

**ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ ЭКСТРАГИРОВАНИЯ  
И АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ ВОДНЫХ  
ЭКСТРАКТОВ БАРХАТЦЕВ РАСПРОСТЕРТЫХ (*TAGETES PATULA*  
*L.*) ДЛЯ ВОЗМОЖНОГО ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ**

*Шепель Екатерина Игоревна – студентка 4 курса*

*Института живых систем*

*ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта»  
Научный руководитель – Кригер Ольга Владимировна, д.т.н., доцент,  
профессор Института живых систем*

*ФГАОУ ВО «Балтийский федеральный университет имени И. Канта»*

*Аннотация:* проведено исследование способов экстрагирования и антибактериальной активности на штаммах бактерий *Bacillus subtilis* B-1919 и *Escherichia coli* B-1911, горячих и холодных водных экстрактов цветков бархатцев распротертых (*Tagetes patula* L.) с гидромодулем 1:10. По результатам исследований определены оптимальные параметры экстрагирования и установлена противомикробная активность исследуемых экстрактов.

*Ключевые слова:* *Tagetes patula* L., водные экстракты, флавоноиды, антибактериальная активность, сельское хозяйство.

В данной работе было произведено открывающее исследование особенностей экстрагирования и антибактериальной активности водных экстрактов цветков бархатцев распротертых (*Tagetes patula* L.). Это было осуществлено с целью изучения потенциального использования полученных результатов для последующего применения в различных областях сельского хозяйства.

Современное развитие сельского хозяйства требует применения альтернативных источников повышения урожайности, биологической безопасности выращиваемых сельскохозяйственных культур и своевременного обезвреживания вредителей и сорняков, наносящих ощутимый ущерб урожаю.

С этой целью проводится изучение возможностей использования новых, безопасных, эффективных и доступных растительных средств для замены синтетических препаратов, имеющих негативные побочные эффекты, в связи с резким ростом резистентности к антибиотикам. Растительные экстракты потенциально могут контролировать рост и развитие патогенных микроорганизмов.

Одним из перспективных и универсальных растений для исследования являются бархатцы распростерты. Это уникальное растение обладает широким спектром свойств – антибактериальных, антипаразитарных, противовирусных и антиоксидантных [1. С. 743]. Кроме того, бархатцы имеют фунгицидные и инсектицидные свойства, поэтому они успешно применяются для борьбы с вредителями сельскохозяйственных культур, например, нематодами земляники, картофеля и др. [2. С. 2]. Их высаживают по периметру грядки или под приствольные круги садовых деревьев. Кроме того, бархатцы – прекрасный сидерат, он структурирует и обогащает почву.

Актуальность данной работы заключается в поиске и изучении легких, безопасных и дешевых способов извлечения биологически активных веществ из цветков *Tagetes patula* L. и их потенциального применения в качестве лекарственных средств, кормовых добавок, природных пестицидов непосредственно в сельском хозяйстве – ветеринарии, растениеводстве, животноводстве.

Было проведено открывающее исследование, посвященное изучению биологической активности горячих и холодных водных экстрактов цветков *T. patula*. Подбор оптимальных параметров водной экстракции из цветков бархатцев распростертых и изучение антибактериальной активности полученных горячих и холодных водных экстрактов являлись основной целью нашего исследования. Также нами была рассмотрена возможность их применения в сельском хозяйстве.

Противомикробная активность водных экстрактов соцветий *T. patula* в нашей стране изучена недостаточно, тогда как спиртовые экстракты пользуются большей популярностью в силу определенных преимуществ – более эффективное извлечение биологически активных веществ, ингибирование роста бактерий и более длительные сроки годности экстрактов.

Тем не менее, у воды как экстрагента, есть неоспоримые положительные свойства – доступность, безопасность, фармакологическая индифферентность и бюджетность. Кроме того, водные экстракты обладают избирательной эффективностью по отношению к ряду грамположительных и грамотрицательных бактериальных культур.

