

Kalendros, kmyņu ir kitų augalų ekstraktų antimikrobinės savybės

A. Šarkinas, A. Miežilienė, G. Alenčikienė

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

A. Šipailienė, P. R. Venskutonis

Kauno technologijos universitetas, Radvilėnų pl. 19, LT-50254 Kaunas

Augalų ekstraktų antibakteriniam aktyvumui įvertinti naudotos *Bacillus subtilis* vegetatyvinės ląstelės ir sporos, *Salmonella typhimurium*, *S. agona*, *S. enteritidis*, *S. choleraesuis* testavimo kultūros. Tirti blakinės kalendros (*Coriandrum sativum* L.), paprastojo kmyno (*Carum carvi* L.), saliero (*Apium graveolens* L.), česnako (*Allium sativum* L.), paprastojo raudonėlio (*Origanum vulgare* L.) ekstraktai. Antibakterinis aktyvumas įvertintas difuzijos į agarą metodu bei modelinėje maltos mėsos sistemoje.

Kalendros, saliero, česnako, raudonėlio ekstraktai slopino testavimo kultūros augimą, didesniu efektyvumu pasižymėjo salierai, kitų poveikis silpnesnis. Lėkštelėse su sporomis gautas nežymiai didesnis slopinimo zonų vidurkis, nors patikimų skirtumų nenustatyta.

Difuzijos į agarą metodu vertinant kmynų ekstrakto antimikrobinės savybės nustatytas poveikis salmonelių grupei ir *B. subtilis* testavimo kultūroms. Kmynų ekstraktas slopino visų testavimo kultūrų augimą, bet poveikis nebuvo stiprus, slopinimo zonos susidarė nedidelės. Tarp salmonelių kultūrų pastebėti jautrumo skirtumai. Mažiausiu jautrumu pasižymėjo maistinių toksikoinfekcijų sukėlėjos *S. typhimurium* ir *S. agona*. Salmonelės priskiriamos gramneigiamų bakterijų grupei, o *B. subtilis* – gramteigiamoms bakterijoms, tačiau didesnių jautrumo skirtumų tarp šių bakterijų nenustatyta. Lyginant jaunos kultūros vegetatyvinių ląstelių ir sporų jautrumą, taip pat nenustatyti skirtumai.

Maltoje mėsoje su kalendros ekstraktu bei mėsoje su kmynų ekstraktu bendras bakterijų skaičius ir koliforminės bakterijos augo visuose mėginiuose. Variantuose, kur didesnė ekstrakto koncentracija, augimas buvo lėtesnis. Patogeninių mikroorganizmų (stafilokokų ir salmonelių) tiriamoje mėsoje neaptikta nei bandymo pradžioje, nei pabaigoje.

Įvertintas mėginių su prieskoninių augalų ekstraktų priedais juslinis priimtumas. Didėjant kalendros ekstrakto koncentracijai, priimtumas mažėjo. Gaminiai su 0,2 % ekstrakto priedu vertinti kaip labiausiai priimtini, o su 1,0 % priedu – kaip labai nepriimtini. Nustatyta, kad siekiant sustiprinti kalendros ekstrakto antimikrobinį poveikį, negalima didinti jo koncentracijos dėl nepriimtinių juslinių savybių.

Raktažodžiai: augalų ekstraktai, mėsos gaminiai, antimikrobinės savybės, juslinės savybės.

Įvadas

Augalinės kilmės medžiagos gana plačiai taikomos maisto pramonėje, vis labiau naudojami augalų ekstraktai. Vertingų komponentų kiekis sausoje augalų masėje gali siekti 1–3 %, jie gana sunkiai atskiriami nuo natūralios matricos. Distiliuojant vandens garais išskiriamos medžiagos su žema virimo temperatūra, bet vyksta komponentų denatūracija ir kiti nenaudingi pokyčiai. Organiniai tirpikliai – acetonas, heksanas, izopropanolis, etanolis leidžia gauti vertingesnius pagal sudėtį ekstraktus, nes juose lieka daugiau medžiagų ir skonį gerinančių komponentų. Naudojant hidrofilinius tirpiklius (acetoną, etanolį) gaunami ekstraktai, kuriuose didesnis kiekis nepageidaujamų dažančių medžiagų. Hidrofobiniai tirpikliai – heksanas,

dichloretanas – geriau ekstrahuoja riebalines medžiagas, bet nepaima angliavandenių ir dervų [1].

Kita augalinės kilmės medžiaga yra eteriniai aliejai. Jie pasižymi daugeliu vertingų savybių, tarp jų ir antimikrobinis poveikiu, kuris nustatomas įvairiais metodais. Įvertintas keleto augalų eterinių aliejų: gvazdikėlių, eukalipto, citrinų, mėtų, pušų, rozmarino, baziliko, arbatžolių poveikis *E. coli* 4 kolekcinių ir 2 nuo mėsos produktų išskirtų kultūrų augimui ir gyvybingumui. Tyrimai atlikti taikant difuzijos į agarą metodą bei nustatant minimalią inhibitorinę ir baktericidinę koncentraciją. Difuzijos į agarą metodu nustatyta, kad visų kultūrų jautrumas panašus. Stipriausiu poveikiu pasižymėjo gvazdikėlių eterinis aliejus, minimali inhibitorinė ir

baktericidinė koncentracija siekė 0,25 ir 0,3 ml/100ml, pakako 15–60 min poveikio [2].

Vertinamos ne tik ekstraktų tirpalų, bet ir jų kompozicijų antimikrobinės savybės. Taikant difuzijos į agarą metodą, į įdubas lašinta 50 µl santykiu 1:5, 1:10, 1:20 metanoliu praskiestų ekstraktų tirpalų ar jų kompozicijų. Kompozicijų slopinantis efektas buvo stipresnis. Tačiau slopinimas pasireiškė ne tik patogeninių, bet ir pieno rūgšties bakterijų atžvilgiu [3]. Bandomos ne tik ekstraktų kompozicijos, bet ir jų deriniai su cheminėmis medžiagomis. Antimikrobinės medžiagos, išskirtos iš prieskonių, bei jų kompozicijos su organinėmis rūgštimis pakankamai efektyviai slopino *Clostridium perfringens*, kuri sukelia nemažą dalį maistinių apsinuodijimų, augimą [4].

