



SZEGEDI TUDOMÁNYEGYETEM
UNIVERSITAS SCIENTIARUM SZEGEDIENSIS
MÉRNÖKI KAR

MEDVEHAGYMA (*ALLIUM URSINUM*)
ANTIBAKTERIÁLIS HATÁSA

OTDK DOLGOZAT

Kerekes Eliza

IV. évfolyamos élelmiszer-mérnök

hallgató

Konzulens:

Dr. Krisch Judit

egyetemi docens

SZEGED

2014

TARTALOMJEGYZÉK

1. BEVEZETÉS.....	3
2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS.....	4
2.1. Növényi kivonatok története	4
2.2 Tartósítószeresek	5
2.2.1 Tartósítószeresek mellékhatásai	5
2.4. Szabadgyökök és antioxidánsok.....	6
2.3 Medvehagyma (<i>Allium ursinum</i>).....	8
2.3.1. Medvehagyma általános jellemzése, élettani hatásai	8
2.3.2 Medvehagyma feldolgozása.....	9
2.3.3. Medvehagyma összetétele.....	10
2.5. A kísérlet során felhasznált mikroorganizmusok jellemzése:	13
3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK.....	17
3.1. Felhasznált medvehagyma levelek virágzás előtt, és virágzás után	17
3.2. Felhasznált táptalajok és tápoldatok.....	17
3.3. Felhasznált oldatok:.....	17
3.4. Felhasznált mikroorganizmusok:.....	18
3.5. Kivonat készítés:	18
3.6. Sterilre szűrés menete:.....	19
3.7. Mikroorganizmusok előkészítése:	19
3.8. Antimikrobiális hatásvizsgálat mikrodilúciós módszerrel	19
3.9. MIC és MBC értékek meghatározása.....	21
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELESÜK.....	22
4.1 Kivonatok növekedésgátlása	22
4.2. A MIC és MBC értékek meghatározása	28
5. ÖSSZEFOGLALÁS	34
6. FELHASZNÁLT IRODALOM	36

ÖSSZEFOGLALÁS

Dolgozatomat a medvehagyma (*Allium ursinum*) *in vitro* antimikrobiális hatásáról írtam. Napjainkban a fogyasztók tudatosabban táplálkoznak, kerülnek a mesterséges adalékanyagokat, tartósítószerket tartalmazó élelmiszereket. Kutatásunk fő célja az volt, hogy megvizsgáljuk a medvehagyma levelekből nyert nyers kivonatok mikrobaölő hatását néhány élelmiszerromlást illetve ételmérgezést okozó baktérium ellen. A kísérletek eredményei azt mutatták, hogy a kivonatok nagy koncentrációban hatásosak a vizsgált mikroorganizmusok ellen. Az antimikrobiális vizsgálatok során 96 lyukú mikrotiter lemezekre oltottunk le különböző koncentrációjú kivonatot tartalmazó tápoldatba. 24 órás inkubálás előtti és utáni abszorbancia értékekből határoztuk meg a gátló hatást. Különbséget tapasztaltunk a virágzás előtti és utáni kivonatok hatékonysága között. A virágzás utáni kivonat gátló hatása magasabb volt. A kapott eredmények mérvadóak lehetnek a medvehagyma természetes tartósítószerként való felhasználása esetén.

ABSTRACT

This thesis is about the *in vitro* antimicrobial effect of wild garlic (*Allium ursinum*). Nowadays consumers are eating consciously; they would like to avoid artificial food additives and preservatives. The main goal of our research was to examine the antimicrobial effect of crude extracts from leaves of wild garlic against some food-borne pathogens. During the tests 96 well microtiter plates were inoculated with different concentrations of extracts. We measured the absorbance of the extracts before and after 24 hours, and growth inhibition was determined. Results of the experiments showed that the extracts were effective against the tested microorganisms in high concentration. We observed differences between the extracts of pre – and post – blossoming. The extract of post – blossoming had the highest antimicrobial effect. Our results show that wild garlic could be used as natural preservatives in the future.

