

Augalų ir uogų ekstraktų antimikrobinės savybės

Antanas Šarkinas, Ina Jasutienė

KTU Maisto institutas, Taikos pr. 92, LT-51180 Kaunas; direktorius@lmai.lt

Tirti vaistinės dirvuolės, saliero, ciberžolės ekstraktai, citrinos, cinamono eteriniai aliejai, juodojo serbento uogų ir išspaudų ekstraktas, mėlynės uogų ir išspaudų ekstraktas, mėlynės, juodojo serbento, spanguolės uogų sultys.

Tyrimuose naudotos testavimo kultūros: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella agona*, *Salmonella choleraesuis*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilozis*, *Pichia cluyveri*, *Saccharomyces cerevisiae* H67, *Rhodothorula rubra*.

Didžiausios slopinimo zonos susidaro aplink įdubas su sultimis. Vandeniniame ir etanoliniame uogų ekstrakte antocianinų ir fenolinių junginių kiekis skiriasi, bet slopinimo zonų skersmuo svyruoja nedaug. Tai rodo, kad uogų ekstraktuose antimikrobinėmis savybėmis pasižymi ir kiti junginiai. Mielių kultūrų jautrumas dar mažesnis, stipriausiu poveikiu išsiskiria spanguolės uogų sultys, kitų tirtų uogų sultys ir ekstraktai mažai veiksmingi.

Testavimo kultūros skirtingų koncentracijų įtaka bandymo rezultatams nenustatyta.

Cinamono eterinis aliejus skystoje terpėje *B. subtilis* vegetatyvines ląsteles veikia baktericidiškai, bet neužmuša šios bakterijos sporų. Gana efektyviai sumažina *S. typhimurium* skaičių, bet nenužudo *S. enteritidis*. Cinamono eterinis aliejus veiksmingas ir mielių kultūrų atžvilgiu, kultūrų augimą nuslopina visoje lėkštelėje.

Bandant panaudoti ekstraktus modelinėse maisto sistemose ekstrakto efektyvumas buvo vertinamas dešrelių plėvelėje. Saugant šaldytuve dešreles, padengtas plėvele su ciberžolės ekstraktu, *Listeria monocytogenes* slopinimas nenustatytas, ši bakterija sugeba augti ir žemoje temperatūroje, plėvelėje esantis ekstraktas tik nežymiai sulėtina dauginimąsi. Agarų plėvelė su 2 % saliero šaknų ekstrakto nesustabdo *Salmonella typhimurium* augimo.

Raktažodžiai: augalų ekstraktai, mėsos gaminiai, antimikrobinės savybės.

Įvadas

Prieskoniniai augalai be savo natūralios mikrofloros būna užkrėsti ir enterobakterijomis, tarp kurių pasitaiko netgi salmonelių, kampilobakterijų, jersinijų. Per 10 metų ištyrus 5754 mėginius, salmonelių rasta 4 % iš jų [1]. Prieskonius perdirbimo, saugojimo, transportavimo metu gali užteršti graužikai, vabzdžiai, paukščiai, ypač gaminant juos pietiniuose regionuose, kur džiovinama lauke. Tarp išskirtų salmonelių 99,5 % sudaro priklausiančios *Salmonella enterica* subsp. *enterica* porūšiai, kuriame identifikuoti 1504 serovarovai. Salmonelių aptikimą prieskonių bandiniuose apsunkina netolygus jų pasiskirstymas produkto masėje, todėl ypač svarbus mėginių paėmimas [1]. Bandant nustatymo metodikas, prieskoniai, tarp jų ir turintys salmonelių augimą slopinančių medžiagų, užkrėsti salmonelėmis nuo 1 iki 10 KSV 25 g ir tiriama taikant PGR metodiką. Jos taip pat gali būti nustatomos taikant elektrinės varžos

metodą ir genetinių zondų metodą tiriant gyvybingas ląsteles [2].

Prieskoniai, nors ir užteršti mikrobiologiškai, stabdo maisto produktų gedimą. Prieskonių kiekis dešrelėse gali siekti 0,5–2,0 %, nepaisant pačių prieskonių užterštumo, 1 % juodųjų pipirų priedas padeda pasiekti konservuojantį efektą, psichrotrofinių mikroorganizmų skaičius, nustatytas auginant pasėlius 7 °C temperatūroje 10 dienų, po 16 parų laikymo (2±1) °C temperatūroje yra mažesnis apie 13 %. Prieskonių, ekstraktų, eterinių aliejų antimikrobinį efektą maisto produktuose ir modelinėse sistemose terminis apdorojimas kartais gali sumažinti [3–6].

Kai kurių rūšių mėsa labiau jautri gedimui. Stručio mėsai būdingas didesnis pH, polinesočių riebalų rūgščių kiekis, baltymų ir geležies kiekis, mažesnis riebalų ir cholesterolio kiekis lyginant su vištiena ar jautiena. Natrio laktatas naudojamas saugojimo laikui prailginti, nes slopina

mikroorganizmų augimą. Rozmarino (*Rosmarinus officinalis* L.) ekstraktas sukelia antioksidacinį efektą, taip pat ir modifikuotoje atmosferoje. Stručio mėsos didesnis pH sudaro palankesnes sąlygas pašalinei mikroflorai augti. Rozmarino ekstraktas padeda stabilizuoti spalvines savybes, o natrio laktatas turi bakteriostatinį efektą, jų mišinys pasižymi sinergetiniu efektu stabilizuojant mikrobiologinius rodiklius ir padeda pailginti saugojimo laiką bent trimis paromis [7].

