

ӘОЖ 615.32:615.451:615.076

Т.Д. Мукашева*, Р.Ж. Бержанова, С.Ш. Асрандина,
Е.Т. Естемесова, А. Нестерова, Ш. Кенжебаева,
Т.К. Алиева, А. Ташимбаева

Әл-Фараби атындығы Қазақ ұлттық университеті, Қазақстан, Алматы қ.

*Email: Togzhan.Mukasheva@kaznu.kz

Стевия жапырақтарынан алынған экстрактілердің антибактериалық қасиеттерін зерттеу

Мақалада стевия жапырақтарынан дайындалған 11 экстракт үлгілерінің антибактериалық қасиеттерінің зерттеу нәтижелері берілген. Экстракт үлгілерінің антибактериалық эффективтілігі олардың құрамындағы биологиялық ырықты заттарға байланысты болатыны айқындалды. Антибактериалық белсенділігі жоғары экстракт үлгілерінің ішінде тиімді экстракт үлгілері (1 г жапырақ + 40% спирт; жапырақтан алынған концентрлі экстракт + ДД Н₂O жапырақтан алынған концентрлі экстракт) айқындалды. Стевия жапырақтарынан алынған экстрактілердің биологиялық ырықтығы бактериялардың есіү мен дамуына тигзетін есері арқылы бағаланды. Экстрактілердің есерінен 24 сағаттан кейін микроорганизмдердің көбеюі 2-3 есе төмендейтіні анықталды.

Түйін сөздер: стевия, жапырақ, экстракт, микроорганизмдер, антимикробтық қасиет.

Т.Д. Мукашева, Р.Ж. Бержанова, С.Ш. Асрандина,
Е.Т. Естемесова, А. Нестерова, Ш. Кенжебаева,
Т.К. Алиева, А. Ташимбаева

Изучение antimикробных свойств листовых экстрактов стевии

В статье приведены результаты исследования по изучению antimикробной активности 11 различных экстрактов стевии. Эффективность antimикробного действия экстрактов из растений стевии зависит от наличия биологически активных веществ. Препараты, полученные при использовании в качестве экстрагента 40%-го этилового спирта (образец 2) на основе свежего концентрированного экстракта (образец 9) и концентрата свежего листа (образец 4), проявляли высокую antimикробную активность в отношении тестируемых культур микроорганизмов. Проведена оценка биологической активности экстрактов, полученных из листьев стевии на рост и развитие бактерий. Установлено, что только через 24 часа после воздействия экстрактов плотность популяции клеток уменьшается в 2-3 раза.

Ключевые слова: стевия, листья, экстракт, микроорганизмы, antimикробные свойства.

T.D. Mykasheva, R.Zh. Berzhanova, S.Sh. Asrandina,
E.T. Estemesova, A. Nesterova, Sh. Kenjebayeva,
T.K. Alieva, A. Tashimbaeva

Study of antimicrobial activity of leaf extracts of stevia

The results of studies on the antimicrobial activity of 11 different extracts of stevia. The effectiveness of antimicrobial activity of extracts from Stevia plants depends on the availability of biologically active substances. Preparations obtained by using as an extractant, 40% ethyl alcohol (sample 2) based on fresh concentrated extract (Sample 9) and concentrate fresh sheet (sample 4) exhibit high antimicrobial activity against the test micro-organism cultures. An assessment of the biological activity of extracts obtained

from the leaves of stevia on the growth and development of bacteria. Found that only 24 hours after exposure extracts plotost cell population reduced by 2-3 times.

Keywords: stevia, leaf extract, microorganisms, antimicrobial properties.

