

Ogólnopolska Konferencja Naukowa  
**„Pierwotne i wtórne metabolity roślin i grzybów”**

**Abstrakty**



Ogólnopolska Konferencja Naukowa  
**„Pierwotne i wtórne metabolity roślin i grzybów”**

**Abstrakty**

Redakcja:  
Daria Ciszewska  
Kamil Maciąg

Kraków 2020

# Ogólnopolska Konferencja Naukowa „Pierwotne i wtórne metabolity roślin i grzybów”

Kraków, 28 lutego 2020 r.

Abstrakty

Redakcja:

Daria Ciszewska

Kamil Maciąg

Skład i łamanie:

Magdalena Śliwa

Projekt okładki:

Marcin Szklarczyk

© Copyright by Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ISBN 978-83-66261-46-4

Wydawca:

Fundacja na rzecz promocji nauki i rozwoju TYGIEL

ul. Głowackiego 35/348

20-060 Lublin

[www.fundacja-tygiel.pl](http://www.fundacja-tygiel.pl)

### **Komitet Naukowy:**

dr hab. Agnieszka Łoboda, prof. UJ

prof. dr hab. Bożena Muszyńska

prof. dr hab. Maciej Stobiecki

dr n. farm. Anna Biernasiuk

dr Justyna Bohacz

dr n. med. Łukasz Pilarz

dr n. med. Ewa Rojczyk

### **Komitet Organizacyjny:**

Ewelina Chodźko

Daria Ciszewska

Alicja Danielewska

Joanna Jędrzejewska

Kamil Maciąg

Monika Maciąg

Karolina Miązek

Aleksandra Surma

Marcin Szklarczyk

Magdalena Śliwa

### **Organizator**



Fundacja  
**TYGIEL**

**Patroni Honorowi:**



Wydawnictwo  
**TYGIEL**



Nowoczesne  
**Zarządzanie  
Biznesem**



**Patroni Medialni:**



**med**inwestycje.pl



## Spis treści:

### Wystąpienia Gości Honorowych

Znaczenie metabolitów grzybów jadalnych i leczniczych w życiu człowieka (The importance of edible and medicinal mushrooms metabolites in human life) ..... 13

Zastosowanie technik spektrometrii mas do charakterystyki strukturalnej produktów naturalnych obecnych w złożonych próbkach otrzymanych z materiału biologicznego ..... 15

### Wystąpienia ustne

Charakterystyka wybranych oligopeptydów syntetyzowanych przez sinice (Characteristic of chosen oligopeptides synthesized by cyanobacteria)..... 19

Chromatograficzna analiza frakcji lotnych, kwasów tłuszczowych i wyższych terpenoidów wybranych kultywarów taksonu *Ilex* (Chromatographic analysis of volatile compounds, fatty acids and higher terpenoids of selected *Ilex* taxon cultivars)..... 21

Chromatograficzne otrzymywanie barwników betacyjanin z ekstraktów owoców *Basella alba* L. (Chromatographic preparation of betacyanin dyes from *Basella alba* L. fruit extracts)..... 23

Metabolizm wtórny katecholamin w szlaku kwasu szikimowego rzodkwi japońskiej narażonej na działanie mezotrionu i produktów jego degradacji (Secondary metabolism of catecholamines in the shikimic acid pathway of Japanese radish exposed to mesotrione and its degradation products)..... 25

Rola wtórnych metabolitów w tolerancji porostów na metale ciężkie (The role of secondary metabolites in lichen tolerance to heavy metals) ..... 27

Właściwości lecznicze metabolitów wtórnych dziurawca zwyczajnego w zależności od sposobu sporządzenia przetworu roślinnego (Medicinal properties of secondary metabolites of St. John's Wort depending on herbal drug preparation used) ..... 29

Współzawodnictwo szlaków metabolizmu pierwotnego i wtórnego na przykładzie biosyntezy steroli i triterpenoidów w roślinach i kulturach *in vitro* (Competition of primary and secondary metabolic pathways in the case study on biosynthesis of sterols and triterpenoids in plants and *in vitro* cultures) ..... 31

## Postery naukowe

Analiza roli glikoalkaloidów w ekspresji potencjału fitotoksycznego ziemniaka ( <i>Solanum sp.</i> ) (Evaluation of glycoalkaloids involvement in potato ( <i>Solanum sp.</i> ) phytotoxic interactions).....	35
Analiza właściwości kosmetycznie-użytecznych standaryzowanego ekstraktu z korzenia lukrecji gładkiej ( <i>Glycyrrhiza glabra L.</i> ) oraz wpływ jednorazowej aplikacji na wybrane cechy skóry (Analysis of cosmetic properties of a standardized licorice ( <i>Glycyrrhiza glabra L.</i> ) root extract and the impact of one-time application on selected skin characteristics)...	37
Analiza zawartości wybranych biopierwiastków w <i>Curcuma longa</i> (Analysis of the content of selected bioelements in <i>Curcuma longa</i> ).....	39
Biodegradacja ksenobiotyków – stymulująca aktywność wtórnych metabolitów roślinnych (WMR)(Biodegradation of xenobiotics – stimulating activity of plant secondary metabolites (PSMs)) .....	41
Dobór warunków hodowli grzyba <i>Isaria fumosorosea</i> pod kątem produkcji metabolitów drugorzędowych (Selection of condition for cultivation of <i>Isaria fumosorosea</i> in terms of production of secondary metabolites) .....	43
Hodowla grzybów z rodzaju <i>Metarhizium</i> ukierunkowana na produkcję metabolitów drugorzędowych, oraz dobór metod analitycznych pozwalających na analizę otrzymanych związków (Fungi culture of <i>Metarhizium</i> species targeted towards production of secondary metabolites, and choosing analytical methods of analysing obtained substances) .....	45
HPLC-DAD i 1H NMR w badaniu zmienności kwasu chlorogenowego i neochlorogenowego podczas wzrostu owoców <i>Aronia melanocarpa</i> (The study of variability of chlorogenic acids during growth of <i>Aronia melanocarpa</i> fruits by HPLC-DAD and 1H NMR) .....	47
Jak pokonać gryzącego wroga – roślinne glikozydy cyjanogenne jako metabolity obronne (How to fight biting enemies – plant cyanogenic glycosides as defensive metabolites) .....	49
Kultury mycelialne <i>Pleurotus citrinopileatus</i> jako cenne źródło Mg i Zn (Mycelial cultures of <i>Pleurotus citrinopileatus</i> species as a valuable source of Mg and Zn) .....	51
Lipopeptyd surfaktyna i flukonazol jako obiecująca przeciwgrzybowa kombinacja wywołująca zmiany w ścianie komórkowej <i>Candida albicans</i> (Lipopeptide surfactin and fluconazole as a promising antifungal combination causing changes in the cell wall of <i>Candida albicans</i> ) .....	53
Nadrewnne grzyby lecznicze źródłem związków o działaniu antyoksydacyjnym (Medicinal arboreal mushrooms as a source of antioxidant compounds) .....	55



Ocena wpływ kwasu liponowego na bakterie z rodzaju <i>Ureaplasma</i> (Assessment of the effect of lipoic acid on bacteria of the <i>Ureaplasma</i> genus) .....	57
Produkcja oenoteiny B w roślinach <i>Chamerion angustifolium</i> L. (Scop.) otrzymanych <i>in vitro</i> (Oenothien B production in <i>in vitro</i> regenerated <i>Chamerion angustifolium</i> (L.) Scop. plants).....	59
Rozdzielanie barwników betacyjanin z owoców <i>Hylocereus polyrhizus</i> (Weber) Britton & Rose w chromatograficznym układzie nadkrytycznym (Separation of betacyanin dyes from <i>Hylocereus polyrhizus</i> (Weber) Britton & Rose fruits in a supercritical chromatographic system) .....	61
System glukozynolany – myrozynaza: skuteczny mechanizm obronny roślin z rodziny kapustowatych (Glucosinolate – myrosinase system: efficient defense mechanism in <i>Brassicaceae</i> plants) .....	64
Techniki spektroskopowe jako uniwersalne narzędzie obrazowania metabolitów w tkankach roślinnych (Spectroscopic techniques as an universal tools for the imaging of the metabolites in the plant tissue) .....	66
Wady i zalety technik stosowanych do izolacji lotnych metabolitów na przykładzie wątrobowców (Advantages and disadvantages of techniques used to isolate volatile metabolites of liverworts).....	68
Właściwości cytotoksyczne ekstraktów otrzymanych z <i>Maianthemum</i> <i>bifolium</i> (Cytotoxic properties of <i>Maianthemum bifolium</i> extracts).....	70
Właściwości lecznicze i antywirusowe ekstraktu z <i>Sambucus nigra</i> (Antiviral and healing properties of <i>Sambucus nigra</i> 's extract) .....	72
Wpływ elicytacji konopi na zawartość kannabinoidów oraz aktywność wybranych enzymów (Effect of elicitation on cannabinoid content and activity of selected enzymes in hemp).....	74
Indeks autorów .....	76



**Wystąpienia  
Gości Honorowych**



## Znaczenie metabolitów grzybów jadalnych i leczniczych w życiu człowieka

**prof. dr hab. Bożena Muszyńska**, Katedra Botaniki Farmaceutycznej, Wydziału Farmaceutycznego Uniwersytetu Jagiellońskiego Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Grzyby jadalne zaliczane są do tzw. żywności funkcjonalnej, czyli zgodnie z Unią Europejską są produktami, wykazującymi udokumentowanymi badaniami naukowymi korzystny wpływ na zdrowie człowieka, ponad ten, który wynika z obecności w nich uznanych za niezbędne składników odżywczych. Na podstawie analizy składu chemicznego owocników grzybów jadalnych można stwierdzić, że są one pełnowartościowym produktem spożywczym, zawierającym wszystkie podstawowe składniki, które są niezbędne dla wzrostu i rozwoju organizmu człowieka oraz podtrzymywania jego procesów życiowych. Wiele badań pozwoliło udowodnić, że skład wolnych i związanych aminokwasów występujących w grzybach jest porównywalna do występujących w proteinach zwierzęcych, co jest ważne dla ludzkiej diety zwłaszcza odkąd pojawia się coraz więcej chorób, których przyczyną jest mięso ssaków. Innymi grupami szerzej zbadanych związków są również liczne związki fenolowe, terpenowe, indolowe, witaminy, biopierwiastki o działaniu antyoksydacyjnym. Biologicznie i leczniczo aktywne metabolity grzybów są używane w terapii tak poważnych schorzeń jak np. choroby krążenia, cukrzyca, miażdżyca, choroby nowotworowe, dysfunkcjach organizmu wywołanych przez wolne rodniki. Niektóre z metabolitów wykazują działanie: hipoglikemiczne, przeciwwirusowe, przeciwbakteryjne, przeciw robacze. W leczeniu onkologicznym najdłużej stosowane są polisacharydy grzybowe, stąd są najlepiej poznanymi metabolitami z szeregu innych w nich występujących związków.

## **The importance of edible and medicinal mushrooms metabolites in human life**

Edible mushrooms are classified as so-called Functional foods, i.e. according to the European Union, and are products that show documented by scientific research beneficial effects on human health, in addition to those that results from the presence of nutrients considered essential in them. Based on the analysis of the chemical composition of the fruiting bodies of edible mushrooms, it can be concluded that they are a full-valuable food product, containing all the basic ingredients that are necessary for the growth and development of the human body and to support its life processes. Many studies have proved that the composition of free and bound amino acids found in mushrooms is comparable to those found in animal proteins, which is important for the human diet, especially since more and more diseases appear, which is caused by mammalian meat. Other groups of more widely studied compounds are also numerous phenolic, terpene, indole compounds, vitamins, and bioelements with antioxidant activity. Biologically and therapeutically active mushrooms metabolites are used in the treatment of such serious diseases as e.g. cardiovascular disease, diabetes, atherosclerosis, cancer, body dysfunction caused by free radicals. Some of the metabolites have hypoglycemic, antiviral, antibacterial, and helminthic effects. In oncological treatment, mushroom polysaccharides have been used for the longest time, hence they are the best known metabolites from a number of other compounds found in their fruiting bodies.

## **Zastosowanie technik spektrometrii mas do charakterystyki strukturalnej produktów naturalnych obecnych w złożonych próbkach otrzymanych z materiału biologicznego**

*prof. dr hab. Maciej Stobiecki, Instytut Chemii Bioorganicznej PAN, Poznań*

Spektrometria mas jest jedną z najczęściej metod analitycznych stosowanych do charakteryzowania pod względem jakościowym i ilościowym mieszanin produktów naturalnych izolowanych z materiału biologicznego. Różne organizmy zawierają tysiące naturalnych produktów spełniających różną rolę w i przebiegu procesów fizjologicznych i biochemicznych.

Wtórne metabolity mają różne aktywności biologiczne w organizmie, syntetyzując je w odpowiedzi na różne bodźce środowiskowe (stresy). Związki te mogą być również czynnymi składnikami w żywności lub środkach farmaceutycznych przyjmowanych przez ludzi i zwierzęta. Pierwotne i wtórne metabolity syntetyzowane w różnych organizmach stanowią dużą grupę podmiotów liczoną w setkach tysięcy, a nawet milionach. Na przykład, w pojedynczych gatunkach roślin może występować nawet kilkanaście tysięcy związków o niskiej masie cząsteczkowej, ilości związków mogą różnić się o kilka rzędów wielkości. Ich stężenia mogą się również zmieniać w różnych warunkach środowiskowych lub na etapie ontogenezy.

Ze względu na dużą liczbę metabolitów obecnych w próbkach ekstraktów, izolacja i oczyszczanie większości związków w ilościach odpowiednich do jednoznacznej charakterystyki metodami NMR jest często niemożliwa. Spektrometria mas jest niezwykle elastyczną metodą fizykochemiczną do analizy ilościowej i jakościowej. dzięki różnym zjawiskom fizykochemicznym wykorzystywanym w konstrukcjach analizatorów MS i stosowanym do jonizacji/wzbudzania. Istotna jest również możliwość sprzęgania spektrometrów mas z wysokosprawnymi aparatami do rozdzielania skomplikowanych mieszanin (GC, HPLC, UPLC, CE). W ostatnich dwóch dekadach MS stało się metodą analityczną z wyboru w badaniach biologicznych,

biomedycznych i rolniczych, przydatną do identyfikacji i charakterystyki strukturalne różnych grup związków. Właściwe dobór metod spektrometrii masowej z użyciem ściśle kontrolowanych parametrów technicznych analizy pozwala na uzyskanie istotnych informacji strukturalnych.

