

ANTIBAKTERIJSKA AKTIVNOST RAZLIČITIH EKSTRAKATA *HELIANTHUS TUBEROSUS* L.

Milica Zelenika¹, Pavle Mašković¹, Leka Mandić¹, Zvezdana Tadić¹, Slavica Vesković-Moračanin², Desimir Knežević³, Vesna Đurović¹, Dragutin Đukić¹

Izvod:

Cilj našeg istraživanja je poređenje antibakterijske aktivnosti ekstrakata *Helianthus tuberosus* L. dobijenim polarnim (metanol) i nepolarnim (petrol-etar) rastvaračima.

Najjaču antibakterijsku aktivnost ispoljio je metanolski ekstrakt u odnosu na bakteriju *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 i *Escherichia coli* ATCC 25922. Petrol-etarski ekstrakt ispoljio je najjaču antibakterijsku aktivnost u odnosu na *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028. Najslabiju antibakterijsku aktivnost ispoljio je dobijen petrol-etarski ekstrakt u odnosu na *Listeria monocytogenes* ATCC 19112.

Rezultati ukazuju da je jaču antibakterijsku aktivnost ispoljio ekstrakt dobijen polarnim rastvaračem.

Ključne reči: *Helianthus tuberosus* L., antibakterijska aktivnost, polarni rastvarač, nepolarni rastvarač.

Uvod

Čičoka (*Helianthus tuberosus* L.) pripada familiji Asteraceae (glavočike). Vodi poreklo iz Severne Amerike. Na teritoriji Srbije raste kao autohtona vrsta pri čemu zbog intenzivnog rasta potiskuje druge vrste i time smanjuje biološku raznovrsnost. Čičoka se odlikuje ekonomskom vrednošću zbog dobre adaptacije na različite tipove zemljišta, klimatske uslove, brzog rasta i višenamenske upotrebe. Na vrhu stabljike koja može da dostigne visinu i do 3,5 m u septembru se javljaju žuti cvetovi, nalik suncokretovim, koje posećuju pčele radi skupljanja polena. Pod zemljom raste krtola, za koju je karakterističano prisustvo inulina kao glavnog ugljenog hidrata, za razliku od većine drugih biljaka kod kojih je to skrob. Inulin utiče na smanjen rizik za kardiovaskularne bolesti, prevenciju i/ili ublažavanje osteoporoze, koristi se u ishrani dijebetičara jer hidrolizom daje fruktozu. Kao sirovina za proizvodnju obnovljivih izvora energije, poboljšava apsorpciju i nadoknađuje minerale kojih nema u velikim količinama u organizmu [1, 2]. Čičoka se odlikuje niskim sadržajem masnoća, kao i velikom koncentracijom vitamina B-grupe, vitamini C i D. Lišće čičoke sadrži veće koncentracije vitamina C, proteina, pepela, lignina, uronske kiseline [2] od drugih delova biljke. Iako se koristi u ljudskoj ishrani to nije njena primarna svrha.

¹Univerzitet u Kragujevcu, Agronomski fakultet u Čačku, Cara Dušana 34, Čačak, Srbija (milica.zelenika@yahoo.com);

² Institut za higijenu i tehnologiju mesa, Kačanskog 13, 11000 Beograd, Srbija.

³Univerzitet u Prištini, Poljoprivredni fakultet, Kosovska Mitrovica -Lešak, Kopaonička bb, 38219 Lešak, Kosovo i Metohija, Srbija

Upotreba mikroorganizama i biljnih ekstrakata predstavlja osnovu razvoja novih tehnologija biološkog konzervisanja i zaštite [3]. Mnogi istraživači ukazuju na činjenicu da efektivnost ekstrakcije zavisi od prirode rastvarača, pH, vremena ekstrakcije, tehnike ekstrakcije [4, 5], kao i da neadekvatna ekstrakcija utiče na krajnji rezultat analize [6]. Zbog dobijanja najvećeg prinosa najčešće korišćeni rastvarači prilikom analize biljnog materijala su metanol, etanol, etil-acetat, petrol-etar pri čemu je metanol najpogodniji rastvarač za izdvajanje sekundarnih metabolita [4, 6, 7,], gde se prinos polifenola povećava sa povećanjem vremena ekstrakcije [8].

