

Gramteigiamų ir gramneigiamų bakterijų jautrumo augalų ekstraktams skirtumai

A. Šarkinas, V. Čypienė

KTU Maisto institutas, Taikos pr. 92, LT-51180 Kaunas; Antanas_Sarkinas@fc.vdu.lt

A. Šipailienė, P. R. Venskutonis

Kauno technologijos universitetas, Radvilėnų pl. 19, LT-50254 Kaunas; asipailiene@yahoo.com

Augalų ekstraktų poveikis bakterijų kultūroms ištirtas difuzijos į agarą metodu. Buvo pasirinktos gramteigiamos *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus* ir gramneigiamos: *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes* ir *Hafnia alvei* testavimo kultūros. Nustatyta, kad gramteigiamoms bakterijoms priskiriamos testavimo kultūros pasižymi didesniu jautrumu tirtų prieskoninių augalų salierų, petražolės, kalendros, peletrūno, melisos ir kitų ekstraktams. Įvertinta galimybė ekstraktų priedais kontroliuoti koliforminių bakterijų skaičių konkrečiuose maisto produktuose – varškėje ir mėsos farše. Tirti ekstraktai beveik neturėjo įtakos koliforminių bakterijų skaičiui minėtų produktų laikymo žemoje temperatūroje metu. Bandymai su imbieru parodė, kad jis yra mikrobiologiškai užterštas ir padidina bendrą bakterijų skaičių farše ir neturi bakterijas slopinančio poveikio saugojimo metu.

Raktažodžiai: augalų ekstraktai, antimikrobinės savybės.

Įvadas

Maisto pramonėje naudojami prieskoniniai dažnai būna mikrobiologiškai užteršti. Daugeliui maisto gaminių toks bakterinis užterštumas yra per didelis, todėl prieskoniniai prieš naudojant turėtų būti apdorojami, kad mikrobinis užterštumas sumažėtų. Tam taikomi įvairūs būdai, pagerinantys mikrobinius rodiklius 3–4 kartus [1, 2], bet nesunaikinantys visų mikroorganizmų, nes negalima taikyti tokių sterilizavimo režimų, kurie galėtų pabloginti juslines prieskonių savybes.

Prieskonių aromatas priklauso nuo agroklimatinių auginimo sąlygų, subrendimo laipsnio, laikymo sąlygų, todėl sunku pasiekti, kad jų skonis ir aromatas būtų pastovus; be to, juslinės savybės keičiasi ir laikymo metu, nes išgaruoja lakieji junginiai, kai kurie komponentai gali oksiduotis [2]. Produktuose, kurie termiškai apdorojami, prieskonių savybės taip pat gali pablogėti, pvz.: pakaitintų juodųjų ir baltųjų pipirų aromatas susilpnėja, bet padidėja jų aštrumas. Aromato susilpnėjimas kaitinant būdingas ir daugeliui kitų prieskonių, kai kuriems nurodomas naujų skoninių savybių, pvz.: kartumo atsiradimas, spalvos pokyčiai. Tik kai kurie prieskoniniai nepakinta terminio apdoravimo metu [3].

Naujas galimybes suteikia prieskonių ekstraktai, kurių poveikis žymiai stipresnis už pačių prieskonių.

Daugelį problemų galima išspręsti išplėtus augalų ekstraktų bei eterinių aliejų naudojimą, nes jie išsaugo pagrindines reikalingas prieskonių savybes. Visiškai neužteršti nepageidaujama mikroorganizmais, ekstraktai atsparesni oksidacijai ir lieka stabilūs laikymo metu. Kai kurių augalų ekstraktai ir eteriniai aliejai turi medžiagų, slopinančių nepageidaujamus mikroorganizmus. Pastaruoju metu ekstraktai vis plačiau naudojami konservų gamyboje, žuvies, mėsos, pieno, alkoholinių gėrimų, medicinos pramonėje, buitinių chemijos ir kosmetikos gaminiuose [4–6]

Augalų ekstraktai išskiriami įvairiais tirpikliais: heksanu, acetonu, metanoliumi, etanoliumi ir kt. Tirpiklių likučiai produkte nepageidaujami, o daugelio jų kiekis ribojamas dėl toksiškumo. Efektyvus yra superkrintinės anglies dioksido ekstrakcijos metodas, nes po ekstrakcijos ekstragentas lengvai pašalinamas. Naudojant šią technologiją medžiagos ekstrahuojamos dideliu slėgiu, o proceso pabaigoje jį sumažinus iki atmosferinio, tirpiklis visiškai pasišalina iš ekstrakto. Ekstrahuoti galima ir aplinkos temperatūroje (10–22 °C) subkrintinėmis sąlygomis, todėl galima ekstrahuoti ir termolabilius augalų komponentus. Esant produkto išeigai apie 2,3 %, perdirbus 2000 t augalinės žaliavos, iš 300 t sausos masės kasmet būtų pagamina 7 t CO₂ ekstraktų.