Podczas wykładu przedstawione zostaną metody analizy różnie podstawionych flawonoidów (O- i C-glikozydy, rozróżnienie podstawników cukrowych, wykrywanie związków acylowanych). Widma wykonane metodami spektrometrii mas, umożliwiające identyfikację związków na podstawie zarejestrowanych dróg fragmentacji, czy też po porównaniu zarejestrowanych widm MS/MS z widmami obecnymi w istniejących bazach danych. Omówione również zostaną zagadnienia dotyczące możliwości wykorzystania technik spektrometrii mas w realizacji projektów z zakresu genomiki funkcjonalnej i biologii systemów.



# **Wystąpienia ustne**



## Charakterystyka wybranych oligopeptydów syntetyzowanych przez sinice

**Beata Bober**, [beata.bober@uj.edu.pl](mailto:beata.bober@uj.edu.pl), Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, [www.uj.edu.pl](http://www.uj.edu.pl)

**Ewelina Chrapusta-Srebrny**, [ewelina.chrapusta@uj.edu.pl](mailto:ewelina.chrapusta@uj.edu.pl), Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, [www.uj.edu.pl](http://www.uj.edu.pl)

**Jan Białczyk**, [j.bialczyk@uj.edu.pl](mailto:j.bialczyk@uj.edu.pl), Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński w Krakowie, [www.uj.edu.pl](http://www.uj.edu.pl)

Sinice są często wskazywane jako jedno z perspektywicznych źródeł pozyskiwania nowych związków ze względu na ich zdolność do syntezy i uwalniania do otoczenia wielu metabolitów wtórnych o różnorodnej budowie chemicznej i biologicznej aktywności. Wyróżnia się wśród nich przede wszystkim związki wpływające na właściwości organoleptyczne wody (np. geosmina), toksyny (np. hepatotoksyczna mikrocystyna-LR, neurotoksyczna anatoksyna-a, cytotoksyczna cylindrospermopsyna) oraz oligopeptydy o zróżnicowanym mechanizmie oddziaływania biologicznego (np. linearne aeruginozyny i mikrogininy, cykliczne anabaenopeptyny, cyjanopeptoliny i cyklamidy, multicykliczne mikrowirdiny). W oparciu o wyniki prac badawczych prowadzonych na sinicy *Woronichinia naegeliana* (Unger) Elenkin występującej w zbiornikach wody słodkiej omówiono metody identyfikacji metabolitów wtórnych zaliczanych do następujących grup oligopeptydów: mikroginin, anabaenopeptyn oraz cyjanopeptolin. Przedstawiono także zagadnienia związane z ich charakterystyką fizykochemiczną i biologiczną. Wysokie zróżnicowanie metabolitów wtórnych pochodzenia sinicowego, których synteza wymaga wysokich nakładów materiałowych i energetycznych ponoszonych przez komórki, dodatkowo wskazuje na ich ważny potencjał biologiczny.

## **Characteristic of chosen oligopeptides synthesized by cyanobacteria**

Cyanobacteria are often mentioned as one of the promising sources of new compounds mostly because of their ability to produce and release into the environment a wide range of secondary metabolites with high structural diversity and bioactivity. Amongst them are compounds affecting taste and odour of water (e.g. geosmin), toxins (e.g. hepatotoxic microcystin-LR, neurotoxic anatoxin-a, cytotoxic cylindrospermopsin) as well as oligopeptides of various bioactivity (e.g. linear aeruginosins and microginins, cyclic anabaenopeptins, cyanopeptolins and cyclamides, multicyclic microviridins). Taking into consideration the results of studies made on freshwater cyanobacteria *Woronichinia naegeliana* (Unger) Elenkin it was described the identification methods of secondary metabolites belonging to the following oligopeptides groups such as microginins, anabaenopeptins and cyanopeptolins. Additionally, issues concerning physicochemical and biological properties were provided. The high variability of cyanobacterial secondary metabolites, whose synthesis requires high material and energy cost, indicates their great biological potential.

## Chromatograficzna analiza frakcji lotnych, kwasów tłuszczowych i wyższych terpenoidów wybranych kultywarów taksonu *Ilex*

**Natalia Pachura**, natalia.pachura@upwr.edu.pl, Katedra Chemii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, [www.binoz.upwr.edu.pl/wnoznew/](http://www.binoz.upwr.edu.pl/wnoznew/)

**Robert Kupczyński**, robert.kupczynski@upwr.edu.pl, Katedra Higieny Środowiska i Dobrostanu Zwierząt, Wydział Biologii i Hodowli Zwierząt, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, [www.bihz.up.wroc.pl/strona-glowna/](http://www.bihz.up.wroc.pl/strona-glowna/)

**Antoni Szumny**, antoni.szumny@upwr.edu.pl, Katedra Chemii, Wydział Biotechnologii i Nauk o Żywności, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, [www.binoz.upwr.edu.pl/wnoznew/](http://www.binoz.upwr.edu.pl/wnoznew/)

Rosnący w obszarze Ameryki Południowej ostrokrzew parawgajski *Ilex paraguariensis*, tzw. „yerba mate” jest bardzo popularnym napojem, który ze względu na obecność kofeiny jest substytutem kawy, herbaty czy guarany. Oprócz walorów sensorycznych cechuje się też właściwościami prozdrowotnymi w tym obniżającymi poziom cholesterolu, aktywujące pracę nerek, przyspieszające metabolizm i inne. Jako surowiec zielarski jest często wykorzystywanym składnikiem suplementów diety. Jego europejskie odpowiedniki, w tym *I. aquifolium* czy *I. meserveae* nie zostały dotychczas objęte szerszymi badaniami fitochemicznymi. Przeprowadzono analizę porównawczą lokalnych i południowoamerykańskich taksonów. Metodami chromatograficznymi oraz spektroskopowymi zidentyfikowano jakościowo i ilościowo frakcje lotne, lipidowe, steroidowe, cukrowe, jak również terpenoidowe. W żadnym z przebadanych lokalnych taksonów nie stwierdzono obecności śladów alkaloidów purynowych, w tym kofeiny. Wykazano duże podobieństwo fitochemiczne dla frakcji triterpenoidowych, z dominującymi pochodnymi amyrynu i kwasu ursolowego. Związki te są szczególnie istotne dla aktywności biologicznych w kontekście regulacji masy ciała oraz prawidłowego funkcjonowania układu immunologicznego i krwionośnego. Badania sugerują, że odmiany *I. aquifolium* czy *I. meserveae* mogą być substytutem *I. paraguariensis* w kontekście ich funkcjonalnych właściwości biologicznych.

## **Chromatographic analysis of volatile compounds, fatty acids and higher terpenoids of selected *Ilex* taxon cultivars**

Growing in the area in South America Paraguayan holly *Ilex paraguariensis* named „yerba mate” is very popular beverage, which due to the presence of caffeine is substitute of coffee, tea or guarana. In addition to sensory values, it also has health-promoting properties, including cholesterol-lowering, activating kidney function, accelerating metabolism and others. As a herbal raw material, it is often used as a component of dietary supplements. Its European counterparts, including *I. aquifolium* or *I. meserveae*, have not yet been included in wider phytochemical research. A comparative analysis of local and South American taxa was performed. Volatile, lipid, steroid, sugar as well as terpenoid fractions were identified qualitatively and quantitatively by chromatographic and spectroscopic methods. No traces of purine alkaloids, including caffeine, were found in any of the local taxa tested. A large phytochemical similarity has been demonstrated for triterpenoid fractions with predominated amyryn and ursolic acid derivatives. These compounds are pointed out as particularly important for biological activities in the context of weight regulation and the proper functioning of the immune and blood systems. Studies suggest that *I. aquifolium* or *I. meserveae* may be a substitute for *I. paraguariensis* taking into consideration of their functional biological properties.

## **Chromatograficzne otrzymywanie barwników betacyjanin z ekstraktów owoców *Basella alba* L.**

**Katarzyna Sutor**, *katarzyna.sutor@doktorant.pk.edu.pl, Zakład Chemii Analitycznej, Instytut C-1, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska, ul. Warszawska 24, Kraków 31-155, Polska*

**Agnieszka Kumorkiewicz**, *Zakład Chemii Analitycznej, Instytut C-1, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska, ul. Warszawska 24, Kraków 31-155, Polska*

**Ewa Dzedzic**, *Katedra Sadownictwa i Pszczelarstwa, Wydział Biotechnologii i Ogrodnictwa, Uniwersytet Rolniczy, al. 29-Listopada 54, Kraków 31-425, Polska*

**Michał Antonik**, *Zakład Chemii Analitycznej, Instytut C-1, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska, ul. Warszawska 24, Kraków 31-155, Polska*

**Sławomir Wybraniec**, *Zakład Chemii Analitycznej, Instytut C-1, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska, ul. Warszawska 24, Kraków 31-155, Polska*

Celem badań było pozyskiwanie betacyjanin z ekstraktów owoców *Basella alba* L. Betacyjaniny są szeroką grupą bioaktywnych barwników o dużym potencjale prozdrowotnym, ale jak dotąd słabo rozpoznany zwłaszcza w przypadku ich badań w postaci wyizolowanych związków.

W oczyszczaniu wstępnym betacyjanin zastosowano chromatografię kolumnową z kationitem Lewatit (Lanxess AG), a następnie wymienniczem anionowym Sepra (Phenomenex). Ekstrakt po zaadsorbowaniu na kationicie przemywano 0,1 M HCl oraz 5% HCOOH, po czym wymywano pierwsze frakcje barwników wodą destylowaną wprost na wymiennicz anionowy. Desorbowano związki osobno z każdego złoża kolumny za pomocą eluentów: 5% HCOOH z 50% acetonu z anionitu oraz 50% acetonu z kationitu. Dalsze rozdzielanie związków prowadzono techniką preparatywnej HPLC na kolumnie Metachem C18 (Metachem) eluowanej układem 1% HCOOH/aceton. Tożsamość barwników określono techniką LC-DAD-MS jako gomfreninaa (m/z 551), diglukozylowana gomfrenina (m/z 713),

acylowane pochodne gomfreniny (m/z 713, 697 i 727) oraz ich diastereoizomery.

Otrzymane wyniki potwierdzają konieczność sekwencyjnego zastosowania wymiennicy jonowych i chromatografii HPLC w celu otrzymania odpowiednio oczyszczonych barwników do dalszych badań ich bioaktywności, czy też generowania ich pochodnych.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr UMO-2017/27/B/NZ9/02831 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

## **Chromatographic preparation of betacyanin dyes from *Basella alba* L. fruit extracts**

The aim of this research was to obtain betacyanins from *Basella alba* L. fruit extracts. Betacyanins are a broad group of bioactive dyes with health-promoting potential but not fully studied especially as isolated compounds.

For pre-purification, column chromatography with Lewatit (Lanxess AG) cation exchanger followed by Septra (*Phenomenex*) anion exchanger was used. The extract after adsorption on Lewatit column was washed with 0.1 M HCl and 5% HCOOH after which the first dye fractions were eluted with distilled water directly onto the anion exchanger. The compounds were desorbed separately from each column bed using 5% HCOOH with 50% acetone from anion exchanger and 50% acetone from cation exchanger. Further separation of the compounds was carried out by preparative HPLC on a Metachem C18 (Metachem) column eluted with 1% HCOOH/acetone solvent system. The dyes obtained were identified by LC-DAD-MS as gomphrenin (m/z 551), diglucosylated gomphrenin (m/z 713), acylated gomphrenin derivatives (m/z 713, 697, 727) as well as their diastereomers.

Obtained results confirm the necessity of sequential application of ion exchangers and HPLC chromatography for isolation of properly purified dyes for further studies of their bioactivity, or generate their derivatives.

This research was financed by Polish National Science Centre (Project No. UMO-2017/27/B/NZ9/02831).



## Metabolizm wtórny katecholamin w szlaku kwasu shikimowego rzodkwi japońskiej narażonej na działanie mezotrionu i produktów jego degradacji

**Hanna Barchańska**, [hanna.barchanska@polsl.pl](mailto:hanna.barchanska@polsl.pl), Wydział Chemiczny, Politechnika Śląska, [www.polsl.pl](http://www.polsl.pl)

**Joanna Płonka**, [joanna.plonka@polsl.pl](mailto:joanna.plonka@polsl.pl), Wydział Chemiczny, Politechnika Śląska, [www.polsl.pl](http://www.polsl.pl)

Po wprowadzeniu do środowiska, pestycydy ulegają degradacji do wielu związków o nieokreślonej bioaktywności. Wpływ pestycydów oraz ich produktów degradacji na metabolizm wtórny roślin jest obiektem ciągłych badań. W prezentowanej pracy, roślinę modelową (*Raphanus sativus* var. *longipinnatus*) narażono na stres herbicydowy poprzez oprysk herbicydem (mezotrion, 2-(4-metylosulfonylo-2-nitrobenzoilo)cykloheksan-1,3-dion, MES) lub jego metabolitami (kwas 2-amino-4-(metylosulfonylo)benzoesowy, AMBA; kwas 4-(metylosulfonylo)-2-nitrobenzoesowy MNBA; cykloheksan-1,3-dion, CHD).

Profile metaboliczne roślin wykorzystano do oceny odpowiedzi obronnej rośliny na stres herbicydowy. Jego intensywność określano mierząc zmiany stężenia chlorofilu i amin katecholowych powstających w szlaku kwasu shikimowego. Analizę niecelowaną przeprowadzono metodą LC-MS/MS, oznaczanie zawartości amin metodą LC-FL, chlorofilu metodą spektrofotometryczną.

Najwyższą fitotoksycznością charakteryzuje się MES (2000% wzrost zawartości markera stresu herbicydowego w porównaniu z próbą ślepą), a następnie CHD (500%), czemu towarzyszył 15% wzrost stężenia chlorofilu. AMBA i MNBA jako czynniki stresogenne spowodowały znaczny wzrost zawartości amin katecholowych w roślinie (86-160%). Jednocześnie zaobserwowano wzrost zawartości chlorofilu (26-50%). Takie zróżnicowanie odpowiedzi obronnej organizmu, widoczne również na profilach metabolicznych, może być związane ze strukturą chemiczną związków będących czynnikami stresogennymi.

## **Secondary metabolism of catecholamines in the shikimic acid pathway of Japanese radish exposed to mesotrione and its degradation products**

The influence of pesticides on the metabolism of plants has not been fully investigated. Moreover, once introduced into the environment, pesticides are degraded to many compounds with undefined bioactivity. In presented work, model plant (*Raphanus sativus var. longipinnatus*) was exposed to herbicide stress by application of a herbicide (mesotrione, 2-(4-methanesulfonyl-2-nitrobenzoyl) cyclohexane-1,3-dione, MES) or its metabolites (amino-4-(methylsulfonyl) benzoic acid, AMBA; 4-(methylsulfonyl)-2-nitrobenzoic acid MNBA; cyclohexane-1,3-dione, CHD).

