



**GYÓGNÖVÉNY DROGOK, VALAMINT GYÓGNÖVÉNY ILLÓOLAJOK  
ANTIMIKROBIÁLIS HATÁSÁNAK VIZSGÁLATA *ESCHERICHIA COLI*,  
*SALMONELLA* VALAMINT A *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* BAKTÉRIUMOK  
TEKINTETÉBEN**

KAPCSÁNDI VIKTÓRIA - LAKATOS ERIKA - WALCZ LAURA - POSGAY  
MIKLÓS

Széchenyi István Egyetem, Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar,  
Mosonmagyaróvár

**ÖSSZEFOGLALÁS**

Napjainkban a különböző gyógy- és fűszernövények felhasználási területe igen sokrétű, a mindenki által ismert gyógyászati felhasználás mellett alkalmazza őket többek közt a kozmetikaipar és az élelmiszeripar is. Az élelmiszeriparban való felhasználási módjuk rendkívül széles körű, úgymint az ízesítés és fűszerezés, de számos esetben a növényekben lévő színanyagok hasznosítása sem elhanyagolható, mindezek mellett pedig az antimikrobás hatású komponenseik révén tartósítási funkcióik kiaknázása a cél. Az élelmiszerromlást okozó mikroorganizmusok komoly kihívást jelentenek az élelmiszergyártásban. Számos mesterséges tartósítószer fejlesztettek ki, azonban a tudatos fogyasztók egyre inkább ellenzik ezen adalékanyagokat és kerülik azok fogyasztását. Számos kutatás érhető el az élelmiszerek gyógynövényekkel, vagy azok hatóanyagainak felhasználásával történő élelmiszertartósítás témakörében. Ezen kutatások a különböző illóolajok kombinációinak alkalmazásával is foglalkoznak, így egymást felerősítve kisebb mennyiség alkalmazása mellett erősebb mikrobagátló hatást érhetnek el. Kutatásaink során a kiválasztott kereskedelmi forgalomban kapható gyógynövény drogok (borsosmenta, citromfű, orvosi zsálya, kerti kakukkfű, levendula) valamint ezen gyógynövények illóolajainak antimikrobiális hatását vizsgáltuk. A

gyógynövény drogok és illóolajok különböző koncentrációban (0,5; 1; 2; 5 m/m%) való felhasználása és annak antimikrobiális hatásának vizsgálata volt a kutatás fő célja. A mérések során három, élelmiszerben is gyakran előforduló patogén baktériumot választottunk. A vizsgálatok az *Escherichia coli*, *Salmonella* valamint a *Staphylococcus aureus* baktériumokra terjedtek ki. A kereskedelmi forgalomban kapható gyógynövény drogokból készült extraktumokkal végzett kísérleteinkből kiderült, hogy nagy valószínűséggel ezek a szárított növényi drogok hamar elvesztik antimikrobiális hatásukat. A különböző gyógynövényes illóolajaknál azonban bebizonyosodott, hogy egyes koncentrációkban jelentős mikrobagátló hatást érhetünk el velük.

**Kulcsszavak:** patogén mikroorganizmus, gyógynövény hatóanyagok, antimikrobiális hatás

## BEVEZETÉS ÉS IRODALMI ÁTTEKINTÉS

A globalizációnak és az aktív élelmiszer-kereskedelemnek köszönhetően a baktériumok, gombák, vírusok és paraziták által okozott, élelmiszer eredetű betegségek világszerte az egyik vezető egészségügyi problémává váltak (*Lee and Yoon, 2021*). Bár minden ország rendelkezik sajátos járványvédelmi és élelmiszer-biztonsági szabályozással, az élelmiszer-eredetű megbetegedések száma folyamatosan nő, ami termékvisszahívásokhoz és komoly gazdasági veszteségekhez vezetett (*Horn and Bhunia, 2018; Lee and Yoon, 2021*). Általánosságban elmondható, hogy a szennyezett élelmiszerek fogyasztása évente körülbelül 600 millió élelmiszer-fertőzést és 450 000 halálesetet okoz (*WHO, 2020*). Az élelmiszer-biztonsági veszélyekkel összefüggő mikroorganizmusok (*Rivera et al., 2018*) többnyire önmagukban elmúló betegségeket idéznek elő, csak hányinger, hányás, hasi görcsök, hasmenés és fejfájás tüneteivel (*Lee and Yoon, 2021; Rivera et al., 2018*), de az élelmiszer eredetű megbetegedések krónikus következményekhez, sőt halálhoz is vezethetnek a lakosság fokozottan fogékony csoportjainál (*Lund, 2019; Rivera et al., 2018*).

A növényi eredetű hatóanyagokat tartalmazó gyógyszerkészítmények használata a világ számos részén növekvő tendenciát mutat az alternatív gyógyászat népszerűségének köszönhetően, annak ellenére hogy ezek hatékonyságára vonatkozó adatok még hiányosak (*Chen et al., 2011*). Sokan használnak egyszerre gyógynövényeket és gyógyszereket is, azonban a bevitt hatóanyagok kölcsönhatása még nem teljesen ismert,

és jelenleg nem áll rendelkezésre információ a lehetséges probléma mértékének felmérésére vagy a klinikai kimenetel előrejelzésére (Williamson *et al.*, 2009).

Régóta használnak különböző illóolaj-készítményeket a kozmetikaiparban egyes krémekben és illatszerekben, mindemellett napjainkban egyre inkább teret hódítanak az élelmiszeriparban, ahol főként íz és aromaanyagként hasznosítják őket (Burt, 2004; Aleksic *et al.*, 2014)

A gyógynövény drogok és illóolajok számos előnyös hatással rendelkeznek, ezek közül egyik a mikroorganizmusokra gyakorolt hatás, amely számos gyógynövény esetében antimikrobiális hatásként jelenik meg. Ennek oka, hogy az illóolajok és azok komponensei károsítják a sejtmembrán szerkezetét és funkcióit, és kötődhetnek fehérjékhez és szterinekhez valamint szerkezeti változásokat idézhetnek elő a sejtfalban és a membránban, ami a sejt károsodásához és annak halálához vezet (Khan *et al.*, 2010).

Ezen antimikrobiális hatások vizsgálatára már számos kutatást végeztek el. Ghabraie *et al.* (2016) például 32 esszenciális olaj antibakteriális aktivitását vizsgálták, négy patogén baktérium (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* és *Salmonella Typhimurium*) és egy romlást okozó baktérium (*Pseudomonas aeruginosa*) esetében. Az antimikrobiális hatás igazolására agar diffúziós lyukteszt módszert és mikrolevess vizsgálatokat használtak az antibakteriális aktivitás értékelésére szilárd, gőz és folyékony fázisban.

