



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
UNIVERSITAS SCIENTIARUM SZEGEDIENSIS
MÉRNÖKI KAR

***A TEJFEHÉRJÉK HATÁSA NÉHÁNY KIVÁLASZTOTT ILLÓOLAJ
ANTIMIKROBIÁLIS TULAJDONSÁGAIRA***

ÉLELEMISZERMÉRNÖKI ITÉZET

Máté Csilla

IV. évfolyamos élelmiszermérnök

hallgató

Témavezető:

Dr. Krisch Judit

egyetemi docens

SZEGED

2012.

TARTALOMJEGYZÉK

BEVEZETÉS	3
1. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	5
1.1. Felhasznált illóolajok	5
1.1.1. Illóolaj történelem:	5
1.1.2. Mik is az illóolajok?	6
1.1.3. Előállításuk módja:	6
1.1.4. Az illóolajok összetétele:	7
1.1.5. Illóolajok antimikrobiális hatása:	8
1.1.6. Felhasznált növényi illóolajok jellemzése:	9
1.1.7. Az illóolajok felhasználása élelmiszerekben:	14
1.2. Vizsgált Mikroorganizmusok jellemzése.....	17
1.2.1. Gram pozitív baktériumok:	17
1.2.2. Gram negatív baktériumok:	17
1.2.3. Élesztő gombák:	18
1.2.4. Fonalas gombák:	19
1.3. Felhasznált tejporok	20
1.3.1. A tejfehérjéről általánosan:	20
1.3.2. Az általunk használt tejporok:	21
2. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	23
2.1. A kísérlet célja:	23
2.2. Felhasznált anyagok:	23
2.2.1. Alkalmazott tejfehérjék:	23
2.2.2. Felhasznált mikroorganizmusok:	24
2.3. Az alkalmazott tápoldatok és a táptalajok receptjei:	24

2.3.1. TGE táptalaj/1000ml (B. cereus számára):.....	24
2.3.2. LB táptalaj/1000ml (E. coli számára):.....	24
2.3.3. Malátás táptalaj/1000 ml (G. candidum és a P. frequentas számára):	25
2.4. Felhasznált illóolajok:.....	25
2.5. Módszerek:.....	25
2.5.1. Mikroorganizmusok előkészítése:	25
2.5.2. Tápoldatok készítése:.....	25
2.5.3. Illóolaj törzsoldatok készítése:.....	25
2.5.4. Kísérleti elrendezés:.....	26
2.5.5. MIC fajtájának meghatározása:	26
3. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉS.....	28
ÖSSZEFOGLALÁS.....	31
IRODALOMJEGYZÉK.....	32

BEVEZETÉS

Az élelmiszerekben megtalálható adalékanyagokra előítélettel tekintenek a fogyasztók. Ennek az elfogultságnak az oka a félelem, hogy a sok mesterséges anyag az élelmiszerekben akár egészségkárosító hatással is lehet a szervezetünkre rendszeres vagy csak egyszeri fogyasztásuk esetén is. A vásárlói bizonytalanság eloszlatása érdekében az élelmiszer-kutatók újabban alternatív tartósítási módszerek után kezdtek el kutatni. Az új alternatívák közül a fogyasztók körében a növényi illóolajok használata elfogadott, így ebbe az irányban folytattak kutatásokat.

A növényi illóolajok nagyon régóta ismertek és alkalmazottak az élelmiszeriparban főleg, mint aroma anyagok, és a legtöbbjük rendelkezik FA (élelmiszer adalék) besorolással is. Nagyon sok illóolaj kiváló antimikrobiális tulajdonságokkal bír az élelmiszerromlást és az élelmiszereredetű megbetegedéseket okozó mikroorganizmusokkal szemben. Ezek a természetes anyagok képesek egyszerre kifejteni tartósító és antimikrobiális tulajdonságaikat anélkül, hogy e hatás eléréséhez többféle szintetikus anyagot alkalmaznánk. Ezen anyagok ipari felhasználása azonban még ma is korlátozott.

A szakirodalomban gyakran leírt jelenség, hogy az élelmiszerekbe magasabb illóolaj koncentráció szükséges ugyanazon hatás eléréséhez, mint laboratóriumi körülmények között. Két lehetséges oka van ennek a jelenségnek. Az egyik, hogy az élelmiszerek hatalmas energia és tápanyag-források a mikroorganizmusok számára, amely közegben sokkal gyorsabban képesek regenerálni az illóolaj hatására károsodott sejtfalukat, mint a normál tápoldatban. A másik ok az, hogy az élelmiszer és az növényi illóolaj komponensek kölcsönhatásba lépnek egymással, ebből kifolyólag csökken a hatékonysága az utóbbinak. A hidrofób illóolaj komponensek zsírokban és olajokban jól oldódnak, ezen kívül kölcsönhatásba lépnek a fehérjékkel és a poliszacharidokkal: ezek a kötések visszatartják a komponenseket, így nem tud kialakulni közvetlen kapcsolat a vízfázisban lévő mikroorganizmussal. Ezért alkalmazunk nagyobb mennyiséget az élelmiszerekben az illóolajokból, de ez az élelmiszer eredeti érzékszervi tulajdonságainak (íz és illat) megváltozásához vagy akár a termék élvezeti értékének teljes elvesztéséhez is vezethet. Nagyon széles körben lehetne alkalmazni az illóolajokat az élelmiszeriparban különféle technikákkal kombinálva, de még sok a megválaszolatlan kérdés az élelmiszer- tudomány ezen területén. Remélem dolgozatom egy kérdésre legalább választ tud adni.

Vizsgálataink során a két kiválasztott növényi illóolaj antimikrobiális hatását vizsgáltuk élelmiszerromlást és megbetegedést okozó *Bacillus cereus* és *Escherichia coli* baktériumokon

illetve a *Geotrichum candidum* élesztőgombán és a *Penicillium frequentans* fonalas gombán úgy, hogy a tápoldatukban különböző kazein tartalmú tejfehérje koncentrátumokat és BSA savófehérjét kevertünk.

Célunk megvizsgálni, hogy az élelmiszer összetevők közül a tejfehérjék hogyan befolyásolják az illóolajok antimikrobiális hatását.

|

1. Irodalmi áttekintés

1.1. Felhasznált illóolajok

1.1.1. *Illóolaj történelem:*

Már az ókorban felismerték az illóolajok jótékony hatását, és előszeretettel alkalmazták ezeket az élet több területén. Akkoriban elképzelhetetlen lett volna egy pap vagy uralkodó felkenése illóolajok használata nélkül. A Bibliában is rábukkanhatunk néhány abban az időben használt illatos anyagra, ilyen például a tömjén és a mirha, abban az időben ezek luxuscikknek számítottak, és a szegényebb emberek nem tudták megvenni őket.

Arábia híres volt az illatszereiről, melyek előállításához az alapanyagot Babilóniából szállították. Főleg testápolásra és a paloták, templomok illatosítására használták az illóolajokat.

Az egyiptomi uralkodók mumifikálása során a testek tartósítására és illatosítására alkalmazták az illóolajokat, kihasználva így az antimikrobiális és tartósító tulajdonságaikat. A királysírokban a mindennapi használati tárgyak mellett, illatszeres palackokat is találtak. A folyó menti kultúrák közül ők voltak az elsők, akik aromaterápiával foglalkoztak. A száraz éghajlat szükségessé tette számukra az illóolajos bőrápolást. Az olajokat emellett gyógyításra és betegségmegelőzésre is alkalmazták. Felismerték a vöröshagyma és a fokhagyma gyógyító hatását, ezért a piramisépítő rabszolgáknak minden nap egy fej vöröshagymát és egy gerezd fokhagymát el kellett fogyasztaniuk. Gyógyításra főleg sáfrányt, kaprot, fekete ürömet, szerecsendiót és bazsalikomot használtak.

A kínai kultúra főleg az illóolajok bódító hatását használta ki. Nagyon sokféle aromás növényt alkalmaztak, füstölésre és testápolásra legtöbbször a jázmint. A gyömbért immunerősítő, fájdalom- és lázcsillapítószerként alkalmazták.

A görög orvostudomány már ötvözte a keleti gyógymódot az egyiptomival. Ők is nagy mennyiségben alkalmazták az illóolajokat, hogy elősegítsék az orákulumaik transzállapotát. A járványok kialakulásának megelőzésért babért és borókát, és a templomi szertartásokon illatos növényeket füstöltek.

A római birodalomban a zsálya nagy tiszteletnek örvendett, minden betegség gyógyírének tartották. A lakásokban kakukkfűvet füstöltek és a munkások kakukkfű teát ittak, hogy elkerüljék a kígyómarást.

