

## BANDYMO TERPĖS SAVYBIŲ ĮTAKA AUGALŲ EKSTRAKTŲ TIRPALŲ ANTIMIKROBINĖMS SAVYBĖMS

Aušra Šipailienė, Antanas Šarkinas, Petras Rimantas Venskutonis

Kauno technologijos universitetas, Radvilėnų pl. 19, 50015 Kaunas, Lietuva; el. paštas [ausra.sipailiene@stud.ktu.lt](mailto:ausra.sipailiene@stud.ktu.lt)

**Santrauka.** Taikant difuzijos į agarą metodą palygintas augalų ekstraktų antimikrobinų savybių stiprumas keletui bakterijų testavimo kultūrų skirtingoje temperatūroje, kai terpės pH 4,0 ir 5,5, pridėjus į terpę 2,5% ir 4,0% NaCl ir standartinio varianto terpėje. Įvertintos augalų ekstraktų antimikrobinės savybės maltoje mėsoje laikymo metu.

*S. aureus* testavimo kultūra buvo jautri dašio, mairūno, peletrūno acetoniniams ir metanoliniams ekstraktams terpėse su pakeistomis savybėmis. Taigi sumažintas vandens aktyvumas ir terpės pH sustiprina antimikrobinį poveikį. Vandeniai ekstraktai buvo mažiau veiksmingi, tačiau pakeista terpės sudėtis antimikrobinės savybės sustiprino. Sumažintas terpės pH duoda didesnę efektą, o NaCl terpėje tik nežymiai sustiprina mairūno ir peletrūno ekstraktų poveikį. Dašio ekstraktų tirpalai pasižymėjo antimikrobinio aktyvumu.

*S. typhimurium* augimą mažai veikė peletrūno ekstraktai, o sumažintas vandens aktyvumas nesustiprino mairūno metanolinio ekstrakto antimikrobinų savybių, nors tai pastebima mažėjant terpės pH. Acetoninis ekstraktas buvo veiksmingas, slopinimo zonos susidarė visų variantų terpėje. Visų frakcijų dašio ekstraktų tirpalai efektyviau slopino *S. typhimurium* augimą, esant parūgštintai terpei.

Ekstraktų antimikrobinį poveikį *M. luteus* atžvilgiu labiau sustiprina terpės parūgštinimas, o ne  $a_w$  mažinimas, nors peletrūno vandeninio ekstrakto poveikį sustiprino abu veiksniai, slopinimo zonų nebuvo tik standartinėje terpėje.

Gauti duomenys rodo, kad nuo individualių testavimo kultūrų savybių priklauso jų jautrumas augalų ekstraktams, o antimikrobinio poveikio stiprumą taip pat gali padidinti tiek sumažinto pH terpė, tiek ir pakeisto druskos priedais  $a_w$ , nevienodai veikia antimikrobinės savybės ir skirtinga temperatūra.

Gelsvės ekstrakto efektyvumas mėsos faršo saugojimo metu nedidelis, bendro bakterijų ir koliforminių bakterijų skaičius nestabilizuojamas.

**Raktažodžiai:** augalų ekstraktai, terpės pH ir  $a_w$ , antimikrobinės savybės.

## INFLUENCE OF MEDIA PARAMETERS ON ANTIMICROBIAL PROPERTIES OF PLANT EXTRACTS

**Summary.** Antimicrobial properties of plants extract were assessed using agar diffusion method and applying different pH (4.0 and 5.5) and  $a_w$  (2.5 and 4.0 % NaCl) of media.

It was found that acetone and methanol extracts of savory, marjoram and tarragon were effective inhibitors of *St. aureus* after modification of media. Consequently the reduction of water activity ( $a_w$ ) and pH of media increases the antimicrobial effect of extracts. Water extracts of plants were less effective; however, the change of media parameters enabled to improve antimicrobial effect of plant water extracts as well. The reduction of media  $a_w$  resulted in lower inhibitory effect of marjoram and tarragon extracts, while the effect of reduction of media pH on bacteria growth was more remarkable. The microorganisms were particularly sensitive to the solution of different savory extracts. The extracts isolated from tarragon were less effective against *S. typhimurium*. In some cases the effect of water activity was not observed; for instance antimicrobial effect of methanol extract of marjoram in standard media was similar with that in media of lower  $a_w$ . Acetone extract of marjoram was effective inhibitor; inhibition zones were formed in the all applied media. The extracts of savory had bigger inhibitory effect on *S. typhimurium* when pH of media has been reduced.

The addition of citric acid to the media enhanced antimicrobial effect of extracts against *M. luteus*, while the change of  $a_w$  did not have any effect. However, antimicrobial effect of water extract of tarragon increased depending on both factors.

The results show, than the sensitivity of bacteria to plant extracts depended on the individual properties of test cultures. Furthermore, the antimicrobial effect may be strengthened by the decrease of media pH or lowering of  $a_w$  by salt additives. The antimicrobial properties of extracts also depend on the temperature of microorganism cultivation.

The extract of lovage possesses weak inhibitory effect in minced meat; in terms of stabilization total and coliform count of bacteria.

