

Dr inż. Dorota DEC
Mgr inż. Magdalena JOKA
Mgr Małgorzata KOWCZYK-SADOWY
Zakład Inżynierii Rolno-Spożywczej i Leśnej
Wydział Budownictwa i Inżynierii Środowiska, Politechnika Białostocka

AKTYWNOŚĆ PRZECIWGRZYBICZNA WYBRANYCH EKSTRAKTÓW ROŚLINNYCH NA SZCZEPY *ASPERGILLUSA*[®]

Influence of selected plant extracts against *Aspergillus*[®]

Badania zostały zrealizowane w ramach pracy statutowej nr S/WBiŚ/2/15 i sfinansowane ze środków na naukę MNiSW.

Słowa kluczowe: ekstrakty roślinne, zioła, *Aspergillus*, działanie przeciwgrzybicze.

*Celem pracy zaprezentowanej w artykule było przeprowadzenie badań dotyczących oceny efektywności działania wybranych ekstraktów roślinnych na szczepy grzybów z rodzaju *Aspergillus*. W warunkach in vitro testowano aktywność metanolowych ekstraktów z różnych organów 10 gatunków roślin (*Melissa officinalis* L., *Levisticum officinale* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana* L., *Artemisia dracunculoides* L., *Salvia officinalis* L., *Zingiber officinale*, *Corylus avellana* L., *Piper nigrum*, *Capsicum*) na siedem szczepów z rodzaju *Aspergillus*. Analiza uzyskanych wyników wykazała, że aktywność wyciągów zależała od zastosowanych stężeń i gatunku rośliny wybranych do badań.*

Key words: plant extracts, herbs, *Aspergillus*, anti-fungal.

*The aim of the study was to present the results of studies assessing the effectiveness of selected plant extracts against strains of fungi of the genus *Aspergillus*. In vitro activity of methanol extracts were tested with the various bodies of 10 plant species (*Melissa officinalis* L., *Levisticum officinale* L., *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana* L., *Artemisia dracunculoides* L., *Salvia officinalis* L., *Zingiber officinale*, *Corylus avellana* L., *Piper nigrum*, *Capsicum*) for seven strains of the genus *Aspergillus*. Analysis of the results showed that the activity of extracts depend on the concentrations used, and the plant species selected for the study.*

WSTĘP

Wyciągi roślinne zawierają wtórne metabolity roślinne (polifenole) o bardzo zróżnicowanej strukturze, masie cząsteczkowej i właściwościach fizycznych, biologicznych oraz chemicznych. Występują one we wszystkich częściach roślin: kwiatach, owocach, nasionach, liściach, korzeniach, korze i częściach zdrewniałych [4]. Do substancji wtórnych zalicza się, między innymi: glikozydy, flawonoidy, lignany, kumaryny, fenole, garbniki, saponiny, chinony, terpeny, steroidy, alkaloidy, olejki eteryczne. Odgrywają one istotną rolę we wzroście i reprodukcji roślin oraz nadają żywności specyficzne cechy sensoryczne np.: cierpki i gorzki smak, są odpowiedzialne za barwę, włóknistość, a także mogą powodować zmętnienia i osady w żywności przetworzonej, jak soki, wina i napoje [1]. Metabolity wtórne charakteryzują się biogenetyczną różnorodnością oraz zróżnicowanymi strukturami. Determinuje to ich wielokierunkowe działanie biologiczne. Piśmiennictwo donosi o ich szerokich właściwościach: przeciwbakteryjnych, grzybiczych, wirusowych, hamujących enzymy, a także przeciwnowotworowych [7, 8].