Metabolic profiles of plants were employed to estimate plant's defence response to herbicide stress. The intensity of herbicide stress was determined by measuring changes in chlorophyll and catecholamines concentration formed in the shikimic acid pathway. Non-target analysis was conducted by LC-MS/MS, determination of catecholamines by LC-FL, chlorophyll by spectrophotometry.

The highest phytotoxicity is characterized by MES (2000% – fold increase in the content of herbicide stress marker compared to a blank), followed by CHD (500%) combined with 15% increase in chlorophyll concentration. AMBA and MNBA as stress factors caused increase in the content of catecholamines in the plant (86-160%). Simultaneously, an increase in chlorophyll content was observed (26-50%). Such diversity of the organism's defence response, also visible on metabolic profiles, can be associated with the chemical structure of compounds that are stress factors.

## **Rola wtórnych metabolitów w tolerancji porostów na metale ciężkie**

**Ewa Latkowska**, ewa.latkowska@uj.edu.pl, Zakład Fizjologii i Biologii Rozwoju Roślin, Wydział Biochemii, Biofizyki i Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński

**Kaja Rola**, kaja.skubala@uj.edu.pl, Instytut Botaniki, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński

**Piotr Osyczka**, piotr.osyczka@uj.edu.pl, Instytut Botaniki, Wydział Biologii, Uniwersytet Jagielloński

Niektóre porosty (grzyby zlichenizowane) zdolne są do zasiedlania terenów ekstremalnie zanieczyszczonych metalami ciężkimi. Jednym z mechanizmów tolerancji na metale ciężkie jest strategia unikania ich wewnątrzkomórkowej akumulacji, polegająca na obniżaniu wydajności dokomórkowego transportu toksycznych metali poprzez ich zewnątrzkomórkowe kompleksowanie. U porostów w procesie tym istotną rolę odgrywają niektóre metabolity wtórne, produkowane przez partnera grzybowego i odkładane na powierzchni jego strzępek. Liczne grupy funkcyjne, m.in. hydroksylowe, karboksylowe, czy metoksyłowe, obecne w cząsteczkach tych związków sprawiają, że mają one silną zdolność wiązania kationów metali ciężkich. Celem pracy było oznaczenie zawartości wtórnych metabolitów (metodą wysokosprawnej chromatografii ciekowej, HPLC) w próbkach *Cladonia rei* (słaby akumulator metali) i *Diploschistes muscorum* (hiperakumulator metali) zebranych z obszarów przemysłowych, w tym z hałd pohutniczych, poflotacyjnych i pokopalnianych o różnym stopniu skażenia metalami. Wstępne wyniki wykazały, że wzmożona produkcja substancji porostowych u *D. muscorum* może być adaptacyjną odpowiedzią organizmu na wysoką zawartość niektórych metali (np. ołowiu) w jego plechach (analiza pierwiastkowa z zastosowaniem absorpcyjnej spektrometrii atomowej, ASA).

Podziękowania: Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr 2016/23/B/NZ8/00759 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

## **The role of secondary metabolites in lichen tolerance to heavy metals**

There are known lichens (lichenized fungi) able to colonize habitats extremely contaminated with heavy metals. One of the mechanisms of tolerance to heavy metals is the strategy to avoid their excessive intracellular accumulation, which consists in reducing the efficiency of intracellular transport of toxic metals by their extracellular complexation. Some secondary metabolites, produced by the fungal partner and deposited on the surface of its hyphae, are suspected to play a prominent role in this process in lichens. Numerous functional groups, including hydroxyl, carboxyl or methoxy groups, present in the molecules of these compounds, cause that they have a strong ability to bind heavy metal cations. The aim of the study was to determine the content of secondary metabolites (by high-performance liquid chromatography, HPLC) in samples of *Cladonia rei* (weak metal accumulator) and *Diploschistes muscorum* (metal hyperaccumulator) collected from post-industrial areas, including post-smelting, post-flotation and post-mining dumps with various degrees of metals contamination. Preliminary results indicated that the increased production of lichen substances in *D. muscorum* may be an adaptive response of the organism to the high content of some metals (e.g. lead) in lichen thalli (analyzed by atomic absorption spectrometry, AAS).

Acknowledgements: The study was financially supported by the National Science Centre, Poland (DEC-2016/23/B/NZ8/00759).

## **Właściwości lecznicze metabolitów wtórnych dziurawca zwyczajnego w zależności od sposobu sporządzenia przetworu roślinnego**

**Natalia Dobros**, [natalia.dobros@wum.edu.pl](mailto:natalia.dobros@wum.edu.pl), Zakład Chemii Fizycznej, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny, [www.chemiafizyczna.wum.edu.pl](http://www.chemiafizyczna.wum.edu.pl)

Dziurawiec zwyczajny (*Hypericum perforatum* L.) od wieków stosuje się w leczeniu różnych dolegliwości. Za jego właściwości lecznicze odpowiedzialne są metabolity wtórne należące do różnych grup chemicznych. Są to naftodiantrony, pochodne floroglucyny, flawonoidy, kwasy fenolowe, garbniki, ksantony i składniki olejku eterycznego. Aktywność farmakologiczna dziurawca zależy od sposobu sporządzenia przetworu roślinnego oraz użytego rozpuszczalnika. Niniejsza praca zawiera przegląd badań, w których oceniane były właściwości spazmolityczne, przeciwzapalne i przeciwdepresyjne dziurawca. Wyciągi wodne (napary i odwary) stosowane są w leczeniu schorzeń układu pokarmowego, wykazując działanie spazmolityczne i żółciopędne. Wyciągi olejowe, w postaci maceratów, działają przeciwzapalnie i są wykorzystywane zewnętrznie w chorobach skóry. Natomiast wyciągi alkoholowe (nalewki) wywierają korzystny wpływ w lekkich i umiarkowanych stanach depresyjnych. Przetwory z dziurawca należy przyjmować pod kontrolą lekarza, ponieważ jego metabolity wtórne wchodzi w interakcje z wieloma lekami syntetycznymi oraz zwiększają wrażliwość skóry na promieniowanie ultrafioletowe.

## **Medicinal properties of secondary metabolites of St. John’s Wort depending on herbal drug preparation used**

St. John’s Wort (*Hypericum perforatum L.*) has been used for centuries to treat a variety of ailments. Secondary metabolites which are responsible for the therapeutic properties belong to different chemical groups. These are naphthodianthrones, phloroglucinol derivatives, flavonoids, phenolic acids, condensed tanins, xanthones, and essential oil ingredients. Pharmacological activity of St John’s Wort depends on the type of herbal drug preparation and the solvent used. In this work studies concerning spasmolytic, anti-inflammatory and antidepressant properties of St. John’s Wort are reviewed. Aqueous extracts (infusions and decoctions) are used to treat gastrointestinal diseases due to their spasmolytic and choleric effects. Oil extracts, in the form of macerates, have anti-inflammatory properties and are used externally in skin diseases, whereas alcoholic extracts (tinctures) have a beneficial effect in the treatment of mild and moderate depression. Secondary metabolites of St. John’s Wort interacts with a number of synthetic drugs and increases sensitivity the skin to ultraviolet radiation, so herbal drug preparations of St. John’s Wort should be taken under medical supervision.

## Współzawodnictwo szlaków metabolizmu pierwotnego i wtórnego na przykładzie biosyntezy steroli i triterpenoidów w roślinach i kulturach *in vitro*

**Agata Rogowska**, a.rogowska@biol.uw.edu.pl, Zakład Biochemii Roślin, Instytut Biochemii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

**Aleksandra Burdziej**, aleksandra.burdziej@biol.uw.edu.pl, Zakład Biochemii Roślin, Instytut Biochemii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski, Unité de Recherche Cénologie, Equipe Molécules d’Intérêt Biologique, Faculté de Sciences Pharmaceutiques, Université de Bordeaux, France

**Anna Szakiel**, szakal@biol.uw.edu.pl, Zakład Biochemii Roślin, Instytut Biochemii, Wydział Biologii, Uniwersytet Warszawski

Wspólnym prekursorem steroli i triterpenoidów, typowych metabolitów roślinnych należących do izoprenoidów, jest 30-węglowy liniowy węglowodór skwalen, zaś cyklizacja jego utlenionej pochodnej (2,3-oksydoskwalenu) uważana jest za jeden z charakterystycznych punktów rozwidlenia metabolizmu pierwotnego i wtórnego. W wyniku działania czynników stresowych lub elicytorów, szlaki biosyntezy steroli i triterpenoidów mogą stać się konkurencyjne, co ma istotne znaczenie w biotechnologicznych próbach stymulacji produktywności roślin lub kultur *in vitro*, a także w indukcji naturalnej odporności roślin w rolnictwie ekologicznym.

Celem pracy było zbadanie przebiegu przekierowania strumienia metabolitów ze szlaku metabolizmu pierwotnego na wtórny na przykładzie biosyntezy steroli i triterpenoidów pod wpływem elicytorów abiotycznych i biotycznych w dwóch modelach eksperymentalnych: w kulturach korzeni włośnikowatych nagietka lekarskiego *Calendula officinalis* i w roślinach winorośli *Vitis vinifera*. Identyfikację i analizę ilościową badanych związków przeprowadzono metodą GC-MS, w kulturach *in vitro* zastosowano znakowanie radioaktywnym prekursorem, kwasem [14C]-mewalonowym. Zjawisko współzawodnictwa szlaków występowało szczególnie wyraźnie w przypadku elicytorów biotycznych (np. jasmonianów),

natomiast reakcja na elicytory abiotyczne (w tym jony metali ciężkich) miała inny przebieg, często polegający na zaburzeniu metabolizmu steroli prowadzącym do dogłębnej przebudowy ich profilu ilościowego.

## **Competition of primary and secondary metabolic pathways in the case study on biosynthesis of sterols and triterpenoids in plants and *in vitro* cultures**

Squalene is a 30C linear hydrocarbon, a common precursor of typical plant metabolites belonging to isoprenoids – sterols and triterpenoids. The cyclization of its oxidized derivative (2,3-oxidosqualene) is regarded as a characteristic branch-point between primary and secondary metabolism. In the consequence of stress or elicitation, the biosynthetic pathways of sterols and triterpenoids can become competitive, that has an important meaning in biotechnological enhancement of productivity of plants and *in vitro* cultures, as well as in induction of plant natural resistance in ecological agriculture.

The redirection of the metabolite flux between primary and secondary metabolic pathways was investigated in the case study on the biosynthesis of sterols and triterpenoids triggered by abiotic and biotic elicitors in two experimental models: in marigold (*Calendula officinalis*) hairy root cultures and grapevine *Vitis vinifera* plants. Identification and quantitative determination of the compounds was made by GC-MS, *in vitro* cultures were supplied with radioactive precursor, [14C]-mevalonic acid. The competition of pathways was the most significant in response to biotic elicitors (e.g. jasmonates), whereas the response to abiotic elicitors (including heavy metals) was different, often involving alterations in sterol metabolism leading to extensive rearrangement of their quantitative profile.



# **Postery naukowe**



## **Analiza roli glikoalkaloidów w ekspresji potencjału fitotoksycznego ziemniaka (*Solanum sp.*)**

**Dorota Sołtys-Kalina**, *d.soltys@ihar.edu.pl*, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin,  
Oddział Młochów, *www.ihar.edu.pl*

**Katarzyna Szajko**, *k.szajko@ihar.edu.pl*, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji Roślin,  
Oddział Młochów

**Waldemar Marczewski**, *w.marczewski@ihar.edu.pl*, Instytut Hodowli i Aklimatyzacji  
Roślin, Oddział Młochów

**Jarosław Ciekot**, *jaroslaw.ciekot@hirszfeld.pl*, Laboratorium Chemii Biomedycznej,  
Instytut Immunologii i Terapii Doświadczalnej PAN, *www.iitd.pan.wroc.pl*

Głównymi związkami biologicznie aktywnymi ziemniaka są glikoalkaloidy (GLA). Na polu, na którym rosną ziemniaki można zaobserwować zjawisko zmęczenia gleby, które jest wynikiem gromadzenia się wtórnych metabolitów tego gatunku, głównie GLA. Ma to wpływ na wzrost i rozwój roślin następczych (allelopatia). Nasze wcześniejsze badania wskazują na istotny udział GLA w ekspresji potencjału allelopatycznego/fitotoksycznego ziemniaka (Sołtys-Kalina i inni 2019).

Celem naszych prac była weryfikacja udziału GLA w zjawisku fitotoksycznego oddziaływania ekstraktów z liści ziemniaka na wzrost rośliny testowej, gorczycy białej (*Sinapis alba L.*). Spośród pojedynków F1 populacji 15-1, powstałej ze skrzyżowania rośliny o niskiej zawartości GLA, DG 88-89 oraz S. chacoense o wysokiej zawartości GLA, wyselekcjonowano genotypy charakteryzujące się: wysoką zawartością GLA oraz (A) wysokim potencjałem fitotoksycznym, (B) niskim potencjałem fitotoksycznym, z których skonstruowano pule zbiorcze. Przy użyciu metody spektrometrii mas, przeanalizowano zarówno rodzaj jak i ilość poszczególnych GLA. Ponadto, przy użyciu metody RNA-seq, określono profil ekspresji genów różnicujących obie pule.

Pule A i B różniły się między sobą składem glikoalkaloidów, jednak nie zawartością solaniny i chaconiny która była porównywalna w obu pulach. Ponadto, analiza porównawcza ekspresji genów wskazała na istotny udział enzymu biosyntezy flawonoidów w ekspresji potencjału fitotoksycznego ziemniaka.

## **Evaluation of glycoalkaloids involvement in potato (*Solanum sp.*) phytotoxic interactions**

The main biologically active compound of *Solanum* species, including wild and cultivated potato (*Solanum tuberosum L.*) are glycoalkaloids (GLA). Allelopathic potential of the cultivated potato can be recognized as impaired growth of following plants. This phenomenon is also known as soil sickness caused by accumulation of allelopathic compounds. Our recent study suggests a significant role of glycoalkaloids in phytotoxicity against test plant – mustard (*Sinapis alba L.*), especially among wild potato species (Sołtys-Kalina et al. 2019).

The aim of our investigation was to evaluate the role of GLA in potato phytotoxicity.

We obtained GLA-segregating potato population 15-1 from a cross of low-GLA parent DG 88-89 (potato diploid hybrid) and high-GLA parent *S. chacoense*. Based on GLA leaf content and phytotoxic potential (PP) against test plant, we selected F1 individuals that were bulked into two groups: A – high GLA content, high PP; B – high GLA content, low PP. We used LC-MS technology to recognize profile and quantity of GLA in the potato leaf extracts and RNA-seq technology for selection of the genes involved in potato phytotoxicity.

