

3. Kojima Y., Moriya K., Nakamura Y., Ozawa O. Seito gijutsu kenkyukaiishi // Proc.Res.Soc.Ja-P.Sugar Refin.Technol. - 1997. -V.45. - P.43-51.
4. Мазур П.Я., Столярова Л.И. Снижение сахараёмкости булочных и сдобных изделий // Хлебопекарная и кондитерская промышленность. -1987. - №3. - С.341-344.
5. Verhaest M., Ende W., Roy K., Ranter C. X-ray diffraction structure of a plant glycosyl hydrolase family 32 protein: fructan 1- exohydrolase IIa of *Cichorium intybus* // The Plant Journal. - 2005. - №41. -P.400-411.
6. Nagem R., Rojas A., Golubev A., Korneeva O., Eneyskaya E. Crystal structure of exo-inulinase from *Aspergillus awamori*: the enzyme fold and structural determinants of substrate recognition // J. Mol. Biol. - 2004. - №344. -P.471-480.
7. Мирзарахметова Д.Т., Рахимов М.М., Абдуразакова С.Х., Ахмедова З.Р. Ферментативная конверсия субстратов инвертазы в водно-органической среде // Прикладная Биохимия и Микробиология. -2006. -№2. - С.160-174.
8. Афанасьева Г.А., Щербукин В.Д. Модификация ферроцианидного варианта глюкооксидазного метода определения глюкозы // Прикладная Биохимия и Микробиология. -1975. - №3. - С.460-462.
9. Lowry O., Rosenbryl N., Farr A. Protein measurement with the folin phenol reagent // J. Biol. Chem. -1954. -V.193. - P.265-275.
10. Мирзарахметова Д.Т., Абдуразакова С.Х., Ахмедова З.Р., Буриханов Ш.С. Субстратная специфичность инвертазы // Химия природных соединений. -2000. - №1. - С.14-17.
11. Мирзарахметова Д.Т., Дехканов Д.Б., Абдуразакова С.Х., Ахмедова З.Р., Рахимов М.М. Свойства инвертазы, ковалентно иммобилизованной на активированном угле // Прикладная биохимия и микробиология. - 2009. -Т. 45. - №3. - С. 287-291.

УДК: 57.069.4:582.263

Т.С. Кустова*¹, Т.А. Карпенюк¹, А.В. Гончарова¹, Л.К. Мамонов²

¹Казахский национальный университет им. аль-Фараби, г. Алматы
 , Казахстан²Институт биологии и биотехнологии растений, г. Алматы, Казахстан

*e-mail: kus_talya@yahoo.com

Антимикробная и антиоксидантная активность экстрактов, выделенных из растений Казахстана

Исследованы антимикробные и антиоксидантные свойства экстрактов, выделенных из растений флоры Казахстана. Выявлены перспективные растительные экстракты с высокой антиоксидантной и антимикробной активностями. К ним относятся дихлорметановые экстракты *Rhodiola quadrifida* (все растение), *Epilobium hirsutum* (надземная часть) и *Rumex confertus* (корни), этанольный экстракт *Atraphaxis replicata* Lam. (надземная часть).

Ключевые слова: растительные экстракты, антимикробная активность, антиоксидантная активностью.

T.S. Kustova, T.A. Karpenyuk, A.V. Goncharova, L.K. Mamonov

Antimicrobial and antioxidant activities of crude extracts isolated from plants growing in Kazakhstan

This study was carried out to determine the antimicrobial and antioxidant properties of crude extracts isolated from plants growing in Kazakhstan. We have selected the most promising crude extracts with high antimicrobial and antioxidant activities: dichloromethane extracts *Rhodiola quadrifida* (whole plant), *Epilobium hirsutum* (aerial part) and *Rumex confertus* (roots), ethanol extract *Atraphaxis replicata* Lam. (aerial part).

Keywords: crude extracts isolated from plants, antimicrobial activity, antioxidant activity.

Т.С. Кустова, Т.А. Карпенюк, А.В. Гончарова, Л.К. Мамонов

Қазақстанның өсімдіктерінің бөлініп алынған экстракттерінің антимикробтық және антиоксиданттық белсенділігі

Қазақстан өсімдіктерінің флорасынан бөлініп алынған экстракттарының антиоксидантты антимикробты құрылымы зерттелінді. Перспективті жоғары антиоксидантты және антимикробты белсенділігі бар өсімдік экстрактылары анықталды. Оларға дихлорметанды экстрактылар *Rhodiola quadrifida* (барлық өсімдіктер), *Epilobium hirsutum* (жер бетіндегі бөлік) және *Rumex confertus* (тамырлар), этанолды экстракт *Atraphaxis replicata* Lam. (жер бетіндегі бөлік).