Nuo įvairių augalų izoliuoti mikroorganizmai paprastai būna atsparūs ir tų augalų ekstraktams, pvz., nuo česnakų išskirta mikroorganizmų kultūra. Ji buvo gramteigiama, koku formos, nesudarė sporų, buvo heterofermentinė ir katalazei neigiama, identifikuota, kaip *Leuconostoc argentinum*. Kultūra atspari antimikrobinėms česnako medžiagoms ir galėjo augti joms esant [5].

Augalų ekstraktai dažniausiai vartojami maisto saugumui ir kokybei užtikrinti tiek nuo mikrobiologinio, tiek nuo cheminio gedimo. Kepenų paštetai, turintys daug riebalų ir geležies, yra jautrūs oksidacijos reakcijoms. Šalavijo ir rozmarino ekstraktai, vartojami kaip natūralūs antioksidantai, sumažina tiobarbitūrinės rūgšties, heksanalo ir karbonilinių junginių susidarymą lyginant su kontrole [6]. Vartojant vandeninį žaliosios arbatos ekstraktą galima išvengti ir nepageidaujamų paukštienos juslinių savybių pokyčių apšvitinant mėsą [7]. Chitozanas taip pat vartojamas realizavimo trukmei padidinti. Esant produkto dangoje chitozano, visiškai blokuojamas *A. niger* augimas, apie 30 % sumažinamas vandens garavimas ir džiovimas [8]. Eterinių aliejų žaliava išlaiko būdingas savybes net ir ilgai ją saugant. Buvo pagamintas eterinis aliejus iš kmynų sėklų, išlaikytų 36 metus, jam būdingas tipiškas aromatas, identifikuota bent 60 lakių komponentų. Aliejus efektyviai slopino *A. niger*, *B. subtilis*, *S. epidermiais*, *S. cerevisiae*, *C. albicans* [9].

Paprastasis kmynas (*Carum carvi* L.) yra dvimetis arba daugiametis 30–100 cm augalas, paplitęs visoje Eurazijoje, Lietuvoje auga pievose, palaukėse, auginamas kaip kultūrinis. Vartojami kmyno vaisiai yra aromatingi, kartaus skonio, turi daug eterinio aliejaus, kuris pasižymi fungicidiniu poveikiu [10].

Blakinė kalendra (*Coriandrum sativum* L.) yra vienmetis žolinis augalas, Lietuvoje auginamas

daržuose, vartojamii vaisiai. Kalendrų eteriniame aliejuje yra linalolio, limoneno, kamparo ir kitų komponentų [10].

Trumpa apžvalga rodo, kad ekstraktai gaminami naudojant skirtingus tirpiklius, nes nuo to priklauso jų sudėtis bei galimas poveikis. Įvertinant augalų ekstraktų savybes, būtina iširti skirtingų frakcijų efektyvumą. Vertinant antimikrobinės savybes, taikomas paprastas difuzijos į agarą metodas, juo lengviausiai galima atrinkti efektyvius ir neefektyvius augalus ir ekstraktus. Paprastai norima nustatyti antimikrobinėmis savybėmis pasižyminčių ekstraktų minimalią baktericidinę koncentraciją bei reikalingą poveikio trukmę. Pateikiami duomenys, kad ji gali siekti 0,25 ml/100 ml ar 2 µg/ml. Augalų ekstraktai dedami ir į maisto produktus, siekiant gauti tiek antimikrobinį, tiek antioksidacinį efektą, didesniu efektyvumu pasižymi ekstraktų kompozicijos ar jų mišiniai su organinėmis rūgštimis. Dalis ekstraktų stimuliuoja naudingos mikrofloros augimą.

Tyrimų tikslas – augalų ekstraktų antimikrobinio poveikio įvertinimas difuzijos į agarą metodu bei maisto sistemose, kartu įvertinant produktų su ekstraktais juslinę kokybę bei priimtumą.

Tyrimų metodai

Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antibakteriniam aktyvumui įvertinti naudotos *Bacillus subtilis* vegetatyvinės ląstelės ir sporos, *S. typhimurium*, *S. agona*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. choleraesuis* testavimo kultūros.

Tirti kalendros, saliero, česnako, raudonėlio bei kmynų ekstraktai. Antibakterinis aktyvumas įvertintas difuzijos į agarą metodu. Bakterijų ląstelių suspensijai paruošti bakterijų kultūros 18 h augintos 37 °C terpėje ant nuožulnaus agaro. Nuplauta bakterijų suspensija skiesta pagal Mc Farlando standartą Nr. 0,5, gerai permaišyta mini purtykle, ir atitinkamas ląstelių skaičius supiltas į ištirpintą ir atvėsintą iki 47 °C temperatūros standžią terpę bendram bakterijų skaičiui nustatyti, dar kartą gerai permaišyta, kad ląstelės tolygiai pasiskirstytų. Taip paruoštas bakterijų ląstelių suspensijos mišinys su terpe skubiai išpilstytas po 10 ml į 90 mm skersmens stiklines Petri lėkšteles. Terpei sustingus, joje padarytos 6 įdubos (8 mm skersmens), į kurias pilta po 50 µl 50, 10 ir 1 % ekstraktų etanolinių tirpalų.

Antimikrobinis poveikis bakterijų kultūroms vertintas po 24 h kultivavimo pagal skaidrių zonų susidariusių aplink įdubas, skersmenį, išreikštą milimetrais. Jei aplink įdubas skaidrios zonos nesusidarė, daryta išvada, kad tirta medžiaga ar koncentracija neturėjo baktericidinio poveikio tiriamai kultūrai.

