

Karolina Kraśniewska<sup>1)</sup>, Małgorzata Gniewosz<sup>1)</sup>, Katarzyna Bączek<sup>2)</sup>,  
Olga Kosakowska<sup>2)</sup>

## PRZECIWDROBNOUSTROJOWA AKTYWNOŚĆ EKSTRAKTU Z KLĄCZY BERGENII GRUBOLISTNEJ (*BERGENIA CRASSIFOLIA* (L.) FRITSCH)\*

<sup>1)</sup>Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności  
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie  
Kierownik: dr hab. S. Błażejczak, prof. SGGW

<sup>2)</sup>Katedra Roślin Warzywnych i Leczniczych Wydziału Ogrodnictwa i Architektury  
Krajobrazu Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie  
Kierownik: dr hab. J. Gajc-Wolska, prof. SGGW

*W pracy oceniono przeciwdrobnoustrojową aktywność wodnego ekstraktu z kłączy bergenii grubolistnej (*Bergenia crassifolia*). Wyznaczono minimalne stężenie hamujące (MIC) i minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) ekstraktu względem bakterii: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076, *Proteus mirabilis* ATCC 35659. Zarówno w suchych kłączach jak i w użytym do badań ekstrakcie wodnym z tego surowca oznaczono ogólną zawartość garbników i fenolokwasów. Ekstrakt zawierał 3-krotnie więcej fenolokwasów i 2-krotnie więcej garbników. Uzyskany ekstrakt odznaczał się aktywnością mikrobiologiczną względem wszystkich użytych w doświadczeniu bakterii. Jego najsilniejsze bakteriostatyczne i bakteriobójcze działanie stwierdzono względem Gram (+) bakterii *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Spośród bakterii Gram (-) najbardziej wrażliwy na działanie ekstraktu był szczep *Proteus mirabilis* ATCC 35659.*

Hasła kluczowe: aktywność przeciwdrobnoustajowa, ekstrakt z bergenii grubolistnej, MIC, MBC.

Key words: antimicrobial activity, extract from *Bergenia crassifolia*, MIC, MBC.

Begonia grubolistna (*Bergenia crassifolia*) jest rośliną wieloletnią należącą do rodziny skalnicowatych (*Saxifragaceae*) rosnącą w stanie dzikim w środkowo-wschodniej Azji, na terenie Rosji, Mongolii i Chin. W Polsce uprawiana jest jako zimotrwała roślina ozdobna. Naturalnie występuje na skalistych zboczach gór na wysokości od 1100 do 1800 m n.p.m. Część nadziemną bergenii tworzą ciemnozielone, skórzaste liście osadzone na grubych, mięsistych ogonkach liściowych. Pędy kwiatostanowe zakończone są z blad- lub ciemnoróżowymi kwiatami pojawiającymi się wczesną wiosną. Część podziemną stanowi grube kłącze z korzeniami (1). Surowcem leczniczym bywają zarówno liście jak i organy

\* Pracę zrealizowano w ramach projektu badawczego MNiSzW Nr N N312 068038.

podziemne bergonii. W organach podziemnych składających się głównie z kłączy występują głównie garbniki, flawonidy i pochodne kumaryny. Silne działanie przeciwutleniające wyciągów z kłączy wiązane jest między innymi z występującymi w nich katechinami (2-4). Wyciągi zarówno z kłączy jak i z liści wykazują działanie przeciwzapalne, przeciwbakteryjne i przeciwbiegunkowe. Stosowane są one w chorobach dróg moczowych i przewodu pokarmowego, a także jako środek podnoszący odporność organizmu (5-7).

Celem badań było zbadanie przeciwdrobnoustrojowej aktywności ekstraktu wodnego z kłączy bergonii grubolistnej.

## MATERIAŁ I METODY

Materiał do badań stanowiły kłącza bergonii grubolistnej zebrane w kwietniu 2010 roku z plantacji na polu doświadczalnym Katedry Roślin Warzywnych i Leczniczych w Wilanowie. Przeprowadzona została periodyczna ekstrakcja surowca wodą destylowaną przy stosunku surowca do rozpuszczalnika 1:5. Ekstrakcje prowadzono za pomocą półtechnicznego, prototypowego urządzenia do ekstrakcji i destylacji ziół 3EU01 przez 3 godz. w temp.  $80^{\circ}\text{C}\pm 5^{\circ}\text{C}$ . Następnie ekstrakt zagęszczono na wyparce rotacyjnej (Rotavapor R-205, Büchi), w celu odparowania rozpuszczalnika. Zastosowano następujące temperatury: łaźni grzewczej  $60^{\circ}\text{C}$ , skroplin  $40^{\circ}\text{C}$ , wody chłodzącej  $20^{\circ}\text{C}$ . Powstały roztwór ekstraktu zamrożono, a następnie liofilizowano przez 72 godz. (Labconco FreeZone 2,5) i rozdrobniono. Ekstrakt do badań rozpuszczono w wodzie.