Rentsenkhand (2010) doktori értekezésében különböző illóolajok élelmiszerromlást okozó mikroorganizmusok antimikrobiális hatását vizsgálta élelmiszerekben. Többek között citrom, majoránna, muskotályzsálya, gyömbér és szőlő illóolaját és kombinációjukat tesztelte agardiffúziós lyukteszt módszerrel *Bacillus subtilis*, *B. cereus*, *Escherichia coli* és *Serratia marcescens* baktériumokkal szemben.

Ahmad *et al.* (2014a) munkájukban a borsosmenta illóolajának antimikrobiális hatását ezüst ionokkal kombinálva vizsgálták *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* és *Candida albicans* patogén mikrobákkal szemben. Munkájuk során igazolták a borsosmenta önmagában és ezüst ionokkal kombinált verziójának antimikrobiális hatását.

Greff *et al.* (2021) munkájukban gyógynövény komposztok antimikrobiális hatását vizsgálták, különböző baktériumtörzsekre. Vizsgálataik során az érett komposztok antimikrobiális hatást mutattak mind a négy növényi patogénnel (*Pectobacterium carotovorum subsp. carotovorum*, *Xanthomonas campestris*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Verticillium dahliae*) szemben.

A számtalan gyógynövény közül, amelyet mindannyian ismerünk jelentős helyet foglal el a borsos menta (*Mentha x piperita*), az orvosi citromfű (*Melissa officinalis*), a kerti kakukkfű (*Thymus vulgaris*), az orvosi zsálya (*Salvia officinalis*) és nem utolsó sorban a napjainkban igen nagy népszerűségnek örvendő levendula (*Lavandula angustifolia*) is.

A különböző menta fajokat az emberiség több, mint kétezer éve használja. Nagy mennyiségben használják a gyógyászatban, élelmiszeriparban és a kozmetikaiparban egyaránt. Az élelmiszeriparban illóolaját főként italok és édesipari termékek ízesítésére használják (Kligler and Chaudhary, 2007; Bernáth, 2013). A növény 1,5-2%-ban tartalmazza a színtelen, halványsárga vagy halvány zöldessárga színű illóolajat, mely több mint 20 komponensből áll. Fő alkotói a (-)-mentol (19-54,2%) és származékai: menton, (-)-mentil-acetát, neomentol, 1,8-cineol. Az illóolaj íze a szabvány szerint jellegzetes fűszeres, csípős, hűsítő, összmentol tartalma legalább 50%. A borsosmenta hajtásai az olajon kívül többek között antioxidánsokat és polifenolokat (Székelyhidi et al., 2022) flavonoidokat és rozmaringsavat tartalmaznak (Bernáth, 2013; Tisserand and Young, 2014; Sik et al., 2019).

A citromfű elnevezése a görög melissa (méh) szóból ered, mely arra utal, hogy a méhek kedvelik ezt az illatos növényt. A citromfű a *Lamiaceae* családhoz tartozó évelő növény, amely az egyik legrégebben alkalmazott gyógynövényünk, használata több mint 2000 évre tekint vissza (Kovács et al., 2014). A gyógyászatban széleskörben alkalmazzák a különböző készítményeket szorongás, stressz, nyugtalanság, idegesség, ingerlékenység, álmatlanság, alvászavar mérséklésére, továbbá gasztrointesztinális panaszok enyhítésére. A citromfű biológiailag aktív vegyületek forrása, és széles körben használják a hagyományos orvoslásban, kozmetikában és kulináris iparban. A fogyasztók természetesebb és biztonságosabb élelmiszer-tartósítási alternatíváira való igénye, valamint antimikrobiális hatása miatt potenciális természetes élelmiszer-tartósítószernek tekinthető (Carvalho et al., 2021).

A *Thymus* nemzetség, a *Lamiaceae* család tagja, körülbelül 400 lágyszárú vagy alcsereje aromás évelő növényfajból áll, amelyek a mediterrán régióban őshonosak (De Martino et al., 2009). Ezen a nemzetségen belül a *Thymus vulgaris* L., közismert nevén közönséges kakukkfű, ősidők óta széles körben alkalmazzák a hagyományos gyógyászatban és táplálkozási célokra Európa, Észak-Afrika és Ázsia mérsékelt égövi vidékein (Stahl-Biskup and Sáez, 2003). Ezenkívül közvetlenül hozzáadható különféle húsokhoz és húskészítményekhez (Posgay et al., 2021), mivel hatékony antioxidánsnak számít

(Jayasena and Jo, 2014). Általában gazdag bioaktív monoterpénekben, például timolban, karvakrolban és linaloolban, amelyek felelősek terápiás tulajdonságaikért (Al-Bayati, 2008), például antimikrobiális és antioxidáns hatásukért (Ahmad et al., 2014b; Radunz et al., 2020).

Az orvosi zsálya szintén a *Lamiaceae* családba tartozó évelő félcserje, amelynek őshazája a Földközi-tenger északi partvidéke. Illóolajtartalma 1-2,5%, fő összetevői az  $\alpha$ - és  $\beta$ -tujon, a borneol, a cineol, a kámfor és a pinén. Az orvosi zsálya tartalmaz még továbbá di- és triterpéneket, flavonoidokat, rozmaringsavat, kávéssavat és fenolglükozidokat. Jelentős cserzőanyag-tartalommal rendelkezik (Bernáth, 2013). Számos kutatást végeztek biológiai aktivitásának felkutatására, amely által széleskörű farmakológiai hatását fedezték fel. Ezen nagyszámú vizsgálatoknak köszönhetően eddig több mint 120 illóolaj komponenset (Ghorbani and Esmaeilizadeh, 2017) és mintegy 160 polifenolos alkotót, többek között fenolos savakat és flavonoidokat azonosítottak a növényből (Lopresti, 2017). A zsályában található polifenolos alkotóknak, valamint fő fenolos vegyületének (rozmaringsav) köszönhetően neuroprotektív, antioxidáns, rákellenes, immunmoduláló és gyulladásgátló hatást képes kifejteni (Shekarchi et al., 2012; Fotovvat et al., 2019). Az élelmiszeriparban leginkább tea formájában használják (Walch et al., 2011).

A *Lamiaceae* családon belül a *Lavandula* nemzetségbe 29 faj tartozik, közülük azonban három fajnak van nagyobb gazdasági jelentősége. Ezek közül a *Lavandula angustifolia* L. illóolaj összetételének vizsgálata számos kutatás alapja volt már (Chemat et al., 2006, Fakhari et al., 2005, Kim and Lee, 2002). Kiemelkedő jelentőséggel bír a kozmetikaiparban (szappanok, kölnivizek, parfümök, bőrápolók és egyéb kozmetikumok), az aromaterápiában (lazító), a gyógyszerkészítményekben pedig nyugtató, görcsoldó, vírusellenes és antibakteriális hatása miatt (Kim and Lee, 2002). A közelmúltban az élelmiszergyártásban is alkalmazták italok, fagyaltok, cukorkák, pékárúk és rágógumik természetes ízesítőjeként.