Bulks A and B differ with each other in GLA profile however, quantity of  $\alpha$ -solanine and  $\alpha$ -chaconine were similar. Comparison of differential expressed genes (DEGs) also suggest the significant role of genes encoding enzymes of flavonoids biosynthesis pathway in modification of the strength of phytotoxic potential.

## **Analiza właściwości kosmetycznie-użytecznych standaryzowanego ekstraktu z korzenia lukrecji gładkiej (*Glycyrrhiza glabra L.*) oraz wpływ jednorazowej aplikacji na wybrane cechy skóry**

**Roxana Zuziak**, [roxana.zuziak@awf.krakow.pl](mailto:roxana.zuziak@awf.krakow.pl), Zakład Chemii i Biochemii,  
Wydział Rehabilitacji Ruchowej, Akademia Wychowania Fizycznego w Krakowie,  
[www.awf.krakow.pl](http://www.awf.krakow.pl)

**Anna Piotrowska**, [anna.piotrowska@awf.krakow.pl](mailto:anna.piotrowska@awf.krakow.pl), Zakład Chemii i Biochemii,  
Wydział Rehabilitacji Ruchowej, Akademia Wychowania Fizycznego w Krakowie,  
[www.awf.krakow.pl](http://www.awf.krakow.pl)

**Jakub Oliwa**, [jakub.oliwa@awf.krakow.pl](mailto:jakub.oliwa@awf.krakow.pl), Zakład Chemii i Biochemii, Wydział  
Rehabilitacji Ruchowej, Akademia Wychowania Fizycznego w Krakowie,  
[www.awf.krakow.pl](http://www.awf.krakow.pl)

Korzeń lukrecji gładkiej (*Glycyrrhiza glabra L.*) jest źródłem wielu aktywnych biologicznie związków z grupy: flawonoidów, kumaryn, polisacharydów i saponin, stanowiąc cenny surowiec roślinny w przemyśle farmaceutycznym, spożywczym oraz kosmetycznym.

Celem badań było określenie właściwości kosmetycznych standaryzowanego na zawartość kwasu glicyryzynowego ekstraktu z korzenia lukrecji gładkiej oraz wskazanie możliwości jego zastosowania w pielęgnacji skóry.

W badaniach uczestniczyło 10 zdrowych kobiet w wieku 21-23 lat, u których aplikowano na skórę przedramienia 1%, 2% i 5% wodny roztwór standaryzowanego suchego ekstraktu z korzenia lukrecji gładkiej. Przed oraz 15 i 60 min po aplikacji wykonano pomiary pH, nawilżenia skóry i przeznaskórkowej utraty wody (TEWL) oraz przeprowadzono subiektywną ocenę wybranych cech skóry. Właściwości antyoksydacyjne ekstraktów oceniono stosując metodę kolorymetryczną FRAP.

Wykazano korzystne właściwości antyoksydacyjne badanych ekstraktów. Po aplikacji preparatów nastąpiło obniżenie pH skóry oraz wzrost TEWL. Po zastosowaniu 1% roztworu nastąpił wzrost poziomu nawilżenia skóry. Dla wyższych

stężen odnotowano istotny spadek poziomu nawilżenia, a badane kobiety wskazały na zwiększone uczucie ściągnięcia skóry.

Ze względu na właściwości tonizujące, ściągające i antyoksydacyjne ekstrakt z korzenia lukrecji gładkiej jest zalecany w pielęgnacji skóry tłustej i trądzikowej, a w przypadku niższego stężenia także dla skóry suchej.

## **Analysis of cosmetic properties of a standardized licorice (*Glycyrrhiza glabra L.*) root extract and the impact of one-time application on selected skin characteristics**

Licorice root (*Glycyrrhiza glabra L.*) is a source of many biologically active compounds such as flavonoids, coumarins, polysaccharides and saponins, considered as an valuable plant raw material in the pharmaceutical, food and cosmetic industry.

The aim of the study was to determine the cosmetic properties of a licorice root extract standardized to glycyrrhizic acid content and to show the possibilities of its use in skin care.

The study was performed on 10 healthy women aged 21-23 years, in whom 1%, 2% and 5% aqueous solution of standardized dry licorice root extract was applied to forearm skin. Before, 15 and 60 min after application, the pH, skin hydration, transepidermal water loss (TEWL) were measured and a subjective assessment of selected skin properties was performed. The antioxidant properties of the extracts were evaluated by the colorimetric FRAP assay.

The results showed high antioxidant activity of tested extracts. After application of the solutions, there was a decrease in skin surface pH and an increase in TEWL. After applying a 1% solution, skin hydration was increased. At higher concentrations, a significant decrease in the level of hydration was noted, and the surveyed women experienced more intense sensation of skin tightening.

Due to its toning, astringent and antioxidant properties, the licorice root extract is recommended in oily and acne skin care, and at lower concentration also for dry skin.

## **Analiza zawartości wybranych biopierwiastków w *Curcuma longa***

**Agata Krakowska**, *agata.krakowska@uj.edu.pl*, Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

**Katarzyna Kała**, *kat3kala@gmail.com*, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

**Włodzimierz Opoka**, *wlodzimierz.opoka@uj.edu.pl*, Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

**Bożena Muszyńska**, *bozena.muszynska@uj.edu.pl*, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Kurkuma to roślina należąca do rodziny imbirowatych, uprawiana w krajach azjatyckich. Jej liczne właściwości lecznicze sprawiły, iż znalazła ona zastosowanie nie tylko jako przyprawa kuchenna, ale przede wszystkim surowiec farmaceutyczny. W przeprowadzonym eksperymencie oznaczono zawartości czterech biopierwiastków (m.in. Cu, Fe, Mg i Zn) w kurkumie występującej w formie spożywczych preparatów: sproszkowanych, w suszonych i w świeżych kłączach i plastrach. Badano przyprawę z upraw miejskich i upraw ekologicznych. Do określenia zawartości metali w badanym materiale użyto metody Atomowej Spektrometrii Absorpcyjnej (technika płomieniowa). W tym celu badane próbki zmineralizowano na mokro przy użyciu mieszaniny 65% kwasu HNO<sub>3</sub> i 30% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono, że zawartość biopierwiastków w kurkumie jest ściśle związana z postacią w jakiej występuje. Najbogatsza w metale jest kurkuma nie przetworzona występująca w postaci świeżych kłączy, a ich zawartość oznaczono na poziomie: Cu – 6,3 µg/g, Fe – 97 µg/g, Mg – 2361 µg/g i Zn – 321 µg/g.

## **Analysis of the content of selected bioelements in *Curcuma longa***

Turmeric is a plant belonging to the ginger family, grown in Asian countries. Its numerous medicinal properties meant that it was used not only as a kitchen spice. In the experiment, the contents of four bioelements (copper, iron, magnesium and zinc) in turmeric powder, root and slices were examined. Spice from urban and organic farming were tested. Atomic Absorption Spectrometry (ASA – exactly flame technique) was used to determine the metal content of the tested material. For this purpose, test samples were wet mineralized in closed system (Magnum II – ERTEC) using a mixture of 65% nitric acid (V) and 30% hydrogen peroxide. Based on the conducted research, it was found that the content of bioelements in turmeric is closely related to the form in which it occurs. The richest in metals is unprocessed turmeric found in the natural form of rhizomes. The following contents of the analyzed metals were determined: Cu – 6,3 µg/g dry weight, Fe – 97 µg/g dry weight, Mg – 2361 µg/g dry weight and Zn – 321 µg/g dry weight .



## **Biodegradacja ksenobiotyków – stymulująca aktywność wtórnych metabolitów roślinnych (WMR)**

**Elżbieta Mierzejewska**, *elzbieta.mierzejewska@unilodz.eu*, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, *www.uni.lodz.pl*

**Magdalena Urbaniak**, *magdalena.urbaniak@biol.uni.lodz.pl*, Katedra UNESCO Ekohydrologii i Ekologii Stosowanej, Wydział Biologii i Ochrony Środowiska, Uniwersytet Łódzki, *www.uni.lodz.pl*

Aktywność biodegradacyjna mikroorganizmów ryzosferycznych (zasiedlających strefę korzeniową roślin – ryzosferę), w zakresie usuwania ksenobiotyków takich jak trwałe zanieczyszczenia organiczne (TZO) oraz nowopojawiające się zanieczyszczenia (tzw. emerging pollutants), jest stymulowana przez WMR wydzielane przez rośliny do ryzosfery. Współdziałanie roślin, ich WMR (w tym szczególnie tych charakteryzujących się podobieństwem strukturalnym do ksenobiotyków) oraz mikroorganizmów ryzosferycznych jest jednym z najefektywniejszych procesów remediacyjnych. Ksenobiotyki organiczne mogą ulegać degradacji na szlaku przemian kometabolicznych stanowiąc dodatkowe źródło węgla dla mikroorganizmów, podczas gdy WMR są pierwotnym źródłem węgla. Obecność WMR może modyfikować strukturę mikrobiomu glebowego oraz ekspresję genów odpowiedzialnych za produkcję enzymów kluczowych dla metabolizmu ksenobiotyków. Dodatkowo WMR wydzielane do ryzosfery wywierają pozytywny wpływ na procesy usuwania ksenobiotyków organicznych z gleby poprzez zwiększanie ich biodostępności, a także wpływają na zwiększenie odporności roślin względem zanieczyszczeń.

## **Biodegradation of xenobiotics – stimulating activity of plant secondary metabolites (PSMs)**

The biodegradation activity of rhizospheric microorganisms (inhabiting the root zone of plants – rhizosphere), in matters of removing xenobiotics such as persistent organic pollutants (POPs) and emerging pollutants, is stimulated by PSMs, secreted by plants to the rhizosphere. The interaction of plants, their PSMs (especially those characterized by structural similarity to xenobiotics) and rhizospheric microorganisms is one of the most effective remediation processes. Organic xenobiotics can be degraded along within the cometabolic pathway, providing an additional carbon source for microorganisms, while PSMs are serving as the primary carbon source. The presence of PSMs may modify the structure of the soil microbiome and the expression of genes responsible for the production of key enzymes for the metabolism of xenobiotics. In addition, PSMs secreted to the rhizosphere have a positive effect on the processes of removing organic xenobiotics from soil by increasing their bioavailability, and also increase the resistance of plants to pollution.

## **Dobór warunków hodowli grzyba *Isaria fumosorosea* pod kątem produkcji metabolitów drugorzędowych**

**Dawid J. Kramski**, [dawid.j.kramski@gmail.com](mailto:dawid.j.kramski@gmail.com), Koło Naukowe Studentów Biotechnologii Bio-Top, [www.biotop.pwr.edu.pl](http://www.biotop.pwr.edu.pl), Katedra Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Chemiczny, [www.wch.pwr.edu.pl](http://www.wch.pwr.edu.pl), Politechnika Wrocławska

**Dominika Szczęsna**, [domaindustry@gmail.com](mailto:domaindustry@gmail.com), Koło Naukowe Studentów Biotechnologii Bio-Top, [www.biotop.pwr.edu.pl](http://www.biotop.pwr.edu.pl), Katedra Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Chemiczny, [www.wch.pwr.edu.pl](http://www.wch.pwr.edu.pl), Politechnika Wrocławska

**Piotr Młynarz**, Katedra Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Chemiczny, [www.wch.pwr.edu.pl](http://www.wch.pwr.edu.pl), Politechnika Wrocławska

**Beata Greb-Markiewicz**, [beata.greb-markiewicz@pwr.edu.pl](mailto:beata.greb-markiewicz@pwr.edu.pl), Katedra Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Chemiczny, [www.wch.pwr.edu.pl](http://www.wch.pwr.edu.pl), Politechnika Wrocławska

Grzyb *Isaria fumosorosea* jest grzybem owadobójczym (entomopatogenicznym) charakteryzującym się wysoką wirulencją w stosunku do szerokiego spektrum owadów. Mechanizm infekcji owadów przez grzyby owadobójcze do dzisiaj nie został całkowicie poznany. Wiadomo jednak, iż grzyby te produkują szereg związków pozwalających na przeniknięcie przez pancerz owada do jego wnętrza, maksymalne wykorzystanie owada jako źródła potrzebnych substancji, ostatecznie doprowadzając do jego śmierci. Wśród substancji odpowiedzialnych za proces infekcji owada znajdują się również związki zaliczane do metabolitów wtórnych. Nie wszystkie zostały dotychczas wyizolowane i scharakteryzowane. Celem niniejszej pracy jest dobór warunków hodowli grzyba *Isaria fumosorosea* pod kątem produkcji różnorodnych metabolitów drugorzędowych, oraz dobór metody pozwalającej na identyfikację otrzymanych związków.

W eksperymencie wykorzystano hodowlę płynną szczepów na pożywce PDB oraz na pożywce nieorganicznej. Następnie przeprowadzono proces ekstrakcji grzybni, a odparowany ekstrakt poddano analizie za pomocą metod <sup>1</sup>HNMR oraz

HPLC/HDMS. Dodatkowo, z wykorzystaniem metody <sup>1</sup>HNMR, UV-VIS, oraz HPLC/HDMS badaniom został poddany płyn pochodzący. Ze względu na początkowy etap projektu, zastosowane metody wymagają dalszej optymalizacji w kierunku identyfikacji jak największej liczby związków.

## **Selection of condition for cultivation of *Isaria fumosorosea* in terms of production of secondary metabolites**

The fungus known as *Isaria fumosorosea* is an entomopathogenic fungus, which presents high virulence towards wide range of insects. To date, the mechanism of fungal infection is not completely understood. It is known that fungi produce a number of compounds that allow them to penetrate insect's exoskeleton and maximal exploitation of the insects as a source of nutrients, leading to insects death. Among active substances responsible for the infection and intoxication process we can distinguish compounds classified as secondary metabolites. Some of them were not characterised up till now.

The aim of presented study was adjustment of *Isaria fumosorosea* culture condition enabling production of broad spectrum of secondary metabolites and setting methods of produced compounds analysis.

We performed liquid cultures using PDB (potato dextrose broth) and non-organic media. Next, the mycelium extract was obtained, evaporated and analysed using <sup>1</sup>HNMR and HPLC/HDMS methods. In addition, the post-culture liquid was also examined using <sup>1</sup>HNMR, UV-VIS and HPLC/HDMS techniques. Due to the preliminary stage of project, presented methods require further optimization.

