

УДК 606:615.453.3(045)

ВИЗНАЧЕННЯ АНТИМІКРОБНОЇ ТА АДСОРБЦІЙНОЇ АКТИВНОСТІ ВУГІЛЛЯ, ЗБАГАЧЕНОГО ФІТОЕКСТРАКТАМИ

Н. М. КОСЦЕВИЧ*

Національний авіаційний університет, м. Київ

Запропоновано метод отримання активованого вугілля із антимікробними властивостями шляхом збагачення сорбенту водними екстрактами шавлії і звіробою. Обґрунтовано значення отриманого фітосорбенту для очищення організму від токсичних продуктів.

Ключові слова: *активоване вугілля, фітосорбент, екстракт шавлії, екстракт звіробою, флавоноїди, дубильні речовини, адсорбційна активність, антимікробна активність.*

Вступ. У зв'язку зі зростанням хвороб, пов'язаних із порушенням обміну речовин людини, важливим завданням фармацевтів і біотехнологів є виготовлення сорбентів із дешевої рослинної сировини, а також знаходження способів вдосконалення вже існуючих технологій. Тому в даній роботі запропонований метод отримання активованого вугілля із антимікробними властивостями шляхом збагачення сорбенту водними фітоекстрактами.

Активоване вугілля – сорбент, який застосовують для очищення організму від токсичних продуктів, а також при запаленні шлунково-кишкового тракту й алергічних процесах. Щодо фітоекстрактів, то вони мають широкий терапевтичний ефект та низьку токсичність. За допомогою поєднання двох лікарських препаратів ми можемо отримати фітосорбент з антибактеріальними властивостями. Однак залишаються відкритими низка питань: на скільки інтенсивно буде проходити адсорбція біологічно-активних речовин, які

Науковий керівник – д.с.-г.н., професор Барановський М.М.

містяться у фітоекстрактах, сорбентом, чи не погіршиться від цього його адсорбційна активність, на скільки чутливими будуть мікроорганізми до дії виготовленого препарату.

У ролі фітоекстрактів обрано екстракти шавлії та звіробою, оскільки вони володіють антимікробною дією до окремих патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, а також мають позитивний вплив на роботу шлунково-кишкового тракту завдяки наявності таких корисних речовин, як флавоноїди, дубильні сполуки, сапоніни, каротиноїди та мікроелементи.

Фітосорбент можна використовувати не лише внутрішньо, а й зовнішньо на рани у формі пов'язки, яка має адсорбційні та антимікробні властивості [1].

Активоване вугілля (від лат. *Carbo activatus*) – це сорбент з високорозвиненою пористою структурою, яку отримують із таких вуглецевих матеріалів органічного походження, як деревне вугілля (марки активованого вугілля БАУ-А, ОУ-А, ДАК та ін.), кам'яновугільний кокс, нафтовий кокс (марки активованого вугілля АГ-3, АГ-5, АР та ін.), шкаралупа кокоса, волоського горіха, кісточка абрикоса, маслини та інших плодових культур [2].

Практична користь активованого вугілля обумовлена двома факторами, перший із яких – висока здатність до адсорбції, реалізована, перш за все, за рахунок великої кількості дрібних пор на поверхні вугілля, і другий – особливості хімічної взаємодії із деякими речовинами [3].

Листя шавлії містять до 2,5% ефірної олії, до складу якої входить цінеол, пінен, туйон, борнеол та інші терпенові сполуки; фенольні сполуки – флаваноїди, дубильні речовини, похідні гідроксикоричних кислот (розмаринова, кавова, хлорогенова, ферулова), цукри та полісахариди, вітаміни групи В і РР, тритерпенові сапоніни [4]. Трава звіробою містить дубильні речовини, ефірну олію, β -ситостерин, тритерпенові сапоніни, вітаміни С, Е, флавоноїди (гіперозид, рутин), антрахінони, макро- та мікроелементи, барвник гіперещин [5].

Активоване вугілля, збагачене фітоекстрактами – фітосорбент, який володіє дезінтоксикаційними властивостями та комплексом сорбційної

активності: зв'язує токсини, білкові комплекси білірубін у й жовчних кислот, патогенні мікроорганізми незалежно від їх видової приналежності, які утворюються в організмі або надходять у травний тракт. Оригінальність і перевага даного фітосорбенту полягає у тому, що він поєднує у собі властивості фітодобавки (шавлії та звіробою) із сорбційною дією активованого вугілля, при цьому дія їх взаємно посилюється, терапевтичний ефект значно підвищується. Фітосорбент є носієм лікарської форми й одночасно очищає організм, діє як адаптоген, має протизапальну й антидіарейну властивості [6, 7].