Negatywne skutki rozwoju grzybów strzępkowych wynikają z wielkich szkód, jakie wyrządzają, rozwijając się na drewnie, konstrukcjach budowlanych, na papierze, skórach, tekstyliach i innych materiałach technicznych [10]. Grzyby strzępkowe mogą namnażać się w niewłaściwie produkowanych i przechowywanych produktach spożywczych. Powodują niekorzystne zmiany organoleptyczne, obniżają wartości odżywcze i przyczyniają się do strat ilościowych. Stwarzają przy tym zagrożenia zdrowotne, ponieważ żywność i pasze skażone przez grzyby pleśniowe mogą być nośnikami mikotoksyn szkodliwych dla zdrowia ludzi i zwierząt. Mikotoksyny to produkty przemiany materii, wytwarzane przez wiele gatunków grzybów strzępkowych, m.in. z rodzajów *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Claviceps* i *Stachybotrys*. Do groźnych mikotoksyn należą m.in. aflatoksyny i fumonizyny o działaniu nowotworowym, uszkadzające nerki ochratoksyny, a także trichoteceny, wywołujące toksyczną aleukemię żywieniową [2, 9].

Celem artykułu jest przedstawienie wyników badań dotyczących oceny efektywności działania wybranych ekstraktów roślinnych na szczepy grzybów z rodzaju *Aspergillus*.

METODYKA BADAŃ

W badaniach wykorzystano siedem szczepów grzybów z rodzaju *Aspergillus*. Cztery pochodzą z Kolekcji Czystych Kultur Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej – *Aspergillus flavus* ŁO422, *A. ochraceus* ŁO444, *A. parasiticus* ŁO446, ŁO447 i trzy z własnej kolekcji: *Aspergillus niger*, *A. fumigatus*, *A. versicolor*. Dla każdego szczepu oznaczono minimalne stężenie hamujące (ang. MIC – *Minimal Inhibitory Concentration*) badanych ekstraktów roślinnych. W warunkach *in vitro* testowano metanolowe ekstrakty z różnych organów 10 gatunków roślin (*Melissa officinalis* L., *Levisticum officinale* L., *Rosmarinus officinalis*, *organum Majorana* L., *Artemisia dracunculus* L., *Salvia officinalis* L., *Zingiber officinale*, *Corylus avellana* L., *Piper nigrum* L., *Capsicum* L.).

Przygotowanie wyciągów metanolowych

Wybrane fragmenty roślin zostały umyte, pocięte na małe kawałki i suszone w temperaturze pokojowej przez piętnaście dni. Wysuszonym, rozdrobnionym surowcem roślinnym napełniano gilzy i poddawano ekstrakcji za pomocą aparatu Soxhleta. Jako rozpuszczalnika użyto 70% alkoholu metanolowego. Uzyskane ekstrakty zostały następnie zatężone na wyparce - aby uzyskać ekstrakty metanolowe o różnych stężeniach (50 mg/ml, 100 mg/ml i 250 mg/ml).

Przeprowadzenie badań mikrobiologicznych

Metanolowe ekstrakty dziesięciu roślin badano pod kątem aktywności przeciwgrzybiczej. Badania mikrobiologiczne zostały wykonane zgodnie z normą PN-ISO 7954:1999 [5]. Posiewy wykonywano w trzech powtórzeniach na podłożu selektywnym Sabouraud z chloramfenikolem do hodowli grzybów. Na płytkach Petriego w zatężonym podłożu, jałowym korkoborem wycinano 6mm studzienki, następnie zaszczipiano płytki grzybami. Do każdej studzienki wlewano 0,02 ml ekstraktu. Inkubacja grzybów przebiegała w cieplarni w temperaturze 25°C, odczytów dokonywano po 5 dniach. Aktywność przeciwgrzybiczą MIC oceniano na podstawie pomiarów grzybiczych stref zahamowania.

WYNIKI BADAŃ I DYSKUSJA

W badaniach wykorzystano 10 wyciągów roślinnych, które sporządzono na bazie alkoholu metanolowego. W tabeli 1 przedstawiono minimalne stężenie hamujące (MIC) badanych ekstraktów roślinnych. W przeprowadzonej ocenie przeciwgrzybiczej większość wyciągów roślinnych była aktywna przy 50 mg/ml, dwa wyciągi (*Zingiber officinale*, *Corylus avellana*) przy 100 mg/ml i jeden (*Salvia officinalis*) przy 250 mg/ml.