Produktų paviršiaus apdorojimas antimikrobinėmis medžiagomis padeda stabilizuoti mikrobiologinius rodiklius. *Listeria monocytogenes* gali išlikti, augti ir daugintis tiesiogiai naudojimui skirtuose produktuose net ir juos laikant žemoje temperatūroje. 1 ir 2 % eterinio aliejaus tirpalu apdorojus dešrelių paviršių ir apkrėtus 7 kamieniu kultūromis nuo 10^2 – 10^3 iki 10^4 – 10^6 KSV/g laikytos 5 °C temperatūroje 2 savaites, 15 °C temperatūroje savaitę. Kontroliniame variante išliko ir dauginosi visi kamieniai, bet aliejus slopino jų augimą. Derinant su jusliniu vertinimu galima numatyti tokią apsaugos nuo *Listeria monocytogenes* strategiją, nors eteriniai aliejai ir pasižymi stipresniu kvapu ir skoniu [8]. Kalendros, anyžiaus, baziliko, raudonėlio gryni eteriniai aliejai ir imobilizuoti chitozano plėvelėje slopino *L. monocytogenes* ir *E. coli* augimą tiek tiriant difuzijos į agarą metodu, tiek ir mėsoje. Geriausiai veikė raudonėlio, kalendros, mažiau baziliko, anyžiaus eteriniai aliejai. Užkrėtus dešros gaminius laikant 5 ir 10 °C temperatūroje chitozano plėvelė *L. monocytogenes* skaičių sumažino dešimt kartų, plėvelė su 1 ir 2 % raudonėlio eterinio aliejaus atitinkamai šimtą kartų ir 4 % *E. coli* – taip pat apie šimtą kartų. Taigi, chitozano plėvelė gali būti naudojama kaip lengvai suardoma ir pasižyminti antimikrobininiu efektu, eteriniai aliejai sumažina plėvelės drėgmės sugėrimą ir padidina elastingumą [9]. Česnake randamas alilo alkoholis pasižymi antimikrobinėmis savybėmis ir slopina mielių augimą, jo minimali inhibitorinė koncentracija yra 0,002 %, bakterijos pasižymi didesniu atsparumu, minimali inhibitorinė koncentracija joms svyruoja nuo 4 iki 7 % [10].

Šeivamedžio ir juodųjų serbentų ekstraktų koncentratai bei antocianinų išvalytas mišinys buvo lyginami pagal poveikį *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Saccharomyces cerevisiae* kultūroms. Juodųjų serbentų ekstraktų koncentratas slopina *Staphylococcus aureus* DSM 799, *Enterococcus faecium* DSM 2918 augimą, bet švelniai stimuliuoja *Saccharomyces cerevisiae* ATCC 9763. Šeivamedžio ekstrakto koncentratas rodo silpną stimuliuojantį poveikį, neigiamai veikia tik *Escherichia coli* DSM 498. Išvalytas antocianinų mišinys testuojamų

kultūrų augimo neslopino, taigi inhibuojančiu poveikiu pasižymi kiti fitocheminiai junginiai [11].

Vertinant greipfrutų sėklų, žaliosios arbatos ir nizino antimikrobinį poveikį *Listeria monocytogenes* kultūros augimui mėsa buvo užkrėsta gana dideliu ląstelių kiekiu – 10^6 KSV/g. Mėginius saugant 4–10 °C temperatūroje geriausias slopinantis efektas pasiektas kombinuojant nizina su vienu iš ekstraktų, taigi toks derinys gali būti naudojamas apsaugant tiesioginiam vartojimui skirtus gaminius [12]. Antimikrobinų savybių tyrimai derinami ir su apdoroto produkto juslinių savybių vertinimu [13].

Pagrindiniai šalavijo aktyvūs komponentai yra bornilo acetatas, β -cariopilenas, α -pinenas. Eterinis aliejus neveikia eukariotinių ląstelių, bet efektyviai slopina gramteigiamas bakterijas, minimali inhibitorinė koncentracija yra 35–45 μ g/ml. Analizuojant šių medžiagų poveikio mechanizmą nustatyta, kad jų toksinis poveikis pasireiškia fermentų inhibavimu, kaip β -gliukozidazės, β -gliukuroxidazės, ksantinoksidazės [14].

Dašio ekstrakte yra medžiagų, efektyviai slopinančių mikromicetus *Alternaria* ir *Botrytis*. Veikiant ekstraktui slopinamas micelio augimas, pasireiškia ir fungicidinis efektas [15].

Išbandyti 22 etanoliniai ir vandeniniai augalų ekstraktai, efektyviausiai *Clostridium perfringens* augimą slopino rozmarino, česnako, svogūno ekstraktai, maltoje mėsoje sulėtėjo augimas, sporuliacija ir enterotoksinų gamyba, tačiau žaliosios paprikos ekstraktas maltoje mėsoje paskatino testavimo kultūros augimą [16].

Taigi tiriami augalų ir uogų ekstraktai, eteriniai aliejai, analizuojamos jų antimikrobinės savybės ir sudėtis, šių medžiagų priedais bandoma stabilizuoti mikrobiologinių rodiklių dinamiką maisto produktuose. Būtinai tolimesni tyrimai, nes antimikrobinės savybės priklauso ir nuo augalo rūšies, augimo regiono, amžiaus, kai kurie ekstraktai ne slopina, o gali stimuliuoti atskirų mikroorganizmų augimą.