Egyes kutatások szerint a 0,05–0,1%-os koncentrációban esszenciális olajokat tartalmazó gyógynövények és fűszerek olyan kórokozókkal szemben mutattak hatást, mint a *Salmonella* Typhimurium, az *Escherichia coli* O157:H7, a *Listeria monocytogenes*, a *Bacillus cereus* és a *Staphylococcus aureus*. A szintetikus adalékanyagokkal összehasonlítható antimikrobiális hatású gyógynövények, fűszerek és esszenciális olajok alkalmazása azonban különféle okok miatt még mindig távolinak

mondható: nem áll rendelkezésre elegendő adat az élelmiszerekre gyakorolt hatásukról, ezen felül erős az illatuk és nagy az előállítási költségük (*Tajkarimi et al.*, 2010).

## ANYAG ÉS MÓDSZER

A mérések során 2 kísérletsorozatot hajtottunk végre, mindkét mérés alkalmával 3-3 párhuzamos minta vizsgálatára került sor. Az első mérésorozatban, kereskedelmi forgalomban kapható gyógynövény drogok szolgáltak a kísérletek alapjául, amely során arra voltunk kíváncsiak, hogy a le nem járt minőségmegőrzési idővel rendelkező (2023 március) drogok adott koncentrációjú (0,5; 1; 2; 5 m/m%) alkoholos extraktumai rendelkeznek-e mikrobagátló hatással. A második mérésorozat elvégzésekor ugyanezen gyógynövény fajok (de nem a fent említett drogokból kivonatolt) illóolajainak vizsgálatára került sor. A növényi illóolajokat a Kisalföldi Mezőgazdasági Zrt. által termesztett, vízgőzdesztillációval (félüzemi) kivonatolt növényeiből vizsgáltuk. A gyógynövények és illóolajok antimikrobiális hatásának vizsgálatát agardiffúziós lyukteszt alkalmazásával végeztük el.

### *A mérések során vizsgált gyógynövények és mikroorganizmusok*

- borsosmenta (*Mentha x piperita*)
- citromfű (*Melissa officinalis*)
- kakukkfű (*Thymus vulgaris*)
- levendula (*Lavandula angustifolia*)
- orvosi zsálya (*Salvia officinalis*)
- *Escherichia coli*
- *Salmonella*
- *Staphylococcus aureus*

### *A mikrobiológiai vizsgálat folyamata*

Az antimikrobiális hatás vizsgálatokhoz a TSA tápközeget (20 g) tartalmazó Petri-csészékre 24 órás előtenyésztésből nyert sejtszuszpenzióval ( $10^6$ - $10^7$  sejt/ml) masszív oltást végeztünk. A szuszpenziók száradása után steril dugófúróval a leoltott táplemezbe 8 mm átmérőjű lyukakat fúrtunk, melyekbe a gyógynövény drogok esetében 50%-os etil-alkohol és víz eleggyel, illóolajok esetén dimetil-szulfoxid oldattal 0,5; 1; 2; és 5 m/m%

koncentrációra hígított extraktumokból 200-200 µl-t pipettáztunk. Kontrollként 200 µl extraháló elegyet használtunk mindkét mérőssorozat esetében. A csészéket ezután 37 °C-os hőmérsékleten inkubáltuk. A gátlási zónákat 24 óra inkubálás után határoztuk meg; a kapott eredmények pontos kiértékeléséhez három párhuzamos mérés átlagával számoltunk.

### ***Mintaelőkészítés módszere***

#### *Gyógynövény drog esetén*

A kísérlethez 2 literes mérőlombikba 1:1 arányban 99,8% -os etanolból és desztillált vízből extraháló elegyet készítettünk. 100 ml-es Erlenmeyer lombikokba analitikai mérlegen bemértük az 5 féle szárított gyógyövényt (minden növényből 0,5, 1, 2, és 5 grammot). Az eltérő gyógynövényfajok között a bemérőkanalat 76%-os etil-alkoholba mártottuk majd lelángoltuk. A bemért drogot extraháló eleggyel felöntve kiegészítettük pontosan 100 grammra.

A kész elegyeket inkubátorba helyeztük 4 órára 40 °C-ra, amely idő alatt 20 percenként körkörös mozdulatokkal átkervertük a mintákat, segítve ezzel a növények hatékonyabb extrakcióját. Az extrakciós idő letelte után az extraktumokat tölcser és szűrőpapír segítségével elválasztottuk a szilárd növényi részekről.

A leszűrt, tiszta extraktumot ismét inkubátorba helyeztük 3 órára 70 °C-ra, amelynek célja az etil-alkohol extraháló elegyből való elpárologtatása volt. Ennek oka, hogy megakadályozzuk, illetve kizárjuk az etanol mikrobagátló hatását. Ezután a leszűrt extraktumokat a másnap történő mikrobiológiai mérésig, alufóliával lefedve hűtőbe helyeztük.

#### *Gyógynövény illóolajok esetén*

A kísérlet második részében a gyógynövény drogok helyett, a növények vízgőzdesztillációval kivonatolt illóolajait vizsgáltuk a kiválasztott három mikroorganizmusra (*E. coli*, *Salmonella*, *S. aureus*), szintén agardiffúziós lyukteszt segítségével. Az illóolajok hígításához dimetil-szulfoxid oldatot (*Alves-Silva et al.*, 2013 nyomán) használtunk.

Kisebb lombikokba analitikai mérlegen bemértük az 5 féle gyógyövény-illóolaj adott mennyiségeit (0,5, 1, 2, és 5 grammot), majd a bemért olajokat dimetil-szulfoxiddal (VWR Internationak Kft.) kiegészítettük pontosan 100 grammra.

Illóolajok révén ez esetben szükségtelen volt az extrakciós lépés elvégzése, valamint az extrakcióhoz használt oldószer elpárologtatása is, így a kivonatok, elkészítés után azonnal készen álltak az agardiffúziós lyukteszthez való felhasználásra.

### ***A mikrobiológiai vizsgálatok leírása***

A mikrobiológiai mérések első lépéseként megírtuk a Petri-csészéket, melyeken feltüntettük a vizsgált gyógynövény fajtáját, koncentrációját, a különböző mikroorganizmusokat és a felhasznált táptalaj megnevezését. Az agardiffúziós lyukteszt elvégzéséhez TSA (tripton-szója agar, Biolab) táptalajt használtunk.

Három szuszpenziót készítettünk a 3 féle mikroorganizmusból (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Staphylococcus aureus*). Külön-külön előre lelángolt kaccsal az egyes mikrobatorzsekból a szuszpenzióba helyeztünk 1-1 kacsnyit, rázógéppel összekevertük, majd 24 órás előtenyésztést követően az elkészült szuszpenziókból 0,1 ml-t pipettáztunk a megfelelő lemezekre. A szuszpenzió sejtszámát ( $10^6$ - $10^7$  sejt/ml) Densichek készülék segítségével ellenőriztük.

