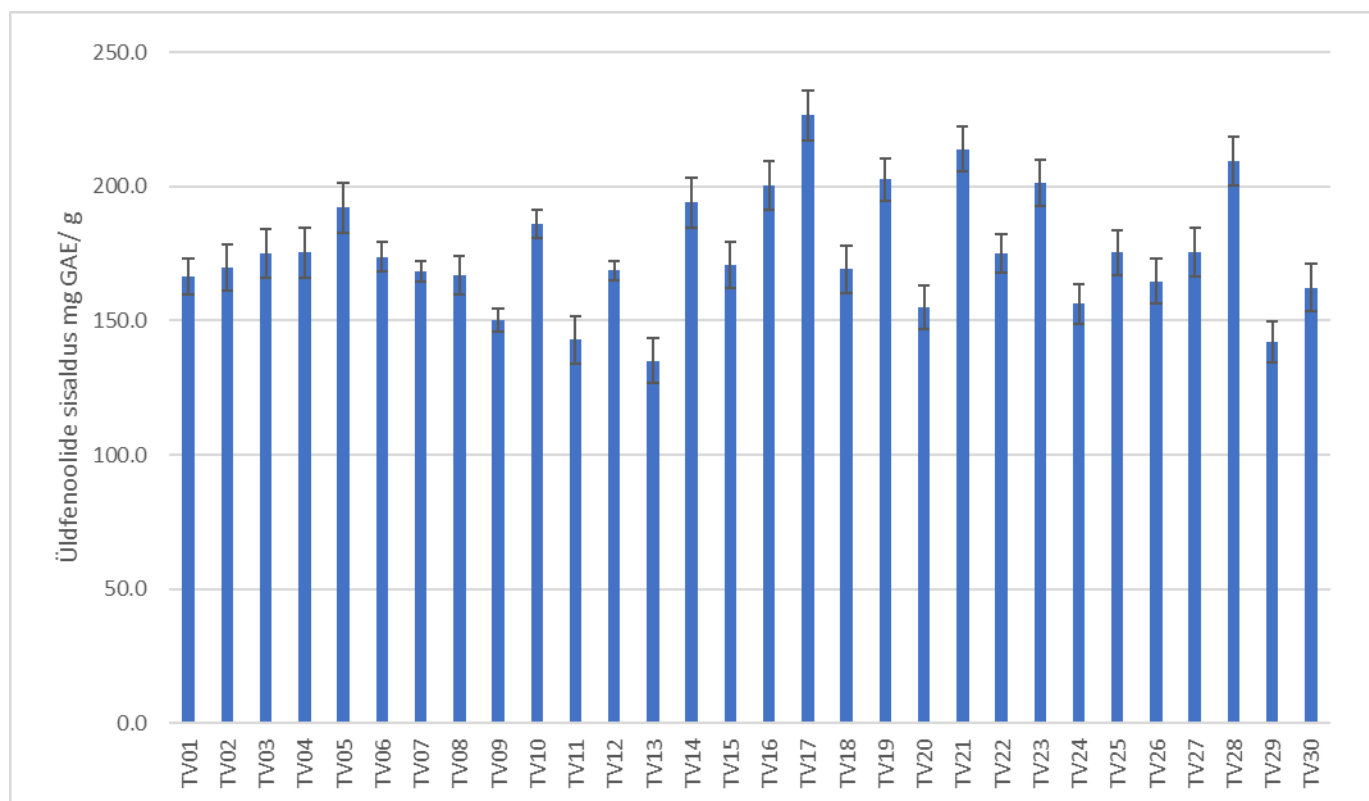
sisaldus oli 175,2 mg GAE/g varieerudes 135,1 kuni 226,5 mg GAE/g kuiva taruvaigu kohta, olles ligikaudu 10 korda kõrgemad kui 2023. aastal analüüsitud suurades ja 100 korda kõrgemad kui 2021. aastal analüüsitud metes (Eesti suira uuring, 2023 ja Eesti mee süvauuring, 2021). Nii kõige kõrgem kui ka kõige madalam fenoolsete ühendite sisaldus tuvastati Jõgevamaalt pärit puhastamata proovides, vastavalt TV-17 ja TV 13.

Tabel 2. Polüfenoolide ja flavonoidide kogusisaldused taruvaigus

Proov	Polüfenoolide kogusisaldus, mg GAE/g	Polüfenoolide kogusisaldus kuivas proovis, mg GAE/g	Flavonoidide kogusisaldus, mg QE/g	Flavonoidide kogusisaldus kuivas proovis, mg QE/g	Niiskuse-sisaldus, %
TV-1	155,2 ± 6,7	166,6 ± 6,7	6,6 ± 0,3	7,1 ± 0,3	7,4 ± 0,1
TV-2	158,2 ± 8,6	169,7 ± 8,6	5,2 ± 0,2	5,6 ± 0,2	7,3 ± 0,1
TV-3	163,7 ± 9,2	175,0 ± 9,3	11,6 ± 0,3	12,5 ± 0,3	7,6 ± 0,2
TV-4	162,2 ± 8,8	175,5 ± 8,9	8,1 ± 0,3	8,8 ± 0,3	8,2 ± 0,1
TV-5	177,0 ± 9,3	192,0 ± 9,5	8,0 ± 0,3	8,7 ± 0,3	8,5 ± 0,1
TV-6	159,8 ± 5,4	173,8 ± 5,6	18,0 ± 1,7	19,6 ± 1,8	8,8 ± 0,3
TV-7	157,3 ± 3,8	168,4 ± 3,9	5,2 ± 0,2	5,6 ± 0,2	7,1 ± 0,2
TV-8	155,4 ± 7,1	166,8 ± 7,2	11,6 ± 0,3	12,5 ± 0,4	7,4 ± 0,2
TV-9	140,5 ± 4,3	150,4 ± 4,3	10,2 ± 0,3	10,9 ± 0,3	7,0 ± 0,1
TV-10	171,5 ± 5,1	186,1 ± 5,2	8,7 ± 0,2	9,4 ± 0,3	8,5 ± 0,1
TV-11	133,4 ± 8,8	142,9 ± 8,8	4,4 ± 0,2	4,7 ± 0,2	7,1 ± 0,1
TV-12	156,0 ± 3,5	168,7 ± 3,5	13,4 ± 1,3	14,5 ± 1,3	8,1 ± 0,1
TV-13	126,4 ± 8,6	135,1 ± 8,6	20,8 ± 2,0	22,2 ± 2,1	6,9 ± 0,1
TV-14	178,6 ± 9,3	194,0 ± 9,3	8,4 ± 0,6	9,1 ± 0,6	8,0 ± 0,1
TV-15	158,5 ± 8,5	170,8 ± 8,5	5,3 ± 0,3	5,7 ± 0,3	7,8 ± 0,1
TV-16	185,1 ± 9,1	200,5 ± 9,2	14,9 ± 1,4	16,2 ± 1,5	9,0 ± 0,2
TV-17	205,0 ± 9,4	226,5 ± 9,4	6,9 ± 0,4	7,6 ± 0,5	10,5 ± 0,1
TV-18	157,7 ± 8,9	169,1 ± 8,9	10,1 ± 1,0	10,8 ± 1,1	7,2 ± 0,1
TV-19	185,4 ± 7,9	202,7 ± 7,9	25,4 ± 2,5	27,8 ± 2,5	9,4 ± 0,1
TV-20	144,9 ± 8,1	155,1 ± 8,1	14,5 ± 1,4	15,5 ± 1,5	7,1 ± 0,1
TV-21	193,3 ± 8,4	213,8 ± 8,4	22,1 ± 2,0	24,4 ± 2,1	10,2 ± 0,1
TV-22	160,7 ± 7,1	175,2 ± 7,1	28,2 ± 2,9	30,7 ± 3,0	9,0 ± 0,1
TV-23	187,5 ± 8,6	201,4 ± 8,6	7,2 ± 0,4	7,7 ± 0,5	7,4 ± 0,1
TV-24	146,4 ± 7,5	156,3 ± 7,5	5,6 ± 0,3	6,0 ± 0,4	6,8 ± 0,1
TV-25	159,9 ± 8,4	175,3 ± 8,4	3,9 ± 0,3	4,3 ± 0,3	9,6 ± 0,1
TV-26	152,1 ± 8,3	164,7 ± 8,3	10,1 ± 0,6	10,9 ± 0,6	8,3 ± 0,1
TV-27	168,1 ± 9,1	175,3 ± 9,1	12,0 ± 0,4	13,0 ± 0,6	8,4 ± 0,1
TV-28	188,6 ± 9,2	209,5 ± 9,3	27,8 ± 2,9	30,7 ± 3,1	11,1 ± 0,1
TV-29	132,2 ± 7,7	142,1 ± 7,7	6,1 ± 0,4	6,6 ± 0,4	7,5 ± 0,1

TV-30	151,1 ± 8,9	162,4 ± 8,9	7,9 ± 0,6	8,5 ± 0,6	7,5 ± 0,1
Keskmine	162,4	175,2	11,6	12,6	8,2
Vahemik	126,4 – 205,0	135,1 – 226,5	3,9 – 28,2	4,3 – 30,7	6,8 – 11,1

Jooniselt 6 on hästi näha, et polüfenoolide kogusisaldused enamikes taruvaikudes on üle 150 mg GAE/g, alla selle on sisaldus ainult kolmes taruvaigus. TV-13 ja TV-29 puhul 135,1 mg GAE/g ning TV-11 puhul 142,9 mg GAE/ g. Üle 200 mg GAE/g sisaldas polüfenooli 6 proovi – TV-16, TV-17, TV-19, TV-21, TV-23 ja TV-28.