1. BEVEZETÉS

Napjainkban már tudatosabban figyelünk testi és lelki egészségünkre, egyre fontosabbá vált a betegségek kezelése helyett a megelőzés. Jobban figyelünk a táplálkozásunkra, élelmiszereinkre és azok összetevőire. Ezzel egyidejűleg előtérbe kerültek egyes összetevők emberi szervezetre gyakorolt hatásai is.

Az élelmiszergyártó cégek igyekeznek kielégíteni a fogyasztók reform igényeit, minél természetesebb, a mesterséges anyagoktól, tartósítószerektől mentes termékeket gyártani. A szintetikus tartósítószerrek egyre nagyobb ellenérzést váltanak ki a fogyasztókból, ugyanis sok esetben kellemetlen melléktermékek is keletkeznek a használatuk során. A tartósítószerrek alkalmazásának hosszú távú, későbbi következményei a mai napig nem tisztázottak.

Szerencsére a természet a romlási folyamatok gátlásában is széles „eszköztárral” rendelkezik. Növények kivonatait, illóolajait régóta használnak az élelmiszeriparban, a fogyasztók használatukat általában elfogadják, amennyiben nem befolyásolja negatívan a termék jellegét, illetve érzékszervi tulajdonságait. Az *Allium ursinum*, azaz a medvehagyma napjaink újra divatossá vált zöldségfélje lett, melynek betegségmegelőző hatást is tulajdonítanak.

Kísérleteink során elsődleges célunk az volt, hogy meghatározzuk a medvehagyma antimikrobiális hatásának mértékét. Másodlagos célként pedig összehasonlítottuk a virágzás előtti és a virágzás utáni friss levelekből készített kivonatok hatásosságát. Munkánk során a medvehagyma antimikrobiális tulajdonságát 5 élelmiszerromlást okozó és 2 humán patogén baktérium ellen vizsgáltuk, mint az *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas putida*, *Serratia marcescens*.

Eredményeink jelentős mértékben bővítették ismereteinket a medvehagyma felhasználásával kapcsolatban. Különbséget tapasztaltunk a virágzás előtti és utáni levelek hatásosságával, színével és illatával kapcsolatban is. Eredményeink a későbbiekben hasznosíthatóak a medvehagyma tartósítószerként történő felhasználása során.

2. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

2.1. Növényi kivonatok története

A gyógyítás történetében mindig nagy szerepe volt a gyógynövényeknek. Az ember közel állt a természethez, harmóniában élt vele. Modern korunkban sem csökkent ezen növények jelentősége, azonban felhasználásuk jellege, célja és alkalmazásuk módja módosult.

Elődeink az őskorban mindenféle élettani, anatómiai tudás nélkül, pusztán tapasztalati úton szerezték meg a gyógyításhoz szükséges tudást. Ez a tudás azután anyáról lányára, apáról fiára, generációról generációra öröklődött. E az „örökség” nagy kincs volt, hiszen sok esetben az életben maradás volt a tét. A növények biztosították a legszélesebb választékot, részeikhez könnyen hozzá lehetett férni, a kezdetleges „gyógyszerek” tökéletes alapanyaga volt. Idővel a gyógyhatású növények egy részét speciális betegségek kezelésére alkalmazták és kialakult a gyógynövény fogalma. Tapasztalatlanságból sokszor olyan növényeket is alkalmaztak, melyeket ma már nem kívánt mellékhatásai miatt nem alkalmaznak.

Az írásbeliség terjedésével a receptúrákat, egyes növények hatásait dokumentálták, megörökítve az utókor számára. Az akkori orvosok a növények mellett, kevés figyelmet szenteltek az állati és ásványi anyagok optimális bevitelére. Sokszor csak tüneti kezeléseket alkalmaztak, ami nem szüntette meg az alapproblémát. Rájöttek például arra, hogy a szív – és májbetegség következtében kialakuló ödéma enyhíthető vízhajtókkal, ám magát a betegséget nem tudták gyógyítani. Tapasztalati úton sok gyógyászati indikációt felismertek, ilyen volt az epepanasz és a sárgaság kezelésére használt máriatövis (*Silybum marianum*), melynek hatóanyagai javítják a májfunkciókat. A kor tudósai közül néhányan már megkérdőjelezték bizonyos misztikus gyógynövények alkalmazásának jogosultságát.