Ezután következett a lemezöntés, amely során a leoltott Petri-csészékbe, analitikai mérlegen 20 gramm meleg TSA táptalajt öntöttünk majd finoman körkörös mozdulatokkal elkevertük és hűlni hagytuk. A megszilárdult táptalajokat lelángolt lyukfúróval kilyukasztottuk 3 helyen, egymástól egyenlő távolságra.

Az egyes lemezekben található 3 lyukba a lemezre írt koncentrációjú mintát pipettáztunk (200  $\mu$ l). Kontroll lemezeket is készítettünk, melybe az extraháló elegy került bepárlás előtti és utáni állapotában. Az extraktummal és illóolajokkal kitöltött lyukas lemezeket 37°C-on 24 órára inkubátorba helyeztük.



**EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK*****A kereskedelmi forgalomban kapható gyógynövény drogok vizsgálatának eredményei***

A kereskedelmi forgalomban kapható növények extraktumainak ellenőrzése során azt tapasztaltuk, hogy a különböző gyógynövény extraktumok körül nem alakult ki gátló zóna egyik mikroorganizmus esetében sem. Ebből arra következtettünk, hogy a gyógynövényboltban vásárolt előre csomagolt, szárított gyógynövényeknek, habár minőségmegőrzési időn belül vizsgáltuk őket, az adott vizsgálati körülmények között (mintaelőkészítés, koncentráció, extrakciós paraméterek) már nem rendelkeznek antimikrobiális hatással. Ennek egyik oka az lehet, hogy a kereskedelmi forgalomban kapható gyógynövény drogok, az adott csomagolási és tárolási körülmények mellett egy bizonyos idő elteltével elveszítik hatóanyag-tartalmukat. A hőmérséklet és a nedvesség a két fő tényező, amely befolyásolja a növényi termék minőségét és stabilitását és illóolaj összetételét (Najafian, 2014; Thakur et al., 2011).

Másik magyarázat lehet, hogy a mérések során vizsgált koncentrációk (az adott formában) nem voltak elegendők ahhoz, hogy a drogokban lévő hatóanyag mennyiség kifejtse gátló hatását a kiválasztott mikroba törzsekre.

***A gyógynövény illóolajok vizsgálatának eredményei******A gyógynövény illóolajok hatása az Escherichia coli baktériumra***

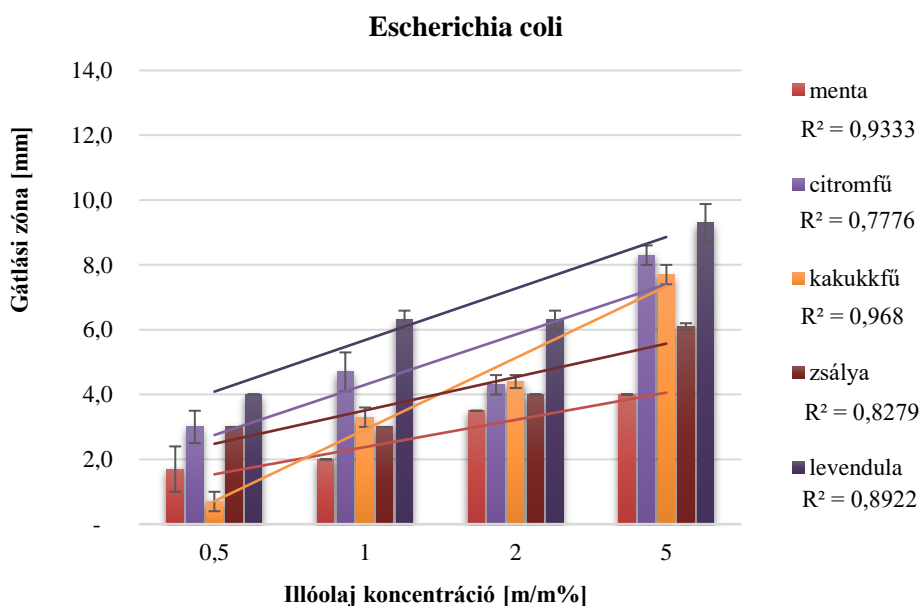
Az *Escherichia coli* esetében (1. ábra) egyértelműen látható, hogy mind a négy vizsgált koncentrációban a levendulának volt a legnagyobb gátló hatása a baktériummal szemben (4,0-9,3 mm). Második legnagyobb gátló zónát pedig a citromfű illóolaja produkálta 3,0-8,3 mm-es gátlási zónákkal. Bár ez esetben az is látható, hogy a gátlás mértéke között az 1- és 2 m/m%-os koncentrációjú illóolaj esetében nem mutatkozott szignifikáns különbség ( $p \leq 0.05$ ).

Megfigyelhető az is, hogy míg kakukkfű illóolaja 0,5 m/m%-os koncentrációban szinte nem rendelkezett mikrobagátló hatással, addig 1 %-os oldatban 3,3; 2%-os koncentrációban 4,4, míg 5%-os alkalmazás mellett 7,7 mm-es gátló zónákat alakított ki. Ebből arra következtethetünk, hogy a kakukkfű nagyobb koncentrációban való alkalmazása mellett képes kifejteni mikrobagátló hatását.

A zsálya mikrobagátló hatásáról elmondható, hogy minden alkalmazott koncentráció mellett többnyire a leggyengébben teljesítő menta (1,7-4,0 mm) és legerősebb

antimikrobiális hatást mutató levendula közti közepes méretű zónát alakított ki. A diagram alapján az is elmondható, hogy a 0,5- és 1 m/m%-os koncentrációjú illóolajok esetén a gátlási zónák eredményei (3-3 mm) között nem volt szignifikáns különbség ( $p \leq 0.05$ ). Ez a tendencia a többi koncentráció esetén nem mondható el, ugyanis 2% alkalmazása mellett 4 mm, 5%-os oldat esetén pedig 7,7 mm-es gátlási zónát hozott létre, tehát az eredmények között ezen koncentrációk esetén szignifikáns különbségek mutatkoztak.

Az *E. coli* esetében egyértelmű, hogy a citromfű és a levendula voltak a legnagyobb hatással az említett baktériumra vonatkozóan, amely az összes alkalmazott koncentráció esetében elmondható. Az is megfigyelhető azonban, hogy levendula esetében az 1 és 2 %-os koncentrációban alkalmazott oldat esetén nem volt különbség (6,3-6,3 mm), tehát ezen illóolaj esetén is döntő fontosságú a megfelelő koncentráció alkalmazása akár kozmetikai, terápiás vagy élelmiszeripari tekintetben.