## **Hodowla grzybów z rodzaju *Metarhizium* ukierunkowana na produkcję metabolitów drugorzędowych, oraz dobór metod analitycznych pozwalających na analizę otrzymanych związków**

**Dominika Szczęsna**, [domaindustry@gmail.com](mailto:domaindustry@gmail.com), Koło Naukowe Studentów Biotechnologii Bio-Top, [www.biotop.pwr.edu.pl](http://www.biotop.pwr.edu.pl), Katedra Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Chemiczny, [www.wch.pwr.edu.pl](http://www.wch.pwr.edu.pl), Politechnika Wrocławska

**Dawid J. Kramski**, [dawid.j.kramski@gmail.com](mailto:dawid.j.kramski@gmail.com), Koło Naukowe Studentów Biotechnologii Bio-Top, [www.biotop.pwr.edu.pl](http://www.biotop.pwr.edu.pl), Katedra Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Chemiczny, [www.wch.pwr.edu.pl](http://www.wch.pwr.edu.pl), Politechnika Wrocławska

**Piotr Młynarz**, Katedra Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Chemiczny, [www.wch.pwr.edu.pl](http://www.wch.pwr.edu.pl), Politechnika Wrocławska

**Beata Greb-Markiewicz**, [beata.greb-markiewicz@pwr.edu.pl](mailto:beata.greb-markiewicz@pwr.edu.pl), Katedra Biochemii, Biologii Molekularnej i Biotechnologii, Wydział Chemiczny, [www.wch.pwr.edu.pl](http://www.wch.pwr.edu.pl), Politechnika Wrocławska

Grzyby entomopatogeniczne z rodzaju *Metarhizium* wykazują wysoką skuteczność w biologicznej kontroli populacji różnych owadów. Skuteczność ta wynika prawdopodobnie z produkowania przez te grzyby wielu interesujących i biologicznie aktywnych związków, z pośród których wiele jeszcze nie zostało zidentyfikowanych i opisanych. Pośród tych, które są dobrze opisane, najczęściej uwagi naukowcy poświęcili dekstruksynom, grupie obecnie 39 cyklopeptydów. W prezentowanej pracy przeprowadzono hodowlę szczepów z rodzaju *Metarhizium* na pożywce PDB oraz na pożywce Czapek-Dox'a. Po 10 dniach hodowli przeprowadzono homogenizację a następnie ekstrakcję grzybni. Ekstrakt ten poddano analizie metodą 1H NMR. Przeprowadzono również analizę płynu pochodowlanego z wykorzystaniem techniki UV-Vis. Wykonane testy aktywności metabolitów zawartych w płynie pochodowlanym na larwy organizmu modelowego

*Galleria mellonella*, wykazały bardzo silny efekt – 100% śmiertelności larw w przeciągu do 10 min od momentu iniekcji. W dalszych etapach projektu planowane jest przeprowadzenie analizy HPLC-HDMS pod kątem identyfikacji związków obecnych zarówno w komórkach grzyba jak i wydzielanych do płynu pochowlanego.

## **Fungi culture of *Metarhizium* species targeted towards production of secondary metabolites, and choosing analytical methods of analysing obtained substances**

Entomopathogenic fungi *Metarhizium* are used as an agent of biological control of various insects populations. The high efficacy is the result of biologically active substances secretion. Many of them are still not identified nor characterised. Among the well described ones, researchers focused on destruxins, a group currently consisting of 39 cyclopeptides. In the presented study, liquid cultures of *Metarhizium* species were performed using PDB and Czapek-Dox media. Homogenization and extraction of the mycelium was performed after 10 days of fungi cultivation. Then, extract was analysed by <sup>1</sup>H NMR method, while the post-culture liquid was analysed using UV-VIS technique. Model organism *Galleria mellonella* was used in activity tests. Results show very strong effect – 100% mortality of larvae within 10 minutes after injection. In future, HPLC-HDMS analyses of the extracts from cells and from post-culture media are planned.

## **HPLC-DAD i 1H NMR w badaniu zmienności kwasu chlorogenowego i neochlorogenowego podczas wzrostu owoców *Aronia melanocarpa***

**Katarzyna Paradowska**, [katarzyna.paradowska@wum.edu.pl](mailto:katarzyna.paradowska@wum.edu.pl), Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Agnieszka Zielińska**, [agnieszka.zielinska@wum.edu.pl](mailto:agnieszka.zielinska@wum.edu.pl), Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Paweł Siudem**, [pawel.siudem@wum.edu.pl](mailto:pawel.siudem@wum.edu.pl), Zakład Chemii Fizycznej, Katedra Farmacji Fizycznej i Bioanalizy, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Violetta Kowalska**, [vkowalska@wum.edu.pl](mailto:vkowalska@wum.edu.pl), Zakład Chemii Analitycznej, Katedra Chemii Analitycznej i Biomateriałów, Wydział Farmaceutyczny, Warszawski Uniwersytet Medyczny

**Iwona Wawer**, [iwona.wawer@wum.edu.pl](mailto:iwona.wawer@wum.edu.pl), Państwowa Wyższa Szkoła Zawodowa im. St. Pigoń w Krośnie

Celem projektu była jakościowa i ilościowa analiza kwasów hydroksycynamonowych obecnych w owocach *Aronia melanocarpa*. Ich zawartość zmienia się podczas dojrzewania, zależy od czasu zbioru i regionu uprawy. Naszym celem było także określenie ich zmienności podczas dojrzewania w próbkach pobranych z różnych lokalizacji geograficznych. Owoce zawierają znaczne ilości biologicznie czynnych kwasów hydroksycynamonowych: chlorogenowego, neochlorogenowego i kryptochlorogenowego. Wykazują silne właściwości przeciwutleniające i przeciwzapalne. Kwas chlorogenowy opóźnia wchłanianie glukozy do krwi. Próbki owoców aronia pobierano od lipca do października w gospodarstwach ekologicznych w Polsce. Ekstrakty do pomiarów przygotowano z liofilizowanych jagód. Skład chemiczny ekstraktów określono metodą spektroskopii NMR. Analizę ilościową kwasów chlorogenowych przeprowadzono

z wykorzystaniem systemu HPLC-DAD. Wyniki NMR i HPLC analizowano za pomocą analizy chemometrycznej (PCA i PLS) i statystyki wielowymiarowej. Zastosowanie spektroskopii NMR w połączeniu z metodami chemometrycznymi (PCA i PLS) do określania składu ekstraktów jest nadal nowym, niestandardowym podejściem. Wynikiem naszych badań jest baza danych w postaci parametrów NMR, która pozwala na analizę profilu metabolitów. Profil kwasu chlorogenowego, jego zmienność podczas rozwoju owoców związana jest z zawartością antocyjanów, niezależnie od plantacji.

### **The study of variability of chlorogenic acids during growth of *Aronia melanocarpa* fruits by HPLC-DAD and <sup>1</sup>H NMR**

The aim of the project was qualitative and quantitative analysis of hydroxycinnamic acids from *Aronia melanocarpa* fruits. Their content changes during ripening, depends on harvesting time and the region of cultivation. Therefore, our purpose also was to determine their variability during ripening in samples collected from different geographical locations. Fruit contains significant amounts of biologically active hydroxycinnamic acids: chlorogenic, neochlorogenic and cryptochlorogenic acid. They exhibit strong antioxidant and anti-inflammatory properties. Chlorogenic acid delays the absorption of glucose into the blood. *Aronia* fruit samples were collected from July to October on organic farms in Poland. Extracts for measurements were prepared from lyophilized berries. The chemical composition of the extracts was determined by NMR spectroscopy. The quantitative analysis of chlorogenic acids was performed with the use of HPLC-DAD system. NMR and HPLC results were analyzed using the chemometric analysis (PCA and PLS) and multivariate statistics. The use of NMR spectroscopy in combination with chemometric methods (PCA and PLS) for determining the composition of extracts is still a new, non-standard approach. The result of our research is a database in the form of NMR parameters, which allows the analysis of the profile of metabolites. The chlorogenic acid profile, its variability during a fruit development is related to the content of anthocyanins, regardless of the plantation.



## Jak pokonać gryzącego wroga – roślinne glikozydy cyjanogenne jako metabolity obronne

**Olga Długosz-Grochowska**, [olga.dlugosz-grochowska@uj.edu.pl](mailto:olga.dlugosz-grochowska@uj.edu.pl), Laboratorium Biologii Molekularnej Roślin, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, [www.uj.edu.pl](http://www.uj.edu.pl)

**Natalia Stefanik**, [natalia.stefanik@doctoral.uj.edu.pl](mailto:natalia.stefanik@doctoral.uj.edu.pl), Laboratorium Biologii Molekularnej Roślin, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński, [www.uj.edu.pl](http://www.uj.edu.pl)

**Kenji Yamada**, [kenji.yamada@uj.edu.pl](mailto:kenji.yamada@uj.edu.pl), Laboratorium Biologii Molekularnej Roślin, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, [www.uj.edu.pl](http://www.uj.edu.pl)

Cyjanogenezą nazywany jest proces wytwarzania i uwalniania cyjananku wodoru (HCN) przez organizmy żywe. W wielu gatunkach roślin funkcjonuje on jako skuteczny mechanizm obronny przed roślinożercami, ze względu na wysoką toksyczność ostrą i przewlekłą wydzielanego HCN. Do uwolnienia HCN wymagana jest reakcja enzymu (cyjanogenetycznej  $\beta$ -glukozydazy) oraz substratów (glikozydów cyjanogennych), które w zdrowych tkankach są odseparowane od siebie. Na skutek uszkodzenia błon biologicznych (np. podczas żerowania organizmów roślinożernych), dochodzi do kontaktu enzymu z substratem i produkcji szkodliwego HCN.

Celem niniejszej pracy jest zebranie i uporządkowanie dotychczasowej wiedzy z zakresu szlaków biosyntezy roślinnych glikozydów cyjanogennych, mechanizmów regulacji oraz funkcji, jakie pełnią w interakcji roślina-roślinożerca. Występowanie szlaku metabolicznego związanego z glikozydami cyjanogenetycznymi zostało stwierdzone w wielu gatunkach o znaczeniu gospodarczym, np. sorgo, manioku, lnę, koniczynie białej, czy też roślinach z rodziny różowatych (*Rosaceae*) i bobowatych (*Fabaceae*). Wiedza na temat mechanizmów działania i regulacji metabolizmu glikozydów cyjanogennych może mieć znaczenie dla rozwoju zrównoważonej ochrony roślin przyczyniając się do ograniczenia negatywnego wpływu chemicznych środków ochrony roślin na środowisko.

Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki w Polsce (projekt nr UMO-2016/23/B/NA1/01847).

## **How to fight biting enemies – plant cyanogenic glycosides as defensive metabolites**

Cyanogenesis is a process of synthesis and release hydrogen cyanide (HCN) by living organisms. In many plant species, it is functioning as an effective defensive mechanism against herbivores, due to high acute and chronic toxicity of HCN. To release this compound, the reaction of the enzyme (cyanogenic  $\beta$ -glucosidase) and substrates (cyanogenic glycosides) is required, but in healthy tissues they are spatially separated. As a result of damage to biological membranes (e.g. during feeding of herbivores), the enzyme contacts the substrate and produces harmful HCN.

The purpose of this work is to collect and organize existing knowledge in the field of plant biosynthesis pathways of cyanogenic glycosides, regulation mechanisms and functions that they perform in the plant-herbivore interaction. The metabolic pathway associated with cyanogenetic glycosides has been found in many species of economic importance, e.g. sorghum, cassava, flax, white clover, and plants of the rosaceae and fabaceae families. Knowledge about the mechanisms of action and regulation of cyanogenic glycoside metabolism may be important for the development of sustainable plant protection contributing to reduction of the negative impact of chemical plant protection products on the environment.

Research was financed by National Science Centre in Poland (project no UMO-2016/23/B/NA1/01847).

## Kultury mycelialne *Pleurotus citrinopileatus* jako cenne źródło Mg i Zn

**Agata Krakowska**, *agata.krakowska@uj.edu.pl*, Katedra Chemii Nieorganicznej i Analitycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

**Agata Fijałkowska**, *a.m.fijalkowska@gmail.com*, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

**Bożena Muszyńska**, *bozena.muszynska@uj.edu.pl*, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, ul. Medyczna 9, 30-688 Kraków

Dla grzybni otrzymanej z kultur *in vitro* grzybów jadalnych w badaniach naukowych wykazano liczne właściwości prozdrowotne. Zdolność owocników grzybów oraz grzybni pozyskiwanej w warunkach *in vitro* do akumulacji biopierwiastków, powoduje, że mogą one być wzbogacane w biopierwiastki i stanowić ich źródło dla organizmu człowieka. Celem pracy było zoptymalizowanie składu płynnego podłoża według Oddoux wzbogacanego w sole nieorganiczne cynku i magnezu. Do badań wybrano gatunek *Pleurotus citrinopileatus* (bocznik cytrynowy), w którym stwierdzono znaczące ilości kwasów fenolowych oraz fenyloalaniny. Eksperymentalne kultury mycelialne były pasażowane na podłożu płynnym według Oddoux przez 21 dni, a następnie zliofilizowane i poddane mineralizacji na mokro w układzie zamkniętym. W celu oznaczenia zawartości Mg i Zn w otrzymanej grzybni z kultur *in vitro* zastosowano metodę Atomowej Spektrometrii Absorpcyjnej. Najefektywniejszy przyrost biomasy otrzymano w przypadku kultur *in vitro* wzbogaconych w sole siarczanu (VI). Udowodniono, że dodatek soli Mg i Zn nie tylko wpływa na efektywniejszy przyrost mycelium, ale także jego fortyfikację.

## **Mycelial cultures of *Pleurotus citrinopileatus* species as a valuable source of Mg and Zn**

For mycelium obtained from *in vitro* cultures of edible mushrooms, numerous health-promoting properties have been demonstrated in scientific studies. The ability of mushroom fruit bodies and mycelium obtained *in vitro* to accumulate bioelements, means that they can be enriched with bioelements and constitute their source for the human body. The aim of the work was to optimize the composition of the liquid medium according to Oddoux enriched in inorganic salts of zinc and magnesium. *Pleurotus citrinopileatus* (lemon oyster mushroom) was selected for the study, in which significant amounts of phenolic acids and phenylalanine were found. Experimental mycellial cultures were passaged on a liquid medium according to Oddoux for 21 days, and then lyophilized and wet mineralized in a closed system. In order to determine the Mg and Zn content in the obtained mycelium from *in vitro* cultures, the Atomic Absorption Spectrometry method was used. The most effective biomass increase was obtained for *in vitro* cultures enriched in sulphate (VI) salts. It has been proven that the addition of Mg and Zn salts not only affects the more effective growth of mycelium, but also its fortifications.

