

---

## THE DYNAMIC OF MICROBIAL DEVELOPMENT IN THERAPEUTIC AGENT MADE OF ALOE

Príchystalová J.<sup>1</sup>, Kalhotka L.<sup>1</sup>, Pellizzoni M.<sup>2</sup>, Růžičková G.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Department of Agrochemistry, Soil Science, Microbiology and Plant Nutrition, Faculty of Agriculture, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

<sup>2</sup> Institute of Agricultural and Environmental Chemistry, Università Cattolica del Sacro Cuore, Via Emilia Parmense, 84. I-29122 Piacenza, Italy

<sup>3</sup> Department of Crop Science, Breeding and Plant Medicine, Faculty of Agriculture, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: jitka@prichystal.eu

---

### ABSTRACT

Aloe is succulent plant which is widely used for therapeutic purposes. Aloe can heal various types of skin burn and injuries. Aloe extracts have been shown to have anti-inflammatory, anti-diabetic and anti-tumorigenic effect. It is also often used for cosmetic and pharmaceutical production.

For our experiment, three samples of therapeutic agent containing *Aloe barbadensis* Miller, *Aloe arborescens* variety cv. green and *Aloe arborescens* variety cv. grey were used. These samples were stored at two different temperatures – 6 °C (presenting storage at fridge) and 25 °C (presenting a room temperature) for 10 and 16 days. Total counts of microorganisms, coliform bacteria, psychrotrophic microorganisms, and yeast and moulds were determined by microbiological analysis each day of storage.

The aim of this paper was to realize if it is possible to keep these therapeutic agent in fridge for 10 days. From the results, it is clearly seen, that microorganisms didn't increase their counts rapidly while storage at 6 °C.

**Key words:** Aloe, microorganisms, antimicrobial activity, aloin, acemanan

## ÚVOD

Existuje cca 275 druhů rostliny rodu aloe, z nichž jsou 3 druhy využívány komerčně. Pravděpodobně nejčastější druh využívaný pro komerční účely je *Aloe barbadensis* Miller neboli *Aloe vera*. Barva jeho silných a trny zakončených listů se liší od šedé po zelenou. Aloe svým vzhledem připomíná kaktus, ale ve skutečnosti patří do kmene *Liliaceae* takže je příbuzný česneku, cibuli a liliím. Pro *Aloe vera* je typický žlutý květ. (Gage, 1996).

Aloe bylo využíváno pro své léčivé účinky od dob starých Římanů a pravděpodobně už dlouhou dobu před nimi. Využívá se ve dvou formách, jako gel z listů a jako míza z vrchních vrstev listů (viz. Obr. 1). Během posledních desetiletí se však zájem o aloe rapidně zvýšil, vzhledem k tomu, že se začala využívat jako přídatek do kosmetických výrobků, léčivých přípravků aj. (Reynolds, Dweck 1999).

Tento druh aloe se často používá v bylinné medicíně. Byly provedeny mnohé vědecké studie o užívání aloe jako léčivé rostliny a byly nalezeny důkazy, že výtažky z aloe pravé mohou být užitečné při hojení ran a popálenin, cukrovce a zvýšené hladině krevních lipidů. Tyto pozitivní účinky jsou přisuzovány přítomnosti látek, jako jsou polysacharidy, antrachinony, C-glykosidy a lektiny.

Je nutné rozlišovat mezi průhledným gelem z aloe, který je bez chuti a mízou z vrchních částí listu (Reynolds, 1999). Při řezu listu vytékají dvě tekutiny s různými efekty a vlastnostmi. Žluto-zelená míza uniká z korových buněk a obsahuje značné množství aloinu. Z vnitřní části listu pak vytéká průhledný gel, který má zklidňující a hydratační účinky a podporuje hojení. Tyto dvě tekutiny se při výrobě léčiv oddělují, aby se omezily nežádoucí efekty na zdraví. Aloe vera je druh široce používaný v tradiční čínské, japonské, ruské, jihoafrické, jamajské a indické medicíně. Aloe vera je využíváno pro léčení pacientů s různými druhy zánětů, zažívacími potížemi, onemocněními kůže a stěv (Langmead et al., 2004).