**Keywords:** plant extract, media  $a_w$  and pH, antimicrobial properties.

**Įvadas.** Daugeliui augalų ekstraktų būdingos antimikrobinės savybės. Parinktas efektyvius medžiagas galima naudoti kaip natūralius konservantus. Augalų ekstraktų antimikrobinėms savybėms tirti difuzijos į agarą metodas gali būti taikomas su įdubomis ar su popieriniais

diskais, kaip tiriant metanolinių ir vandeninių ekstraktų antimikrobinės savybes. Siekiama analizuoti ir ekstraktų sudėtį. *Hovenia dulcis* ekstrakto aktyvioji medžiaga identifikuota kaip 3(Z)-dodecenedioinė rūgštis, kurios 500 μg slopina testuojamų kultūrų *Staphylococcus aureus*,

*Escherichia coli* augimą (Jeong-Yong Cho et al., 2004). Naudojant popierinius diskus difuzijos į agarą metodu tiriamos ir eterinių aliejų antimikrobinės savybės. Testavimo kultūromis parinktos *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Yersinia enterocolitica*. Eterinių aliejų antimikrobinės savybės pasireiškia suvilgius diskus tirpaluose, praskiestuose santykiu 1:100. Efektyviausias buvo čiobrelis eterinis aliejus, o jautriausia kultūra – *Bacillus amyloliquefaciens*. Pagrindinis eterinių aliejų komponentas ir aktyvioji dalis, atskiruose augaluose svyruojanti nuo 53,3% iki 86,9%, yra karvakrolis. Eterinius aliejus siūloma naudoti kaip natūralius maisto produktų konservantus (Baydar et al., 2004).

Įvertinus kelių tipų svogūnų ir česnakų eterinių aliejų ekstraktus, nustatytas skirtingas poveikis, tačiau visi jie veikė bakterijas ir mikromicetus, todėl gali būti naudojami kaip maisto konservantai. Jų naudojimą gali riboti tik būdingas šiems augalams stiprus kvapas (Benkeblia, 2004).

Pažymima, kad identifikuoti 39 *Thymus eigii* eterinio aliejaus komponentai sudaro 93,7% viso jo kiekio, tarp jų timolis (30,6%), karvakrolis (26,1%), p-cymenas (13,0%), eterinis aliejus pasižymi stipriu antimikrobininiu poveikiu (Tepe et al., 2004).

Prieskonių kokybė dažnai priklauso nuo kultivavimo regiono, klimato ir saugojimo sąlygų. Palyginus aštuoniuose regionuose užaugintas kalendras nustatyta, kad aromatinių komponentų kiekis svyruoja nuo 0,010% iki 0,035%, nors pats aromatas ir nesiskiria (Prakash et al., 2003). Garstyčių eteriniame aliejuje randamo izotiocianato kiekis atskiruose geografiniuose rajonuose taip pat svyruoja nuo 54,8% iki 68,8% (Yu J. et al., 2004). Skiriasi ne tik atskirų regionų ekstraktų efektyvumas, nevienodomis sąlygomis gali skirtis ir jų poveikio stiprumas. Kadangi maisto produktai labai skiriasi daugeliu savybių, atliktų tyrimų tikslas yra difuzijos į agarą metodu nustatyti mikroorganizmų augimo terpės ir galimą temperatūros įtaką augalų ekstraktų antimikrobinėms savybėms stiprumui.

**Tyrimų metodai ir sąlygos.** Augalų ekstraktų antibakteriniam aktyvumui įvertinti naudotos maisto produktuose nepageidautinos, tarp jų – ir patogeninių bakterijų kultūros – *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Micrococcus luteus*. Buvo vertinamas dašio, rozmarino, mairūno, peletrūno acetoninių, metanolinių ir vandeninių ekstraktų antimikrobinis aktyvumas.

Antibakterinį aktyvumą vertinant difuzijos į agarą metodu bakterijų kultūros 18 val. auginamos 37°C temperatūroje ant nuožulnaus agaro. Nuplauta bakterijų suspensija praskiedžiama pagal Mc Farland standartą Nr. 0,5, gerai sumaišoma mažąja purtykle ir atitinkamas ląstelių skaičius supilamas į ištirpintą ir iki 47°C temperatūros atvėsintą agarizuotą terpę bendram bakterijų skaičiui nustatyti. Dar kartą gerai permaišoma, kad ląstelės pasiskirstytų tolygiai. Tokiu būdu paruoštas bakterijų ląstelių suspensijos mišinys su terpe išpilstomas po 10 ml į 90 mm skersmens stiklines Petri lėkšteles.

Terpei sustingus padaromos šešios įdubos (8 mm skersmens), į kurias pilama po 50 µl 50, 10 ir 1% ekstraktų etanolinių tirpalų.

Antimikrobinis poveikis bakterijų kultūroms vertinamas po 24 valandų pagal skaidriųjų zonų, susidariusių aplink įdubas, skersmenį, išreikštą centimetrais. Jei aplink įdubas skaidriosios zonos nesusidaro, daroma išvada, kad tirta medžiaga ar koncentracija tiriamai kultūrai baktericidinio poveikio nedaro.

Vertinant terpės pH reikšmę tiriamųjų medžiagų antimikrobinėms savybėms, terpės pH sumažinamas 10% citrinos rūgšties tirpalu.

Vertinant terpės  $a_w$  reikšmę tiriamųjų medžiagų antimikrobinėms savybėms terpės  $a_w$  buvo sumažintas į verdamą terpę pridėdant 2,5% ir 4,0% NaCl. Temperatūros įtaka nustatyta bandymo metu saugant lėkšteles 25°C, 30°C, 37°C temperatūroje.