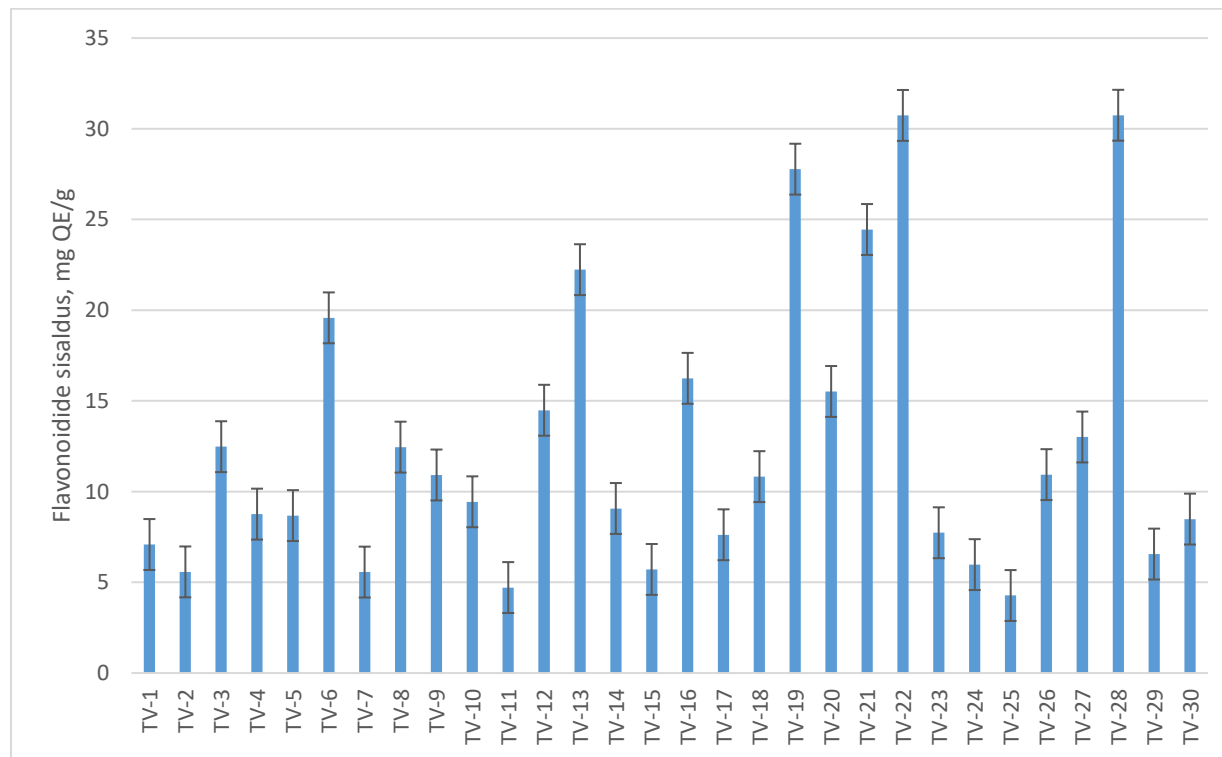


Joonis 6. Polüfenoolide kogusisaldused mg gallushappe ekvivalentides 1 g kuiva taruvaigu kohta (mg GAE/g)

Flavonoidide keskmine sisaldus analüüsitud taruvaikudes oli 12,6 mg QE/g varieerudes 4,3 kuni 30,7 mg QE/g.

Joonisel 7 on visualiseeritud flavonoidide kogusisaldused uuritavates taruvaigu proovides. Flavonoidide sisalduste varieeruvus taruvaikudes oli tunduvalt suurem polüfenoolide sisalduse varieeruvusest ja ulatus kuni 7 korrani. Alla 5 mg QE/g oli flavonoidide kogusisaldus kahes puhastamata taruvaigus - Saaremalt pärit TV-11 ja Põlvamaalt pärit TV-25 (4,7 ja 4,3 mg QE/100 g). Kõrgete sisalduste poolest (üle 20 mg QE/g) paistsid silma puhastamata proovid TV-13, TV-

19, TV-22 ja TV-28 ja puhastatud-kuivatatud proov TV-21. Kõige kõrgem flavonoidide sisaldus (30,7 mg QE/g) oli Harjumaa ja Raplamaa proovides vastavalt TV-22 ja TV-28.



Joonis 7. Flavonoidide sisaldused taruvaigu proovides

Kirjandusest teadaolevad flavonoidide sisaldused erinevate piirkondade taruvaigu ekstraktides varieeruvad kuni sada korda. Kumazawa jt³⁶ mõõtsid flavonoidide kogusisaldust erinevate maade taruvaikudes. Madalaima sisaldusega oli Tai taruvaik (2,5 mg QE/g) ja kõrgeimaga Ungarist pärit taruvaik (176 mg QE/g). Samuti Hiina³⁷ erinevatest provintsidest pärit taruvaigu flavonoidide sisaldused varieerusid 8,3 kuni 188 mg QE/g. Poola³⁸ eri piirkondadest pärit taruvaikude flavonoidide sisaldused (18,7 – 22,2 mg QE/g) olid sarnased Eesti taruvaikudega. Lõuna-Korea 20 erinevast asukohast kogutud taruvaiku iseloomustas flavonoidide sisaldus vahemikus 20,8–49,8 mg QE/g³⁹.

³⁶ Kumazawa S., Hamasaka T., Nakayama T. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem.* 2004;84:329–339. doi: 10.1016/S0308-8146(03)00216-4.

³⁷ Ahn M.R., Kumazawa S., Usui Y., Nakamura J., Matsuka M., Zhu F., Nakayama T. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. *Food Chem.* 2007;101:1383–1392. doi: 10.1016/j.foodchem.2006.03.045.

³⁸ 45. Wezgowiec J., Wiczyńska A., Wieckiewicz W., Kulbacka J., Sączko J., Pachura N., Wieckiewicz M., Gancarz R. Polish propolis—Chemical composition and biological effects in tongue cancer cells and macrophages. *Molecules.* 2020;25:2426. doi: 10.3390/molecules25102426.

³⁹ Wang X., Sankarapandian K., Cheng Y., Woo S.O., Kwon H.W., Perumalsamy H., Ahn Y.J. Relationship between total phenolic contents and biological properties of propolis from 20 different regions in South Korea. *BMC Complement. Altern. Med.* 2016;16:1–12. doi: 10.1186/s12906-016-1043-y.

Taruvaigus leiduvate flavonoidide koguse võib seostada taimeestikuga, kust mesilased koguvad taruvaiku.

3.3. Flavonoidide profiil

Taruvaigu peamiste koostisosadena avaldavad flavonoidid olulist mõju taruvaigu farmakoloogilisele toimele. Samuti kasutatakse parasvõotme taruvaigu kvaliteedi hindamise kriteeriumina selles sisalduvate flavonoidide kogust⁴⁰. Flavonoididel on ka lai valik bioloogilisi omadusi, nagu antibakteriaalne, viirusevastane ja põletikuvastane toime^{41,42}.

Keemilise struktuuri järgi liigitatakse taruvaigu flavonoidid flavoonideks, flavonoolideks, flavanoonideks, flavanoolideks, kalkoonideks, dihidrokalkoonideks, isoflavoonideks, isodihydroflavoonideks, flavaanideks, isoflavoonideks ja neoflavonoidideks. Parasvõotme taruvaigu iseloomulikud koostisosad (nii põhja- kui ka lõunapoolkeral) on flavonoidid, millede B-tsükliks ei ole asendajaid (nt pinotsembriin, pinobanksiin, galangiin ja krüsiin ja nende estrid, nagu kohvhappe fenetüülester). Nende koostisosade allikad on *Populus* liikide (pajulised), peamiselt *P. nigra* (pappel) pungade eksudaadid⁴³. Seejuures võib sama tüüpi taruvaigu flavonoidide profiil ja sisaldus varieeruda sõltuvalt taruvaigu geograafilisest päritolust.

Kirjanduses leidub andmeid^{44,45}, et *P. nigra* pungadest on leitud mitmesuguseid flavonoide, sealhulgas pinobanksiini, krüsiini, galangiini, vanilliini ja apigeniini. Poola erinevatest piirkondadest kogutud taruvaigu proovides tuvastati rida flavonoide⁴⁶ nagu krüsiin, galangiin, naringeniin, kaempferool, kvartsetiin, pinobanksiin, apigeniin, müritsetiin ja luteoliin, mis näitab, et tegemist on papli tüüpi (*Populus*) taruvaiguga.

Käesolevas uuringus saadud tulemused erinevatest Eesti piirkondadest pärit taruvaigu proovide flavonoidse profiili kohta (kvalitatiivne) on esitatud tabelis 3. Plussmärgiga (+) on märgitud sisalduse tase, madalam + ja kõige suurem ++++. Kokku tuvastati 25 erinevat fenoolset ühendit,

⁴⁰ Zhang C., Huang S., Wei W., Ping S., Shen X., Li Y., Hu F. Development of High-Performance Liquid Chromatographic for Quality and Authenticity Control of Chinese Propolis. *J. Food Sci.* 2014;79:C1315–C1322. doi: 10.1111/1750-3841.12510.

⁴¹ Bueno-Silva B., Alencar S.M., Koo H., Ikegaki M., Silva G.V., Napimoga M.H., Rosalen P.L. Anti-inflammatory and antimicrobial evaluation of neovestitol and vestitol isolated from brazilian red propolis. *J. Agric. Food Chem.* 2013;61:4546–4550. doi: 10.1021/jf305468f.