Az antibiotikum felfedezése óriási fejlődést és áttörést jelentett a gyógyszeripar számára, azonban a reményekkel ellentétben a hatásos gyógyszerek felfedezésének üteme lelassult. Rengeteg súlyos betegség kezelésére, gyógyítására nem elég hatásosak a mai gyógyszereink. Ez a felismerés arra sarkallja az embereket, hogy ismét a természet adta lehetőségekhez forduljanak, így egyre népszerűbb az alternatív gyógyászat, a természetgyógyászat és újabb gyógyhatású növények felkutatása. A szintetikus kémia mellett kialakult a kombinatorikus kémia, amely nagyon gyorsan képes nagyszámú vegyületeket előállítani. A kombinatorikus kémiának köszönhetően ugrásszerűen megnőtt a szintetizálható molekulák száma. Azonban a gyógyszerek fejlesztésében a mai napig elmaradt az áttörő siker (Csupor, 2008).

2.2 Tartósítószer

A tartósítószer kémiai anyagok, amelyek az élelmiszerekhez hozzáadva a mikroorganizmusok okozta romlást megakadályozzák, ezzel a készítmény minőségét megóvják, eltarthatóságát növelik. Az előírások – és az egészségügyi hatóságok – a tartósítószer felhasználását szigorúan szabályozzák, illetve korlátozzák. Legjelentősebb korlátozás, hogy alapélelmiszerekhez általában nem (tej, hús, stb.), míg kisgyermek számára készített élelmiszerekhez egyáltalán nem használható tartósítószer. A tartósítószer döntő többsége csak az előírt feltételek betartása mellett használható. Ilyenek például:

- E 200 szorbinsav, E 202 kálium - szorbát, E 203 kalcium – szorbát, E 210 benzoésav, E 211 nátrium – benzoát, E 212 kálium – benzoát, E 213 kalcium – benzoát: csakis meghatározott élelmiszerekhez egyidejűleg, és/vagy megadott élelmiszerekhez kombinációban használhatók fel, az előírásban rögzített mennyiségben.
- E 220 - 228 kén – dioxid és szulfitek: felhasználási szintjük szintén maximált és korlátozott azoknak az élelmiszereknek a köre, amelyekhez adhatók.
- E 249 kálium – nitrit, E 250 nátrium – nitrit, E 251 nátrium – nitrát, E 252 kálium-nitrát: csak bizonyos húskészítményekben, húskonzervekben alkalmazhatók. A felhasználásra javasolt mennyiség megadása mellett meg van határozva a maradék mennyisége is, ami azt jelenti, hogy a fogyasztóhoz került készítmény már csak annyit tartalmazhat belőlük (Országos Fogyasztóvédelmi Egyesület – Fogalom magyarázat, 2014).
-

2.2.1 Tartósítószer mellékhatásai

E 201 – Nátrium – szorbát: fejlődési rendellenességet okozó anyagnak bizonyult.

E 210 – Benzoésav és sói: kutya –és macskaeledelben már betiltották, ugyanis macskáknál már 0,005%-ban is halálos lehet. A benzoésav és sói L-aszkorbinsav jelenlétében benzolt képez.

E 214 – Etil –(p-hidroxil -benzoát), E 215 – Nátrium –etil –(p-hidroxil -benzoát), E 216 – Propil –(p-hidroxil -benzoát), E 217 – Nátrium –propil –(p-hidroxil -benzoát): Fémes mellékízt kölcsönöznek az élelmiszereknek, görcsoldó hatásuk több mint százszorosa a nátrium – benzoátnak. Érzékenyebb embereknél allergiás tüneteket okozhatnak.