1. ábra: Az egyes gyógynövények különböző koncentrációjú illóolajának gátlási zónája az *Escherichia coli* esetében

Figure 1: Inhibition zone of different concentrations of essential oil for each herb for *Escherichia coli*

Az *Escherichia colival* szemben a leggyengébb mikrobagátló hatással a menta rendelkezett, amelynek legnagyobb mértéke 5 m/m%-os koncentrációnál is csupán 4 mm-es volt, amely megegyezik a levendula legkisebb koncentrációjánál kialakult gátló zónával.

Az *E. coli* esetében a gyógyövény illóolaj koncentrációk és a gátlási zóna nagysága közt szoros lineáris összefüggések mutatkoztak, ezt igazolják a 0,82-0,96 R<sup>2</sup> értékek is. Ebből arra következtethetünk, hogy az *E. coli* esetében a gyógynövény illóolaj koncentráció növelésével, azok antimikrobiális hatása lineárisan növekszik.

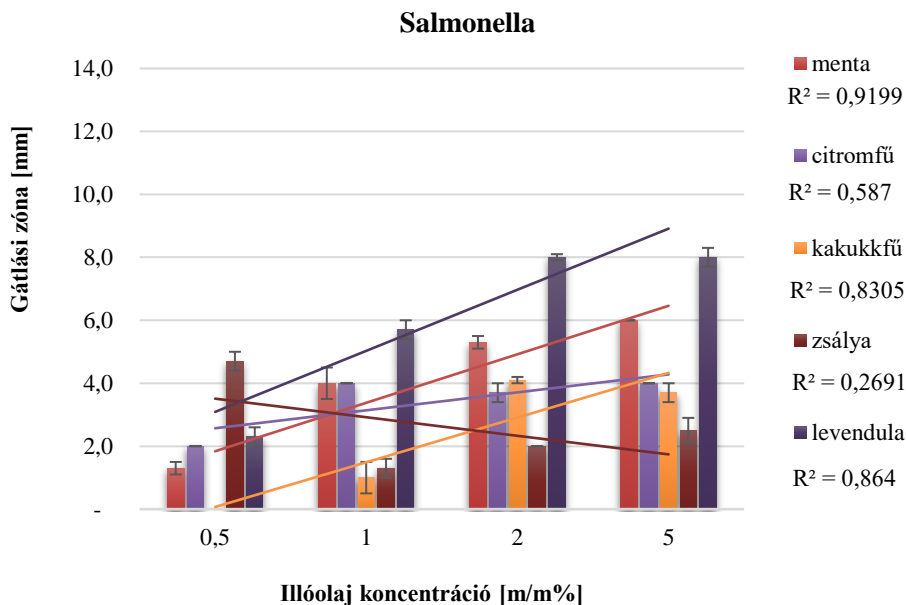
### ***A gyógynövény illóolajok hatása a Salmonellára***

A *Salmonella* esetében (2. ábra) a legnagyobb gátló zónát (8 mm) szintén a levendula illóolaja mutatott, ez alól kivételt csupán a 0,5 m/m%-os koncentráció képez. Itt a zsálya közel dupla akkora gátlást (4,7 mm) produkált, mint a levendula (2,3 mm). Különös továbbá, hogy ennél a koncentrációnál a kakukkfűnek egyáltalán nem volt mikrobagátló hatása a *Salmonella* esetében.

Második legnagyobb gátló hatást a menta produkált, maximálisan 6 mm-es zónával, azonban a levendulához hasonlóan a legkisebb koncentráció ez alól kivétel, ahol a citromfű közel kétszer akkora gátló zónát produkált (2 mm) a mentával (1,3 mm) szemben.

A kakukkfű kisebb koncentrációkban igen csekély hatást gyakorolt a *Salmonellára*, amely hatás 1 m/m%-os koncentráció alkalmazása mellett 1,0 mm volt. Ehhez képest a 2 m/m%-os koncentráció alkalmazása szignifikáns különbséget ( $p \leq 0.05$ ) eredményezett a 4,1 mm-es gátló zóna elérésével. Érdekes eredmény, hogy ettől függetlenül az 5%-os illóolaj koncentráció mellett csupán 3,7 mm-es gátló zóna alakult ki.

A citromfű 0,5 m/m%-os koncentrációban 2,0 mm-es gátló zónát alakított ki, ezután azonban az figyelhető meg, hogy a koncentráció növekedésével nem növekszik egyenes arányban az illóolaj által kifejtett antimikrobiális hatás (3,7-4,0 mm), sőt mintha a citromfű elérte volna maximális mikrobagátló hatását az adott mérési paraméterek mellett.



2. ábra: Az egyes gyógynövények különböző koncentrációjú illóolajának gátlási zónája az *Salmonella* esetében.

Figure 2: Inhibition zone of different concentrations of essential oil for each herb for *Salmonella*

Végül érdekes, hogy a zsálya legkisebb koncentrációban kiemelkedően magas kb 4,7 mm-es gátló zónát alakított ki, nagyobb koncentrációkban azonban mikrobagátló hatása jelentősen csökkent átlagosan 2,0 mm-es zónára. Ez az eredmény azonban az illóolaj oldat helytelen adagolásából adódó szisztematikus mérési hibából adódhatott (3 párhuzamos).

A lineáris összefüggések vizsgálata során megállapítható, hogy a citromfű ( $R^2=0,587$ ) és a zsálya ( $R^2=0,269$ ) kivételével a *Salmonella* esetében is szoros kapcsolat van a gyógynövény illóolajok koncentrációja és a kialakult gátló zónák mérete között ( $R^2=0,830-0,919$ ).

### **A gyógynövény illóolajok hatása a *Staphylococcus aureus* baktériumra**

A *Staphylococcus aureus* esetében (3. ábra) kimagaslóan nagy gátló hatást ért el a levendula 2 és 5 m/m%-ban 10,4 és 12,7 mm-es zóna kialakításával. Az 1 m/m%-ban

alkalmazott illóolajok közül is a levendula érte el a legnagyobb gátló zónát a többi növényvel szemben (3,7 mm), a legkisebb koncentrációban azonban alulmaradt a citromfűhöz képest.

A citromfű minden koncentrációban gátló hatást produkált, azonban 2 és 5 m/m%-nál nincs szignifikáns eltérés a kialakult gátló zónák mérete között (6,0-6,3 mm).