Vertinant augalų ekstraktų poveikį modelinėse sistemose, 2,0 kg jautienos–kiaulienos faršo buvo pasūdoma, įmaišomi kiaušiniai, masė padalijama į keturias dalis. Viena dalis paliekama kontrolei, kitos trys sumaišomos atitinkamai su 0,2%, 0,4%, 0,6 % tiriamo augalo ekstrakto. Saugojimo metu 4 ±3°C temperatūroje periodiškai buvo nustatomas ir lyginamas su kontrole bendras bakterijų skaičius, koliforminių bakterijų skaičius sėjimo į violetiškai raudoną tulžies ir laktozės agarą (VRTL, *OXOID* firmos) būdu, auksinių stafilokokų (ant Baird-Parker terpės) skaičius ir salmonelės, kurių buvimas tirtas bandymo pradžioje ir pabaigoje.

**Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas.** Maisto produktai gali turėti gana skirtingas pH reikšmes. Kaip konservuojantis veiksnys naudojamas ir vandens aktyvumas ( $a_w$ ). Tai sudaro skirtingas sąlygas bakterijoms augti. Taigi gali keistis ir ekstraktų antimikrobinio poveikio stiprumas. Palygintas slopinimo zonų skersmuo keleto bakterijų testavimo kultūrų, kai terpės pH 4,0 ir 5,5, pridėjus į terpę 2,5% ir 4,0% NaCl bei standartinio varianto terpėje.

Dašio, mairūno, peletrūno ekstraktų frakcijos difuzijos į agarą metodu buvo išbandytos terpėje su skirtingomis savybėmis (1 lentelė). *S. aureus* testavimo kultūra buvo jautri dašio acetoniniams ir metanoliniams ekstraktams terpėse su pakeistomis savybėmis, taigi sumažintas vandens aktyvumas ir terpės pH sustiprina antimikrobinį poveikį. Standartinėje terpėje acetoninio ekstrakto 5% ir 1% koncentracijos tirpalai sudarė mažesnes slopinimo zonas. Vandeninis ekstraktas buvo mažiau veiksmingas, tačiau pakeista terpės sudėtis sustiprino antimikrobinės savybės – slopinimo zonos didėjo augant NaCl kiekiui ir mažėjant pH – esant pH 4 slopinimo zoną sudarė ir 1% ekstrakto tirpalas.

Tarp mairūno ekstraktų frakcijų didesniu veiksmingumu išsiskyrė metanolinis ekstraktas, o jo antimikrobinės savybės labiau sustiprino sumažintas terpės pH, o ne pakeistas druskos priedais  $a_w$ . Mairūno vandeninis ekstraktas taip pat efektyviai slopino *S. aureus* augimą.

Visos peletrūno ekstrakto frakcijos slopino *S. aureus* augimą, antimikrobinį poveikį labiau sustiprino terpės pH

mažinimas. Vandeningas ekstraktas standartinėje terpėje ir terpėje su 2,5% druskos antimikrobinio poveikiu beveik nepasizymėjo.

Daugiau sumažinto terpės pH įtaką galima paaiškinti *S. aureus* atsparumu NaCl, stafilokokų augimui naudojama terpė su 6% NaCl, todėl šios medžiagos mairūno ir peletrūno ekstraktų poveikį terpėje sustiprina nežymiai. Dašio ekstraktų tyrimų duomenis sunkiau komentuoti, nes parinktos per didelės tirpalų

koncentracijos. Daugeliu atvejų buvo slopinamas augimas visoje lėkštelėje. Šių trijų ekstraktų poveikis *P. aeruginosa* skiriasi (2 lentelė). Galima pastebėti, kad sumažintas iki 5,5 terpės pH netgi susilpnino ekstraktų poveikį palyginti su standartinė terpe, kurioje skaidrios zonos susidarė daugiau atvejų. Terpėje 2,5% NaCl jau padidina antimikrobinį efektą, kuris dar labiau išreikštas terpėje su 4% druskos ir pH 4.

1 lentelė. *Staphylococcus aureus* jautrumo augalų ekstraktams priklausomybė nuo kultivavimo sąlygų