При этом вода, имеющая существенные преимущества, практически не применяется в качестве экстрагента. Из всего вышесказанного следует, что наиболее актуальным сейчас является изучение практических способов водного экстрагирования сырья.

В данном исследовании водное экстрагирование проводилось следующим образом:

- 1) Подготовка сырья. Цветки *Tagetes patula* L. высушивали на воздухе, измельчали и использовали для приготовления экстрактов согласно подобранному методикам [2. С. 3; 3. С. 85] с некоторыми модификациями.

- 2) Приготовление горячих водных экстрактов. Для этого в конические колбы вместимостью 50 мл помещали по 2,00 г измельченного сырья

и добавляли 20 мл дистиллированной воды. Содержимое кипятили в течение 5, 15 и 30 мин на электроплитке при небольшой мощности. Колбы закрывали сверху фольгой и оставляли нетронутыми в течение 24 часов при комнатной температуре, а затем извлечения фильтровали через несколько слоев марли, отжимая частицы сырья. В итоге получали три экстракта цветков с гидромодулем 1:10 со временем кипячения 5, 15 и 30 мин.

3) Приготовление холодного водного экстракта. В коническую колбу объемом 50 мл также помещали 2,00 г взвешенного измельченного сырья, добавляли 20 мл дистиллированной воды и, накрыв сверху фольгой, давали настаиваться в течение 24 часов при комнатной температуре. Содержимое фильтровали через несколько слоев марли, отжимая частицы сырья. Получали экстракт с гидромодулем 1:10 без кипячения.

Общее количество экстрактов – 4 (рис. 1).



**Рис. 1.** Полученные водные экстракты *T. patula*. Слева направо: холодный экстракт; горячий экстракт, 5 мин; горячий экстракт, 15 мин; горячий экстракт, 30 мин

Содержание сухого вещества в полученных горячих и холодных водных экстрактах определяли с помощью автоматического рефрактометра HI96801.

Перед работой на рефрактометре проводилась проверка по дистиллированной воде – 0,0 %  $Brix$ . Окружающая температура не выходила за пределы  $(20 \pm 2)$  °C.

После обнуления в ячейку для образца наносили 2–3 капли исследуемого экстракта, за 1,5 секунды получали значение содержания сухих веществ в %  $Brix$ . После измерения остатки удалялись фильтровальной бумагой, ячейка промывалась дистиллированной водой. Затем уже проверялся следующий экстракт, и так с остальными.

Определение суммарного содержания флавоноидов в экстрактах цветков *T. patula* проводилось согласно методике [4. С. 103]. 100 мкл экстракта добавляли к 4 мл дистиллированной воды. Затем добавляли 0,3 мл 5 %-ного нитрита натрия. Через 5 мин добавляли 0,3 мл 10 %-ного хлорида

алюминия. Через 6 мин к смеси добавляли 2 мл 1 М гидроксида натрия. Сразу же смесь разбавляли добавлением 3,3 мл дистиллированной воды и тщательно перемешивали. Поглощение определяли при 510 нм по отношению к дистиллированной воде. В качестве стандарта для калибровочной кривой использовался рутин. Общее содержание флавоноидов в экстракте выражали в мг эквивалентов рутина на мл экстракта (мг/мл). Для построения градуировочного графика готовили калибровочные растворы рутина с массовой концентрацией 0,10; 0,15; 0,20; 0,30; 0,40 мг/мл и измеряли их оптическую плотность при 510 нм.

Определение антимикробной активности всех полученных растительных экстрактов проводилось диско-диффузным методом. В тестировании использовались два вида чистых культур палочковидных бактерий: грамположительные факультативно аэробные *Bacillus subtilis* и грамотрицательные факультативно анаэробные *Escherichia coli*.

В качестве питательной среды, специфичной для обоих видов микроорганизмов, была приготовлена среда LB (lysogeny broth). Данные виды микроорганизмов предварительно культивировались в чистой среде при температуре 37 °С в течение 24 ч.