Cilj rada je poređenje antibakterijske aktivnosti ekstrakata *Helianthus tuberosus* L. dobijenim polarnim (metanol) i nepolarnim (petrol-etar) rastvaračima.

Materijal i metode rada

Priprema biljnog ekstrakta

Uzorak lista biljke *Helianthus tuberosus* L. sakupljen je početkom decembra meseca 2014. godine. Uzorkovanje je izvršeno u mestu Trbušani (43°54'39.06" N, 20°19'10,21" E, 246 m a.s.l), koje se nalazi u okolini Čačka.

Biljka *Helianthus tuberosus* L. je osušena na vazduhu u provetrenoj i zamračenoj prostoriji, na sobnoj temperaturi, radi sprečavanja razgradnje aktivnih sastojaka. Sasušeni listovi biljke su usitnjeni pomoću blendera i tako dobijeni biljni materijal ekstrahovan je maceracijom. Kao rastvarači su korišćeni metanol i petrol-etar.

Određivanje antimikrobne aktivnosti ekstrakta

Za određivanje antimikrobne aktivnosti određena je minimalna inhibitorna koncentracija ispitivanih uzoraka mikrodilucionom metodom. Za svaki soj provereni su uslovi rasta i sterilnost medijuma. Standardni antibiotik amracin korišćen je za kontrolu osjetljivosti testiranih bakterija. Za pripremu hranljive podloge korišćeno je 0,5 g hranljivog agra + 4,375g kazein-hidrolizata + 0,375g štirka, sve zajedno rastvoreno u 250 mL destilovane vode. Uzorak lista čičoke (0,005g ekstrakta + 5mL H₂O) je ekstahovan metanolom (polarni rastvarač) i petrol-etrom (nepolarni rastvarač). U jamice mirkotitar ploče dodavan je resazurin kao indikator boje i bakterijske suspenzije 8 bakterijskih sojeva (4 Gram pozitivna i 4 Gram negativna soja) iz kolekcije Laboratorije za mikrobiologiju, Agronomskog fakulteta u Čačku. Bakterijske suspenzije su dobijene okretanjem epruveta sa bakterijskom kulturom između dlanova, nakon čega je merena apsorbancija na $A = 0.045$. Ploče su ostavljene u termostatu 24h na 37 °C. Nakon toga promena boje se ocenjuje vizuelno. Svaka promena boje od ljubičaste, roze ili bezbojne zabeležena je kao pozitivna promena.

Rezultati istraživanja i diskusija

U tabeli 1. prikazani su rezultati dobijeni određivanjem antimikrobne aktivnosti metanolskog i petrol-etarskog ekstrakta biljne vrste *Helianthus tuberosus* L. Rezultati dobijeni mikrodilucionom metodom pokazuju značajnu inhibitornu aktivnost ekstrakta lišća pri čemu MIC vrednosti iznose od 7.8125 µg/mL do 500.00 µg/mL.

Metanolski ekstrakt izolovan iz biljke *Helianthus tuberosus* L. ispoljava inhibitornu aktivnost u odnosu na svih osam testiranih bakterijskih sojeva. Najrezistentniji bakterijski sojevi, čiji su rast inhibirale koncentracije od 125 µg/mL su *Enterococcus faecium* ATCC 6057 i *Salmonella enteritidis* ATCC 1307, dok je rast *Listeria monocytogenes* ATCC 19112 i *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 inhibiran pri koncentraciji ekstrakta od 62.50 µg/mL. Rast bakterijskih sojeva *Escherichia coli* ATCC 8739 i *Listeria ivanovii* ATCC 19119 inhibiran je pri koncentraciji ekstrakta od 15.625 µg/mL. Metanolski ekstrakt biljke *Helianthus tuberosus* L. ispoljio je najjaču antibakterijsku aktivnost u odnosu na *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 i *Escherichia coli* ATCC 25922.