Atsižvelgiant į tai, tyrimų tikslu pasirinkti augalų ekstraktų antimikrobinio poveikio tyrimai difuzijos į agarą metodu, jų efektyvumo maisto sistemose tyrimai siekiant rasti ekstraktus su baktericidinėmis savybėmis.

Tyrimų objektai ir metodai

Tirti vaistinės dirvuolės, saliero, ciberžolės ekstraktai, citrinos, cinamono eteriniai aliejai; sausųjų dažų iš juodojo serbento tirpalas vandenyje; juodojo serbento, mėlynės ir spanguolės uogų bei išspaudų etanoliniai ir išspaudų vandeniniai ekstraktai; mėlynės, juodojo serbento ir spanguolės uogų sultys.

Tyrimuose naudotos testavimo kultūros: *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella agona*, *Salmonella choleraesuis*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis*, *Pichia cluyveri*, *Saccharomyces cerevisiae* H67, *Rhodothorula rubra*.

Antibakterinis aktyvumas įvertintas difuzijos į agarą metodu. Bakterijų ląstelių suspensijai paruošti bakterijų kultūros 18 h buvo auginamos 37 °C terpėje ant nuožulnaus agaro. Nuplauta bakterijų suspensija buvo skiedžiama pagal Mc Farlando standartą Nr. 0,5, gerai permaišoma mini purtykle, ir atitinkamas ląstelių skaičius supilamas į ištirpintą ir atvėsintą iki 47 °C temperatūros standžią terpę bendram bakterijų skaičiui nustatyti, dar kartą gerai permaišoma, kad ląstelės tolygiai pasiskirstytų. Tokiu būdu paruoštas bakterijų ląstelių suspensijos mišinys su terpe skubiai išpilstomas po 10 ml į 90 mm skersmens stiklines Petri lėkšteles. Terpei sustingus, joje padaromos 6 įdubos (8 mm skersmens), į kurias pilama po 50 µl 50, 10 ir 1 % ekstraktų etanolinių tirpalų.

Mielių kultūros buvo auginamos 25 °C temperatūroje vieną parą ant nuožulnaus bulvių-gliukozės agaro. Po vienos paros užaugusios mielių kultūros nuo agaro buvo plaunamos steriliu fiziologiniu tirpalu ir pagal Mc Farlando standartą Nr. 1 paruošta ląstelių suspensija supilama į ištirpintą ir atvėsintą standžią bulvių – gliukozės terpę bei gerai išmaišoma. Tokiu būdu paruoštas bakterijų ir mielių ląstelių suspensijos mišinys su terpe buvo pilstomas po 10 ml į 90 mm skersmens Petri lėkšteles. Terpei sustingus, joje buvo daromos 6-ios 8 mm skersmens įdubos, į kurias pilami tiriami tirpalai. Antimikrobinis poveikis bakterijų kultūroms buvo vertinamas po 24 h, o mielių kultūroms – po 24–48 h kultivavimo pagal skaidrių zonų, susidariusių aplink įdubas, skersmenį, išreikštą milimetrais. Jei aplink įdubas skaidrios zonos nesusidaro, daroma išvada, kad tirta medžiaga ar koncentracija neturi baktericidinio poveikio tiriamai kultūrai.

Vertinant testavimo kultūrų fiziologinės būklės įtaką jautrumui, su agaru buvo maišoma 18 h kultūra ir sporos. Sporų suspensijai paruošti *B. subtilis* kultūra sėjama ant nuožulnaus agaro ir inkubuojama 5 paras 37 °C temperatūroje. Nuplauta nuo nuožulnaus agaro *B. subtilis* suspensija mėgintuvėlyje pasterizuojama 10 min 80 °C temperatūroje, prieš naudojimą skiedžiama iki reikiamo drumstumo pagal Mc Farlando standartą Nr. 0,5.

Nustatant ekstraktų poveikį skystoje terpėje, į 10 ml smegenų ir širdies sultinio įpilta 0,3 ml atitinkamo ekstrakto ar eterinio aliejaus ir 0,01 ml 18 h testavimo kultūros, užaugintos ant nuožulnaus agaro, suspensijos, praskiestos pagal Mc Farlando standartą Nr. 0,5. Paruošti mėginiai laikyti 4 °C temperatūroje. Ląstelių skaičiaus dinamika stebėta sėjant į terpę bendram bakterijų skaičiui ir nustatant jų skaičių (KSV/ml) po 24 valandų.

Vertinant ekstrakto buvimo apsauginėje plėvelėje įtaką produkto mikrobiologinių rodiklių stabilumui tirtos agaru padengtos pieniškos dešrelės. Ruošiant mėginį dešrelės supjaustomos vienodais (10,0±1,0) g gabalėliais, sumirkomos 5 minutes *L. monocytogenes* ar *S. typhimurium* suspensijoje, steriliu tamponu pašalinami skysčio likučiai ir merkiamos į ištirpintą agarą. Agaro sterilus 2 % tirpalas ištirpinamas ir atvėsinaamas iki 47 °C, jame ištirpinamas tiriamas ekstraktas, sumirkomi mėginio gabaliukai pasidengia agaro plėvele su ekstraktu. Ektrakto poveikis mikrobiologinių rodiklių stabilumui vertinamas periodiškai nustatant užkrėtimui naudoto mikroorganizmo kolonijų skaičių. Salmonelės buvo sėjamos ant XLD agaro, listerijos ant Oksfordo agaro paviršiniu būdu.