Для сравнительной оценки антимикробной активности растительных экстрактов в качестве положительного контроля применялся водный раствор антибиотика ампициллина в 1000-кратном разведении, а в качестве отрицательного – дистиллированная вода.

Посев микроорганизмов проводился в стерильных условиях в боксе микробиологической безопасности класса 2 «Ламинар-С»-1,2 NEOTERIC.

Суспензии бактерий *B. subtilis* и *E. coli* наносилась на твердые среды в чашках Петри в количестве 200 µL, затем равномерно распределялись шпателем в технике сплошного газона по всей поверхности агара до впитывания в твердый агар.

Заранее подготовленные диски, опущенные в экстракты, а также диски, опущенные в раствор антибиотика и дистиллированную воду, после посева микроорганизмов помещались по одному на каждую зону чашки Петри с соответствующим штаммом. Далее чашки помещались в термостат с внутренней температурой 37 °С ровно на 36 ч.

По окончании времени инкубации чашки вынимались из термостата и измерялся диаметр зон лизиса вокруг дисков.

Результаты проведенного исследования отображены в таблицах и рисунках.

С помощью рефрактометра были получены следующие результаты, представленные в таблице 1.

Таблица 1

**Содержание сухого вещества в горячих и холодных экстрактах  
цветков *T. patula* с гидромодулем 1:10, %Brix**

Холодный экстракт	Горячие экстракты		
	5 мин	15 мин	30 мин
3,60 ± 0,07	3,80 ± 0,08	3,80 ± 0,08	3,80 ± 0,08

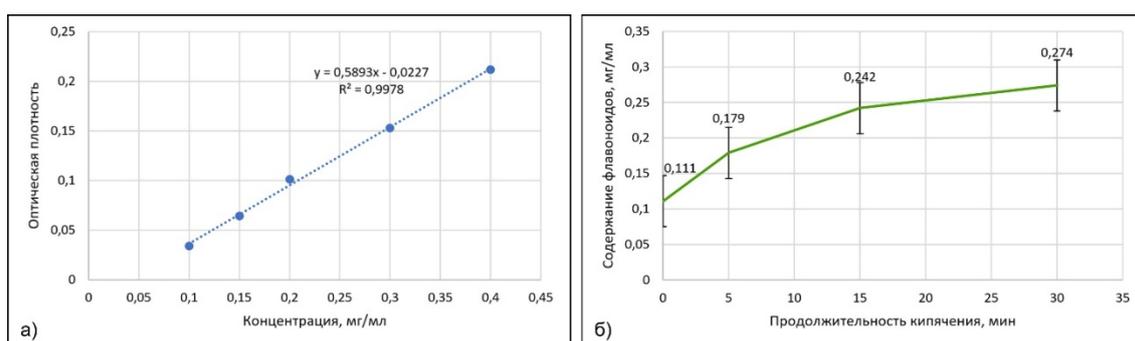
Как видно из приведенных данных, содержание сухого вещества в холодном экстракте оказалось немного меньше, чем в горячих. При этом выход сухого вещества практически не зависит от времени нагревания.

Результаты определения суммарного содержания флавоноидов в горячих и холодных водных экстрактах цветков *T. patula* представлены в таблице 2 и рисунке 2:

Таблица 2

**Оптическая плотность и концентрация флавоноидов в экстрактах  
цветков *T. patula* (1:10), мг/мл**

Наименование показателя	Холодный экстракт	Горячие экстракты		
		5 мин	15 мин	30 мин
Оптическая плотность	0,043 ± 0,001	0,083 ± 0,001	0,120 ± 0,001	0,139 ± 0,001
Концентрация, мг/мл	0,111 ± 0,001	0,179 ± 0,002	0,242 ± 0,002	0,274 ± 0,003



**Рис. 2.** Определение суммарного содержания флавоноидов: а) градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации рутина; б) суммарное содержание флавоноидов в экстрактах *T. patula* в зависимости от времени кипячения, гидромодуль 1:10

По приведенным данным видно, что холодный экстракт *T. patula* имеет наименьшее содержание флавоноидов. По мере кипячения концентрация флавоноидов возрастает.