Бүгінгі таңда медицина, фармакология және косметологияда химиялық аналогтардың орнына өсімдіктерден алынған табиғи антимикробтық экстрактілерді қеңінен қолдану жолдарын іздестіру өзекті мәселелердің болып табылады. Экстрактілердің белсенділігі көбінесе олардың құрамындағы белгілі бір химиялық заттардың (флавоноидтар, сапониндер, гликозидтер, эфир майлары) қасиеттеріне байланысты болады [1]. Соңғы жылдары өсімдіктердің сығындыларынан антимикробтық, фитоцидтік, антиоксиданттық және басқа да емдік қасиеттері бар биологиялық белсенді компоненттерді бөліп алу мақсатында дәрілік өсімдіктерді іздестіру және олардың қатарын толықтыру бағытында көптеген ізденіс жұмыстары жүргізілуде [2-4].

Осындай өсімдіктердің бірі – Оңтүстік Америка эндемигі стевия (*Stevia rebaudiana Bertoni*) өсімдігіне аса назар аударылуда. Стевияның жер үсті бөлігінде құрғақ салмақта шаққанда 6,5-11%-ға дейін тәтті гликозидтер синтезделеді. Олар: стевиозид (7 %); ребаудиозид (A, B, C, D); олардың ішінде ребаудиозид A (2 %), ребаудиозид (0,07 %); стевиолбиозид (іздері). Сонымен катар олардан басқа да заттар: витаминдер P, A, E, C және бета-каротин; никотин қышқылы, өте сирек кездесетін эфир майлары; амин қышқылдары; пектиндер; биологиялық активті фенолдық косылыстар (кверцестин, авикулярин, гваяверин, кофе қышқылы, хлороген қышқылы, скополетин) түзіледі [5].

Стевиядан түзілетін тәтті гликозидтер кең қолданыска ие. Медицинада: қант диабетіне, атеросклерозға, үйкі безі қабынғанда, көмірсу-лар алмасуы бұзылғанда, гипертониялық ауруларға, аллергияға, организм иммунитеті әлсірегендеге, кан ауруларына, бүйрек, кариес, парадонтоз, тағы басқа ауруларға қарсы немесе олардың алдын алуға қолданылады. Сондай-ақ, стевияны жараны, язваны, экзема, дерматит, ұсақ жарық, қызылиек, кариес және гингвит ауруларын емдеуге де қолданады.

Әдетте, қантты қөп мөлшерде қолдану ашытқы инфекцияларын қоздыратыны белгілі. Н. Семенованаң мәліметтері бойынша құрамында қант бар немесе қанттан жасалған өнімдер кандидалардың өсуін қоздырады,

олардың ішектің түкті шырышты қабаттарында, мүшелерде көптеп жинақталуы дисбактериоз тудырады. Қантқа қарағанда стевиядан жасалған өнімдер кандиданың тіршілігін жояды. Стевияны қолданып организмді тазарту және дегельминтизациялау арқылы паразиттерден, солардың ішінде – кандидалардан тазаруға болады. Стевия қосылған қоректік орта *Streptococcus mutans*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas caruzinosa* т.б. бактериялардың өсуін тежейтіні айқындалған. Сондай-ақ стевиозидтің ауыз қуысындағы бактериялардың өсуін тежейтіні анықталған. Алайда стевияның және одан жасалған өнімдердің антимикробтық әсері жөнінде нұсқаулар аз әрі қарама-қайшы келеді [6]. Залалсыздандырылмаған дәрі-дәрмектердің микробиологиялық белсенділігін анықтаудағы методикалық әдістемелердің дамуы жеткіліксіз, сондықтан біз өз зерттеу жұмыстарында бұрыннан бар теориялық мәселелерді толықтыру әрі шешу мақсатында стевия өсімдігі (*Stevia rebaudiana Bertoni*) сығындыларының антибактериялық қасиеттерін зерттеуді қөзdedік.

Әдістеме. Зерттеу объектілері ретінде стевия жапырақтарынан алынған әртүрлі экстрактілер. Микробиологиялық зерттеу жұмыстарына тест культура ретінде адамның ішегінен бөлінген және қоршаган орта объектілерінен бөліп алынған микроорганизмдер және генетикалық токсикологияда сыртқы ортаның мутагендері мен канцерогендерін бағалау үшін қолданылатын еki штамм пайдаланылды (*Salmonella thyphimorium* 98, *Salmonella thyphimorium* 100), грам оң сүт қышқылды бактериялар - *Lactobacillus plantarum*, *Enterococcus faecium* және *Staphylococcus aureus*, және грам теріс бактериялар (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), эукариотты организмдер (*Candida albicans* 45).