## **Lipopeptyd surfaktyna i flukonazol jako obiecująca przeciwgrzybowa kombinacja wywołująca zmiany w ścianie komórkowej *Candida albicans***

**Jakub Suchodolski**, jakub.suchodolski@uwr.edu.pl, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polska

**Concha Gil**, conchagil@ucm.es, Department of Microbiology II, Complutense University of Madrid, Madryt, Hiszpania

**Marcin Łukaszewicz**, marcin.lukaszewicz@uwr.edu.pl, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polska

**Anna Krasowska**, anna.krasowska@uwr.edu.pl, Wydział Biotechnologii, Uniwersytet Wrocławski, Wrocław, Polska

*Candida albicans* jest najczęstszą przyczyną zakażeń grzybiczych u ludzi, których leczenie opiera się na stosowaniu leków azolowych, najczęściej flukonazolu. Jednakże, *C. albicans* nabywa oporność wielolekową na tą grupę leków. W celu jej przewycięzania opracowywane są synergistyczne kombinacje leków azolowych z innymi związkami.

W ostatnich latach badania zmian w ścianie komórkowej oraz metabolitów wydzielanych przez *C. albicans* stały się obiecujące w opracowaniu nowych leków przeciwgrzybiczych. W niniejszej pracy wykazano, że właściwości przeciwadhezyjne surfaktyny (SU), lipopeptydu bakterii *Bacillus subtilis*, związane są z ekstrakcją białek ściany komórkowej *C. albicans*. Analiza sekretomu wskazała, że komórki *C. albicans* traktowane SU wydzielają zwiększoną ilość enzymów związanych z przebudową ściany komórkowej, tj.: mannanazę, kwaśną trehalazę, syntazę i hydrolazę  $\beta$ -glukanu. Podobny wpływ na ścianę komórkową *C. albicans* wykazała synergistyczna kombinacja SU z flukonazolem. Kombinacja związków doprowadziła do odmaskowywania chityny i  $\beta$ -glukanu w ścianie komórkowej, co z kolei zwiększyło ekspozycję *C. albicans* na układ odpornościowy.

Zarówno SU, jak i kombinacja SU-flukonazol są obiecującymi środkami przeciwgrzybiczymi. Kolejnym etapem przedstawionych badań będzie określenie wpływu kombinacji obu leków na metabolity wydzielane przez komórki *C. albicans*.

Praca została sfinansowana z grantów NCN: 2016/23/B/NZ1/01928, 2017/25/N/NZ1/00050, oraz grantu POIR: 01.02.00-00-0064/17.

## **Lipopeptide surfactin and fluconazole as a promising antifungal combination causing changes in the cell wall of *Candida albicans***

*Candida albicans* is the most common cause of fungal infections in humans, treatment of which relies on azole drugs. However, *C. albicans* acquire multidrug resistance (MDR) towards azoles. Overcoming fungal MDR include either developing new drugs or discovering synergistic combinations of azoles with other molecules.

Recently, studies on cell wall changes and metabolites secreted by *C. albicans* have become promising in the development of new antifungal strategies. Our present study demonstrated that surfactin (SU), lipopeptide produced by *Bacillus subtilis*, displayed anti-adhesive properties due to extraction of *C. albicans* cell wall proteins. Secretomic analysis of *C. albicans* under SU treatment revealed increased levels of enzymes related to cell wall remodeling: mannanase, acid trehalase,  $\beta$ -glucan synthase and hydrolase. Similarly, *C. albicans* cell wall was affected by treatment with SU in synergy with fluconazole – most common azole drug. Microscopic observations has led to conclusion that the combination has led to chitin and  $\beta$ -glucan unmasking, which in turn increased *C. albicans* immune system exposure.

SU alone or in the combination with fluconazole are promising antifungals, targeting *C. albicans* cell wall. Investigation of metabolites secreted by *C. albicans* under SU-fluconazole treatment is the next step in our studies.

This work was supported by the NCN grants: 2016/23/B/NZ1/01928, 2017/25/N/NZ1/00050, and POIR grant: 01.02.00-00-0064/17.

## Nadrewnowe grzyby lecznicze źródłem związków o działaniu antyoksydacyjnym

**Katarzyna Sułkowska-Ziaja**, [katarzyna.sulkowska-ziaja@uj.edu.pl](mailto:katarzyna.sulkowska-ziaja@uj.edu.pl), Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, [www.cm-uj.krakow.pl](http://www.cm-uj.krakow.pl)

**Monika Balik**, [monika.balik@student.uj.edu.pl](mailto:monika.balik@student.uj.edu.pl), Studenckie Koło Naukowe Biotechnologii Roślin i Grzybów Leczniczych UJ CM, Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, [www.cm-uj.krakow.pl](http://www.cm-uj.krakow.pl)

**Bożena Muszyńska**, [bozena.muszynska@uj.edu.pl](mailto:bozena.muszynska@uj.edu.pl), Katedra i Zakład Botaniki Farmaceutycznej, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Jagielloński Collegium Medicum, [www.cm-uj.krakow.pl](http://www.cm-uj.krakow.pl)

Związki o właściwościach antyoksydacyjnych występujące w owocnikach grzybów nadrewnowych reprezentowane są m.in. przez polifenole, polisacharydy, witaminy, sterole, karotenoidy, pochodne indolu, biopierwiastki.

Celem pracy było oznaczenie potencjału antyoksydacyjnego oraz analiza składu chemicznego ekstraktów z owocników wybranych gatunków grzybów nadrewnowych: *Bjerkandera adusta*, *Fomes fomentarius*, *Inonotus cuticularis*, *Meripilus giganteus*, *Polyporus varius*, zebranych ze stanu naturalnego.

Aktywność antyoksydacyjną określono metodami FRAP oraz DPPH. Całkowitą zawartość polifenoli oznaczono metodą Folina-Ciocalteu'a, natomiast analizę zawartości związków indolowych, kwasów fenolowych i steroli przeprowadzono z zastosowaniem HPLC-DAD.

Najwyższą aktywność antyoksydacyjną oraz najwyższą całkowitą zawartość polifenoli stwierdzono w ekstrakcie z *Bjerkandera adusta*. Związkami indolowymi oznaczonymi w ekstraktach badanych gatunków były: serotonina, L- tryptofan i jego pochodna 5-hydroksy-L-tryptofan; w analizowanych ekstraktach potwierdzono obecność kwasów fenolowych: galusowego, protokatechowego i syringowego oraz steroli: ergosterolu, nadtlenu ergosterolu i tokoferolu.

Owocniki badanych gatunków mogą stanowić alternatywne źródło substancji o wielokierunkowej aktywności biologicznej, w tym o właściwościach przeciwutleniających.

## **Medicinal arboreal mushrooms as a source of antioxidant compounds**

Compounds with antioxidant properties found in fruiting bodies of arboreal mushrooms are represented, among others, by polyphenols, polysaccharides, vitamins, sterols, carotenoids, indole derivatives, bioelements.

The study aimed to determine the antioxidant potential and analysis of the chemical composition of extracts from the fruiting bodies of selected species of arboreal mushrooms: *Bjerkandera adusta*, *Fomes fomentarius*, *Inonotus cuticularis*, *Meripilus giganteus*, and *Polyporus varius*, collected from the natural state.

Antioxidant activity was determined by FRAP and DPPH methods. The total content of polyphenols was determined by the Folin-Ciocalteu method, while the analysis of the content of indole compounds, phenolic acids and sterols was carried out using HPLC-DAD.

The highest antioxidant activity and the highest total polyphenol content were found in *Bjerkandera adusta* extract. The indole compounds found in the extracts of the studied species were serotonin, L-tryptophan and its derivative – 5-hydroxy-L-tryptophan; in addition, the analysis of the extracts confirmed the presence of phenolic acids: gallic, protocatechuic and syringic, and sterols: ergosterol, ergosterol peroxide and tocopherol.

Fruiting bodies of the studied species may provide an alternative source of substances with multidirectional biological activity, including antioxidant properties.



## Ocena wpływ kwasu liponowego na bakterie z rodzaju *Ureaplasma*

**Małgorzata Biernat-Sudolska**, [msudolsk@cm-uj.krakow.pl](mailto:msudolsk@cm-uj.krakow.pl), Zakład  
Wirusologii Katedra Mikrobiologii UJ CM, Czysta, 31-121 Kraków, Polska,  
<https://km.cm-uj.krakow.pl>

**Anna Bilska-Wilkosz**, [mbbilska@cyf-kr.edu](mailto:mbbilska@cyf-kr.edu), Katedra Biochemii Lekarskiej UJ CM,  
Kopernika 7, 31-034 Kraków, Polska, <https://biochemia.wl.cm.uj.edu.pl>

**Danuta Rojek-Zakrzewska**, [danuta.rojek-zakrzewska@uj.edu.pl](mailto:danuta.rojek-zakrzewska@uj.edu.pl), Zakład  
Wirusologii Katedra Mikrobiologii UJ CM, Czysta, 31-121 Kraków, Polska,  
<https://km.cm-uj.krakow.pl>

Kwas liponowy (LA) obecny m.in. w brokułach, szpinaku czy pomidorach jest związkami o szerokim, korzystnym spektrum działania na organizm człowieka (immunomodulujące i przeciwnowotworowe). Wykorzystywany jest w terapiach licznych chorób przewlekłych.

Ureaplazmy to bakterie zaliczane do fizjologicznej flory żeńskich dróg moczowo-płciowych jednak wzrost ich liczebności (> 10<sup>4</sup>) może być przyczyną komplikacji w przebiegu ciąży (przedwczesne pęknięcie błon płodowych i przedwczesny poród).

Celem naszej pracy była wstępna ocena aktywności kwasu liponowego na dwa ludzkie gatunki ureaplazm *Ureaplasma urealyticum* (Uu) i *Ureaplasma parvum* (Up).

Materiał i metody: Badanie przeprowadzono na 76 szczepach ureaplazm (55 z gatunku Up i 21 z Uu) izolowanych w Katedrze Mikrobiologii UJ CM z dróg moczowo-płciowych kobiet. Do identyfikacji gatunkowej ureaplazm wykorzystano metodę PCR. Zastosowano 3 stężenia LA: 1200, 120 i 12 µl/ml. Dla każdego szczepu określono wpływ na proliferację (redukcja miana) oraz badano bakteriobójcze działanie LA.

Wyniki: LA w stężeniu 1200 µg/ml redukowało miano 94,7% szczepów ureaplazm, przy czym silniejsze działanie obserwowano w stosunku do Up. Bakteriobójcze działanie wykazano w stosunku do 98,5% badanych szczepów ureaplazm. W przypadku 10 szczepów tj. 13% ogólnej liczby badanych, zaobserwowano stymulujące działanie niższych stężeń LA na proliferację ureaplazm.

Wnioski: LA ograniczając proliferację ureaplazm może korzystnie wpływać na fizjologiczną florę pochwy.

## **Assessment of the effect of lipoic acid on bacteria of the *Ureaplasma* genus**

Lipoic acid (LA) present e.g. in broccoli, spinach or tomatoes is a compound with beneficial effects on the human body (immunomodulatory and anti-cancer). It is used in the therapy of many chronic diseases.

Ureaplasmas are bacteria belonging to the physiological flora of the female genitourinary tract. The increase in their population  $> 10^4$  causes complications during pregnancy, such as premature rupture of membranes and premature delivery.

Our aim was to evaluate the influence of LA on *Ureaplasma urealyticum* (U.u.) and *Ureaplasma parvum* (U.p.).

**Material and methods:** The study was conducted on 76 strains of ureaplasmas (55 from the Up and 21 species from Uu) isolated in the Department of Microbiology of the Jagiellonian University Medical College from the female urogenital tract. PCR was used to identify ureaplasma species. Three LA concentrations were used: 1200, 120 and 12  $\mu\text{l/ml}$ . The effect on proliferation (titre reduction) was determined for each strain and the bactericidal effect of LA was studied.

**Results:** LA at a concentration of 1200  $\mu\text{g/ml}$  reduced the titre of 94.7% of ureaplasma strains. A stronger effect was observed compared to Up. Bactericidal activity was demonstrated for 98.5% of ureaplasmas. For 10 strains (13%) stimulatory effects of lower LA concentrations on the proliferation of ureaplasmas were observed.

**Conclusion:** LA limiting proliferation of ureaplasmas can positively influence on the physiological vaginal flora.

## **Produkcja oenoteiny B w roślinach *Chamerion angustifolium* L. (Scop.) otrzymanych *in vitro***

**Mariola Dreger**, mariola.dreger@iwnirz.pl, Zakład Biotechnologii, Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich

**Marcin Ożarowski**, marcin.ozarowski@iwnirz.pl, Zakład Biotechnologii, Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, www.iwnirz.pl

**Małgorzata Górską-Pauksztą**, malgorzata.gorska-paukszta@iwnirz.pl, Zakład Biotechnologii, Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich

**Karolina Wielgus**, karolina.wielgus@iwnirz.pl, Zakład Biotechnologii, Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich

*Chamerion angustifolium* (L.) Scop. syn. *Epilobium angustifolium* L. (Onagraceae) to roślina lecznicza, tradycyjnie stosowana w leczeniu schorzeń układu moczowopłciowego, w tym łagodnego przerostu oraz zapalenia prostaty. Ziele *Ch. angustifolium* stanowi bogate źródło polifenoli: flawonoidów, kwasów fenolowych i elagotanin. Oenoteina B uważana jest za główny związek aktywny, który odpowiada za antyandrogenny, antyproliferacyjny i cytotoksyczny oraz antyoksydacyjny i przeciwzapalny efekt działania wyciągów roślinnych. Celem pracy było otrzymanie kultur *in vitro* oraz określenie składu i zawartości związków fenolowych w zregenerowanych roślinach. Do inicjacji kultur *in vitro* użyto wierzchołków i segmentów węzłowych pędów. Pędy zregenerowano i ukorzeniano na pożywce wg Murashige i Skooga, zawierającej połowę makro- i mikro- składników ( $\frac{1}{2}$  MS) oraz kwas 3-indoliloctowy i witaminę C. Ocena składu ilościowego i jakościowego polifenoli została wykonana metodą wysokosprawnej chromatografii cieczowej HPLC-DAD-MS/MS. W badanych próbach zidentyfikowano: oenoteinę B, 3-O- i 5-O-kwas kawoilochinowy oraz pentozyd kwasu kawowego. Zawartość oenoteiny B wynosiła od 11.5 do 35.9 mg/g w s. m. Kultury *in vitro* wierzchołki koprzyca mogą być źródłem aktywnych biologicznie związków, w tym oenoteiny B.

## **Oenothlein B production in *in vitro* regenerated *Chamerion angustifolium* (L.) Scop. plants**

*Chamerion angustifolium* (L.) Scop. syn. *Epilobium angustifolium* L. (Onagranaceae family) is a medicinal plant traditionally used in the treatment of urogenital disorders, including benign *prostatic hyperplasia* (BPH) and *prostatitis*. *Ch. angustifolium* is a rich source of polyphenols: flavonoids, phenolic acids and ellagitannins. Oenothlein B has been considered as the main contributor to anti-androgenic, antiproliferative, cytotoxic, antioxidant and anti-inflammatory effects of *Epilobium sp. extracts*.