Augalų ekstraktas	Koncentracija, %	Slopinimo zonų dydis, cm, esant tokiai mitybos terpei				
		4% NaCl	2,5% NaCl	Kontrolė	pH 5,5	pH 4,0
Dašio acetoninis ekstraktas	10	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	5	4,00±0,00	4,00±0,00	3,40±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	1	4,00±0,00	4,00±0,00	1,90±0,14	4,00±0,00	4,00±0,00
Dašio metanolinis ekstraktas	10	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	5	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	1	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
Dašio vandeninis ekstraktas	10	2,18±0,11	1,95±0,07	1,75±0,07	1,73±0,04	2,83±0,04
	5	1,95±0,07	1,63±0,04	1,45±0,07	1,23±0,04	2,38±0,04
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	1,70±0,14
Mairūno acetoninis ekstraktas	10	2,68±0,04	2,35±0,21	2,40±0,14	1,93±0,04	4,00±0,00
	5	2,20±0,00	2,00±0,14	1,83±0,11	1,70±0,00	3,85±0,07
	1	1,70±0,00	1,68±0,04	1,28±0,11	1,23±0,04	2,55±0,07
Mairūno metanolinis ekstraktas	10	4,00±0,00	4,00±0,00	2,10±0,28	4,00±0,00	4,00±0,00
	5	2,80±0,28	2,50±0,00	1,70±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	1	1,10±0,0	1,10±0,14	1,38±0,04	4,00±0,00	4,00±0,00
Mairūno vandeninis ekstraktas	10	2,10±0,14	1,65±0,00	1,70±0,00	1,70±0,00	4,00±0,00
	5	1,60±0,14	1,43±0,04	1,55±0,07	1,30±0,00	4,00±0,00
	1	1,15±0,07	0,00	0,00	0,00	4,00±0,00
Peletrūno acetoninis ekstraktas	10	2,30±0,00	2,25±0,00	3,00±0,00	2,15±0,00	4,00±0,00
	5	1,80±0,00	1,50±0,00	1,50±0,00	1,60±0,00	4,00±0,00
	1	1,50±0,14	1,20±0,14	1,20±0,00	1,50±0,00	3,80±0,00
Peletrūno metanolinis ekstraktas	10	2,25±0,21	2,15±0,07	2,45±0,07	3,70±0,14	4,00±0,00
	5	1,40±0,00	1,15±0,07	1,45±0,07	1,35±0,07	4,00±0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00±0,00
Peletrūno vandeninis ekstraktas	10	1,53±0,04	0,00	1,20±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	5	1,40±0,00	0,00	0,00	3,60±0,00	4,00±0,00
	1	0,00	0,00	0,00	2,80±0,00	4,00±0,00

Lyginami ekstraktų frakcijas tarpusavyje matome, kad visų augalų metanoliniai ekstraktai buvo efektyviausi. Mažesniu antimikrobinio aktyvumu išsiskyrė acetoniniai ekstraktai, o vandeniniai labiau slopino testavimo kultūros augimą tik terpėje su 4% NaCl ir esant pH 4. Peletrūno vandeninio ekstrakto poveikio mažesnis  $a_w$  nesustiprino. Jis pasireiškė tik esant pH 4. *P. aeruginosa* testavimo kultūra buvo atsparesnė ekstraktams už *S. aureus*.

Maisto saugumo požiūriu pavojinga *S. typhimurium* dar atsparesnė tiriamiems ekstraktams (3 lentelė). Jos augimą mažai veikė peletrūno ekstraktai, o vandens aktyvumo mažėjimas nesustiprino mairūno metanolinio ekstrakto antimikrobinį savybių, nors tas pastebima

mažėjant terpės pH. Taigi produktų sudymas kovojant su *S. typhimurium* gali būti mažiau paveikus negu terpės pH. Acetoninis ekstraktas buvo veiksmingas, slopinimo zonos susidarė visų variantų terpėse.

Dašio visų frakcijų ekstraktų tirpalai slopino *S. typhimurium* augimą. Didesnės slopinimo zonos susidarė esant parūgštintai terpei. Terpėje su pH 4 skaidrios zonos rastos ir lėkštelėse su vandeninio ekstrakto 1% tirpalu.

Daug jautresnis ekstraktams yra *M. luteus* (4 lentelė). Maksimalios slopinimo zonos rodo, kad reikėjo imti mažesnes dašio ekstraktų tirpalų koncentracijas, nes išmatuojamos zonos susidarė tik standartinėje terpėje tiriant vandeninį ekstraktą. *M. luteus* taip pat būdingas

atsparumas druskai, todėl ekstraktų antimikrobinį poveikį labiau sustiprina terpės parūgštinimas, o ne  $a_w$  mažinimas, nors peletrūno vandeninio ekstrakto poveikį sustiprino abu veiksniai – slopinimo zonų nebuvo tik standartinėje terpėje.

Gauti duomenys rodo, kad nuo individualių testavimo kultūrų savybių priklauso jų jautrumas augalų ekstraktams, o antimikrobinį poveikį gali padidinti ir terpės pH mažinimas, ir  $a_w$  pakeitimas druskos priedais.

2 lentelė. *Pseudomonas aeruginosa* jautrumo augalų ekstraktams priklausomybė nuo kultivavimo sąlygų

