

*Bogdan Kędzia, Elżbieta Hołderna-Kędzia

Działanie przeciwmutagenne i przeciwenotoksyczne propolisu

Antimutagenic and antigenotoxic activity of propolis

Zakład Innowacyjnych Biomateriałów i Nanotechnologii
Instytut Włókien Naturalnych i Roślin Zielarskich w Poznaniu
Dyrektor Instytutu: dr hab. inż. Małgorzata Zimmiewska, prof. IWNiRZ

SUMMARY

The literature data indicate that propolis is distinguished by anti-mutagenic and anti-genotoxic activity. Mutagenicity is characterized by the formation of permanent and hereditary changes in the structure of the genetic material of a cell or organism. However, genotoxicity is associated with the harmful effects of substances on genetic material. To determine the anti-mutagenic and anti-genotoxic effect, a microbiological test using the histidine-dependent *Salmonella typhimurium* strains (Ames Test) is applied, and in pharmacological studies mutations in mammalian cells and recess mutations in the fruit fly *Drosophila melanogaster* are determined. A review of the literature indicates that ethanol and aqueous extracts from propolis have got a significant anti-mutagenic and anti-genotoxic influence on many substances that cause mutagenic changes and that damage genetic material. Research indicates that propolis extracts used in therapeutic doses are safe for the human body. Mutagenic and genotoxic effects may only be induced by doses that are many times higher than therapeutic doses, i.e. above 1 g/kg body weight daily.

Keywords: propolis extracts, anti-mutagenic activity, anti-genotoxic activity, genetic material

STRESZCZENIE

Dane piśmiennictwa wskazują, że propolis odznacza się działaniem przeciwmutagennym i przeciwenotoksycznym. Mutagenność charakteryzuje się powstawaniem trwałych i dziedzicznych zmian w budowie materiału genetycznego komórki lub organizmu. Genotoksyczność wiąże się natomiast ze szkodliwym oddziaływaniem substancji na materiał genetyczny.

Do określania działania przeciwmutagennego i przeciwenotoksycznego wykorzystuje się badanie mikrobiologiczne z wykorzystaniem histydynozależnych szczepów *Salmonella typhimurium* (test Ames), a w badaniach farmakologicznych określa się mutacje w komórkach ssaków oraz mutacje recesyjne u muszki owocowej *Drosophila melanogaster*.

Z przeglądu piśmiennictwa wynika, że ekstrakty etanolowe i wodne z propolisu odznaczają się wyraźnym działaniem przeciwmutagennym i przeciwenotoksycznym w odniesieniu do wielu substancji powodujących zmiany mutagenne i uszkodzające materiał genetyczny. Badania wskazują, że ekstrakty propolisowe stosowane w dawkach terapeutycznych są bezpieczne dla organizmu człowieka. Działanie mutagenne i genotoksyczne mogą wywoływać dopiero dawki wielokrotnie przekraczające dawki lecznicze, tj. powyżej 1 g/kg m.c. dziennie.

Słowa kluczowe: ekstrakty z propolisu, działanie przeciwmutagenne, działanie przeciwenotoksyczne, materiał genetyczny

Wstęp

Mutagennością określa się powstanie trwałych i dziedzicznych zmian w budowie materiału genetycznego komórki lub organizmu. Zmiany te, zwane mutacjami, mogą obejmować pojedynczy gen lub jego odcinki, zespół genów lub całe chromosomy.

Genotoksyczność wiąże się natomiast ze szkodliwym działaniem substancji na materiał genetyczny, przy czym działanie to nie musi być połączone z działaniem mutagennym. Dla przykładu może być ona związana z uszkodzeniem DNA przy jednoczesnym braku powstania mutacji.

Do określenia działania przeciwmutagennego i przeciwenotoksycznego wykorzystuje się badania mikrobiologiczne i farmakologiczne.

W badaniach mikrobiologicznych wykorzystuje się histydynozależne szczepy *Salmonella typhimurium* TA 97, 98, 100, 102 i 1535. Charakteryzują się one tym, że rewersją powrotną, prowadzącą do powstania szczepu niezależnego od obecności histydyny, wywołwana jest przez substancje mutagenne (test Ames).

Badania farmakologiczne mogą obejmować mutacje postępowe w komórkach ssaków, recesywne mutacje letalne związane z płcią u muszki owocowej

Drosophila melanogaster oraz mutacje w komórkach somatycznych.