A népvándorlás ideje alatt teljesen eltűntek Európából az illóolajok. Az arab kultúrában további kutatásokat végeztek az illóolajokkal, így végül felfedezték, hogyan lehet előállítani lepárlással aromás kivonatokat. Elsősorban a növények virágzatából nyertek ki illatos olajokat, ezek közül a legismertebb a rózsaoil volt. A keresztes háborúk során a lovagok hozták be újra Európába az illóolajokat és a fűszereket. A szerzetesek a kolostorkertekben elkezdtek termesztetni ezeket az illatos növényeket és illóolaj-készítéssel is foglalkoztak. Abban hittek, hogy minél erősebb egy növény aromája annál nagyobb a hatékonysága.

Az aztékok híresek voltak a gyógynövényeken alapuló orvoslásukról, nagy botanikus kertekkel rendelkeztek. A nagy felfedezők új illóolajokat és gyógynövényeket is szállítottak az Újvilágból.

A templomokban használt füstölőknek több szerepe is volt: egyrészt ünnepélyessé tették az eseményt, másrészt fertőtlenítő hatása révén megóvták az összegyűlt embereket attól, hogy a fertőző betegségeket továbbadják egymásnak. Pestisjárványok idején a boróka fájának égetésével védekeztek a betegség terjedésével szemben.

A középkort követően az orvosok és vándor gyógyszerészek eszköztárának fontos részét képezték az illóolajok. A 16. századtól a 18. század végéig csaknem egész Európát bejárták (Frank-Kürti, 2003).

1.1.2. Mik is az illóolajok?

Az illóolajok tömény hidrofób folyadékok, amelyek különböző komponensek keverékéből állnak, melyek már szobahőmérsékleten illékonyak, ezek gyógy- és fűszernövényekben találhatók meg. Jellegzetes ízük és illatuk van melyet még nagy hígítás esetén is lehet érezni (Alberts et al., 2005).

1.1.3. Előállításuk módja:

A növények különböző részeiben rejlő illóolajok nem mindig azonos minőségűek. Sok száz év tapasztalata alapján szedik le a gyógynövény termesztők ezeket a virágokat, hajtásokat, leveleket, gyümölcsöket éppen akkor, amikor a legtöbb és legjobb minőségű illóolajat lehet belőlük kinyerni.

Az illóolaj kinyerésének módszerei:

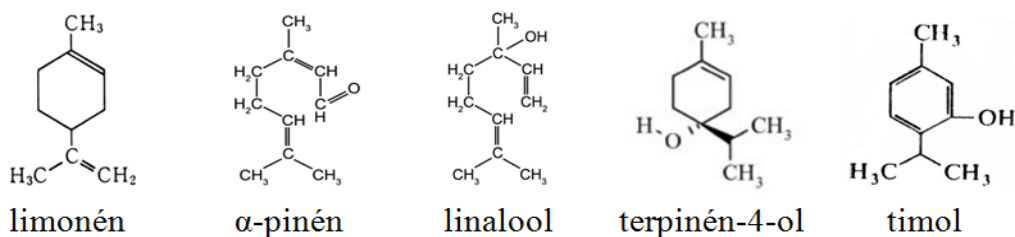
Lepárlás:

Az egyik leggyakoribb kivonási módszer a lepárlás, amely során forró gőzt áramoltatnak át a leszedett növényi részeken, amely kinyitja a sejtek közötti kis tokokat, ahol az illóolaj rejlik. A kis aromamolekulák hozzátapadnak a vízgőz részecskéihez és így folytatják útjukat csőrendszeren keresztül miközben fokozatosan hűtik a vizet. Az így lehűlt gőzből kiválik az illóanyag és a víz felszínén marad. Maga a víz is tele van hatóanyaggal, de sokkal gyengébb, mint maga az illóolaj, ezt nevezzük aromavíznek, virágvíznek vagy hidrolátumnak.

1.1.4. Az illóolajok összetétele:

Több mint 500 komponenst határoztak már meg összetételük vizsgálata során, egy-egy olaj akár 20-60 különböző vegyületből is állhat. Jellemzően az illóolajok kettő vagy három fő komponensből állnak, amelyek az összetétel 20-90%-át teszik ki. A többi komponens csupán csak nyomokban található meg az illóolajban. Többnyire ezek az alkotórészek felelősek az illóolajok tulajdonságaiért, de előfordulhat, hogy a legkisebb alkotórész is rendelkezik pl.: gyógyhatással. A fő alkotóelemeik a terpének azok izomerjei és a terpenoidok (oxigén tartalmú terpének). A terpének öt szénatomos izoprén egységekből felépülő vegyületek, amelye lehetnek nyílt és zárt láncúak (Krisch, 2012). Az éterhez hasonlóan könnyen párolognak, vízben nem, de benzinben és alkoholban jól oldódnak. Néhány illóolajban előforduló terpén: monoterpének (C₁₀) vagy szeszkviterpének (C₁₅), de kisebb mennyiségben lehetnek diterpének (C₂₀) és triterpének (C₃₀) is. Ezeken az alkotókon kívül alkoholok, aldehidek, ketonok, laktonok (gyűrűs észterek), észterek, kén- és nitrogéntartalmú vegyületek, fenolok és sok egyéb, még nem azonosított vegyületek is találhatóak az elegyekben. Az illóolajok összetétele, illata és hatása is növényenként változhat a földrajzi elhelyezkedés, időjárási viszonyok és a növényekben egyedien lejátszódó folyamatok függvényében (Tserennadmid, 2010).

Mivel többnyire drágák, ezért gyakran hamisítják őket. A hamisítványokhoz olcsó illóolajat (terpentint), alkoholt, ásványi olajt, zsíros olajokat, észtereket használnak (Frank-Kürti, 2003)



1. ábra: Néhány illóolaj alkotóelem

1.1.5. Illóolajok antimikrobiális hatása:

Az illóolajok antimikrobiális tulajdonsága már nagyon régóta ismert és nagyon sok kutatást végeztek és végeznek még most is ebben a témakörben. A növényi illóolajok antimikrobiális hatása nagyon széles skálán mozog a mikroorganizmusok ellen. Hatása kiterjed a baktériumokra, az élesztőkre és a gombákra (Burt, 2004). A mesterséges tartósítószeres és vegyszerek alkalmazása az élelmiszerekben a vásárlókból aggodalmat váltott ki az élelmiszer biztonsággal kapcsolatban. Ezért döntöttek úgy a kutatók, hogy az illóolajok alkalmazása megfelelő alternatívát nyújthat az élelmiszertartósításra. Kutatások bizonyítják, hogy a növényi illóolajok lehetséges tartósítószerként alkalmazhatók zsíros és félszíros sajtok esetén a *S. enteritidis* és a *L. monocytogenes* ellen (Smith-Palmer et al. 2001).

Hatásmechanizmusuk:

Főleg humanpatogén és élelmiszerromlást okozó mikroorganizmusokat vizsgáltak a kutatók, és általánosságban azt a következtetést vonták le, hogy az illóolajok a kórokozók szaporodását gátló hatást fejtenek ki. Megfigyelték, hogy a Gram pozitív baktériumok sokkal érzékenyebbek az illóolajokra, mint a Gram negatív baktériumok, valószínűleg ez a sejtfaluk szerkezetében lévő különbségre vezethető vissza. Gram negatív baktériumoknál a citoplazmát borító plazmamembránhoz kapcsolódik egy külső membránréteg, amely 1-3 féle biológiai membránból épül fel és ez a réteg egy védő gátat képez a baktériumok körül, megóvva őket a hidrofób illóolaj komponensektől. Mivel minden illóolaj más és más összetételű így a hatásmechanizmusuk is illóolajonként más és más. Elsődleges támadási pontjuk a sejthártya és/vagy a sejtfal; ebben szinte mindegyik megegyezik. A hidrofób komponensek beáramlanak a sejthártyába ezzel növelve a sejt áteresztő képességét így a sejtfelhérjék kicsapódnak és különféle sejt alkotóelem vegyületek áramlanak ki, majd a helyükre beáramlanak az illóolaj komponensek. A fenolos típusú vegyületeknél is ezt figyelhetjük meg:

Fája puha és balzsamos illatú. Levelei 6-21 mm hosszúak, tűszerűek, szúrósak és az ágaktól egyenesen elállóak. A növény ágain hármas csoportokban, örvösen helyezkednek el a kékes hamvas levelek. Áprilistól júniusig tart a virágzás. Porzós virága 4 mm nagyságú, és belőle több sárga porzó nyúlik ki. Termős virágai aprók, zöldek, levélrügyre emlékeztetőek. Termésszerű képződménye gömbölyű, elhúsosodott falú hamvas kék tobozbogyó. A bogyók első évben még zöldek, a második év végére liláskék vagy akár fekete színűek is lehetnek (Albert et al., 2005).