⁴² Nijveldt R.J., van Nood E., van Hoorn D.E., Boelens P.G., van Norren K., van Leeuwen P.A. Flavonoids: A review of probable mechanisms of action and potential applications. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001;74:418–425.

⁴³ Salatino, A., Caroline C. Fernandes-Silva, C-C., Righi, A.A., Salatino M.L.F. Propolis research and the chemistry of plant products. *Nat. Prod. Rep.*, 2011, 28, 925.

⁴⁴ Isidorov V.A., Szczepaniak L., Bakier S. Rapid GC/MS determination of botanical precursors of Eurasian propolis. *Food Chem.* 2014;142:101–106. doi: 10.1016/j.foodchem.2013.07.032.

⁴⁵ Stanciauskaitė M., Marksa M., Liaudanskas M., Ivanauskas L., Ivaskiene M., Ramanauskiene K. Extracts of Poplar Buds (*Populus balsamifera* L., *Populus nigra* L.) and Lithuanian Propolis: Comparison of Their Composition and Biological Activities. *Plants.* 2021;10:828. doi: 10.3390/plants10050828.

⁴⁶ Woźniak M., Mrówczyńska L., Waśkiewicz A., Rogoziński T., Ratajczak I. Phenolic profile and antioxidant activity of propolis extracts from Poland. *Nat. Prod. Commun.* 2019;14:1–7. doi: 10.1177/1934578X19849777.

nendest 18 flavonoidi, 4 fenoolset hapet ja 3 muud fenoolühendit. Flavonoididest sisaldus kaempferooli 29-s (tasemel +++), luteoliini 26-s (tasemel +++), dimetüülkvertsetiini 24-s (tasemel +++), kaempferiidi 23-s (tasemel ++) ja naringeniini 20-s (tasemel +++) proovis.. Rohkem kui 10 proovis tuvastati veel kvertsetiini, ramnetiini, pektolinaringeniini, prenüülnaringiini, hüdroksügenisteiini ja hesperetiini. Apigeniini leiti ainult kolmes taruvaigu proovis (TV-2 ja TV-10 Saaremaalt ja TV-3 Tartumaalt). *Populus* tüüpi taruvaigule iseloomulikke flavonoide leidis väiksemas arvus proovides. Galangiini (TV-1, TV-2), atsetüülpinobanksiini (TV-2, TV-9, TV-19, TV-20, TV-28), pinobanksiini (TV-3, TV-4, TV-12, TV-21), pinotsembriini (TV-22), pinostrobiini (TV-2) ja krüsiini (TV-2, TV-11, TV-13, TV-20, TV-28). Nende komponentide sisaldus oli enamusel juhtudel tasemel ++++ (va pinostrobiin ja krüsiin).

Kõikides proovides leiti aga fenoolaldehüüdi vanilliin ja 20 proovis kaneelhapet. Esimesed taruvaigust eraldatud koostisosad olidki vanilliin, kaneelhape ja kaneelalkohol⁴⁷. Kohvhappe fenetüülestrit leidis kaheksas proovis (TV-2, TV-3, TV-4, TV-7, TV-11, TV-23, TV-24, TV-25), mis on *Populus* tüüpi taruvaigust saadav aktiivne antioksüdantne komponent, millel on kasulik mõju mitmetele hingamisteede haigustele, nagu krooniline obstruktiivne kopsuhaigus ja kopsuvähk⁴⁸.

Fenoolhapetest leiti kaneelhapet 20-s, feruulhapet 17-s, *p*-kumaarhapet 14 ja rosmariinhapet 9 taruvaigu proovis. Kõige kõrgemal tasemel (++++) sisaldus kaneelhapet, sellele järgnesid feruul- ja *p*-kumaarhape. Rosmariinhapet leidis tasemel +. Pitseiididest tuvastati 12-s proovis *t*-resveratrooli tasemel +.

Käesolevas uuringus testitud taruvaigu ekstraktide flavonoidprofiili põhjal võib spekuloida, et *P. nigra* võib olla üks taimseid allikaid, mida mesilased selle tootmiseks kasutavad. Kundlasti on Eestis tegemist segatüüpi taruvaikudega, mille botaanilisteks allikateks võivad olla pajud, kased, haavad, kastanid, okaspuud jt.

⁴⁷ Kuropatnicki A.K., Szliszka E., Krol W. Historical aspects of propolis research in modern times. Evid. Based. Complement. Alternat. Med. 2013;2013:964149. doi: 10.1155/2013/964149.

⁴⁸Ma , Y., Zhang , J-X., Liu, Y-N., Ge, A., Gu, H., Zha, W-J., Zeng, X-N.,Huang, M. Caffeic acid phenethyl ester alleviates asthma by regulating the airway microenvironment via the ROS-responsive MAPK/Akt pathway. Free Radical Biology and Medicine. 2016; 101: 163-175.

Tabel 3. Flavonoidide profiil (plussmärgiga on näidatud komponendi sisalduse tase proovis).

Fenoolühend	TV-1	TV-2	TV-3	TV-4	TV-5	TV-6	TV-7	TV-8	TV-9	TV-10	TV-11	TV-12	TV-13	TV-14	TV-15	TV-16	TV-17	TV-18	TV-19	TV-20	TV-21	TV-22	TV-23	TV-24	TV-25	TV-26	TV-27	TV-28	TV-29	TV-30	
Flavonoidid																															
Kaempferool	++	++	+++	++	++	+++	++		+	+++	+++	+++	+	+++	++	++	+++	++	+++	+++	++	+++	++	++	+++	+++	++	+++	++	+++	
Kaempferiid	++	++	+++	++	++	++	++	++	++	++		++	++		++	+		+++	+		++		+++			+	++	++	++	++	
Kvertsetiin		+		+	+					+	+		+	+					++			++				+		+			
Dimetüülkvertsetiin	++	++	+++	+++	++			+++	++	+++	+++	++++	+++	+++	+++	+++				+++	+++			+++	++	+++	+++	+++	++	+++	
Galangiin	+	++																													
Ramnetiin						++		++	++		++		++	+		+				++		+++			++	++			++	++	
Atsetüülpinobanksiin		++++							++++											++++	+++							++			
Pinobanksiin			++++	++++								++++										++++									
Pinostrobiin		+																													
Pinotsembriin																							++++								
Luteoliin	++	++	+++		++	++	++			+++	+++	++++	+	+++	++	++	+++	++	+++	+++			+++	+++	+++	+++		++	++	++	+++
Apigeniin		++	+++							++																					
Krüsiin		++									++		+++								++								+	++	
Naringeniin		++++	++++	++++	++++					++++	++++	++++	++		++++	++++	++++		+	++	++++		++++		++++	++++	+++	++	+++	++++	
Pektolinaringi-		++++		++						+++	++++	++++				+++	+++	++++	++++	++++	++++	++++	+++			++++		++	++		
Prenüülaringi-	+++		+++	+++	++		+++	++++			+++	++	++++		+++	+++	++		++	+++										++	
Hesperetiin	+		+			+++		+			+	+++				+			++	+++						+			+		
Hüdroksügenistein			+							++				++	++		++	++	++	++			+++	++		++	+	++		+++	
Fenoolsed																															
Kaneelhape	+	+++	++		+++	++++	+++		+		+				+		++++	+++	+++			++++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+
Feruulhape			++	++	++	++++	+	++	+				+	++	++					++			+++	++	+++	+	+++			++	
p-Kumaarhape	++	++							++	+		++			++	++	++	++	++			++	++	++			++	++			
Rosmariinhape		+	+		+				+		+		+		+					+					+						
Teised ühendid																															
Vanilliin	++	++	++	++	++	++	+++	+++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	++	+++	++	++	+++	++	++	++	++	
Kohvhappe fenetüülester		++	++	++			++				++													+	++	++					
t-Resveratrol	+				+	+	+				+						++				+		++			+	+			+	

4. Lenduvad ühendid

Taruvaigus sisalduvad lenduvad ained annavad sellele spetsiifilise meeldiva aroomi. On hästi teada, et mesilased (*Apis mellifera*) reageerivad lõhnadele mitmes käitumiskontekstis^{49,50}. Mesilasema ja/või töomesilaste poolt eralduvad feromoonid edastavad mitmesuguseid sõnumeid ja kutsuvad esile üsna stereotüüpseid vastuseid õiges kontekstis. Töomesilased õpivad reageerima ka lillelõhnadele, mis enne õppimiskogemust ei kutsu tavaliselt esile nii tugevaid kaasasündinud reaktsioone kui feromoonid⁵¹. Nad õpivad tundma õielõhnade seost lillede nektari ja/või õietolmuga, võimaldades seeläbi tulevikus tuvastada lilli, millelt saab toorainet korjata⁵². Seni puuduvad andmed lõhnade rolli kohta taruvaigu otsimisel. Tundub aga loogiline eeldada, et sama õppeprotsess toimub ka vaigu kogumise puhul, võttes arvesse Leonhardti jt hiljutist leidu, kes on tõestanud, et Borneo nõelteta mesilased kasutavad sobivate vaiguallikate leidmiseks lõhnasignaaliidena lenduvaid terpeene⁵³.

Taruvaigu lenduvad koostisosad mängivad olulist rolli ka taruvaigu kasutajate jaoks tänu selle meeldivale aroomile ja bioloogilisele aktiivsusele.