Vertinant ekstraktų poveikį modelinėse sistemose, 2,0 kg jautienos-kiaulienos faršo buvo pasūdyta, įmaišyti 4 kiaušiniai, masė padalinta į penkias dalis. Viena dalis palikta kontrolei, kitos keturios atitinkamai sumaišytos su 0,2; 0,4; 0,6; 1 % tiriamo augalo ekstrakto. Saugojimo 4–6 °C temperatūroje metu periodiškai nustatytas ir su kontrole lygintas bendras mikroorganizmų skaičius¹, koliforminių bakterijų skaičius² sėjimo į violetiškai raudoną tulžies ir laktozės agarą (VRTL, OXOID firmos) būdu, auksinių stafilokokų³ skaičius ir salmonelės⁴, kurių buvimas tirtas bandymo pradžioje ir pabaigoje.

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

Juslinis vertinimas buvo uždaras, atliktas KTU Maisto instituto juslinės analizės laboratorijos, įrengtos pagal tarptautinius⁵ reikalavimus, kabinose. Taikyti vienas iš juslinių savybių skirtumų – rikiavimo – testas bei priimtino testas. Analizę atliko 8 vertintojų grupė, atrinkta ir apmokyta dirbti⁶. Vertintojų grupė su mėsos produktų vertinimu susipažino prieš atliekant tyrimą.

Rikiavimo testo⁷ esmė – koduoti mėginiai vertintojų grupei pateikti serijoje nustatyta tvarka ir prašyta juos išrikiuoti pagal konkrečios juslinės savybės pasireiškimo intensyvumą tiriamuosiuose mėginiuose.

Priimtino (priėmimo) testas taikytas siekiant nustatyti produkto „emocinį statusą“, t. y., kaip jį

¹ LST EN ISO 4833:2003 Maisto ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis metodas. Kolonijų skaičiavimo 30 °C temperatūroje metodas.

² LST ISO 5541-1:1996 Pienas ir pieno produktai. Koliforminių bakterijų skaičiavimas. 1-oji dalis. Kolonijų skaičiaus nustatymas 30 °C temperatūroje.

³ LST EN ISO 6888-1-A1:2005 Maisto ir pašarų mikrobiologija. Koagulazę gaminančių stafilokokų (*Staphylococcus aureus* ir kitų rūšių) skaičiavimas. Bendrasis metodas. 1 dalis. Metodas naudojant standžiąją Baird Parker terpę.

⁴ ISO 6579:2003 Maisto ir pašarų mikrobiologija. Bendrasis salmonelių nustatymo metodas.

⁵ LST ISO 8589:1998 Juslinė analizė. Bendrieji tyrimo kambarių projektavimo reikalavimai.

⁶ LST ISO 8586-1 :1997 Juslinė analizė. Degustatorių atranka, mokymas ir įvertinimas. Bendrieji nurodymai. 1 dalis. Degustatorių parinkimas.

⁷ LST ISO 8587:1998 Juslinė analizė. Metodika. Klasifikacija.

mėgsta vartotojai. Taikant šį testą įvertintas vartotojų požiūris į tiriamus produktus, išreiškiamas „mėgimo“ – „nemėgimo“ laipsniu.

Juslinių savybių tyrimams iš maltos mėsos pagaminti kukuliukai virti 15 min ir pateikti vertinti. Virtas maltos mėsos kukuliukas supjaustytas į keturias lygias dalis. Paruošti mėginiai sudėti į plastikinius indelius ir uždengti dangteliais. Vertinimui pateiktų mėginių temperatūra apie 40 °C. Vertintojų receptoriams neutralizuoti pateikta šilta nesaldinta arbata, balta kvietinė duona.

Juslinės analizės skirtumų (rikiavimo) testo rezultatai analizuoti taikant standarte⁷ nurodytą metodą. Pradžioje suskaičiuotas Friedmano kriterijus. Jis lygintas su standarto 3 lentelėje pateikta kritine verte, atsižvelgiant į vertintojų ir tirtų produktų skaičių. Kadangi vertintojai buvo 8, o produktai – 5, tai atitinka lentelėje reikšmę 9,49. Kai apskaičiuota Friedmano kriterijaus vertė didesnė nei kritinė vertė, daroma išvada, kad tarp mėginių yra jaučiamas bendras skirtumas. Siekiant išsiaiškinti, tarp kurių mėginių jaučiamas skirtumas, tarpusavyje lyginama kiekviena dviejų mėginių pora pagal Friedmano testą.

Priimtino testo rezultatų analizei taikyti santykiniai balai, atitinkantys: *labai priimtinas* – 5, *priimtinas* – 4, *nei priimtinas, nei nepriimtinas* – 3; *nepriimtinas* – 2; *labai nepriimtinas* – 1. Lentelėse pateikti rezultatai apibendrinti aritmetiniu vidurkiu, moda ir mediana. (Moda – dažniausiai pasitaikanti vertinimo reikšmė. Mediana – vidurinis statistinės eilutės narys, dalijantis ją į dvi lygias dalis (50 % eilutės reikšmių yra ne didesnės ir 50 % ne mažesnės).

Rezultatai ir jų aptarimas

Vertinant keleto ekstraktų antimikrobines savybes, palygintas jų poveikis *B. subtilis* vegetatyvinėms ląstelėms ir sporoms. 1 lentelėje matyti, kad kalendros, saliero, česnako, raudonėlio ekstraktai slopino testavimo kultūros augimą, didesniu efektyvumu pasižymėjo salierai, kitų poveikis silpnesnis. Slopinimo zonų vidurkis gautas nežymiai didesnis lėkštelėse su sporomis, nors patikimų skirtumų nenustatyta.