Түйін сөздер: өсімдік экстрактылары, антимикробты белсенділік, антиоксидантты белсенділік.

В настоящее время среди населения растет спектр инфекционных заболеваний, что требует поиска новых средств, обладающих антимикробным действием. Одним из таких средств являются биологически активные вещества (БАВ) растений, которые представлены разнообразными классами

органических соединений - алкалоидами, гликозидами, дубильными веществами, флавоноидами, органическими кислотами, витаминами, жирными маслами и другими веществами [1, 2]. Они поддерживают кислотно-щелочное равновесие в организме, предупреждают развитие атеросклероза, используются как бактерицидные, мочегонные, желчегонные, болеутоляющие, успокаивающие и отхаркивающие средства, ускоряют заживление ран, регулируют секреторную функцию желудочно-кишечного тракта, стимулируют сердечную деятельность, обладают противовоспалительным, сосудорасширяющим, сосудукрепляющим и другими видами фармакологического действия [3].

Кроме антимикробной активности БАВ растений обладают и другим рядом важных свойств, они связывают излишние свободные радикалы, препятствуют ускоренному окислению липидов и образованию нежелательных продуктов окисления, что может быть полезно для лечения ряда заболеваний не только с инфекционной этиологией.

В связи с этим, в задачи нашего исследования входил поиск экстрактов, выделенных из растений флоры Казахстана, сочетающих в себе как антимикробную, так и антиоксидатную активности.

Материалы и методы

Объектом исследований являлись дикорастущие растения флоры Казахстана, принадлежащие к разным семействам: *Epilobium hirsutum* (Onagraceae), *Rumex confertus* (Polygonaceae), *Vexibia alopecuroides* (L.) Jakovl. (Fabaceae), *Atraphaxis replicata* Lam. (Polygonaceae), *Sanguisorba officinalis* L. (Rosaceae Juss), *Polygonum undulatum* Murr. (Polygonaceae Lindl.), *Rhodiola quadrifida* (Pall.) Fisch. et Mey.

Растения были собраны в фазу цветения в 2013 г. в Алматинской области и Восточном Казахстане. Идентификация видов растений проводилась сравнением их с коллекционным материалом Гербария Института ботаники и фитоинтродукции МОН РК и по определителям [4, 5].

В работе использовали стандартные методы заготовки, фиксации и подготовки к дальнейшим исследованиям образцов растений. Для извлечения веществ из растительного сырья применяли дихлорметан и этанол. Суммарные экстракты выделяли из различных частей растений (надземная часть, корни, целое растение) и использовали для исследования их антимикробного и антиоксидантного потенциала.

Антимикробную активность суммарных экстрактов определяли методом серийных разведений в бульоне [6, 7] с использованием следующих штаммов патогенных и условно патогенных микроорганизмов: бактерии *Staphylococcus aureus* ATCC № 29213, *Methicillin-resistant S. aureus* ATCC №43300, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, дрожжеподобные грибы *Candida albicans* ATCC № 90028, *Candida krusei* ATCC 6258, *Candida glabrata* ATCC 90030. Препаратами сравнения были антибиотики «Ципрофлоксацин» и «Амфотерицин В».

Антиоксидантный потенциал суммарных экстрактов определяли с использованием радикал-катионов ABTS^{•+} по методу Re et al. [8]. Принцип метода заключается в совместном инкубировании ABTS (2,2'-азино-бис-(этилбензтиазолино-6-сульфонат)) с персульфатом аммония, что приводило к образованию катион-радикала ABTS^{•+}. Полученный раствор имел относительно стабильный зелено-голубой цвет за счет катион-радикала ABTS^{•+}, который обладал максимумом поглощения при длине волны 734 нм. Антиоксиданты, содержащиеся в тестируемой пробе, уменьшали оптическую плотность пропорционально их концентрации в образце. Исследование проводили в трех независимых повторях. В качестве положительного контроля использовали аскорбиновую кислоту. Полученные результаты выражали через значения параметров IC₅₀ — концентрации анализируемых экстрактов, при которой происходило 50%-ное ингибирование свободного радикала ABTS^{•+}.