Előfordulás:

A borókát „észak ciprusának” nevezik, mivel voltaképp az egész északi féltekén, Európában és Észak- Amerikában fellelhető, megtalálható még Kelet-Kaukázustól egészen Észak-Szibériáig. A Kárpát-medencében is gyakori növényfaj (Dreyer és Dreyer, 2010).

Környezeti igény:

A boróka előszeretettel népesíti be a síkságokat, fenyőerdőket vagy a sovány legelőket tehát a sík területektől egészen az 1600 méteres magasságig képes megélni. A világos, száraz, meleg és tápanyagban szegény talajt kedveli. Minden boróka fajra jellemző, hogy rosszul tűri a szennyezett levegőt (Albert et al. 2005).

Történeti háttér:

A germánok az égő boróka ág füstjével védekeztek az ártó szellemek és rontások ellen. Ez a szokás a középkorig fennmaradt, akkoriban a pestist üzték ki a házakból ezzel a módszerrel (Albert et al. 2005). Az indiánok a fagyási sérüléseket kezelték a borókával, leveleiből tömjént készítettek (Bremness, 1998).

Felhasználása:

Dísznövényként szívesen alkalmazzák kertek díszítésére. Hosszú ideje használják fűszerként egészben vagy őrölve főleg vadhúsok és mártások ízesítésére. Készítenek belőle lekvárt és párlatot is mellyel a gint ízesítik. A boróka illóolajat a közönséges boróka érett álbogyóiból vízgőz desztillációval nyerik ki, mintegy 2-3%-os hozammal. Olaja színtelen vagy halványsárga színű, fűszeres és a terpénekre jellemző illatú, fűszer és likőresszenciaként alkalmazzák. A lepárlás során keletkezett olaját és a visszamaradó fekete kátrányt már az egyiptomiak is használták balzsamozásra és testápolásra. Régen barna festéket előállítására alkalmazták (Bremness, 1998). Manapság rovarirtó- és illatszereknek alapanyaga. Faanyaga közepesen kemény, tartós, kellemes illatú és jól megmunkálható így előszeretettel készítenek belőle dísz tárgyakat (aromax.hu).

Gyógyhatása:

A Magyar Gyógyszerkönyv szerint a borókaolaj fertőtlenítő, antimikrobiális, gyulladáscsökkentő, köptető, vízelhajtó és keringést fokozó hatásokkal rendelkezik. Emellett érett bogyójából lekvár is készítenek melyet az epe- és a veseműködésének serkentése céljából fogyasztanak. Kozmetikai és terápiás célokra való alkalmazása is széles körben elterjedt. A borókaolaj enyhén irritáló, nem toxikus és nem foto toxikus. A boróka terméséből készült illóolaj baktérium- és gombaellenes hatására már több kutató is felfigyelt és sok szakirodalomban említést is tesznek róla (aromax.hu). A lengyelországi kutatók 3 féle boróka illóolajat illetve az olajok különböző alkotóelemeinek gomba- és baktériumellenes hatását vizsgálták olyan kórokozókkal szemben, amelyeket egy kórház betegeiről oltottak le, és ezek ellenálltak az alkalmazott antibiotikus kezeléseknek. A három olajminta közül csak az egyik bizonyult hatásosnak. A vizsgált kilenc illóolaj komponensek egyike sem mutatott erőteljesebb gátló hatást az illóolajokénál. Ezen eredményekből arra lehetett következtetni, hogy az illóolajok antimikrobiális hatása a különböző összetevőktől és azok arányától függ, vagy egy még nem azonosított alkotótól. Abban az olajban, amely a legnagyobb gátlóhatást fejtette ki az α - és β - pinén, valamint a para-cimén volt jelen nagy mennyiségben (Filipowicz et al., 2003).

1. táblázat: Boróka illóolaj hatóanyagai és azok százalékos aránya

(<http://aromax.hu/hu/termekeink/reszletek/borokaolaj/>)

Boróka illóolaj alkotók elnevezése	Százalékos mennyisége az olajban
α - pinén	40%
β -pinén	7%
Mircén	12%
Szabinén	5%
Limonén	3%
terpinén-4-ol	6%

Majoránna (*Origanum majorana*)

Rendszertani besorolás: <http://hu.wikipedia.org/wiki/Major%C3%A1nna>

Ország	Növények (<i>Plantae</i>)
Törzs	Zárvatermők (<i>Magnoliophyta</i>)
Osztály	Kétszikűek (<i>Magnoliopsida</i>)
Rend	Ajakos virágúak (<i>Lamiales</i>)
Család	Árvacsalánfélék (<i>Lamiaceae</i>)
Nemzetség	<i>Origanum</i>
Faj	<i>Origanum majorana</i>

Botanikai leírása:

A majoránna félig fagytűrő, évelő, két- vagy egynyári fűszernövény. Akár fél méter magasra is megnőhet. Levelei tojásdad alakúak, a fiatalabb levelek szőrös felszínűek, az idősebb levelek meggyipiros színűek. Virágfüzérei csaknem gömb alakúak, nagyon tömötten álörvökben nyílnak. Virágai rózsaszínek nagyon ritkán fehérek, mint egy 4 mm hosszúak.

Előfordulás:

A majoránna a mediterrán területeken főleg a Földközi-tenger partvidékén őshonos növény, de hazája Észak-Afrika és Délnyugat-Ázsia is. Főleg fűszernövényként termesztik, de el is vadulhat. Nálunk csak egyéves fűszernövényként találhatjuk meg (www.gyogynovenyhatarozo.hu).

Környezeti igény:

A mediterrán éghajlatú jó vízelvezetésű terület kedveli (Alberts et al., 2005).

Felhasználása:

A növény föld feletti virágos, leveles szárát hasznosítják. A majoránna e részeit évente kétszer, július-augusztus folyamán gyűjtik be. A jól kezelt majoránna kékeszöld színű, egyenletesen morzsolt, erősen aromás, kellemes illatú, kesernyész ízű. Illóolajat, keserű anyagot, csersavat tartalmaz. Felhasználható levesek, főzelékek, mártások, húsételek ízesítésére. A vadhúsok és egyéb húsételek ízesítésére azért is alkalmas, mert erőteljes aromájával tompítja vagy elveszi a húsok mellékízét. Az illóolajat a virágból bimbós vagy virágzás kezdetén lévő száraz hajtásból vízgőz desztillációval nyerik ki. Az első betakarításkor az illóolajhozam 0,5-1 % körül van, a másod

virágzás során gyűjtött morzsolt földfeletti rész esetében 3 % hozam (Wenszkly, 2004). Az illóolaj halványsárga, sárgászöld, vagy borostyán sárga színű, fűszeres átható illatú folyadék. A majoránna az egyik legkedveltebb fűszernövényünk, melynek olaját nem csak az élelmiszeriparban, hanem a kozmetikai iparban és a gyógyszerészetben is használják. Száraz hajtását illatosító zacskókba-vízbe teszik, de régen a tölgyfaparketta tisztítására fényezésére használták. A hígított olaját vagy az olaj egyes kellemes illatú komponensét férfiparfümök alkotórészeként is alkalmazzák (Alberts et al., 2005).

Gyógyhatása:

A majoránna illóolaj legfontosabb hatásai: fertőtlenítő, antimikrobiális, nyugtató, emésztő- és idegrendszer tonizáló, fájdalomcsillapító. Az illóolaj külsőleg használva enyhén irritáló, nem érzékenyítő és nem fototoxikus (aromax.hu). A majoránna étvágygerjesztő, gyomorerősítő hatású fűszer ezért gyógyteák elengedhetetlen kelléke. Teáját fejfájás, köhögés ellen és légzőkönnyítés céljából ajánlatos fogyasztani. Illóolajával a reumás testrészeket kezelik, ezt kenőcs vagy bedörzsölő szer formájában viszik fel a fájó testfelületre (www.gyogynovenyhatarozo.hu). Az alábbiakon felül a majoránna kiváló antioxidáns is, régen a disznósír megavasodása ellen majoránnát adtak a zsiradékhoz (Alberts et al., 2005).

Vigyázni kell, a majoránnatea hosszú ideig történő fogyasztásával, mert az érzékenyeknek fejfájást, rosszullétet okozhat. Ennek az oka, hogy a majoránna kis mennyiségben, de tartalmaz fenol-glikozidokat ezek okozzák a rosszullétet. A majoránna kenőcs használatát nem ajánlják csecsemők és kisgyermekes esetében mivel még nem tisztázott okok miatt a bőr depigmentációját okozhatja (www.gyogynovenyhatarozo.hu).