The aim of the study was to regenerate *in vitro* obtained plants and to evaluate the composition and content of polyphenols in collected herb. Plant regeneration protocol was established from shoot tips and nodal segments. Shoot regeneration and rooting was performed on half strength Murashige and Skooge medium ( $\frac{1}{2}$  MS) containing indole-3-acetic acid (IAA) and vitamin C. Qualitative and quantitative assessment of polyphenolic compounds was determined by HPLC-DAD-MS method. Oenothlein B, 3-O- and 5-O- caffeoylquinic acid isomers and caffeic acid-pentoside were identified in regenerated shoots. Content of oenotein B ranged from 11.5 to 35.9 mg/g of d.w. The obtained regenerated plants may be a source of biological active compounds, especially oenothlein B.

## **Rozdzielanie barwników betacyjanin z owoców *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose w chromatograficznym układzie nadkrytycznym**

**Katarzyna Sutor**, *katarzyna.sutor@doktorant.pk.edu.pl, Zakład Chemii Analitycznej, Instytut C-1, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska, ul. Warszawska 24, Kraków 31-155, Polska*

**Rafał Zera**, „SHIM-POL A.M. Borzymowski” E. Borzymowska-Reszka A. Reszka Spółka Jawna, ul. Kochanowskiego 49A, 01-864 Warszawa, Polska

**Maciej Sierakowski**, *Instytut Nauk Biologicznych, Uniwersytet Kardynała Stefana Wyszyńskiego w Warszawie, ul. Dewajtis 5, 01-815 Warszawa, Polska*

**Yosef Mizrahi**, *Wydział Nauk Przyrodniczych Uniwersytetu Ben-Guriona Negewu, Campus Bergman, Hashalom 1 ul. PO Box 653, Beer Sheva Izrael 8441901*

**Agnieszka Kumorkiewicz**, *Zakład Chemii Analitycznej, Instytut C-1, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska, ul. Warszawska 24, Kraków 31-155, Polska*

**Michał Antonik**, *Zakład Chemii Analitycznej, Instytut C-1, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska, ul. Warszawska 24, Kraków 31-155, Polska*

**Sławomir Wybraniec**, *Zakład Chemii Analitycznej, Instytut C-1, Wydział Inżynierii i Technologii Chemicznej, Politechnika Krakowska, ul. Warszawska 24, Kraków 31-155, Polska*

Celem badań było rozdzielanie wyizolowanych betacyjanin z owoców kaktusa rodzaju *Hylocereus polyrhizus* techniką chromatografii nadkrytycznej (SFC). Betalainy, czerwono-fioletowe betacyjaniny i żółto-pomarańczowe betaksantyny, obecne w miąższu i łupinie owoców kaktusów, charakteryzują się silnym działaniem przeciwutleniającym, chronią przed nadciśnieniem krwi, miażdżycą tętnic lub hiperlipidemią, mogą przyczyniać się do przeciwdziałania rozwojowi otyłości, a ponadto wykazują potencjał chemoprewencyjny i przeciwzapalny. Barwniki te mogą znaleźć szerokie zastosowanie w wielu działach przemysłu.

Izolowanie betacyjanin z ekstraktu miąższu owoców *H. polyrhizus* wykonano techniką chromatografii jonowymiennej i preparatywnej HPLC. Eksperymenty rozdzielania betacyjanin techniką SFC przeprowadzono w układzie elucyjnym zawierającym CO<sub>2</sub> z modyfikatorami typu metanol i woda. Analizy eluatów dokonywano techniką LC-DAD-ESI-MS/MS w jonizacji dodatniej.

W badanym materiale stwierdzono obecność betaniny/izobetaniny (m/z 551); filokatyny/izofilokaktyny (m/z 637) oraz hylocereniny/izohylocereniny (m/z 695). Wyniki badań wskazują na możliwość rozdzielania betacyjanin w przypadku użycia metanolu i wody jako modyfikatorów w zastosowanym układzie SFC.

Praca powstała w wyniku realizacji projektu badawczego o nr UMO-2017/27/B/NZ9/02831 finansowanego ze środków Narodowego Centrum Nauki.

## **Separation of betacyanin dyes from *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose fruits in a supercritical chromatographic system**

The aim of this research was to separate isolated betacyanins from cactus fruits of the genus *Hylocereus polyrhizus* by supercritical chromatography (SFC). Betalains, red-violet betacyanins and yellow-orange betaxanthins, which are present in the cactus fruit pulp and peel, are characterized by strong antioxidant activity as well as anti-inflammatory and chemopreventive potential, protection against hypertension, atherosclerosis or hyperlipidemia and can contribute to prevention of the development of obesity. These dyes can be widely used in industry.

Isolation of betacyanins from *H. polyrhizus* fruit pulp extract was performed by ion exchange and preparative HPLC. Experiments on the separation of betacyanins using the SFC technique were carried out in an elution system containing CO<sub>2</sub> with methanol and water as modifiers. The eluates were analyzed by LC-DAD-ESI-MS/MS in positive ionization.

In the tested material, the presence of betanin/isobetanin (m/z 551); phyllocatin/isophyllocactin (m/z 637) and hylocerenin/isohylocerenin (m/z 695) was confirmed. The results of the research indicate a possibility of betacyanin separation when methanol and water are used as modifiers in the SFC system.

This research was financed by Polish National Science Centre (Project No. UMO-2017/27/B/NZ9/02831).

## **System glukozynolany – myrozynaza: skuteczny mechanizm obronny roślin z rodziny kapustowatych**

**Natalia Stefanik**, [natalia.stefanik@doctoral.uj.edu.pl](mailto:natalia.stefanik@doctoral.uj.edu.pl), Laboratorium Biologii Molekularnej Roślin, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, Instytut Zoologii i Badań Biomedycznych, Uniwersytet Jagielloński, [www.uj.edu.pl](http://www.uj.edu.pl)

**Olga Długosz-Grochowska**, [olga.dlugosz-grochowska@uj.edu.pl](mailto:olga.dlugosz-grochowska@uj.edu.pl), Laboratorium Biologii Molekularnej Roślin, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, [www.uj.edu.pl](http://www.uj.edu.pl)

**Kenji Yamada**, [kenji.yamada@uj.edu.pl](mailto:kenji.yamada@uj.edu.pl), Laboratorium Biologii Molekularnej Roślin, Małopolskie Centrum Biotechnologii, Uniwersytet Jagielloński, [www.uj.edu.pl](http://www.uj.edu.pl)

Rośliny nie mogą uciec przed niebezpieczeństwami i zmieniającymi się warunkami środowiska, w którym żyją. Z tego powodu wytworzyły wiele mechanizmów ochronnych, które nie są obserwowane u zwierząt. Szczególnie ciekawy system obronny wytworzyły rośliny z rodziny kapustowatych. Jego cechą charakterystyczną jest obecność glukozynolanów jako substratu oraz myrozynazy – enzymu. Oba składniki są przestrzennie rozdzielone, co pozwala na kontrolę inicjacji reakcji. Po uszkodzeniu tkanek dochodzi do kontaktu enzymu z substratem i wytworzenia izotiocyjanianów. Powstające cząsteczki wpływają na smak roślin z rodziny kapustowatych, nadając im ostrości.

Celem prezentowanej pracy jest przegląd badań na temat mechanizmu obronnego roślin kapustowatych opartego na systemie glukozynolany – myrozynaza (tzw. bomba gorczycowa) oraz jego działania przeciw szkodnikom. Liczną grupę gatunków należących do tej rodziny botanicznej stanowią istotne gospodarczo warzywa, popularnie uprawiane i konsumowane. Poznanie mechanizmów obronnych tych roślin, jak i ich interakcji ze szkodnikami może w przyszłości posłużyć do opracowania nowych, skutecznych strategii ochrony tych gatunków w czasie uprawy.

Badania zostały sfinansowane ze środków Narodowego Centrum Nauki (UMO-2016/23/B/NA1/01847).



## **Glucosinolate – myrosinase system: efficient defense mechanism in *Brassicaceae* plants**

Plants cannot escape the dangers and changing conditions of the environment in which they live. Because of this, they have many defense mechanisms that are not observed in animals. Particularly interesting defense system has evolved in plants from the *Brassicaceae* family. A characteristic feature of their defense system is the presence of a specific set of substrate and enzyme to produce defense chemicals; they are glucosinolates and myrosinase. Both components are spatially separated, therefore it allows controlling of the initiation reaction. After tissue damage, the enzymes and substrates come in contact and produce harmful isothiocyanates. The isothiocyanates increase the pungent taste of *Brassicaceae* plants.

The aim of this work is to review research on the defense mechanism of *Brassicaceae* plants based on the glucosinolate – myrosinase system. *Brassicaceae* plants include a large group of economically important crops that are popularly grown and consumed. Understanding the defense mechanisms of *Brassicaceae* plants, as well as their interaction with pests will be useful in the future to develop new, effective strategies for protecting the crops from pests during cultivation.

Research was financed by National Science Centre in Poland (UMO-2016/23/B/NA1/01847).

## **Techniki spektroskopowe jako uniwersalne narzędzie obrazowania metabolitów w tkankach roślinnych**

**Mikołaj Krysa**, *ekarkstark@gmail.com*, Zakład Biofarmacji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie

**Katarzyna Suśniak**, *kasiasusniak@gmail.com*, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

**Anna Sroka-Barnicka**, *asrokaba@poczta.umcs.lublin.pl*, Zakład Biofarmacji, Wydział Farmaceutyczny, Uniwersytet Medyczny w Lublinie, Katedra Genetyki i Mikrobiologii, Wydział Biologii i Biotechnologii, Uniwersytet Marii Curie-Skłodowskiej

Metody spektroskopowe to zbiór technik służących do wykrywania i ilościowego oznaczania zawartości substancji chemicznych w próbkach. Techniki te mogą służyć do obrazowania dystrybucji metabolitów pierwotnych i wtórnych w bakteriach, grzybach, tkance zwierzęcej oraz roślinnej. Do technik spektroskopowych, które umożliwiają uzyskanie map chemicznych, należą między innymi: spektroskopia w podczerwieni, spektroskopia ramanowska oraz spektrometria mas (MALDI-MSI, Mass Spectrometry Imaging).

Spektroskopia w podczerwieni i spektroskopia ramanowska należą do grupy spektroskopii wibracyjnych. Techniki te umożliwiają wykrycie pasm odpowiadających wibracjom poszczególnych wiązań chemicznych. Dzięki wykorzystaniu spektroskopii wibracyjnych można zobrazować dystrybucję metabolitów pierwotnych (np. aminokwasów, tłuszczów nasyconych i nienasyconych i węglowodanów) czy metabolitów wtórnych (np. flawonoidy).

Spektrometria mas MALDI-MSI służy do wykrywania dokładnych mas substancji występujących w danym miejscu w próbce, co umożliwia identyfikację tych substancji. Za pomocą MALDI-MSI możemy wykryć metabolity pierwotne (np. lipidy i glikolipidy) i metabolity wtórne (np. flawonoidy, alkaloidy czy kwasy fenolowe).

Dzięki zastosowaniu tych trzech w/w technik można otrzymać pełny obraz zawartości metabolitów w danej tkance roślinnej.

Badania finansowane przez Narodowe Centrum Badań i Rozwoju w ramach realizacji projektu Lider (nr projektu: LIDER/11/0070/L-8/16/NCBR/2017).

## **Spectroscopic techniques as an universal tools for the imaging of the metabolites in the plant tissue**

Spectroscopic techniques are used for identification and quantitative analysis of the chemical substances in the samples. They might also be used for the analysis of the distribution of primary and secondary metabolites in the bacteria, fungi, animal and plant tissue. There are several techniques that enable to create the chemical map e.g.: infrared spectroscopy, Raman spectroscopy and mass spectrometry imaging (MALDI-MSI).

Infrared and Raman spectroscopy are a part of vibrational spectroscopy. These techniques enable to visualize the bands that are related to specific chemical bonds. Vibrational spectroscopy enables to visualize the distribution of primary metabolites (e.g. amino acids, saturated and unsaturated fats and carbohydrates) and secondary metabolites (e.g. flavonoids)

MALDI mass spectrometry imaging (MALDI-MSI) is used for the identification of specific masses of the substances that are present in the sample. That enables the identification of the substances present there. By MALDI-MSI one can analyze the distribution of primary metabolites (e.g. lipids, glycolipids) and secondary metabolites (e.g. flavonoids, alkaloids, phenolic acids).

Using these three techniques it is possible to obtain the full image of the metabolites in the specific plant tissue.

Research were funded by National Centre for Research and Development in the realization of the LIDER project (project number: LIDER/11/0070/L-8/16/NCBR/2017).

## **Wady i zalety technik stosowanych do izolacji lotnych metabolitów na przykładzie wątrobowców**

**Małgorzata Guzowska**, *gosia.guzowska@gmail.com*, Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

**Rafał Wawrzyniak**, *rafwawrz@amu.edu.pl*, Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

**Katarzyna Buczkowska-Chmielewska**, *androsac@amu.edu.pl*, Zakład Genetyki, Wydział Biologii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

**Wiesław Wasiak**, *wasiakw@amu.edu.pl*, Zakład Chemii Analitycznej, Wydział Chemii, Uniwersytet im. A. Mickiewicza w Poznaniu

Rozwój metod analitycznych przyczynił się do ponownego odkrycia właściwości prozdrowotnych olejków eterycznych. Dzięki wykorzystaniu m.in. chromatografii gazowej (Gas Chromatography – GC), chromatografii cieczowej (Liquid Chromatography – LC), wysokosprawnej chromatografii cieczowej (High Pressure Liquid Chromatography – HPLC) i spektrometrii mas (Mass Spectrometry – MS) można w sposób precyzyjny określić skład chemiczny mieszanin pochodzenia naturalnego, a zastosowanie np. preparatywnego kolektora frakcji (Preparative Fraction Collector – PFC) umożliwia izolowanie wybranych związków o wysokim stopniu czystości, przejawiających określoną aktywność.

Techniki powszechnie stosowane do izolacji olejków eterycznych obejmują ekstrakcję rozpuszczalnikiem oraz ich odmiany wspomagane mikrofalami i ultradźwiękami, destylację z parą wodną, ekstrakcję i mikroekstrakcję do fazy stacjonarnej, ekstrakcję CO<sub>2</sub> w stanie nadkrytycznym.

Kiedy rozpuszczalność określonego lotnego metabolitu w wodzie jest wysoka można zastosować kohobację dzięki której można zapobiegać utracie rozpuszczalnych w wodzie związków poprzez powrót skroplonej wody z separatora z powrotem do destylatora.

