# БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 582.776.2:615.451.2:616-084

# СИРОП МИРТА – НОВЫЙ ПРОДУКТ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО ДЕЙСТВИЯ

Н.В. ТОЛКАЧЕВА $^1$ , Е.З. КОМАРОВСКАЯ-ПОРОХНЯВЕЦ $^2$ , В.П. НОВИКОВ $^2$ 

 $^1$  Никитский ботанический сад — Национальный научный центр, Республика Крым, РФ  $^2$  Национальный университет «Львовская политехника», г. Львов

Разработана новая диетическая добавка «Сироп мирта». Установлено, что она обладает фунгицидными и бактерицидными свойствами. Может использоваться в качестве противовоспалительного и антисептического средства в период сезонных простудных заболеваний, а также источника биологически активных веществ.

**Ключевые слова:** Myrtus communis L., сироп мирта, фунгицидная активность, бактерицидная активность.

#### Ввеление

О лечебных свойствах мирта было известно еще в глубокой древности. Обладая сильными фитоцидными, бактерицидными, иммуностимулирующими свойствами, настои, экстракт и порошок из сухого листа мирта Myrtus communis L. в народной медицине применяются при бронхите, астме, туберкулезе. В современной медицине мирт относится к лекарственным растениям. Его эфирное масло используется в качестве противовоспалительного средства при заболеваниях органов дыхания. Кроме того, масло, выделенное из цветов мирта, обладает антиоксидантными свойствами [9]. Начиная с 50-х годов прошлого столетия, в результате проведенных исследований установлено, что в листьях мирта, кроме эфирного масла, содержатся вещества, антибактериальная активность которых в несколько сот раз выше активности миртового масла [2-8]. Также известно, что эллагитанины, выделенные из разных представителей рода миртовых, обладают мощным антиоксидантным, противодиабетическим, противораковым, антивирусным, антимикробным противогрибковым эффектами [1]. В настоящее время наблюдается воспалительных заболеваний верхних дыхательных путей, трахеи, бронхов, легких. В связи с этим поиск новых эффективных и безопасных лекарственных средств для их лечения и профилактики является актуальной задачей. Одно из перспективных направлений такого поиска – разработка новых диетических добавок, выгодно отличающихся от синтетических лекарственных средств низкой токсичностью. Целью настоящей работы является разработка диетической добавки «Сироп мирта» и определение фунгицидной и бактерицидной активности полученного продукта.

### Объекты и методы исследования

Для приготовления сахарного сиропа в емкость засыпали сахар и смачивали его небольшим количеством воды, смесь оставляли на 30 мин. Затем доливали остальную воду из расчета  $0.36~{\rm M}^3$  на  $0.64~{\rm K}$ г сахара и нагревали смесь до  $60-70^{\circ}{\rm C}$  30-40 мин. После полного растворения сахара сироп кипятили в течении  $15-20~{\rm M}$ ин, признак готовности – отсутствие образования пены. Готовый сироп фильтровали в горячем состоянии. Сахарный сироп представлял собой прозрачную бесцветную или слабо желтую

густоватую жидкость, сладкую на вкус, без запаха, нейтральной реакции, плотность 1,31-1,32 г/см<sup>3</sup>.

Для приготовления экстракта свежесобранные листья мирта высушивали до постоянной массы, измельчали и заливали водно-спиртовым раствором концентрацией 70 об. %. в соотношении 1:10. После 48 ч настаивания при температуре 35-40°С жидкую часть отделяли от твердой фазы фильтрованием.

Сахарный сироп смешивали с экстрактом из листьев мирта в различных соотношениях, и в полученный сироп мирта для улучшения органолептических и стабилизирующих свойств добавляли аскорбиновую кислоту.

Для определения фунгицидной и бактерицидной активности образцов в экспериментах использовались следующие тестовые культуры: бактерии *Escherichia coli, Staphylococcus aureus* и грибы *Candida tenuis, Aspergillus niger*. В качестве контрольных образцов использовали чистый сахарный сироп, а также 70%-ный спиртовый экстракт листьев мирта.

## Определение фунгибактерицидных свойств образцов.

**Метод А.** Диффузия вещества в агар. Твердая питательная среда (МПА — мясо-пептонный агар — для бактерий, СА — сусло-агар — для грибов). Микробная нагрузка  $10^9$  клеток (спор) на  $1~{\rm cm}^3$ . Длительность инкубации бактерий  $24~{\rm ч}$  при температуре  $35^{\rm o}$ С, грибов —  $48\text{-}72~{\rm ч}$  при  $28\text{-}30^{\rm o}$ С. Степень активности исследуемых образцов оценивали по величине зон угнетения роста тестовых культур микроорганизмов по параметрам, приведенным в табл. 1. Повторность опыта трехкратная.