Augalų ekstraktų sudėtis labai skiriasi. Pvz., pipirmėtės CO₂ ekstraktuose nustatyta 60 % lakiųjų

junginių, 40 % iš jų yra mentolis, be to, juose būna karotinoidų, tokoferolio, sterinų, riebalų rūgščių ir kitų junginių. Ramunėlių CO₂ ekstraktuose yra laisvųjų rūgščių, azulenogenų, vitaminų, vaško ir panašių junginių, kurie gali būti pritaikomi kaip gamtiniai emulsikliai. Paprastosios kraujažolės CO₂ ekstraktuose yra azulenogenų, eterinio aliejaus (cineolio, borneolio, kamparo, mentolio), fitosterinų, vaško ir panašių junginių, laisvųjų riebalų rūgščių (vyrauja linoleno). Dilgėlės CO₂ ekstraktus sudaro karotinoidai, vitaminai, dervos, vaškas, fosfolipidai, sterinai, tokoferoliai ir rūgštys.

Gamyboje galima naudoti ne tik augalinę žaliavą, bet ir kai kurias gamybos atliekas, pvz., šaltalankio uogų išspaudas, vynuogių sėklas, vynuogių vynu nuosėdas, arbatžolių perdirbimo atliekas ir kt.

Tai rodo, kad ekstraktai gali būti daugelio biologiškai aktyvių medžiagų šaltinis. Galima pažymėti, kad jos dažniausia yra lengvai įsisavinamos formos, nes išlieka natyvios natūraliomis proporcijomis.

Baktericidinės, fitoncininės ir antioksidacinės ekstraktų savybės ryškesnės nei pačiuose augaluose todėl, kad jie yra labiau koncentruoti, juose nėra tirpiklių likučių [7].

Iš įvairių augalų gautų medžiagų tos pačios koncentracijos priedų baktericidinės savybės yra labai nevienodos, o kai kurių augalų ekstraktai, net ir taikant didesnės koncentracijos priedus, nėra efektyvūs, todėl tiriant augalų ekstraktus turi būti bandomos jų tarpusavio kompozicijos ar mišiniai su kitomis medžiagomis [8].

Lyginant gramteigiamų ir gramneigiamų bakterijų atsparumą kai kurių augalų ekstraktams ar eteriniams aliejams, nustatyta, kad šios medžiagos stipriau veikia gramteigiamas bakterijas [4, 8].

Darbo tikslas – įvertinti prieskoninių ir aromatinių augalų ekstraktų antimikrobines savybes prieš nepageidaujamas ir maistą gadinančias gramteigiamas ir gramneigiamas bakterijas, bei nustatyti augalų ekstraktų įtaką mikroorganizmų vystymuisi varškėje bei mėsoje.

Darbo metodika ir bandymo objektų charakteristika

Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antibakteriniam aktyvumui įvertinti naudotos maisto produktuose nepageidautinų bakterijų, tarp jų ir patogeninių, kultūros. Ekstraktų antimikrobinės savybės vertintos difuzijos į agarą metodu. Pasirinktos gramteigiamos ir gramneigiamos testavimo kultūros: *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Micrococcus luteus*, *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia alvei*, *Listeria monocytogenes*.

Bakterijų ląstelių suspensijai paruošti bakterijų kultūros 18 h augintos 37 °C temperatūroje 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. Tokiu būdu 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. Norint įvertinti galimą etanolio poveikį testavimo kultūroms, į įdubas įpilta po 50 µl etanolio.

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

Vertinant augalų ekstraktų poveikį maisto produktuose, koliforminėmis bakterijomis užkrėsta varškė maišyta su 0,5 % antimikrobinų savybių turinčių augalų ekstraktų, ir laikymo (4±2) °C temperatūroje metu buvo periodiškai nustatomas ir lyginamas su mėginiu be priedų koliforminių bakterijų skaičius sėjimo į VRTL (*OXOID*) agarą būdu (LST ISO 4832:1998 Mikrobiologija. Koliforminių bakterijų skaičiavimas. Kolonijų skaičiaus nustatymas.).

Vertinant augalų ekstraktų poveikį koliforminių bakterijų dinamikai mėsos faršo laikymo (4±2) °C temperatūroje metu, ji buvo nustatyta pagal rūgimo titrą sėjant į Kessler terpę ir lyginta su tuščiuoju mėginiu.

Lyginant augalų ekstraktų, prieskoninių medžiagų ir kitų maisto pramonėje naudojamų medžiagų poveikį bakterijų skaičiaus pokyčiams mėsos faršo laikymo (4±2) °C temperatūroje metu, buvo tirtas faršas, faršas su chitozanu ir faršas su imbieru.

Visi bandymai buvo kartoti tris kartus.

Augalai ekstraktai ir eteriniai aliejai buvo įsigyti iš UAB „Klemensas“. Augalų ekstraktai ruošti pramoniniu būdu, naudojant suskystintąjį angliarūgštę.