Kmynas – plačiai vartojamas vietinis prieskoninis augalas. Viena iš taikymo formų – kmynų ekstraktas. Difuzijos į agarą metodu (2 lentelė) įvertinus jo antimikrobines savybes nustatytas poveikis grupei salmonelių ir *B. subtilis* testavimo kultūroms, lyginant pastarųjų vegetatyvinių ląstelių ir sporų jautrumą. Kmynų ekstraktas slopino visų testavimo kultūrų augimą, bet poveikis nebuvo stiprus, slopinimo zonos susidarė nedidelės, tačiau ir tirtų tirpalų koncentracijos nedidelės – nuo 1 iki 10 %. Tarp salmonelių kultūrų

pastebėti jautrumo skirtumai. Aplink įdubas su didžiausios 10 % koncentracijos tirpalu zonų skersmuo svyravo nuo 8 iki 14 mm. Mažiausiu

jautrumu pasižymėjo maistinių toksikoinfekcijų sukėlėjos *S. typhimurium* ir *S. agona*.

1 lentelė. *B. subtilis* vegetatyvinių ląstelių ir sporų jautrumo ekstraktams skirtumai

Ekstrakto gamybai naudotas augalas	Koncentracija, proc.	Slopinimo zonų skersmuo, mm	
		<i>B. subtilis</i> , vegetatyvinių ląstelių	<i>B. subtilis</i> , sporų
Kalendra	10	11,33±0,47	16,33±0,47
	5	11,00±0,81	9,00±0,81
	1	10,00±0,00	9,00±0,00
Salierų šaknys	10	20,66±0,47	21,66±3,68
	5	14,00±0,00	20,33±0,81
	1	11,00±1,63	16,00±0,00
Raudonėlis	10	13,33±0,47	12,33±0,47
	5	12,33±0,81	11,00±0,00
	1	12,00±0,00	10,00±0,00
Česnakas	10	12,33±0,47	16,00±1,63
	5	12,33±1,24	13,33±0,81
	1	11,00±1,63	12,00±0,00
Slopinimo zonų skersmens vidurkis:		12,61	13,91

2 lentelė. Kmyņu ekstrakto antimikrobinio poveikio įvertinimas difuzijos į agarą metodu

Ekstraktas	Koncentracija, proc.	Slopinimo zonų skersmuo, cm					
		<i>S. typhimurium</i>	<i>S. agona</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. choleraesuis</i>	<i>B. subtilis</i> , veget. ląst.	<i>B. subtilis</i> , sporos
Kmyņu	10	0,9±0,07	0,8±0,12	1,2±0,16	1,4±0,00	1,4±0,16	1,2±0,00
	5	0,8±0,05	0,8±0,21	1,1±0,00	1,1±0,16	1,1±0,00	1,1±0,09
	1	0,0±0,00	0,0±0,00	0,9±0,00	0,9±0,00	0,9±0,00	0,9±0,00

Salmonelės priskiriamos gramneigiamų bakterijų grupei, o *B. subtilis* grameigiamoms bakterijoms, tačiau didesnių jautrumo skirtumų tarp šių bakterijų nenustatyta. Lyginant jaunos kultūros vegetatyvinių ląstelių ir sporų jautrumą taip pat nenustatyti skirtumai, tik 10 % koncentracijos tirpalas šiek tiek silpniau veikė sporas, skaidrių zonų skersmuo apie 14 % mažesnis.

Tirtos kalendros ekstrakto koncentracijos žymiai nesulėtino koliforminių bakterijų skaičiaus augimo (4 lentelė) mėsoje. Jų skaičius per 5 paras mėsoje be ekstrakto padidėjo nuo $(4,0\pm 2,3)\cdot 10^1$ iki $(2,9\pm 1,9)\cdot 10^5$, mėsoje su didesnėmis ekstrakto koncentracijomis augimas lėtesnis ir po 3, ir po 5 parų.

3 lentelė. Kalendros ekstrakto priedų įtaka bendro bakterijų skaičiaus pokyčiams jautienos-kiaulienos farše 4–6 °C temperatūroje

Faršo laikymo trukmė, h	Bendras mikroorganizmų skaičius, KSV/g ekstrakto koncentracija mėsoje, proc.				
	0,0	0,2	0,4	0,6	1,0
	0	$(3,0\pm 2,5)\cdot 10^5$			
72	$(2,0\pm 1,3)\cdot 10^7$	$(1,0\pm 0,9)\cdot 10^7$	$(6,0\pm 3,7)\cdot 10^6$	$(8,4\pm 5,1)\cdot 10^6$	$(7,9\pm 5,3)\cdot 10^6$
120	$(9,2\pm 4,3)\cdot 10^8$	$(9,3\pm 3,7)\cdot 10^8$	$(3,9\pm 1,2)\cdot 10^8$	$(1,7\pm 1,1)\cdot 10^8$	$(3,8\pm 2,1)\cdot 10^6$

4 lentelė. Kalendros ekstrakto priedų įtaka koliforminių bakterijų skaičiaus pokyčiams jautienos-kiaulienos farše 4–6 °C temperatūroje

Faršo laikymo trukmė, h	Koliforminių bakterijų skaičius, KSV/g				
	ekstrakto koncentracija mėsoje, proc.				
	0,0	0,2	0,4	0,6	1,0
0	$(4,0 \pm 2,3) \cdot 10^1$				
72	$(2,6 \pm 1,6) \cdot 10^4$	$(2,3 \pm 2,0) \cdot 10^4$	$(2,0 \pm 1,5) \cdot 10^4$	$(2,1 \pm 0,9) \cdot 10^4$	$(1,9 \pm 1,3) \cdot 10^4$
120	$(2,9 \pm 1,9) \cdot 10^5$	$(6,2 \pm 3,5) \cdot 10^4$	$(1,4 \pm 1,1) \cdot 10^5$	$(8,3 \pm 3,5) \cdot 10^4$	$(8,1 \pm 4,7) \cdot 10^4$

Patogeninių mikroorganizmų (stafilokokų ir salmonelių) tiriamoje mėsoje neaptikta nei bandymo pradžioje, nei pabaigoje (5 lentelė).