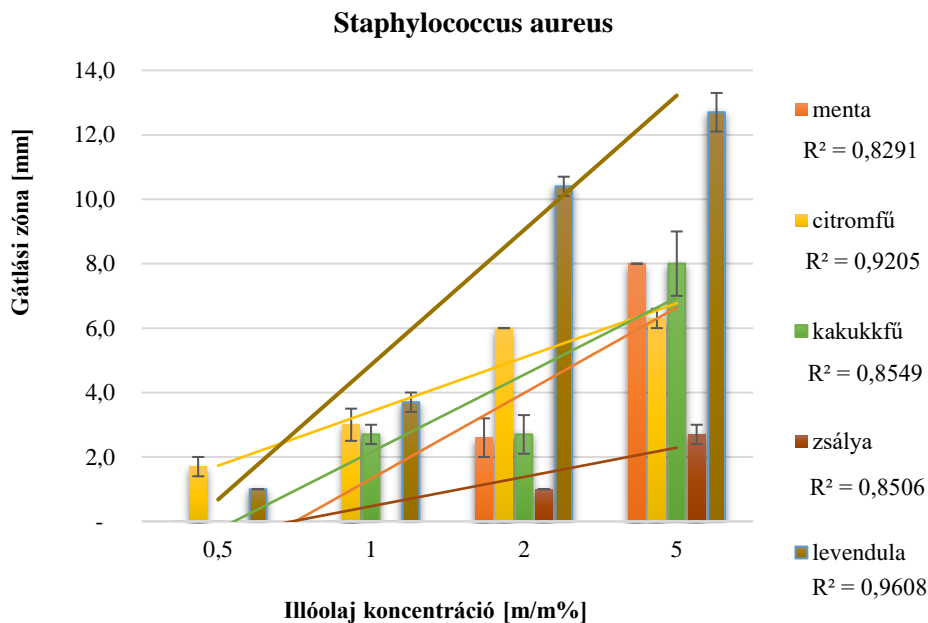
A kakukkfűnek legkisebb koncentrációban nem volt antimikrobiális hatása, valamint megállapítható az is, hogy az 1 és 2 m/m%-os koncentrációban ugyanakkora (2,7 mm) gátló zónát alakított ki, amelynek mérete az 5m/m%-os koncentráció alkalmazásával növekedett meg (8,0 mm) szignifikánsan.

A menta csak nagyobb koncentráció alkalmazása mellett fejtette ki antimikrobiális hatását, tehát 0,5-1 m/m%-os oldat formájában, nem rendelkezett gátló hatással a *S. aureussal* szemben. Ez a gátló hatás azonban a 2 és 5 m/m%-os koncentráció mellett már megmutatkozott (2,6-8,0 mm). A két eredmény között szignifikáns változást produkált a menta illóolajának használata. Nagyobb koncentrációban csaknem 3-szor akkora gátló zónát alakított ki (67,5%-os növekedés).

A mentához hasonlóan a zsálya is csak nagyobb koncentráció alkalmazása mellett fejtette ki antimikrobiális hatását, tehát 0,5-1 m/m%-os oldat formájában, nem rendelkezett gátló hatással a *S. aureussal* szemben. Az is megállapítható, hogy az összes gyógynövény közül ennek az illóolaja volt a legkisebb hatása az adott baktériummal szemben. 2 és 5 m/m%-os koncentráció alkalmazásával is csupán 1,0-2,7 mm-es gátlást produkált.

A levendula a *S. aureus* esetében fejtette ki leginkább gátló hatását 12,7 mm-es zónával, hasonlóan *Vasileva et al.* (2018) által elvégzett kutatásokhoz.

A lineáris összefüggés vizsgálatok alapján levonható a következtetés, hogy a *S. aureus* esetén is szoros összefüggés mutatkozott az alkalmazott illóolaj koncentráció és a gátlási zónák mérete között ( $R^2=0,829-0,960$ ). Ez az összefüggés a *S. aureus* vonatkozásában minden gyógynövény esetén elmondható.



3. ábra: Az egyes gyógynövények különböző koncentrációjú illóolájának gátlási zónája az *Staphylococcus aureus* esetében.

Figure 3: Inhibition zone of different concentrations of essential oil for each herb for *Staphylococcus aureus*

Eredményeink azt mutatták, hogy a Gram pozitív baktérium esetén (*Staphylococcus aureus*) a gyógynövény illóolajok nagyobb gátló hatást fejtettek ki. Eredményeink hasonlóak Djenane *et al.* (2012) által végzett kísérletekhez, amely során a Gram-pozitív *S. aureus* érzékenyebb volt az esszenciális illóolajokra, mint a Gram-negatív *E. coli*. Oussalah *et al.* (2007) szintén leírta, hogy a *Satureja sp.* (borsikafű) négyszeres gátló hatást fejtett ki a *S. aureus*ra (Gram-pozitív), mint az *E. coli* O157:H7-re vagy a *Salmonella* Typhimuriumra (mindkettő Gram-negatív).

Számos kutató vizsgálta a gyógynövény adagolások hatását egyes élelmiszerek eltarthatóságára. Vasileva *et al.* (2018) például leírta, hogy a 2,5% és 5% koncentrációban hozzáadott levendulahulladékot tartalmazó kenyerek eltarthatósága megnövekedett (96 óráig) a kontrollhoz képest, és 22 °C-on, 30 °C-on történő tárolás során, valamint nem figyeltek meg gombás vagy bakteriális romlást.

Az illóolaj baktériumokra gyakorolt hatásmechanizmusai különbözőek lehetnek, úgymint a sejtfal és a citoplazma membrán lebontása, a citoplazma koagulációja és

diffúziója a membrán kettős lipidrétegen keresztül, valamint permeabilitásának és funkciójának megváltozása (Nazzaro *et al.*, 2013). Ezen hatások azonban számos tényezőtől függenek.

## **KÖVETKEZTETÉSEK ÉS JAVASLATOK**

A kereskedelmi forgalomban kapható gyógynövény drogokból készült extraktumokkal végzett kísérletekből kiderült, hogy nagy valószínűséggel a szárított növényi drogok hamar elvesztik antimikrobiális hatásukat. Ennek ellenére más formában alkalmazva pl. teáját fogyasztva további jelentős pozitív hatásai lehetnek szervezetünk egészségére. A szárított gyógynövény drogok antimikrobiális hatásának vizsgálta során célszerű lenne az extrakciós paraméterek (koncentráció, extraháló elegy összetétele, hőmérséklet, időtartam) módosítása és ezek alapján további vizsgálatok elvégzése. A különböző gyógynövény illóolajknál azonban bebizonyosodott, hogy egyes koncentrációkban jelentős mikrobagátló hatást érhetünk el velük. Összeségében a vizsgált mikroorganizmusokkal szemben legnagyobb gátló eredményt minden esetben a levendula mutatott. Különösen a *S. aureussal* szemben szignifikáns növekedést mutat a diagram, itt alakult ki vizsgálatom során a legnagyobb, több mint 12 mm-es gátló zóna 5 m/m%-os koncentrációban. Eredményeink alapján a gyógynövényekben található egyes illóolaj komponensek egyértelműen sejtkárosító hatással rendelkeznek az általunk vizsgált mikroorganizmusok esetében, melyeknek hatásmechanizmusa valószínű az adott komponenstől, az alkalmazott koncentrációtól, a vizsgált mikroorganizmustól valamint a környezeti tényezőktől függ.