Augalų ekstraktas	Koncentracija, %	Slopinimo zonų dydis, cm, esant tokiai mitybinei terpei				
		4 % NaCl	2,5 % NaCl	Kontrolė	pH 5,5	pH 4,0
Dašio acetoninis ekstraktas	10	4,00±0,00	2,60±0,00	1,23±0,04	0,00	4,00±0,00
	5	2,25±0,00	0,90±0,00	0,00	0,00	4,00±0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00±0,00
Dašio metanolinis ekstraktas	10	4,00±0,00	2,85±0,07	2,60±0,00	0,00	4,00±0,00
	5	4,00±0,00	2,40±0,00	2,00±0,00	0,00	4,00±0,00
	1	4,00±0,00	1,55±0,07	1,35±0,07	0,00	4,00±0,00
Dašio vandeninis ekstraktas	10	1,90±0,00	0,95±0,07	0,00	0,00	0,00
	5	1,48±0,04	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mairūno acetoninis ekstraktas	10	2,40±0,00	1,33±0,04	1,10±0,00	1,23±0,04	4,00±0,00
	5	1,80±0,00	1,10±0,00	0,00	0,90±0,00	4,00±0,00
	1	1,20±0,00	0,90±0,00	0,00	0,00	4,00±0,00
Mairūno metanolinis ekstraktas	10	4,00±0,00	4,00±0,00	2,35±0,21	1,25±0,07	4,00±0,00
	5	4,00±0,00	3,10±0,14	1,35±0,21	0,00	4,00±0,00
	1	4,00±0,00	1,20±0,00	0,00	0,00	4,00±0,00
Mairūno vandeninis ekstraktas	10	1,25±0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Peletrūno acetoninis ekstraktas	10	2,20±0,00	1,10±0,00	1,15±0,00	1,10±0,00	4,00±0,00
	5	1,00±0,00	0,90±0,00	0,90±0,00	0,9±0,00	4,00±0,00
	1	0,00	0,80±0,00	0,80±0,00	0,80±0,00	2,00±0,00
Peletrūno metanolinis ekstraktas	10	2,45±0,07	1,80±0,14	1,90±0,14	1,15±0,07	4,00±0,00
	5	1,40±0,00	1,30±0,00	1,15±0,07	0,00	4,00±0,00
	1	1,05±0,07	1,00±0,00	1,00±0,00	0,00	4,00±0,00
Peletrūno vandeninis ekstraktas	10	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00±0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00±0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00±0,00

Tiriant kultivavimo sąlygų įtaką išbandyta 37°C, 30°C ir 25°C temperatūra bei kelios kultūros, paprastai auginamos 37°C temperatūroje. *S. agona* buvo mažai jautri tirtiems ekstraktams. Slopinimo zonų susidarymą 37°C ir 30°C temperatūroje veikė tik rozmarinas. 25°C temperatūroje visi ekstraktai sudarė tik minimalias slopinimo zonas (5 lentelė). *S. epidermidis* jautrumas 37°C ir 30°C temperatūroje beveik nesiskyrė, tačiau 25°C temperatūroje slopinimo zonų vidurkis buvo apie 1,5 karto didesnis. Taigi žemesnė temperatūra antimikrobinį ekstraktų poveikį sustiprina. Mažinant temperatūrą didėja zonos ir lėkštelėse su *B. subtilis* skirtumai – 1,16–1,34 karto.

Visiškai kitoks vaizdas lėkštelėse su kultūros sporomis. Ten skaidrių zonų pločio vidurkis vienodas bet kokioje temperatūroje. Taigi ląstelės būseną turi įtakos kultūros jautrumui.

Gelsvės ekstraktas slopino dalies bakterijų augimą tiriant difuzijos į agarą metodu įvairioje temperatūroje. Šio ekstrakto efektyvumas įvertintas ir modelinėje maisto sistemoje, mėsos faršo saugojimo metu. Tokiomis sąlygomis jo poveikis silpnas (6–9 lentelės).

Bendras bakterijų skaičius auga viso bandymo metu – tiek mėsoje su ekstraktų priedais, tiek ir be jų. Mėginiuose su gelsvės ekstraktu po 24 val. ląstelių skaičius nors ir didėja, bet yra mažesnis nei mėsoje be tiriamosios medžiagos priedų. Ta pati tendencija išlieka ir iki 48 val. Po 72 val. farše su 0,2% ekstrakto gaunamas ląstelių skaičius didesnis nei kontrolinio varianto, farše su 0,4% ekstrakto – panašus, o farše su 0,6% ekstrakto – perpus mažesnis. Taigi bandymo pradžioje slopinamąjį poveikį turi visos ekstrakto koncentracijos, o po 72 val. – tik 0,6%.

3 lentelė. *Salmonella typhimurium* jautrumo augalų ekstraktams priklausomybė nuo kultivavimo sąlygų

Augalų ekstraktas	Koncentracija, %	Slopinimo zonų dydis, cm, esant tokiai mitybinei terpei				
		4% NaCl	2,5% NaCl	Kontrolė	pH 5,5	pH 4,0
Dašio acetoninis ekstraktas	10	3,20±0,00	2,05±0,07	2,28±0,04	2,60±0,14	4,00±0,00
	5	1,75±0,07	1,73±0,04	1,58±0,04	1,70±0,00	4,00±0,00
	1	1,60±0,00	1,50±0,00	1,50±0,00	1,50±0,00	4,00±0,00
Dašio metanolinis ekstraktas	10	2,38±0,04	2,18±0,04	4,00±0,00	1,63±0,11	4,00±0,00
	5	1,30±0,14	1,25±0,07	4,00±0,00	1,30±0,00	4,00±0,00
	1	0,00	0,00	4,00±0,00	0,95±0,07	4,00±0,00
Dašio vandeninis ekstraktas	10	2,30±0,00	1,70±0,00	1,50±0,00	1,50±0,00	4,00±0,00
	5	1,70±0,14	1,33±0,18	1,20±0,00	1,15±0,07	4,00±0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	4,00±0,00
Mairūno acetoninis ekstraktas	10	4,00±0,00	1,40±0,00	1,28±0,11	1,28±0,11	2,00±0,00
	5	3,20±0,00	1,20±0,00	1,15±0,07	1,10±0,14	1,58±0,11
	1	2,20±0,00	0,00	0,00	0,90±0,00	1,20±0,00
Mairūno metanolinis ekstraktas	10	0,00	0,00	1,00±0,00	1,35±0,07	1,63±0,04
	5	0,00	0,00	0,00	1,13±0,04	1,20±0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mairūno vandeninis ekstraktas	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Peletrūno metanolinis ekstraktas	10	1,20±0,00	1,20±0,00	1,25±0,07	1,20±0,00	2,05±0,07
	5	0,00	0,00	0,00	1,05±0,07	1,25±0,35
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	1,20±0,00
Peletrūno vandeninis ekstraktas	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

