

SKIRTINGAIS TIRPIKLIAS GAUTŲ AUGALŲ EKSTRAKTŲ ANTIMIKROBINIO POVEIKIO SKIRTUMAI

Aušra Šipailienė¹, Petras Rimantas Venskutonis¹, Antanas Šarkinas², Vitalija Čypienė²

¹*Kauno technologijos universitetas, Radvilėnų pl. 19, LT-3028 Kaunas, Lietuva;*

el. paštas: ausra.sipailiene@stud.ktu.lt

²*KTU Maisto institutas, Taikos pr. 92, LT-3031 Kaunas; el. paštas: direktorius@lmai.lt*

Santrauka. Ekstraktų acetoninės, metanolinės ir vandeninės frakcijų antimikrobinis aktyvumas įvertintas difuzijos į agarą metodu. Dalis bakterijų testavimo kultūrų buvo jautrios perilių ekstraktams ir sudarė slopinimo zonas. Didžiausiu efektyvumu išsiskyrė acetoninis ekstraktas. Metanolinis ekstraktas veikė tik dvi bakterijų testavimo kultūras, o vandeninis nė vienai testavimo kultūrai įtakos neturėjo. Perilių ekstraktai beveik neveikia mielių testavimo kultūrų, jautri šiai medžiagai buvo tik *S. cerevisiae*.

Tarp mairūnų, peletrūnų ir rozmarinų ekstraktų didžiausiu antimikrobinu aktyvumu išsiskyrė acetoninis mairūnų ekstraktas. Jam buvo jautrios visos bakterijų testavimo kultūros. Panašiai veikė ir metanolinis mairūnų ekstraktas, o vandeninis slopino tik *St. aureus* ir *M. luteus* augimą.

Lyginant peletrūnų ekstraktų efektyvumą nustatyta, kad acetoninis buvo veiksmingiausias – slopino visų bakterijų testavimo kultūrų augimą, o metanolinis ekstraktas *B. cereus* ir *E. coli* augimo neveikė. Vandeninis peletrūnų ekstraktas antimikrobinėmis savybėmis nepasizymėjo.

Minėtas bakterijų kultūras rozmarinų ekstraktai veikė mažai, tačiau maždaug vienodai slopino dvi testavimo kultūras – *St. aureus* ir *M. luteus*. Vadinasi, aktyvioji medžiaga juose ta pati.

Mairūnų, peletrūnų ir rozmarinų ekstraktai slopino ir mielių augimą, jų poveikio tendencijos panašios. Vandeniniai ekstraktai mielių augimo neslopino.

Lyginami šiuos tris augalus matome, kad mairūnų ir peletrūnų ekstraktai slopino ir mielių augimą. Veiksmingesni buvo acetoniniai ekstraktai, o rozmarinų metanolinis ir acetoninis aktyviau veikė mieles, nes slopino septynių iš naudotų aštuonių testavimo kultūrų augimą.

Lyginant pirmamečių ir trimečių raudonėlių acetoninius ekstraktus vidutiniai slopinimo zonų skersmenys buvo didesni aplink įdubas, kuriose sulašinti trimečių raudonėlių acetoniniai ekstraktai. Ta pati tendencija pastebėta tiriant metanolinius raudonėlių ekstraktus. Taigi žaliavai naudojant labiau subrendusius augalus galima gauti stipresnių antimikrobinų savybių ekstraktus. Pirmamečių ir trimečių raudonėlių acetoniniai ekstraktai buvo aktyvesni nei metanoliniai.

Raktažodžiai: antimikrobinės savybės, augalų ekstraktai.

THE ANTIMICROBIAL ACTION OF THE FRACTIONS OF METHANOL, ACETONE AND AQUEOUS EXTRACTS

Summary. The antimicrobial activity of the methanol and acetone extracts of the first and second year wild marjoram, the methanol, acetone and aqueous extracts of marjoram, rosemary, tarragon and perilla was assessed.

Undesirable in food products the yeasts and bacteria were used in the test cultures. In assessment of antimicrobial activity of the plant extracts, the following eight bacterial test cultures *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Micrococcus luteus*, *Enterobacter aerogenes*, and eight yeast species (*Debaryomyces hansenii*, *Trichosporon cutaneum*, *Kluyveromyces marxianus var. lactis*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis*, *Torulaspota delbrueckii*, *Pichia kluyveri*, *Rhodotorula rubra*) were used. The antimicrobial activity was assessed using the agar diffusion method.

The extract of wild marjoram possess antimicrobial properties and was effective against the studied cultures, however, the intensity of the effect depended in great degree on the age of the plant – the extracts prepared from the raw material of the first-year plant did not possess antimicrobial properties. The antimicrobial action of the fractions of methanol, acetone and aqueous extracts differed in their intensity and culture-related specificity. It was revealed that acetone extract of marjoram was effective inhibitor of all tested cultures. The water extracts had inhibitory effect only on *St. aureus* and *M. luteus*. The microorganisms were sensitive to the solution of acetone and methanol tarragon extracts, except for *B. cereus* and *E.coli*, which were not affected by the methanol extract.

It was concluded that the methanol extract was most effective, however, lower activity was determined for acetone extracts. Water extracts of plants showed lowest effectivity or did not possess inhibitory effect.

Keywords: antimicrobial properties, plant extracts.