Rezultatai ir jų aptarimas

Įvairiose uogose yra medžiagų, slopinančių mikroorganizmų augimą. Skirtingais tirpikliais ekstrahuotose mėlynės, spanguolės, juodojo serbento uogų ir išspaudų ekstraktuose bei sultyse yra nevienodas fenolinių junginių ir antocianinų kiekis. Didžiausios slopinimo zonos (1 lentelė) susidaro aplink įdubas su juodojo serbento uogų sultimis. Vandeniame ekstrakte antocianinų daugiau, bet mažiau fenolinių junginių, slopinimo zonos mažesnės 1,3 karto. Juodojo serbento uogų etanoliniame ekstrakte antocianinų mažiau 6 kartus, bet slopinimo zonos beveik nesiskiria. Sultyse iš mėlynės uogų beveik dvigubai daugiau fenolinių junginių ir antocianinų, negu vandeniame ekstrakte, bet slopinimo zonų skersmuo didesnis nežymiai, mėlynės etanolinis ekstraktas mažiausiai veiksmingas, bet ir aktyviųjų komponentų koncentracija jame yra mažiausia. Spanguolės uogų sultyse taip pat daugiau fenolinių junginių ir antocianinų, sultys pasižymi stipriausiu antimikrobinio poveikiu ir sudaro didžiausio skersmens slopinimo zonas, vandeniame ekstrakte mažiau fenolinių junginių ir antocianinų, bet slopinimo zonos skiriasi nedaug. Tarp tirtų kultūrų jautriausia *E. coli*, *P. aeruginosa* ir *S. typhimurium* mažiau jautrios ir sudaro mažesnes slopinimo zonas.

1 lentelė. Vandeninių ir etanolinių uogų ekstraktų bei sulčių antimikrobinio poveikio stiprumas bakterijų ląstelių kultūroms

Mėginys			Slopinimo zonų skersmuo, mm		
Žaliava	Fenolinių junginių konc., mg/ml	Antocianinų konc., mg/l	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. typhimurium</i>
Sausųjų juodojo serbento dažų tirpalas vandenyje, 1g/l	0,05	9,89	9,33±0,47	8,33±0,47	8,33±0,47
Juodojo serbento išspaudų etanolinis ekstraktas	–	55,67	13,33±1,24	11,00±0,00	15,00±0,00
Mėlynės išspaudų etanolinis ekstraktas	–	65,13	8,00±0,00	9,00±0,00	9,00±0,00
Mėlynės uogų etanolinis ekstraktas	–	64,08	15,00±0,00	12,66±0,47	13,33±1,24
Juodojo serbento uogų etanolinis ekstraktas	–	56,30	24,00±0,00	13,00±0,00	13,33±1,24
Mėlynės išspaudų vandeninis ekstraktas	1,70	363,4	15,00±0,00	12,33±1,63	10,00±0,81
Spanguolės sultys	1,61	131,9	28,33±0,81	17,33±0,47	19,33±0,00
Juodojo serbento išspaudų vandeninis ekstraktas	3,10	306,7	22,00±1,63	14,00±0,00	12,00±0,00
Juodojo serbento sultys	6,20	226,9	29,00±0,00	14,00±0,00	16,33±1,63
Spanguolės išspaudų vandeninis ekstraktas	1,27	76,05	17,33±0,47	13,00±0,81	13,00±0,00
Mėlynės sultys	2,67	617,6	20,33±0,47	14,00±0,00	12,00±0,00
Etanolis	0	0	8,00±0,00	8,00±0,00	8,33±0,33

Mielių kultūrų jautrumas dar mažesnis (2 lentelė). Bandyme naudotos maisto produktuose nepageidaujama mielių kultūros sudaro mažesnes slopinimo zonas, didesniu jautrumu išsiskiria *S. cerevisiae*, stipriausiu poveikiu išsiskiria spanguolės uogų sultys, kitų tirtų uogų sultys ir ekstraktai mažai veiksmingi ir sudaro minimalias zonas.

Ekstraktų antimikrobines savybes vertinant difuzijos į agarą metodu testavimo kultūros koncentracija nustatoma pagal drumstumo standartą. Pabandžius palyginti skirtingų kultūros koncentracijų įtaką bandymo rezultatams nustatyta, kad jos kiekis ne visada turi įtakos (3 lentelė), dažniau pastebimas variantuose su 10 % vaistinės dirvuolės ekstrakto tirpalu. Tas efektas nustatytas *B. subtilis* vegetatyvinėms ląstelėms, bet nenustatytas šios bakterijos sporoms. Dalis tirtų salmonelių kultūrų ir *E. cloacae* vaistinės dirvuolės ekstraktams buvo atsparios.

Salmonelės ekstraktams atsparios ir skystoje terpėje (4 lentelė). Visų kultūrų ląstelių skaičius per 24 h laikant šaldytuve sumažėja, tačiau veikiant ekstraktams ir eteriniams aliejams mažėja labiau. Cinamono eterinis aliejus *B. subtilis* vegetatyvines ląsteles veikia baktericidiškai, bet neužmuša šios bakterijos sporų. Gana efektyviai sumažina

S. typhimurium skaičių, bet nenužudo *S. enteritidis*. Nors difuzijos į agarą metodu ši kultūra pasižymi didesniu jautrumu (5 lentelė), *B. subtilis* sporos ir šiame bandyme yra mažiau jautrios, tarp kitų medžiagų jautrumu išsiskiria cinamono eterinis aliejus.