2. táblázat: A majoránna illóolaj hatóanyagai és azok százalékos összetétele

(<http://aromax.hu/hu/termekeink/reszletek/majorannaolaj/>)

Majoránna illóolaj alkotók elnevezés	%-os mennyiségük az illóolajban
terpinén-4-ol	10-25%
terpinén	5-20%
1,8 cineol	5-10%
szabinén	5-10%
linalool és linalil-acetát	összesen kb. 10%

1.1.7. Az illóolajok felhasználása élelmiszerekben:

Megnövekedett a fogyasztók igénye a hosszú ideig eltartható és a friss, minimálisan feldolgozott, természetes tartósítószeret tartalmazó élelmiszerek iránt. Számos módszerrel megvalósítható ez az elvárás, de a legelfogadottabb az illóolajos tartósítás, melynek vannak előnyei és hátrányai is. Az élelmiszer fő alkotóelemei a víz, fehérje, lipidek és szénhidrátok. Kémiai és fizikokémiai kölcsönhatások jönnek létre az illóolaj és az élelmiszeralkotók között, mint például hidrofób kölcsönhatás, kovalens-, ionos- és hidrogénkötés. Ezen kapcsolatok létrejötte nagyban függ az illóolaj és az élelmiszer természetétől, de a környezeti körülmények is nagyban befolyásolják, úgy, mint hőmérséklet, pH-érték.

Az illóolajok jól oldódnak az élelmiszerek zsírfázisában, így azok nem érik el a vizes fázisban lévő mikrobákat. Ezért kell nagyobb koncentrációban alkalmazni őket, mint normál tápoldat esetén, azonban a magas koncentráció károsíthatja a terméket. Ezen káros hatások elkerülése érdekében próbálnak megoldást találni pl.: különféle illóolaj kombinációk alkalmazásával. Az élelmiszer szénhidrát mennyisége nem befolyásolja nagyban az illóolajok hatását (Krisch et al., 2011).

Az illóolajok antimikrobiális hatását főleg gyümölcsök tartósításában alkalmazzák. Nagy mennyiségben használják a citrusfélék illóolaját gyümölcslevek és pürék tartósítására. Az illóolajok tartósító hatását a leginkább romlékony állati eredetű élelmiszerekben, így például tej, hal, darált hús, illetve a belőle készült kolbász esetében próbálták ki. Az állati eredetű termékek esetében nagyobb koncentrációban kell alkalmazni a növényi kivonatokat, mert a húsban lévő fehérje és zsír és a tejben lévő tejszír és tejfehérje befolyásolja a hatásukat. Az illóolajos tartósító eljárást gyakran alkalmazzák együtt vákuum vagy módosított gázösszetételű csomagolási technikákkal és hűtéssel (Tserennadmid, 2010).

Illóolajok és általánosságban a fehérjék:

A fehérjék hidrofób részei, kölcsönhatásba lépve az illóolaj molekulákkal, megkötik azokat, így csökkentik azok sejtmembránokra gyakorolt hatását.

A fehérjék és az illóolaj komponensek között reverzibilis és irreverzibilis kölcsönhatások jöhetnek létre. Reverzibilis kapcsolat hidrogén-kötés és hidrofób kölcsönhatás esetén jön létre. A hidrofób kölcsönhatás a szénhidrogének, ketonok, észterek és az alkoholok jellegzetessége, míg a hidrogén-kötés vagy a kovalens kötés az aldehideké. A fehérjék konformációja nagyon fontos tényező a kötési helyek szempontjából. Fontos befolyásoló tényező a fehérje: szerkezete, töltése,

koncentrációja, konformációja és hidrofób zsebeinek száma, amelyekkel a komponenseket le tudja fogni. A külső tényezők is befolyásolják a fehérje és az illóolaj között létrejövő kölcsönhatás erősségét ilyen pl.: pH-érték, só-koncentráció, hőmérséklet. A fehérjék alsó és felső izoelektromos pontjai különböző töltéseket eredményeznek a proteineknek, amelyek fontos szerepet játszhatnak az ionos-kötés erősségében. A pH változása befolyásolja a fehérjék konformációját ennek köszönhetően sokkal megközelíthetőbb helyeken jönnek létre a kötések, mint azelőtt. A protein koncentráció nagy hatással van a megkötő képességre. Megfigyelték, hogy az állati eredetű fehérjék (tej, hús) és az illóolaj komponensek között erősebb kötés alakul ki, ezáltal olajok hatékonysága csökkent. Előfordult azonban, hogy a magas fehérje koncentráció növelte az általuk vizsgált illóolajok hatásfokát.

Széles körben tanulmányozták a tejfehérjék és az illó aromaanyagok között létrejövő kapcsolatot. A kötőképesség az alábbi sorrendben csökken: BSA > β -laktoglobulin, > α -laktoglobulin. A savófehérje és a kazein fehérjék kötőképessége közötti különbség még nem tisztázott. A β -laktoglobulin hidrofób zsebekkel rendelkezik, amely apoláris molekulák számára kötőhelyet biztosít. Nő a proteinek illóolaj hatóanyag megkötő képessége, ha a komponensek alkoholok, ketonok, vagy aldehidek. α -laktoglobulin csak nagyon gyengén kötődik aldehidekhez vagy a ketonokhoz. BSA kötéserősség szerint az alábbi sorrendben kapcsolódik az illóanyag komponensekhez: aldehidek > ketonok > alkoholok. Beszámoltak arról is, hogy néhány aldehid kovalens kötéssel kapcsolódott a nátrium-kazeinához. A nátrium-kazeinát két kötőhellyel rendelkezik, az egyik erős a másik gyengébb kötőképességgel bír. Az aromaanyagok megőrzését nagyban befolyásolja a nátrium-kazeinát koncentrációja: alacsony koncentráció esetén az illóanyag komponensek az erősebb kötőhelyekhez kapcsolódnak, azonban nagyobb koncentráció esetén fehérje-fehérje kölcsönhatás léphet fel, ebben az esetben a komponensek csak a gyengébb kötőképességű helyekhez tudnak kapcsolódni.

A savó fehérjében lévő proteáz-pepton frakció egy elegy, amely hőstabil, savban oldható peptonok, gliko- és foszfoproteinek alkotják, amely jó emulgeáló képességgel rendelkezik. Az illóanyag komponens megőrző képessége arányosan nő az illóolaj alkotók hidrofób tulajdonságának növekedésével. Megfigyelték, hogy 3,8-as pH-nál nagyobb az aromamegkötő képesség, mint a semleges pH értéknél (Krisch et al. 2011).

Kutatók vizsgálták a kakukkfű illóolaj antimikrobiális tulajdonságait a *Salmonella* Typhimurium ellen normál és BSA-t tartalmazó tápközegben. Megállapították, hogy míg a normál tápoldatban csökkent a *Salmonella* Typhimurium száma addig a BSA tápoldatban a savófehérje teljesen semlegesítette a kakukkfű olaj hatását. Ezt azzal magyarázták, hogy a BSA képes gátolni a

komplexxképződést az illóolaj fenolos alkotóeleme és a baktérium membrán fehérjei között, mert a fenolos komponenshez amino- és hidroxilamin csoportok kapcsolódtak (Juven et al., 1994).

Illóolajok alkalmazása tejben és tejtermékben:

Nagyon sok tényezőt kell figyelembe venni, amikor növényi illóolajokat alkalmazunk valódi élelmiszerekben az antimikrobiális tulajdonságaikat kihasználva pl.: a hatóanyag mennyiségét, az élelmiszeralkotókat, ezeknek hatását a fogyasztóra és magára az élelmiszerre is. Azért, hogy jobban megérthessék milyen kölcsönhatások játszódnak le az élelmiszer és az illóolaj komponensek között különféle élelmiszereket mintázó tápközegeket fejlesztettek ki. Ezek a modellek laboratóriumi tápközeg alkotóelemekből állnak, kiegészítve különféle élelmiszer komponenssel, minden modell más-más komponens és élelmi nyersanyag keveréke. Ezt követően a kutatások tovább folytatódtak, de ott már valódi élelmiszereket használtak fel tápközegként.