Badania mikrobiologiczne

Badania nad przeciwmutagennym działaniem propolisu zapoczątkowali Cizmarik i Lahitovā (1). Oceniali oni działanie przeciwmutagenne ekstraktu etanolowego z propolisu słowackiego (EEP) wobec takich substancji mutagennych, jak nitrovin (chlorowodorek-1,5-bis(5-nitro-2-furylo-)-1,4-pentadieno-3-on-imino-semikarbazonu) i nitroguanidyna (N-metylo-N-nitrozoguanidyna). W badaniach zastosowano test mikrobiologiczny Ames z wykorzystaniem szczepów *Salmonella typhimurium* TA 98 i TA 100. Wyniki oznaczeń przedstawione w tabeli 1 wskazują, że płynny EEP w stężeniu 50 mg/płytkę Petriego odznaczał się stosunkowo silnym działaniem przeciwmutagennym. Hamował on powstawanie mutantów histydynozależnych w przypadku mutagenu nitrovin w odniesieniu do szczepów TA 98 i TA 100 odpowiednio w 67,2 i 55,9%. W przypadku mutagenu nitrozoguanidyny wartości te wynosiły 52,3 i 67,1%. Wskazuje to na wyraźne działanie przeciwmutagenne EEP wobec użytych w badaniach substancji mutagennych.

Następnie Varanda i wsp. (2) wykazali, że ekstrakt etanolowy z propolisu brazylijskiego (EEP) odznacza się działaniem przeciwmutagennym wobec kilku substancji mutagennych. W stężeniu 4,0 mg/płytkę Petriego hamował on powstawanie mutantów histydynozależnych wobec 2-antraminy w 60,4% w przypadku szczepu TA 100 i w 81,7% w przypadku szczepu TA 98 (tab. 2). EEP w tym samym stężeniu hamował także w 71,5% powstawanie mutantów histydynozależnych wobec benzo(a)pirenu w przypadku szczepu TA 100 i w 43,9% w przypadku szczepu TA 98. Ponadto EEP hamował powstawanie mutantów histydynozależnych

w 85,2% wobec aflatoksyny B₁ (szczep TA 98), 51,0% wobec 2-aminofluorenu i w 48,7% wobec daunomycyny (szczep TA 102). Natomiast nie stwierdzono działania przeciwmutagennego wobec azydku sodu (szczep TA 100) i 4-nitro-O-fenylendiaminy (szczep TA 98). Z przeprowadzonych badań wynika, że EEP charakteryzował się działaniem przeciwmutagennym w odniesieniu do takich mutagenów, jak 2-antramina, benzo(a)piren, aflatoksyna B₁, 2-aminofluoren i daunomycyna.

Z kolei Jeng i wsp. (3) badali działanie przeciwmutagenne ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego (EEP) wobec 4 mutagenów z użyciem szczepu TA 98. Wyniki badań (tab. 3) wskazują, że EEP w stężeniach 20 i 80 µg/płytkę Petriego hamował powstawanie mutantów histydynozależnych wobec 4-nitro-O-fenylendiaminy w 5,5 i 20,2% w odniesieniu do 1-nitropirenu w 37,0 i 47,7% oraz w przypadku 2-amino-3-metyloimidazolo-(4,5)-chinoliny w 22,7 i 68,3%. Natomiast w obecności benzo(a)pirenu EEP w stężeniach 8 i 16 µg/płytkę hamował powstawanie mutantów histydynozależnych w 34,6 i 63,0%. Z przeprowadzonych badań wynika, że EEP odznaczał się wyraźnym działaniem przeciwmutagennym w odniesieniu do takich mutagenów, jak 1-nitropiren, 2-amino-3-metyloimidazolo-(4,5)-chinolina i benzo(a)piren. W stosunku do 4-nitro-O-fenylendiaminy EEP charakteryzował się słabym działaniem przeciwmutagennym.