Taruvaigu keemiline koostis on selle bioloogilise aktiivsuse mõistmiseks ülioluline. Ühes esimestest taruvaigu eeterlike õlide uuringus tuvastati vaid mõned koostisosad: bensoehape, bensüülalkohol, vanilliin ja eugenool⁵⁴. Edasised uuringud näitasid taruvaigu lenduvate õlide varieeruvust, mis näis olevat isegi suurem kui polaarsete taruvaigu koostisosade (nagu fenoolsed ühendid, flavonoidid, fenoolhapped jne) varieeruvus. Parasvöötmes on taruvaigu põhiliseks taimseks allikaks perekonna *Populus* puude pungade eksudaadid (peamiselt must pappel *P. nigra*). Parasvöötme taruvaigu peamised koostisosad on tüüpilised papli fenoolid: flavonoidsed aglükoonid ja kaneelhape estrid⁵⁵. Lenduvate õlide keemiline koostis oli aga muutlikum, eriti erinevate koostisosade suhteliste koguste osas.

Enamikus uuritud Euroopa taruvaiguproovides domineerivad lenduvates õlides seskviterpeenid (saadud hüdrodestilleerimisel, samaaegsel hüdrodestilleerimisel-ekstraheerimisel või ühendite analüüsimisel proovi kohal olevas gaasifaasis – *headspace*), millele järgnesid aromaatsed ühendid, nagu bensüülatsetaat, bensüülbensoaat ja bensüülalkohol. Leiti, et β -eudesmool on Prantsusmaalt, Ungarist, Bulgaariast ja Põhja-Itaaliast pärit proopolise lenduvate õlide peamine koostisosa. Mitteterpeenestest ühenditest leiti nendes taruvaigu proovides bensüülalkoholi ja

⁴⁹ Winston ML: The Biology of Honey Bees. 1987, Cambridge MA: Harvard University Press

⁵⁰ Getz WM, Page RE: Chemosensory kin-communication systems and kin recognition in honey bees. *Ethology*. 1991, 87: 298-315.

⁵¹ von Frisch K: The Dance Language and Orientation of Bees. 1967, Cambridge MA: Harvard University Press

⁵² Smith BH, Cobey S: The olfactory memory of the honeybee *Apis mellifera*. II. Blocking between odorants in binary mixtures. *J Exp Biol*. 1994, 195: 91-108.

⁵³ Leonhardt SD, Zeilhofer S, Blüthgen N, Schmitt T: Stingless bees use terpenes as olfactory cues to find resin sources. *Chem Senses*. 2010, 35: 603-611.

⁵⁴ Janas K, Bumba V: Contribution to composition of beeswax propolis. *Pharmazie*. 1974, 29: 544-545.

⁵⁵ Bankova V, de Castro SL, Marcucci MC: Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*. 2000, 31: 3-15.

bensüülbensoaati. Bensüülbensoaati esines Ungari proovides ja ka paljudes teistes parasvöötme proovides⁵⁶.

Paljudes aastatel 1908–1948 avaldatud artiklites väidetakse, et taruvaik sisaldab kuni 10% lenduvaid õlisid⁵⁷. Uuemates uuringutes räägitakse siiski palju väiksemast protsendist, tavaliselt kuni 1%, harva 2–3%.

Käesolevas uuringus saadud tulemused erinevatest Eesti piirkondadest pärit proovidega on kirjandusega sarnased. Kokku tuvastati taruvaigu proovides 55 erinevat lenduvat ühendit, mille sisaldus oli vähemalt ühes proovis enam kui 1%. Tabelis 4 on esitatud individuaalsete lenduvate ühendite sisaldused protsentides, mida leidis üle 1% taruvaigus olevatest lenduvate ühendite kogusisaldusest. Lisaks on tähistatud ka need ühendid (<1.0), mida leidis küll alla 1%, kuid esines mõnes teises taruvaigu proovis kõrgemas kontsentratsioonis (>1%). Punasega on tähistatud sisaldused, mis ületasid 5%.

Nagu tabelist näha leidis kõikides taruvaigu proovides bensaldehüüdi, bensoehapet, bensüülalkoholi, bensüülbensoaati, α -guaieeni, α -kalakoreeni, α -kopaeeni, linalooli, metüülbensoaati, γ -muroleeni, ülangeeni ja undekaani (tähistatud rasvases kirjas). Lenduvatest ühenditest leidis kõige rohkem bensoehapet 9,8% (TV-22) kuni 57,9% (TV-24), bensaldehüüdi 1,9% (TV- 22) kuni 29,3% (TV-8). Metüülbensoaati sisaldus üle 5% proovides TV-8 ja TV-9. Bensoehappel ja selle derivaatidel on tõhus mikroobe hävitav toime ja neid kasutatakse toiduainetööstuses säilitusainetena.

Ka α -guaieeni (seskviterpeen) sisaldused olid kõrged varieerudes 3,5% (TV-8) kuni 17,4% (TV-1). Üle 5% leidis α -kopaeeni (tritsükliline seskviterpeen), mille allikaks on harilik mänd, kolmes taruvaigu proovis – TV-2, TV-6 ja TV-8 ning linalooli kahes proovis TV-6 ja TV-19. Ülangeeni, mida on leitud ka harilikus vesikanepis⁵⁸ sisaldasid üle 5% taruvaigu proovid TV-22 ja TV-28.

Karüofülleeni (bitsükliline seskviterpeen), mille taimseteks allikateks võivad olla kanep, humal, rosmariin jt, leidis TV-1, TV-5, TV-20, TV-21, TV-22, TV-25 ja TV-28 vastavalt 6,0%, 6,5%, 8,8%, 10,8%, 9,4%, 7,0% ja 11,6%. Teistes taruvaigu proovides olid sisaldused alla 5%. Karüofülliinil, nagu teistelgi terpeenidel on antioksüdatiivsed ja antibakteriaalsed omadused. Samuti tõstab see ka külma taluvust.

Hästi tuntud vanilliini leiti ka peaaegu kõikides proovides, enim TV-8 ja TV-9 vastavalt 5,9% ja 8,2%. Tümooli (fenoolne monoterpeen) aga ainult 4 proovis – TV-1, TV-18, TV-26 ja T-28 (1,2 kuni 9,7%). Selle looduslikeks allikateks on tüümian, pune jt. Tümooli kasutatakse erinevatel meditsiinilistel eesmärkidel⁵⁹. Kui tümooli sisaldus ületab 60 - 70%, siis on tegemist varroatoosi ravil tekkinud saastumisega.

⁵⁶ Bankova, V., Popova, M., Trusheva, B. Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review, Chemistry Central Journal, 2014, 8, 28.

⁵⁷ Ghisalberti EL: Propolis: a review. Bee World. 1979, 60: 59-84.

⁵⁸ Judzentiene, A. Chemical composition of the essential oils of wild Eupatorium cannabinum L. from Lithuania, Journal of Essential Oil Bearing Plants, 2003, 6, 161–165.

⁵⁹ Salehi, B, et al., Thymol, thyme, and other plant sources: Health and potential uses, Phytother Res . 2018 32:1688-1706. doi: 10.1002/ptr.6109.

Kaškoniene jt 2014. aasta andmetel sisaldus Eesti taruvaigus lenduvatest ühenditest eukalüptooli (26%), α -pineeni (20,6%), bensaldehüüdi 10,9%, β -pineeni (8,9%), bensüülalkoholi (3,0%) ja limoneeni (2,4%)⁶⁰. Ka meie poolt analüüsitud 30-st taruvaigu proovist sisaldus eukalüptooli 23 proovis. Enim TV-22 (7,8%), sellele järgnesid TV-6, TV-19 ja TV-28 vastavalt 6,6%, 5,0% ja 5,6%. Limoneeni leiti peaaegu kõikides proovides väikestes kogustes (alla 1%).

⁶⁰ Kaškoniene, V., Kaškonas, P., Maruška, A., Kubilienė, L. Chemometric analysis of volatiles of propolis from different regions using static headspace GC-MS, Open Chemistry, 2014 DOI: 10.2478/s11532-014-0521-7.

Tabel 4. Taruvaigus sisalduvad lenduvad ühendid. Tulemused on esitatud %-des (kogu lenduvatest ühenditest) koos standardhälbega.