**INVESTIGATION OF THE ANTIMICROBIAL EFFECTS OF HERBAL  
DRUGS AND ESSENTIAL OILS IN *ESCHERICHIA COLI*, *SALMONELLA*  
AND *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***

VIKTÓRIA KAPCSÁNDI - ERIKA LAKATOS - LAURA WALCZ - MIKLÓS  
POSGAY

Széchenyi István University, Faculty of agricultural and Food Sciences,  
Mosonmagyaróvár

**SUMMARY**

Nowadays, the field of application of various herbs and spices is very diverse; in addition to the well-known medicinal uses, they are also used in the cosmetics and food industries, among others. Their use in the food industry is extremely wide, such as flavouring and seasoning. However, in many cases, the utilization of colorants in plants is not negligible, and the aim is to exploit their preservative functions through their antimicrobial components. Microorganisms that cause food spoilage pose a serious challenge to food production. Many artificial preservatives have been developed, but conscious consumers are increasingly opposed to and avoid consuming these additives. Numerous researches are available on the subject of food preservation of foods with herbs or their active ingredients. These researches also deal with combining different essential oils to achieve a more substantial antimicrobial effect when used in smaller amounts. In our research, we investigated the antimicrobial effect of selected commercially available herbal drugs (peppermint, lemongrass, medicinal sage, garden thyme, lavender) and the essential oils of these herbs. The main aim of the research was to investigate the use of herbal drugs and essential oils in different concentrations (0.5; 1; 2; 5 m / m%) and their antimicrobial effect. Three pathogenic bacteria, which are also common in food, were selected during the measurements. The studies included *Escherichia coli*, *Salmonella*, and *Staphylococcus aureus*. Our experiments with extracts from commercially available herbal drugs have shown that these dried herbal drugs are likely to lose their antimicrobial activity soon. However, various herbal essential oils have been shown to have significant antimicrobial activity at certain concentrations.

**Keywords:** pathogenic microorganism, active herbal ingredients, antimicrobial effect



**KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS**

A munkát az EFOP-3.6.3-VEKOP-16-2017-00008 projekt támogatta. A projektet az Európai Unió és az Európai Szociális Alap finanszírozza.

**IRODALOM**

- Ahmad, A. - Khan, A. - Samber, N. - Manzoor, N. (2014a): Antimicrobial activity of *Mentha piperita* essential oil in combination with silver ions. *Synergy*, (2014)1, 92-98
- Ahmad, A. - van Vuuren, S. - Viljoen, A. (2014b): Unravelling the complex antimicrobial interactions of essential oils—the case of *Thymus vulgaris* (thyme), *Molecules*, 19 (2014), pp. 2896-2910
- Al-Bayati, F.A. (2008): Synergistic antibacterial activity between *Thymus vulgaris* and *Pimpinella anisum* essential oils and methanol extracts, *J. Ethnopharmacol.*, 116 (2008) 403-406.
- Aleksic, V. - Knezevic, P. (2014): Antimicrobial and antioxidative activity of extracts and essential oils of *Myrtus communis* L. – a review. *Microbiological Research*, 169 (4): 240-254
- Alves-Silva, J.M. - Dias dos Santos, S.M. - Pintado, M.E. - Pérez-Álvarez, J.A. - Fernández-López, J. - Viuda-Martos, M. (2013): Chemical composition and in vitro antimicrobial, antifungal and antioxidant properties of essential oils obtained from some herbs widely used in Portugal, *Food Control*, 32(2) 371-378
- Bernáth, J. (2013): Vadon termő és termesztett gyógynövények. Mezőgazda Kiadó, Budapest
- Burt, S. (2004): Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *International Journal of Food Microbiology*, 94: 223-253
- Carvalho, F. - Duarte, A.P. – Ferreira, S. (2021): Antimicrobial activity of *Melissa officinalis* and its potential use in food preservation, *Food Bioscience* 44 (2021) 101437
- Chemat, F. - Lucchesi, M.E. - Smadja, J. - Favretto, L. - Colnaghi, G. - Visinoni, F. (2006): Microwave accelerated steam distillation of essential oil from lavender: A rapid, clean and environmentally friendly approach. *Analytica Chimica Acta*, 555, 157–160.

- Chen, X.W. - S. Serag, E.S. - Sneed, K.B. - Liang, J. - Chew, H. - Pan, S.Y. - Zhou, S.F. (2011): Clinical Herbal Interactions with Conventional Drugs: From Molecules to Maladies. *Current Medicinal Chemistry* 18, 4836-4850.
- De Martino, M.L. - Bruno, Formisano, C. - De Feo, V., - F. Napolitano, F. – Rosselli, S.S.F. (2009): Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oils from two species of thymus growing wild in southern Italy, *Molecules*, 14 (11) 4614-4624.
- Djenane, D. – Aider, M. – Yangüela, J. – Idir, L. – Gómez, D. – Roncalés, P. (2012): Antioxidant and antibacterial effects of Lavandula and Mentha essential oils in minced beef inoculated with E. coli O157:H7 and S. aureus during storage at abuse refrigeration temperature, *Meat Science* 92 (2012) 667–674.
- Fakhari, A.R., - Salehi, P. - Heydari, R., - Ebrahimi, S.N. - Haddad, P.R. (2005): Hydrodistillation-headspace solvent microextraction, a new method for analysis of the essential oil components of *Lavandula angustifolia*, Mill. *Journal of Chromatography A*, 1098, 14–18
- Fotovvat, M. - Radjabian, T. - Saboora, A. (2019): HPLC fingerprint of important phenolic compounds in some Salvia L. species from Iran. *Rec Nat Prod.*, 13, 37-49.
- Ghabraie, M. - Dang Vu, K. - Tata, L. - Salmieri, S. - Lacroix, M. (2016): Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat, *LWT - Food Science and Technology*, 66 (2016) 332e339.
- Ghorbani, A. - Esmailizadeh, M. (2017) Pharmacological properties of *Salvia officinalis* and its components. *J Tradit Complement Med.*, 7, 433-440.
- Greff, B. – Lakatos, E. – Szigeti, J. – Varga, L. (2021): Co-composting with herbal wastes: Potential effects of essential oil residues on microbial pathogens during composting, *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, 51(5), 457-511.
- Horn, N. - Bhunia, A.K. (2018): Food-associated stress primes foodborne pathogens for the gastrointestinal phase of infection. *Frontiers in Microbiology*. 9, 1962. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.01962>
- Jayasena, D.D. - Jo, C. (2014): Potential application of essential oils as natural antioxidants in meat and meat products: a review, *Food Rev. Int.*, 30 (2014) 71-90
- Khan, A. - Ahmad, A. - Akhtar, F. - Yousuf, S. - Xess, I. - Khan, L.A. - Manzoora, N. (2010): *Ocimum sanctum* essential oil and its active principles exert their antifungal activity by disrupting ergosterol biosynthesis and membrane integrity. *Res Microbiol* 2010;161(10):816—23.