A kén- dioxid és a szulfitok a legősibb adalékanyagokhoz tartoznak. Élelmiszerekben a szulfitok lebontják a B1 – vitamint, az arra érzékeny embereknél rosszzullétet, fejfájást, asztmarohamokat, de akár anafilaxiás sokkot is okozhatnak. Általában pezsgők, fehér borok, szárított gyümölcsök, lekvárok tartósításához használják.

E 239 – Hexametilén –tetramin: univerzális, a humán gyógyászatban húgyúti fertőzések, illetve köszvények kezelésére alkalmazzák. Formaldehiddé alakul, így élelmiszerekben kizárólag a Provolone – fajtájú sajtoknál alkalmazzák.

E 242 – Dimetil –dikarbonát: hidegcsírátlanító anyagként használják. Feloldódás közben reakcióba lép a mikrobákkal és az élelmiszerekben lévő egyéb anyagokkal, melléktermékként pedig metil – karbonát képződik. Üdítőitaloknál használják.

A nitritek és nitrátok megtalálhatók például a sonka páclevében, melynek mennyiségük közel tízszeres az ivóvízben engedélyezett értékhez képest. Cianózist, azaz „kékbetegséget” okozhatnak azáltal, hogy meggátolja a vörösvértestek oxigénfelvételét.

E 925 –Klór, E 926 – Klórdioxid: ivóvíz csírátlanítására használják. A klórozott víz negatívan befolyásolja a pajzsmirigy működését. (Országos Fogyasztóvédelmi Egyesület – Az élelmiszer-adalékanyagok részletes felsorolása, 2014).

2.4. Szabadgyökök és antioxidánsok

A szabadgyökök erősen reagens, instabil, párosítatlan elektronokkal rendelkező molekulák. Stabilitásra törekedve, szinte bármilyen komponenssel elreagálnak, megtámadják őket és „ellopják” a hozzájuk legközelebb álló stabil molekulák elektronjait. A „meglopott” molekula szintén instabillá válik, mely következtében szabad gyök lesz belőle, mely szintén stabilitást szeretne. Ezzel a folyamattal elindul egy láncreakció, mely lipid peroxidációhoz vezet. A lipidperoxidáció feloldja a sejtmembránokat, vagy oxidációt idéz elő. Ennek következménye az öregedés, különböző eredetű, súlyos megbetegedések, ateroszklerózis, rákos elváltozások, szív – és érrendszeri problémák (Ames, 1983). Néhány esetben az immunrendszer maga is létrehoz szabadgyököket, hogy semlegesítse a vírusokat, baktériumokat, védekezzenek a különböző környezeti hatásokkal szemben.

Az antioxidánsok olyan molekulák, melyek megkötik a szabadgyököket úgy, hogy nekik adják az elektronjaikat. Mivel az antioxidánsok ebben a formában is stabilak, megállítják a káros láncreakciót. Az antioxidánsokat tartósítószerként is lehet alkalmazni, mivel késleltetik

az oxidáció miatt bekövetkező romlást, gátolják az elszíneződést és az avasodást (Dziezak, 1986). Az antioxidánsok másik fontos tulajdonsága, hogy kelátképzők, azaz megkötik a réz és vas ionokat, melyek katalizálják a lipidperoxidációt. Néhány fontos antioxidáns csoport: BHA, BHT, TBHQ, PG és a tokoferolok. A szintetikus antioxidánsokat általában kombinálni szokták valamilyen fenolos szerkezetű, alkil szubsztrátummal. A tokoferol és a természetes antioxidánsok hatása, azonban jóval elmarad a szintetikushoz képest (Nishina et. al, 1991). Természetes antioxidánsok lehetnek fenolos komponensek, mint a flavonoidok, fenolos savak, vagy nitrogén komponensek, mint az alkaloidok, klorofill származékok, aminok és aminosavak. A közelmúltban sajnos néhány szintetikus antioxidáns be kellett tiltani, mert toxikusnak bizonyultak (Frankel et. al., 1995; Gazzanji et. al., 1998; Yen et. al., 1998).