Тест – организмдер: *Escherichia coli*; 2) *Staphylococcus aureus*; 3) *Lactobacillus plantarum* 12; 4) *Candida albicans* 45; 5) *Pseudomonas aeruginosa*; 6) *Salmonella thyphimorium* 98; 7) *Salmonella thyphimorium* 100; 8) *Enterococcus faecium*.

Өсімдікten жасалған экстракт үлгілері: № 1 үлгі – 1 г жапырақ + ДД Н₂O; № 2 үлгі – 1 г

жапырақ + 40 % спирт; №3 үлгі 1 г жапырақ + 3 мл 40 % спирт + ДД Н₂O; № 4 үлгі жапырақ концентраты + ДД Н₂O; № 5 үлгі 1 г жапырақ + ДД Н₂O + автоклавтау; № 6 үлгі 1 г жапырақ + 40 % спирт + автоклавтау; №7 үлгі 1 г жапырақ + 3 мл 40 % спирт + ДД Н₂O + автоклавтау; № 8 үлгі жапырақ концентраты + ДД Н₂O + автоклавтау; № 9 үлгі концентрлі жаңадан жасалған сұғынды; №10 үлгі гликозидтер қосындысы; №11 үлгі таза стевиозид.

Нативті клетка шырынының сулы және спиртті стевия экстрактілерінің антимикробты өсерін зерттеу коректік ортада диффузионды агар тәсілімен жасалды. Агар – агарға ерітінді диффузирленді, өсімдік экстракті тест – штамдардың өсуін тежеуі мүмкін, тест – штамының тәжелуінің болуы экстрактінің уиттылығын айқындайды. Бағалауды визуальды жүргізді.

Алынған нәтижелер және оларды талдау.

Зерттеу нәтижесінде стевия жапырақтарынан алынған экстрактілердің антимикробтық қасиеттері олардың құрамындағы биологиялық белсенді заттардың табигатынан және олардың концентрациярынан тәуелді болатыны анықталды (1 кесте).

Зерттеу нәтижелері бойынша *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella typhimorium* 100 штамдары ең сезімтал болып анықталды. Мысалы, бақылау ретінде залалсыздандырылған суды пайдаланғанда, оның антимикробтық қасиеті байқалмады және микроорганизмдерге өсері жоқ екені айқындалды. 95 %-дық этанолды пайдаланған жағдайда микро-

организмдерге өсері әлсіз екені көрсетті, өсуді тежеу аймағы 2-3 мм арасында болды. Жас жапырақ +3 мл 40% спирт + ДД Н₂O негізінде әзірленген 3 үлгілерге грам оң және Эймс штамдары жоғары сезімталдығын көрсетті. Зерттелген экстрактілердің арасында антибактериалық қарсы ең күшті өсерді стевияның жас жапырағы + ДД Н₂O негізіндегі 4 үлгі көрсетті. Бұл жағдайда *Salmonella typhimorium* 98, *Salmonella typhimorium* 100 және *Staphylococcus aureus* жоғары дәрежелі сезімталдық танытты. Өсуді тежеу радиусы 23 пен 26 мм арасында болды. *Lactobacillus plantarum* 12 және *Candida albicans* 45 тәмен сезімталдық танытып, өсудің тәжелуі диаметрі 10-12 мм аралығында болды.