Jusliniam tyrimui vertintojams pateikti penki mėginiai. Prašyta juos išrikiuoti prieskoninio augalo kvapo ir skonio intensyvumo didėjimo tvarka. Apskaičiuotas Friedmano kriterijus – 680. Apskaičiuota Friedmano kriterijaus vertė didesnė nei kritinė vertė, taigi, daryta išvada, kad tarp mėginių jaustas bendras skirtumas. Siekiant išsiaiškinti, tarp kurių mėginių pajaustas skirtumas, tarpusavyje lyginta kiekviena dviejų mėginių pora pagal Friedmano testą.

Kaip matyti iš 6 lentelės duomenų, reikšmingas skirtumas nejaustas tarp mėginių, kuriuose buvo 0,4 ir 0,6 % ekstrakto priedas, esant 0,05 reikšmingumo lygiui. Visos likusios mėginių poros tarpusavyje skiriasi, esant reikšmingumo lygiui 0,01.

Mėginių priimtimumo vertinimo rezultatai pateikti 7 lentelėje. Iš jos matyti, kad mėginiai su 0 ir 0,2 % ekstrakto įvertinti kaip labiausiai priimtini ir pagal priimtimumą reikšmingai nesiskyrė tarpusavyje. Toliau didėjant kalendros ekstrakto koncentracijai, priimtimumas mažėjo. Nustatytas reikšmingas skirtumas pagal priimtimumą tarp

mėginių su 0,2, 0,4, 0,6 ir 1% ekstrakto. Mėginys su 1 % ekstrakto vertintas kaip labai nepriimtinas. Būtina pažymėti, kad priimtimumo vertinimo rezultatus tenka vertinti tik kaip preliminarius.

Siekiant stabilizuoti nepageidaujamos mikrofloros augimą maltoje jautienos kiaulienos mėsoje, į ją pridėta kmynų ekstrakto. Kiti tyrimo metodai (2 lentelė) atskleidė kmynų ekstrakto antimikrobines savybes, buvo galima tikėtis panašaus poveikio ir maisto sistemoje. Malta mėsa su kmynų ekstraktu laikyta 4–6 °C temperatūroje. Bandymo eigoje bendras bakterijų skaičius augo visuose bandiniuose ir per 7 paras padidėjo nuo pradinio $(2,8 \pm 1,5) \cdot 10^7$ lygio keletą kartų, jo neslopino net ir 1 % ekstrakto (8 lentelė).

Tirtos kmynų ekstrakto koncentracijos žymiai nesulėtino ir koliforminių bakterijų skaičiaus augimo (9 lentelė) mėsoje. Jų skaičius per 7 paras mėsoje be ekstrakto padidėjo nuo $(3,9 \pm 2,3) \cdot 10^4$ iki $(7,3 \pm 5,5) \cdot 10^6$, mėsoje su ekstraktu iki trijų parų augo panašiai, o po 7 parų pasiekė $(5,9 \pm 2,5) \cdot 10^5$ – $(9,0 \pm 8,5) \cdot 10^5$.

5 lentelė. Kalendros ekstrakto priedų įtaka stafilokokų ir salmonelių skaičiaus pokyčiams jautienos-kiaulienos farše 4–6 °C temperatūroje

Faršo laikymo trukmė, h	Stafilokokų skaičius mėsoje, KSV/g			
	ekstrakto koncentracija mėsoje, proc.			
	0,0	0,2	0,4	0,6
0	< 10			
120	< 10	< 10	< 10	< 10
	Salmonelės, 25 g			
0	neaptikta			
120	neaptikta	neaptikta	neaptikta	neaptikta

6 lentelė. Mėsos kukuliukų skonio ir kvapo intensyvumo vertinimo rezultatai

	Ekstrakto koncentracija mėsoje, proc.				
	0	0,2	0,4	0,6	1,0
Rangų suma	17	31	52	60	80
Kai reikšmingumo lygmuo 0,05 rangų suma lyginama su 11,1					
Kai reikšmingumo lygmuo 0,01 rangų suma lyginama su 14,6					

7 lentelė. Mėsos kukuliukų priimtumo vertinimo rezultatai

Ekstrakto koncentracija mėsoje, proc.	Mėginių vertinimas				
	0	0,2	0,4	0,6	1,0
Vidurkis	4,6 d	4,2 d	2,6 c	1,9 b	1 a
Moda	5	4	3	2	1
Mediana	5	4	3	2	1

a, b, c, d – vidurkiai, pažymėti vienodomis raidėmis, statistiškai reikšmingai nesiskiria ($p < 0,05$). Skirtumui nustatyti taikytas Dunkano kriterijus

8 lentelė. Kmyną ekstrakto priedų įtaka bendro bakterijų skaičiaus pokyčiams jautienos-kiaulienos farše 4–6 °C temperatūroje

Faršo laikymo trukmė, h	Bendras mikroorganizmų skaičius, KSV/g				
	ekstrakto koncentracija mėsoje, proc.				
	0,0	0,2	0,4	0,6	1,0
0	$(2,8 \pm 1,5) \cdot 10^7$				
24	$(9,0 \pm 6,5) \cdot 10^6$	$(8,1 \pm 3,5) \cdot 10^6$	$(1,6 \pm 1,3) \cdot 10^7$	$(1,4 \pm 1,1) \cdot 10^7$	$(9,6 \pm 3,7) \cdot 10^7$
48	$(1,1 \pm 0,5) \cdot 10^7$	$(1,1 \pm 0,8) \cdot 10^7$	$(1,1 \pm 0,9) \cdot 10^7$	$(1,2 \pm 1,2) \cdot 10^7$	$(1,1 \pm 0,7) \cdot 10^7$
72	$(7,7 \pm 3,5) \cdot 10^7$	$(3,2 \pm 2,1) \cdot 10^7$	$(8,8 \pm 3,5) \cdot 10^7$	$(9,5 \pm 7,3) \cdot 10^7$	$(4,7 \pm 2,9) \cdot 10^7$
168	$(7,8 \pm 2,9) \cdot 10^7$	$(6,6 \pm 3,0) \cdot 10^7$	$(8,8 \pm 7,2) \cdot 10^7$	$(7,7 \pm 5,5) \cdot 10^7$	$(6,0 \pm 1,5) \cdot 10^7$