Tyrimo rezultatai ir jų aptarimas

Vertinant augalų ekstraktų antimikrobinį poveikį buvo parinktos šešios testavimo kultūros, trys gramteigiamos (Gr+) ir trys gramneigiamos (Gr-), nes literatūros šaltiniuose buvo skelbiama apie

nevienodą šių bakterijų grupių jautrumą augalų ekstraktams; Gr⁻ bakterijos paprastai yra atsparesnės. 1 lentelėje pateikti šalavijo, čiobrelių, melisos ir saliero tyrimų duomenys.

Šalavijas slopino visų testavimo kultūrų augimą, didžiausio skersmens skaidrios zonos susidarė lėkštelėse su Gr⁺ kultūromis – *B. cereus*, *L. monocytogenes* ir *S. aureus*. Tarp Gr⁻ kultūrų

jautresnė buvo *E. coli*, kurios slopinimo zonos buvo artimos maksimalioms, tuo tarpu *Hafnia alvei* ir *Salmonella typhimurium* sudarė bent dvigubai mažesnes slopinimo zonas – nuo 15 iki 9 mm. Čiobrelio ekstrakto abiejų koncentracijų tirpalai taip pat slopino visų testavimo kultūrų augimą, Gr⁺ bakterijų slopinimo zonos siekė 22–38 mm, o Gr⁻ 9–16 mm.

1 lentelė. Gramneigiamų ir gramteigiamų bakterijų jautrumas augalų ekstraktams

Ekstraktas		Slopinimo zonų dydis, mm					
augalo pavadinimas	konc., proc.	gramteigiamos bakterijos			gramneigiamos bakterijos		
		<i>Hafnia alvei</i>	<i>Salmonella typhimurium</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Bacillus cereus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>
Salierų lapai	10	17,5±0,71	19,0±0,0	19,5±0,71	27,0±1,41	25,0±0,0	30,0±0,0
	5	13,0±0,0	12,0±0,0	15,5±0,71	24,4±0,2	21,0±0,0	25,5±0,71
Salierų šaknys	10	11,0±0,0	0,0	0,0	40,5±0,71	25,0±0,0	30,5±0,71
	5	0,0	0,0	0,0	30,0±0,0	20,0±0,0	24,0±0,0
Šalavijas	10	12,5±0,71	15,0±0,0	41,5±1,41	29,5±1,41	39,0±0,0	45,0±0,0
	5	9,5±0,71	11,5±0,71	37,5±1,41	25,5±0,71	31,5±1,41	45,0±0,0
Čiobrelis	10	16,5±1,41	10,5±0,71	12,0±0,0	25,5±1,41	33,0±0,0	38,0±0,0
	5	130 ±0,0	9,0±0,0	10,0±0,0	22,5±0,71	27,0±0,0	37,5±1,41
Melisa	10	0,0	12,0±0,0	0,0	11,0±0,0	10,0±0,0	11,0±0,0
	5	0,0	9,5±0,0	0,0	10,0±0,0	10,0±0,0	11,0±0,0

Lyginant saliero lapų ir šaknų ekstraktus, efektyvesni buvo lapų ekstraktai – labai slopino visų testavimo kultūrų augimą, o šaknų ekstraktai efektingai slopino tik Gr⁺ bakterijų augimą – lėkštelėse su abiejų koncentracijų tirpalais susidarė 20–40 mm skaidrios zonos. Iš Gr⁻ bakterijų tik 10 % ekstrakto tirpalas slopino *H. alvei* augimą, o *E. coli* ir *S. typhimurium* buvo atsparios abiejų koncentracijų tirpalams.

Melisa turėjo silpnesnę antimikrobinę poveikį abiejų bakterijų grupių atžvilgiu, tačiau lėkštelėse su Gr⁺ kultūromis skaidrios zonos susidarė įpylus abi ekstrakto koncentracijas, o iš Gr⁻ bakterijų melisos ekstraktui buvo jautri tik *S. typhimurium* – likusios dvi kultūros nereagavo į ekstraktą. Taigi galima pastebėti, kad atskiri ekstraktai nevienodai veikia testavimo kultūras, tačiau Gr⁺ bakterijos buvo jautrios visiems tirtiems ekstraktams, abiejų koncentracijų tirpalams, o Gr⁻ bakterijos sudarė bent jau mažesnes slopinimo zonas arba buvo visiškai nejautrios tirtiems ekstraktams.

Tęsiant tyrimus buvo pakeistos kai kurios testavimo kultūros ir ekstraktų tirpalų koncentracijos (2 lentelė). Buvo palygintas petražolės lapų ir šaknų ekstraktų efektyvumas. Lapų ekstraktai slopino visų testavimo kultūrų augimą, tačiau lėkštelėse su Gr⁺ kultūromis visos tirtos ekstrakto koncentracijos

sudarė maksimalias 40 mm skersmens slopinimo zonas, o Gr⁻ bakterijų jos svyravo nuo 13 iki 39 mm, bet didesnes zonas sudarė tik 50 % tirpalai.