Įvadas. Pastaruoju metu ekstraktai vis plačiau alkoholinių gėrimų, medicinos pramonėje, buitinių naudojami konservų gamyboje, žuvies, mėsos, pieno, chemijos ir kosmetikos gaminiuose (Jeong-Yong Choet

al., 2004; Sagdic et al., 2003; Стрелюхина. Новошонов, 2003; Karatan et al., 2000). Daugelyje literatūros šaltinių nagrinėjamos augalų ekstraktų ir eterinių aliejų baktericidinės savybės bei jų taikymo galimybės (Aegohe, 2000; Daljit, Kaur, 1999; Jeng-Lenk Mau et al., 2001; Stojanovic et al., 2000). Ekstraktų antimikrobinės savybės priklauso nuo augalo rūšies, kartu ir nuo eterinio aliejaus sudėties bei komponentų struktūros, kurios gali keistis priklausomai nuo kultivavimo regiono, klimato ir saugojimo sąlygų. Palyginus aštuoniuose regionuose užaugintas kalendras nustatyta, kad aromatinė komponentų gausa 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 et al., 2004). Stiprių antimikrobinė aktyvumu pasižymi tokie prieskoninių augalų eterinių aliejų ir ekstraktų komponentai kaip linalolis, alfaterpineolis, limonenas, eugenolis, p-cimenas, cis-beta-cimenas, alfafelandrenas, alfa-pinenas (Heath Henry, 1981). Mairūnų eterinio aliejaus tyrimai parodė, jog jis antimikrobiškai veikia maiste nepageidaujamas bakterijas *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* ir kt. (Teranishi, 1989).

Saldžiųjų hovenijų (*Hovenia dulcis*) ekstrakto aktyvioji medžiaga identifikuota kaip 3 (Z)-dodecenedioico rūgštis, kurios 500 µg slopina testavimo kultūrų *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* augimą. (Jeong-Yong Choet al., 2004). Čiobrelė eterinio aliejaus antimikrobinės savybės tirtos difuzijos į agarą metodu naudojant popierinius diskus. Šis eterinis aliejus veikė *Bacillus amyloliquefaciens* augimą. Tyrimams naudoto čiobrelė eterinio aliejaus pagrindinis komponentas ir aktyvioji dalis, atskiruose augaluose svyruojanti nuo 26,1% iki 86,9%, yra karvakrolis. Eterinį aliejų siūloma naudoti kaip natūralius konservantus (Baydar et al., 2004). *Thymus eigi* eteriniame aliejuje, pasižyminčiame stiprių antimikrobinė poveikiu, identifikuoti 39 komponentai sudaro 93,7% viso jo kiekio, tarp jų timolis (30,6%), karvakrolis (26,1%), p-cimenas (13,0%) (Tepe et al., 2004).

Labai svarbu įvertinti maisto užterštumą sporomis. Parenkant metodiką sporų inaktyvavimo tyrimui, jų suspensijos pirmiausia kaitinamos 70°C temperatūroje 15 min. Toliau, laikant skirtingos temperatūros sąlygomis terpėje su antimikrobinėmis medžiagomis, kas tris valandas nustatomas likusių gyvų sporų skaičius, 24 val. auginant pasėlius 30°C temperatūroje. Palyginti su senesnėmis jaunos sporos žūna greičiau (Collado et al., 2003). Įrodytas ir kedro, eukalipto bei ramunėlių eterinių aliejų slopinamasis poveikis *B. cereus* ir *Clostridium botulinum* sporų daigumui ir vegetatyviam augimui (Marino et al., 1999).

Įvertinus kelių tipų svogūnų ir česnakų eterinio aliejaus ekstraktus, nustatytas poveikio skirtumas, tačiau visi jie veikė bakterijas ir mikromicetus, todėl gali būti naudojami kaip maisto konservantai. Jų naudojimą gali riboti tik stiprus jiems būdingas kvapas (Benkeblia, 2004; Raikumar, Berwal, 2003).

Darbo tikslas – įvertinti pirmamečių ir trimečių raudonėlių acetonių ir metanolinių ekstraktų bei perilių,

mairūnų, peletrūnų, rozmarinų acetonių, metanolinių ir vandeninių ekstraktų antimikrobinio poveikio skirtumus.

Tyrimų objektai ir metodai. Augalų ekstraktų ir eterinių aliejų antibakteriniam aktyvumui įvertinti naudotos maisto produktuose nepageidautinos, tarp jų ir patogeninių bakterijų kultūros. Pasirinktos aštuonios testavimo kultūros – *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Bacillus cereus* (ATCC 10876), *Micrococcus luteus*, *Enterobacter aerogenes* ir aštuonios mielių rūšys – *Debaryomyces hansenii*, *Trichosporon cutaneum*, *Kluyveromyces marxianus var. lactis*, *Sacharomyces cerevisiae*, *Candida parapsilosis*, *Torulaspora delbrueckii*, *Pichia kluyveri*, *Rhodotorula rubra*, išskirtos pieno perdirbimo įmonėse.

Vertintas pirmamečių ir trimečių raudonėlių metanolinio ir acetonių ekstraktų, rozmarinų, mairūnų, peletrūnų, perilių acetonių, metanolinių ir vandeninių ekstraktų antimikrobinis aktyvumas.

Augalų metanoliniai ir acetonių ekstraktai paruošti automatinio ekstraktoriu (Kret control – *visé* Kika Werke, Stanfen, Vokietija). Ekstrakcijai paimta 10g malto augalo ir ekstrahuota pasirinktu tirpikliu (150 ml acetonu arba 120 metanolio). Ekstraktoriaus maišyklės greitis – 200 aps./min. Procesas vyko trimis ciklais. Kiekvienas ciklas turėjo 3 etapus: tirpiklio temperatūros kėlimas iki virimo (acetoniui temperatūra keliama iki 70°C, o metanolui – iki 90°C); 40 min. ekstrakcija; vėsinimas iki 40°C. Gauti ekstraktai koncentruoti vakuuminiam rotaciniame garintuve („Rotovator R-114“, BÜCHI, Šveicarija). Ekstraktai iki sausumo baigti džiovinti azoto srove.