Egy példa a valódi élelmiszerekkel végzett vizsgálatokra:

A szegfű és a fahéj olajt vizsgálták *Listeria monocytogenes* ellen félig-főlözött és teljes tejben, különböző hőmérsékleti körülmények között. Megállapították, hogy a főlözött tejben alacsony hőmérsékleten sokkal nagyobb az antimikrobiális hatása az illóolajoknak ezt a sejt membrán nagyobb fluiditásával és az illóanyagok jobb membránzavar-okozó hatásával magyarázták. Azonban a teljes tejben az illóanyagok mikrobaelenes hatása csökkent, még alacsony hőmérsékleti körülmények között is. A vizsgálatokat elvégezték zsíros és zsírszegény sajtokon is és így nyilvánvalóvá vált, hogy a termékek zsírtartalma nagy hatással van az illóolaj hatékonyságára a tejben és tejtermékekben. Felfigyeltek arra is, hogy a tejfehérjék jelenléte is maga után von egy bizonyos szintű antimikrobiális hatás csökkenést, az illóolaj komponensek feloldódnak a zsír fázisban és/vagy hozzákötődnek egy tejfehérjéhez így csökken a közvetlen kapcsolat a mikroorganizmus sejtfélfével (Krisch et al., 2011). Ezek az eredmények lehetővé tették, hogy illóolajokat alkalmazzanak tejitalok természetes tartósítószerként kiváltképp, azért mert a fahéjjal és szegfűszeggel ízesített italokat világszerte fogyasztották és az utóbbi években egyre csak nőtt a népszerűségük (Cava et al., 2007).

1.2. Vizsgált Mikroorganizmusok jellemzése

1.2.1. *Gram pozitív baktériumok:*

Bacillus cereus:

Bacillus nemzetség egyik leggyakoribb faja a *B. cereus*, endospórát képző, pálcika formájú, Gram pozitív baktérium, amely tokot nem képez és csillós. Fakultatív anaerob szervezet, talajban, levegőben, felszíni vizekben egyaránt előfordul (Gerő, 2011). Földrajzi elterjedését tekintve kozmopolita ez a baktérium (Helmeczi, 1994). Egyes ételekben (pl. rizs, burgonya, húsfélék) elszaporodva csoportos vagy tömeges ételmérgezést okozhat. A megbetegítéshez több mint 10^5 darab sejt szükséges az élelmiszer 1 grammjában. A kórokozó két féle enterális kórképet okozhat. Ennek oka az, hogy a mikroorganizmus kétféle enterotoxint képes termelni. A hasmenéssel járó kórformát elsősorban a baktériummal szennyezett húsételek és zöldségek okozzák. A hányásos kórképet pedig a nem megfelelően tárolt vagy nem megfelelő konyhatechnikával elkészített rizs elfogyasztása okozza (Ádám et al., 2006). Veszélyes, ha három órán túl elhúzódik a tárolás és 63°C alá hűl az étel. Megelőzéséhez nélkülözhetetlen a megfelelő higiéniai szabályok betartása és a jó hőkezelés. Ételromlást elsősorban gabonaféléken (rizs), szárítmányokban, tejtermékekben okozhat (Gerő, 2011). *B. cereus* érdekessége, hogy képes bizonyos rovarokat megfertőzni, ezért például a káposzta levélrágó kártevői elleni szert állítanak elő a baktériumból (Helmeczi, 1994).

1.2.2. *Gram negatív baktériumok:*

Escherichia coli:

Az *E. coli* a legelterjedtebb fertőző organizmus a Gram negatív *Enterobacteriaceae* baktériumok családjában. A baktériumot 1885-ben mutatta ki humán bélből egy német gyermekorvos és mikrobiológus Theodor Escherich. A kutató rámutatott arra, hogy az *Escherichia coli* a felelős sok esetben a gyomor- és bélnyálkahártya gyulladásért, amely egy fontos közegészségügyi felfedezés volt (www.about-ecoli.com). A nem patogén törzsek a normál emberi és állati aerob bélflóra domináns egyedei, születés után a tápcsatorna alsóbb szakaszában telepsznek meg. Jelenlétük megnehezíti egyes kórokozók elszaporodását a bélrendszerben. B- és K₂-vitamint termelnek, ezzel járulnak hozzá a szervezet vitamin ellátásához. Az *Escherichia coli* törzsek átmenetileg még megtalálhatók a bőrön, a garat nyálkahártyáján és a külső női nemi szerveken (Ádám et al., 2006).

Ez a baktérium a legtanulmányozottabb mikroorganizmus, évtizedek óta biokémiai, genetikai és géntechnológiai kísérletek alanya. A sejtek peritrich csillókkal mozognak. Szabályos, egyenes apró pálcikák a sejtek, 2µm hosszúak és 0,5 µm átmérőjűek (Tserennadmid, 2010). A víz-, és élelmiszer-mikrobiológiai vizsgálatoknál a fekáliás szennyeződések fő indikátora az *E. coli*. Fejlődő országokban fordul elő elsősorban ez a fertőzés (Gerő L. 2011).

Az *E. coli* által okozott megbetegedések két fő csoportra oszthatók:

- extraintestinális kórkép
- enterális kórkép.

Az extraintestinális megbetegedések esetén az *E. coli* nagyon sok virulencia faktoral rendelkezik mellyel képes bármely szervet megbetegíteni. Két csoportja van:

- újszülöttek meningitisze
- egyes szervek (akár gennyes) gyulladása

Az enterális kórokozóknak 5 csoportja van:

- „Enteropatogén *E. coli* = EPEC – csecsemők vizes hasmenését okozza, főleg a vékonybelet támadja meg, akár kiszáradáshoz is vezethet.
- Enteroinvazív *E. coli* = EIEC – a vastagbelet támadja meg, a dizentériához hasonló tüneteket, vizes, véres hasmenést okoz. Minden korcsoportot megbetegíthet.
- Enterotoxikogén *E. coli* = ETEC – hőlabilis és hőstabil toxint is termel. A toxinok a vékonybélben hatnak, vizes, koleraszerű hasmenést okoznak, ami az „utazók betegsége” elnevezést kapta (Fenyvessy 2007).
- Enterohemorragiás *E. coli* = EHEC – vérzéses bélgyulladást okoz, gyakran húgyúti vérzéses gyulladással együtt. Elsősorban a nem kellőképpen hőkezelt hús- és tejkecszítményekben fordul elő.
- Enteroaggresszív *E. coli* = EaggEC – Ezeket a törzseket vizes és krónikus hasmenéssel hozták összefüggésbe (Ádám et al. 2006)

1.2.3. Élesztő gombák:

Geotrichum candidum:

Endomycetaceae családba tartozó élesztő. A *Geotrichum candidum* fajt tejpenésznek is nevezik. Sarjadzó gombára emlékeztető, kissé száraz felszínű, fehér telepeket hoz létre. Nem képez sarjadzó sejteket, hanem a fonalai téglalap alakú artrospórákra esik szét. *G. candidum* ivaros alakja

tömlős, melyek a harántfalán nem valódi pórusok, hanem mikropórusok találhatók. Ez a gombafaj nem valódi fonalas gomba csak fonalas növekedést mutat, inkább az élesztőkkel áll rokonságban. Extracelluláris lipáz enzim termelése jelentős. Ez a lipáz képes a glicerint bármely szénatomjáról lehidrolizálni a zsírsavat (Jakucs és Vajna, 2003).

A *Geotrichum* fajokat megtalálhatjuk természetes társulásokban és az egészséges ember testfelületén. *G. candidum* a legismertebb faja, gomba vagy penész is lehet, amely őszibarackon, paradicsomon vagy sárgarépan okoz savanyú rothadást. Gyakran izolálják állati termékből (tejből, tejtermékből), gyümölcsökből és szennyvizekből. A tej, tejföl, krémsajt keseredését okozhatja. A laktózt és a tejsavat tápanyagként képes hasznosítani, ezen kívül bontja a fehérjéket és a zsírokat. A tejiparban sajt érleléshez szokták felhasználni, például a Camembert sajt bársonyos felszíne is ennek a gombának köszönhető. A *G. candidum* D-3-fenilecetsavat termel, és ez által gátolja a *Lysteria monocytogenes*-szel, illetve bizonyos gombákkal való fertőződést (Tserennadmid R. 2010).

Megvizsgálták a kutatók, hogy egyes gombafajok mely környezetszennyező anyag lebontására képesek. Megállapították, hogy a *Geotrichum candidum* kiválóan lebontja a fenolt és annak származékait, ezért a gomba az élelmiszeripari szennyvizek tisztítására alkalmas és környezetkímélő megoldás lehetne (Jakucs és Vajna, 2003).

1.2.4. Fonalas gombák:

Penicillium frequentans:

Penicillium (ecsetpenész) faj- és egyedeinek száma a mérsékelt égöv alatt nagyon magas. Élelmiszereken, szerves anyagokon a leggyakoribb penész. A raktári flóra fő képviselője ez a nemzetség. A különböző, leggyakrabban kékeszöld (penészzöld) színű penésztelepekből nagy számban emelkednek a levegőbe a konídium-tartók, melyek ecsetszerűen elágaznak. A végső ágakon, rövid nyelecskéken (sterigmákon) sorokban fűződnek le a konídiumok. Ezek gömb alakú, különböző színű, vékony falú, ivartalan szaporító sejtek. Az ide tartozó fajok számos enzimet termelnek, például: maltáz, amiláz, lipáz, proteáz. A *Penicillium*-ok kis része ivarosán termőtestet (perithecium) hoz létre, melynek belsejében vannak az aszkuszok és ezekben az aszkospórák. A kékeszöld *Penicillium*-okat összefoglaló neve *Penicillium glaucum* ez nem egy faj, hanem fajcsoport elnevezése.