Míza aloe obsahuje antrachinony, které ve svém středu obsahují molekulu anthracenu. Mezi antrachinony nacházejícími se v míze patří aloin, barbaloin, aloe-emodin aj. Při vyšších dávkách může míza působit projímavým účinkem (Lourdes, 2008).



Obr. 1 Průřez listem Aloe (www.aloeveraprodukt.cz)

1. štěrbinina pro výměnu plynů
2. vosková vrstvička
3. uzavírací tkáň
4. korová buňka
5. pericyklická buňka naplněná hořkou šťávou s obsahem hořké látky aloinu
6. xylém a floém - vodící svazky pro přenos vody a živin
7. Vrstva parenchymatických buněk tvořící střed listu, tkáň uchovávající vodu a živiny

Gelu z aloe se nejčastěji přisuzuje schopnost hydratovat (Reynolds, 1999). Jsou zde ale obsaženy i jedny z nejdůležitějších látek s imunomodulátorními účinky – polysacharidy (Schechter, 1994). Pravděpodobně nejzajímavější složkou objevenou v *Aloe vera* je aktivní polysacharid známý jako acetylovaná mannosá čili acemannan. (Lourdes, 2008). Gel disponuje dalšími účinky jako jsou antimikrobiální, antifugální, antivirální působení (Klein a Penneys, 1988), antioxidační efekt (Newton, 1987). Současné výzkumy dokazují, že denní užívání jedné lžičce (15 ml) aloe gelu po 42 dnů významně sníží hladinu krevního cukru u žen trpících diabetem 2. typu. (Yeh et al., 2003).

Předpokládá se, že aloe snižuje hladinu krevního cukru a má pozitivní efekt při užívání léku proti diabetu. (Bush et al., 2007). Tento fakt může zvyšovat riziko vzniku hypoglykémie u pacientů, kteří jsou k ní náchylní. Při zvýšeném příjmu aloe se zvyšuje riziko nepříznivého působení spolu s užíváním určitých léků, protože může dojít ke ztrátám draslíku (Shaw et al., 1997).

## MATERIÁL A METODIKA

Cílem experimentu bylo sledovat vývoj mikrobiálního společenstva v přípravcích vyrobených z aloe italskou firmou Dester Company v Manerba del Garda (Brescia), která se specializuje na tuto produkci již 20 let. Rostliny, jež byly použity pro výrobu přípravků z aloe, byly kultivovány za standardních podmínek v plastovém skleníku po 3 roky.

Složení přípravku z aloe:

500 g bio - medu

90 ml destilátu

350 g celých listů z aloe

Pro experiment byly použity 3 druhy přípravků:

1. s listy *Aloe barbadensis* Miller (*Aloe vera*) – obsahuje více betapolsacharidů
2. s listy *Aloe arborescens* cv. green – aloe se zelenými listy s vyšším obsahem aloinu
3. s listy *Aloe arborescens* cv. grey aloe se šedými listy, jehož obsah biomolekul tvoří přechod mezi *Aloe barbadensis* Miller a *Aloe arborescens* cv. green

Pro studium rozvoje mikroorganismů bylo použito celkem 6 vzorků léčivých přípravků skladovaných při 6 °C, odpovídající skladování v chladicím zařízení, a při 25 °C, odpovídající skladování při pokojové teplotě. Mikrobiologická analýza byla prováděna po 24 hodinách po dobu 10 dnů a v 16. den skladování vzorků.