Petražolių šaknų ekstraktai slopino tik Gr⁺ bakterijų augimą, antimikrobinę poveikį turėjo visų tirtų koncentracijų ekstraktų tirpalai, o Gr⁻ bakterijų augimo neslopino net ir 50 % koncentracijos ekstrakto tirpalas.

Kalendros lapų ir sėklų ekstraktai taip pat labiau veikė Gr⁺ testavimo kultūras, o Gr⁻ bakterijų augimą slopino tik 50 % ir kai kuriais atvejais 10 % koncentracijos ekstrakto tirpalas. Lapelių ekstraktai buvo šiek tiek aktyvesni.

Peletrūno ir mairūno ekstraktai taip pat beveik dvigubai labiau veikė Gr⁺ testavimo kultūras. Rozmarino ekstraktas stipriau slopino Gr⁺ testavimo kultūras, *E. aerogenes* buvo jam atspari, o *E. coli* ir *S. typhimurium* augimą slopino tik didesnės koncentracijos tirpalai.

Visų koncentracijų dašio ekstrakto tirpalai sudarė maksimalias slopinimo zonas lėkštelėse su Gr⁺ testavimo kultūromis, jis efektyviai slopino ir Gr⁻ bakterijų augimą, tačiau mažėjant ekstrakto tirpalo koncentracijai ir slopinimo zonų skersmuo mažėjo iki 12–22 mm.

2 lentelė. Gramneigiamų ir gramteigiamų bakterijų jautrumas augalų ekstraktams

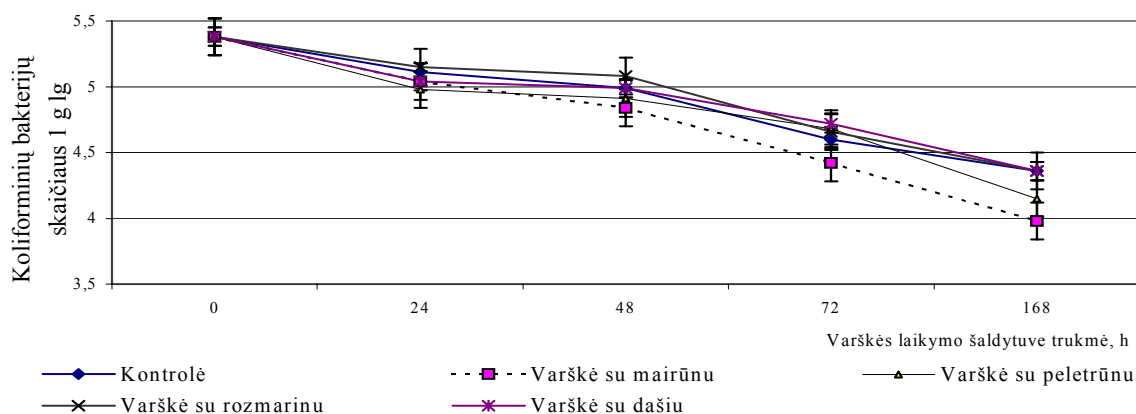
Ekstraktas		Slopinimo zonų dydis, mm					
augalo pavadinimas	konc. proc.	gramteigiamos bakterijos			gramneigiamos bakterijos		
		<i>E. aerogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>B. cereus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. aureus</i>
Petražolės (lapų)	50	21,0±1,41	33,0±2,1	39,0±1,41	40,0±0,0	40,0±0,0	40,0±0,0
	10	17,0±0,0	23,0±0,28	22,5±3,5	40,0±0,0	40,0±0,0	40,0±0,0
	1	15,0±0,0	15,0±0,71	1,30±1,41	40,0±0,0	40,0±0,0	40,0±0,0
Petražolės (šaknų)	50	0,0	0,0	0,0	24,0±0,71	29,0±0,71	26,0±0,71
	10	0,0	0,0	0,0	14,0±0,71	12,0±0,71	11,0±0,71
	1	0,0	0,0	0,0	12,0±0,0	10,0±0,0	10,0±0,0
Kalendros (lapelių)	50	16,0±0,71	17,0±1,41	19,0±0,0	23,0±0,71	17,0±1,41	25,0±0,0
	10	11,0±0,71	0,0	0,0	17,0±0,0	16,0±1,41	14,0±1,41
	1	0,0	0,0	0,0	14,0±0,0	14,0±0,71	13,0±0,71
Kalendros (sėklų)	50	11,0 ±	17,5±3,5	0,0	25,0±0,0	20,0±0,0	18,0±0,0
	10	0,0	0,0	0,0	15,0±0,71	0,0	0,0
	1	0,0	0,0	0,0	13,0±1,41	0,0	0,0
Peletrūno (žolės)	50	14,0±1,41	20,0±1,41	16,0±0,71	23,5±2,1	40,0±0,0	29,0±1,41
	10	12,0±1,41	12,0±0,0	12,0±0,0	18,0±0,0	24,5±2,1	27,0±1,41
	1	10,0±0,0	10,0±0,0	0,0	16,0±0,0	19,0±1,41	16,0±0,0
Mairūno (žolės)	50	20,0±0,0	20,0±0,0	21,0±1,41	40,0±0,0	35,0±2,1	24,0±1,41
	10	10,0±0,0	15,0±0,71	14,0±1,41	30,0±0,0	32,0±2,1	22,5±3,5
	1	0,0	12,0±0,0	0,0	29,0±1,41	30,0±0,0	19,0±1,41
Rozmarino (žolės)	50	0,0	15,0±1,41	18,5±2,1	40,0±0,0	40,0±0,0	28,5±2,1
	10	0,0	0,0	12,0±0,0	40,0±0,0	40,0±0,0	26,0±0,71
	1	0,0	0,0	0,0	40,0±0,0	40,0±0,0	25,0±0,0
Dašio (žolės)	50	39,0±1,41	40,0±0,0	27,0±4,2	40,0±0,0	40,0±0,0	40,0±0,0
	10	18,0±0,0	33,0±2,1	21,0±1,41	40,0±0,0	40,0±0,0	40,0±0,0
	1	12,0±0,0	22,0±0,0	17,0±0,71	40,0±0,0	40,0±0,0	40,0±0,0