Механізм антибактеріальної дії фітосорбенту полягає з одного боку у здатності активованого вугілля адсорбувати на собі патогенні мікроорганізми, а з іншого – у міграції макромолекул фітоекстракту, які містить сорбент, у біологічну рідину за рахунок поверхневої дифузії.

Поверхнева дифузія – дифузія, яка пов'язана з переміщенням часточок, котрі відбуваються на поверхні конденсованого тіла в межах першого поверхневого шару атомів (молекул, кластерів) або поверх нього [8]. Переміщатися за рахунок поверхневої дифузії можуть як атоми, що входять до складу самого твердого тіла, так і адсорбовані частинки (атоми, молекули або кластери). Як правило, поверхневі частки стають рухливими за рахунок теплових флуктуацій (зазвичай атомів або молекул). За наявності градієнта концентрації (поверхневої концентрації) випадкове блукання великого числа частинок призводить до їх дифузійного руху у напрямку, протилежному градієнту. На процес дифузії впливають багато факторів: взаємодія між часточками, котрі дифундують, утворення поверхневих фаз (реконструкцій), присутність дефектів [9, 10].

Щодо біологічно-активних речовин, які можуть адсорбуватися активованим вугіллям із фітоекстрактів, то флавоноїди, котрі інгібують ріст мікроорганізмів за рахунок порушення стабільності бактеріальної мембрани й пригнічення активності β -лактамази, а дубильні речовини денатурують білки клітин із утворенням захисної альбумінної плівки.

Окрім внутрішнього застосування активованого вугілля, збагаченого фітоекстрактами, новим напрямком є його використання у якості лікувальної пов'язки на уражені ділянки тіла (рис. 1).