Kontsentratsioon ±SH, %	TV-1	TV-2	TV-3	TV-4	TV-5	TV-6	TV-7	TV-8	TV-9	TV-10	TV-11	TV-12	TV-13	TV-14	TV-15	TV-16	TV-17	TV-18	TV-19	TV-20	TV-21	TV-22	TV-23	TV-24	TV-25	TV-26	TV-27	TV-28	TV-29	TV-30	
Ühendi nimetus	TV-1	TV-2	TV-3	TV-4	TV-5	TV-6	TV-7	TV-8	TV-9	TV-10	TV-11	TV-12	TV-13	TV-14	TV-15	TV-16	TV-17	TV-18	TV-19	TV-20	TV-21	TV-22	TV-23	TV-24	TV-25	TV-26	TV-27	TV-28	TV-29	TV-30	
α-Amorfeen	-	4.1± 0.2	-	-	-	3.9± 0.4	<1.0	-	-	-	-	-	4.8± 0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	5.1± 0.4	-	-	-	-	-	
Atseethape	1.6± 0.3	1.1± 0.1	2.4± 0.6	1.9± 0.3	2.1± 0.1	1.2± 0.1	1.4± 0.3	1.3± 0.1	2.2± 0.4	1.7± 0.6	1.6± 0.5	-	2.3± 0.7	1.4± 0.7	2.1± 1.1	2.0± 0.9	<1.0	2.5± 1.0	1.9± 0.2	1.1± 0.6	2.2± 0.4	<1.0	1.1± 0.01	2.4± 0.6	1.5± 0.01	4.0± 0.9	2.9± 0.01	1.0± 0.01	2.0± 0.8	2.8± 0.6	
Bensaldehüüd	6.5± 0.6	6.8± 2.0	4.4± 0.6	6.2± 0.3	5.0± 0.4	4.1± 0.3	7.4± 1.0	29.3± 2.5	8.3± 0.9	5.4± 2.1	7.1± 0.2	4.6± 0.2	4.3± 0.3	11.4± ±0.5	9.1± 1.7	3.1± 0.3	4.1± 0.1	7.9± 1.4	4.1± 0.2	9.9± 1.3	7.3± 0.5	1.9± 0.1	7.7± 1.0	6.1± 1.0	2.1± 0.4	13.0± ±0.7	6.5± 0.2	1.6± 0.1	6.8± 0.5	7.8± 1.2	
Bensoehape	35.0± ±4.5	32.5± ±3.1	41.8± ±1.7	45.2± ±2.1	36.0± ±2.3	21.6± ±	42.2± ±2.0	18.6± ±1.5	40.0± ±4.5	43.5± ±	51.8± ±	34.1± ±3.4	30.7± ±0.5	34.7± ±2.1	38.5± ±5.5	49.7± ±9.0	40.9± ±1.2	33.4± ±	26.3± ±0.5	15.3± ±1.3	23.1± ±1.9	9.8± 0.2	36.2± ±	57.9± ±3.5	41.9± ±5.8	29.0± ±1.7	44.9± ±2.4	13.0± ±	51.7± ±5.0	49.0± ±5.2	
Bensüülalkohol	3.1± 0.6	3.1± 0.3	5.2± 0.5	5.2± 0.2	3.0± 0.3	4.2± 0.1	5.0± 0.2	4.4± 0.3	4.7± 0.3	3.8± 1.8	4.4± 0.4	5.8± 0.2	4.4± 0.5	8.1± 0.5	4.0± 0.01	3.3± 0.9	4.4± 0.2	9.9± 2.8	3.2± 0.4	2.8± 0.6	2.6± 0.4	1.6± 0.01	5.2± 0.7	3.0± 0.2	2.6± 0.7	9.7± 1.0	4.7± 0.2	3.6± 0.5	4.9± 0.3	4.7± 0.4	
Bensüülatsetaat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Bensüülbensoaat	1.7± 0.2	3.6± 0.2	1.7± 0.03	3.2± 0.3	1.8± 0.01	2.0± 0.2	1.5± 0.1	2.8± 0.1	1.7± 0.2	2.2± 0.9	2.9± 0.1	2.0± 0.01	1.5± 0.01	2.2± 0.3	2.5± 0.3	1.2± 0.1	<1.0	3.1± 0.2	<1.0	3.4± 0.3	1.8± 0.2	2.6± 0.2	2.9± 0.7	1.8± 0.1	<1.0	2.8± 1.0	3.1± 0.4	1.0± 0.1	3.5± 0.3	4.0± 0.6	
(Z), α-Bisaboleen	-	-	-	-	-	1.0± 0.1	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
β-Bourboneen	-	<1.0	<1.0	-	<1.0	-	-	1.3± 0.01	-	-	<1.0	<1.0	-	-	<1.0	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	<1.0	-	-	-
α-Bulneseen	3.9± 0.2	-	2.6± 0.1	1.7± 0.1	3.6± 0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	2.8± 0.1	<1.0	-	2.5± 0.3	3.1± 0.3	4.1± 0.6	-	-	<1.0	2.9± 0.2	-	-	4.5± 0.7	<1.0	1.7± 0.2	
(E), β-Damaskoon	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.2± 0.01	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Dietüülkarbitool	-	-	1.2± 0.04	2.7± 0.2	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
n-Dodekaan	<1.0	-	-	2.0± 0.1	<1.0	-	2.7± 0.6	1.5± 0.4	1.9± 1.0	-	1.8± 0.7	-	-	2.1± 1.1	<1.0	-	-	<1.0	-	-	1.0± 0.5	-	-	-	-	-	2.6± 0.4	-	-	<1.0	1.4± 1.2
Etaanhape	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.3± 0.1	-	-	-	<1.0	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	<1.0	<1.0	3.7± 0.2	-	-	-
Etüleenbrassülaad	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	1.2± 0.1	<1.0	-	<1.0	1.0± 0.1	1.0± 0.01	<1.0	-	<1.0	-	-	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	-
Etüülbenseenatsetaat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Etüülbensoaat	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	15.4± ±0.7	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
γ-Eudesmool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.3± 0.1	<1.0	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Ühendi nimetus	Kontsentratsioon ±SH, %																													
	TV-1	TV-2	TV-3	TV-4	TV-5	TV-6	TV-7	TV-8	TV-9	TV-10	TV-11	TV-12	TV-13	TV-14	TV-15	TV-16	TV-17	TV-18	TV-19	TV-20	TV-21	TV-22	TV-23	TV-24	TV-25	TV-26	TV-27	TV-28	TV-29	TV-30
Eukalüptool	1.3 ± 0.1	1.1 ± 0.1	-	1.0 ± 0.1	1.0 ± 0.1	6.6 ± 0.9	<1.0	<1.0	2.5 ± 0.3	1.2 ± 0.3	<1.0	-	2.4 ± 0.3	2.0 ± 0.1	1.1 ± 0.1	-	-	1.2 ± 0.4	5.0 ± 0.2	4.0 ± 0.5	<1.0	7.8 ± 0.3	<1.0	<1.0	-	-	-	5.6 ± 0.2	<1.0	<1.0
Fenüülmetüülmatoat	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.4 ± 0.1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	-	-	-	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
α-Guaieen	15.2 ± 1.0	8.9 ± 0.9	10.4 ± 0.5	6.8 ± 0.4	14.3 ± 0.7	4.8 ± 0.2	5.9 ± 0.8	3.5 ± 0.3	5.2 ± 0.4	9.6 ± 2.9	4.4 ± 0.2	6.3 ± 1.1	4.1 ± 0.2	9.4 ± 1.1	11.0 ± 0.9	10.7 ± 0.1	7.2 ± 1.4	5.4 ± 0.8	7.5 ± 1.5	7.3 ± 0.6	17.4 ± 1.3	7.1 ± 0.4	11.7 ± 2.3	7.2 ± 1.1	7.0 ± 0.6	4.7 ± 0.4	6.9 ± 0.5	15.8 ± 2.3	4.4 ± 0.8	4.7 ± 0.8
Heksaanhape	<1.0	<1.0	1.0 ± 0.1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.1 ± 0.2	1.0 ± 0.3	<1.0	<1.0	<1.0	0.9 ± 0.1	<1.0	1.0 ± 0.1	1.1 ± 0.01	<1.0	0.9 ± 0.2	<1.0	<1.0	-	<1.0	1.2 ± 0.2	0.8 ± 0.1	0.8 ± 0.2	1.3 ± 0.1	<1.0	0.9 ± 0.2	<1.0
Heksadekaan	-	-	-	<1.0	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.4 ± 0.8	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	-
Humuleen	-	<1.0	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	<1.0	1.1 ± 0.01	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
α-Humuleen	2.2 ± 0.3	1.2 ± 0.1	2.1 ± 0.2	1.2 ± 0.2	2.1 ± 0.1	-	1.1 ± 0.1	-	-	-	<1.0	-	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1	<1.0	1.7 ± 0.1	2.5 ± 0.2	-	1.6 ± 0.1	2.7 ± 0.1	3.6 ± 0.3	3.7 ± 0.1	<1.0	1.0 ± 0.1	3.0 ± 0.3	-	-	3.4 ± 0.5	<1.0	1.5 ± 0.2
Kadaleen	-	-	<1.0	<1.0	-	<1.0	-	-	<1.0	<1.0	-	<1.0	2.5 ± 0.2	<1.0	-	-	<1.0	<1.0	1.2 ± 0.1	1.4 ± 0.2	-	2.1 ± 0.1	-	-	-	-	-	1.3 ± 0.2	<1.0	-
α-Kadineen	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	-	-	-	-	<1.0	-	-	<1.0	-	-	-	<1.0	-	-	<1.0	-	<1.0	-	1.0 ± 0.1	-	-	-	-	-
α-Kalakoreen	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	2.2 ± 0.2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.0 ± 0.2	1.1 ± 0.1	<1.0	3.4 ± 0.2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
β-Kalakoreen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0 ± 0.4	-	-
cis-Kalameneen	1.9 ± 0.2	3.6 ± 0.7	1.9 ± 0.1	1.8 ± 0.1	2.3 ± 0.1	3.3 ± 0.4	2.4 ± 0.2	2.6 ± 0.1	1.8 ± 0.1	2.0 ± 0.7	1.9 ± 0.1	1.7 ± 0.1	5.2 ± 0.1	1.8 ± 0.3	1.6 ± 0.2	1.4 ± 0.1	-	1.7 ± 0.2	-	3.9 ± 0.2	2.5 ± 0.3	-	2.7 ± 0.6	1.2 ± 0.01	-	1.2 ± 0.1	1.7 ± 0.2	-	1.6 ± 0.2	1.1 ± 0.2
trans-Kalameneen	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	3.0 ± 0.4	-	-	<1.0	-	-	2.8 ± 0.2	-	-	3.2 ± 0.5	-	-
(E)-Karüofülleen	6.0 ± 0.5	3.1 ± 0.4	5.4 ± 0.3	3.1 ± 0.3	6.5 ± 0.4	2.0 ± 0.2	2.8 ± 0.4	1.7 ± 0.1	1.3 ± 0.01	<1.0	1.6 ± 0.1	-	<1.0	3.4 ± 0.3	3.2 ± 0.2	4.7 ± 0.5	<1.0	<1.0	4.3 ± 0.5	8.8 ± 0.4	10.8 ± 0.6	-	3.6 ± 0.7	2.5 ± 0.2	7.8 ± 0.7	0.9 ± 0.3	1.9 ± 0.1	11.6 ± 1.5	2.3 ± 0.5	4.7 ± 0.8
9-epi-(E)-Karüofülleen	<1.0	2.0 ± 0.2	<1.0	-	1.3 ± 0.1	2.4 ± 0.2	1.1 ± 0.1	1.8 ± 0.1	<1.0	1.3 ± 0.6	1.0 ± 0.1	<1.0	3.0 ± 0.01	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	-	2.1 ± 0.2	2.9 ± 0.2	1.5 ± 0.1	-	1.3 ± 0.2	<1.0	1.6 ± 0.2	<1.0	1.0 ± 0.1	-	<1.0	
Karüofülleen	-	-	<1.0	<1.0	-	-	<1.0	<1.0	<1.0	1.8 ± 0.2	<1.0	1.4 ± 0.1	-	-	-	<1.0	<1.0	0.6 ± 0.7	-	-	-	9.4 ± 0.5	<1.0	-	<1.0	<1.0	0.9 ± 0.9	-	<1.0	-
Karüofülleenoksiid	1.0 ± 0.2	1.7 ± 0.2	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	-	<1.0	0.7 ± 0.4	1.2 ± 0.3	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.6 ± 0.2	2.5 ± 0.1	<1.0	<1.0	-	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0
α-Kopaen	2.2 ± 0.1	5.5 ± 1.9	2.3 ± 0.1	1.5 ± 0.01	3.2 ± 0.2	5.5 ± 0.2	2.4 ± 0.3	5.2 ± 0.2	2.3 ± 0.1	2.5 ± 0.9	2.3 ± 0.1	2.2 ± 0.1	2.6 ± 0.3	1.9 ± 0.2	2.6 ± 0.4	2.4 ± 0.1	2.4 ± 0.4	1.9 ± 0.4	2.9 ± 0.4	3.7 ± 0.4	3.4 ± 0.3	4.6 ± 0.3	2.6 ± 0.5	2.1 ± 0.2	3.7 ± 0.4	1.4 ± 0.3	2.3 ± 0.2	3.7 ± 0.5	1.1 ± 0.1	1.2 ± 0.1
Kreosool	-	-	-	<1.0	-	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.9 ± 0.6	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	-
Limoneen	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	-	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.0 ± 0.1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0