Számos növényi rész összetevője pozitív hatással van az oxidatív folyamatok gátlásában. Ilyen növényi részek például, a földimogyoró héja, a maláta gyökere, citrusfélék héja, szentjánoskenyér magja (Bocco et. al., 1998; Bonnely et. al., 2000). A legalaposabban vizsgált antioxidáns tartalmú élelmiszerek komponensei a rost, a polifenolok, a flavonoidok, linolénsav konjugált izomerjei, D-linolén, galluszsav, szójafehérje, A, B, C, E –vitaminok, szulfidok, húgysav, proteáz inhibitorok, klorofill, katekinok. Ezek a komponensek önállóan, illetve kombinálva is igen hatásosak a szív – és érrendszeri, valamint a daganatos betegségek megelőzésében (Karakaya & Kavas, 1999). Az antioxidánsokban gazdag ételek fogyasztása, bizonyítottan segít megelőzni a kardiovaszkuláris, a rákos, a neurodegeneratív betegségeket, valamint az Alzheimer – kórt és a Parkinson – kórt (Gaulejac et. al., 1999a; Prior & Cao, 2000). Bizonyos fitokemikáliák képesek megállítani a kezdeti rákos megbetegedéseket, blokkolják azon enzimek működését, melyek fokozzák a rák kialakulásának kockázatát. Más fitokemikáliák segítik azon enzimek termelődését, melyek sejt – és szövetkárosító anyagokat elpusztítják (Newmar et. al., 1984; Teel & Castouguay, 1992).

Sejt – és állatkísérletekkel igazolták a zöldségfélék tumor ellenes hatását (Bresnick et. al., 1990; Watterberg & Coccin, 1991; Maeda et. al., 1992). A vegetáriánus és nem-vegetáriánus étrendet követő csoportoknál jelentős különbséget fedeztek fel a bevitt zöldség és gyümölcs mennyisége, valamint a betegségek kialakulása és az elhalálozási arány között. Azok, akik több zöldséget és gyümölcsöt fogyasztottak, jóval egészségesebbek, és fittebbek voltak, mint a másik csoport tagjai.

Kutatók bebizonyították, hogy néhány antioxidáns, mint az E-vitamin, β -karotin meghosszabbítja a fertőzés és a klinikai tünetek megjelenése közti periódust. Egy HIV fertőzés esetén például, ez a meghosszabbított, tünetmentes időszak kevesebb

gyógyszerfogyasztáshoz vezet, mely jelentős mértékben csökkenti a HIV törzsek rezisztenciáját (Baranowitz et. al., 1996).

2.3 Medvehagyma (*Allium ursinum*)

2.3.1. Medvehagyma általános jellemzése, élettani hatásai

A medvehagyma az amarilliszfélék (Amaryllidaceae) családjába tartozó, évelő növény. Évszázadok óta alkalmazzák gyógyászati célokra, saláta vagy fűszer formájában (Sendl, 1995). Buzogány alakú, fehér hagymájából két tojásdad alakú levél nő ki, melyek sötétzöldek és jellegzetes fokhagyma illatuk van. Virágai fehér színűek, tömött ernyőkben nyílnak. Nem virágzó állapotában könnyen összetéveszthető a gyöngyvirággal (*Convallaria majalis*), mely súlyos mérgezést, vagy akár halált is okozhat.

Közép – Európában terjedt el, kedveli a hűvösebb, csapadékosabb klímát. Jellemző élőhelye a páratelt környezetű, szerves anyagban gazdag talajú lomberdők, szurdok erdők és patakokat kísérő puhafás ligeterdők. Természetes élőhelye a Dunántúlon jellemző, az Alföldről az erősödő kontinentális hatás miatt kiszorul. A medvehagyma jellemzően közép-európai elterjedésű faj, a mediterrán vidékeken, és az erdei fenyvesek élőhelyén már nem fordul elő. Érdekes, hogy Észak-Amerikában özöngyomként tartják számon. Ázsiában már 4000 éve ismerik, mint gyógynövényt. Magyarországon is régóta használják, amit számos népi neve is alátámaszt úgy, mint: sajamas, sarima, poszhagyma (Varga, 2013). Szezonális növény, április végén virágzik, leveleit még ezelőtt fogyasztják. Virágzás közben a levelek elsárgulnak, kevésbé ízletesek. Hazánkban még nem védett növény, azonban állományaik többsége védett területre esik.