Vandeninių augalų ekstraktų paruošimas: 10 g tiriamo sauso augalo žaliavos užpilama 150 ml verdančio (100°C) vandens ir ekstrahuojama purtyklėje („Mylab – Platform Shaker Universal PSU 20“, BioSan) 2 valandas. Gautas mišinys filtruojamas Biuchnerio piltuvu. Nuo ekstrakto atskirta žolė vėl užpilama 100 ml verdančio (100°C) vandens ir ekstrahuojama dar 2 valandas. Gautas mišinys vėl nufiltruojamas Biuchnerio piltuvu. Surinktas ekstraktas iki sausumo koncentruojamas liofilizatoriuje (MAXI dry Iyo, Jonan Nordic, Danija, šaldytuvus Heto dry WINNER CT/DW, Danija, vakuuminė pompa RZ 2, GMBH+CO, Vokietija).

Antibakterinį aktyvumą vertinant difuzijos į agarą metodu bakterijų kultūros 18 val. augintos 37°C ant nuožulnaus agaro. Nuplauta bakterijų suspensija praskiesta pagal Mc Farland standartą Nr. 0,5, gerai sumaišyta mažąja purtykle ir atitinkamas ląstelių skaičius įpiltas į ištirpintą ir iki 47°C temperatūros atvėsintą agarizuotą terpę bendram bakterijų skaičiui nustatyti. Dar kartą gerai sumaišyta, kol ląstelės pasiskirstė tolygiai. Taip paruošta bakterijų ląstelių ir terpės mišinio suspensija išpilstyta po 10 ml į 90 mm skersmens stiklines Petri lėkšteles. Terpei sustingus padarytos 6 įdubos (8 mm skersmens), į kurias įpilta po 50 µl 50%, 10% ir 1% etanolinių ekstraktų tirpalų. Buvo vertintas ir naudotų tirpiklių (acetono, metanolio bei etanolio) antimikrobinis aktyvumas.

Mielių kultūros vieną parą augintos 25°C temperatūroje ant nuožulnaus bulvių ir gliukozės agarų (LAB 98, LAB M). Po 1 paros užaugusios mielių kultūros nuo agarų nuplautos steriliu fiziologiniu tirpalu, ir pagal Mc Farland standartą Nr. 1 paruošta ląstelių suspensija supilta į ištirpintą ir atvėsintą bulvių ir gliukozės (LAB 98, LAB M) agarizuotą terpę, gerai sumaišyta. Taip paruošta bakterijų ir mielių ląstelių bei terpės suspensija išpilstyta po 10 ml į 90 mm skersmens Petri lėkšteles. Terpei sustingus padarytos 6 įdubos (8 mm skersmens), į kurias įpilti tiriamieji tirpalai.

Antimikrobinis poveikis bakterijų kultūroms įvertintas po 24 val., o mielių kultūroms – po 24–48 val. kultivavimo pagal skaidrių zonų, susidariusių aplink įdubas, skersmenį, išreikštą centimetrais. Jei aplink įdubas nesusidarė skaidrios zonos, daryta išvada, kad tirta medžiaga ar koncentracija baktericidinio poveikio tiriamai kultūrai nedaro.

Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas. Skirtingais tirpikliais gauti perilių ekstraktai išbandyti su bakterijomis

(1 lentelė) ir mielėmis (2 lentelė) difuzijos į agarą metodu. Naudoti tirpikliai testavimo kultūrų augimui įtakos neturėjo ir skaidrių zonų nesudarė. Dalis bakterijų testavimo kultūrų buvo jautrios ir sudarė slopinimo zonas, tačiau *E. coli*, *E. aerogenes*, *P. aeruginosa* ir *S. typhimurium* į perilių ekstraktus nereagavo ir skaidrių zonų nesudarė. Tik 10% acetoninio ekstrakto tirpalas slopino *S. typhimurium* augimą ir sudarė 1,1 cm skersmens zoną. Jautrios kultūros skirtingai reagavo į atskirus perilių ekstraktus. Didžiausiu efektyvumu išsiskyrė acetoninis ekstraktas. Beveik visas kultūras veikė 0,5–10% ekstrakto tirpalai, tik *M. luteus* augimo neslopino 0,5% tirpalas, o minėtą *S. typhimurium* veikė tik 10% tirpalas. Tarp jautrių kultūrų didžiausias slopinimo zonas ekstraktas sudarė lėkštelėse su *L. monocytogenes* kultūra – jos svyravo nuo 2,73 iki 2,38 cm, kitų testavimo kultūrų slopinimo zonos siekė 1,10–1,45 cm. Taigi *B. cereus*, *St. aureus* ir *M. luteus* buvo pastebimai mažiau jautrios.

1 lentelė. Perilių ekstraktų frakcijų antimikrobinis poveikis bakterijų testavimo kultūroms

Perilių ekstraktai	Koncentracija, %	Slopinimo zonų dydis, cm							
		<i>B. cereus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>St. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aeruginosa</i>
Metanolinis	10	4,00±0,00	0,00	0,00	1,70±0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	1,95±0,21	0,00	0,00	1,38±0,11	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	1,10±0,00	0,00	0,00	1,50±0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	0,5	2,40±0,14	0,00	0,00	0,95±0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
Acetoninis	10	1,38±0,04	2,73±0,18	0,00	1,15±0,07	1,35±0,07	1,10±0,00	0,00	0,00
	5	1,45±0,07	2,60±0,00	0,00	1,25±0,07	1,20±0,00	0,00	0,00	0,00
	1	1,25±0,07	2,50±0,14	0,00	0,95±0,07	1,00±0,00	0,00	0,00	0,00
	0,5	1,10±0,00	2,38±0,04	0,00	0,80±0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Vandeninis	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

2 lentelė. Perilių ekstraktų frakcijų antimikrobinis poveikis mielių testavimo kultūroms

Perilių ekstraktai	Koncentracija, %	Slopinimo zonų dydis, cm							
		<i>D. hansenii</i>	<i>T. cutaneum</i>	<i>K. marxianus var. lactis</i>	<i>T. delbrueckii</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>P. kluyveri</i>	<i>R. rubra</i>
Metanolinis	10	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00±0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Acetoninis	10	0,00	0,00	0,00	0,00	1,35±0,07	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	1,25±0,07	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	1,20±0,00	0,00	0,00	0,00
	0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Vandeninis	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	0,5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Metanolinis perilių ekstraktas veikė tik dvi testavimo kultūras – *B. cereus* ir *St. aureus*, tačiau skaidrios zonos lėkštelėse buvo gana didelės ir siekė 2,4–4,0 cm. Veiksmingi buvo visų keturių koncentracijų metanolinio perilių ekstrakto tirpalai.

