

E(x)plory

BADANIE ILOŚCI BETULINY W
PNIARKU BRZozOWYM
W ZALEŻNOŚCI OD ROZWOJU OWOCNIKA
ORAZ SKAŁDU GRZYBNI



AUTOR/AUTORZY
PROJEKTU:

Maciej Uranowski

OPIEKA NAUKOWA:

Irena Sondej

SZKOŁA:

Katolickie Liceum Ogólnokształcące
w Chełmnie

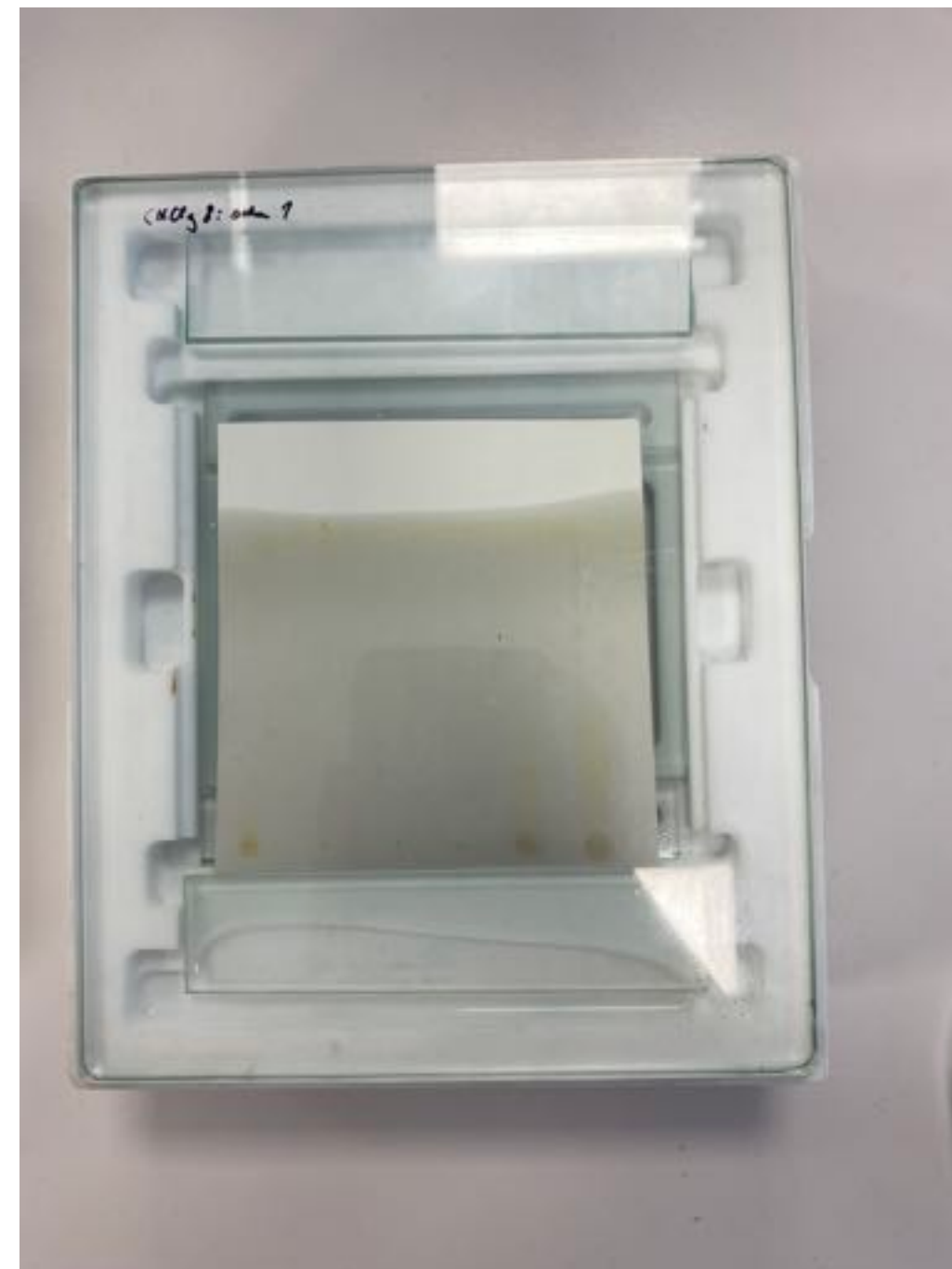


O badaniach

Moje badania wykonałem z pasji do grzybów, natury i nauki. Dotyczą one betuliny zawartej w pniarku brzozowym (*fomitopsis betulina*). Badania prototypowe wykazały, że w grzybach młodszych jest więcej szukanej substancji niż w grzybach bardziej rozwiniętych a także w grzybach dojrzałych. Dało to perspektywy na powtórzenie badań w większej skali niż próbki po cztery gramy oraz wykonanie ich w lepszy, bardziej miarodajny sposób. Podczas analizy projektu wynikło pewne pytanie, w jaki sposób grzyb pozyskuje betulinę. Postawiłem wtedy znak zapytania nad moimi badaniami i wykonałem chromatografie cienkowarstwową.