Šios medžiagos veiksmingos ir mielių kultūrų atžvilgiu, vėlgi stipriausiu poveikiu išsiskiria cinamono eterinis aliejus (6 lentelė), kuris kultūrų augimą nuslopina visoje lėkštelėje.

Bandant panaudoti ekstraktus modelinėse maisto sistemose ekstrakto efektyvumas buvo bandomas dešrelių plėvelėje. Pagal ankstesnių tyrimų duomenis ciberžolės ekstraktas slopina bakterijų augimą. Saugant šaldytuve dešreles, padengtas plėvele su šia medžiaga, *Listeria monocytogenes* slopinimas nenustatytas (7 lentelė). Ši bakterija sugeba augti ir žemoje temperatūroje, plėvelėje esantis ekstraktas tik nežymiai sulėtina dauginimąsi.

Analogiškas bandymas buvo atliktas su agaro plėvelė su 2 % saliero šaknų ekstrakto stebint *Salmonella typhimurium* dinamiką. Toks dešrelių paruošimas mikroorganizmų augimo taip pat nesustabdo (8 lentelė). Po 48 h pastebimas saliero ekstrakto slopinantis efektas, lyginant su kitais variantais, ląstelių skaičius išaugo mažiausiai, tačiau vėliau skirtumai tarp variantų sumažėja.

2 lentelė. Vandeninių ir etanolinių uogų ekstraktų bei sulčių antimikrobinio poveikio stiprumas mielių ląstelių kultūroms

Mėginys			Slopinimo zonų skersmuo, mm		
Žaliava	Fenolinių junginių konc., mg/ml	Antocianinų konc., mg/l	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	<i>Candida parapsilosis</i>	<i>Pichia kluyveri</i>
Sausųjų juodojo serbento dažų tirpalas vandenyje, 1g/l	–	9,89	8,00±0,00	8,00±0,00	8,00±0,00
Juodojo serbento išspaudų etanolinis ekstraktas	–	55,67	9,33±0,47	9,00±0,00	9,66±0,81
Mėlynės išspaudų etanolinis ekstraktas	–	65,13	11,00±0,00	8,33±0,47	9,00±0,00
Mėlynės uogų etanolinis ekstraktas	–	64,08	15,00±0,00	9,66±0,47	9,66±0,47
Juodojo serbento uogų etanolinis ekstraktas	–	56,30	17,33±1,63	9,00±0,00	9,00±0,00
Mėlynės išspaudų vandeninis ekstraktas	1,70	363,4	8,00±0,00	8,00±0,00	8,00±0,00
Spanguolės sultys	1,61	131,9	21,33±0,81	8,00±0,00	8,00±0,00
Juodojo serbento išspaudų vandeninis ekstraktas	3,10	306,7	15,33±1,63	8,00±0,00	8,00±0,00
Juodojo serbento sultys	6,20	226,9	14,33±0,47	8,00±0,00	8,00±0,00
Spanguolės išspaudų vandeninis ekstraktas	1,27	76,05	8,00±0,00	8,00±0,00	8,00±0,00
Mėlynės sultys	2,67	617,6	8,00±0,00	8,00±0,00	8,00±0,00
Etanolis			8,00±0,00	8,00±0,00	8,00±0,00

3 lentelė. Vaistinės dirvuolės vandeninio ekstrakto antimikrobinis aktyvumas esant skirtingai kultūros koncentracijai

Eil. Nr.	Testavimo kultūra		Ekstrakto tirpalo konc., proc.	
	Pavadinimas	Kiekis lėkštelėje, ml	5	10
			Slopinimo zonų skersmuo, mm	
1.	<i>S. enteritidis</i>	0,1	14,0±2,6	18,3±3,5
		0,2	13,0±1,0	15,3±2,3
		0,3	13,0±1,0	13,7±0,6
2.	<i>S. choleraesuis</i>	0,1	0,0±0,0	0,0±0,0
		0,2	0,0±0,0	0,0±0,0
		0,3	0,0±0,0	0,0±0,0
3.	<i>B. subtilis</i> vegetatyvinės ląstelės	0,1	14,3±2,5	18,0±0,6
		0,2	14,0±1,7	16,7±1,5
		0,3	13,7±2,1	12,3±0,6
4.	<i>B. subtilis</i> sporos	0,1	15,0±1,7	17,0±2,0
		0,2	15,3±1,2	16,7±0,6
		0,3	16,7±1,5	16,7±1,5
5.	<i>S.typhimurium</i>	0,1	0,0±0,0	0,0±0,0
		0,2	0,0±0,0	0,0±0,0
		0,3	0,0±0,0	0,0±0,0
6.	<i>S. agona</i>	0,1	0,0±0,0	0,0±0,0
		0,2	0,0±0,0	0,0±0,0
		0,3	0,0±0,0	0,0±0,0
7.	<i>E. cloacae</i>	0,1	0,0±0,0	0,0±0,0
		0,2	0,0±0,0	0,0±0,0
		0,3	0,0±0,0	0,0±0,0

4 lentelė. Ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinis aktyvumas skystoje terpėje