Далее в таблице 3 и на рисунке 3 представлены результаты антимикробного теста водных экстрактов *Tagetes patula* L. с гидромодулем 1:10 по отношению к *Bacillus subtilis* и *Escherichia coli*.

Таблица 3

Диаметр зон ингибирования роста *B. subtilis* и *E. coli*, мм

Тестовая культура	Холодный экстракт	Горячие экстракты			Ампициллин (+)	Вода (-)
		5 мин	15 мин	30 мин		
<i>B. subtilis</i>	2,0 ± 0,1	4,0 ± 0,1	9,0 ± 0,3	14,5 ± 0,4	22,0 ± 0,7	0,0 ± 0,0
<i>E. coli</i>	2,0 ± 0,1*	0,0 ± 0,0	0,0 ± 0,0	1,0 ± 0,1*	15,0 ± 0,7	0,0 ± 0,0

\* – бактериостатическое действие

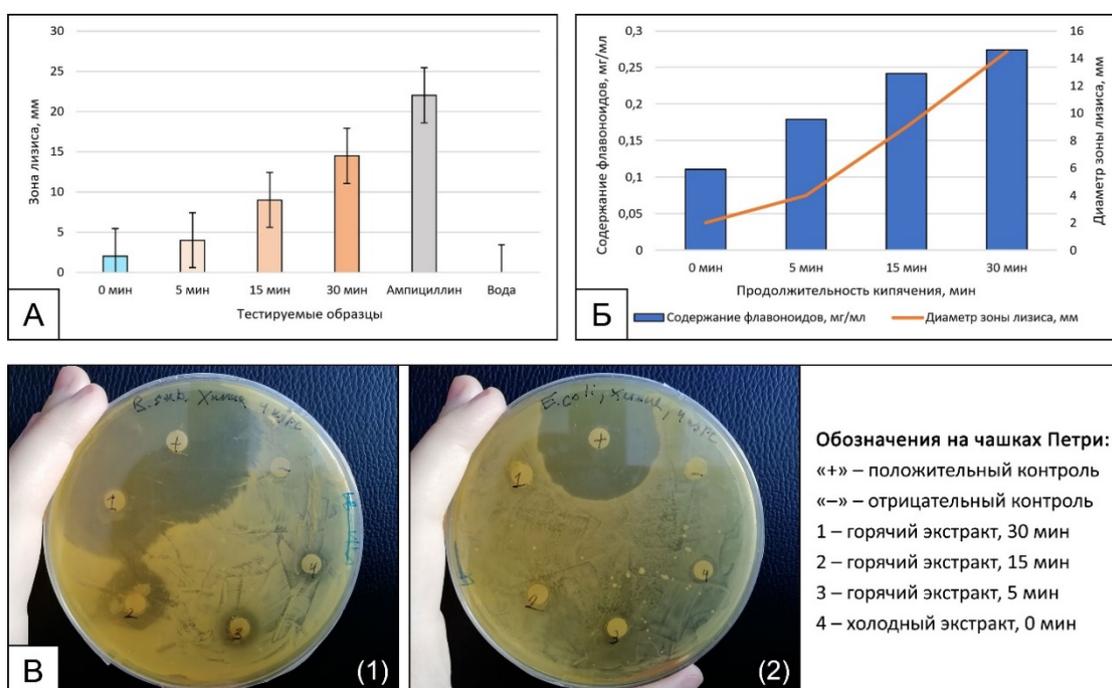


Рис. 3. А – тестирование антимикробного эффекта водных экстрактов цветков *T. patula* (1:10) на *B. subtilis*; Б – содержание флавоноидов в экстрактах и их антимикробная активность по отношению к *B. subtilis*; В – антибактериальная активность водных экстрактов *T. patula* по отношению к *B. subtilis* (1) и *E. coli* (2)

Анализ полученных результатов свидетельствует о том, что данные экстракты обладают антимикробной активностью по отношению к *Bacillus subtilis*, причем по мере кипячения водных экстрактов она возрастает. Наивысшая зона лизиса представлена в экстракте со временем кипячения 30 минут – 14,5 мм в диаметре. Антибиотик показал зону лизиса в 22 мм в диаметре (табл. 3; рис. 3, А, В (1)).