4 lentelė. *Micrococcus luteus* jautrumo augalų ekstraktams priklausomybė nuo kultivavimo sąlygų

Augalų ekstraktas	Koncentracija, %	Slopinimo zonų dydis, cm, esant tokiai mitybos terpei				
		4% NaCl	2,5% NaCl	Kontrolė	pH 5,5	pH 4,0
Dašio acetoninis ekstraktas	10	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	5	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	1	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
Dašio metanolinis ekstraktas	10	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	5	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	1	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
Dašio vandeninis ekstraktas	10	4,00±0,00	4,00±0,00	1,68±0,04	4,00±0,00	4,00±0,00
	5	4,00±0,00	4,00±0,00	1,40±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	1	4,00±0,00	4,00±0,00	0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
Mairūno acetoninis ekstraktas	10	2,55±0,07	2,35±0,07	2,65±0,07	4,00±0,00	4,00±0,00
	5	2,15±0,00	1,90±0,00	2,40±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	1	1,60±0,0	1,45±0,07	2,25±0,07	3,85±0,07	4,00±0,00
Mairūno metanolinis ekstraktas	10	2,55±0,00	2,30±0,00	3,25±0,07	3,20±0,00	4,00±0,00
	5	1,43±0,18	1,80±0,00	2,10±0,00	2,15±0,07	4,00±0,00
	1	0,00	1,10±0,00	1,28±0,11	1,18±0,11	4,00±0,00
Mairūno vandeninis ekstraktas	10	1,45±0,07	1,50±0,00	1,95±0,07	1,90±0,14	4,00±0,00
	5	1,00±0,00	1,05±0,07	1,75±0,07	1,75±0,07	4,00±0,00
	1	0,00	0,00	1,10±0,00	1,00±0,00	4,00±0,00
Peletrūno metanolinis ekstraktas	10	2,20±0,00	1,85±0,07	2,65±0,21	4,00±0,00	4,00±0,00
	5	1,30±0,00	1,50±0,14	2,00±0,00	4,00±0,00	4,00±0,00
	1	0,00	0,90±0,00	1,68±0,04	4,00±0,00	4,00±0,00
Peletrūno vandeninis ekstraktas	10	1,20±0,00	1,25±0,07	0,00	2,15±0,21	4,00±0,00
	5	0,95±0,07	1,08±0,04	0,00	2,03±0,04	4,00±0,00
	1	0,90±0,00	0,90±0,00	0,00	1,78±0,07	4,00±0,00

5 lentelė. Kultivavimo temperatūros įtaka ekstraktų frakcijų antimikrobinio poveikio stiprumui

Ekstraktas	Koncentracija, %	Slopinimo zonų skersmuo, cm			
		<i>S. agona</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>B. subtilis</i>	
				18 h kult.	sporos
37 °C kultivavimo temperatūra					
Petražolės	10	0,0	1,4±0,1	0,5±0,3	1,4±0,0
	5	0,0	1,2±0,0	1,5±0,1	1,2±0,0
Gelsvės	10	0,0	2,0±0,1	1,5±0,1	1,6±0,2
	5	0,0	1,3±0,1	1,6±0,2	1,5±0,1
Rozmarino	10	1,2±0,1	2,6±0,1	1,8±0,1	2,1±0,1
	5	1,0±0,0	2,1±0,1	1,7±0,0	1,7±0,0
30 °C kultivavimo temperatūra					
Petražolės	10	0,0	1,3±0,0	1,7±0,3	1,3±0,1
	5	0,0	1,2±0,1	1,6±0,1	1,2±0,0
Gelsvės	10	0,0	1,8±0,0	1,5±0,0	1,4±0,0
	5	0,0	1,2±0,0	1,5±0,1	1,5±0,1
Rozmarino	10	0,9±0,0	2,6±0,3	1,8±0,2	2,1±0,3
	5	0,0	2,1±0,3	1,8±0,0	1,8±0,3
25 °C kultivavimo temperatūra					
Petražolės	10	0,9±0,1	1,5±0,0	1,4±0,1	1,6±0,2
	5	0,8±0,0	1,4±0,0	1,3±0,0	1,2±0,0
Gelsvės	10	0,9±0,1	2,9±0,2	2,5±0,1	1,7±0,0
	5	0,8±0,0	1,8±0,1	1,7±0,0	1,4±0,0
Rozmarino	10	0,8±0,0	4,0±0,0	2,3±0,0	1,9±0,2
	5	0,0	4,0±0,0	2,3±0,1	2,0±0,1

6 lentelė. Gelsvės ekstrakto priedų įtaka bendro mikroorganizmų skaičiaus pokyčiams jautienos–kiaulienos farše 4–6°C temperatūroje