A medvehagymának számos kedvező élettani hatása van. Tisztítja a vesét, a húgyhólyagot, gátolja a vérlemezkék összecsapódását, mikrobaölő hatású, magas az antioxidáns tartalma, így lassítja az öregedést (Sapunjeva et al., 2003). A levelét tartalmazó teakeverék vérnyomáscsökkentő hatású, sötétzöld színű levelében lévő klorofill kitűnő antioxidáns.

A medvehagyma hatóanyagai közel megegyezők a fokhagymáéval, amelyek kéntartalmú vegyületek és ezek módosulatai. A medvehagymában található A, B1, B2, C, E és F vitamin, valamint levelének magas az ásványi anyag tartalma (vas, magnézium, mangán, kalcium, kobalt, cink, szelén). Gyógyászati célra felhasználható a medvehagyma szárítottanyaga (medvehagyma por) vagy tinktúra. Ajánlatos tinktúrát készíteni belőle, mert így megőrzi

beltartalmi értékeit, kevésbé csökken a hatóanyag-tartalma, ezen kívül az év minden napján hozzáférhető. Kevésbé ismert méhészeti jelentősége: korán nyíló fehér virágzata kitűnő méhlegelő. A különleges aromájú medvehagyma méz a friss növényhez hasonló beltartalmi értékekkel rendelkezik.

2.3.2 Medvehagyma feldolgozása

A medvehagyma frissen a legízletesebb, de tartósítása több módon is lehetséges. Fagyasztva az év bármely szakában hozzáférhető, nem veszít az íz és aroma anyagaiból. Mivel a medvehagyma fogyasztása egyre népszerűbb, folyamatosan bővül a felhasználásáról szóló receptek száma. Felhasználási területe sokrétű, jól kiemeli például a saláták vagy a sós sütemények (pogácsa) ízét. Levele szárítva és porrá őrölve szeznonon kívül is tárolható és felhasználható, porrá őrölve idővel szelídül erős fokhagyma illata. Ebben a formában kitűnő ételízesítő. Készíthető belőle medvehagyma pesto, ami durvára darált magvakból, reszelt keménysajtból (pl. parmezán), olajból és főként darált medvehagyma levélből áll. A ledarált zöld leveleket sóval és olajjal is lehet tartósítani. Más zöldfűszerekkel keverve kitűnő fűszervaj készíthető belőle. Különleges felhasználási módja például a medvehagymás kecskesajt. A kecskék táplálékában is megjelenhet a medvehagyma, így a sajtkészítésre szánt tej íze is különleges. A sajt a medvehagyma antibiotikus hatása miatt tovább eltartható és tovább megőrzi ízét. A gyógyászati célra szárított medvehagyma levelek teakeverékek alkotóelemeként, valamint alkoholos kivonatként is felhasználhatók (Varga, 2013).



1. ábra: *Allium ursinum*

Forrás:

http://ca.wikipedia.org/wiki/Allium_ursinum#mediaviewer/File:Illustration_Allium_ursinum1.jpg

2.3.3. *Medvehagyma összetétele*

A medvehagymából új glikozidos flavonoidokat azonosítottak, ezeket peracetátokként jellemzik:

- kempferol 3-O- β - neoheszperidozid -7-O-[2-O-(trans-p-kumaroil)]- β -D-glukopiranozid,
- kempferol 3-O- β – neoheszperidozid -7-O-[2-O-(trans-feruloyl)]- β -D- glukopiranozid,
- kempferol 3-O- β - neoheszperidozid -7-O-[2-O-(trans-p- kumaroil)- 3-O- β -D glukopiranozil - β -D- glukopiranozid