Następnie Fu i wsp. (4) oceniali działanie przeciwmutagenne ekstraktu etanolowego z propolisu chińskiego (EEP) wobec badanych już wcześniej substancji mutagennych: azydku sodu, daunomycyny i 2-aminofluorenu. Z przeprowadzonych badań (tab. 4) wynika, że EEP wobec azydku sodu (szczep TA 100) nie wykazywał działania mutagenego. Natomiast

Tab. 1. Działanie przeciwmutagenne ekstraktu etanolowego z propolisu słowackiego (EEP) w teście mikrobiologicznym Ames (wg 1)

Substancje mutagenne (µg/płytkę)	EEP płynny (mg/płytkę)	Mutageny histydynozależne (His ⁺)/płytkę Petriego			
		szczep <i>S. typhimurium</i> TA 98		szczep <i>S. typhimurium</i> TA 100	
		liczba komórek	hamowanie wzrostu (%)	liczba komórek	hamowanie wzrostu (%)
Nitrovin	0	424	0	472	0
	50	139	67,2	208	55,9
	10	170	59,0	241	48,9
Nitrozoguanidyna	0	596	0	992	0
	50	284	52,3	326	67,1
	10	287	51,8	479	51,7

Tab. 2. Działanie przeciwmutagenne ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego (EEP) w teście mikrobiologicznym Ames (wg 2)

Substancja mutagenna	Stężenie (µg/płytkę)	EEP (µg/płytkę)	Mutanty His ⁺ /płytkę	Hamowanie wzrostu (%)
Szczep TA 100				
Azydek potasu	0	0	1172	0
	1,25	4,0	1171	0
2-Antramina	0	0	687	0
	0,125	4,0	272	60,4
Benzo(a)piren	0	0	1150	0
	1,0	4,0	328	71,5
Szczep TA 98				
Aflatoksyna B ₁	0	0	1178	0
	0,5	4,0	174	85,2
2-Antramina	0	0	240	0
	0,125	4,0	44	81,7
Benzo(a)piren	0	0	310	0
	1,0	4,0	174	43,9
4-Nitro-O-fenylendiamina	0	0	1273	0
	5,0	4,0	1277	0
Szczep TA 102				
2-Aminofluoren	0	0	783	0
	10	4,0	384	51,0
Daunomycyna	0	0	907	0
	1,5	4,0	465	48,7

Tab. 3. Działanie przeciwmutagenne ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego (EEP) w teście mikrobiologicznym Ames (wg 3)

Substancja mutagenna	Stężenie (µg/płytkę)	EEP (µg/płytkę)	Mutanty His ⁺ /płytkę	Hamowanie wzrostu (%)
4-Nitro-O-fenylendiamina	0	0	183	0
	1,0	20	173	5,5
	1,0	80	146	20,2
1-Nitropiren	0	0	392	0
	0,2	20	247	37,0
	0,2	80	205	47,7
2-Amino-3-metyloimidazolo-(4,5)-chinolina	0,001	20	796	22,7
	0,001	80	327	68,3
Benzo(a)piren	0	0	127	0
	1,0	8	83	34,6
	1,0	16	47	63,0

Tab. 4. Działanie przeciwmutagenne ekstraktu etanolowego z propolisu chińskiego (EEP) w teście mikrobiologicznym Ames (wg 4)

Substancja mutagenna	Stężenie ($\mu\text{g}/\text{płytkę}$)	EEP* ($\mu\text{g}/\text{płytkę}$)	Mutanty His ⁺ /płytkę	Hamowanie wzrostu (%)
Szczep TA 100				
Azydek sodu	0	0	1310	0
	1,25	20	1279	2,4
	1,25	60	1237	5,6
Szczep TA 998				
Daunomycyna	0	0	1353	0
	10,0	20	1163	14,0
	10,0	60	572	57,5
2-Amino-fluoren	0	0	1064	0
	20,0	20	936	12,0
	20,0	60	608	42,9

*W przeliczeniu na 100% ekstrakt

wobec daunomycyny i 2-amino-fluorenu EEP w stężeniu 60 $\mu\text{g}/\text{płytkę}$ Petriego odznaczał się działaniem przeciwmutagennym. W tym stężeniu hamował on powstawanie mutantów histydynozależnych odpowiednio w 57,5 i 42,9%. Potwierdzono w ten sposób wcześniejsze doniesienia (2).

Późniejsze badania Kędzi i Hołderner-Kędzi (5) dowiodły, że ekstrakt etanolowy z propolisu polskiego (EEP) wykazuje działanie przeciwmutagenne wobec azydku sodu (100 $\mu\text{g}/\text{płytkę}$ Petriego). EEP w stężeniu 1.000 $\mu\text{g}/\text{ml}$ hamował powstawanie mutantów histydynozależnych u szczepu TA 1535 w 97,5%.