W pracy lotne metabolity izolowano z materiału roślinnego – wątrobowców. Porównano metody izolacji oparte na ekstrakcji rozpuszczalnikiem wspomaganej mikrofalami, mikroekstrakcji do fazy stacjonarnej oraz hydrodestylacji z wykorzystaniem aparatu Derynga. Omówiono wady i zalety stosowanych technik izolacji.

## **Advantages and disadvantages of techniques used to isolate volatile metabolites of liverworts**

The development of analytical methods has contributed to the rediscovery of the health-promoting properties of essential oils. Thanks to the use of, among others Gas Chromatography (GC), Liquid Chromatography (LC), High Pressure Liquid Chromatography (HPLC) and Mass Spectrometry (MS), you can precisely determine the chemical composition of mixtures of natural origin, and the use of, for example, the Preparative Fraction Collector (PFC) allows the isolation of selected compounds with a high degree of purity that exhibit specific activity.

Techniques commonly used to isolate essential oils include solvent extraction, steam distillation, stationary phase extraction and microextraction, supercritical CO<sub>2</sub> extraction and their varieties supported by microwaves and ultrasounds.

When the solubility of a particular volatile metabolite in water is high, cohobation can be used to prevent the loss of water-soluble compounds by returning the condensed water from the separator back to the distiller.

In study, volatile metabolites were isolated from plant material – liverworts. The isolation methods based on solvent extraction supported by microwave, stationary phase microextraction and hydrodistillation using the Deryng apparatus were compared. Advantages and disadvantages of isolation techniques used are discussed.

## **Właściwości cytotoksyczne ekstraktów otrzymanych z *Maianthemum bifolium***

**Anna Ziła**, [anna.ziala@umed.wroc.pl](mailto:anna.ziala@umed.wroc.pl), Katedra i Zakład Biochemii Lekarskiej,  
Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu, [www.umed.wroc.pl](http://www.umed.wroc.pl)

**Michał Gleńsk**, [michal.glensk@umed.wroc.pl](mailto:michal.glensk@umed.wroc.pl), Katedra i Zakład Farmakognozji  
i Leku Roślinnego, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,  
[www.umed.wroc.pl](http://www.umed.wroc.pl)

**Ewa Seweryn**, [ewa.seweryn@umed.wroc.pl](mailto:ewa.seweryn@umed.wroc.pl), Katedra i Zakład Biochemii  
Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,  
[www.umed.wroc.pl](http://www.umed.wroc.pl)

**Andrzej Gamian**, [andrzej.gamian@umed.wroc.pl](mailto:andrzej.gamian@umed.wroc.pl), Katedra i Zakład Biochemii  
Lekarskiej, Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich we Wrocławiu,  
[www.umed.wroc.pl](http://www.umed.wroc.pl)

*Maianthemum bifolium* (L.), konwalijka dwulistna należy do rodziny *Liliaceae*.

Owoce tej rośliny są bogate w antocyjany, cukry, sole kwasu winowego i szczawiowego. Nasiona zawierają żywice, oleiniany gliceryny i palmitynian gliceryny. W liściach stwierdzono występowanie związków flawonoidowych, fenolokwasów i substancji mineralnych. Natomiast w całej roślinie występują saponiny, które wykazują szerokie spektrum działania farmakologicznego.

Do badań użyto kłącze i ziele konwalijki. Materiał został rozdrobniony i ekstrahowany metanolem w temperaturze pokojowej. Uzyskany wyciąg zagęszczono do sucha i poddano frakcjonowaniu metodą SPE na kolumnie wypełnionej złożem RP-18. Zebrano trzy frakcje: wodną, wodno-metanolową (50% – metanol) oraz metanolową. Uzyskane frakcje po zagęszczeniu do sucha użyto w badaniach cytotoksycznych. Cytotoksyczność otrzymanych frakcji sprawdzono za pomocą testu MTT wobec nowotworowej linii komórkowej CaCo<sub>2</sub>. Uzyskane wartości IC<sub>50</sub> wskazują na wysoką aktywność frakcji metanolowej po 24 godzinach oraz na wysoką aktywność frakcji metanolowej i wodno-metanolowej po upływie 48 godzin.

## **Cytotoxic properties of *Maianthemum bifolium* extracts**

*Maianthemum bifolium* (L.), two-leaf lily of the valley belongs to the *Liliaceae* family. The fruits of this plant are rich in anthocyanins, sugars, tartaric and oxalic salts. The seeds contain resins, glycerine oleate and glycerine palmitate. Flavonoid compounds, phenolic acids and mineral substances were found in the leaves. However, saponins occur throughout the plant show a broad spectrum of pharmacological activity. Rhizome and convallium herb were used for the research. The material was chipped and extracted with methanol at room temperature. The obtained methanol extract was evaporated and fractionated by SPE (solid phase extraction) on a column filled with RP-18. Three fractions were collected: water, water-methanol (50% methanol) and methanol. The fractions after concentration to dryness were used in cytotoxic studies. The cytotoxicity of the obtained fractions was tested by the MTT method against the cancer cell line CaCo<sub>2</sub>. The IC<sub>50</sub> values indicated high activity of the methanol fraction after 24 hours and high activity of the methanol and water-methanol fractions after 48 hours.

## **Właściwości lecznicze i antywirusowe ekstraktu z *Sambucus nigra***

**Agata Maria Lange**, [agata.m.lange@gmail.co](mailto:agata.m.lange@gmail.co), Samodzielny Zakład Nanobiotechnologii i Ekologii Doświadczalnej, Instytut Biologii, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa, Polska, <https://www.sggw.pl/>

**Michalina Maria Bartak**, [michalina.bartak@gmail.com](mailto:michalina.bartak@gmail.com), Zakład Mikrobiologii, Wydział Nauk Przedklinicznych, Instytut Medycyny Weterynaryjnej, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, Warszawa, Polska, <https://www.sggw.pl/>

Obecnie jesteśmy świadkami powrotu medycyny alternatywnej, która staje się powszechnym trendem i skupia się głównie na medycynie chińskiej i ajurwedyjskiej. Niestety stosowanie lokalnych roślin leczniczych jako znanych źródeł terapeutycznych pozostaje zapomniane. W Polsce medycyna ludowa ma długą historię, dlatego niezwykle ważne jest pogłębianie wiedzy naszych przodków na temat ziół. Nie wyklucza to jednak leczenia farmakologicznego, ale może znacznie poprawić proces leczenia. W bogactwie polskich roślin można znaleźć krzew znany jako czarny bez (*Sambucus nigra*). Niniejszy przegląd zapewnia wgląd w ostatnie badania nad zdrowotnymi właściwościami rośliny *S. nigra* jako leku przeciwwirusowego, który może być pomocny w proponowaniu nowych terapii. Udokumentowano, że ekstrakty *S. nigra* są stosowane przeciwko ludzkim wirusom, takim jak wirusy grypy A i B, DENV, HIV i HSV-1. *S. nigra* zawiera składniki odpowiedzialne za działanie przeciwwirusowe – antocyjany, witaminy, cukry, flawonole, kwasy organiczne. Mechanizmy działania przeciwwirusowego wyciągu z czarnego bzu są obecnie badane. Uważa się, że składniki czarnego bzu hamują wnikanie wirusów do komórek, a tym samym ich replikację poprzez neutralizację wirusowego białka błonowego wiążącego węglowodany. Podsumowując, *S. nigra* jest doskonałym źródłem składników przeciwwirusowych ze względu na ich wysoką biokompatybilność i niskie koszty ekstrakcji w przeciwieństwie do powszechnie stosowanych leków.



## **Antiviral and healing properties of *Sambucus nigra*'s extract**

Nowadays, we witness the comeback of alternative medicine which is becoming a common trend and its mainly oriented around Chinese and Ayurveda medicine. Unfortunately, the usage of local medicinal plants as well-known source of cure is forgotten. In Poland, folk medicine has a great history, for that reason it is crucial to enhance the importance of the knowledge of our ancestors about herbology. However, it does not exclude the pharmacological treatment, but it can significantly enhance the process of healing. Throughout opulence of polish plants, it is possible to find bush known as Black Elderberry (*Sambucus nigra*). This review provides insight on recent research on the health properties of plant *S. nigra* as an antiviral medication that may be helpful in proposing new therapies. It has been documented that *S. nigra* extracts are used against human viruses, such as influenza A and B viruses, DENV, HIV and HSV-1. *S. nigra* contains constituents responsible for the antiviral effects – anthocyanins, vitamins, sugars, flavonols, organic acids. The antiviral mechanisms of the elderberry extract are currently under investigation. Elderberry ingredients are thought to inhibit the entry of viruses into cells and thus their replication through the neutralization of a viral activity carbohydrate-binding membrane protein. Summarizing, *S. nigra* is a great source of antiviral constituents due to their high biocompatibility and low extraction costs in contrast to common medicaments.

## **Wpływ elicytacji konopi na zawartość kannabinoidów oraz aktywność wybranych enzymów**

**Marcin Ożarowski**, *marcin.ozarowski@iwnirz.pl*, Zakład Biotechnologii,  
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich, *www.iwnirz.pl*

**Grażyna Mańkowska**, *grazyna.mankowska@iwnirz.pl*, Zakład Biotechnologii,  
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich

**Milena Szalata**, *milena.szalata@iwnirz.pl*, Zakład Biotechnologii, Instytut Włókien  
Naturalnych i Roślin Zielarskich

Konopie odmiany LKCSO poddano działaniu elicytorów: jasmonian metylu (1 ml/L, 2,5 ml/L, 5 ml/L), ekstrakt drożdżowy: woda (1:1), kwas salicylowy (10 mM/L, 25 mM/L, 50 mM/L) i 30% etanol. Opryski wykonano w trzech terminach: początek kwitnienia, pełnia kwitnienia, początek dojrzewania nasion. Po 5 dniach wiechy pobierano do analiz. Wykazano największą zawartość kannabidiolu (CBD) i  $\Delta$ 9-tetrahydrokannabinolu (THC) w ostatnim terminie zbioru, w materiale kontrolnym (CBD 3,145% i THC 0,039%) i poddanym działaniu wyciągu drożdżowego (CBD 3,080% i THC 0,041%). Stwierdzono zwiększenie aktywności enzymu amoniakolizazy fenyloalaniny (PAL) do wartości 60,16 U/ $\mu$ M w próbce pochodzącej z konopi poddanej działaniu 2,5 ml/L jasmonianu metylu (JM) w odniesieniu do kontroli (56,10 U/ $\mu$ M). W pozostałych roślinach zanotowano obniżenie aktywności PAL. Wzrost aktywności katalazy wykazano w roślinach poddanych elicytacji 2,5 i 5 ml/L JM. Aktywność peroksydazy gwajakolowej zwiększała się wraz ze wzrostem stężenia zastosowanego elicytora, największą aktywność wykazano przy zastosowaniu 2,5 ml/L JM. Kolejnym etapem będzie dostosowanie metodyk oznaczania enzymów do materiału pochodzącego z innych gatunków roślin.

## **Effect of elicitation on cannabinoid content and activity of selected enzymes in hemp**

Hemp variety LKCSD was treated with the following elicitors: methyl jasmonate (1 ml/L, 2.5 ml/L, 5 ml/L), yeast extract: water (1:1), salicylic acid (10 mM/L, 25 mM/L, 50 mM/L) and 30% ethanol. Hemp were misted three times: beginning of flowering, full flowering, beginning of seed ripening. After 5 days, panicles were taken for analysis. The highest content of cannabidiol (CBD) and  $\Delta^9$ -tetrahydrocannabinol (THC) was found at the last harvest date in control material (CBD 3.145% and THC 0.039%) and material treated with yeast extract (CBD 3.080% and THC 0.041%). An increase in the activity of the phenylalanine ammonia lyase (PAL) to 60.16 U/ $\mu$ M was found in a hemp sample treated with 2.5 ml/L methyl jasmonate (JM) in comparison with the control (56.10 U/ $\mu$ M). In the remaining plants a decrease in PAL activity was noted. An increase in catalase activity was demonstrated in plants elicited with 2.5 and 5 ml/L JM. Guaiacol peroxidase activity increased with concentration of the used elicitor, the highest activity was demonstrated using 2.5 ml/L JM. The next step will be to adapt the methodology for determining enzymes to material from other plant species.

## Indeks autorów:

Antonik M.....	23, 61	Muszyńska B.....	13, 39, 51, 55
Balik M.....	55	Oliwa J. ....	37
Barchańska H.....	25	Opoka W. ....	39
Bartak M.M. ....	72	Osyczka P. ....	27
Białczyk J. ....	19	Ożarowski M. ....	59, 74
Biernat-Sudolska M. ....	57	Pachura N. ....	21
Bilska-Wilkosz A.....	57	Paradowska K.....	47
Bober B. ....	19	Piotrowska A.....	37
Buczowska-Chmielewska K.....	68	Płonka J.....	25
Burdziej A. ....	31	Rogowska A.....	31
Chrapusta-Srebrny E. ....	19	Rojek-Zakrzewska D.....	57
Ciekot J. ....	35	Rola K. ....	27
Długosz-Grochowska O. ....	49, 64	Seweryn E. ....	70
Dobros N.....	29	Sierakowski M.....	61
Dreger M.....	59	Siudem P. ....	47
Dziedzic E. ....	23	Sołtys-Kalina D.....	35
Fijałkowska A.....	51	Sroka-Barnicka A. ....	66
Gamian A. ....	70	Stefanik N.....	49, 64
Gil C.....	53	Stobiecki M. ....	15
Gleńsk M.....	70	Suchodolski J. ....	53
Górska-Paukzsta M.....	59	Sułkowska-Ziaja K.....	55
Greb-Markiewicz B. ....	43, 45	Suśniak K. ....	66
Guzowska M.....	68	Sutor K.....	23, 61
Kała K. ....	39	Szajko K. ....	35
Kowalska V.....	47	Szakiel A. ....	31
Krakowska A. ....	39, 51	Szalata M. ....	74
Kramski D.J.....	43, 45	Szczęсна D. ....	43, 45
Krasowska A.....	53	Szumny A.....	21
Krysa M.....	66	Urbaniak M. ....	41
Kumorkiewicz A.....	23, 61	Wasiak W. ....	68
Kupczyński R. ....	21	Wawer I.....	47
Lange A.M.....	72	Wawrzyniak R. ....	68
Latkowska E. ....	27	Wielgus K.....	59
Łukaszewicz M.....	53	Wybraniec S. ....	23, 61
Mańkowska G.....	74	Yamada K.....	49, 64
Marczewski W. ....	35	Zera R. ....	61
Mierzejewska E. ....	41	Ziała A. ....	70
Mizrahi Y. ....	61	Zielińska A.....	47
Młynarz P.....	43, 45	Zuziak R.....	37