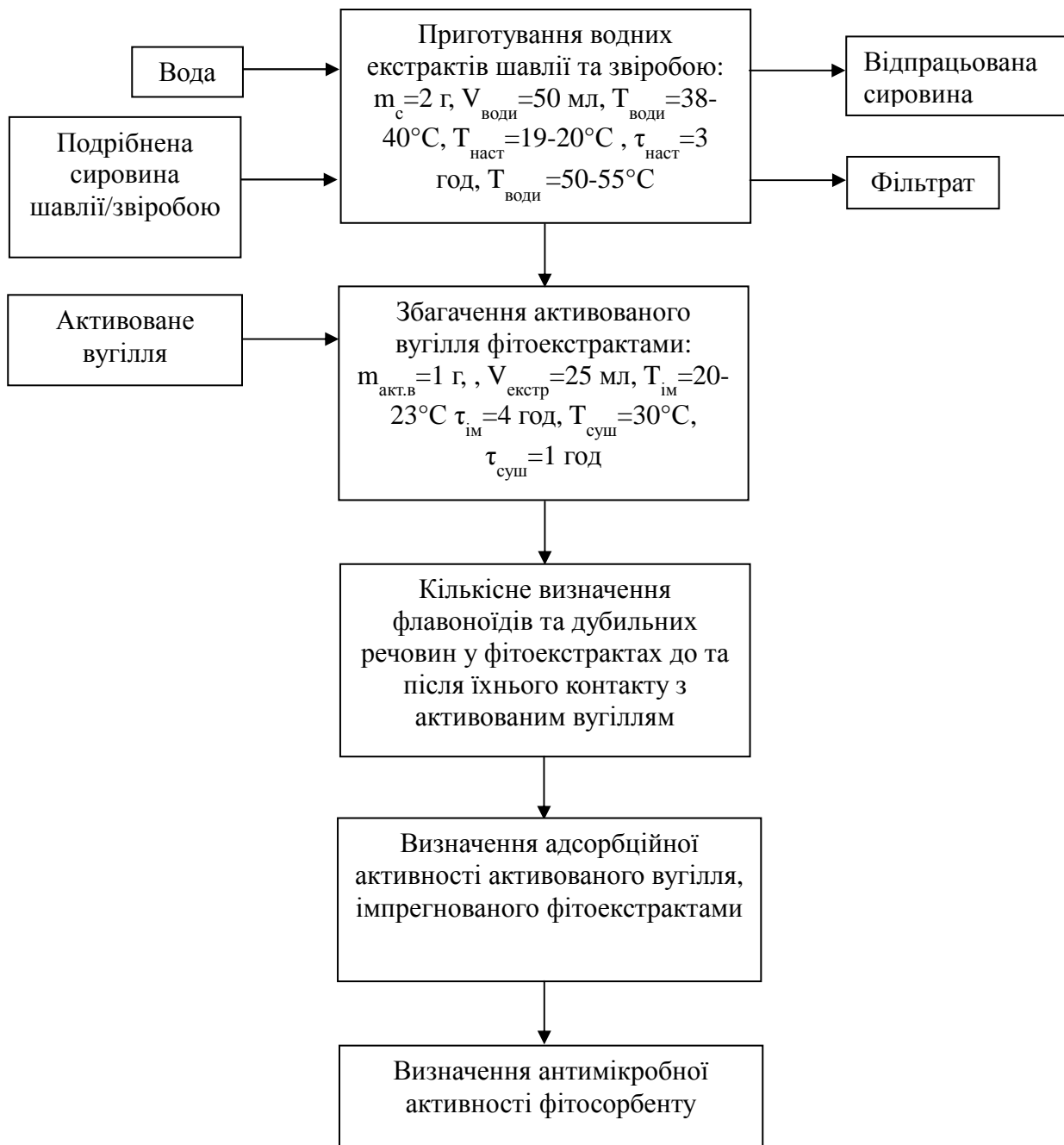


Рис.1. Пов'язка з активованим вугіллям, збагаченим фітоекстрактом

Пов'язки з активованим вугіллям, збагаченим фітоекстрактами, пригнічують інфекційний процес у поверхневих і глибоких ранах, завдяки поєднанню широкого спектра антимікробної активності, ефективного знешкодження токсинів і усунення неприємного запаху. Інкорпоровані частинки фітоекстрактів пригнічують бактерії і гриби, а високопористий шар активованого вугілля зв'язує токсини й молекули, що викликають неприємний запах. При цьому ексудат вільно відтікає у вторинну абсорбуючу пов'язку, а зовнішнє нейлонове покриття забезпечує атравматичну зміну пов'язки без прилипання до рани [11].

Мета роботи – отримати активоване вугілля із антимікробними властивостями шляхом збагачення сорбенту водними екстрактами шавлії і звіробою.

Методи досліджень. Активоване вугілля із антимікробними властивостями було отримане за такою схемою:



Метод кількісного визначення флавоноїдів

Даний метод полягав у вимірюванні оптичної густини освітленого фітоекстракту (шавлії чи звіробою) після його контакту з наважкою сорбенту. У якості маркера-барвника використовували спиртовий розчин AlCl_3 ; у якості контрольного розчину – розчин фітоекстракту, змішаний із спиртовим розчином концентрованої оцтової кислоти в певних пропорціях. Вміст флавоноїдів обчислювали у перерахунку на рутин і виражали у відсотках [12].

Метод кількісного визначення дубильних речовин

Даний метод полягав у вимірюванні оптичної густини освітленого фітоекстракту (шавлії чи звіробою) після його контакту з наважкою сорбенту. У якості контрольного розчину використовували дистильовану воду. Вміст флавоноїдів обчислювали у перерахунку на галову кислоту у відсотках [13].

Метод визначення адсорбційної активності активованого вугілля

Для визначення адсорбційної активності активованого вугілля, збагаченого фітоекстрактами, використовували маркер-барвник метиленовий синій. Метод полягав у вимірюванні оптичної густини освітленого розчину метиленового синього після контакту його з певною наважкою сировини протягом 20 хв при струшуванні й подальшим відстоюванням протягом 5 хв. Вимірювання оптичної густини проводили при довжині хвилі 400 нм у кюветах із товщиною робочого шару 10 мм. Для порівняння використовували воду. Паралельно вимірювали оптичну густину розчинів порівняння метиленового синього з уже відомою концентрацією барвника [14].

Метод визначення антибактеріальної активності фітосорбентів

Для визначення антибактеріальної активності вуглецевих сорбентів використовували метод прямого посіву мікроорганізмів на поживні середовища. У якості поживного середовища обрано середовище Ендо та МПА, а у якості тест-мікроорганізмів – *Escherichia coli*, *Sarcina lutea* та *Micrococcus luteus*.

Дослід проводили у кілька етапів (розглянемо на прикладі *S. lutea*).

1. Приготування бактеріальної суспензії

У пробірку вносили 10 мл фізіологічного розчину NaCl та культуру мікроорганізмів *S. lutea*, визначали концентрацію мікроорганізмів у бактеріальній суспензії на денситометрі.

2. Приготування бактеріальних суспензій *S. lutea* для посіву на поживні середовища

Підготували чотири пробірки. У першу пробірку внесли 9 мл 0,9% NaCl, у другу – 9 мл суспензії активованого вугілля, у третю – 9 мл суспензії активованого вугілля, збагаченого екстрактом шавлії, у четверту – 9 мл суспензії активованого вугілля, збагаченого екстрактом звіробою. У кожену з пробірок вносили по 1 мл бактеріальної суспензії *S. lutea*. Пробірки з активованим вугіллям струшували протягом 10 хв після внесення культури.