Vandeninis perilių ekstraktas antimikrobinio aktyvumu nepasizymėjo ir slopinimo zonų nesudarė nė vienoje testavimo kultūroje – net 10% koncentracijos tirpalas bakterijų augimo neslopino. Perilių ekstraktai beveik neveikė mielių testavimo kultūrų, jautri šiai medžiagai buvo tik *S. cerevisiae*. Efektyviausias buvo acetoninis ekstraktas, kurio 10%, 5% ir 1% tirpalai sudarė

skaidrias zonas. Neslopino tik 0,5% koncentracijos tirpalas, o metanolinio ekstrakto veiksminga buvo tik 10% tirpalo koncentracija.

Apibendrinant galima teigti, kad mielės buvo labiau atsparios perilių ekstraktams nei bakterijų testavimo kultūros, tačiau perilių ekstraktai slopino tik dalies jų augimą.

Lyginant perilių skirtingų ekstraktų efektyvumą nustatyta, kad daugiau testavimo kultūrų slopino acetoninis ekstraktas, metanolinis ekstraktas veikė tik dvi, o vandeninis ekstraktas antimikrobinio savybių neturėjo.

3 lentelė. Ekstraktų frakcijų antimikrobinis poveikis bakterijų testavimo kultūroms

Augalų ekstraktas	Tirpalo koncentracija, %	Slopinimo zonos skersmuo, cm							
		<i>B. cereus</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>E. coli</i>	<i>St. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>L. monocytogenes</i>
Mairūnų metanolinis	10	2,15±0,07	1,15±0,07	1,25±0,07	2,35±0,07	2,25±0,07	1,20±0,00	1,80±0,19	1,25±0,07
	5	1,70±0,14	0,00	0,85±0,07	2,10±0,14	1,35±0,07	0,80±0,00	1,20±0,00	0,80±0,00
	1	1,40±0,14	0,00	0,00	1,25±0,07	1,15±0,07	0,00	1,10±0,00	0,00
Mairūnų vandeninis	10	0,00	0,00	0,00	2,15±0,07	2,60±0,14	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	1,95±0,07	2,40±0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	1,20±0,00	1,75±0,07	0,00	0,00	0,00
Mairūnų acetoninis	10	2,45±0,21	1,20±0,14	1,35±0,07	2,55±0,07	4,00±0,00	1,35±0,07	1,40±0,14	1,10±0,00
	5	2,00±0,00	0,95±0,07	1,25±0,07	2,50±0,00	4,00±0,00	0,85±0,07	1,05±0,07	0,83±0,04
	1	0,00	0,83±0,04	0,93±0,04	2,25±0,07	4,00±0,00	0,00	0,93±0,04	0,00
Peletrūnų acetoninis	10	2,25±0,07	1,20±0,00	1,30±0,00	2,00±0,14	2,55±0,21	1,55±0,07	1,35±0,07	1,35±0,07
	5	1,70±0,14	0,88±0,04	1,15±0,07	1,90±0,14	2,10±0,14	0,85±0,00	1,20±0,00	1,05±0,07
	1	0,00	0,00	0,85±0,07	1,65±0,07	1,40±0,14	0,00	1,05±0,07	0,93±0,04
Peletrūnų metanolinis	10	0,00	1,20±0,00	0,00	1,45±0,07	1,50±0,00	1,35±0,07	1,00±0,00	1,10±0,00
	5	0,00	0,00	0,00	1,35±0,07	1,25±0,07	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	1,15±0,07	0,00	0,00	0,00	0,00
Peletrūnų vandeninis ekstraktas	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rozmarinų acetoninis	10	1,25±0,07	0,00	0,00	2,25±0,07	2,65±0,21	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	2,25±0,07	2,30±0,14	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	2,20±0,00	1,90±0,14	0,00	0,00	0,00
Rozmarinų metanolinis	10	0,00	0,00	0,00	3,10±0,14	2,85±0,21	0,00	1,15±0,07	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	2,50±0,14	2,50±0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	2,30±0,14	2,25±0,07	0,00	0,00	0,00
Rozmarinų vandeninis	10	0,00	0,00	0,00	2,30±0,28	1,35±0,07	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	1,90±0,14	1,15±0,07	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	1,25±0,21	0,00	0,00	0,00	0,00

Analogiškai buvo įvertinti mairūnų, peletrūnų ir rozmarinų ekstraktai (3 lentelė). Didžiausiu antimikrobinio aktyvumu išsiskyrė acetoninis mairūnų ekstraktas. Jam buvo jautrios visos testavimo kultūros, slopinimo zonos sudarė visų koncentracijų tirpalai, tik *B. cereus*, *S. typhimurium* ir *L. monocytogenes* augimo neslopino 1% ekstrakto tirpalas. Panašiu poveikiu pasižymėjo ir metanolinis mairūnų ekstraktas, tik daugelio kultūrų slopinimo zonos buvo mažesnės. Tačiau ir šis ekstraktas veikė visas testavimo kultūras, o lėkštelėse su *P. aeruginosa* sudarė didesnes slopinimo zonas nei acetoninis ekstraktas. Vandeninis mairūnų

ekstraktas buvo mažiau veiksmingas ir slopino tik *St. aureus* ir *M. luteus* augimą, tačiau slopinimo zonos siekė 2,15–2,60 cm.