Warto dodać, że ester fenyloetylowy kwasu kawowego (CAPE) odznaczał się znaczną aktywnością przeciwmutagenną wobec 3,2-dimetylo-4-aminofenyli (DMBC), substancji wywołującej nowotwory u zwierząt doświadczalnych. Rao i wsp. (6) wykazali, że CAPE w stężeniach 10-20 $\mu\text{g}/\text{ml}$ w znacznym stopniu hamował powstawanie mutantów histydynozależnych u szczepów TA 98 i TA 100 w obecności 5-10 μg DMBC/płytkę Petriego.

Badania farmakologiczne

Fu i wsp. (4) badali również działanie przeciwmutagenne ekstraktu etanolowego z propolisu chińskiego (EEP) na komórkach szpiku kostnego myszy poddanych działaniu cyklofosfamidu (CA) i przeciwenotoksyczne na komórkach jednojądrzastych myszy poddanych działaniu mitomycyny (MMA). EEP w postaci 20% roztworu podawano myszom

przez 28 dni drogą pokarmową w dawkach: 22,5; 45 i 135 $\mu\text{g}/\text{kg}$ masy ciała (m.c.). CA podano 2-krotnie w ostatnich dniach doświadczenia w dawce 60 mg/kg m.c., natomiast MMA podano myszom jednorazowo w 14. dniu doświadczenia w dawce 2 mg/kg m.c. Wyniki badań wskazują (tab. 5), że EEP w dawce 45 i 135 mg/kg m.c. wykazywał działanie przeciwmutagenne wobec CA. Liczba komórek mikrojądrzastych była w obu przypadkach niższa (odpowiednio o 24,7 i 25,5%) w porównaniu do zwierząt nieleczonych (kontrola). Podawanie EEP myszom, które otrzymały MMA (tab. 6), również wskazuje na działanie przeciwenotoksyczne tej substancji. U myszy, które otrzymywały EEP w wysokości 135 mg/kg m.c., stwierdzono o 33,3% komórek z aberracjami chromosomów mniej niż u zwierząt nieleczonych (kontrola).

Na tej podstawie można przyjąć, że EEP wykazuje działanie przeciwmutagenne wobec cyklofosfamidu (przeciwdziała powstawaniu komórek mikrojądrzastych) i przeciwenotoksyczne wobec mitomycyny (przeciwdziała aberracjom chromosomów). Oznacza to, że ochrania on przed mutagenezą zarówno komórki somatyczne, z których nie powstają bezpośrednio komórki rozrodcze, jak i dojrzałe komórki reprodukcyjne.

Tavares i wsp. (7) badali działanie przeciwenotoksyczne ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego (EEP) w odniesieniu do komórek jajowych chomika chińskiego (CHO) indukowanych mutagenem

Tab. 5. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu chińskiego (EEP) na tworzenie się komórek mikrojądrzastych wywołane cyklofosfamidem (CA) (wg 4)

Badane substancje	Dawki substancji (mg/kg m.c.)	Komórki mikrojądrzaste	
		liczba*	procent
CA (kontrola)	60	259	100,0
EEP + CA	22,5 + 60	222	85,7
EEP + CA	45 + 60	195	75,3
EEP + CA	135 + 60	193	74,5

*W odniesieniu do 1.000 komórek

Tab. 6. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu chińskiego (EEP) na aberracje chromosomów w mysich komórkach mikrojądrzastych wywołane mitomycyną (MMA) (wg 4)

Badane substancje	Dawki substancji (mg/kg m.c.)	Komórki z aberracjami chromosomowymi	
		liczba*	procent
MMA (kontrola)	2	7,5	100,0
EEP + MMA	22,5 + 2	6,4	85,3
EEP + MMA	45 + 2	6,1	81,3
EEP + MMA	195 + 2	5,0	66,7