Таблица 1 Параметры оценивания результатов по методу диффузии вещества в агар

<b>№</b> п/п	Диаметр зон задержки роста микроорганизмов, мм	Степень чувствительности микроорганизмов
1	11 – 15	малочувствительный
2	16 – 25	чувствительный
3	> 25	высокочувствительный

Метод Б. Определение фунгибактерицидных свойств образцов в жидкой питательной среде. Исследуемые образцы в объеме 0,1 см<sup>3</sup> вносили в жидкую питательную среду (мясо-пептонный бульон) объемом 1,9 см<sup>3</sup>, инокулировали микроорганизмы с микробной нагрузкой 10<sup>9</sup> клеток на 1 см<sup>3</sup> и инкубировали в термостате двое суток при оптимальной температуре (37°С – для бактерий; 30°С – для грибов). Через каждые 24 ч осуществляли визуальную оценку интенсивности роста микроорганизмов (по степени микробной мутности питательной среды) с дальнейшим высеванием на твердую питательную агаризованную среду. Из пробирок, в которых растворы среды оказались визуально прозрачными, отбирали по 0,02 см<sup>3</sup> среды и наносили на стерильный МПА (для бактерий) или СА (для грибов) в стерильных чашках Петри, которые инкубировали в термостате. Оценку результатов осуществляли для тест-бактерий через 24 ч, для тест-грибов — 48-72 ч, определяя бактерицидное и фунгицидное действие исследуемых образцов по отсутствию роста микроорганизмов на инкубированных чашках Петри.

С целью подсчета количества микроорганизмов (КОЕ/1 см<sup>3</sup> – колонийобразующих единиц в 1 см<sup>3</sup>), сохранивших свою жизнеспособность после внесения определенного образца, осуществили десятикратные разбавления в физиологическом растворе содержимого визуально прозрачных пробирок. Из приготовленных растворов образцов высевали по 1 см<sup>3</sup> на чашки Петри с

соответствующей питательной средой. После этого инкубировали засеянные чашки в термостате при оптимальной температуре (35°C – для бактерий; 28-30°C – для грибов) на протяжении 24-48 ч. Оценку результатов осуществляли путем подсчета колоний микроорганизмов, выросших на чашках Петри, сравнивая с контролем. Повторность опыта трехкратная.

## Результаты и обсуждение

В результате эксперимента разработаны образцы сиропов мирта с массовой долей экстракта мирта в сахарном сиропе 5%, 10%, 15%, 20%, а также образец, содержащий 15% экстракта мирта, с добавлением аскорбиновой кислоты из расчета 400 мг на 100 см $^3$  сиропа. Изучена фунгицидная и бактерицидная активность данных образцов.

При использовании метода диффузии вещества в агар (табл. 2) зона задержки роста бактерий S. aureus при действии образцов 15+A и 20 составляла 11 мм, а при действии образца M-21 мм, причем образец M также оказался эффективным в отношении E. coli в зоне -15 мм. Большинство исследуемых образцов проявили эффект относительно гриба A. niger, а дрожжи C. tenuis оказались резистентными к действию образцов.

Таблица 2 Фунгибактерицидная активность образцов сиропа мирта методом диффузии веществ в агар

$N_{\overline{0}}$	Vон образия	Диаметр зон угнетения роста микроорганизмов, мм								
$\Pi/\Pi$	Код образца	E. coli	S. aureus	C. tenuis	A. niger					
1	С	0	0	0	0					
2	C+A	0	0	0	0					
3	15+A	0	11,0	0	7,0					
4	5	0	0	0	6,0					
5	10	0	0	0	6,0					
6	15	0	9,0	0	7,0					
7	20	0	11,0	0	13,0					
8	M	15,0	21,0	0	15,0					

Обозначения: С – сахарный сироп

А – аскорбиновая кислота

М – экстракт мирта

5; 10; 15; 20-процентное содержание экстракта мирта в сиропе

При внесении исследуемых образцов в жидкую питательную среду наблюдается бактерицидное действие образцов 10, 15, 15+A, 20 относительно бактерий *S. aureus* и фунгицидное – относительно гриба *A. niger* (табл. 3). Рост тестовых бактерий и гриба *A. niger* полностью отсутствовал при действии образца M.

Таблица 3 Фунгибактерицидная активность образцов в жидкой питательной среде

Микроорганизмы	Время,	Интенсивность роста микроорганизмов с внесением в среду								
	Ч	соответствующего образца								
		C	C+A	15+A	5	10	15	20	M	Контроль
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
E. coli	24	+	+	+	+	+	+	+	-	+
	48	++	+	+	+	+	+	+	-	+

							1	Іродол	жени	е таблицы 3
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11
S. aureus	24	+	+	-	-	-	-	-	-	+
	48	++	+	-	±	-	-	-	-	+
C. tenuis	24	+	+	+	+	+	+	+	±	+
	48	++	++	+	+	+	+	+	+	+
A. niger	24	+	+	-	±	±	-	-	-	+
	48	++	+	±	+	+	±	±	-	+

Обозначения: ++ интенсивный рост культуры микроорганизма относительно контроля;

- + рост культуры микроорганизма на уровне контроля;
- ± угнетение роста микроорганизма;
- отсутствие роста микроорганизма.