Na rysunku 1 przedstawiono wpływ metanolowych ekstraktów roślinnych o stężeniu 50 mg/ml na wielkość strefy zahamowania grzybni szczepów *Aspergillus*. Przy tym stężeniu ekstrakty nie zadziały hamująco na wzrost *Aspergillus niger*. Njintensywniejsze działanie przeciwgrzybicze posiadały wyciągi

sporządzone z *Rosmarinus officinalis*, *Melissa officinalis*, *Origanum majorana* i *Artemisia dracunculus* gdyż działały hamująco na wzrost pięciu testowanych szczepów *Aspergillus*. Wyciąg z *Levisticum officinale* hamował wzrost trzech grzybów (*A. fumigatus*, *versicolor* i *parasiticus* ŁO446). Wyciąg z kłącza *Zingiber officinale* i wyciąg z liści *Corylus avellana* działały hamująco tylko na dwa grzyby. Pierwszy na *A. ochraceus* ŁO444 i *flavus* ŁO422, a drugi na *A. parasiticus* ŁO447 i *flavus* ŁO422. Przy stężeniu 50 mg/ml działania przeciwgrzybiczego nie wykazał wyciąg z *Salvia officinalis*.

Tabela 1. Aktywność przeciwgrzybicza badanych wyciągów (MIC <50 mg/ml)

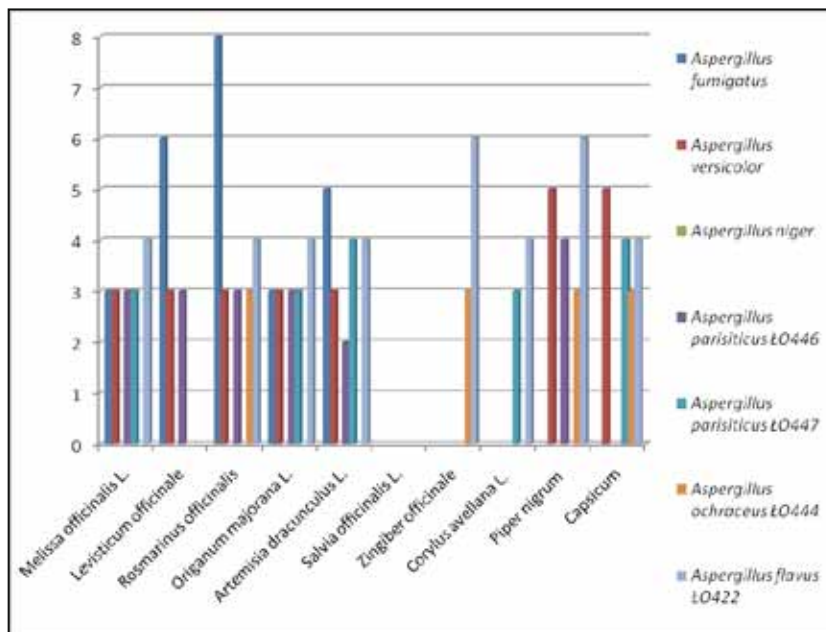
Table 1. The antifungal activity of the tested extracts (MIC <50 mg / ml)

Lp.	Nazwa rośliny	Części rośliny	MIC (mg/ml)
1.	<i>Melissa officinalis</i> L.	ziele	50
2.	<i>Levisticum officinale</i> L.	ziele	50
3.	<i>Rosmarinus officinalis</i>	ziele	50
4.	<i>Origanum majorana</i> L.	ziele	50
5.	<i>Artemisia dracunculus</i> L.	ziele	50
6.	<i>Salvia officinalis</i> L.	ziele	250
7.	<i>Zingiber officinale</i>	kłącze	100
8.	<i>Corylus avellana</i> L.	liście	100
9.	<i>Piper nigrum</i> L.	owoce	50
10.	<i>Capsicum</i> L.	owoce	50