Ühendi nimetus	Kontsentratsioon ±SH, %																														
	TV-1	TV-2	TV-3	TV-4	TV-5	TV-6	TV-7	TV-8	TV-9	TV-10	TV-11	TV-12	TV-13	TV-14	TV-15	TV-16	TV-17	TV-18	TV-19	TV-20	TV-21	TV-22	TV-23	TV-24	TV-25	TV-26	TV-27	TV-28	TV-29	TV-30	
Linalool	1.5 ± 0.2	1.4 ± 0.2	1.0 ± 0.01	<1.0	2.6 ± 0.2	5.3 ± 0.2	1.3 ± 0.1	<1.0	2.2 ± 0.2	1.1 ± 0.4	<1.0	<1.0	3.0 ± 1.0	1.6 ± 0.1	1.3 ± 0.3	1.1 ± 0.01	<1.0	0.9 ± 0.4	8.0 ± 1.0	4.9 ± 0.7	0.9 ± 0.1	13.5 ±0.2	1.1 ± 0.2	1.4 ± 0.3	1.5 ± 0.1	<1.0	<1.0	6.3 ± 0.7	<1.0	1.0 ± 0.1	
cis-Linalooloksiid	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.0 ± 0.2	1.8 ± 0.1	<1.0	0.9 ± 0.1	1.3 ± 0.2	0.9 ± 0.3	<1.0	<1.0	1.1 ± 0.4	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	0.7 ± 0.4	1.4 ± 0.1	1.2 ± 0.2	-	2.1 ± 0.1	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	0.9 ± 0.1	-	<1.0	
trans-Linalooloksiid	-	-	<1.0	-	-	1.1 ± 0.1	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	<1.0	<1.0	-	1.3 ± 0.1	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	
Metaanhape	<1.0	<1.0	<1.0	0.7 ± 0.3	<1.0	<1.0	1.4 ± 0.01	<1.0	3.0 ± 1.2	0.7 ± 0.2	1.1 ± 0.3	1.4 ± 0.01	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.7 ± 0.5	<1.0	1.0 ± 0.2	1.3 ± 0.1	0.9 ± 0.1	-	-	2.0 ± 0.5	<1.0	2.0 ± 0.01	1.5 ± 0.01	-	2.2 ± 0.4	1.9 ± 0.4	
Metüülbensoaat	2.3 ± 0.1	3.0 ± 0.3	1.6 ± 0.1	2.9 ± 0.2	2.8 ± 0.3	2.1 ± 0.2	3.5 ± 1.1	7.6 ± 0.6	5.4 ± 0.2	3.2 ± 1.2	2.9 ± 0.2	2.5 ± 0.3	1.9 ± 0.2	2.5 ± 0.2	3.2 ± 0.5	2.1 ± 0.1	1.9 ± 0.01	2.5 ± 0.3	2.2 ± 0.3	3.6 ± 0.3	2.4 ± 0.2	1.7 ± 0.1	3.2 ± 0.5	3.4 ± 0.4	1.7 ± 0.3	3.3 ± 0.3	3.0 ± 0.3	1.0 ± 0.1	3.3 ± 0.6	3.1 ± 0.5	
Metüüleugenool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1.1 ± 0.4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	
Metüülsalitsülaat	1.1 ± 0.3	1.6 ± 0.6	3.4 ± 0.3	1.3 ± 0.01	1.3 ± 0.3	1.9 ± 0.2	2.2 ± 0.4	1.2 ± 0.3	-	2.7 ± 1.1	1.3 ± 0.6	3.4 ± 1.3	<1.0	1.6 ± 0.4	1.2 ± 0.4	2.8 ± 0.7	4.6 ± 0.2	1.3 ± 0.5	1.6 ± 0.1	2.0 ± 0.5	1.2 ± 0.6	-	2.9 ± 1.5	0.8 ± 0.3	2.9 ± 1.3	2.3 ± 0.2	2.9 ± 0.2	-	0.9 ± 0.5	<1.0	
γ-Muroleen	1.9 ± 0.03	2.7 ± 0.3	1.6 ± 0.05	1.2 ± 0.1	4.0 ± 0.2	2.8 ± 0.1	1.9 ± 0.2	2.4 ± 0.01	1.2 ± 0.01	1.8 ± 0.5	1.4 ± 0.1	1.3 ± 0.01	2.1 ± 0.01	1.5 ± 0.2	1.6 ± 0.3	1.4 ± 0.01	3.4 ± 2.3	1.3 ± 0.01	3.2 ± 0.7	2.5 ± 0.3	2.4 ± 0.2	3.3 ± 0.1	2.2 ± 0.3	1.0 ± 0.1	2.6 ± 0.1	1.1 ± 0.1	1.5 ± 0.1	2.5 ± 0.4	1.2 ± 0.2	1.2 ± 0.2	
Pentadekaan	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.8 ± 0.4	-	-	<1.0	-
3-Penteen-2-ool	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0.0	1.2 ± 0.4	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	-
α-Selineen	-	2.8 ± 0.2	-	<1.0	-	2.0 ± 0.1	2.5 ± 0.4	<1.0	-	2.6 ± 1.0	1.8 ± 0.5	<1.0	2.4 ± 0.1	2.2 ± 0.5	2.5 ± 0.3	-	-	1.5 ± 0.01	-	-	-	4.0 ± 0.2	3.0 ± 0.6	-	-	1.0 ± 0.1	1.5 ± 0.1	-	-	-	
Spatulenool	-	-	<1.0	<1.0	-	<1.0	-	<1.0	-	<1.0	-	-	-	<1.0	-	1.3 ± 0.3	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	-	-
α-Terpineool	-	-	-	-	-	-	-	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2.0 ± 0.2	-	-	-	-	-	-	-	-
Tümool	1.2 ± 0.4	-	-	-	<1.0	-	-	-	<1.0	<1.0	-	-	-	-	-	-	-	-	6.1 ± 2.7	-	-	-	-	-	-	-	-	9.7 ± 0.8	-	2.9 ± 0.3	-
Ülangeen	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	2.1 ± 0.1	<1.0	1.2 ± 0.1	<1.0	0.8 ± 0.2	<1.0	<1.0	1.8 ± 0.01	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	1.7 ± 0.2	3.0 ± 0.3	<1.0	7.5 ± 0.6	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	<1.0	6.3 ± 0.7	<1.0	<1.0
Undekaan	2.3 ± 0.2	2.9 ± 0.3	1.5 ± 0.2	1.7 ± 0.01	2.0 ± 0.3	<1.0	1.6 ± 0.01	1.9 ± 0.2	3.1 ± 0.01	1.7 ± 0.7	2.1 ± 0.3	1.2 ± 0.1	2.4 ± 0.3	2.4 ± 0.1	2.9 ± 0.2	1.0 ± 0.2	1.2 ± 0.1	3.5 ± 0.9	1.6 ± 0.1	3.1 ± 1.0	2.2 ± 0.2	1.7 ± 0.2	2.0 ± 0.4	2.5 ± 0.4	0.8 ± 0.2	2.1 ± 0.2	1.3 ± 0.2	<1.0	3.3 ± 1.0	2.3 ± 0.5	
Vanilliin	1.7 ± 0.1	2.7 ± 0.3	1.9 ± 0.2	3.1 ± 0.5	<1.0	1.9 ± 0.2	2.5 ± 0.3	5.9 ± 0.3	8.1 ± 1.3	2.3 ± 0.4	2.8 ± 0.5	3.8 ± 0.1	1.3 ± 0.2	<1.0	<1.0	1.2 ± 0.5	<1.0	<1.0	1.3 ± 0.01	2.7 ± 0.3	<1.0	-	3.9 ± 1.3	<1.0	<1.0	4.0 ± 0.2	4.1 ± 0.5	-	4.3 ± 0.6	2.4 ± 0.2	

5. Antibakteriaalsed omadused ja bioloogilise aktiivsuse korreleerimine taruvaigu keemilise koostisega

Kõige varasema süstemaatilise taruvaigu antibakteriaalse toime uurimise viis läbi Kivalkina 1940. aastatel. Selles uurimistöös näidati, et taruvaigul on bakteriostaatiline toime *Streptococcus aureuse*, *Salmonella typhi* (tüüfuse bakter) ja ka mõnede teiste bakterite vastu⁶¹.