3. Посів *M. luteus* на поживне середовище

Посів мікроорганізмів на поживні середовища із пробірок робили через 3 години після приготування бактеріальних суспензій (культури зберігалися при кімнатній температурі, $T=20^{\circ}\text{C}$). Далі робили по два паралельні посіви бактеріальної суспензії із кожної пробірки у кількості 1 мл. У пробірках із активованим вугіллям брали надосадову рідину.

4. Підрахунок мікроорганізмів на поживному середовищі

Через 48 години інкубування мікроорганізмів у термостаті за температури $35-36^{\circ}\text{C}$ підраховували кількість колоній.

Кращим розведенням бактеріальної суспензії варто вважати те, при висіві з якого на поживному середовищі виросло від 30 до 300 колоній мікроорганізмів [15, 16].

Результати досліджень та їх обговорення

Таблиця 1

Вміст флавоноїдів у фітоекстрактах після контакту з сорбентом ($\text{мг/мл}\cdot 10^{-2}$)

Час контакту фітоекстракту з активованим вугіллям, год.	Екстракт звіробою	Екстракт шавлії
контроль	0,98	0,84
2	0,85	0,72
4	0,77	0,7
10	0,76	0,69

На рис. 2. показаний вміст флавоноїдів в активованому вугіллі, яке контактувало з фітоекстрактами шавлії та звіробою.

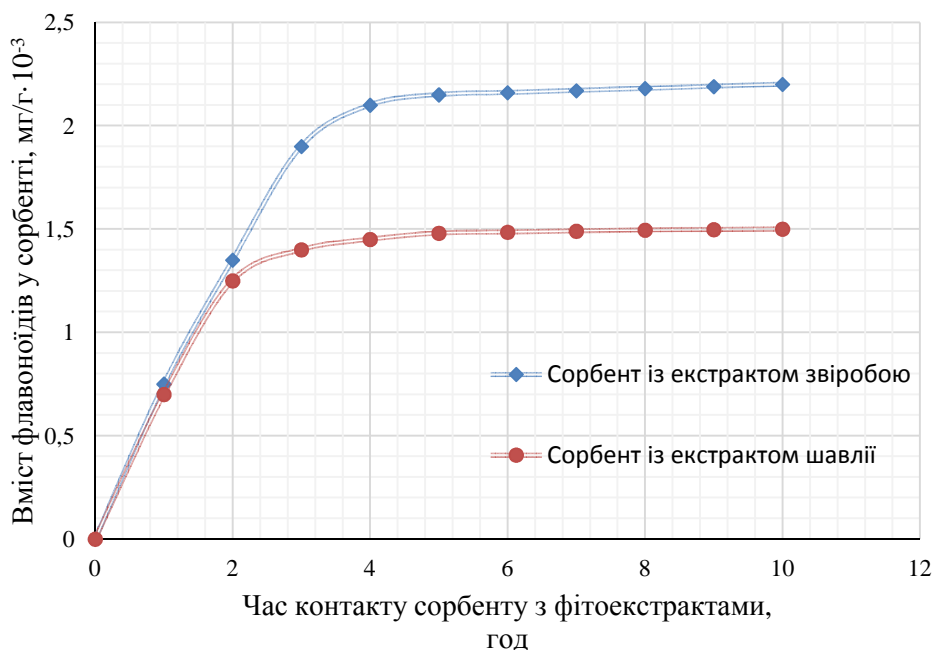


Рис. 2. Вміст флавоноїдів у сорбенті після контакту з фітоекстрактами

Як видно з рис. 2, вміст флавоноїдів у фітосорбентах становить:

- при контакті 2 год. з екстрактом звіробою – $1,35 \cdot 10^{-3}$ мг/г, шавлії – $1,25 \cdot 10^{-3}$ мг/г;

- при контакті 4 год. з екстрактом звіробою – $2,10 \cdot 10^{-3}$ мг/г; шавлії – $1,45 \cdot 10^{-3}$ мг/г;

- при контакті 10 год. з екстрактом звіробою – $2,20 \cdot 10^{-3}$ мг/г; шавлії – $1,50 \cdot 10^{-3}$ мг/г.

При цьому вміст флавоноїдів у фітоекстрактах після їхнього контакту з активованим вугіллям зменшувався:

- упродовж 2 годин в екстракті звіробою – на 13,77 %, шавлії - 14,88 %;
- упродовж 4 годин в екстракті звіробою – на 21,43 %, шавлії - 17,26 %;
- упродовж 10 годин в екстракті звіробою – на 22,45 %, шавлії - 17,86 %.

Вміст дубильних речовин у фітоекстрактах після їхнього контакту з сорбентом (мг/мл·10⁻²)

Час контакту фітоекстракту з активованим вугіллям, год.	Екстракт звіробою	Екстракт шавлії
контроль	2,24	1,65
2	1,96	1,43
4	1,92	1,4
10	1,9	1,39

На рис. 3. показаний вміст дубильних речовин в активованому вігіллі, яке контактувало з фітоекстрактами шавлії та звіробою.