9 lentelė. Kmyną ekstrakto priedų įtaka koliforminių bakterijų skaičiaus pokyčiams jautienos-kiaulienos farše 4–6 °C temperatūroje

Faršo laikymo trukmė, h	Koliforminių bakterijų skaičius, KSV/g				
	ekstrakto koncentracija mėsoje, proc.				
	0,0	0,2	0,4	0,6	1,0
0	$(3,9 \pm 2,3) \cdot 10^4$				
24	$(3,8 \pm 1,7) \cdot 10^4$	$(1,5 \pm 1,3) \cdot 10^4$	$(1,3 \pm 0,5) \cdot 10^4$	$(2,8 \pm 1,2) \cdot 10^4$	$(2,0 \pm 1,3) \cdot 10^4$
48	$(7,0 \pm 2,8) \cdot 10^4$	$(2,9 \pm 1,7) \cdot 10^4$	$(2,2 \pm 1,7) \cdot 10^4$	$(1,9 \pm 1,3) \cdot 10^4$	$(1,2 \pm 0,9) \cdot 10^4$
72	$(2,6 \pm 1,3) \cdot 10^5$	$(2,3 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(2,0 \pm 1,5) \cdot 10^5$	$(1,2 \pm 0,9) \cdot 10^5$	$(1,7 \pm 1,5) \cdot 10^5$
168	$(7,3 \pm 5,5) \cdot 10^6$	$(8,1 \pm 4,3) \cdot 10^5$	$(6,8 \pm 3,6) \cdot 10^5$	$(5,9 \pm 2,5) \cdot 10^5$	$(9,0 \pm 8,5) \cdot 10^5$

Kmyną ekstrakto priedų skirtingos koncentracijos mėsoje neturėjo įtakos mielių dauginimuisi saugojimo metu. Iki 2 parų (10 lentelė) mėsoje jų skaičius buvo pradinio lygio, po 3 parų padidėjo visuose bandiniuose apie 10 kartų ir toliau didėjo iki bandymo pabaigos.

Patogeninių mikroorganizmų (stafilokokų ir salmonelių) tiriamoje mėsoje neaptikta nei bandymo pradžioje, nei pabaigoje (11 lentelė).

Vertintojų grupė mėsos kukuliukų mėginius išrikiavo kmyną kvapo ir skonio intensyvumo didėjimo tvarka. Apskaičiuotas Friedmano kriterijus – 567,5. Apskaičiuota Friedmano kriterijaus vertė didesnė nei kritinė vertė, todėl daryta išvada, kad tarp mėginių jaučiamas bendras skirtumas.

Kaip matyti iš 12 lentelės duomenų, reikšmingas skirtumas nejaučiamas tarp mėginių su 0 ir 0,2 % kmyną koncentrato. Reikšmingas skirtumas esant 0,05 reikšmingumo lygiui nustatytas tarp mėginių su 0,2 ir 0,4 % kmyną ekstrakto bei mėginių su 0,4 ir 0,6 % ekstrakto. Visos likusios mėginių poros tarpusavyje skyrėsi esant reikšmingumo lygiui 0,01.

Priimtumo teste mėginiai su 0 ir 0,2 % ekstrakto įvertinti kaip labiausiai priimtini (13 lentelė). Mėginiams su 0,4 ir 0,6 % ekstrakto vertintojai liko neutralūs, o mėginį su 1,0 % kmyną ekstrakto įvertino kaip nepriimtina.

10 lentelė. Kmyņu ekstrakto priedų įtaka mielių skaičiaus pokyčiams jautienos-kiaulienos farše 4–6 °C temperatūroje

Faršo laikymo trukmė, h	Mielių skaičius mėsoje, KSV/g				
	ekstrakto koncentracija mėsoje, proc.				
	0,0	0,2	0,4	0,6	1
0	$(2,1 \pm 1,5) \cdot 10^5$				
24	$(2,9 \pm 1,7) \cdot 10^5$	$(1,4 \pm 1,1) \cdot 10^5$	$(1,3 \pm 1,3) \cdot 10^5$	$(2,3 \pm 1,3) \cdot 10^5$	$(1,7 \pm 1,5) \cdot 10^5$
48	$(1,0 \pm 0,5) \cdot 10^5$	$(9,0 \pm 7,5) \cdot 10^4$	$(1,7 \pm 1,5) \cdot 10^5$	$(6,3 \pm 4,5) \cdot 10^4$	$(9,6 \pm 6,3) \cdot 10^4$
72	$(2,6 \pm 1,3) \cdot 10^6$	$(3,2 \pm 1,8) \cdot 10^6$	$(3,6 \pm 0,9) \cdot 10^6$	$(4,6 \pm 1,7) \cdot 10^6$	$(4,9 \pm 1,9) \cdot 10^6$
168	$(8,6 \pm 3,5) \cdot 10^6$	$(3,5 \pm 2,5) \cdot 10^6$	$(1,4 \pm 1,3) \cdot 10^6$	$(1,4 \pm 1,3) \cdot 10^6$	$(7,2 \pm 3,8) \cdot 10^6$