Taruvaigu antibakteriaalne potentsiaal varieerub sõltuvalt erinevatest teguritest, nagu geograafiline päritolu, botaaniline allikas, mesilaste liik, valmistamisviis jne⁶². Tõepoolest, taruvaigu keemiline koostis määrab selle bakteriostaatilise ja bakteritsiidse toime. Teadlastel on õnnestunud eraldada mitu molekuli, mis võivad olla vastutavad taruvaigu antibakteriaalse toime eest^{63,64}, kuid taruvaigus on tuvastatud siiani rohkem kui 1000 ühendit, mis muudab selle toime ühele molekulile omistamise keeruliseks. Antibakteriaalset toimet seletatakse taruvaigu komponentide võimaliku sünergiaga. On tehtud kindlaks, et taruvaigu antimikroobne ja põletikuvastane toime on seotud flavonoidide, flavoonide ja fenoolhapete ning nende derivaatide ja lenduvate ühendite olemasoluga⁶⁵. Väärrib märkimist, et kaneelhape avaldab oma efektiivsust bakterirakumembraani lõhkudes, pärssides seega ATPaaside funktsiooni, bakterite binaarset lõhustumist ja biokilede moodustamise võimet⁶⁶.

Kirjanduse andmed näitavad, et taruvaik on aktiivsem gram-positiivsete kui gram-negatiivsete bakterite vastu^{67,68}. Seda seletatakse iga bakterirühma struktuurse spetsiifilisusega. Tegelikult on gram-negatiivsetel bakteritel välismembraan, mis võib takistada aktiivse molekuli sisenemist raku. Lisaks on sellel bakterirühmal võime toota hüdrolüütilisi ensüüme, mis lagundavad taruvaigu komponente⁶⁹. See kriteerium muudab gram-negatiivsed bakterid taruvaigu

⁶¹ Kivalkina, B.P., in Pchelovodstvo, vol. 10, 1948.

⁶² Koru, O.; Toksoy, F.; Acikel, C. H.; Tunca, Y. M.; Baysallar, M.; Uskudar Guclu, A.; Akca, E.; Ozkok Tuylu, A.; Sorkun, K.; Tanyuksel, M., et al. In vitro Antimicrobial Activity of Propolis Samples from Different Geographical Origins Against Certain Oral Pathogens. *Anaerobe*. 2007, 13(3–4), 140–145.

⁶³ Pepeljnjak, S.; Kosalec, I. Galangin Expresses Bactericidal Activity Against Multiple-Resistant Bacteria: MRSA, *Enterococcus* Spp. And *Pseudomonas Aeruginosa*. *FEMS Microbiol. Lett.* 2004, 240(1), 111–116. DOI: 10.1016/j.femsle.2004.09.018.

⁶⁴ Yoshimasu, Y.; Ikeda, T.; Sakai, N.; Yagi, A.; Hirayama, S.; Morinaga, Y.; Furukawa, S.; Nakao, R. Rapid Bactericidal Action of Propolis Against *Porphyromonas Gingivalis*. *J. Dent. Res.* 2018, 97(8), 928–936. DOI: 10.1177/0022034518758034.

⁶⁵ Bankova V. Recent trends and important developments in propolis research. *Evid Based Complement Alternat Med* 2005;2(1)29-32.

⁶⁶ Vasconcelos N.G., Croda J., Simionatto S. Antibacterial mechanisms of cinnamon and its constituents: A review. *Microb. Pathog.* 2018;120

⁶⁷ Seidel, V.; Peyfoon, E.; Watson, D. G.; Fearnley, J. Comparative Study of the Antibacterial Activity of Propolis from Different Geographical and Climatic Zones: ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PROPOLIS FROM DIFFERENT ZONES. *Phytother. Res.* 2008, 22(9), 1256–1263. DOI: 10.1002/ptr.2480. ⁶⁷

⁶⁸ Silici, S.; Kutluca, S. Chemical Composition and Antibacterial Activity of Propolis Collected by Three Different Races of Honeybees in the Same Region. *J. Ethnopharmacol.* 2005, 99(1), 69–73. DOI: 10.1016/j.jep.2005.01.046.

⁶⁹ Nikaido, H. Preventing Drug Access to Targets: Cell Surface Permeability Barriers and Active Efflux in Bacteria. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2001, 12(3), 215–223. DOI: 10.1006/scdb.2000.0247.

koostisosade suhtes vastupidavamaks. Teisest küljest võib taruvaik toimida kaudselt antibakteriaalse ainenä, stimuleerides organismi immuunsüsteemi⁷⁰.

Erinevate taruvaigu ekstraktide antibakteriaalse potentsiaali muutlikkus võib olla tingitud ka ekstraktsioonimeetodist, nagu seda näitasid katsed erinevate ekstraheerimismeetoditega saadud taruvaigu etanooli ekstraktidega⁷¹.

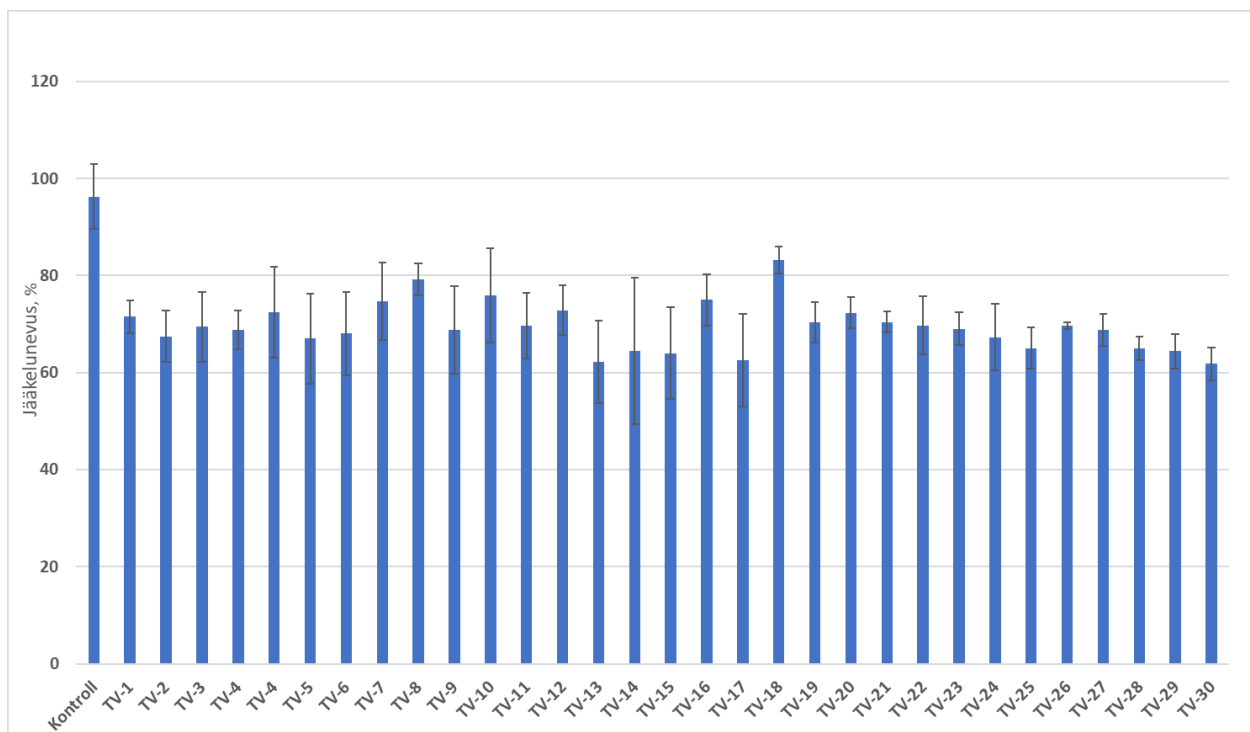
Siiani ei ole uuritud taruvaigu aktiivsust puukborrelioosi tekitava spiraalikujulise bakteri, mis on ka gram-negatiivne, *Borrelia burgdorferi sensu lato* vastu. Kirjanduses leidub andmeid ainult mesilasproduktidest mesilasmärgi mõju uurimise kohta selle bakteri vastu⁷².