Lyginant peletrūnų skirtingų ekstraktų efektyvumą nustatyta, kad acetoninis ekstraktas taip pat buvo veiksmingiausias – slopino visų testavimo kultūrų augimą. Skaidrių zonų skersmuo siekė iki 2,55 cm. Metanolinis peletrūnų ekstraktas veikė ne visas testavimo kultūras, neslopino *B. cereus* ir *E. coli* augimo. Tik 10% koncentracijos ekstrakto tirpalui buvo jautrios *E. aerogenes*, *S. typhimurium*, *P. aeruginosa* ir *L. monocytogenes*. Didesniu jautrumu pasižymėjo *St. aureus*

ir *M. luteus*, tačiau vandeninis peletrūnų ekstraktas neslopino net ir šių kultūrų augimo, neturėjo antimikrobinų savybių ir nesudarė slopinimo zonų.

Dar mažiau veiksmingi buvo rozmarinų ekstraktai. Visų koncentracijų rozmarinų acetoninio ekstrakto tirpalai veikė tik *St. aureus* ir *M. luteus*, o *B. cereus* augimą slopino tik 10% tirpalas. *St. aureus* ir *M. luteus* kultūrų augimą stabdė ir rozmarinų metanolinis ekstraktas, tačiau jis neveikė *B. cereus* augimo, nors antimikrobiškai veikė *P. aeruginosa* kultūrą (10% tirpalas). Vandeninis rozmarinų ekstraktas vėlgi veikė tik *St. aureus* ir *M. luteus*. Taigi visi trys rozmarinų ekstraktai pasižymėjo panašiomis savybėmis – beveik vienodai veiksmingai slopino dvi testavimo kultūras – *St. aureus* ir *M. luteus*. Vadinas, aktyvioji medžiaga juose ta pati. Mairūnų

metanolinis ir acetoninis ekstraktai buvo aktyvesni už vandeninį, o peletrūnų vandeninis ekstraktas antimikrobinų savybių neturėjo.

Šie ekstraktai slopino ir mielių augimą, be to, jų poveikio tendencijos panašios. Mairūnų acetoninis ekstraktas slopino septynių testavimo kultūrų augimą, atspari buvo tik *D. hansenii* (4 lentelė), bet slopinimo zonų skersmuo visais atvejais buvo nedidelis ir neviršijo 1,10–1,50 cm. Metanoliniam ekstraktui jau buvo atsparios trys kultūros – *D. hansenii*, *T. delbrueckii* ir *R. rubra*, likusių kultūrų slopinimo zonos taip pat buvo nedidelės. Daugeliu atveju jos susidarė tik aplink įdubas su 10% ekstrakto tirpalu. Panašiu jautrumu abiem ekstraktams pasižymėjo *S. cerevisiae* ir *C. parapsilosis*.

4 lentelė. Ekstraktų fraksių antimikrobinis poveikis mielių testavimo kultūroms

Augalų ekstraktas	Koncentracija, %	Slopinimo zonų dydis, cm							
		<i>D. hansenii</i>	<i>T. cutaneum</i>	<i>K. marxianus var. lactis</i>	<i>T. delbrueckii</i>	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. parapsilosis</i>	<i>P. kluyveri</i>	<i>R. rubra</i>
Mairūnų metanolinis	10	0,00	1,20±0,00	1,00±0,00	0,00	1,15±0,14	0,90±0,00	0,80±0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,80±0,00	0,00	0,93±0,04	0,80±0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,90±0,00	0,80±0,00	0,00	0,00
Mairūnų vandeninis	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Mairūnų acetoninis	10	0,00	1,00±0,00	1,10±0,00	1,10±0,00	1,50±0,14	1,00±0,14	0,80±0,00	1,00±0,00
	5	0,00	0,95±0,07	0,88±0,04	0,00	1,15±0,07	0,80±0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,80±0,00	0,83±0,04	0,00	0,98±0,04	0,00	0,00	0,00
Peletrūnų acetoninis	10	1,35±0,07	1,40±0,00	1,28±0,18	0,90±0,00	2,45±0,07	1,10±0,00	1,50±0,14	2,70±0,00
	5	0,95±0,07	1,23±0,04	1,10±0,00	0,00	1,60±0,14	0,98±0,04	1,10±0,14	1,40±0,00
	1	0,00	0,90±0,00	1,03±0,04	0,00	1,00±0,00	0,83±0,04	0,90±0,00	1,20±0,00
Peletrūnų metanolinis	10	0,00	0,98±0,04	1,00±0,14	0,90±0,00	1,05±0,07	0,90±0,00	0,88±0,04	1,10±0,00
	5	0,00	0,85±0,07	0,90±0,00	0,00	0,90±0,00	0,00	0,00	1,00±0,00
	1	0,00	0,00	0,80±0,00	0,00	0,85±0,07	0,00	0,00	0,00
Peletrūnų vandeninis	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Rozmarinų acetoninis	10	4,00±0,00	1,05±0,07	1,05±0,07	0,95±0,07	1,60±0,11	0,88±0,04	0,93±0,04	0,00
	5	4,00±0,00	0,93±0,004	1,00±0,00	0,00	1,35±0,07	0,00	0,00	0,00
	1	4,00±0,00	0,00	0,88±0,04	0,00	1,08±0,11	0,00	0,00	0,00
Rozmarinų metanolinis	10	1,25±0,07	1,25±0,07	1,30±0,14	0,83±0,04	1,80±0,14	0,93±0,04	0,80±0,00	0,00
	5	1,00±0,00	0,90±0,00	1,13±0,04	0,00	1,30±0,14	0,83±0,04	0,00	0,00
	1	0,00	0,83±0,04	1,00±0,00	0,00	1,10±0,00	0,00	0,00	0,00
Rozmarinų vandeninis	10	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	5	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
	1	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00

Vandeninis mairūnų ekstraktas mielių augimo neslopino. Šia savybe nepasižymėjo ir peletrūnų vandeninis ekstraktas, nors acetoninis slopino visų tirtų mielių augimą, o skaidrių zonų skersmuo buvo didesnis ir siekė net 2,45–2,70 cm. Metanolinio peletrūnų ekstrakto slopinamasis poveikis buvo mažesnis – *D. hansenii* jam buvo atspari, tačiau palyginti su poveikiu bakterijoms metanolinis peletrūnų ekstraktas daugiau slopino mielių

kultūrų. Panašios tendencijos pastebėtos ir rozmarinų ekstraktų, kurie slopino tik dviejų bakterijų kultūrų augimą, tačiau lėkštelėse su mielėmis antimikrobinis poveikis pasireiškė septynioms kultūroms, atspari buvo tik *R. rubra*.