1. *Aloe arborescens* cv. green      6 °C
2. *Aloe arborescens* cv. green      25 °C
3. *Aloe arborescens* cv. grey        6 °C
4. *Aloe arborescens* cv. grey        25 °C
5. *Aloe barbadensis* Miller        6 °C
6. *Aloe barbadensis* Miller        25 °C

Standardními metodami byly stanoveny tyto skupiny mikroorganismů: Celkový počet mikroorganismů (CPM) na PCA (Biokar Diagnostic, France) kultivovaných při 30 °C po 72 hodin, bakterie mléčného kvašení (BMK) na MRS médiu (Biokar Diagnostic, France) při 37 °C po 72 hodin, koliformní bakterie byly kultivovány na VRBL médiu (Biokar Diagnostic, France) při 37 °C po 24 hodin, psychrotrofní mikroorganismy byly stanoveny na PCA (Biokar Diagnostic, France) při 6 °C za 10 dní a plísně a kvasinky byly stanoveny na Chloramphenicol glucose agaru (Biokar Diagnostic, France) při 25 °C po 120 hodinách. Po kultivaci byly na Petriho miskách odečteny počty kolonií a výsledky byly vyjádřeny v KJTJ/ml.

## VÝSLEDKY A DISKUZE

Při sledování rozvoje mikrobiálního společenstva v přípravcích z aloe bylo zjištěno, že nejvyššího celkového počtu mikroorganismů bylo dosaženo u 4. vzorku 4. den skladování, počty se blížily hodnotě  $8.10^3$  KTJ/ml. Celkový počet mikroorganismů je u všech vzorků nejvyšší právě ve 4 dni skladování, ale po 6. dnu se hodnoty vrací na počáteční hodnoty.

Kvasinky jsou velice často díky svým sacharolytickým schopnostem přítomné v cukernatých substrátech (Šilhánková, 1995), kam se řadí i med, jenž tvoří více jak polovinu přípravku. Lze tedy předpokládat, že se v přípravcích z aloe bude vyskytovat zvýšené množství kvasinek a jejich počet bude v průběhu skladování stoupat. Nicméně z výsledků lze pozorovat (viz Tab. 1 a Graf 2), že mírný nárůst byl zaznamenán pouze u vzorků 2, 4, a 6 a to v polovině skladování produktu, desátý den byly počty opět v řádech  $10^2$  jako tomu bylo ze začátku skladování. Zastavení rozvoje kvasinek může být způsobeno vysokým osmotickým tlakem a nemalý je význam biomolekul s antimikrobiálními účinky obsažených v listech z aloe. Ve studii Alemdara (2009) byla potvrzena antimikrobiální aktivita proti mnoha mikrobům, zejména proti *Mycobacterium smegmatis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Micrococcus luteus*, *Candida albicans*. Na mikroorganismy mohl pravděpodobně z velké části působit i inhibiční účinek alkoholu obsažený v přípravcích z aloe.

Dle předpokladu teplota skladování ovlivnila růst mikroorganismů. Nicméně vzhledem k tomu, že koliformní bakterie nebyly detekovány a celkový počet mikroorganismů byl relativně nízký, rozdíl v nárůstu mikroorganismů mezi vzorky skladovanými při teplotách 6 °C a 25 °C nebyl tak významný. Při zhoršených hygienických podmínkách by však mohlo docházet k mnohem rozsáhlejšímu pomnožování mikroorganismů, než je tomu u těchto 6 vzorků.

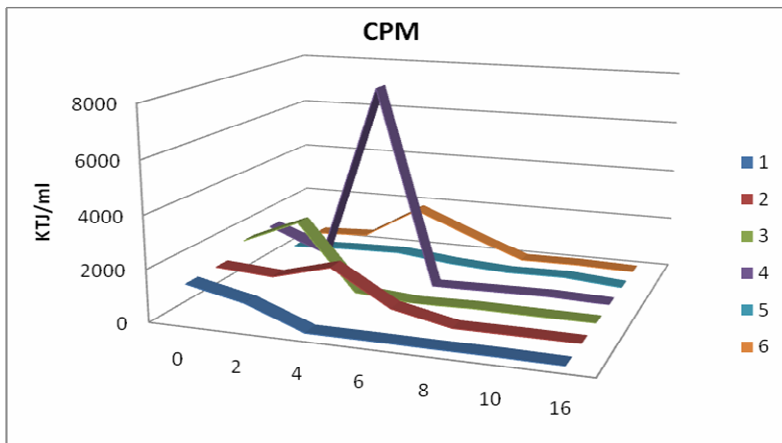
Vzhledem k relativně vysokému počtu plísní v přípravcích z aloe by měla být omezena doba skladování při teplotě 6 °C, protože by mohlo docházet vzhledem k vysoké vodní aktivitě a substrátu bohatému na živiny k plesnivění přípravků z aloe.