*W odniesieniu do 1.000 komórek

doksorubicyną (DXR). Do hodowli CHO wprowadzono na 60 min odpowiednie stężenie EEP (12,5; 25 lub 50 $\mu\text{g/ml}$) oraz doksorubicynę w ilości 0,5 $\mu\text{g/ml}$. Następnie określono liczbę komórek z aberracjami chromosomów. Z tabeli 7 wynika, że pod wpływem małej dawki EEP (12,5 $\mu\text{g/ml}$) liczba komórek z aberracjami chromosomów była o 54,5% niższa od kontroli. Natomiast wyższe stężenia EEP (25 i 50 mikrogramów/ml) w mniejszym stopniu ochraniały komórki jajowe chomika chińskiego przed aberracjami chromosomów (odpowiednio o 18,2 i 36,4%). Stąd wniosek, że tylko określone niskie stężenia EEP

wykazują wysoką aktywność przeciwigenetoksyne wobec doksorubicyny.

Valadares i wsp. (8) oceniali wpływ ekstraktu wodnego z propolisu brazylijskiego (WEP) na mutacje somatyczne i rekombinacje u muszek owocowych (*Drosophila melanogaster*) wywołane doksorubicyną (DXR). W badaniach użyto krzyżówki tego owada o genotypie MW/flr³. Jajeczka owadów inkubowano na specjalnej pożywce z dodatkiem WEP w stężeniach: 12,5; 25 i 50 mg/ml oraz DXR (użyta jako substancja mutagenna) w stężeniu 0,125 mg/ml. Po 48 godz. z larw *D. melanogaster* powstawały formy dorosłe,

Tab. 7. Wpływ ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego (EEP) na aberracje chromosomów w komórkach jajo- wych chomika chińskiego wywołane doksorubicyną (DXR) (wg 7)

Badane substancje	Stężenia w hodowli komórkowej ($\mu\text{g/ml}$)	Komórki z aberracjami chromosomowymi	
		liczba*	procent
DXR (kontrola)	0,5	33	100,0
EEP + DXR	12,5 + 0,5	15	45,5
EEP + DXR	25 + 0,5	21	63,6
EEP + DXR	50 + 0,5	27	81,8

*W odniesieniu do 300 komórek w stadium metafazy

których skrzydła stanowiły materiał do badań genetycznych. Pod wpływem DXR na skrzydłach dorosłych osobników pojawiły się plamy: pojedyncze małe i duże oraz podwójne, będące wynikiem rekombinacji mitotycznej, mutacji i aberracji chromosomów. Wyniki badań zebrane w tabeli 8 wykazały, że pod wpływem DXR średnia liczba plam na skrzydłach *D. melanogaster* wzrosła 14,5-krotnie. W obecności WEP średnia liczba plam na skrzydłach malała wraz ze stężeniem tej substancji. Dodatek WEP w ilości 12,5 mg/ml pożywki, na której rozwijały się larwy *D. melanogaster*, zmniejszył liczbę plam o 21,7%, w ilości 25 mg/ml – o 40,5% i w ilości 50 mg/ml – o 71,2%. Oznacza to, że dodatek WEP zmniejszał mutacje somatyczne i rekombinacje u muszek owocowych *Drosophila melanogaster*. Dane te świadczą o wyraźnym działaniu przeciwmutagennym ekstraktu wodnego z propolisu brazylijskiego wobec doksorubicyny.

Na zakończenie należy również przytoczyć wyniki badań Pereiry i wsp. (9) dotyczące genotoksycznego i mutagennego działania ekstraktu etanolowego z propolisu brazylijskiego (EEP) podawanego myszom drogą pokarmową w dużych dawkach. EEP podawano

zwierzętom w dawkach 1.000-2.000 mg/kg m.c. i określano po 4 godz. migrację DNA w uszkodzonych leukocytach krwi obwodowej (działanie genotoksyczne) oraz po 48 godz. liczbę wielobarwnych erytrocytów mikrojądrzastych (działanie mutagenne). Jako substancji genotoksycznej i mutagennej użyto N-nitro-N-metylomocznika (NNEM) w dawce 50 mg/kg m.c., którą także podawano zwierzętom drogą pokarmową. Wyniki badań przedstawiono w tabeli 9. Przeprowadzone badania wskazują na wyraźny wzrost liczby uszkodzonych leukocytów krwi obwodowej (w granicach 32,3-40,7) oraz liczby wielobarwnych erytrocytów (w granicach 5,3-6,5) w porównaniu do kontroli (odpowiednio wartości 20,4 i 2,8). Po podaniu zwierzętom EEP w dawce 2.000 mg/kg m.c. otrzymane wyniki badań były tylko prawie o połowę niższe w porównaniu do wyników uzyskanych dla NNEM. Świadczy to o genotoksycznym i mutagennym działaniu dużych dawek EEP dawkowanych zwierzętom doświadczalnym drogą pokarmową (powyżej 1.000 mg/kg m.c.). Oznacza to, że niebezpieczne dla organizmu człowieka mogą być dopiero dawki propolisu przekraczające 1 g/kg m.c. na dobę.