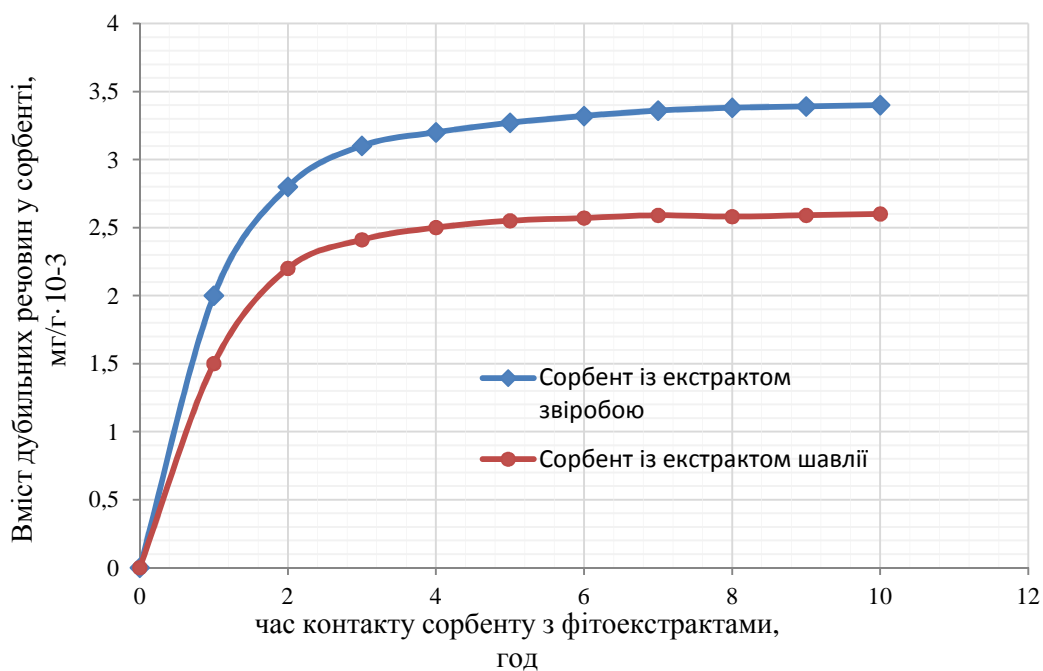


Рис. 3. Вміст дубильних речовин у сорбенті після контакту з фітоекстрактами

Як видно з рис. 3, вміст дубильних речовин у фітосорбентах становить:

- при контакті 2 год. з екстрактом звіробою – $2,80 \cdot 10^{-3}$ мг/г, шавлії – $2,2 \cdot 10^{-3}$ мг/г;

- при контакті 4 год. з екстрактом звіробою – $3,20 \cdot 10^{-3}$ мг/г; шавлії – $2,50 \cdot 10^{-3}$ мг/г;

- при контакті 10 год. з екстрактом звіробою – $3,40 \cdot 10^{-3}$ мг/г; шавлії – $2,60 \cdot 10^{-3}$ мг/г.

При цьому вміст дубильних речовин у фітоекстрактах після їхнього контакту з активованим вугіллям зменшувався:

- упродовж 2 год. в екстракті звіробою – на 12,5 %, шавлії – 13,33 %;
- упродовж 4 год. в екстракті звіробою – на 14,29 %, шавлії – 15,15 %;
- упродовж 10 год. в екстракті звіробою – на 15,18 %, шавлії – 15,76 %.

Для перевірки того, чи не знизилася адсорбційна здатність активованого вугілля після його контакту з фітоекстрактами, ми визначили адсорбційну активність досліджуваних сорбентів та обрали оптимальний час контакту сорбентів із фітоекстрактами.