Tab. 1 Rozvoj mikrobiálního společenstva v průběhu 10 a v 16. den kultivace

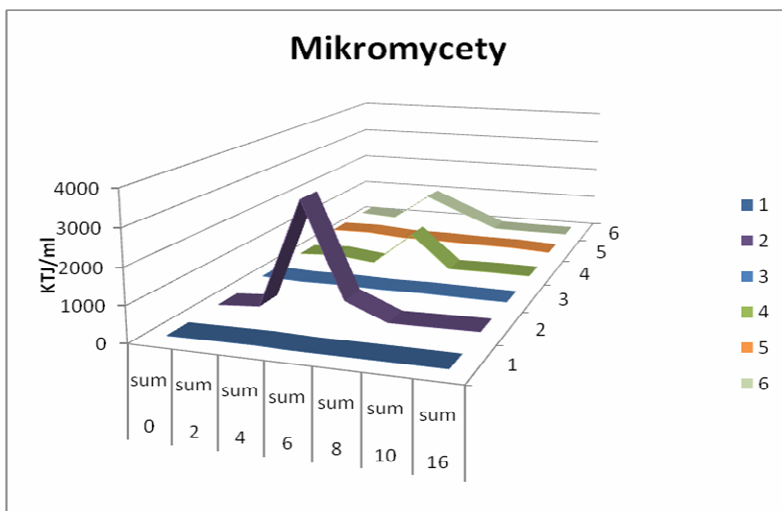
dny	vzorky	CPM	BMK	Koliformní bakterie	Psychrotrofní MO	Mikromycety		
						Celkem	Kvasinky	plísňě
<b>2.</b>	1	900	ND*	ND*	ND*	23	9	14
	2	1227	ND*	ND*	ND*	91	ND**	91
	3	2740	ND*	ND*	ND*	32	23	9
	4	955	ND*	ND*	ND*	136	45	91
	5	495	45	ND*	50	237	182	55
	6	500	ND*	ND*	5	150	100	50
<b>4.</b>	1	50	ND*	ND*	5	32	23	9
	2	1818	ND*	ND*	45	3182	455	2727
	3	182	ND*	ND*	18	45	36	9
	4	7727	ND*	ND*	45	ND***		
	5	545	27	ND*	9	150	114	36
	6	1818	50	ND*	45	1000	500	500
<b>6.</b>	1	50	ND*	ND*	5	ND*		
	2	500	ND*	ND*	45	500	ND***	500
	3	ND**	ND*	ND*	5	20	ND*	20
	4	ND***	ND*	ND*	ND*	1000	ND***	1000
	5	300	18	ND*	5	145	109	36
	6	909	ND*	ND*	ND*	500	ND***	500
<b>10.</b>	1	36	9	ND*	ND*	5	ND*	5
	2	23	ND*	ND*	ND*	18	ND*	18
	3	27	14	ND*	ND*	15	5	10
	4	75	ND*	ND*	ND*	18	ND*	18
	5	191	ND*	ND*	ND*	109	95	14
	6	75	9	ND*	ND*	ND*		
<b>16.</b>	1	6	ND	ND	ND	1	ND	1
	2	4	ND	ND	ND	35	ND	35
	3	9	ND	ND	ND	2	ND	2
	4	3	ND	ND	ND	6	ND	6
	5	11	ND	ND	ND	48	47	1
	6	9	ND	ND	ND	ND		