Грам теріс *Escherichia coli* бактериялары орташа сезімталдық танытса, ал эукариоттық организмдердің сезімталдығы тәмен дәрежеде болды, олардың өсуінің тәжелу диаметрі 10 мм болды. 40% спирт негізінде әзірленген 2 үлгіні зерттегендегі өсуді тежеу диаметрі 23 пен 27 мм аралығында жоғары дәрежедегі сезімталдық *Staphylococcus aureus*, *Salmonella typhimorium* 98, *Salmonella typhimorium* 100-де байқалды; орташа сезімталдық *Escherichia coli* және *Enterococcus faecium* (өсуді тежеу радиусы болмашы 10-12 мм.) болды. Экстракт ретінде 40%-дық этил спиртін пайдалану арқылы алынған стевия өсімдігі сұғындыларының құрамында flavonoidтардың көп болуы ықтимал, соның нәтижесінде зерттелетін тест микроорганизмдерге антимикробтық белсенділігі өте жоғары болды.

1-кесте – стевия сұғындыларының бактерияларға қарсы белсенділігі

Тест организмдер	Экстракт үлгілері										
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
	Өсуі токтау диаметрі, мм										
<i>Escherichia coli</i>	11	15		16	-	-	-	16	29	-	-
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	27	25	23	-	-	-		24	-	-
<i>Lactobacillus plantarum</i> 12	-	10		12	-	-	-		13	-	-
<i>Candida albicans</i> 45	-	7		10	-	-	-		23	-	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-			-	-	-			-	-
<i>Salmonella typhimorium</i> 98	15	25		23			-	-	24	-	-
<i>Salmonella typhimorium</i> 100	13	23	26	26			25	-	26	-	-
<i>Enterococcus faecium</i>	-	12	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Бақылау этил спирті	2	2	3	3	2	3	2	2	2	2	2
Cу	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

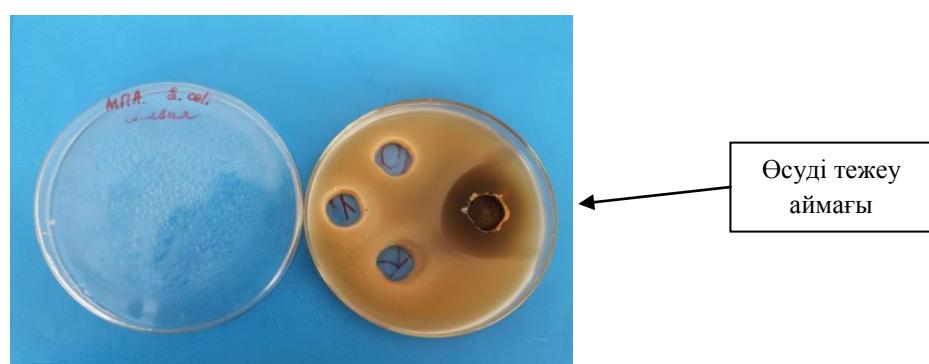
Залалсыздандырылған су негізінде әзірленген экстрактілер, мәселен, № 1 үлгі, грам оң (*St. aureus*) және грам теріс – *E.coli*, Эймс штамдарына (*Salmonella typhimorium* 100 және

Salmonella typhimorium 98) антибактериалық тәмен (өсудің тәжелу диаметрі кіші, 10-нан 15 мм) белсенділік көрсетті. № 5, 6, 10 және 11 үлгілер антимикробтық белсенділік көрсеткен

жок, барлық зерттелген штамдар аталған стевияның экстрактілеріне шыдамды болып шықты (1-сурет).

Стевия өсімдігі шикізатындағы негізгі әрекет етуші заттар полифенолды қоспа кешенін құрайтын флавон тобының флавонойдтары [6] болып табылады. Жүргізілген тәжірибе нәтижесі көрсеткендей, стевия жапырақтарынан жаңадан алынған концентрленген экстракт (№ 9-үлгі) әртүрлі грам оң және грам теріс - *Salmonella thyphimorium* 100, *Salmonella thyphimorium* 98, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* және *Candida albicans* 45 – антимикробтық әсері байқалды. Зерттелген штамдардың ішінде *Escherichia coli* жоғары сезімталдығымен ерекшеленді, ондағы өсудің