Faršo laikymo trukmė, val.	Bendras mikroorganizmų skaičius, KSV/g			
	Ekstrakto koncentracija mėsoje, %			
	0,0	0,2	0,4	0,6
0	$1,2 \cdot 10^6 \pm 6,6 \cdot 10^5$			
24	$6,0 \cdot 10^6 \pm 2,0 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6 \pm 4,2 \cdot 10^5$	$2,2 \cdot 10^6 \pm 1,1 \cdot 10^6$	$2,6 \cdot 10^6 \pm 4,1 \cdot 10^6$
48	$3,3 \cdot 10^7 \pm 1,4 \cdot 10^7$	$1,7 \cdot 10^7 \pm 1,8 \cdot 10^6$	$2,1 \cdot 10^7 \pm 2,0 \cdot 10^7$	$1,3 \cdot 10^7 \pm 9,5 \cdot 10^6$
72	$6,0 \cdot 10^7 \pm 2,0 \cdot 10^7$	$1,1 \cdot 10^8 \pm 2,0 \cdot 10^7$	$6,6 \cdot 10^7 \pm 7,3 \cdot 10^6$	$2,8 \cdot 10^7 \pm 2,40 \cdot 10^7$

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

Faršo laikymo trukmė, val.	Koliforminių bakterijų skaičius, KSV/g			
	Ekstrakto koncentracija mėsoje, %			
	0,0	0,2	0,4	0,6
0	$2,0 \cdot 10^3 \pm 6,0 \cdot 10^2$			
24	$9,0 \cdot 10^4 \pm 1,9 \cdot 10^4$	$1,0 \cdot 10^5 \pm 1,7 \cdot 10^4$	$3,5 \cdot 10^4 \pm 9,0 \cdot 10^3$	$8,4 \cdot 10^4 \pm 9,2 \cdot 10^3$
48	$3,6 \cdot 10^5 \pm 0,9 \cdot 10^5$	$4,0 \cdot 10^5 \pm 2,2 \cdot 10^5$	$4,2 \cdot 10^5 \pm 8,8 \cdot 10^4$	$5,0 \cdot 10^5 \pm 3,6 \cdot 10^5$
72	$3,4 \cdot 10^5 \pm 7,2 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^5 \pm 6,3 \cdot 10^4$	$1,3 \cdot 10^5 \pm 3,4 \cdot 10^5$	$6,8 \cdot 10^4 \pm 5,1 \cdot 10^4$

8 lentelė. Gelsvės ekstrakto priedų įtaka stafilokokų skaičiaus pokyčiams jautienos–kiaulienos farše 4–6°C temperatūroje

Faršo laikymo trukmė, val.	Stafilokokų skaičius mėsoje, KSV/g			
	Ekstrakto koncentracija mėsoje, %			
	0,0	0,2	0,4	0,6
0	< 10			
72	< 10	< 10	< 10	< 10

9 lentelė. Gelsvės ekstrakto priedų įtaka salmonelių augimui jautienos–kiaulienos farše 4–6°C temperatūroje

Faršo laikymo trukmė, val.	Salmonelės, 25 g			
	Ekstrakto koncentracija mėsoje, %			
	0,0	0,2	0,4	0,6
0	neaptikta			
72	neaptikta	neaptikta	neaptikta	neaptikta

Koliforminės bakterijos augo taip pat visuose mėginiuose. Po 24 val. pastebimi didesni jų skaičiaus svyravimai, po 48 val. koliforminių bakterijų skaičius išauga apie 100 kartų ir visuose mėginiuose svyruoja nuo 300 000 iki 500 000 KSV/ml, taigi skiriasi nedaug. Po 72 val. bakterijų sumažėja visuose mėginiuose, kontroliniame variante – nežymiai, farše su 0,2% ir 0,4% ekstrakto – apie tris kartus, o farše su 0,6% ekstrakto – beveik 10 kartų. *Staphylococcus aureus* dalyje mėginių augo pavienėmis kolonijomis, salmonelės nebuvo aptiktos nei bandymo pradžioje, nei pabaigoje. Taigi gelsvės ekstrakto priedai mažai efektyvūs užtikrinant faršo saugumą laikymo metu, nes bakterijų dauginimosi nestabdo, tik sulėtina.

**Aptarimas ir išvados.** Palygintas augalų ekstraktų antimikrobinų savybių stiprumas kelių bakterijų testavimo kultūrų atžvilgiu, kai terpės pH 4,0 ir 5,5, pridėjus į terpę 2,5% ir 4,0% NaCl, bei standartinio varianto terpėje, įvertinta skirtingos temperatūros įtaka, gelsvės ekstrakto maltos mėsos mikrobiologinių rodiklių stabilizavimui galimybės.

Dašio, mairūno, peletrūno ekstraktų frakcijos buvo išbandytos difuzijos į agarą metodu terpėse su minėtomis savybėmis. *S. aureus* testavimo kultūra buvo jautri acetoniiniams ir metanoliniams ekstraktams, sumažintas vandens aktyvumas ir terpės pH sustiprina antimikrobinį poveikį. Vandeniniai ekstraktai buvo veiksmingi tik terpėse su pakeistomis savybėmis.