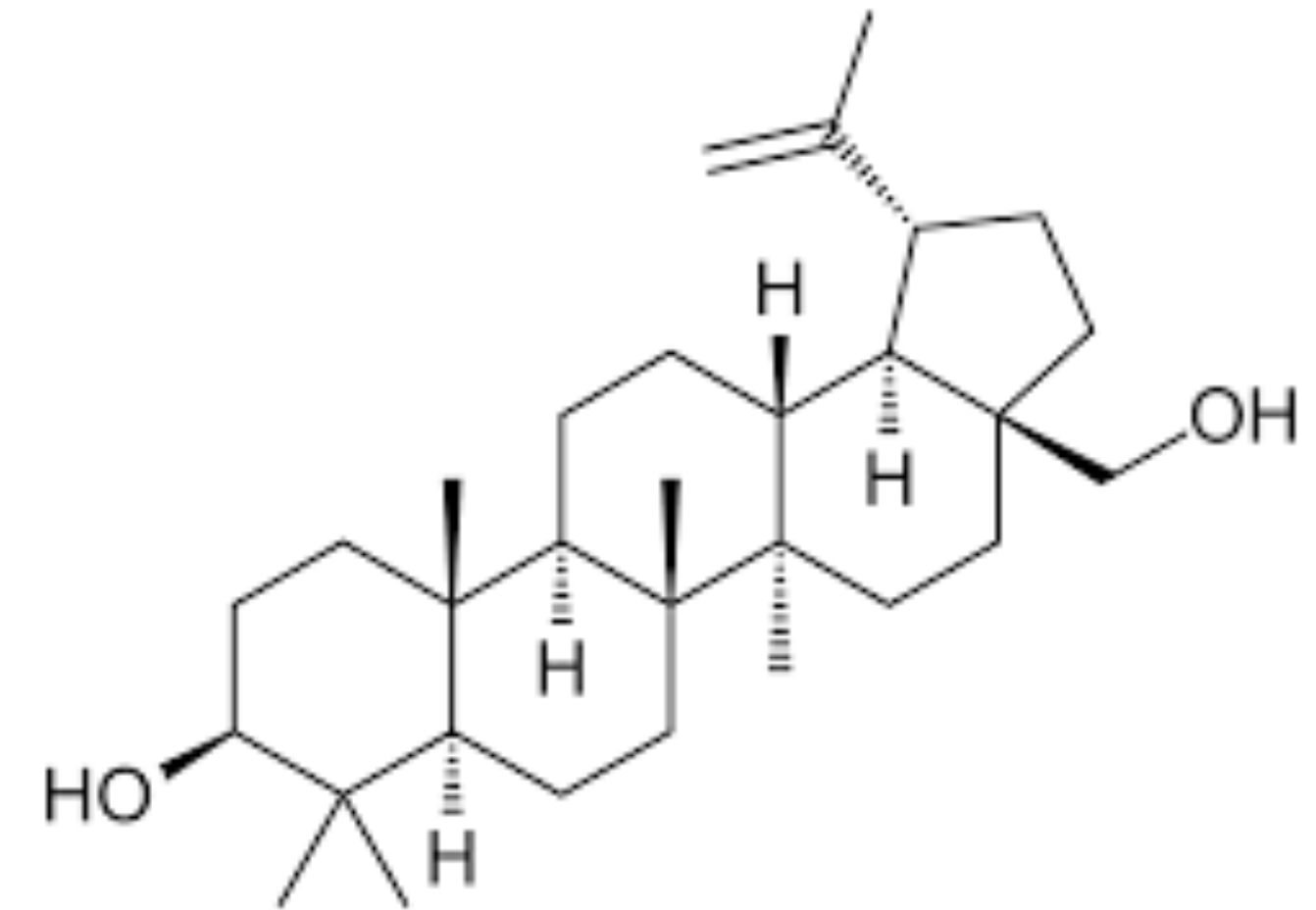


Po wykonaniu TLC okazało się, że w ekstrakcie z grzybni znajduje się betulina. Pniarek, jednak sam nie wytwarza lupeolu co nakazuje nam zastanowić się nad szlakiem metabolicznym wytwarzania betuliny w grzybie. Moje badania dają światło na to, że różni się od tego w brzozie. Można to wnioskować po tym, że grzyb nie syntezuje lupeolu, który jest kluczowy w szlaku metabolicznym brzozy. Aktualnie przygotowuję się do powtórzenia badań, aby uzyskać bardziej miarodajny