Gauti duomenys rodo, kad tirti augalų ekstraktai turi antimikrobinį savybių, tačiau jos stipriai pasireiškia Gr+ bakterijų atžvilgiu. Gr- bakterijų testavimo kultūrų augimas taip pat slopinamas, tačiau slopinimo zonos daugeliu atvejų susidaro mažesnės, arba veiksmingi būna tik didesnių koncentracijų ekstraktų tirpalai.

Kai kurių ekstraktų antimikrobinis efektyvumas išbandytas ir maisto produktuose. Kadangi maisto

produktų sanitarinę būklę apibūdina ir toks rodiklis, kaip Gr- koliforminių bakterijų buvimas, o būtent jos buvo atsparesnės augalų ekstraktams, jų skaičius nustatytas tolimesnių eksperimentų metu.

Ruošiant mėginius varškė sumaišyta su 0,5 % tiriamojo ekstrakto ir laikyta šaldytuve, kartą per parą nustatant koliforminių bakterijų skaičių sėjimo į lėkšteles metodu (1 pav.).



1 pav. Augalų ekstraktų įtaka kaliforminių bakterijų skaičiaus dinamikai varškėje

Tyrimo eigoje koliforminių bakterijų skaičius mažėjo ir varškės be ekstrakto mėginyje, ir varškėje su ekstraktais. Po 1 paros išsiskyrė mėginys su rozmarinu, kuriame koliforminių bakterijų skaičius 1 g (*lg*) sumažėjo nuo 5,38 iki 4,98 (be priedų iki 5,04). Po 2 parų pastebėtas ryškesnis sumažėjimas varškėje su peletrūno ir rozmarino ekstraktais; mažesnę įtaką turėjo dašio ekstraktas. Po trijų parų koliforminių bakterijų skaičius visuose mėginiuose su ekstraktais buvo mažesnis, lyginant su bandiniu be priedų. Po 7 parų ryškesnis koliforminių bakterijų skaičiaus sumažėjimas buvo pastebimas varškėje su peletrūno ir rozmarino ekstraktu, o mairūno, dašio ir bandinio be priedų skaičiai sutapo. Tai šiek tiek

skiriasi nuo 2 lentelėje pateiktų duomenų, kai didžiausiu antimikrobinu aktyvumu pasižymėjo mairūno, peletrūno ir dašio ekstraktai. Tačiau šiuos skirtumus gal būt galima paaiškinti kitokia Gr–bakterijų rūšine sudėtimi varškėje ar atskirų ekstraktų veikliųjų medžiagų sąveika su varškės sudėtinėmis dalimis.

Analogiški bandymai buvo atlikti ir su mėsos faršu, lyginant koliforminių bakterijų skaičiaus dinamiką pagal rūgimo titro pokyčius mėsoje be priedų (kontrolė) ir su 0,5 % įvairių ekstraktų. Trijų partijų jonažolės žiedų ekstraktų (3 lentelė) priedai nestabdė rūgimo titro augimo per 7 paras.