Petrol-etarski ekstrakt čičoke ispoljio je najslabiju antimikrobnu aktivnost u odnosu na *Listeria monocytogenes* ATCC 19112 (500.00 µg/mL), dok je nesto jača aktivnost primećena u odnosu na bakterije *Escherichia coli* ATCC 8739 i *Enterococcus faecium* ATCC 6057 pri koncentraciji od 125.00 µg/mL, odnosno, *Listeria ivanovii* ATCC 19119 (62.50 µg/mL). Inhibiciju rasta pri koncentraciji od 31.35 µg/mL ispoljio je petrol-etarski ekstrakt čičoke u odnosu na bakterije *Salmonella enteritidis* ATCC 13076 i *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Najjaču antibakterijsku aktivnost petrol-etarski ekstrakt je ispoljio u odnosu na *Escherichia coli* ATCC 25922 (15.625 µg/mL), odnosno, u odnosu na *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 (7.8125 µg/mL).

Tabela 1. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) ekstrakata biljne vrste *Helianthus tuberosus* L.

Table 1. Minimal inhibitory concentration (MIC) extracts of plant species *Helianthus tuberosus* L.

Bakterije <i>Bacterias</i>	Metanolski ekstrakt <i>Methanol extracts</i> MIC µg/mL	Petrol-etarski ekstrakt <i>Petroleum-ether extracts</i> MIC µg/mL	Amracin <i>Amracin</i> µg/mL
1. <i>Listeria ivanovii</i> ATCC 19119 G+	15.625	62.50	0.485
2. <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19112 G+	62.50	500.00	1.94
3. <i>Enterococcus faecium</i> ATCC 6057 G+	125.00	125.00	1.94
4. <i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212 G+	62.50	31.35	1.94
5. <i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076 G-	125.00	31.35	0.485
6. <i>Salmonella Typhimurium</i> ATCC 14028 G-	7.8125	7.8125	1.94
7. <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 G-	15.625	125.00	0.97
8. <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922 G-	7.8125	15.625	0.97

U poređenju sa standardnim antibioticima (MIC vrednosti od 0.485 do 1.94 µg/mL), ispitivani ekstrakti ispoljavaju umereno jaku antimikrobnu aktivnost sa MIC vrednostima u intervalu od 7.8125 µg/mL do 500.00 µg/mL za izabrane ATCC sojeve.

Dobijeni rezultati ukazuju da je jaču antibakterijsku aktivnost ispoljio ekstrakt dobijen polarnim rastvaračem.

Antimikrobna aktivnost metanolskih ekstrakata u istraživanjima drugih naučnika se pokazala kao efikasnija od drugih rastvarača u odnosu na testirane bakterije i gljive [9, 10, 11, 12].

Zaključak

Sa stanovišta antibakterijskog delovanja, ispitivanjem je ustanovljeno da biljni ekstrakt *Helianthus tuberosus* L. poseduje antibakterijsku aktivnost. Na bakterije je veći efekat ispoljio metanolski ekstrakt u odnosu na petrol-etarski.

Metanolski ekstrakt ove biljne kulture ispoljio je značajno jače dejstvo u odnosu na ispitivane bakterijske sojeve nego petrol-etarski ekstrakt, posebno u odnosu na sojeve vrste *E. coli*.

Napomena

Istraživanja u ovom radu deo su projekta “Poboljšanje genetičkog potencijala i tehnologija proizvodnje krmnog bilja u funkciji održivog stočarstva”, TR 31057 i III 46009 koji finansira Ministarstvo za prosvetu, nauku i tehnološki razvoj Republike Srbije.