Результаты и их обсуждение

В работе было исследовано 7 растительных экстрактов. Полученные данные (таблица 1) показали, что взятые в эксперимент экстракты обладали разной антимикробной активностью. Часть экстрактов обладали антигрибковой, а часть – антибактериальной активностями. Так суммарный экстракт, выделенный из надземной части *Epilobium hirsutum* дихлорметановым растворителем, показал хорошую активность по отношению к *Candida glabrata* (IC₅₀ составила 2 мкг/мл), суммарный экстракт, выделенный дихлорметановым растворителем из всего растения *Rhodiola quadrifida*, показал хорошую активность против *C. glabrata* (IC₅₀ 2,9 мкг/мл) и *C. krusei* (IC₅₀ 9,2 мкг/мл), дихлорметановый суммарный экстракт из корней *Rumex confertus* обладал хорошей активностью против *C. glabrata* (IC₅₀ 2,9 мкг/мл), спиртовой суммарный экстракт, полученный из корней *Sanguisorba officinalis* L. проявил активность по отношению *C. glabrata* (IC₅₀ 2,47 мкг/мл), *C. krusei*

(IC₅₀ 8,7 мкг/мл) и небольшую активность по отношению *C. albicans* (IC₅₀ 19,2 мкг/мл). Дихлорметановый экстракт, выделенный из надземной части *Polygonum undulatum* Мунг., проявил слабую активность только по отношению *C. glabrata* (IC₅₀ 36,9 мкг/мл). Два дихлорметановых экстракта, выделенные из корней растений *Rumex confertus* и *Vexibia alopecuroides*, проявили антибактериальную активность: экстракт из корней *Rumex confertus* показал хорошую активность против *Staphylococcus aureus* (IC₅₀ 10,8 мкг/мл) и *Methicillin-resistant S. aureus* (IC₅₀ 16,2 мкг/мл), а самая высокая антибактериальная активность среди испытанных растительных экстрактов была показана *Vexibia alopecuroides* в отношении *Staphylococcus aureus* (IC₅₀ 3,05 мкг/мл) и *Methicillin-resistant S. aureus* (IC₅₀ 2,9 мкг/мл).

Согласно существующей практике [7] экстракт считается активным, если IC₅₀ ≤ 20 мкг/мл. Поэтому для дальнейших исследований были отобраны экстракты, полученные из *Rhodiola quadrifida* (все растение), *Epilobium hirsutum* (надземная часть), *Rumex confertus* (корни), *Vexibia alopecuroides* (корни), *Sanguisorba officinalis* L. (корни).

Таблица 1 – Скрининг растительных экстрактов на антимикробную активность

Исследуемый экстракт	<i>S. aureus</i>	<i>Methicillin-resistant S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. glabrata</i>	<i>C. krusei</i>	<i>C. albicans</i>
	IC ₅₀ *(мкг/мл)**					
<i>Rhodiola quadrifida</i> (все растение) дихлорметан	-	-	-	2,9±2,33	9,2±0,4	-
<i>Epilobium hirsutum</i> (надземная часть) дихлорметан	-	-	-	2,0±0,80	-	-
<i>Rumex confertus</i> (корни) дихлорметан	10,8±0,44	16,2±1,02	-	2,9±0,37	-	-
<i>Vexibia alopecuroides</i> (корни) дихлорметан	3,05±1,74	2,9±0,20	-	-	-	-
<i>Atraphaxis replicate</i> Lam. (надземная часть) этанол	-	-	-	-	-	30±3,5
<i>Polygonum undulatum</i> Мунг. (надземная часть) дихлорметан	-	-	-	36,9±4,93	-	-
<i>Sanguisorba officinalis</i> L. (корни) этанол	-	-	-	2,47±2,33	8,7±1,06	19,2±1,5
Ципрофлоксацин (контроль)	0,1±0,02	0,1±0,01	0,1±0,01	-	-	-
Амфотерицин В (контроль)	-	-	-	0,14±0,03	0,55±0,1	0,28±0,1
* IC ₅₀ , концентрации полумаксимального ингибирования						
** в таблице представлены среднее значение ± стандартное отклонение (n=3)						

Таблица 2 – Скрининг растительных экстрактов на антиоксидантную активность

Исследуемый экстракт	IC ₅₀ (мкг/мл)
<i>Rhodiola quadrifida</i> (все растение) дихлорметан	5.6
<i>Epilobium hirsutum</i> (надземная часть) дихлорметан	4.0
<i>Rumex confertus</i> (корни) дихлорметан	3.8
<i>Vexibia alopecuroides</i> (корни) дихлорметан	NA
<i>Atraphaxis replicate</i> Lam. (надземная часть) этанол	3.8
<i>Sanguisorba officinalis</i> L. (корни) этанол	NA
<i>Polygonum undulatum</i> Мунг. (надземная часть) дихлорметан	NA
Аскорбиновая кислота (контроль)	1.83
NA- не активен	