Materiał biologiczny stanowiły następujące szczepy bakterii: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Proteus mirabilis* ATCC 35659.

Minimalne stężenie hamujące MIC (ang. Minimal Inhibitory Concentration) ekstraktów wyznaczono metodą seryjnych makrorozcieńczeń w płynnym podłożu bulionowym *Mueller – Hinton* (BTL, Polska) (8). Ekstrakt zbadano w zakresie stężeń od 0,08 do 40 mg s.s/cm<sup>3</sup>. Do każdej próbówki wprowadzono 24 godz. hodowlę bakteryjną, uzyskując końcowe inokulum bakteryjne wynoszące około  $5 \times 10^5$  jtk/cm<sup>3</sup>. Inkubacje prowadzono przez 16-20 godz. w temp.  $37^{\circ}\text{C}$ . Wartością MIC określono najmniejsze stężenie ekstraktu, przy którym nie zaobserwowano wizualnie wzrostu (zmętnienia podłoża) badanego szczepu bakterii, a jednocześnie poprzedzało stężenie, w którym wzrost był widoczny. Minimalne stężenie bakteriobójcze MBC (ang. Minimal Bactericidal Concentration) określono wybierając te rozcieńczenia ekstraktu, w których nie zaobserwowano wzrostu danego drobnoustroju, przenoszono na płytki *Petrie*go 0,1 cm<sup>3</sup> z hodowli, a następnie zalewano podłożem *Mueller-Hinton* (BTL, Polska). Inkubację prowadzono przez 16-20 godz. w temp.  $37^{\circ}\text{C}$ . Wartością MBC określono stężenie ekstraktu, przy którym występuje zmniejszenie liczby żywych bakterii o 99,9%.

Ogólną zawartość garbników i fenolokwasów w kłączach bergenii oraz w ekstrakcie wodnym z tego surowca oznaczono spektrofotometrycznie zgodnie z metodą opisaną w Farmakopei Polskiej VI (9).

## WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Ogólną zawartość garbników i fenolokwasów w suchych kłączach bergenii jak i w pochodzącym z nich ekstrakcie wodnym przedstawiono w tabeli I. W ekstrakcie zawartości frakcji fenolokwasowej była około 3-krotnie wyższa a frakcji garbnikowej 2-krotnie wyższa w porównaniu z zawartością tych związków w kłączach.

Tabela I. Ogólna zawartość fenolokwasów i garbników w kłączach bergenii grubolistnej i ekstrakcie wodnym z tego surowca

Table I. The content of phenolic acids and tannins in rhizomes of *Bergenia crassifolia* and in extract from this raw material

	Fenolokwasy	Garbniki
	(% ± SD)	
Surowiec roślinny z kłączy bergenii	3,03±0,56	3,85±0,05
Ekstrakt wodny z kłączy bergenii	10,83±0,64	6,18±0,17

Przeciwdrobnoustrojową aktywność wodnego ekstraktu z kłączy bergenii grubolistnej w odniesieniu do badanej grupy bakterii przedstawiono w tabeli II.

Tabela II. Minimalne stężenie hamujące (MIC) oraz minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) wodnego ekstraktu z kłączy *Bergenia crassifolia*

Table II. Minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of water extracts from *Bergenia crassifolia* rhizomes

Szczep	Ekstrakt	
	MIC	MBC
	(mg s.s./cm <sup>3</sup> )	
bakterie Gram (+)		
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	0,63	1,25
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	1,25	2,5
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	2,5	5
bakterie Gram (-)		
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 35659	1,25	2,5

Ekstrakt wodny wykazywał silniejsze działanie przeciwbakteryjne względem bakterii Gram (+). Jego najwyższą aktywność przeciwbakteryjną stwierdzono w stosunku do bakterii *B. subtilis* ATCC 6633. Minimalne stężenie hamujące ekstraktu względem tej bakterii wynosiło 0,63 mg/cm<sup>3</sup>. Wysoką aktywność

bakteriostatyczną i bakteriobójczą ekstraktu odnotowano również względem bakterii *S. aureus* ATCC 25923; wartość MIC wynosiła 1,25 mg/cm<sup>3</sup>, a MBC równe było 2,5 mg/cm<sup>3</sup>. Ekstrakt słabiej hamował wzrost bakterii *E. faecalis* ATCC 29212.

Bakterie Gram (-) były znacznie oporniejsze na działanie wodnego ekstraktu z bergenii. Wyjątek stanowił *P. mirabilis* ATCC 35659, którego wartości MIC i MBC mieściły się w zakresie stężeń, jakie stosowano do hamowania wzrostu bakterii Gram (+). W przypadku *S. Enteritidis* ATCC 13076 i *E. coli* ATCC 25922 minimalne stężenia hamujące wzrost tych bakterii były dużo wyższe i wynosiły odpowiednio 5 mg/cm<sup>3</sup> i 10 mg/cm<sup>3</sup>.