Tiriamoji medžiaga	Laikymo trukmė, h	Medžiagos kiekis, ml	Testavimo kultūros ląstelių skaičius, KSV/ml			
			<i>B. subtilis</i> , sporos	<i>B. subtilis</i> , veg. ląst.	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>
Pradinė kultūros suspensija	0	0,0	$(4,5\pm 1,3)\cdot 10^5$	$(2,0\pm 0,6)\cdot 10^4$	$(4,5\pm 1,2)\cdot 10^6$	$(7,0\pm 2,3)\cdot 10^4$
Saliero ekstraktas	24	0,3	$(2,3\pm 0,3)\cdot 10^4$	$(2,0\pm 0,7)\cdot 10^3$	$(1,3\pm 0,3)\cdot 10^6$	$(1,8\pm 0,4)\cdot 10^4$
Citrinos eterinis aliejus	24	0,3	$(2,0\pm 0,5)\cdot 10^4$	$(1,3\pm 0,3)\cdot 10^3$	$(3,0\pm 0,9)\cdot 10^5$	$(1,3\pm 0,3)\cdot 10^4$
Cinamono eterinis aliejus	24	0,3	$(2,5\pm 0,7)\cdot 10^4$	0,0	0,0	$(1,9\pm 0,4)\cdot 10^4$
Kontrolė	24	0,0	$(4,8\pm 1,4)\cdot 10^4$	$(2,3\pm 0,5)\cdot 10^3$	$(1,2\pm 0,3)\cdot 10^6$	$(6,0\pm 0,3)\cdot 10^4$

5 lentelė. Ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinis aktyvumas bakterijų kultūrų atžvilgiu

Tiriamoji medžiaga	Ekstrakto konc., proc.	Slopinimo zonų skersmuo, mm				
		<i>B. subtilis</i> , sporos	<i>B. subtilis</i> , veg. ląst.	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>M. luteus</i>
Saliero ekstraktas	10	11,3±0,47	19,3±1,5	14,3±1,5	16,3±1,5	16,3±1,5
	5	0,0	13,7±2,1	11,0±0,0	11,0±0,0	13,0±0,0
Citrinos eterinis aliejus	10	13,7±1,69	16,7±1,5	11,0±0,0	12,0±0,0	11,0±0,0
	5	0,0	11,3±0,47	9,0±0,0	9,0±0,0	9,0±0,0
Cinamono eterinis aliejus	10	40,0±0,0	40,0±0,0	26,3±0,47	36,0±0,0	40,0±0,0
	5	30,7±1,7	36,7±1,5	16,7±1,5	26,7±1,5	30,7±1,5

6 lentelė. Ekstraktų ir eterinių aliejų antimikrobinis aktyvumas mielių kultūrų atžvilgiu

Tiriamoji medžiaga	Ekstrakto konc., proc.	Slopinimo zonų skersmuo, mm		
		<i>R. rubra</i>	<i>H 67</i>	<i>S. cerevisiae</i>
Saliero ekstraktas	10	13,7±2,1	14,3±2,5	11,0±1,7
	5	11,0±1,7	13,0±1,7	9,0±0,0
Citrinos eterinis aliejus	10	18,7±2,1	12,7±2,1	12,7±2,1
	5	13,0±1,7	12,0±1,7	0,0
Cinamono eterinis aliejus	10	40,0±0,0	40,0±0,0	40,0±0,0
	5	40,0±0,0	40,0±0,0	40,0±0,0

7 lentelė. Ciberžolės ekstrakto apsauginėje plėvelėje įtaka *Listeria monocytogenes* dauginimuisi pieno rūgšties dešrelių paviršiuje

Apsauginės plėvelės sudėtis, proc. mėlynių ekstrakto	Produkto laikymo trukmė, h	Ląstelių skaičius, KSV/g
0,0	0	$(2,3\pm 0,3)\cdot 10^5$
	24	$(4,1\pm 0,5)\cdot 10^8$
	48	$(4,9\pm 0,5)\cdot 10^8$
	72	$(5,0\pm 0,9)\cdot 10^8$
1,0	0	$(2,3\pm 0,3)\cdot 10^5$
	24	$(3,2\pm 0,3)\cdot 10^8$
	48	$(4,0\pm 0,5)\cdot 10^8$
	72	$(4,0\pm 0,3)\cdot 10^8$

8 lentelė. *Salmonella typhimurium* augimo dinamika pienoškų dešrelių apsauginėje plėvelėje įdėjus augalų ekstraktus

Laikymo trukmė, h	Ląstelių skaičius, KSV/g		
	Agaro plėvelė be priedų	Agaro plėvelė su 2 % saliero šaknų ekstrakto	Dešrelė be plėvelės
0	$(5,1 \pm 1,3) \cdot 10^5$	$(5,1 \pm 1,3) \cdot 10^5$	$(5,1 \pm 1,3) \cdot 10^5$
48	$(2,3 \pm 0,3) \cdot 10^8$	$(7,5 \pm 1,3) \cdot 10^7$	$(3,1 \pm 0,3) \cdot 10^8$
96	$(6,1 \pm 1,5) \cdot 10^8$	$(4,5 \pm 1,5) \cdot 10^8$	$(5,8 \pm 0,5) \cdot 10^8$

Tyrimų apibendrinimas

Skirtingais tirpikliais ekstrahuotose mėlynės, spanguolės, juodojo serbento ekstraktuose ir sultyse yra nevienodas fenolinių junginių ir antocianinų kiekis. Didžiausias slopinimo zonų vidurkis susidaro aplink įdubas su sultimis. Vandeniame ir etanoliniame ekstrakte antocianinų daugiau, bet mažiau fenolinių junginių, slopinimo zonų skersmuo skiriasi nedaug. Tai rodo, kad uogų ekstraktuose antimikrobinėmis savybėmis pasižymi ir kiti junginiai. Mielių kultūrų jautrumas dar mažesnis, stipriausiu poveikiu išsiskiria spanguolės uogų sultys, kitų tirtų uogų sultys ir ekstraktai mažai veiksmingi.