Для определения антиоксидантной активности растительных экстрактов использовали реакцию с ABTS, основанную на способности восстанавливать ABTS^{•+} радикал (таблица 2). Можно отметить,

что 4 растительных экстракта проявили высокую антиоксидантную активность: *Rhodiola quadrifida* (все растение, растворитель дихлорметан), *Epilobium hirsutum* (надземная часть, растворитель дихлорметан), *Rumex confertus* (корни, растворитель дихлорметан), *Atraphaxis replicate Lam.* (надземная часть, растворитель спирт). Наибольшей антиоксидантной активностью среди проверенных растительных экстрактов обладали экстракты *Rumex confertus* (корни, растворитель дихлорметан) и *Atraphaxis replicate Lam.* (надземная часть, растворитель спирт), IC_{50} которых составила 3,8 мкг/мл. 3 экстракта с антимикробной активностью антиоксидантной активностью не обладали.

Таким образом, проведенный скрининг позволил выявить наиболее перспективные растительные экстракты с высокой антиоксидантной и антимикробной активностями. К ним относятся дихлорметановые экстракты *Rhodiola quadrifida* (все растение), *Epilobium hirsutum* (надземная часть) и *Rumex confertus* (корни), этанольный экстракт *Atraphaxis replicate Lam.* (надземная часть). Они могут быть рекомендованы в качестве основы для создания препаратов профилактического и лечебного характера.

Литература

- 1 Cseke L.J., Kirakosyan A., Kaufman P.B., Warber S.L., Duke J.A., Brielmann H.L. Natural products from plants. - Boca Raton, London: New York, 2006. – 611 p.
- 2 Биологически активные вещества растительного происхождения. – Москва: Наука, 2001, 2002. - т. 1-3.
- 3 Dillard C.J., German J.B. Phytochemicals: nutraceuticals and human health // Journal of the Science of Food and Agriculture. – 2000. – P. –V. 80. – P. 1744-1756.
- 4 Флора Казахстана. - Алма-Ата, 1956, 1966. - Т. I-IX.
- 5 Иллюстрированный определитель растений Казахстана. -Алма-Ата, 1969. -Т.1. - С. 243.
- 6 National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (Wayne, Pa.): Reference method for broth dilution antifungal susceptibility testing of yeasts; Approved Standard – Second Edition. Document M27-A2, 2002. – 22 p.
- 7 NCCLS: Methods for dilution antimicrobial susceptibility test for bacteria that grow aerobically, approved Standard – Seventh edition. Document M7-A7. – 2006. – 26 p.
- 8 Re R., Pellegrini N., Proteggente A. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation depolarization assay // Free Radical Biology and Medicine. – 1999. – Vol. 26. - N9/10. – P. 1231–1237.

УДК 577.29; 579.672; 579.8.06; 579.252.2

К.Г. Ли*, А.К. Молдагулова, Э.Е. Бекенова, А.К. Кажыбаев, М.Ж. Каирова, М.С. Уразова,
С.М. Шайхин, К.Х. Алмагамбетов

Республиканская коллекция микроорганизмов, г. Астана, Казахстан

*e-mail: lee11@mail.ru

Быстрый метод обнаружения *L. casei* и *L. rhamnosus* в продуктах молочнокислого брожения

Разработан метод дифференцированного обнаружения двух видов молочнокислых бактерий - *Lactobacillus casei* и *Lactobacillus rhamnosus* в продуктах питания. Метод основан на амплификации специализированных генов, кодирующих пептидогликангидролазы - p40 и p75. Результаты модельных экспериментов по прямому выделению ДНК из молочнокислых продуктов с последующей амплификацией специфических последовательностей посредством дизайнированных праймеров могут служить основой создания тест-системы для экспресс-анализа молочнокислой продукции пищевых производств.

Ключевые слова: Лактобациллы, ПЦР, праймеры, тест-система.

K.G. Lee, A.K. Moldagulova E.E.Bekenova, A.K. Kazhybaev, M.J. Kairova, M.S. Urazova,
S.M. Shaikhin, K.Kh. Almagambetov

Rapid method of *L. casei* and *L. rhamnosus* detection in lactic fermentation products

A method for differential detection of two types of lactic acid bacteria - *Lactobacillus casei* and *Lactobacillus rhamnosus* in food was developed. The method is based on amplification of specific genes encoding peptidoglycan hydrolases - p40 and p75. The results of model experiments on the direct isolation of DNA from milk products, followed by amplification of specific sequences by designed primers can serve as the basis for creating a test system for rapid analysis of fermented milk products of food production.

Keywords: *Lactobacillus*, PCR, primers, test-system.