Tab. 8. Wpływ ekstraktu wodnego z propolisu brazylijskiego (WEP) na mutacje somatyczne i rekombinacje u muszek owocowych *Drosophila melanogaster* wywołane doksorubicyną (DXR) (wg 8)

Badane substancje	Stężenia substancji (mg/ml)	Plamy na skrzydłach dorosłych owadów <i>D. melanogaster</i>	
		średnia liczba*	procent
Bez dodatku substancji (kontrola)	0	0,67	6,9
DXR	0,125	9,78	100,0
WEP + DXR	12,5 + 0,125	7,66	78,3
WEP + DXR	25 + 0,125	5,82	59,5
WEP + DXR	50 + 0,125	2,82	28,8

*W odniesieniu do 37 owadów

Tab. 9. Wpływ ekstraktu wodnego z propolisu brazylijskiego (EEP) na migrację DNA i liczbę wielobarwnych erytrocytów mikrojądrzastych

Badane substancje	Stężenie substancji (mg/kg m.c.)	Migracja DNA (liczba uszkodzonych leukocytów krwi obwodowej)	Liczba wielobarwnych erytrocytów mikrojądrzastych
Bez dodatku substancji (kontrola)	0	20,4	2,8
EEP	1.000	32,3	5,3
EEP	1.500	39,5	5,8
EEP	2.000	40,7	6,5
NNEM	50	83,6	15,0

Piśmiennictwo

1. Cizmarik J, Lahitov A. Antimutagenicity of propolis. *Pharmazie* 1998; 53:883-4.
2. Varanda EA, Monti R, Tavares DC. Inhibitory effect of propolis and bee venom on the mutagenicity of some direct- and indirect-acting mutagens. *Teratogen Carcinogen Mutagen* 1999; 19:403-13.
3. Jeng S-N, Shin M-K, Kao C-M i wsp. Antimutagenicity of ethanol extracts of bee glue against environmental mutagens. *Food Chem Toxicol* 2000; 38:893-7.
4. Fu J-Y, Xia Y, Zheng Y-Y. Antimutagenicity of propolis against some mutagens *in vivo* and *in vitro*. *Biomed Environ Sci* 2004; 17:469-75.
5. Kędzia B, Hołderna-Kędzia E. Poszukiwanie substancji i wyciągów roślinnych o działaniu antymutagennym. XII Międzynarodowy Sejmik Zielarski. *Herba Pol* 2007; 57(2):173-4.
6. Rao CV, Desai D, Kaur B i wsp. Of caffeic acid esters on carcinogen-induced mutagenicity and human adenocarcinoma cell growth. *Chem Biol Interact* 1992; 84:277-90.
7. Tavares DC, Barcelos GFM, Ferreira-Silva L i wsp. Propolis-induced genotoxicity and antigenotoxicity in Chinese hamster ovary cells. *Toxicology in vitro* 2006; 20:1154-8.
8. Valadares BLB, Graf U, Span MA. Inhibitory effects of water extract of propolis on doxorubicin-induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*. *Food Chem Toxicol* 2008; 46:2580-4.
9. Pereira AD, Andrade SF, Oliveira-Swartz MS i wsp. First *in vivo* evaluation of the mutagenic effect of Brazilian green propolis by comet assay and micronucleus test. *Food Chem Toxicol* 2008; 46:2580-4.

Konflikt interesw**Conflict of interest**

Brak konfliktu interesw

None

otrzymano/received: 03.02.2020

zaakceptowano/accepted: 12.03.2020

Adres/address:

*prof. dr hab. n. farm. Bogdan Kędzia
Instytut Włkien Naturalnych i Roślin Zielarskich
ul. Wojska Polskiego 71B, 60-630 Poznań
tel. +48 (61) 845-58-67
e-mail: bogdan.kedzia@iwnirz.pl