3 lentelė. Jonažolių ekstrakto įtaka mėsos faršo rūgimo titro pokyčiams laikymo (5±2) °C temperatūroje metu

0,5 % jonažolės žiedų ekstraktas	Rūgimo titras, g				
	saugojimo trukmė, h				
	0	24	48	96	168
Faršas be ekstraktų	0,1	0,1	0,1	0,01	0,0001
1 partija	0,01	0,01	0,01	0,001	0,0001
2 partija	0,1	0,01	0,01	0,01	0,0001
3 partija	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0001

4 lentelėje pateikti kalendrų sėklų ekstraktų tyrimo duomenys. Šiame bandyme po 4 parų jau galima pastebėti, kad kai kurių partijų ekstraktai rūgimo titro reikšmę, lyginant su bandiniu be priedų, padidina (tai atitinka 2 lentelėje pateiktiems duomenims, rodantiems, kad kalendros ekstraktai šiek tiek slopina Gr– bakterijų augimą).

Medetkų žiedų ekstraktai (5 lentelė) nebuvo efektyvūs; nors pirmos partijos ekstraktas rūgimo titro reikšmės mažėjimą stabdė, kituose mėginiuose rezultatai sutapo su kontroliniu variantu, o 5 partijos ekstraktas netgi skatino koliforminių bakterijų dauginimąsi farše, nes rūgimo titras mažėjo.

4 lentelė. Kalendrų sėklų ekstrakto įtaka mėsos faršo rūgimo titro pokyčiams saugojimo (5±2) °C temperatūroje metu

0,5 % kalendros sėklų ekstraktas	Rūgimo titras, g				
	saugojimo trukmė, h				
	0	24	48	72	96
Faršas be ekstraktų	0,01	0,01	0,01	0,01	0,0001
1 partija	0,01	0,001	0,01	0,001	0,001
2 partija	0,001	0,001	0,001	0,001	0,001
3 partija	0,01	0,01	0,01	0,01	0,001
4 partija	0,001	0,01	0,001	0,01	0,001
5 partija	0,001	0,01	0,001	0,001	0,001
6 partija	0,001	0,001	0,001	0,01	0,0001
7 partija	0,001	0,01	0,001	0,001	0,001

5 lentelė. Medetkų žiedų ekstrakto įtaka mėsos faršo rūgimo titro pokyčiams saugojimo (5±2) °C temperatūroje metu

0,5 % medetkų žiedų ekstraktas	Rūgimo titras, g				
	saugojimo trukmė, h				
	0	24	48	72	96
Faršas be ekstrakto	0,1	0,1	0,01	0,1	0,001
1 partija	0,1	0,1	0,01	0,01	0,1
2 partija	0,1	0,1	0,01	0,01	0,001
3 partija	0,01	0,1	0,001	0,001	0,001
4 partija	0,1	0,1	0,1	0,01	0,001
5 partija	0,1	0,01	0,001	0,0001	0,000001

Ožragių sėklų (6 lentelė) ekstraktai pasižymėjo tam tikru antimikrobinu aktyvumu farše; jis buvo labiau pastebimas 3-ią ir ypač 7-ą bandymo parą, kai mėginiuose su ekstraktais rūgimo titras buvo didesnis 10–100 kartų. Burnočio ir gelsvės ekstraktų slopinantis efektas pastebimas po 1-os ir po 7-ių parų, kai rūgimo titras buvo didesnis, negu mėginyje be priedų, 10 kartų.

Trys iš penkių ramunėlių žiedų (7 lentelė) ekstraktų partijų įvairiais bandymo periodais turėjo

nedidelį poveikį koliforminėms bakterijoms, kuris labiau pastebimas po 2-jų ir 4-ių parų.

Bandyme su salierų šaknų ekstraktu (8 lentelė) faršas buvo mažiau užterštas koliforminėmis bakterijomis, rūgimo titras nedaug sumažėjo ir laikymo metu, ekstrakto slopinantis poveikis nenustatytas.

6 lentelė. Augalų ekstraktų įtaka mėsos faršo rūgimo titro pokyčiams saugojimo (5±2)°C temperatūroje metu

Mėginys	Rūgimo titras, g				
	saugojimo trukmė, h				
	0	24	48	72	168
Faršas be ekstraktų	0,001	0,01	0,01	0,0001	0,000001
Ožragių sėklų ekstr. (0,5 %, 1 partija)	0,01	0,01	0,01	0,01	0,00001
Ožragių sėklų ekstr. (0,5 %, 2 partija)	0,01	0,01	0,01	0,0001	0,0001
Ožragių sėklų ekstr. (0,5 %, 3 partija)	0,01	0,01	0,01	0,0001	0,0001
Burnočių sėklų ekstr. (0,5 %, 1 partija)	0,01	0,1	0,01	0,0001	0,00001
Gelsvių šaknų ekstr. (0,5 %, 1 partija)	0,01	0,1	0,01	0,0001	0,00001

7 lentelė. Ramunėlių žiedų ekstrakto įtaka mėsos faršo rūgimo titro pokyčiams saugojimo (5±2) °C temperatūroje metu