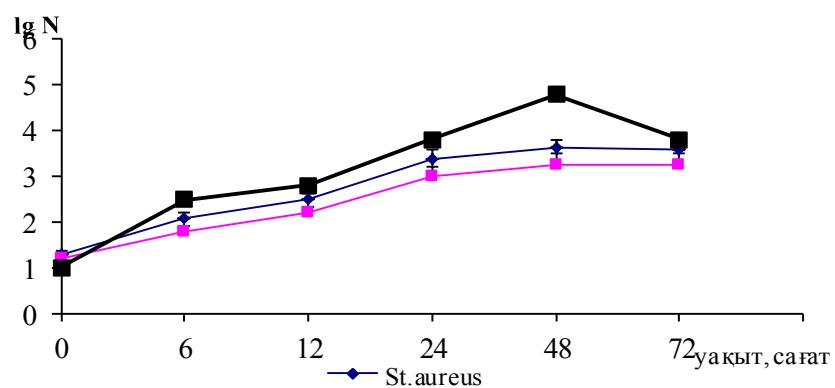
тежелу диаметрі 29 мм құрады. Келесі штамдарда – *Staphylococcus aureus*, *Candida albicans* 45, *Salmonella typhimorium* 100 және *Salmonella typhimorium* 98 – тежелу радиусы 24-26 мм аралығында болды. Ал *Lactobacillus plantarum* 12 сезімталдылығы төмен мәнгे 13 мм ие болды. Алайда *Pseudomonas aeruginosa* және *Enterococcus faecium* штаммдары бұл препараттың әсеріне төзімді болып шықты. № 7үлгіні пайдалану барысында барлық зертте-лген штамдардың арасынан тек бір ғана штамм *Salmonella typhimorium* 100 жоғары сезімталдық танытты, олардың өсү аймағының тежелуі, басқа микроорганизмдермен салыстырғанда, ең үлкен дәнгейде – 25 мм болды.



1-сүрет 9-шы улгінің *Escherichia coli* штаммына әсері

Келесі зерттеулерімізді, *Escherichia coli* және *Staphylococcus aureus* сезімтал штамдардың өсу динамикасы зерттелді. Культуралардың өсу динамикасын сұйық ортада зерттедік, бақылау ретінде құрамында спирт бар орта пайдаланылды. Таңдал алған

препараттардың тест-культуралардың дамуына әсерін зерттеу барысында сығынды *Escherichia coli* және *Staphylococcus aureus* клеткаларының өсуі мен дамуына әсерінен тек 24 сағат өткенде ғана клеткалар тығыздығы арта бастайтыны аныкталды (2-сурет).



2-сүрет 9-улгі негізіндеңі күлтуралардың өсу динамикасы

Өсудің бастапқы кезінде 0-18 сағат аралығында микроорганизмдердің өсу фазасына байланысты культуралардың клеткалар санының 3-5 есе кемуі байқалды. Культуралар өсуінің логарифмдік фазасында экстрактілер микробтарға қарсы жоғары белсенділік танытты, клеткалар саны ортага енгізілген саннан 2-3 есе кем болды. Бұл стевия сығындысыз тест-штамдарды өсіру нәтижелерімен салыстырғанда байқалды. Сонымен, стевия экстрактілерінің микробтарға қарсы әсері бар, олар клеткалардың санын 3-5 есеге кемітеді.

Зерттеулер нәтижесінде стевия өсімдігі экстрактілерінің антимикробтық қарсы түрү тиімділігі оның құрамында биологиялық белсенді заттардың болуына және сол биологиялық белсенді заттардың көлеміне байланысты болады деген болжам жасалды. 40%-дық этил спиртін экстрагент ретінде пайдалану арқылы алынған (№ 2-ұлғі), концентрлі жаңадан алынған экстракт негізіндегі (№ 9-ұлғі) және жас жапырақ концентраты негізіндегі (№4-ұлғі) препараттар тексерілген микроорганизмдерге қатысты жоғары дәрежелі антимикробтық белсенділігін танытты. Бұл препараттар кең спектрлі микробтарға

антимикробтық белсенділік танытты, олар сарапқа түскен 8 микроорганизмнің алтауының өсуін тежеді. Микроорганизмдерге әсері әртүрлі болды. Экстракт үлгілері (№4 және 9) өсудің логарифмдік фазасындағы жоғары антимикробтық белсенділік көрсетті.