Źródło: Opracowanie własne

Source: Own study

Na rysunku 2 przedstawiono wpływ metanolowych ekstraktów roślinnych o stężeniu 250 mg/ml na wielkość strefy zahamowania grzybni szczepów *Aspergillus*. Wyciągi



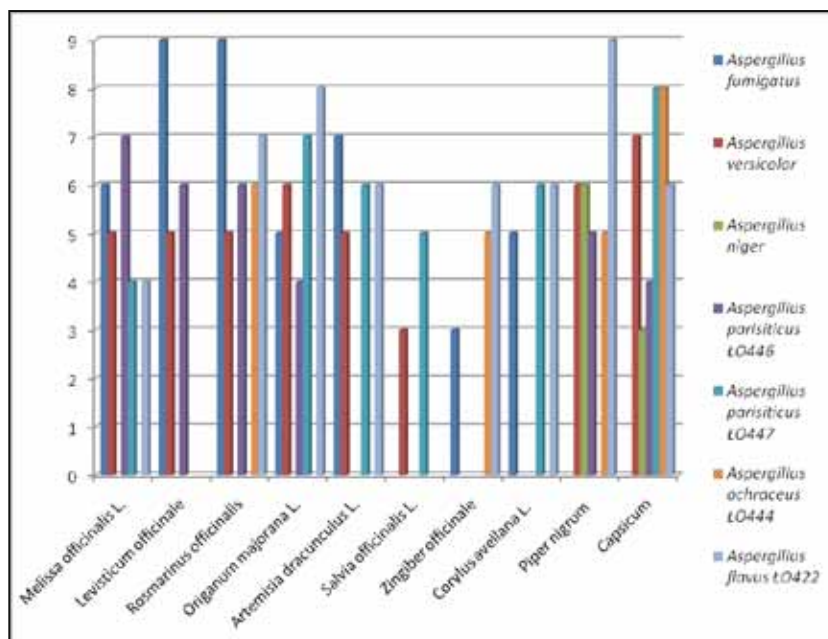
Rys. 1. Wpływ metanolowych ekstraktów roślinnych o stężeniu 50 mg/ml na wielkość strefy zahamowania grzybni szczepów *Aspergillus*.

Fig. 1. Influence of the methanol plant extracts with a concentration of 50 mg / ml as the size of the zone of inhibition of mycelium of *Aspergillus*.

Źródło: Opracowanie własne

Source: Own study

z dwóch roślin (*Piper nigrum* i *Capsicum*) hamowały wzrost grzybni *Aspergillus niger*. Ekstrakt z *Salvia officinalis* w tym stężeniu działał hamująco na wzrost grzybów: *A. versicolor* i *parasiticus* ŁO447. Hać Szymańczuk i in. [3] prowadzili badania dotyczące aktywności przeciwbakteryjnej wyciągów alkoholowych i wodnych z oregano i stwierdzili, iż ekstrakty oraz olejek eteryczny z oregano były źródłem substancji aktywnych, które w różnym stopniu hamowały wzrost i rozwój wybranych szczepów bakterii. Z badań Sahin i in. [6] wynika, że *Origanum* działa na szerokie spektrum bakterii oraz pleśni, między innymi na *Escherichia coli*, *Enterobacter*, *Bacillus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Candida*, *Fusarium*, *Aspergillus*, *Rhizopus* i *Penicillium*. Wyniki badań wykazały, że olejek z *Origanum vulgare* miał wielki potencjał aktywności przeciwbakteryjnej wobec badanych bakterii i grzybów, w przeciwieństwie do ekstraktu w metanolu z części nadziemnych *O. vulgare* roślin, który nie wykazywał aktywności przeciwdrobnoustrojowej. Wynik może sugerować, że olejek *O. vulgare* posiada związki o właściwościach przeciwdrobnoustrojowych i dlatego może być stosowany jako naturalny składnik środka konserwującego w żywności.