Didesnę sumažinto terpės pH įtaką galima paaiškinti *S. aureus* atsparumu NaCl. Stafilokokų auginimui naudojamos atrankiosios terpės su 6% NaCl, todėl ši medžiaga terpėje mairūno ir peletrūno ekstraktų poveikį sustiprina nežymiai. Dašio ekstraktų koncentracijos daugeliu atveju slopino augimą visoje lėkštelėje. Šių trijų ekstraktų poveikis *P. aeruginosa* skiriasi. Galima pastebėti, kad terpės pH, sumažintas iki 5,5, ekstraktų poveikį netgi susilpnino palyginti su standartine terpe, kurioje skaidrios zonos susidarė daugiau atvejų. 2,5% NaCl terpėje jau padidina antimikrobinį efektą, kuris dar labiau išreikštas terpėje su 4% druskos.

Lygindami ekstraktų frakcijas tarpusavyje matome, kad visų augalų metanoliniai ekstraktai buvo efektyviausi. Mažesniu antimikrobinu aktyvumu išsiskyrė acetoniiniai ekstraktai, o vandeniniai labiau slopino testavimo kultūros augimą tik terpėje su 4% NaCl ir kai jos pH 4.

*S. typhimurium* dar atsparesnė tiriamiems ekstraktams. Jos augimą mažai veikė peletrūno ekstraktai, o mažėjantis vandens aktyvumas nesustiprino mairūno metanolinio ekstrakto antimikrobinų savybių, nors tas pastebima mažėjant terpės pH. Taigi produktų sudymas gali būti mažiau paveikus kovojant su *S. typhimurium* nei su terpės pH. Acetoninis ekstraktas buvo veiksmingas, slopinimo zonos susidarė visų variantų terpėje.

Visų frakcijų dašio ekstraktų tirpalai slopino *S. typhimurium* augimą. Didesnės slopinimo zonos susidaro esant parūgštintai terpei. Terpėje su pH 4 skaidrios zonos rastos ir lėkštelėse su 1% vandeninio ekstrakto tirpalu.

*M. luteus* taip pat būdingas atsparumas druskai, todėl ekstraktų antimikrobinį poveikį labiau sustiprina terpės parūgštinimas, o ne  $a_w$  mažinimas, nors peletrūno

vandeninio ekstrakto poveikį sustiprino abu veiksniai, mat slopinimo zonų nebuvo tik standartinėje terpėje.

Gauti duomenys rodo, kad nuo individualių testavimo kultūrų savybių priklauso jų jautrumas augalų ekstraktams, o antimikrobinio poveikio stiprumą taip pat gali padidinti tiek sumažintas terpės pH, tiek ir pakeistas druskos priedais  $a_w$ .

Tiriant kultivavimo sąlygų įtaką išbandyta 37°C, 30°C ir 25°C temperatūra su kultūromis, paprastai auginamomis 37°C temperatūroje. *S. agona*, *S. epidermidis* *B. subtilis* jautrumas 37°C ir 30°C temperatūroje beveik nesiskyrė, tačiau 25°C temperatūroje slopinimo zonų vidurkis buvo apie 1,5 karto didesnis. Taigi žemesnė temperatūra antimikrobinų ekstraktų poveikį sustiprina. Temperatūros pokyčiai kultūros sporoms įtakos nedarė.

Stabilizuojant mikrobiologinius pokyčius gelsvės ekstraktas farše nebuvo pakankamai efektyvus.

1. Augalų ekstraktų antimikrobinio poveikio stiprumą gali padidinti tiek bandymo terpės pH sumažinimas, tiek ir jos  $a_w$  pakeitimas valgomosios druskos priedais. Jautrumas augalų ekstraktams šiomis sąlygomis priklauso ir nuo individualių testavimo kultūrų savybių.

2. Gelsvės ekstrakto priedai maltoje mėsoje gali suteikti gaminiams naujas skonines savybes, tačiau stabilizuojant faršo mikrobiologinius pokyčius laikymo metu gelsvės ekstraktas nebuvo pakankamai efektyvus.

Autoriai dėkingi VMS fondui, prisidėjusiam finansuojant šiuos tyrimus.

#### Literatūra

1. Baydar H., Sagdic O., Ozkan G., Karadogan T. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey, *Food Control*, 2004, 15 (3). P. 169–172.
2. Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*). *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*, 2004, 37 (2). P. 263–268.
3. Yu J. C., Zi-Tao Jiang, Rong Li, Sze Man Chan. Chemical composition of the essential oils of *Brassica juncea* (L.) Coss. Grown in different regions, Hebei, Shaanxi and Shandong of China. *Journal of Food and Drug Analysis*, 2004, 11 (1). P. 22–26.
4. Jeong-Yong Cho, Jae-Hak Moon, Jong-Bang Eun. Isolation and characterization of 3(Z)-dodecenedioic acid as an antibacterial substance from *Hovenia dulcis* Thunb. *Food Science and Biotechnology*, 2004, 13 (1). P. 46–50.
5. Prakash M., Dattatreya A., Bhat K. Sensory flavor profiling and mapping of regional varieties of coriander (*Coriandrum sativum* L.). *Journal of Sensory Studies*, 2003, 18 (5). P. 409–422.
6. Tepe B., Daferera D., Sokmen M., Polissiou M., Sokmen A. *In vitro* antimicrobial and antioxidant activities of the essential oils and various extracts of *Thymus egypticus* M. Zohary et P.H. Davis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 2004, 52 (5). P. 1132–1137.