С помощью метода посева была установлена низкая жизнеспособность бактерий  $S.\ aureus$  и  $E.\ coli$  в среде с образцом M, о чем свидетельствует отсутствие колонийобразующих единиц в 1 см<sup>3</sup> раствора (табл. 4). Образцы 15, 15+A и 20 также отрицательно влияли на жизнеспособность клеток  $S.\ aureus$ . Гриб  $A.\ niger$  трудно выделить отдельными колониями (зарастает вся чашка Петри), поэтому посев с их участием не проводили.

 Таблица 4

 Жизнеспособность микроорганизмов в среде с исследуемыми образцами

Микрорганизмы									
	15+A	15+A 10 15 20 M							
		Количество микроорганизмов, КОЕ/см <sup>3</sup>							
E. coli	100 100 100 100 0					100			
S. aureus	0	100							
C. tenuis	100	100	100	100	100	100			

Таким образом, установлено, что большинство исследуемых образцов проявили фунгицидный эффект относительно гриба  $A.\ niger$  и бактерицидный — по отношению к бактерии  $S.\ aureus$ . В то же время  $C.\ tenuis$  и  $E.\ coli$  оказались резистентными к действию образцов сиропа мирта.

На основании органолептических показателей и разультатов биологических исытаний для внедрания в производство выбран сироп 15+А. Разработана нормативнотехническая документация на сироп мирта (зміна №1 к ТУ У 15.8-00494551-016:2011 Добавки дієтичні. Фітоконцентрати рослинні серії «Нікітський сад»). Выпущена опытная партия сиропа мирта. Получен патент Пат. 87058 Україна, МПК 51 А23L 1/22, Спосіб виробництва фітосиропу / В.М. Єжов, Н.В. Толкачова, Н.М. Бакова, У.І. Канцаєва; власник НБС-ННЦ. — и 2013 07102; заявл. 05.06.2013; опубл. 27.01.2014; Бюл. № 2.

#### Выводы

Разработана новая диетическая добавка «Сироп мирта». Установлено, что она проявляет фунгицидный эффект относительно гриба черной плесени и бактерицидный — по отношению к золотистому стафилококку. В то же время дрожжевой грибок кандида и кишечная палочка оказались резистентными к действию сиропа. «Сироп мирта» может использоваться в качестве продукта профилактического действия в период сезонных простудных заболеваний.

### Список литературы

- 1. *Аль-Хуссейн М., Мартынов А.В.* Структура и биологическая активность некоторых растительных эллагитанинов, выделенных из разных представителей рода миртовых // Annals of Mechnikov Institute. − 2010. − № 4. − C. 35 42.
- 2. Дегтярева А.П. Об антибиотических свойствах мирта обыкновенного (*Myrtus communis* L.). // Бюллетень научно-технической информации Никит. ботан. сада. -1957. -№ 3. C. 64 68.
- 3. Дегтярева А.П. Новые биологически активные вещества в растениях семейства миртовых // 150 лет Государственному Никитскому ботаническому саду. Сборник научных трудов. М., 1964. Т. XXXVII. С. 271 281.
- 4. Дегтярева А.П., Давидюк Л.П. Об антимикробных и лечебных свойствах мирта обыкновенного // Тез. докл. І респ. конф. по мед. ботанике. (Киев, 24-26 октября 1984 г.). Киев, 1984. С 164-165.
- 5. Дегтярева А.П., Починок В.Я., Горпиненко Л.Я. Изучение некоторых свойств антибактериального препарата «Настойка мирта» // Труды государственного Никитского ботанического сада. 1970. Т. XLVI. С. 146-150.
- 6. Дегтярева А.П., Починок В.Я., Чуднова И.М. О результатах изучения антибактериального препарата «Настойка мирта» // Фитонциды. Результаты, перспективы и задачи исследований. -1972.-C.231-237.
- 7. Жемерова Е.Г., Гладченко С.В., Бутенко И.Г. Изучение противовоспалительного и пневмопротекторного действия настойки мирта обыкновенного // Вісник фармації. 1999. № 2(20). С. 141-143.
- 8. Жемерова Е.Г., Гладченко С.В., Кобзарь А.И. // Ліки. 1997. № 6. С. 20 23.
- 9. Derwich E., Benziane Z., Chabir R., Taouil R. Characterisation of volatiles and evaluation of antioxidant activity of the flower essential oils of *Myrtus communis* L from Morocco. // International Journal of Current Pharmaceutical Research. -2011. Vol. 3. P. 17-23.

Статья поступила в редакцию 21.10.2014 г.

Tolkachova N.V., Komarovskaya-Porokhnyavets E.Z., Novikov V.P. Myrtle syrup – a new preventive action product // Bull. of the State Nikit. Botan. Gard. -2014. -N2 112. -P. 54 – 58.

A new dietary supplement "Myrtle Syrup" has been created. It is established that it has fungicidal and bactericidal properties. This syrup can be used as anti-inflammatory and antiseptic during the seasonal colds, as well as a source of biologically active substances.

Key words: Myrtus communis L., Myrtle Syrup, fungicidal activity, bactericidal activity.