A természetben nagyon elterjedtek előfordulnak talajban és trágyában. A talajban a cellulóz és a fehérjebontásban vesznek részt. Élelmiszereken, így kenyéren, befőttéken a leggyakrabban előforduló penész, ezek lehetnek hasznosak és károsak. Gyümölcsökön is gyakori, főleg a

raktározott gyümölcsökön, melyek belsejében lágy, nedves, világosbarna, dohos ízű rothadást indít meg. A gyümölcs felületén, a barna foltokon eleinte fehér, később kékeszöld penészfolt jelenik meg. Szőlőn nedves időben a fürtökön jelentkeznek. Az elvetett magokat is megpenészesíti. Védekezés: permetezés, száraz, hűvös helyen történő raktározás. Számos *Penicillium* fajt íz és zamatanyagai miatt felhasználnak az élelmiszeriparban főleg sajtgyártásban. A gyógyszeriparban is alkalmazzák őket penicillin előállításra (Helmeczi, 1994).

1.3. Felhasznált tejporok

1.3.1. A tejfehérjékről általánosan:

A fehérjék aránya a tehéntejben kb. 3,1-3,4 %. A fehérjetartalom általában 0,3-0,5 %-kal, mint a zsírtartalom. A tej fehér színét a benne lévő tejfehérjék okozzák. A tejben két nagy fehérjecsoportot különböztetünk meg, amelyek további összetevőkre bonthatók:

- Kazein fehérjék: foszfor tartalmú fehérjék, az összes fehérjetartalom kb. 80 %-át adják. A kazeinek nem egységes fehérjék, elektroforézissel négy fő frakcióra: α -, β -, γ -, és κ -kazeinre és ezeken belül még alfrakciókra bonthatók. Jellemzője, hogy sav (4,6 pH-nál) és oltó hatására denaturálódnak, ezzel a tej alvadását okozzák. Az α -frakciók kalcium- ionnal kicsapható frakciók, míg a κ -kazeinek nem érzékenyek alacsony foszfor-tartalmuk miatt. Ez utóbbi komponensek stabilizálják a tejfehérjék micelláris szerkezetét. A kazein frakciók jellemzőikben, aminosav összetételben, foszfor-tartalomban valamint mol tömegükben jelentősen eltérnek egymástól. A kazeinek szerkezetében nincsenek hélixes vagy redőzött szakaszok ezért nem denaturálódnak és nagyon könnyen emészthetők. A kazein számos tejtermék (savanyútej-készítmény, sajt, túró) fő alkotórésze és szerkezetének meghatározója. Kazein készítményeket használnak egyes hentesárukban vízkötő és emulgeáló anyagként.

- Savó fehérjék: legtöbbjük sav és oltó hatására nem denaturálódik, hőre viszont érzékenyek. A hődenaturáció kb. 60°C-tól kezdődik, 90°C felett válik jelentősebb mértékűvé. A sajtfélék gyártásakor jelentős mennyiségű édes, vagy savanyú savó keletkezik, amellyel a savófehérjék nagyobb része eltávozik. Egyes termékeknél a magas hőmérsékletű hőkezeléssel (85-92°C) csökkentik a savófehérjék eltávozását azáltal, hogy a denaturált fehérjék részben be tudnak épülni az alvadék szerkezetébe. Hasonló módszerrel lehet visszanyerni további felhasználásra a savófehérjéket és ezt a jelenséget használják a savósajtok kiegészítésénél is.

A savófehérjék fő összetevői:

- vérszérum albumin
- laktalbumin (hő hatására könnyen kicsapódik)
- α - , β -laktoglobulin (ellenanyag mennyisége a fröccstejben sok)
- immunglobulinok
- Egyéb fehérjék, membrán és burokfibrinok: az összes fehérje mindössze 1%-t adják.

Globulárisak, oltó hatására nem, de 100°C-on kalcium-ionok jelenlétében és sav hatására (4,6 pH alatt) kicsapódnak. Fontosak, mint másodlagos emulgeátorok (Fenyvessy és Csanádi, 2007).

1.3.2. Az általunk használt tejporok:

Kazein koncentrátumok:

- MPC-80= 80%-os tejfehérje koncentrátum
- MPI-85= 85%-os tejfehérje izolátum
- MCN-85= 85%-os kazein micella tartalmú tejfehérjepor

A következőkben a tejporokat a rövidítéseik alapján fogom megemlíteni.

Általános jellemzőjük, hogy mind a három tejpor fehér színű nagyon finom púderszerű, kellemes ízű és illatú anyag. Fizikai, kémiai és mikrobiológiai tulajdonságaik megegyeznek, és mikroorganizmusoktól és egyéb szennyeződésektől mentesek. A vizsgált tejporok tejfehérje és laktóz tartalmában térnek el egymástól és ezt az alábbi táblázat szemlélteti.

3. táblázat: Az általunk használt tejporok jellemzői a Sole Mizo Zrt. szállító levele alapján

Összetevők (g/100g)	MPC-80	MCN-85	MPI-85
Fehérje (TNx6,38)	min. 80	min. 85	min. 85
Fehérje (TNx6,38) szárazanyagban	min. 85	min. 90	min. 90
Víz	max. 5,5	max. 5,5	max. 5,5
Zsír	max.2,0	max. 2,0	max. 2,0
Hamu	max. 8,0	max. 8,0	max. 8,0
Laktóz	-	max. 1,0	max. 1,0

A BSA tejfehérje egy csillámos hatású, szürkésfehér színű, pehelyszerű anyag. Borjú szérumból állítják elő kettős frakcionálással. Zsírsvartartalma közelít a nullához, ezért rendkívül jó oldódik vízben. Enzimaktivitás és endotoxin nem fedezhető fel benne.

4. táblázat: Az albumin EIA és RIA grade tulajdonságai

BSA jellemző paramétere	Mennyisége (%)
Proteázok	0%
Fehérje	98%
pH (1%, 0,15 M NaCl, 20°C)	7,2
Nehézfém	max. 0,0001%
Hamutartalma	max. 2%
Száradási veszteség	max. 3%
Zsírsav	max. 0,01%
Immunglobulin	0%

2. Anyagok és módszerek

2.1. A kísérlet célja:

A minimális gátló koncentrációt (MIC) abban az esetben keressük, ha már beigazolódott az adott illóolajról, hogy rendelkezik antimikrobiális tulajdonsággal. A MIC azt a koncentrációt jelenti, melynél először nem tapasztalunk növekedést. Ezek után az adott koncentrációból és az azt követőből leoltunk a megfelelő táptalajra. Abban az esetben, ha növekedést tapasztalunk a táptalajon, akkor a MIC értéke sztatikus, azaz csak leállítja a mikroorganizmusok szaporodását, de anyagcserét továbbra is folytatnak. Ha nem tapasztalunk növekedést a MIC értéke cídikus. A cídikus érték az, ahol elpusztulnak, a mikroorganizmusok ennek két fajtája van: MBC azaz minimális baktericid koncentráció, illetve MFC minimális fungicid koncentráció.

- Az illóolajok *in vitro* gátló hatása tápoldatban, a MIC (minimális gátló koncentráció) meghatározása.

- Az illóolajok *in vitro* gátló hatása különböző tejfehérjével kiegészített tápoldatban, a MIC meghatározása.

(A továbbiakban a minimális gátló koncentrációt = MIC, a minimális baktericid koncentrációt = MBC és a minimális fungicid koncentrációt = MFC rövidítéssel fogom megemlíteni.)

2.2. Felhasznált anyagok:

2.2.1. Alkalmazott tejfehérjék:

- Felhasznált kazein fehérje koncentrátumok csökkenő kazein tartalom szerinti sorrendben:

- MPI-85
- MCN-85
- MPC-80

Mindegyik kazein koncentrátumot forgalomba hozza: Sole Mizo Zrt.