rezultat. Wykorzystam inne metody i dokonam delikatnej modyfikacji w planie badań.





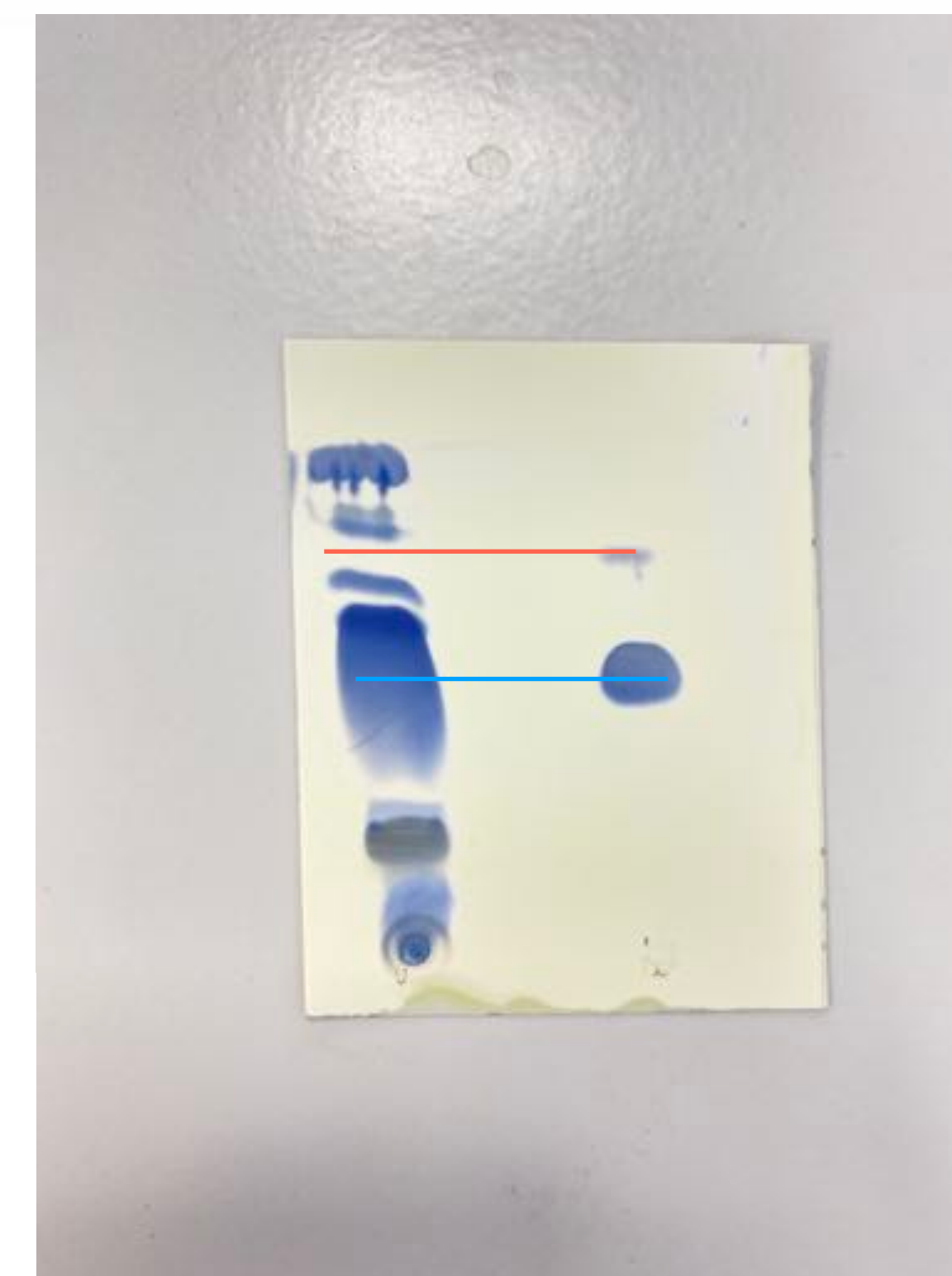
Betulina to związek chemiczny z grupy trójterpenów. To krystaliczne, białe ciało stałe. Jest wykorzystywana w kosmetologii a także medycynie. Istnieją przesłania, że ma pewne działania hamujące rozwój guzów nowotworowych. Posiada również właściwości antybiotyczne. Tradycyjnie pozyskiwana jest z kory brzozy, jednak występuje również w pasożycie brzozy, pniarku brzozowym, którego badam.