Pabandžius palyginti skirtingų kultūros koncentracijų įtaką bandymo rezultatams nustatyta, kad ji pastebima variantuose su 10 % vaistinės dirvuolės ekstrakto tirpalu. Tas efektas nustatytas *B. subtilis* vegetatyvinėms ląstelėms, bet nenustatytas šios bakterijos sporoms.

Salmonelės ekstraktams atsparios ir skystoje terpėje. Visų kultūrų ląstelių skaičius per 24 h laikant šaldytuve sumažėja, tačiau veikiant ekstraktams ir eteriniams aliejams mažėja labiau. Cinamono eterinis aliejus *B. subtilis* vegetatyvines ląsteles veikia baktericidiškai, bet neužmuša šios bakterijos sporų. Gana efektyviai sumažina *S. typhimurium* skaičių, bet nenužudo *S. enteritidis*. Cinamono eterinis aliejus veiksmingas ir mielių kultūrų atžvilgiu, kultūrų augimą nuslopina visoje lėkštelėje.

Bandant panaudoti ekstraktus modelinėse maisto sistemose ekstrakto efektyvumas buvo vertinamas dešrelių plėvelėje. Saugant šaldytuve dešreles, padengtas plėvele su ciberžolės ekstraktu, *Listeria monocytogenes* slopinimas nenustatytas, ši bakterija sugeba augti ir žemoje temperatūroje, plėvelėje esantis ekstraktas tik nežymiai sulėtina dauginimąsi. Agaro plėvelė su 2 % saliero šaknų ekstrakto nesustabdo *Salmonella typhimurium* augimo.

Išvados

1. Cinamono eterinis aliejus veiksmingas bakterijų ir mielių kultūrų atžvilgiu, 50 µl kultūrų augimą nuslopina visoje lėkštelėje, citrinos eterinis aliejus veikia silpniau.

2. Skirtingais tirpikliais ekstrahuotose mėlynės, spanguolės, juodojo serbento ekstraktuose ir sultyse fenolinių junginių ir antocianinų kiekis svyravo atitinkamai nuo 0,05 iki 6,20 mg/ml ir nuo 9,86 iki 617,6 mg/l, bet slopinimo zonų skersmuo skyrėsi nedaug. Tai rodo, kad uogų ekstraktuose antimikrobinėmis savybėmis pasižymi ir kiti junginiai.
3. Pienišką dešreles padengus agaro plėvele su 2 % ciberžolės ar saliero ekstrakto nepavyksta stabilizuoti mikrobiologinių rodiklių, ekstrakto priedas nesustabdo, tik sulėtina testavimo kultūrų augimą.

Literatūra

1. **Hartwig H., Schlässer A., Rabsch W., Beckmann G.** Salmonellen in Kräutern und Gewürzen // Fleischwirtschaft. 2006. Vol. 3. P. 150–154.
2. **Hülst R., Buchholz M.** Detection von Salmonellen in Gewürzen // Fleischwirtschaft. 2006. Vol. 7. P. 63–64.
3. **Dwivedi S., Vasavada M. N., Cornforth D.** Evaluation of Antioxidant Effects and Sensory Attributes of Chinese 5-Spice Ingredients in Cooked Ground Beef // Journal of Food Science. 2006. Vol. 71, No. 1. P. C12–C17.
4. **Guynot M. E., Ramos A. J., Seto I., Puroy P., Sanchis V., Marin S.** Antifungal activity of volatile compounds generated by essential oils against fungi commonly causing deterioration of bakery products // Journal of Applied Microbiology. 2003. Vol. 94, No. 5. P. 893–899.
5. **Ozkan G., Sagdic O., Ozcan M.** Inhibition of pathogenic bacteria by essential oils at different concentrations // Food Science and Technology International. 2003. Vol. 9(2). P. 85–88.
6. **Martinez L., Cillia I., Beltran J. A., Roncales P.** Effect of Capsicum annum (Red Sweet and Cayenne) and Piper nigrum (Black and White) Pepper Powders on the Shelf Life on Fresh Pork Sausages Packaged in Modified Atmosphere // Journal of Food Science. 2006. Vol. 71, No. 1. P. S48–S53.
7. **Atif C. Seydim, Zeynep B., Guzel-Seydim, Jim C. Acton, Paul L. Dawson.** Effects of Rosemary Extract and sodium Lactate on Quality of Vacuum-packaged Ground Ostrich Meat // Journal of Food Science. 2006. Vol. 71, No. 1. P. S71–S75.
8. **Mytle N., Anderson G. L., Doyle M. P., Smith M. A.** Antimicrobial activity of clove (*Syzygium aromaticum*)