ND – nedetekováno; \* při ředění  $10^{-1}$ ; \*\* při ředění  $10^{-2}$ ; \*\*\* při ředění  $10^{-3}$

Graf 1 Rozvoj celkového počtu mikroorganismů v průběhu 10 a v 16. den



Graf 2 Rozvoj plísni a kvasinek v průběhu 10 a v 16. den



## ZÁVĚR

Aloe je sukulentní rostlina, která má široké terapeutické využití, dokáže pomáhat při hojení popálenin, při léčbě nádorů, snižovat hladinu krevního cukru při diabetu. Dále vykazují protizánětlivé účinky, obsahuje látky s imunomodulačním účinkem a hojně se využívá při výrobě kosmetických výrobků.

Při experimentu byly využity dva druhy rostlin aloe, které se využívají ke komerčním účinkům – *Aloe barbadensis* Miller a *Aloe arborescens*. U obou těchto rostlin byla potvrzena antimikrobiální aktivita proti některým gram-negativním i gram-pozitivním druhům bakterií. To může být důvodem, proč bylo při skladování přípravků s obsahem aloe, medu a destilátu zjištěno poměrně malé množství mikroorganismů i po 10 a v 16. den skladování jak při teplotě 6 °C tak při 25 °C.

Při dobré úrovni hygieny výroby a skladování, by tak bylo možné výrobek po otevření skladovat v chladícím zařízení do 10 dnů. Při delším skladování by ale mohlo díky vysoké vodní aktivitě docházet k plesnivění přípravků z aloe, proto by bylo vhodné spotřebitelům stanovit doporučené teploty a délky skladování při 6 – 8 °C po 10 dnů.

## LITERATURA

Alemdar, S., Agaoglu, S. (2009): Investigation of in vitro antimicrobial activity of Aloe vera juice, *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8 (1) p. 99-102

Bush T., Rayburn K., Holloway S., Sanchez-Yamamoto D., Allen BL., Lam T., So BK., Tran de H., Greyber ER., Kantor S. Roth LW, Adverse interactions between herbal and dietary substances and prescription medications: a clinical survey.

Gage D. (1996): *Aloe vera: Nature's soothing healer*, Healing Arts Press, Vermont, 119 p.

Klein A.D., Penneys N.S. (1988): *Aloe vera*, *Journal of the American Academy of Dermatology* 18, p. 714–720

Langmead L, Makins RJ, Rampton D. (1997): Anti-inflammatory effects of aloe vera gel in human colorectal mucosa in vitro *Drug Saf*, 17(5), p. 342-56.

Lourdes R., Jorge R., Scott B., Dea H., Eliseo T. (2004): Risks and Benefits of Commonly used Herbal Medicines in México, *Aliment Pharmacol Ther.*,19(5) 521-7

Newton, L.E. (1987): On the suitability of Kenyan aloes for commercial cultivation, *East Africa Natural History Society Bulletin* 17, p. 5–8.

Ni Y., Turner D., Yates K., Tizard I, (2004): Isolation and characterization of structural components of Aloe vera L. leaf pulp. *Int Immunopharmacol.*, p. 1745-55.

Shaw D., Leon C., Kolev S., Murray V. (2007) Traditional remedies and food supplements. A 5-year toxicological study (1991-1995). Medical Toxicology Unit, Guy's and St Thomas' Hospital Trust, London, England. *Altern Ther Health Med.*, 13(2) p. 30-5



---

Schechter S.R., (1994): Aloe vera:the healing plant. Health Foods Business, p. 23–24

Yeh G., Eisenberg D., Kaptchuk T., Phillips R.(2003): Systematic review of herbs and dietary supplements for glycemic control in diabetes, Diabetes Care, 26(4) p. 1277-94.

Obr. 1 viz: [http://www.aloeveraprodukt.cz/ucinky\\_aloe\\_vera.html](http://www.aloeveraprodukt.cz/ucinky_aloe_vera.html)