11 lentelė. Kmyņu ekstrakto priedų įtaka stafilokokų ir salmonelių skaičiaus pokyčiams jautienos-kiaulienos farše 4–6 °C temperatūroje

Faršo laikymo trukmė, h	Stafilokokų skaičius mėsoje, KSV/g			
	ekstrakto koncentracija mėsoje, proc.			
	0,0	0,2	0,4	0,6
0	< 10			
168	< 10	< 10	< 10	< 10
0	Salmonelės, 25 g			
	neaptikta			
168	neaptikta	neaptikta	neaptikta	neaptikta

12 lentelė. Kmyņu ekstrakto įtaka mėsos kukuliukų skonio ir kvapo intensyvumui

	Kmyņu ekstrakto koncentracija mėginiuose, proc.				
	0	0,2	0,4	0,6	1,0
Rangų suma	23	30	43	57	75
Kai reikšmingumo lygmuo 0,05 rangų suma lyginama su 11,1					
Kai reikšmingumo lygmuo 0,01 rangų suma lyginama su 14,6					

13 lentelė. Kmyņu ekstrakto įtaka mėsos kukuliukų priimtinumui

Mėginių vertinimas	Ekstrakto koncentracija mėsoje, proc.				
	0	0,2	0,4	0,6	1,0
Vidurkis	4,4 c	4,33 c	3,53 b	3,2 b	1,73 a
Moda	5	5	3	4	1
Mediana	5	5	3	3	1
a, b, c – vidurkiai, pažymėti vienodomis raidėmis, statistiškai reikšmingai nesiskiria ($p < 0,05$). Skirtumui nustatyti taikytas Dunkano kriterijus					

Apibendrinant tyrimų rezultatus galima teigti, kad kalendros, saliero, česnako, raudonėlio ekstraktai slopino testavimo kultūros augimą, didesniu efektyvumu pasižymėjo salierai, kitų poveikis silpnesnis. Slopinimo zonų vidurkis gautas nežymiai didesnis lėkštelėse su sporomis, nors patikimų skirtumų nenustatyta.

Maltoje mėsoje su kalendros ekstraktu bendras bakterijų skaičius augo visuose bandiniuose ir per 5 paras padidėjo nuo pradinio $(3,0 \pm 2,5) \cdot 10^5$ lygio keletą kartų. Jo pastebimai neslopino net ir 1 %

ekstrakto, tačiau konservuojantis ekstrakto poveikis pastebėtas po 3 parų – pašalinių mikroorganizmų skaičius labiausiai išaugo mėsoje be ekstrakto bei su 0,2 % ekstrakto, kituose variantuose augimas lėtesnis, tendencija išlieka ir po 5 parų. Tirtos kalendros ekstrakto koncentracijos žymiai nesulėtino ir koliforminių bakterijų skaičiaus augimo mėsoje. Jų skaičius per 5 paras mėsoje be ekstrakto padidėjo nuo $(3,0 \pm 2,5) \cdot 10^5$ iki $(9,2 \pm 4,3) \cdot 10^8$, mėsoje su didesnėmis ekstrakto koncentracijomis augimas lėtesnis ir po 3, ir po 5 parų.

Tirtos kmynų ekstrakto koncentracijos žymiai nesulėtino bendro ir koliforminių bakterijų skaičiaus augimo.

Patogeninių mikroorganizmų (stafilokokų ir salmonelių) tiriamoje mėsoje su kalendros ar kmynų ekstraktu neaptikta nei bandymo pradžioje, nei pabaigoje.

Juslinis mėginių priimtimumo vertinimas rodo, kad kontroliniai ir turintys 0,2 % ekstrakto mėginiai įvertinti kaip labiausiai priimtini. Didėjant prieskoninių augalų ekstraktų koncentracijoms, priimtimumas mažėjo. Mėginys su 1 % ekstrakto vertintas kaip labai nepriimtinas. Tai rodo, kad ekstrakto antimikrobinio poveikio sustiprinimui didinti koncentracijos negalima dėl nepriimtinių juslinių savybių.

Išvados

1. Kalendros, saliero, česnako, raudonėlio ekstraktai slopino testavimo kultūros augimą, didesniu efektyvumu pasižymėjo salierai, kitų poveikis silpnesnis. Slopinimo zonų vidurkis nežymiai didesnis nustatytas lėkštelėse su sporomis.
2. Nenustatytas skirtumas lyginant jaunos kultūros vegetatyvinių ląstelių ir sporų jautrumą kmynų ekstraktui, tik 10 % koncentracijos tirpalas šiek tiek silpniau veikė sporas, skaidrių zonų skersmuo buvo mažesnis 14 %.
3. Tiriamuosiuose produktuose vartotas prieskoninių augalų kalendros ir kmynų ekstraktų kiekis (0,2–1,0 %) turėjo reikšmingą įtaką mėginių skonio ir kvapo intensyvumui. Lyginant mėginius tarpusavyje, tarp mėginių su ekstraktų priedais buvo jaučiamas reikšmingas skirtumas, tik mėginiai su 0,4 ir 0,6 % kalendros ekstrakto priedu tarpusavyje nesiskyrė.
4. Didėjant prieskoninių augalų ekstraktų kiekiui, produkto priimtimumas mažėjo. Tik mėginiai su 0 ir 0,2 % prieskoninio augalo ekstrakto priedu vertinti kaip priimtini, tačiau šiuo atveju mikrobiologinių rodiklių stabilumas neužtikrinamas.