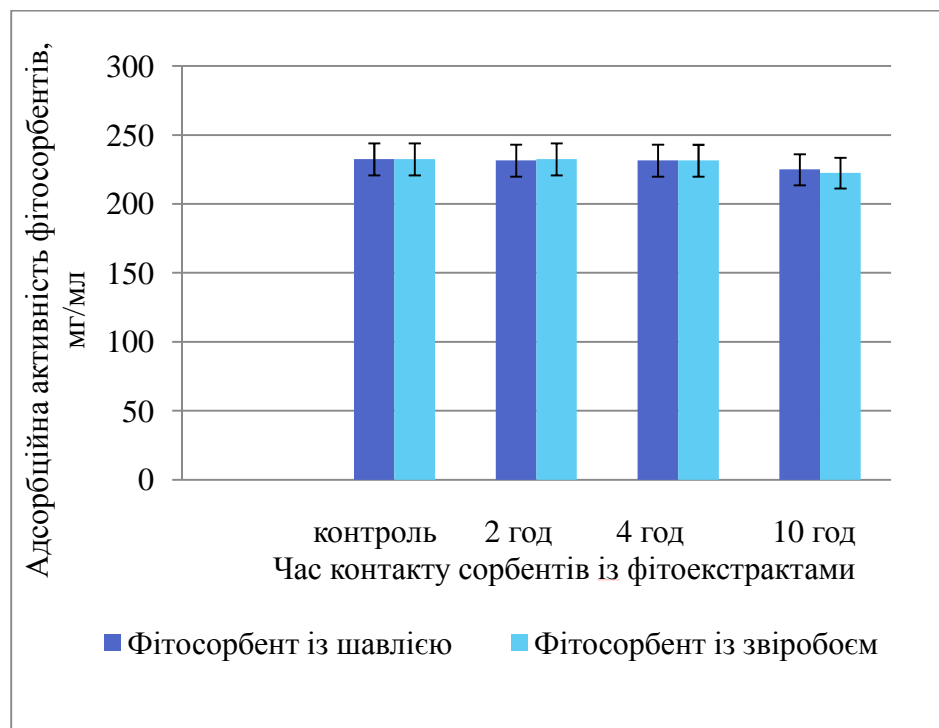


Рис. 4. Адсорбційна активність фітосорбентів у залежності від часу їхнього контакту з екстрактами шавлії та звіробою

Отже, результати досліджень підтвердили, що збагачення активованого вугілля екстрактами шавлії та звіробою суттєво не впливає на його адсорбційну здатність, якщо час їхнього контакту становить 2 та 4 год (адсорбційна активність зменшилася в межах 0,5 %). При контакті сорбенту з зазначеними

фітоекстрактами протягом 10 годин адсорбційна активність активованого вугілля зменшилася на 3 % у випадку з шавлією і на 3,23 % у випадку із звіробоем. Оскільки збагачення активованого вугілля протягом 4 годин у зазначених водних екстрактах дало високі показники адсорбції сорбентом флавоноїдів і дубильних речовин, то для подальших досліджень по визначенню антимікробної активності фітосорбенту ми проводили дослідження саме з цими зразками

Результати дослідження по визначенню антибактеріальної активності активованого вугілля по відношенню до тест-мікроорганізмів (рис. 5):