- Kim, N.S. - Lee, D.D.* (2002): Comparison of different extraction method for the analysis of fragrance from *Lavandula* species by gas chromatography-mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 982, 31–47
- Kligler, B. - Chaudhary, S.* (2007): Peppermint Oil. *American Family Physician*. 75(7):1027-1030.
- Kovács B. - Rédei D. - Csupor D.* (2014): Növényi szerek helye a gyógyszerkincsben, Orvosi citromfű - az Év Gyógynövénye 2014-ben. *Gyógyszerészet* 58. 348-356
- Lee, H.Y. - Yoon, Y.H.* (2021): Etiological agents implicated in foodborne illness worldwide. *Food Science and Animal Research*. 41, 1-7. <https://doi.org/10.5851/kosfa.2020.e75>
- Lopresti, A.L.* (2017) *Salvia* (sage): a review of its potential cognitive-enhancing and protective effects. *Drugs R D.*, 17, 53-64.
- Lund, B.M.* (2019): Provision of microbiologically safe food for vulnerable people in hospitals, care homes and in the community. *Food Control*. 96, 5375-547. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.09.032>
- Najafian, S.* (2014): Storage conditions affect the essential oil composition of cultivated Balm Mint Herb (*Lamiaceae*) in Iran, *Industrial Crops and Products*, 52 (2014) 575–581.
- Nazzaro, F. - Fratianni, F. - De Martino, L. - Coppola, R. - De Feo, V.* (2013): Effect of Essential Oils on Pathogenic, Bacteria. *Pharmaceuticals*, 2013(6) 1451–1474.
- Oussalah, M. - Caillet, S. - Saucier, L. - Lacroix, M.* (2007): Inhibitory effects of selected plant essential oils on the growth of four pathogenic bacteria: *Escherichia coli* O157:H7, *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus* and *Listeria monocytogenes*, *Food Control*, 18 (2007), pp. 414-420.
- Posgay, M.M. – Kapcsándi, V. – Lakatos, E.* (2021): Antimicrobial effect of dried sage on the microbiological state of fresh Hungarian sausage, *Acta Agraria Debreceniensis*, 1(2021) 189-192.
- Radunz, M. - Dos Santos Hackbart, H.C. - Camargo, T.M. - Nunes, C.F.P. - de Barros, F.A.P. - Dal Magro, J. - da Rosa Zavareze, E.* (2020): Antimicrobial potential of spray drying encapsulated thyme (*Thymus vulgaris*) essential oil on the conservation of hamburger-like meat products, *Int. J. Food Microbiol.*, 330 (2020), Article 108696
- Rentsenkhand, T.* (2010): Illóolajok és kombinációik hatása élelmiszerromlást okozó mikroorganizmusokra. Doktori disszerteáció, SZTE, Szeged.

- Rivera, D. - Toledo, V. - Reyes-Jara, A. - Navarrete, P. - Tamplin, M. - Kimura, B. - Wiedmann, M. - Silva, P. - Switt, A.I.M. (2018): Approaches to empower the implementation of new tools to detect and prevent foodborne pathogens in food processing. *Food Microbiology*. 75, 126-132. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2017.07.009>
- Shekarchi, M. – Hajimehdipoor, H. – Saeidnia, S. – Gohari, A.R. – Hamedani, M.P. (2012) Comparative study of rosmarinic acid content in some plants of Labiateae family. *Pharmacogn Mag.*, 8, 37-41.
- Sik, B. - Kapcsándi, V. - Székelyhidi, R. - Lakatos, E. – Ajtony, Zs. (2019): Recent Advances in the Analysis of Rosmarinic Acid From Herbs in the Lamiaceae Family, *Natural Product Communications* 14 (7).
- Stahl-Biskup, E. - Sáez, F. (2003): *Thyme: The genus Thymus*, CRC Press (2003)
- Székelyhidi, R. – Lakatos, E. – Sik, B. – Nagy, Á. – Varga, L. – Molnár, Z. – Kapcsándi, V. (2022): The Beneficial Effect of Peppermint (*Mentha x piperita* L.) and Lemongrass (*Melissa officinalis* L.) Dosage on Total Antioxidant and Polyphenol Content During Alcoholic Fermentation, *Food Chemistry X*, 13 (2022) 100226
- Tajkarimi, M.M. - Ibrahim, S.A. - Cliver, D.O. (2010): Antimicrobial herb and spice compounds in food, *Food Control* 21 (2010) 1199–1218.
- Thakur, L. - Ghodasra, U. - Patel, N. - Dabhi, M. (2011): Novel approaches for stability improvement in natural medicines, *Pharmacogn Rev.*, 5(9): 48–54.
- Tisserand, R. - Young, R. (2014): *Essential Oil Safety - A guide for health care professionals*, Second Edition. Tisserand R., Young R. (Eds.). Elsevier. London. 99- 110, 187-482.
- Vasileva, I. - Denkova, R. - Chochkov, R. - Teneva, D. - Denkova, Z. - Dessev, T. - Denev, P. - Slavov, A. (2018): Effect of lavender (*Lavandula angustifolia*) and melissa (*Melissa Officinalis*) waste on quality and shelf life of bread, *Food Chemistry* 253 (2018) 13–21.
- Walch, S.G. – Tinzoh, L.N. – Zimmermann, B.F. – Stühlinger, W. – Lachenmeier, D.W. (2011) Antioxidant capacity and polyphenolic composition as quality indicators for aqueous infusions of *Salvia officinalis* L. (sage tea). *Front Pharmacol.*, 2, 79.
- WHO (2020): World Health Organization Fact sheet
- Williamson, E. - Driver, S. - Baxter, K. (2009): *Stockley’s Herbal Medicines Interactions*, Pharmaceutical Press

*A szerzők címe – Adress of the author:*

Kapcsándi Viktória, Lakatos Erika, Walcz Laura, Posgay Miklós

Széchenyi István Egyetem,

Mezőgazdaság- és Élelmiszertudományi Kar,

Élelmiszertudományi Tanszék,

9200 Mosonmagyaróvár, Vár tér 2.

- [kapcsandi.viktoria@sze.hu](mailto:kapcsandi.viktoria@sze.hu)
- [lakatos.erika@sze.hu](mailto:lakatos.erika@sze.hu)
- [walcz.laura@gmail.com](mailto:walcz.laura@gmail.com)
- [posgay.miklos@sze.hu](mailto:posgay.miklos@sze.hu)