Literatura

1. Ana Radovanovic, Snezana Cupara, Marina Tomovic, Viorica Tamas, Gabriel Ivopol, Demetra Simion, Carmen Gaidau i Slobodan Jankovic (2013): Comparative analysis of the chemical composition of *Helianthus tuberosus* L. growing in Serbia and Romania, UDK: 582.998.16-119.2 / Ser J Exp Clin Res 2013; 14 (1): 9-12;
2. Bernard Beljan (2016): Proizvodnja bioplina iz čičoke (*Helianthus tuberosus* L.), diplomski rad, Sveučilište Josipa Jurija Strossmayera, Poljoprivredni fakultet u Osijeku;
3. Vesković-Moračanin, S., Đukić, D., Kurćubić, V., Mašković, P., Ač, M. (2015): Prirodna antimikrobna jedinjenja i biološka zaštita hrane., [Meat Technology / Tehnologija Mesa](#). Vol. 56 Issue 1, p16-25. 10p.
4. Milica D. Milutinović, Slavica S. Šiler-Marinković, Dušan G. Antonović, Katarina R. Mihajlovski, Marija D. Pavlović, Suzana I. Dimitrijević-Branković (2013): Antioksidativna svojstva sušenih ekstrakata iz otpadne espreso kafe, *Hem. Ind.* 67 (2) 261–267;
5. M. V. Mujica, M. Granito, N. Soto, (2009): Importance of the extraction method in the quantification of total phenolic compounds in *Phaseolus vulgaris* L, *Interciencia* 34, 650–654;

6. Biljana Koturevic, Ana Brankovic (2014): A rapid method for the extraction of cannabionides from *Cannabis sativa* using microwave heating technique, 109/123 NBP • Journal of Criminalistics and Law UDC 343.98, ISSN 0354-8872;
7. B. Jalakshmi, K. A. Raveesha, K. N. Amruthesh (2014): Evaluation of antibacterial and antioxidant potential of *Euphorbia cotinifolia* Linn. Leaf extracts, Chem. Ind. Chem. Eng. Q. 20 (1) 19–28;
8. [Brigita Lapornik](#) , [Mirko Prošek](#), [Alenka Golc Wondra](#) (2005): Comparison of extracts prepared from plant by-products using different solvents and extraction time, Journal of Food Engineering, Volume 71, Issue 2, Pages 214–222;
9. D. Prashanth, M.K. Asha, A. Amit (2001): Antibacterial activity of *Punica granatum*, Fitoterapia 72 171-173;
10. Sateesh Kagalea, T. Marimuthua, B. Thayumanavanb, R. Nandakumara, R. Samiyappan (2004): Antimicrobial activity and induction of systemic resistance in rice by leaf extract of *Datura metel* against *Rhizoctonia solani* and *Xanthomonas oryzae* pv. *Oryzae*, Physiological and Molecular Plant Pathology 65 91-100;
11. Satish, S., Mohana, D.C., Ranhavendra, M.P. and Raveesha, K.A. (2007). Antifungal activity of some plant extracts against important seed borne pathogens of *Aspergillus* sp. Journal of Agricultural Technology 3(1): 109-119;
12. Guven Ozdemir, N. Ulku Karabay, Meltem Conk Dalay and Baris Pazarbasi (2004): Antibacterial Activity of Volatile Component and Various Extracts of *Spirulina platensis*, *Phytother. Res.* 18, 754-757

**ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF DIFFERENT EXTRACTS OF
HELIANTHUS TUBEROSUS L.**

*Milica Zelenika*¹, *Pavle Mašković*¹, *Leka Mandić*¹, *Zvezdana Tadić*¹, *Slavica Vesković-Moračanin*², *Desimir Knežević*³, *Dragutin Đukić*¹

Abstract

The aim of our study was to compare the antibacterial activity of extracts of *Helianthus tuberosus* L. obtained with polar (methanol) and non-polar (petroleum ether) solvents.

The greatest antibacterial activity was expressed by methanolic extract against bacterium *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028 and *Escherichia coli* ATCC 25922. Petroleum-ether extracts exhibited the greatest antibacterial activity against *Salmonella Typhimurium* ATCC 14028. The lowest antimicrobial activity was expressed by an extract obtained by petroleum-ether against *Listeria monocytogenes* ATCC 19112.

The results indicate that a stronger antibacterial activity showed extract obtained with polar solvent.

Key words: *Helianthus tuberosus* L., antibacterial activity, polar solvent, non-polar solvent.

¹University of Kragujevac, Faculty of Agronomy Čačak, Cara Dušana 34, Čačak, Serbia (milica.zelenika@yahoo.com)

² Institute for hygiene and meat technology, Kačanskog 13, 11000 Belgrade, Serbia.

³ University of Priština, Faculty of Agriculture, Kosovska Mitrovica - Lesak, Kopaonicka bb, 38219 Lesak, Kosovo and Metohija, Serbia