Корреляционный анализ показал, что между суммарным содержанием флавоноидов в водных экстрактах и их антимикробной активностью по отношению к *B. subtilis* существует сильная прямая взаимосвязь – коэффициент корреляции равен 0,94712. На рисунке 3, Б объединены данные показатели.

По отношению к грамотрицательной бактерии *Escherichia coli* бактерицидного действия экстрактов спустя 36 часов не наблюдалось, только незначительное бактериостатическое действие со стороны холодного и горячего (30 мин) экстрактов (табл. 3; рис. 3, В(2)), при этом холодный экстракт оказался чуть более эффективным ( $2,0 \pm 0,1$ ). В другом исследовании [2. С. 6] холодный экстракт цветков *T. patula* также эффективнее ( $35,0 \pm 6,4$ ) ингибирует рост *E. coli*, чем горячий ( $23,0 \pm 3,7$ ). Данный факт говорит о потенциальном использовании холодного экстракта *T. patula*, так как он отрицательно воздействует на микроорганизмы – в данном случае на *E. coli*.

Ампициллин эффективен по отношению к обоим штаммам, поскольку он обладает бактерицидным действием широкого спектра за счет ингибирования синтеза клеточной стенки бактерии.

По результатам данного исследования можно сделать следующие выводы:

1. Выход сухого вещества в горячих экстрактах является постоянной величиной и не зависит от времени нагревания. При этом содержание сухого вещества в горячих экстрактах выше, чем в холодных.

2. По мере кипячения концентрация флавоноидов возрастает – наименьшее значение у холодного экстракта; наибольшее – у горячего, 30 мин.

3. Антибактериальная активность по отношению к:

- а) *B. subtilis* – значительная, причем по мере кипячения водных экстрактов она возрастает. Самый яркий эффект наблюдается у горячего экстракта, 30 мин;

- б) *E. coli* – незначительная. Возможно, это связано с тем, что грамотрицательные бактерии проявляют меньшую восприимчивость к растительным экстрактам по сравнению с грамположительными бактериями вследствие того, что их внешняя стенка состоит из липополисахаридов и липопротеинов, которые устойчивы к антибактериальному воздействию.

4. Существует сильная прямая связь между суммарным содержанием флавоноидов в водных экстрактах цветков *T. patula* и их антибактериальной активностью по отношению к *B. subtilis*.

5. Наиболее оптимальным способом получения водного экстракта цветков *T. patula* является метод горячей водной экстракции при кипячении в течение 30 минут. Однако, для более точного определения параметров экстракции необходимы дополнительные исследования, так как количество проведенных экспериментов является недостаточным для массового использования в практике.

Для получения более достоверных результатов и обоснованных рекомендаций требуется более серьезное и углубленное изучение данного вопроса. Помимо этого, дальнейшего исследования требуют и другие части растения, незаслуженно недооцененные в силу того, что были мало изучены.

Данное исследование является открывающим для проведения последующих, более углубленных работ по изучению и описанию свойств *Tagetes patula* L.

Практическое применение *T. patula* имеет большое значение для будущего человечества в связи с его уникальными полезными свойствами. Это растение практически не имеет противопоказаний, кроме индивидуальной непереносимости некоторых компонентов в составе растения или аллергии. Оно не рекомендовано к употреблению беременным и кормящим, а также детям до 3-х лет из-за недостаточных исследований [5. С. 82, 6. С. 415]. Энигматичное растение бархатцы распростерты является токсичным для садовых вредителей (насекомых, личинок, червей, грибов), подавляет рост сорняков, однако абсолютно безопасно для полезных насекомых и червей, а также защищает овощные и садовые культуры. Это бесценное качество обязательно должно быть должным образом изучено и использовано в агрономии, ветеринарии и других областях сельского хозяйства.