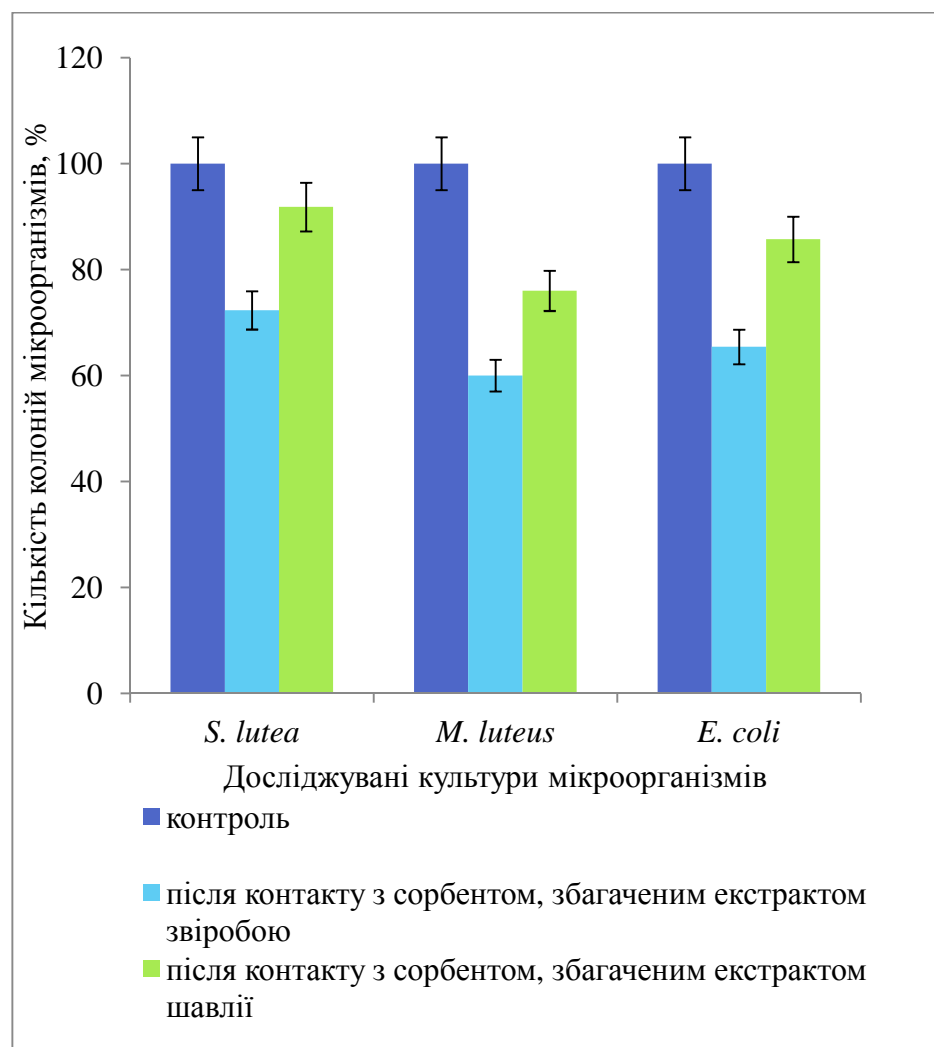


Рис. 5 Порівняльна діаграма антимікробної дії фітосорбентів із екстрактом шавлії та звіробоею по відношенню до всіх досліджуваних мікроорганізмів

Отримані результати свідчать про те, що:

- після контакту суспензії мікроорганізмів *S. lutea* із активованим вугіллям, збагаченим екстрактом звіробою, кількість колоній, які вирости на ЧП зменшилася на 29,7 % порівняно з контролем (у якості контролю був здійснений підрахунок колоній *S. lutea*, які вирости на ЧП, після контакту суспензії даних мікроорганізмів зі звичайним активованим вугіллям).

- після контакту суспензії мікроорганізмів *S. lutea* із активованим вугіллям, збагаченим екстрактом шавлії, кількість колоній, що вирости на ЧП зменшилася на 8,2 % порівняно з контролем;

- після контакту суспензії мікроорганізмів *M. luteus* із активованим вугіллям, збагаченим екстрактом звіробою, кількість мікроорганізмів, які вирости на ЧП зменшилася на 40 % порівняно з контролем (у якості контролю був здійснений підрахунок колоній *M. luteus*, які вирости на ЧП, після контакту суспензії даних мікроорганізмів зі звичайним активованим вугіллям);

- після контакту суспензії мікроорганізмів *M. luteus* із активованим вугіллям, збагаченим екстрактом шавлії, кількість колоній, що вирости на ЧП зменшилася на 24% порівняно з контролем.

- після контакту суспензії мікроорганізмів *E. coli* із активованим вугіллям, збагаченим екстрактом звіробою, кількість колоній, які вирости на ЧП зменшилася на 34,6 % порівняно з контролем (у якості контролю був здійснений підрахунок колоній *E. coli*, які вирости на ЧП, після контакту суспензії даних мікроорганізмів зі звичайним активованим вугіллям);

- після контакту суспензії мікроорганізмів *E. coli* із активованим вугіллям, збагаченим екстрактом шавлії, кількість колоній, що вирости на ЧП зменшилася на 14,3 % порівняно з контролем.

Отримані результати свідчать про те, що збагачення активованого вугілля екстрактом звіробою, надає сорбенту більшої антимікробної дії у порівнянні з екстрактом шавлії по відношенню до: *S. lutea* на 27,6 %; *M. luteus* на 60 %; *E. coli* на 41,3 %.

ВИСНОВКИ

1. Досліджено вплив збагачення активованого вугілля екстрактами шавлії та звіробою за різного часу контакту для встановлення можливості надання сорбенту антимікробних властивостей до грампозитивних та грамнегативних бактерій.

2. Встановлено, що сорбент адсорбує флавоноїди та дубильні речовини й при цьому зберігає свою високу адсорбційну здатність при контакті з водними екстрактами шавлії та звіробою протягом 4 год.

3. Активоване вугілля, збагачене екстрактами шавлії та звіробою, має антимікробну активність до грампозитивних (*S. lutea*, *M. luteus*) та грамнегативних бактерій (*E. coli*).

4. Кількість колоній мікроорганізмів, яка виросла на чашках Петрі, після контакту бактеріальної суспензії із активованим вугіллям, збагаченим екстрактом звіробою, знизилася: *S. lutea* на 29,7 %; *M. luteus* на 40%; *E. coli* на 34,6 % у порівнянні з контролем.

5. Кількість колоній мікроорганізмів, яка виросла на чашках Петрі, після контакту бактеріальної суспензії із активованим вугіллям, збагаченим екстрактом шавлії, знизилася: *S. lutea* на 8,2 %; *M. luteus* на 24 %; *E. coli* на 14,3 % у порівнянні з контролем.