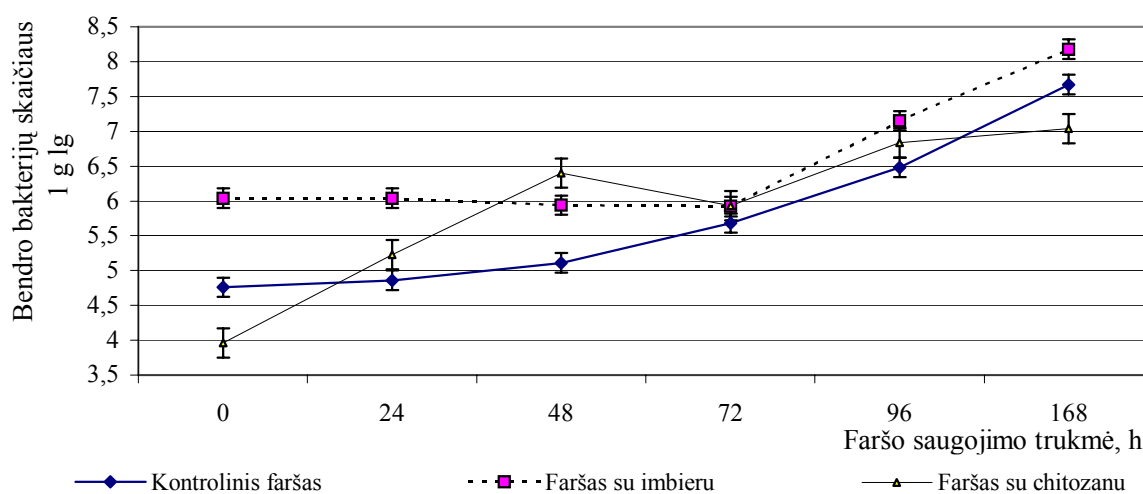
0,5 % ramunėlių žiedų ekstraktas	Rūgimo titras, g			
	saugojimo trukmė, h			
	0	24	48	96
Faršas be ekstrakto	0,001	0,001	0,001	0,0001
1 partija	0,001	0,001	0,01	0,001
2 partija	0,01	0,01	0,01	0,001
3 partija	0,001	0,001	0,001	0,001
4 partija	0,01	0,01	0,001	0,001
5 partija	0,001	0,001	0,01	0,001

8 lentelė. Salierų šaknų ekstrakto įtaka mėsos faršo rūgimo titro pokyčiams saugojimo (5±2) °C temperatūroje metu

0,5 % salierų šaknų ekstraktas	Rūgimo titras, g			
	saugojimo trukmė, h			
	0	24	48	72
Faršas be ekstrakto	0,1	0,1	0,1	0,1
1 partija	0,1	0,1	0,1	0,001
2 partija	0,1	0,1	0,01	0,01
3 partija	0,1	0,1	0,1	0,01
4 partija	0,1	0,01	0,1	0,1

Galima padaryti išvadą, kad ekstraktų priedais stabilizuoti nepageidaujamų maiste koliforminių bakterijų rūgimo titrą faršo saugojimo metu nevysiškai pavyksta, nes tyrime naudotų augalų ekstraktai tik kai kuriais atvejais slopina maiste koliforminių bakterijų dauginimąsi. Tam tikru efektu ekstraktai pasižymi ir atsižvelgiant į skirtumus tarp atskirų partijų aktyvumo, galima tikėtis gauti aktyvesnius ekstraktus.

Kadangi pastaruoju metu skatinamas chitozano naudojimas, o literatūros šaltiniuose randama informacijos apie jo antimikrobines savybes, buvo atliktas eksperimentas pridėdant šios medžiagos į faršą. Kontrolinis mėginys buvo faršas be priedų, į trečią bandinį buvo įmaišyti imbiero milteliai, literatūros duomenimis taip pat turintys antimikrobinių savybių [9]. Laikant faršą šaldytuve sekta bendro bakterijų skaičiaus dinamika (2 pav.).



2 pav. Bendro bakterijų skaičiaus augimo farše priklausomybė nuo imbiero ir chitozano priedų

Tyrimas patvirtino literatūros informaciją [4], kad prieskoniai dažnai būna nepageidaujamo papildomo mikrobino užterštumo šaltinis – pridėjus į faršą imbiero miltelių, jo mikrobinis užterštumas padidėjo nuo $5,8 \times 10^4$ iki $1,1 \times 10^6$. Bandymo metu nustatyta, kad imbias nepasižymėjo antimikrobinėmis savybėmis, nes bendras šio varianto bakterijų skaičius pirmąsias tris paras liko nepakitęs, bet po 7-ųjų parų išaugo daugiausiai. Variantas su chitozanu per 4 paras bendrasis bakterijų skaičius visada buvo didesnis nei kontroliniame bandinyje, ir

tik po 7 parų sumažėjo apie 4 kartus. Ryšium su tuo apie šių medžiagų efektyvumą sunku daryti apibendrinančias išvadas, nes atskirų gamintojų chitozano savybės gali labai skirtis.