Literatūra

1. **Касьянов Г. И., Латин Н. Н.** До- и сверхкритическая экстракция, достоинства и недостатки // Пищевая промышленность. 2005. № 1. P. 36–39.
2. **Moreira M. R., Ponce A. G., Valle C. E., Roura S. I.** Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen // LWT. Food Science and Technology. 2005. Vol. 38, No. 5. P. 565–570.
3. **Yasar S., Sagdic O., Kisioglu A. N.** *In-vitro* antibacterial effect of single or combined plant extracts // Journal for Food, Agriculture and Environment. 2005. Vol. 3, No. 1. P. 39–43.
4. **Pichner R.** Mikrobiologie von Fleisch und Fleischerzeugnissen // Fleischwirtschaft. 2005. No. 3. P. 108–110.
5. **Lee S., Choi J. H., Kim Y. S., Kyung K. Y.** Characterization of a new *Leuconostoc* species isolated from fresh garlic // Food Science and Biotechnology. 2005. Vol. 14, No. 3. P. 416–419.
6. **Müller W. D.** Aktuelles aus der internationalen Fleischforschung // Fleischwirtschaft. 2005. No. 2. P. 88–90.
7. **Rababah T., Hettiarachchy N. S., Eswaranandam S., Meullenet J. F., Davis B.** Sensory Evaluation of Irradiated and Nonirradiated Poultry Breast meat infused with plant extracts // Journal of Food Science. 2005. Vol. 70, No. 3. P. 228–235.
8. **Sebti I., Martial-Gros A., Carnet-Pantiez A., Grelier S., Coma V.** Chitosan polymer as bioactive coating and film against *Aspergillus niger* contamination // Journal of Food Science. 2005. Vol. 70, No. 2. P. M100–104.
9. **Jirovetz L., Buchbauer G., Stoyanova A., Georgijev E. et al.** Composition, quality control and antimicrobial activity of the essential oil of cumin (*Cuminum cyminum* L.) seeds from Bulgaria that had been stored for up to 36 years // International Journal of Food Science and Technology. 2005. Vol. 40, No. 3. P. 305–310.
10. **Ragažinskienė O., Rimkienė S., Sasnauskas V.** Vaistinių augalų enciklopedija. Kaunas: Lututė, 2005. 440 p.

Pateikta spaudai 2006-03

A. Šarkinas, A. Mieželiienė, G. Alenčikienė,
A. Šipailienė, P. R. Venskutonis

ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF CORIANDER, CARAWAY AND OTHER PLANT EXTRACTS

Summary

Spores and vegetative cells of *Bacillus subtilis* and test cultures of *Salmonella typhimurium*, *S. agona*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium*, *S. choleraesuis* were used for evaluation of antibacterial activity of plant extracts. Coriander, celery, garlic, marjoram and caraway plant extracts were investigated. Antibacterial activity of the plant extracts was determined by using diffusion to agar method and model system of minced meat.

Micriological tests showed that the extracts from coriander, celery, garlic, marjoram inhibit the growth of test cultures. The effectiveness of celery extract was higher in comparison with other extracts.

Antimicrobial properties of caraway extract on salmonella and *B. subtilis* group were evaluated by the method of diffusion to agar. Caraway extract inhibited the growth of all test cultures, but its effect was not strong and the zones of inhibition were not wide. Differences between the sensitivity of salmonella were determined. *S. typhimurium* and *S. agona* had the smallest sensitivity

to caraway extract. Even salmonella depend to gram-negative group and *B. subtilis* to gram-positive one, differences between the sensitivity of these groups were not determined. There were not significant differences in sensitivity between the vegetative cells and spores.

The count of bacteria and coliformic bacteria had growth in all samples with coriander or caraway extracts. In case with higher amount of extracts, the growth rate was slower.

Consumer focus group had evaluated the acceptability of cooked minced meat samples with plant extracts. Samples with 0.2 % of coriander extracts were evaluated as most acceptable but the samples with 1.0 % were not acceptable for consumer at all.

Consumer test results showed that increase in concentration of coriander extract in meat gives lower acceptability of the samples.

Keywords: plant extracts, meat products, antimicrobial properties, sensory characteristics.

А. Шаркинас, А. Межялене, Г. Аленчикене,
А. Шипайлене, П. Р. Вянскутонис

АНТИМИКРОБНЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТОВ ТМИНА И КОРИАНДРА

Резюме

С применением тест-культур *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Salmonella agona*, *Salmonella enteritidis*, *Salmonella choleraesuis*, вегетативных клеток и спор *Bacillus subtilis* изучали антимикробные свойства экстрактов тмина, кориандра, сельдерея, чеснока методом диффузии в агар и в мясном фарше во время хранения продукта при температуре 4–6 °С.

Растворы экстрактов тмина, кориандра, сельдерея, чеснока подавляли рост бактерий, более эффективным был экстракт сельдерея, остальные действовали слабее, чувствительными были как клетки 18-часовой культуры, так и споры бактерий, однако диаметр прозрачных зон в чашках со спорами был незначительно больше.

Методом диффузии в агар выявлено антимикробное действие экстракта тмина на культуры сальмонеллы и *Bacillus subtilis*. Хотя экстракт и подавлял рост культур, диаметр зон не был большим, установлены небольшие различия чувствительности клеток разных культур сальмонелл, *Salmonella typhimurium*, *Salmonella agona* были менее чувствительными. Чувствительность вегетативных клеток и спор культуры *Bacillus subtilis* не различается.

Изучали антимикробные свойства экстрактов тмина и кориандра в мясном фарше во время хранения продукта при температуре 4–6 °С. Исследовано воздействие добавки в мясной фарш 0,2; 0,4; 0,6 1,0 % экстрактов. Динамика общего количества бактерий, количества колиформных бактерий показывает, что их рост замедляют только большие концентрации экстрактов. Стафилококки и сальмонеллы в мясном фарше не обнаружены ни в начале, ни в конце опыта.

Дегустация изделий показала, что сенсорные свойства изделий, изготовленных с добавлением 0,2 % экстрактов оценены как приемлемые, а с добавлением 1,0 % экстрактов – как не приемлемые для потребителей из-за слишком сильного вкуса и аромата. Следовательно, сенсорные свойства изделий не позволяют увеличить содержание экстрактов для достижения антимикробного эффекта.