6. Збагачення активованого вугілля екстрактом звіробою, надає сорбенту більшої антимікробної дії у порівнянні з екстрактом шавлії по відношенню до *S. lutea* на 27,6%; *M. luteus* на 60 %; *E. coli* на 41,3 %.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Даников Н. И. Целебные свойства активированного угля / Н. И. Даников. – М.: Эксмо, 2014. – 150 с.
2. ГОСТ 6217-74. – Вугілля активоване деревне подрібнене. Технічні умови. Москва: видавництво стандартів, 2003.

3. Беликова С. Е. Водоподготовка: справочник / С. Е. Беликова. – М.: Аква-Терм, 2007. – 240 с.
4. Самылина И. А. Лекарственные растения державной фармакопеи / И. А. Самылина, В. А. Северцова. – М.: Наука, 1999. – 488 с.
5. Гаммерман А. Ф. Лекарственные растения / А. Ф. Гаммерман, Г. Н. Кадаев. – М.: Наука, 1990. – 108 с.
6. Особливості дії фітосорбентів [Електронний ресурс]. – Електрон. текст. дані. – Київ. – Режим доступу: <http://www.biolife.com.ua/osobennosti-raboty-fitosorbentov-fitoklin-fitosorbin-fitosorbin-f.html>
7. Фітосорбент ФСЕ [Електронний ресурс]. – Електрон. текст. дані. – Маріуполь, 2013. – Режим доступу: http://tovarizdorovie.com.ua/fitosorbent_fse_poroshok_bank_a_
8. Прохоров А. М. Поверхностная диффузия / А. М. Прохоров // Физическая энциклопедия. – М.: Советская энциклопедия, 1988. – 644 с.
9. Оура К. Введение в физику поверхности / Оура К., Лифшиц В. Г., Саранин А. А. – М.: Наука, 2006. – 490 с.
10. Seebauer H. P. E. G. Surface diffusion on metals, semiconductors, and insulators / Seebauer H. P. E., Jung M. Y. L.G // Physics of covered solid surfaces. – Berlin: Springer, 2001. – 311 p.
11. Зіліфікаров І. М. Вдосконалення стандартизації сировини та фітопрепаратів евкалипту путовидного / І. М. Зіліфікаров // Розробка, дослідження і маркетинг нової фармацевтичної продукції. Вип. 62.: наук. пр. – П'ятигорськ, 2007. – С. 57–59.
12. Лобанова А. А. Дослідження біологічно-активних флаваноїдів у екстрактах із рослинної сировини / Лобанова А. А., Будаєва В. В., Сакович Г. В. // Хімія рослинної сировини. – 2004. – Вип. 1. – С. 47–52.
13. Золотов Ю. А. Основы аналитической химии. Методы химического анализа / Золотов Ю. А., Дорохова Э. М., Фадеева В. И. – М.: Высшая школа, 2002. – 494 с.

14. ГОСТ 4453–74. Вугілля активоване деревне подрібнене. Технічні умови. [Електронний ресурс]. – Електрон. текст. дані. – Режим доступу: <http://gostexpert.ru/gost/gost-4453-74>

15. Реєстр російських патентів. Ентеросорбент рослинного походження та спосіб його отримання. [Електронний ресурс]. – Електрон. текст. дані. – Москва, 2006. – Режим доступу: <http://bd.patent.su/2391000-2391999/pat/servlet/servlet5eb8.html>

16. Aqil F. Evaluation of antimethicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity and synergy of some bioactive plant extracts / Aqil F., Ahmad I., Owais M. – NY: Basel Press, 2000. – 512 p.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ АНТИМИКРОБНОЙ И АДСОРБЦИОННОЙ АКТИВНОСТИ УГЛЯ, ОБОГАЩЕННОГО ФИТОЭКСТРАКТАМИ

Н. Н. КОСЦЕВИЧ

Национальный авиационный университет, г. Киев

Предложен метод получения активированного угля с антимикробными свойствами путем обогащения сорбента водными экстрактами шалфея и зверобоя. Обосновано значение полученного фитосорбента для очистки организма от токсических продуктов обмена веществ.

Ключевые слова: активированный уголь, фитосорбент, экстракт шалфея, экстракт зверобоя, флавоноиды, дубильные вещества, адсорбционная активность, антимикробная активность.

***DETERMINATION OF ANTIMICROBIAL AND ADSORPTION ACTIVITY OF
COAL ENRICHED PHYTOEXTRACTS***

N. N. KOSTSEVICH

National Aviation University, Kiev

Proposed the method of obtaining activated coal with antimicrobial properties by enriching sorbent aqueous extracts of sage and tutsan. Justified the value obtained phytosorbents for cleaning the organism from the toxic products.

Keywords: *activated coal, phytosorbents, extract of sage, extract of tutsan, flavonoids, tannins, adsorption activity, antimicrobial activity.*