Корыта айтқанда, стевия жапырактарынан алынған 11 экстракт үлгілерінің антибактериалық қасиеттері зерттелді. Экстракт үлгілерінің антибактериалық ырықтығының тиімділігі олардың құрамындағы биологиялық ырықты заттарға байланысты болатыны айқындалды. Антибактериалық белсенділігі жоғары экстракт үлгілерінің ішінде тиімді үлгілер (1 г жапырақ + 40% спирт; жапырақтан алынған концентрлі экстракт + ДД Н₂O жапырақтан алынған концентрлі экстракт) таңдалып алынды. Осы үлгілердің негізінде антибактериалық және қабынуға қарсы дәрілік препараттарды дайындау үшін қолдануға болады деген қызығушылықтар тудырады. Стевия жапырактарынан алынған экстрактілердің биологиялық ырықтығы бактериялардың өсуі мен дамуына тигізетін әсері арқылы баға берілді. 24 сағаттан кейін микроорганизмдердің көбеюі 2-3 есе төмендейтіні анықталды.

Әдебиеттер

- 1 Brunella Carratu, Elisabette Sanzini. Sostanze biologicamente attive presenti negli di origine vegetali // Ann Ist Super Sanira 41 (1). – 2005. – P. 7-16.
- 2 Vivek K. Gupta, Atiya Fatima, Uzma Faridi. Antimicrobial potential of potential of Glycyrrhiza glabra roots // Jurnal of ethnopharmacology. – 2008. – №116. – P. 377- 380.
- 3 Feresin G. E., Tapia A. A., Bustos D. A. Antibacterial activity of some medicinal plants from San Juan, Argentina // Fitoterapia. – 2000. – Vol. 71. – P. 429-432.
- 4 Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area / M. S. Ali-Shtaych, Reem M. R. Yaghmour, Y. R. Faidi, Khalid Salem, M. A. Al-Nuri // Journal of Ethnopharmacology. – 1998. – Vol. 60. – P. 265–271.
- 5 Wolwer-Riech U The leaves of Stevia rebaudiana (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: a review // J Agric Food Chem. – 2012 - Feb 1; 60(4):886-95. Epub 2012 Jan 24.
- 6 Изменения в таксономии и номенклатуре бактерий // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – Т. 6. – №1. – С. 4 - 9.

Reference

- 1 Brunella Carratu, Elisabette Sanzini. Sostanze biologicamente attive presenti negli di origine vegetali // Ann Ist Super Sanira 41 (1). – 2005. – P. 7-16.
- 2 Vivek K. Gupta, Atiya Fatima, Uzma Faridi. Antimicrobial potential of potential of Glycyrrhiza glabra roots // Jurnal of ethnopharmacology. – 2008. – №116. – P. 377-380.
- 3 Feresin G. E., Tapia A. A., Bustos D. A. Antibacterial activity of some medicinal plants from San Juan, Argentina // Fitoterapia. – 2000. – Vol. 71. – P. 429-432.

4 Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area / M. S. Ali-Shtaych, Reem M. R. Yaghmour, Y. R. Faidi, Khalid Salem, M. A. Al-Nuri // Journal of Ethnopharmacology. – 1998. – Vol. 60. – P. 265-271.

5 Wolwer-Riech U The leaves of Stevia rebaudiana (Bertoni), their constituents and the analyses thereof: a review // J Agric Food Chem. – 2012. – Feb 1; 60(4):886-95. Epub 2012 Jan 24.

6 Изменения в таксономии и номенклатуре бактерий // Клиническая микробиология и антибиотикотерапия. – 2004. – Т. 6. – №1. – С. 4-9.