Acetoninio ir metanolinio ekstrakto aktyvumas skyrėsi atskirų kultūrų atžvilgiu ir sunku apibendrintai teigti, kuris iš jų daugiau veikė mieles. Vandeniniame rozmarinų

ekstrakte esančios medžiagos mielių testavimo kultūrų augimo neslopino.

Lygindami šiuos tris augalus matome, kad mairūnų ir peletrūnų ekstraktai slopino ir bakterijų, ir mielių augimą, tačiau veiksmingesni buvo acetoniniai ekstraktai. Rozmarinų metanolinis ir acetoninis ekstraktai daugiau veikė mieles. Šie ekstraktai slopino septynias iš naudotų aštuonių mielių testavimo kultūras, ir dviejų iš aštuonių bakterijų testavimo kultūrų augimą.

Vertinant raudonėlių antimikrobines savybes skystoje

terpėje pastebėta vegetacijos periodo įtaka jų skirtumui (5 lentelė). Pirmamečių ir trimečių augalų acetoniniai bei metanoliniai ekstraktai ištirti ir difuzijos į agarą metodu. Visi ekstraktų variantai slopino visas testavimo kultūras ir sudarė slopinimo zonas, nors kultūrų jautrumas ir skyrėsi. *P. aeruginosa* visais atvejais pasižymėjo didesniu atsparumu ir sudarė nedidelio skersmens skaidrias zonas. Mažiau jautrios buvo *E. coli*, *St. aureus* ir *E. aerogenes* kultūros.

5 lentelė. Raudonėlių ekstrakto antimikrobinio aktyvumo priklausomybė nuo augalo brandos ir ekstrakcijai naudojamą tirpiklio

Augalų ekstraktas	Koncentracija, %	Slopinimo zonų dydis, cm							
		<i>B. cereus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>St. aureus</i>	<i>M. luteus</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>E. coli</i>	<i>P. aerogenes</i>
Raudonėlio pirmamečio acetoninis	10	4,00±0,00	4,00±0,00	2,75±0,07	2,70±0,14	4,00±0,00	4,00±0,00	2,00±0,00	1,00±0,00
	5	4,00±0,00	4,00±0,00	2,55±0,07	1,88±0,04	4,00±0,00	4,00±0,00	1,85±0,07	0,85±0,07
	1	4,00±0,00	4,00±0,00	1,35±0,00	1,65±0,07	4,00±0,00	4,00±0,00	1,70±0,00	0,80±0,00
	0,5	4,00±0,00	1,30±0,00	1,20±0,00	1,50±0,00	1,30±0,00	1,25±0,00	1,20±0,00	0,00
Raudonėlio pirmamečio metanolinis	10	4,00±0,00	4,00±0,00	1,75±0,07	3,80±0,00	4,00±0,00	1,88±0,04	2,50±0,14	1,20±0,00
	5	4,00±0,00	4,00±0,00	1,35±0,00	2,00±0,00	1,85±0,00	1,45±0,07	1,50±0,00	1,10±0,00
	1	1,65±0,21	1,15±0,07	1,10±0,00	1,88±0,04	1,00±0,00	1,08±0,04	1,15±0,07	1,00±0,00
	0,5	1,85±0,07	0,00	0,95±0,00	0,80±0,00	0,00	1,05±0,07	0,85±0,07	0,80±0,00
Raudonėlio trimečio metanolinis	10	4,00±0,00	4,00±0,00	2,90±0,14	2,50±0,14	4,00±0,00	2,95±0,07	2,70±0,14	1,30±0,00
	5	3,85±0,07	1,85±0,14	1,38±0,04	2,30±0,14	4,00±0,00	1,33±0,04	1,88±0,04	1,00±0,00
	1	2,25±0,21	1,35±0,07	1,25±0,07	1,30±0,07	3,40±0,00	1,10±0,00	1,10±0,00	0,80±0,00
	0,5	1,45±0,07	0,80±0,00	1,00±0,00	0,00	1,70±0,00	1,00±0,00	1,00±0,00	0,00
Raudonėlio trimečio acetoninis	5	4,00±0,00	4,00±0,00	2,10±0,14	2,90±0,14	4,00±0,00	4,00±0,00	2,30±0,14	1,45±0,07
	1	4,00±0,00	4,00±0,00	1,65±0,35	2,00±0,00	4,00±0,00	1,95±0,07	1,65±0,07	1,18±0,04
	0,5	4,00±0,00	1,65±0,07	1,23±0,11	1,45±0,00	1,55±0,21	1,68±0,04	1,30±0,00	0,90±0,00