- BSA (Albumin EIA and RIA grade)

Forgalomba hozza: Applichem GmbH

2.2.2. Felhasznált mikroorganizmusok:

Baktériumok:

- Gram negatív: *Escherichia coli*
- Gram pozitív: *Bacillus cereus*

Élesztőgomba:

- *Geotrichum candidum*

Fonális gomba:

- *Penicillium frequentas*

2.3. Az alkalmazott tápoldatok és a táptalajok receptjei:

2.3.1. TGE táptalaj/1000ml (*B. cereus* számára):

- glükóz: 10 g
- hús-pepton: 5 g
- élesztőkivonat: 2,5 g
- agar-agar: 10 g
- desztillált víz: 1000 ml

2.3.2. LB táptalaj/1000ml (*E. coli* számára):

- kazein-pepton: 10 g
- NaCl: 10 g
- élesztőkivonat: 5 g
- agar-agar: 10 g
- desztillált víz: 1000 ml

2.3.3. Malátás táptalaj/1000 ml (*G. candidum* és a *P. frequentans* számára):

- glükóz: 10 g
- malátakivonat: 10 g
- élesztőkivonat: 5 g
- agar-agar: 10 g
- desztillált víz: 1000 ml
- A tápoldatok azonos receptúra alapján, az agar-agar elhagyásával készítettük.

2.4. Felhasznált illóolajok:

- *Origanum majorana* – Édes majoránna
- *Juniperus communis* – Közönséges boróka

Mind a két illóolajat kereskedelmi úton szereztük be. Az illóolajok vegytiszta, hígítatlan gyógynövény minőségűek. Forgalomba hozza: Aromax Zrt.

2.5. Módszerek:

Minimális gátló koncentráció (MIC) meghatározása makrodilúciós módszerrel:

2.5.1. Mikroorganizmusok előkészítése:

Leoltottuk ferdeagarról tápoldatba a *Bacillus cereus*-t és *Escherichia coli*-t 24 órával és a *Geotrichum candidum*-ot és a *Penicillium frequentans*-t 48 órával a kísérlet kezdete előtt.

2.5.2. Tápoldatok készítése:

A fenti receptúra szerint elkészítettük a normál TGE, LB és malátás illetve a tejfehérjés tápoldat, ahol a peptont kicseréltük 0,5% tejfehérjére. A malátás tápoldathoz pluszként adtunk 0,5% tejfehérjét.

2.5.3. Illóolaj törzsoldatok készítése:

A törzsoldatot a megfelelő tápoldatban készítettük el, amihez még hozzáadtunk 1% Tween 80-as emulgeáló szert. 500 µl illóolaj + 4500 µl tweenes tápoldatot (100 µl/ml koncentráció) mértünk össze.

2.5.4. Kísérleti elrendezés:

Steril, kupakos kémcsövekbe összemértük a táblázat szerinti elegyet, majd inkubáltuk 30°C-on (gombák, *B. cereus*), ill. 37°C-on (*E. coli*) 24 óráig. Három párhuzamossal dolgoztunk. Inkubáció után értékeltünk. A makrohígítási módszernél szemmel állapítottuk meg zavarosságot vagy annak hiányát. Az a koncentráció a MIC, ahol nincs szemmel látható növekedés, zavarosodás.

2.5.5. MIC fajtájának meghatározása:

A MIC gyanús elegyekből koncentrációnként 2-öt megfelelő táptalajú táptalajra leoltottunk, így meg tudtuk állapítani a MIC típusát.

5. táblázat: A tejfehérjementes, normál TGE, LB, és malátás tápoldat összemérésének paraméterei

Illóolaj koncentráció ($\mu\text{l/ml}$)	Tápoldat (μl)	Illóolaj törzsoldat (100 $\mu\text{l/ml}$)	Inokulum ($10^6/\text{ml}$) (μl)
0	1900	0	100
0,5	1890	10	100
1	1880	20	100
2	1860	40	100
4	1820	80	100

6. táblázat: Tejfehérjés tápoldatok összemérési táblázata

Illóolaj koncentráció ($\mu\text{l/ml}$)	Tápoldat (μl)	Illóolaj törzsoldat (100 $\mu\text{l/ml}$)	Inokulum ($10^6/\text{ml}$) (μl)
0	1900	0	100
2	1860	40	100
4	1820	80	100
8	1740	160	100
16	1580	320	100
32	1260	640	100

3. Eredmények és értékelés

7. táblázat: Összefoglaló táblázat adott tejfehérje koncentrátumok esetében mely illóolaj koncentrációknál (µl/ml) jelent meg a MIC:

Baktériumok és gombák + illóolaj	Kontrol minta		MCN-85		MPI-85		MPC-80		BSA	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
<i>B. cereus</i>										
boróka	2	2	8	16	8	16	8	8	8	>32
majoránna	1	2	8	8	8	8	8	8	8	8
<i>E. coli</i>										
boróka	2	2	8	16	8	16	8	16	8	>32
majoránna	2	2	8	8	8	8	8	8	8	8
<i>G. candidum</i>										
	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC	MIC	MFC
boróka	2	2	16	32	8	16	16	32	8	>32
majoránna	2	>4	8	8	8	32	8	8	8	8
<i>P. frequentans</i>										
boróka	2	2	8	8	8	8	8	8	8	8
majoránna	2	>4	8	8	8	8	8	8	8	8

Dolgozatomban a boróka és a majoránna illóolaj antimikrobiális tulajdonságait vizsgáltam tejfehérje koncentrátumokat tartalmazó tápközegekben a *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Geotrichum candidum* és a *Penicillium frequentans* szemben.

Az első kísérletsorozatban 80 és 85%-os kazein tartalmú tejporokat kevertünk 0,5% mennyiségben a mikroorganizmusoknak megfelelő tápoldatba ehhez a 0, 4, 8, 16, 32 µl/ml koncentrációban illóolajat adagoltunk. Minden mikroorganizmusra meghatároztuk az illóolajok minimális gátló koncentrációját (MIC) tejfehérje-mentes közegben, az illóolajokból 0, 0,5, 1, 2, 4

$\mu\text{l/ml}$ koncentrációban adtuk hozzá. Megfigyelhettük, hogy fehérjét nem tartalmazó tápoldatban a növényi hatóanyagok alacsonyabb koncentrációnál ki tudják fejteni az antimikrobiális hatásaikat, míg a MIC a normál tápoldatok esetén már a $2 \mu\text{l/ml}$ megjelent addig a tejfehérjés oldatoknál csak a $8 \mu\text{l/ml}$ értéknél volt jelen.

Az illóolajok Gram negatív és Gram pozitív baktériumokra kifejtett hatásuk közötti különbséget csak a legalacsonyabb kazein tartalmú tejpornál az MPC-80-nál láthattunk. Gram pozitív baktériumokkal szemben hatékonyabbnak bizonyulnak a növényi kivonatok, mint a Gram negatív baktériumok esetében. A gombákkal végzett vizsgálataink során megállapíthattuk, hogy az élesztőgombák sokkal ellenállóbbak az illóolajokkal szemben, mint a fonalas gombák. Az élesztők esetében a minimális fungicid koncentráció értéke $32 \mu\text{l/ml}$ -t is elérte, míg a fonalas gombáknál $8 \mu\text{l/ml}$ volt.

A koncentrátumok tejfehérje tartalma látványosan nem befolyásolta az illóolajok mikrobaellenes hatását, nem voltak nagy eltérések az egyes koncentrátumok hatásai között. Azonban az illóolajok fehérje érzékenysége közötti nagy különbséget érzékelünk. A boróka illóolaj minimális baktericid és fungicid koncentráció (MBC és MFC) értéke $16 \mu\text{l/ml}$ vagy annál nagyobb, a majoránna illóolaj esetében az MBC és az MFC értéke $8 \mu\text{l/ml}$ volt.

A második kísérletsorozat során $0,5\%$ koncentrációban BSA savófehérjével egészítettük ki a tápoldatokat, az illóolajokat ugyan olyan mennyiségben adtuk az elegyekhez. Az illóolajok mikroorganizmusokra kifejtett antimikrobiális hatásaik között nem fedeztünk fel különbséget, mindegyik esetben a minimális gátló koncentráció értéke $8 \mu\text{l/ml}$ volt. Ebben a kísérletsorozatban is csak az illóolajok tejpork jelenlétében tanúsított viselkedése volt eltérő. A boróka illóolaj MBC és MFC értékét nem tudtuk meghatározni egyik mikroorganizmussal szemben sem, azonban a majoránna illóolajnál mind az MBC mind az MFC értéke $8 \mu\text{l/ml}$ volt.