Betulina w brzozie naturalnie syntezowana jest z lupeolu. Z powodu słabej dostępności do literatury niestety nie udało mi się odnaleźć szlaku metabolicznego syntezy betuliny u pniarka brzozowego. Początkowo zakładałem, że szlak w grzybie jest identyczny do szlaku w brzozie, jednak wynik chromatografii TLC pokazał, że w grzybni, na której robiłem badania, nie występuje lupeol co oznacza, że szlak ten musi się różnić.



Szlak metaboliczny powstawania betuliny w brzozie



Chromatogram ukazujący istnienie betuliny i brak istnienia lupeolu w acetonowym ekstrakcie z grzybni. Wymiary: 7 cm\6 cm. Rozwijano w 10:1 chloroformu do acetonu. Wywoływano w odczynniku Hanessiana, suszono w 150° C. Niebieska kreska - betulina, czerwona kreska - lupeol.



Fomitopsis betulina to grzyb, pasożyt, w konsekwencji czego jest także saprotrofem. Rośnie na drzewach zarówno żywych jak i martwych. Należy aktualnie do rodziny pniarkowatych (fomitopsidaceae) dawniej do żagwiowatych (polyporaceae). Wytwarza owocnik w postaci kopytkowatego kapelusza ze szczątkowym trzonem. Owocniki zawsze zawinięte przy skraju kapelusza. Zazwyczaj o średnicy (jak podaje literatura) od 5 cm do 20 cm, jednak obserwowano także znacznie mniejsze dojrzałe owocniki o średnicy 1 cm i wysokości 1,4 cm oraz owocniki o wiele większe, około 30 cm średnicy. Wstępuje w nim betulina, piptamina, kwasy poliporenowe, tokoferole, beta glukany i wiele innych. Ekstrakty mają działanie antynowotworowe, przeciwwirusowe, wzmacniające układ odpornościowy a także mają wpływ na bakterie gram-dodatnie. Powoduje zgniliznę brunatną drzew. Proszek z rozłożonych drzew używa się do polerowania zegarków w zegarmistrzostwie. Owocniki dawniej były używane przez barberów do czyszczenia brzytw.



E(x)plory

(x)



Po prawej owocnik bardzo młody, po środku w pośrednim stadium, po lewej grzyb dojrzały

(x)



Do chromatografii zostało użytych 5 ekstraktów. Ekstrakt z mąki ze zboża zaszczonego grzybnią pniarka na acetonie, ekstrakt z grzybni i podłoży agarowych na chloroformie oraz ekstrakty z kory brzozy na eterze naftowym, acetonie, alkoholu etylowym. Jako próbę kontrolną wykorzystano próbkę oczyszczonej betuliny



Od lewej: ekstrakt z grzybni i podłoży agarowych na chloroformie, ekstrakt z kory brzożowej eter naftowy, ekstrakt z kory brzozy alkohol etylowy, ekstrakt z mączki aceton, ekstrakt z kory brzozy na acetonie.



ANALIZA CHROMATOGRAMU

Od lewej: ekstrakt z mąki ze zaszczerpionego zboża (aceton),
próbka oczyszczanej betuliny zanieczyszczona lupeolem,
co w konsekwencji okazało się pomocne,
ekstrakt z grzybni pniarka i podłoży agarowych, ekstrakt z kory brzozy (aceton).
Użyty eluent: chloroform z octanem etylu 8:1,
mieszanina wywołująca 20% H₂SO₄ w MeOH, suszono w temperaturze 150° C.