6 lentelė. Terpės sudėties įtaka ekstraktų antimikrobiniam poveikiui

Ekstraktas		Slopinimo zonų plotis, mm			
Augalas	Koncentracija, %	<i>E. coli</i>		<i>Trichosporon cutaneum</i>	
		Terpė be priedų	Terpė su 1,5% NaCl	Terpė be priedų	Terpė su 1,5% NaCl
Peletrūnai, acetoninis	10	13,00 ± 0,00	13,33 ± 0,47	14,00 ± 0,00	14,00 ± 0,00
	5	11,66 ± 0,47	10,33 ± 0,47	12,16 ± 0,23	12,33 ± 0,47
	1	8,66 ± 0,23	9,33 ± 0,23	9,00 ± 0,00	9,33 ± 0,23
Peletrūnai, metanolinis	10	0	11,00 ± 0,00	9,83 ± 0,23	10,66 ± 0,47
	5	0	0	8,66 ± 0,47	9,00 ± 0,00
	1	0	0	0	8,66 ± 0,23
Peletrūnai, vandeninis	10	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
	1	0	0	0	0
Rozmarinai, acetoninis	10	0	0	10,66 ± 0,47	9,16 ± 0,23
	5	0	0	9,16 ± 0,23	8,00 ± 0,00
	1	0	0	0	0
Rozmarinai, metanolinis	10	0	0	12,66 ± 0,47	12,00 ± 0,00
	5	0	0	9,00 ± 0,00	9,83 ± 0,23
	1	0	0	8,00 ± 0,00	8,66 ± 0,23
Rozmarinai, vandeninis	10	0	0	0	0
	5	0	0	0	0
	1	0	0	0	0

Lyginant pirmamečių ir trimečių augalų acetoninius ekstraktus vidutiniai slopinimo zonų skersmenys buvo didesni aplink įdubas, kuriose įlašinti trimečių raudonėlių acetoliniai ekstraktai. Ta pati tendencija pastebėta tiriant metanolinius raudonėlių ekstraktus. Taigi ekstraktų žaliavai naudojant labiau subrendusius augalus galima gauti stipresnių antimikrobinių savybių ekstraktus. Nors abu ekstraktai turi panašaus stiprumo antimikrobinių savybių, acetoliniai ekstraktai ir pirmamečių, ir trimečių raudonėlių buvo aktyvesni.

Testavimo kultūros nevienodai jautrios vandens aktyvumo pokyčiams. Ši rodiklį terpėje pabandėme sumažinti valgomosios druskos priedais. Peletrūnų, rozmarinų ekstraktai yra skirtingų antimikrobinių savybių. Peletrūnų acetoninis ekstraktas efektyviai slopino abiejų testavimo kultūrų augimą, tačiau slopinimo zonų skersmuo įprastoje terpėje ir terpėje su druskos priedais nesiskyrė. Taigi jos priedas nepakeitė terpės a_w tiek, kad veiktų kultūrų jautrumą (6 lentelė). Tik didžiausios koncentracijos peletrūnų metanolinio ekstrakto tirpalas slopino *E. coli* augimą terpėje su druska. Šiuo atveju druska darė įtaką. *Trichosporon cutaneum* augimą veikia ir mažesnių koncentracijų tirpalai, tačiau 1% ekstrakto tirpalas veiksmingas vėlgi tik terpėje su druska. Vandeningas peletrūnų ekstraktas neturėjo antimikrobinio poveikio net ir terpėje su sumažintu a_w . Rozmarinų acetoninis ir metanolinis ekstraktai slopino tik mielių augimą, 1,5% NaCl priedas tikriausiai nedaug pakeitė terpės a_w , ir tai neturėjo aiškios įtakos ekstrakto antimikrobiniams savybėms: slopinimo zonų skersmuo nesiskyrė.

Tyrimų apibendrinimas ir išvados. Dalis bakterijų testavimo kultūrų buvo jautrios perilių ekstraktams ir sudarė slopinimo zonas. Jautrios kultūros skirtingai reagavo į atskirus ekstraktus. Paveikiausias buvo acetoninis ekstraktas, beveik visas kultūras veikė 0,5–10 % ekstrakto tirpalai. Metanolinis ekstraktas veikė tik dvi testavimo kultūras – *B. cereus* ir *St. aureus*, tačiau skaidrios zonos lėkštelėse buvo gana didelės ir siekė 2,4–4,0 cm; veiksmingi buvo visų keturių ekstrakto koncentracijų tirpalai. Vandeningas perilių ekstraktas antimikrobiniu aktyvumu neišsiskyrė. Lyginant atskirų ekstraktų efektyvumą nustatyta, kad daugiau testavimo kultūrų slopino acetoninis ekstraktas, metanolinis ekstraktas veikė tik dvi, o vandeningas antimikrobinių savybių neturėjo.

Perilių ekstraktai beveik neveikė mielių testavimo kultūrų. Jautri šiai medžiagai buvo tik *S. cerevisiae*.

Analogiškai įvertinti ir mairūnų, peletrūnų bei rozmarinų ekstraktai. Didžiausiu antimikrobiniu aktyvumu išsiskyrė acetoninis mairūnų ekstraktas – jam buvo jautrios visos testavimo kultūros. Panašiu poveikiu pasižymėjo ir metanolinis ekstraktas, tik slopinimo zonos daugelio kultūrų buvo mažesnės, tačiau ir šis ekstraktas veikė visas testavimo kultūras. Vandeningas ekstraktas buvo mažiau veiksmingas ir slopino tik *St. aureus* bei *M. luteus* augimą.

Lyginant peletrūnų ekstraktų efektyvumą nustatyta, kad acetoninis ekstraktas taip pat buvo veiksmingiausias – slopino visų testavimo kultūrų augimą. Metanolinis

ekstraktas veikė ne visas testavimo kultūras, vandeningas peletrūnų ekstraktas kultūrų augimo neslopino. Dar mažiau veiksmingi buvo rozmarinų ekstraktai, visi trys maždaug vienodai efektyviai slopino dvi testavimo kultūras – *St. aureus* ir *M. luteus*. Vadinasi, aktyvioji medžiaga juose ta pati. Mairūnų ir metanolinis, ir acetoninis ekstraktai buvo aktyvesni už vandeningą, o peletrūnų vandeningas ekstraktas antimikrobinių savybių neturėjo.

Šie ekstraktai slopino ir mielių augimą, jų poveikio tendencijos panašios. Vandeningas mairūnų ekstraktas mielių augimo neslopino. Šia savybe nepasižymėjo ir peletrūnų vandeningas ekstraktas. Lėkštelėse su mielėmis rozmarinų ekstraktai antimikrobiškai veikė septynias kultūras, atspari buvo tik *R. rubra*.