Rys. 2. Wpływ metanolowych ekstraktów roślinnych o stężeniu 250 mg/ml na wielkość strefy zahamowania wzrostu szczepów *Aspergillus*.

Fig. 2. Influence of the methanol plant extracts with a concentration of 250 mg / ml as the size of the zone of inhibition of mycelium of *Aspergillus*.

Źródło: Opracowanie własne

Source: Own study

WNIOSKI

1. Działanie przeciwgrzybiczne badanych ekstraktów roślinnych było zróżnicowane, najsilniej hamowały wzrost szczepu *Aspergillus fumigatus* ekstrakty z lubczyku, rozmarynu i estragonu o stężeniu 50 mg/ml.
2. Najsłabsze działanie przeciwgrzybiczne na badane szczepu *Aspergillus* miały ekstrakty roślinne szałwii, leszczyzny i imbiru.
3. Przeprowadzone badania wskazały, że wśród ekstraktów roślinnych znajdują się substancje o wysokiej aktywności przeciwdrobnoustrojowej, co może być wykorzystane do wytwarzania naturalnych składników konserwujących w przemyśle spożywczym.

LITERATURA

- [1] ALASALVAR C., J.M. GRIGOR, D. ZHANG, P.C. QUANTICK, F. SHAHIDI. 2001. „Comparison of volatiles, phenolics, sugars, antioxidants vitamins, and sensory quality of different carrot varieties”. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 1410-1416.
- [2] DEC D., M. STEFANIAK, S. OBIDZIŃSKI, J. PIEKUT. 2015. „Ocena mikrobiologiczna produktów zbożowych dostępnych na rynku województwa podlaskiego”. *Postępy Techniki Przetwórstwa Spożywczego* t.25(1): 48-51.
- [3] HAĆ-SZYMAŃCZUK E., E. LIPIŃSKA, O. GRZEGRZÓŁKA. 2012. „Ocena aktywności przeciwbakteryjnej oregano (*Origanum vulgare* L.)”. *Bromatologia i Chemia Toksykologiczna-XLV*, 3: 308-314.
- [4] HERMANN K. 1978. „Review on nonessential constituents of vegetables. III. Carrots, celery, parsnips, beets, spinach, lettuce, endives, chicory, rhubarb, and artichokes”. *Lebensm Unters Forsch* 167: 262-273.
- [5] PN-ISO 7954:1999 – Mikrobiologia – Ogólne zasady oznaczania drożdży i pleśni – Metoda płytkowa w 25°C.
- [6] ŞAHIN F., M. GÜLLÜCE, D. DAFERERA, A. SÖKMEN, M. SÖKMEN, M. POLISSIOU, G. AGAR, H. ÖZER. 2004. „Biological activities of the essential oils and methanol extract of *Origanum vulgare* ssp. *vulgare* in the Eastern Anatolia region of Turkey”. *Food Control* 15 (7): 549-557.
- [7] SALEEM M., M. NAZIR, M. SHAIG, H. HUSSAIN. 2010. „Antimicrobial natural products: an update on future antibiotic drug candidates”. *Natural Product Reports* 27: 238-254.
- [8] SHER A. 2009. „Antimicrobial activity of natural products from medicinal plants”. *Gomal Journal of Medical Sciences* 7:72-78.
- [9] WIŚNIEWSKA H. 2011. „Mikotoksyny w żywności i paszach”. *Fitopatologia: zdrowe rośliny – zdrowi ludzie*. Bydgoszcz: Polskie Towarzystwo Fitopatologiczne: 18-22.
- [10] ŻUKIEWICZ-SOBCZAK W., P. SOBCZAK, K. IMBOR, E. KRASOWSKA, J. ZWOLIŃSKI, A.HOROCH, A. WOJTYŁA, J. PIĄTEK. 2012. „Zagrożenia grzybowe w budynkach i mieszkaniach – wpływ na organizm człowieka”. *Medycyna Ogólna i Nauki o Zdrowiu* 18: 141-46.