Apibendrinant gautus duomenis galima pažymėti, kad tirti augalų ekstraktai turi antimikrobinių savybių, tačiau jos labiau pasireiškia Gr+ bakterijų atžvilgiu. Gr- testavimo kultūrų augimas taip pat slopinamas, tačiau daugeliu atvejų susidaro mažesnės slopinimo zonos arba veiksmingi būna tik didesnių koncentracijų ekstraktų tirpalai.

Išvados

1. Panaudoti 0,5 % jonažolių žiedų, kalendrų sėklų, medetkų žiedų, ožragių ir burnočių sėklų, gelsvių ir salierų šaknų ekstraktų priedai farše dažniausiai neslopino koliforminių bakterijų dauginimosi maiste.
2. Tirti petražolės bei salierų lapų ir šaknų, šalavijo, čiobrelis, melisos, kalendros lapelių ir sėklų, peletrūno, mairūno, rozmarino, dašio ekstraktų 1, 5, 10, 50 % tirpalai pasižymėjo antimikrobinėmis savybėmis, kurios labiau pasireiškia gramteigiamų bakterijų atžvilgiu. Ekstraktai slopino ir gramneigiamų testavimo kultūrų augimą, tačiau slopinimas daugeliu atvejų buvo mažesnis; veiksmingi buvo tik didesnių koncentracijų ekstraktų tirpalai.

Literatūra

1. **Weber H.** Technologien für sichere produkte 2. Teil // Fleischwirtschaft. 2003b. No. 8. P. 7–8.
2. **Кутювая Т. В.** Продукты ООО “Зеленые линии” для мясopерерабатывающей отрасли // Пищевая промышленность. 2003. № 4. С. 72–73.
3. **Jira W.** Gewürze und ihre Wirkung // Fleischwirtschaft. 2002. No. 7. P. 32–33.
4. **Стрелюхина А. Н., Новошонов В. Й.** Оценка стабильности процесса CO₂-экстрагирования // Пищевая промышленность. 2003. № 3. С. 60.
5. **Sagdic O., Simsek B., Kucukoner E.** Microbiological and physiological characteristics of Van herby cheese, a traditional Turkish dairy product // Milchwissenschaft. 2003. No. 58. P. 382–385.
6. **Karahan A. G., Sagdic O., Ozcan M., Ozcan G.** Determination of antibacterial activity of some spice extracts. 2000. Rep. Suleyman Demirel Univ. Res. Developm. Fund Proj. No. SDU–AF 140, Isparta, Turkey 43.
7. **Касьянов Г. И., Банашек В. М., Рослякова Е. Й.** CO₂-экстракты лекарственных растений // Пищевая промышленность. 2003. № 6. С. 86.
8. **Толкунова Н. Н., Криштафович В. И.** // Мясная индустрия. 2001. № 5. С. 24–25.
9. **Sejal S., Sen Ray K.** Study on antioxidant and antimicrobial properties of black cumin // Journal of Food Science and Technology. 2003. No. 40(1). P. 70–73.

Pateikta spaudai 2004 04

A. Šarkinas, V. Čypienė, A. Šipailienė, P. R. Venskutonis

DIFFERENCES OF SENSITIVITY OF GRAM POSITIVE AND GRAM NEGATIVE BACTERIA TO PLANT EXTRACTS

Summary

Antimicrobial activity of selected plant extracts was assessed using the agar diffusion method. Gram-positive (*Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*) and gram-negative (*Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia alvei*) bacteria were used as test organisms in this study.

The results have shown that gram positive bacteria were more sensitive to extracts of celery, parsley, coriander, tarragon and lemon balm than gram negative bacteria. The possibility to stabilize a number of coliforms in food products, curd and meat mince was also evaluated. The extracts of plants did not have significant influence on the number of coliforms during cold storage. The test with ginger has shown, that it was contaminated with microorganisms which increased total number of bacteria in mince, and it did not have any preservative effect during storage.

Keywords: bacteria, antimicrobial activity, plant extracts.

A. Шаркинас, В. Чипене, А. Шипайлене,
П. Р. Вянскутонис

РАЗЛИЧИЯ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ И ГРАМОПОЛОЖИТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ К ЭКСТРАКТАМ РАСТЕНИЙ

Резюме

Методом диффузии в агар исследована антимикробная эффективность группы экстрактов растений. В качестве тест-культур подобраны грамотрицательные бактерии *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Hafnia alvei* и грамположительные *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes*, *Micrococcus luteus*, *Bacillus cereus*.

Установлено, что грамположительные бактерии отличаются большей чувствительностью к изучаемым экстрактам растений петрушки, эстрагона, кориандра, сельдерея, Melissa по сравнению с грамотрицательными.

Исследована возможность стабилизировать размножение колиформных бактерий в мясном фарше и твороге путем добавки экстрактов растений. Однако выраженного воздействия экстрактов на рост бактерий не установлено. Добавка в мясо имбиря также не остановила размножения колиформных бактерий и подтвердила литературные данные о бактериальной загрязненности приправ.