Antud uuringus testiti taruvaigu 60% etanooli ekstraktide aktiivsust nii *B. burgdorferi* aktiivse vormi kui biokile (stabiine) suhtes. *B. burgdorferi* kultuuri statsionaarse faasi jääkelunevus protsentides pärast nädalast inkubeerimist taruvaigu ekstraktidega on esitatud joonisel 8. Kõik ekstraktid näitasid mõõdukat *B. burgdorferi* elunevust vähendavat toimet. Bakteri jääkelunevus varieerus vahemikus 61,8 kuni 83,2%. Ekstraktid, mis näitasid bakterite kasvu vastu tugevamat inhibeerivat toimet, olid pärit Jõgevamaalt TV-13, TV-15 ja TV-17 (jääkelunevus vastavalt 62,2%, 64,5% ja 62,6%), Valgamaalt TV-14 ja Läänemaalt TV-30 (jääkelunevus vastavalt 64,0% ja 61,8%).

⁷⁰ Orsatti, C. L.; Missima, F.; Pagliarone, A. C.; Bachiega, T. F.; Búfalo, M. C.; Araújo, J. P.; Sforcin, J. M. Propolis Immunomodulatory Action In Vivo on Toll-Like Receptors 2 and 4 Expression and on Pro-Inflammatory Cytokines Production in Mice: PROPOLIS ACTION on TOLL-LIKE RECEPTORS and CYTOKINES. *Phytother. Res.* 2010, 24(8), 1141–1146. DOI: 10.1002/ptr.3086.

⁷¹ Pobiega, K.; Kraśniewska, K.; Derewiaka, D.; Gniewosz, M. Comparison of the Antimicrobial Activity of Propolis Extracts Obtained by Means of Various Extraction Methods. *J. Food Sci. Technol.* 2019, 56(12), 5386–5395. DOI: 10.1007/s13197-019-04009-9.

⁷² Socarras K., Theophilus P., Torres J., Gupta K., Sapi E. Antimicrobial Activity of Bee Venom and Melittin against *Borrelia burgdorferi*. *Antibiotics.* 2017;6:31. doi: 10.3390/antibiotics6040031.



Joonis 8. *B. burgdorferi* statsionaarse faasi jääkelunevuse protsent pärast nädalast inkubeerimist taruvaigu ekstraktidega

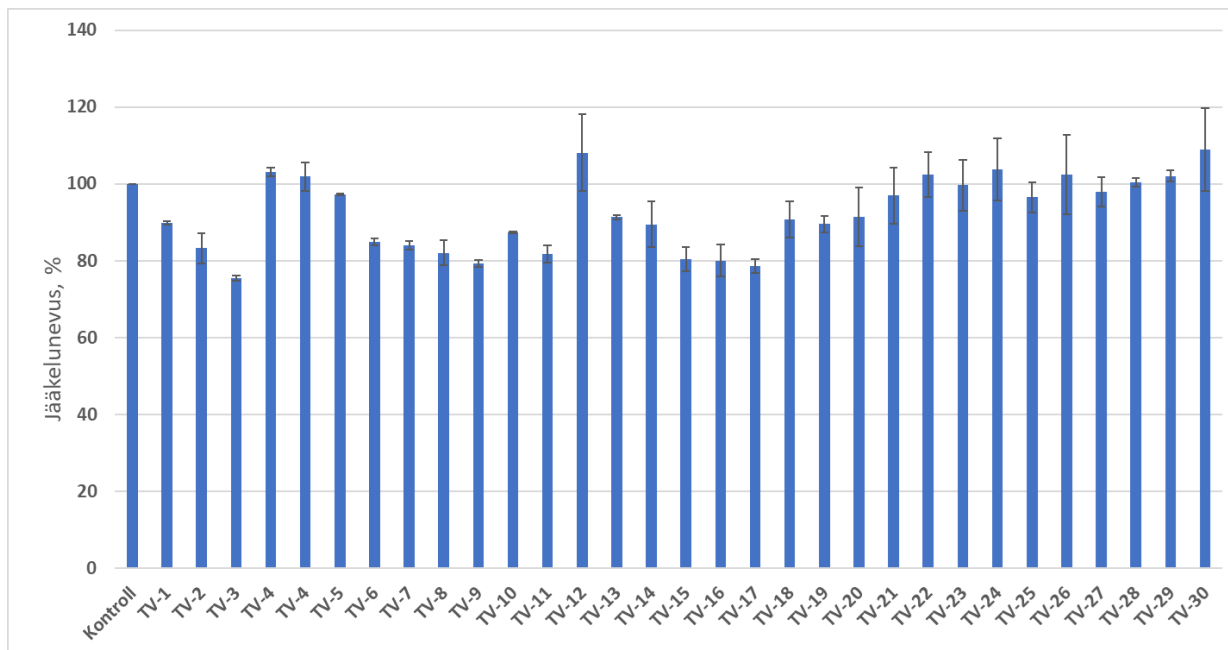
Nendest ekstraktidest päistsid silma eriti kõrge ülfenoolide sisaldusega TV-17 226,5 mg GAE/g ja TV-14 194 mg GAE/g. TV-13 puhul aga täheldati kõrget flavonoidide kontsentratsiooni 22,2 mg QE/g. Samas mõned taruvaigu ekstraktid, mis omasid üle keskmise polüfenoolide ja flavonoidide sisalduse väärtuseid, aga näitasid 10-20% madalamat aktiivsust bakteri kasvu inhibeerimisel (TV-8, TV-10, TV-16 ja TV-18).

Sellest võib järeldada, et ei ole alust väita, et üks või teine parameeter/komponent üksikuna on vastutav ekstraktide aktiivsuse eest. Ilmselt peitub taruvaigus sisalduvate erinevate individuaalsete komponentide sünergias *B. burgdorferi* kasvu pärssiv toime. Samas sõltub ka flavonoidide antibakteriaalse toime tugevus nende struktuurist. Nende amfipaatile kriteerium mängib olulist rolli antibakteriaalses toimes. On andmeid, et flavonoidide antibakteriaalne toime suureneb, kui esinevad hüdrofoobsed asendajad, nagu prenüülrühm, alküül- ja alküülaminoahelad, hapnikku ja lämmastikku sisaldavad heterotsüklilised osad⁷³.

Järgnevalt hinnati taruvaigu ekstraktide pärssivat toimet *B. burgdorferi* biokile fraktsioonile. Ekstraktide biokile-spetsiifilised antibakteriaalsed toimed on näidatud joonisel 9. Taruvaigu ekstraktid ei ole tõhusad biokile kasvu inhibiitorid. Üle poolte ekstraktidest ei avaldanud inhibeerivat efekti biokile kasvule, vaid 3 ekstrakti (TV-3, TV-9 ja TV-17) vähendasid biokile

⁷³ Farhadi, F.; Khameneh, B.; Iranshahi, M.; Iranshahi, M. Antibacterial Activity of Flavonoids and Their Structure-Activity Relationship: An Update Review: Antibacterial Activity of Flavonoids. *Phytotherapy Res.* 2019, 33(1), 13–40. DOI: 10.1002/ptr.6208.

mahtu natuke üle 20%. TV-17 oli ka tugevaim antibakteriaalne toime kogu statsionaarse faasi kultuurile.



Joonis 9. Suhteline biokile hulk *B. burgdorferi* kultuuris pärast nädalast inkubeerimist taruvaigu ekstraktidega

Fengi⁷⁴ jt poolt oli uuritud 35 eeterliku õli, millest 10 omas toimet *Borrelia* bakteri vastu. Nende hulgas oli ka kaneeliõli, milles sisalduv kaneelaldehüüd osutus väga tugevaks *B. burgdorferi* kasvu inhibiitoriks, bakteri jääkelunevus 35%. Kuna Eesti taruvaikudes leiti olevat ka kõrge kaneelaldehüüdi sisaldus, siis võib nende pärssivat toimet bakteri kasvule seostada ka selle komponendiga.

⁷⁴ Jie Feng , Wanliang Shi , Judith Miklossy , Genevieve M. Tauxe , Conor J. McMeniman and Ying Zhang. Identification of Essential Oils with Strong Activity against Stationary Phase *Borrelia burgdorferi*, *Antibiotics* 2018, 7(4), 89; <https://doi.org/10.3390/antibiotics7040089>

Kokkuvõte

- Välja arendatud sobivad ekstraktsiooniprotseduurid võimaldasid määrata taruvaigu ekstraktides nii fenoolseid ühendeid kui mõõta selle inhibeerivat mõju *Borrelia burgdorferi* kasvule.
- Uuritud taruvaikude polüfenoolide kogusisaldus jäi vahemikku 135,1 -226,5 mg GAE/g kuiva taruvaigu kohta olles ligi 10 korda kõrgem, kui suurade ja 100 korda kõrgem kui mete puhul. Flavonoidide kogusisaldus oli vahemikus 4,3 – 30,7 mg QE/g kuiva taruvaigu kohta.
- Testitud taruvaigu ekstraktide flavonoidprofiili põhjal võib järeldada, et *P. nigra* võib olla üks taimseid allikaid, mida mesilased selle tootmiseks kasutavad. Eesti taruvaikude puhul on tegemist segatüüpi taruvaikudega.
- Taruvaigu proovides tuvastati 55 erinevat lenduvat ühendit, mille sisaldus oli vähemalt ühes proovis enam kui 1%.
- Eesti taruvaigu ekstraktid omavad mõõdukat inhibeerivat toimet puuk-borrelioosi põhjustava bakteri *Borrelia burgdorferi sensu lato* kasvule.