### Библиографический список:

1. Папаяни О.И. Изучение химического состава и антимикробной активности сухого экстракта из цветков бархатцев распростерты (*Tagetes patula* L.) / О.И. Папаяни, И.В. Духанина, Е.О. Сергеева // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2012. – Т. 14, № 5(3). – С. 742–744.

2. Астафьева О.В. Исследование химического состава и противомикробной активности экстрактов из соцветий *Tagetes patula* L. / О.В. Астафьева, З.В. Жаркова, М.В. Якимец и др. // Современные проблемы науки и образования. – 2020. – № 6. – 10 с.

3. Jain R. In vitro antibacterial potential of different extracts of *Tagetes erecta* and *Tagetes patula* / R. Jain, N. Katare, V. Kumar *et al.* // J. Nat. Sci. Res. – 2012. – Vol. 2, № 5. – P. 84–90.

4. Fattahi S. Total phenolic and flavonoid contents of aqueous extract of stinging nettle and in vitro antiproliferative effect on hela and BT-474 Cell lines / S. Fattahi, E. Zabih, Z. Abedian *et al.* // International journal of molecular and cellular medicine. – 2014. – Vol. 3, № 2. – P. 102–107.

5. Tkachenko N. Modelling formulae of strawberry whey drinks of prophylactic application / N. Tkachenko, P. Nekrasov, S. Vikul, Ya. Honcharuk // Food Science and Technology. – 2017. – Vol. 11, № 1. – P. 80–88.

6. Politi F. A. S. Insecticidal activity of an essential oil of *Tagetes patula* L. (Asteraceae) on common bed bug *Cimex lectularius* L. and molecular docking of major compounds at the catalytic site of *ClAChE1* / F. A. S. Politi, J. D. Nascimento, A. A. da Silva *et al.* // Parasitology research. – 2017. – Vol. 116, № 1. – P. 415–424.

STUDYING THE FEATURES OF EXTRACTION AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF AQUEOUS EXTRACTS OF FRENCH MARIGOLD (*TAGETES PATULA* L.) FOR POSSIBLE USE IN AGRICULTURE

**Shepel Ekaterina Igorevna** – 4th year student of the Institute of Living Systems of the Immanuel Kant Baltic Federal University. Russian Federation, Kaliningrad.

**Scientific supervisor – Kriger Olga Vladimirovna**, Doctor of Technical Sciences, Docent, Professor of the Institute of Living Systems of the Immanuel Kant Baltic Federal University. Russian Federation, Kaliningrad.

**Abstract:** a study of extraction methods and antibacterial activity on bacterial strains *Bacillus subtilis* B-1919 and *Escherichia coli* B-1911 of hot and cold aqueous extracts of marigold flowers (*Tagetes patula* L.) with a hydromodule of 1:10 was carried out. According to the results of the studies, the optimal extraction parameters were determined and the antimicrobial activity of the studied extracts was established.

**Keywords:** *Tagetes patula* L., aqueous extracts, flavonoids, antibacterial activity, agriculture.

*Научное издание*

Сборник статей

**Всероссийской конференции-конкурса  
молодых исследователей  
«Агробиоинженерия – 2022»**

*Материалы издаются в авторской редакции*

Подписано в печать 31.05.2022. Формат 60×90/16.  
Усл.-печ. л. 26,18. Тираж 100 экз. Заказ № 33

ООО «Мегаполис»  
Тел.: +7 (499) 391-34-54  
E-mail: zakaz@ m-megapolis.ru  
127550, Москва, ул. Прянишникова, д. 23А

Отпечатано в ПАО «Т8 Издательские Технологии»  
Тел.: +7 (499) 322-38-31  
109316, Москва, Волгоградский проспект, д. 42, корп. 5