- oil in inhibiting *Listeria monocytogenes* on chicken frankfurters // *Food Control*. 2006. Vol. 17, No. 2. P. 102–107.
9. **Zivanovic S., Chi S., Draughon A. E.** Antimicrobial activity of chitosan Films Enriched with Essential Oils // *Journal of Food Science*. 2005. Vol. 70, No. 1. P. M45–M51.
 10. **Choi J. H., Kyung K. H.** Allyl Alcohol Is the Sole Antiyeast Compound in Heated Garlic Extract // *Journal of Food Science*. 2005. Vol. 70, No. 6. P. M305–M309.
 11. **Werlein H.-D. C., Kuttemeyer A., Schattona G., Hubbermann E. M., Schwarz B. K.** Influence of elderberry and blackcurrant concentrates on the growth of microorganisms // *Food Control*. 2005. Vol. 16, No. 8. P. 729–733.
 12. **Sivaroban T., Hettiarachy N. S., Johnson M. G.** Inhibition of *Listeria monocytogenes* by nisin combined with grape seed extract in soy protein film coated on turkey frankfurters // *Journal of Food Science*. 2006. Vol. 71, No. 2. P. M39–M44.
 13. **Chi S., Zivanovic S., Penfield M. P.** Application of chitosan films enriched with oregano essential oil on bologna – active compounds and sensory attributes // *Food Science and Technology International*. 2006. Vol. 12, No. 2. P. 111–117.
 14. **Garcija-Vallejo M. C., Moujir L., Burillo J.** Chemical composition and biological activities of the essential oils of *Salvia canariensis* // *Flavour and Fragrance Journal*. 2006. Vol. 21, No. 2. P. 277–281.
 15. **Boyras N., Ozcan M.** Inhibition of phytopathogenic fungi by essential oil, hydrosol, ground material and extract of summer savory (*Satureja hortensis* L.) // *International Journal of Food Microbiology*. 2006. Vol. 107, No. 3. P. 238–242.
 16. **Omar S. S., Al-Delaimy K. S., Abdullah Z. A.** The inhibitory effect of Jordanian selected plant extracts on growth and enterotoxin production by *Clostridium perfringens* // *Advances in Food Sciences*. 2006. Vol. 28, No. 1. P. 23–28.

Padėka. Šį darbą rėmė Lietuvos valstybinis mokslo ir studijų fondas (sutartis C03/2004).

Pateikta spaudai 2007-04

A. Šarkinas, I. Jasutienė

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF PLANT AND BERRYS EXTRACTS

Summary

Agrimony (*Agrimonia eupatoria* L.), celery (*Apium graveoleus* L.) and turmeric (*Curcuma longa* Vab.) extracts, the essential oils, cranberry, black currant and bilberry extracts from berries and berry cakes were investigated. The antibacterial activity of plant extracts was determined by using a diffusion to agar method and model system of sausages.

Spores and vegetative cells of *Bacillus subtilis*, test cultures of *Salmonella typhimurium*, *Salmonella*

enteritidis, *Salmonella agona*, *Salmonella choleraesuis*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis*, *Pichia cluyveri*, *Saccharomyces cerevisiae* H67, and *Rhodothorula rubra* were used for evaluation of antibacterial activity. The antibacterial activity of plant extracts was determined by using a diffusion to agar method and model system of minced meat.

The biggest inhibition zones were around the pits with juice. The total anthocyanins and phenolics compounds content were different in the water and ethanol extracts of the tested berries, however, the inhibition zone diameter ranged to some extent. It shows that the antimicrobial properties of the berry extracts are also characterized by other compounds. Yeast show minimal sensitivity, only cranberry juice was effective among the investigated berry extracts and juices.

The cassia essential oil affects the bactericidal *B. subtilis* vegetative cells in the liquid medium, but does not destroy the spores of the bacteria. It effects the quantity of *S. typhimurium*, but does not destroy *S. enteritidis*. The cinnamon essential oil is efficient for yeast culture – it inhibits the growth of the test culture on the entire plate.

The above plant extracts were stuffed in to the sausage coat. The sausages were investigated after storing in refrigerator. The curcuma extract had a small inhibitory effect on *Listeria monocytogenes*: this bacterium can grow at a low temperature. The coat with 2 % celery root extract did not stop the growth of *Salmonella typhimurium*.

Keywords: plant extracts, meat products, antimicrobial properties.

A. Шаркинас, И. Ясутене

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ РАСТЕНИЙ И ЯГОД

Резюме

Исследовались экстракты агримонии, сельдерея, эфирные масла лимона и корицы, экстракты ягод, выжимок и сок черной смородины, черники, клюквы.

В опытах применяли тест-культуры *Salmonella typhimurium*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella agona*, *Salmonella choleraesuis*, *Listeria monocytogenes*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis*, *Pichia cluyveri*, *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhodothorula rubra*.

Диаметр прозрачных зон оказался наибольшим в чашках с соком исследуемых ягод. В водных и этанольных экстрактах содержалось различное количество фенольных соединений и антоцианинов, но диаметр прозрачных зон различался мало, следовательно, антимикробными свойствами обладают и другие соединения, содержащиеся в ягодах. Дрожжи более устойчивы к их воздействию, эффективен только сок клюквы.

Концентрация клеток тест-культуры в среде не влияет на результаты.

Эфирное масло корицы в жидкой среде обладает бактерицидным действием против вегетативных клеток *Bacillus subtilis*, но не уничтожает споры, подавляет рост *Salmonella typhimurium* и дрожжей.

Покрытие колбас агаровой пленкой с 2 % экстракта не стабилизирует микробиологические показатели во время хранения продукта при низких положительных температурах, только замедляет развитие клеток тест-культуры *Salmonella typhimurium*, *Listeria monocytogenes*.