Acetoninis ir metanolinis ekstraktas skirtingai veikė atskiras kultūras ir sunku apibendrinti, kuris iš jų efektyviau veikė mieles. Vandeningame rozmarinų ekstrakto esančios medžiagos mielių testavimo kultūrų augimo neslopino.

Lygindami šiuos tris augalus matome, kad mairūnų ir peletrūnų ekstraktai slopino ir bakterijų, ir mielių augimą. Veiksmingesni buvo acetoliniai ekstraktai, o rozmarinų metanolinis ir acetoninis ekstraktai efektyviau veikė mieles, nes slopino septynių iš naudotų aštuonių testavimo kultūrų augimą.

Lyginant pirmamečių ir trimečių raudonėlių augalų ekstraktus vidutiniai slopinimo zonų skersmenys buvo didesni aplink įdubas, kuriose įlašinti trimečių raudonėlių ekstraktai. Taigi ekstraktų žaliavai naudojant labiau subrendusius augalus galima gauti stipresnių antimikrobinių savybių ekstraktus.

Išvados.

1. Lyginant skirtingais tirpikliais ekstrahuotų ekstraktų efektyvumą nustatyta, kad acetoninis ekstraktas slopino daugiausia testavimo kultūrų, metanolinis ekstraktas – tik dvi, o vandeningas ekstraktas antimikrobinių savybių neturėjo.

2. Metanolinis ir acetoninis mairūnų ekstraktai buvo aktyvesni už vandeningą, o peletrūnų vandeningas ekstraktas antimikrobinių savybių neturėjo visai. Rozmarinų ekstraktai maždaug vienodai efektyviai slopino dvi testavimo kultūras.

3. Ekstraktai slopino ir mielių augimą, frakcijų poveikio tendencijos panašios. Nei mairūnų, nei peletrūnų vandeningas ekstraktas mielių augimo neslopino. Lėkštelėse su mielėmis rozmarinų ekstraktai antimikrobiškai veikė septynias kultūras. Atspari buvo tik *R. rubra*.

4. Acetoninio ir metanolinio ekstraktų aktyvumas skyrėsi atskirų kultūrų atžvilgiu, tačiau sunku išskirti paveikiausius mielėms. Vandeningame rozmarinų ekstrakto esančios medžiagos mielių testavimo kultūrų augimo neslopino.

Padėka. Autoriai dėkingi VMS fondui, prisidėjusiam finansuojant tyrimus.

Literatūra

1. Aegohe G. O., Iwahashi H., Komatsu Y., Obuchi K. O., Iwahashi

Y. Inhibition of foods spoilage yeasts and aflatoxigenic moulds by monoterpenes of the spice // *Aframomum danielli*. Flavour and Fragrance Journal. 2000. Vol. 15. P. 147–150.

2. 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. Vol. 15, No. 3. P. 169–172.

3. Benkeblia N. Antimicrobial activity of essential oil extracts of various onions (*Allium cepa*) and garlic (*Allium sativum*) // *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 2004. Vol. 37, No. 2. P. 263–268.

4. Collado J., Fernandez A., Rodrigo M., Camats J. Kinetics of deactivation of *Bacillus cereus* spores // *Food Microbiology*. 2003. Vol. 20, No. 5. P. 545–548.

5. Daljit S., Kaur J. Antimicrobial activity of spices // *International Journal of Antimicrobial Agents*. 1999. Vol. 12. P. 257–262.

6. Heath Henry B. *Source Book of Flavours*. Westport. Connecticut, USA, 1981, 549 P.

7. 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. Vol. 11, No. 1. P. 22–26.

8. Jeng-Lenk Mau, Chiu-Ping Chen, Pao-Chuan Hsieh. Antimicrobial Effect of Extracts from Chinese Chive, Cinamon and Corei Fructus // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2001. Vol. 49. P. 183–188.

9. 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. Vol. 13, No. 1. P. 46–50.

10. Karahan A. G., Sagdic O., Ozcan M., Ozcan G. Determination of antibacterial activity of some spice extracts. Rep. Suleyman Demirel Univ. Res. Developm. Fund Proj. No. SDU-AF 140, Isparta, Turkey 43 (2000).

11. Marino M., Bersani C., Comi G. Antimicrobial Activity of the Essential Oils of *Thymus vulgaris* L. Using a Bioimpedometric Method // *Journal of Food Protection*. 1999. Vol. 62. P. 1017–1023.

12. Prakash M., Dattatreya A., Bhat K. Sensory flavor profiling and mapping of regional varieties of coriander (*Coriandrum sativum* L.) // *Journal of Sensory Studies*. 2003. Vol. 18, No. 5. P. 409–422.

13. Rajkumar V., Berwal J.S., Inhibitory effect of clove (*Eugenia caryophyllus*) on toksigenic molds // *Journal of Food Science and Technology*. 2003. Vol. 40, No. 4. P. 416–418.

14. Sagdic O., Simsek B., Kucukoner E. Microbiological and physiological characteristics of Van herby cheese, a tradicional Turkish dairy product // *Milchwissenschaft*. 2003. Vol. 58. P. 382–385.

15. Stojanovic G., Palic R., Alagic S., Zekovic Z. Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil and CO₂ extracts of semi – oriental tobacco // *Otlja. Flavour and Fragrance Journal*. 2000 Vol. 15. P. 335–338.

16. 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 eigii* M. Zohary et P.H. Davis // *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2004. Vol. 52, No. 5. P. 1132–1137.

17. Teranishi R. *Flavour Chemistry*. Washington, 1989.

18. Стрелюхина А. Н., Новошонов В. Й. Оценка стабильности процесса CO₂ -экстрагирования// *Пищевая промышленность*. 2003. № 3. С. 60.