W dostępnej literaturze można znaleźć jedynie badania dotyczące przeciwdrobnoustrojowych właściwości etanolowego ekstraktu z kłączy bergenii grubolistnej przeprowadzone przez Kokoska i współprac. (10). Hamujące działanie tego ekstraktu stwierdzono w stosunku do bakterii: *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* oraz drożdży: *Candida albicans*.

Sinha i współprac. (11) sprawdzili aktywność przeciwbakteryjną metanolowego ekstraktu z kłączy innego gatunku bergenii – *Bergenia ciliata*. Ekstrakt silnie hamował wzrost Gram (+) bakterii: *S. aureus* NCTC 6571. Spośród bakterii Gram (-) najwrażliwsze na działanie ekstraktu okazały się: *E. coli* ATCC 10536 oraz *Shigella dysenteriae* NCTC 5.

## WNIOSKI

1. Ekstrakty z kłączy bergenii odznaczały się aktywnością przeciwdrobnoustrojową względem wszystkich użytych w doświadczeniu bakterii.
2. Najsilniejsze działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze wodnego ekstraktu z kłączy bergenii odnotowano względem Gram (+) bakterii *Bacillus subtilis* ATCC 6633.
3. Spośród bakterii Gram (-) najbardziej wrażliwy na działanie ekstraktu był szczep *Proteus mirabilis* ATCC 35659.
4. Uzyskane wyniki wskazują, że ekstrakty z bergenii mogą być dobrej jakości biokonserwantami, wykorzystywanymi w utrwalaniu produktów spożywczych.

K. Kraśniewska, M. Gniewosz, K. Bączek, O. Kosakowska

### ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACT FROM *BERGENIA CRASSIFOLIA* (L.) FRITSCH) RHIZOMES

#### Summary

In this study antimicrobial activity of water extract from *Bergenia crassifolia* rhizomes was determined. The minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) of this extract was investigated against bacteria: *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella* Enteritidis ATCC 13076, *Proteus mirabilis* ATCC 35659. The total content of tannins and

phenolic acids in rhizomes of *Bergenia crassifolia* and water extracts of this plant was also determined. Extract contained 3-fold higher phenolic acid and 2-fold higher tannin content than rhizomes of this plant. Extract showed antimicrobial activity against all bacteria used in the experiment. The results showed that water extracts of *Bergenia crassifolia* rhizomes had the strongest bacteriostatic and bactericidal activity against G(+) bacteria *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Moreover, extract efficiently inhibited the growth of G(-) bacteria *Proteus mirabilis* ATCC 35659. The water extract contained 3-fold higher phenolic acid and 2-fold higher tannin content than rhizomes of this plant.

#### PIŚMIENNICTWO

1. *Aniško T.*: When Perennials Bloom. Almanac for Planning and Planting. Timber Press, Portland, 2008; 36: 469. – 2. *Shilova I.V., Pisareva S.I., Krasnov E.A., Bruzhes M.A., Pyak A I.*: Antioxidant properties of *Bergenia crassifolia* extract. Pharmaceut. Chem. J., 2004; 40 (11): 620-623. – 3. *Kohlmünzer S.*: Farmakognozna. Podręcznik dla studentów farmacji, Wyd. PZWL, Warszawa, 2000; 253. – 4. *Ivanov S.A., Nomura K., Malfanov I.L., Sklyar I.V., Pritsyn L.R.*: Isolation of a novel catechin from *Bergenia* rhizomes that has pronounced lipase-inhibiting and antioxidative properties. Fitoterapia, 2011; 82: 212-218. – 5. *Popov S.V., Popova G.Yu., Nikolaeva S.Yu., Glolovchenko V.V., Ovodova R.G.*: Immunostimulating Activity of Pectic Polysaccharide from *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch. Phytotherap. Res., 2005; 19: 1052-1056. – 6. *Zhamsaranova S. D., Sedunova Y.G., Lebedeva S.N., Nikolayev S.M.*: Immunocorectical activity of dry extract from black (hibernated) leaves of *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch, Rastitel'nye resursy, 2001; 37 (4): 20-31. – 7. *Sokolov S. Ya.*: Phytotherapy and Phytopharmacology, MedInform, 2000. – 8. Clinical and Laboratory Standards Institute. 8<sup>th</sup> ed. CLSI document M07-A8, Wayne, PA, 2009. – 9. Farmakopea Polska VI, Polskie Towarzystwo Farmaceutyczne, Warszawa, 2002. – 10. *Kokoska L., Polesny Z., Rada V., Nepovim A., Vanek T.*: Screening of some Siberian medicinal plants for antimicrobial activity. J. Ethnopharmacol., 2002; 82: 51-53.
11. *Sinha S., Murugesan T., Maiti K., Gayen J. R., Pal B., Pal M., Saha B. P.*: Antibacterial activity of *Bergenia ciliata* rhizome. Fitoterapia, 2001; 72: 550-552.

Adres: 02-776 Warszawa, ul. Nowoursynowska 159c.