Összegzőképpen elmondhattuk, hogy az illóolajok antimikrobiális tulajdonságainak kifejtésében befolyásoló tényezők a tejfehérjék. Azt is megállapítottuk, hogy minél nagyobb egy tejfehérje koncentrátum fehérjetartalma annál nagyobb gátló hatást képes kifejteni a növényi hatóanyagokra akár teljesen semlegesítheti annak mikrobaellenes hatását. Ezt bizonyította már az a kísérlet is, amely során a BSA savófehérje teljesen semlegesítette a kakukkfű illóolaj antimikrobiális hatását a *Salmonella Typhimurium* ellen. A citrom olajt is vizsgálták *Geotricum candidum* ellen normál malátás tápközegben és főlözött tejben. Azt állapították meg, hogy az illóolajból MIC értéke a normál malátás tápközegben elegendő koncentráció négyszeresére nőtt a tejben (Krisch et al., 2011). A carvakrol és a fehérjék között létrejövő kölcsönhatás során a fehérjék

gátló tényezőként viselkednek, mivel a tejben jelenlévő *Bacillus cereus* ellen kifejtett hatását a jelentősen lecsökkenti. Ugyanezt a gátló hatás figyelték meg a csökkentett zsírtartalmú sajtok esetén, ahol a szegfűszeg illóolaj *Salmonella enteritidis* szembeni mikrobiellenes befolyása csökken le nagymértékben (Burt, 2004).

Azt is megfigyelhettük, hogy a boróka illóolaj sokkal nagyobb érzékenységet mutat a tejfehérjékkel szemben, azon belül is a savó fehérjék jelenlétében, mint a majoránna illóolaj. Ugyanakkor a mikroorganizmusok egyéni érzékenysége is nagy szerepet kapott a tejfehérjék hatása mellett. A kísérleteket ebben az irányban is folytatni kell.

A tejtermékek illóolajokkal történő tartósítására az eredményeink alapján kijelenthetjük, hogy a boróka illóolaj nem megfelelő (érzékszervi tulajdonságai miatt sem). Célszerű lenne további vizsgálatokat végezni a majoránna illóolajjal főleg valódi tejtermékekben, például sajt- vagy túrófélékben. A további kísérletekkel megtudhatnánk, hogy a kazein és savófehérjék együttes jelenléte vagy a fehérjék mellett a tejszír jelenléte is milyen hatást gyakorol az illóolajra. A minimális gátlókoncentrációk értékének keresése mellett érdemes lenne érzékszervi bírálatokat is végezni, annak érdekében, hogy ne csak egészséges, hanem ízletes termék juthasson a fogyasztókhoz.

Összefoglalás

Az illóolajok antimikrobiális és tartósító tulajdonságai már nagyon régóta ismertek. Napjainkban a növényi kivonatok az élelmiszerkutatók vizsgálatainak tárgyává váltak, hogy a szintetikus tartósító szereket lecserélhessék természetes hatóanyagokra. Az élelmiszerekben nagyobb koncentrációban kell alkalmazni az illóolajokat ugyan azon hatás elérésének érdekében, mint laboratóriumi körülmények között erről a jelenségről nagyon sok szakirodalomban tesznek említést. Ennek okát az élelmiszerek összetételében találhatjuk meg. Több vizsgálati eredmény bebizonyított azt, hogy a zsír fázisban lévő mikroorganizmusok körül a lipidek egy védő réteget képeznek, amelyek védelmet nyújtanak az illóolajok antimikrobiális tulajdonságai ellen. Célunk az volt, hogy megvizsgáljuk a savó- és kazein fehérjék milyen hatással vannak a boróka és a majoránna illóolaj *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Geotrichum candidum* és a *Penicillium frequentans* szembeni antimikrobiális tulajdonságaira. Kísérleteink során megfigyeltük, hogy a két illóolaj minimális gátló koncentrációja (MIC) 8 µl/ml volt minden mikroorganizmussal szemben mind a két tejfehérje esetében. A kazein fehérje hatására a boróka illóolaj minimális baktericid és fungicid koncentráció (MBC, MFC) értéke 16 µl/ml vagy nagyobb volt, azonban BSA jelenlétében az MBC vagy a MFC értékét nem tudtuk meghatározni. Ezzel szemben a majoránna illóolaj használatakor az MBC, MFC értéke 8 µl/ml volt függetlenül a tejfehérje fajtájától. Észrevételeink alapján megállapíthattuk, hogy a kétféle illóolaj közül a boróka illóolaj nagyobb érzékenységet mutat a tejfehérjékkel szemben.

IRODALOMJEGYZÉK

Alberts A.; Mullen P.; Spohn M.; (2005) *Természet kalauz: Fák, bokrok gyógyító ereje az áfonyától a zsályáig*, Sziget Kiadó ; 23., 142.-143., 196.

Ádám É.; Pusztai R.; Taródi B.; (2006) *Mikrobiológia: gyógyszerész és fogorvosok hallgatóinak*, Semmelweis Kiadó, Budapest; 145., 149.-150.

Bremness L.; (1998) *Képes ismertető a világ több mint 700 fűszer- és gyógynövényéről*, Szegedi Kossuth Nyomda, 60.

Burt, S. (2004). Essential EOs: antibacterial activity and potential applications in foods - a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223-253.

Cava R.; Nowak E.; Taboada A.; Marin-Iniesta F.; (2007): Antimicrobial activity of clove and cinnamon essential oils against *Listeria monocytogenes* in pasteurized milk. *J Food Prot.*; 70(12):2757-63.

Eva-Maria Dreyer; Wolfgang Dreyer; (2010): *Vadnövények, bogyók és gombák*, Sziget Kiadó; 155.

Dr. Fenyvessy József (Szeged, 2007): *Élelmiszerhigiénia* (oktatási segédlet) Dr. Fenyvessy József, Dr. Csanádi József (2007): *Tejipari technológia*, Universita Szeged Kiadó, Szeged; 30.-31., 250.-261.

Filipowicz N., Kaminski M., Kurlenda J., Asztemborska M., Ochocka JR.; (2003): Antibacterial and antifungal activity of juniper berry oil and its selected components. *Phytother Res.*; 227-231.

Dr. Gerő László (2011): *Járványtan* (órai jegyzet), Szeged

Helmecci Balázs (1994): *Mezőgazdasági mikrobiológia*, Mezőgazda kiadó; 33., 95., 132., 198.-199., 234., 249., 393.

Jakucs Erzsébet; Vajna László (2003): *Mikológia*, Agroiinform Kiadó, Budapest; 57., 152., 180., 314., 389., 457.

Juven BJ, Kanner J, Schved F, Weisslowicz H, (1994): Factors that interact with the antibacterial action of thyme essential oil and its active constituents. *J Appl Bacteriol.* 1994 Jun; 76(6):626-31

Dr. Krisch Judit (2012): *Növényi hatóanyagok* (oktatási segédanyag), Szeged

Krisch J.; Tserennadmid R.; Vágvölgyi Cs.; (2012): Interaction of essential oils and food componenets: consequences in food preservation. In: Valgimigli, L. (ed.) *Essential oils as natural food additives. Composition, applications, antioxidant and antimicrobial properties*. Book series: Advances in Food Microbiology and Food Safety, Nova Publishers, Inc. N.Y., USA, 361-377.

Smith-Palmer A.; Stewart J. and Fyfe L.; (2001): The proteins application of plant essential oils as natural food preservatives in sof cheese. *Food Microbiology*, 18, 463-470

Tserennadmid Rentsenkhand (2010): *Illóolajok és kombinációk hatása élelmiszerromlást okozó mikroorganizmusokra* (Doktori (Ph.D.) értekezés) Szeged; 8.-23.

Wenszky Béla; Galambos Bertalan; (2004): *Fűszernövények és gyógynövények*, Mezőgazda Kiadó; 42., 52.

<http://aromax.hu/hu/termekeink/reszletek/borokaolaj/> (2012.04.30.)

<http://aromax.hu/hu/termekeink/reszletek/majorannaolaj/>(2012.05.01.)

<http://www.gyogynovenyhatarozo.hu/majoranna/> (2012.09.22.)

<http://mek.oszk.hu/00000/00060/html/067/pc006748.html#4> (2012.09.29.)

http://hu.wikipedia.org/wiki/K%C3%B6z%C3%B6ns%C3%A9ges_bor%C3%B3ka
(2012.09.20.)

<http://hu.wikipedia.org/wiki/Major%C3%A1nna> (2012.09.29.)

KÖSZÖNETNYÍLVÁNÍTÁS

Jelen kutatási eredmények megjelenését „Az SZTE Kutatóegyetemi Kiválósági Központ tudásbázisának kiszélesítése és hosszú távú szakmai fenntarthatóságának megalapozása a kiváló tudományos utánpótlás biztosításával” című, TÁMOP-4.2.2/B-10/1-2010-0012 azonosítószámú projekt támogatja. A projekt az Európai Unió támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósul meg.

Ez úton szeretnék köszönetet mondani Dr. Krisch Judit témavezetőmnek, hogy türelmével és kitartó munkájával hozzásegített diplomadolgozatom elkészítéséhez. Az Élelmiszermérnöki Intézet munkatársainak: Boross Nikolettának, Törökné Jenei Juliannának és mindazoknak, akik támogatásukkal és hasznos tanácsaikkal hozzájárultak a diplomamunkámhoz.