Na chromatogramie widać również wiele innych niezidentyfikowanych substancji.
Część z nich jest nieczytelna, jednak dwie najważniejsze substancje (betulina i lupeol) są
wyraźnie widoczne.



Niebieska kreska lupeol, czerwona betulina.



Prototypowe badania dały zielone światło do ich powtórzenia. Ich interesujący wynik bardzo mnie zastanawia dlatego zamierzam je powtórzyć, jednak w bardziej miarodajnej wersji, natomiast z chromatogramów można wnioskować, że grzybnia produkuje betulinę, jednak nie produkuje lupeolu.

To prowadzi nas do ciekawych wniosków.

Pniarek brzozowy i jego grzybnia same produkują szukaną substancję, co obala tezę o tym, że jedyne źródło tego trójterpenu to drzewo na którym pasożytuje. Wiedza ta pozwala na pewne kontynuowanie badań ponieważ jeśli betulina byłby w grzybie tylko przez to, że jest pobierana z drzewa karmiciela, badania były by pozbawione sensu.

Jeżeli powtórzone badania okażą się pomyślne będzie można je wykorzystać chociażby w ochronie drzew, brzoź a także w dalszej perspektywie w przemyśle chemicznym, kosmetycznym i farmaceutycznym.



E(x)plory



DZIĘKUJĘ ZA UWAGĘ

PREZENTACJĘ WYKONAŁ: MACIEJ URANOWSKI





ZDJĘCIA

https://www.google.com/search?q=sylveco+betulina&client=safari&rls=en&sxsrf=ALeKk02T_IBUyB_I2jwXq4StTRT1mt82lw:1628543041804&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwiKvofM66TyAhWnAxAIHbM2DKYQ_AUoAXoECAEQAw&biw=1440&bih=848#imgrc=RBwu0O4ig5QGeM

https://www.google.com/search?q=sylveco+betulina&client=safari&rls=en&sxsrf=ALeKk02T_IBUyB_I2jwXq4StTRT1mt82lw:1628543041804&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwiKvofM66TyAhWnAxAIHbM2DKYQ_AUoAXoECAEQAw&biw=1440&bih=848#imgrc=bDSzkSjrzFlwnM

https://www.google.com/search?q=sylveco+betulina&client=safari&rls=en&sxsrf=ALeKk02T_IBUyB_I2jwXq4StTRT1mt82lw:1628543041804&source=lnms&tbn=isch&sa=X&ved=2ahUKEwiKvofM66TyAhWnAxAIHbM2DKYQ_AUoAXoECAEQAw&biw=1440&bih=848#imgrc=lzBG4jxS31Yz1M

<https://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/thumb/c/c4/Betulin.svg/480px-Betulin.svg.png>

Zdjęcia grzybów oraz ekstraktów, chromatogramów itd. To zdjęcia własne

PIŚMIENNICTWO

Małgorzata Pleszczyńska, Marta K. Lemieszek, Marek Siwulski, Adrian Wiater, Wojciech Rzeski, Janusz Szczodrak, „Fomitopsis betulina (formerly Piptoporus betulinus): the Iceman’s polypore fungus with modern biotechnological potential”, wyd. Springer, Poznań 2017

Prof. dr hab. Zbigniew Janeczko Doc. dr hab. Józef Dulak, Mgr Agnieszka Galanty, Mgr Sławomir Gołda, Dr Elżbieta Kępczyńska, Dr Lidia Zapór, Dr Marek Żylewski Mgr Anna Drabik, Mgr Grażyna Matysiuk, St. techn. Tomasz Knercer, Pan Tomasz Więcaszek Mgr inż.

Marek Zamecki, Dr Agnieszka Król-Otwinowska, „CYTOTOKSYCZNOŚĆ PÓŁSYNTEZYCZNYCH POCHODNYCH

BETULINY” , ROZPRAWA DOKTORSKA, Jacek Achrem-Achremowicz Kraków 2007. <http://dl.cm-uj.krakow.pl:8080/Content/987/Jacek%20Achrem-Achremowicz%20Rozprawa%20Doktorska.pdf>

Preparatyka oraz propozycja chromatografii. Uniwersytet Jagielloński, <http://www2.chemia.uj.edu.pl/~zcho/dydaktyka/ZAD%201C.pdf>