Az újonnan felfedezett flavonoidok mellett már két, ismert flavonoidot is izoláltak:

- kempferol 3-O-fl- glukopiranozid
- kempferol 3-O-fl- neoheszperidozid

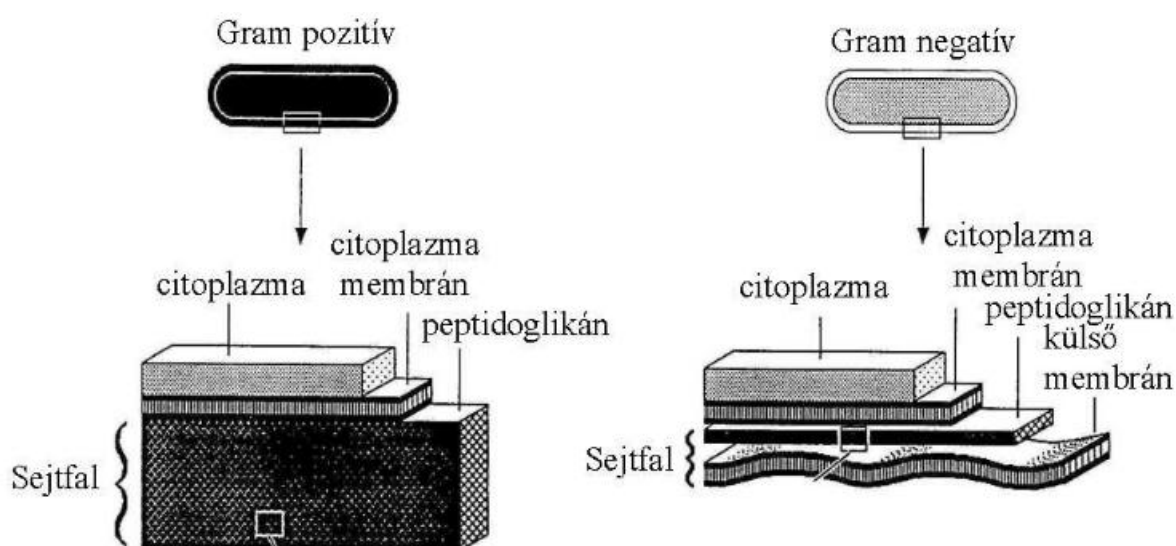
A fenti izolált komponensek gátolják a vérlemezkék összecsapódását (Carotenuto et al., 2001). Az *Allium ursinum* fő ízt adó előanyagai az alliin, a methiin, a propiin és az isoalliin (Schmitt, 2005). Az alliin szinte minden hagymafélében dominál, beleértve a vad póréhagymát (*A. obliquum*), a kígyóhagymát (*A. scorodoprasum*). A kínai termesztett póréhagymában (*A. tuberosum*) mind az alliin, mind az isoalliin komponens ugyanannyira dominál (Pärvi et al., 2011). A növényi részek sérülése, szakadása esetén a szulfoxid-hidrolízis játszódik le, melynek során alk(en)il-tioszulfanitok, illóolajok és íz komponensek szabadulnak fel. Ezek az anyagok felelősek a jellegzetes medvehagyma illatért. Aromakomponensek vízgőz-desztilláció során is keletkeznek, mert a kiindulási tioszulfát gyorsan végbemenő folyamat során alk(en)il(poli)szulfidekké alakul (Keusgen et al., 2002). A medvehagyma hatóanyagai a divinil-szulfid, dimetil tioszulfínát, metil-cisztein-szulfoxid, ami metil- allil-diszulfonáttá és metanetiollá bomlik. Egyéb hatóanyagai: flavonoidok, szterolok (koleszterol, sztigmaszterol, β -szitoszterol), cukor, aszkorbinsav és illóolajok (Hajós, 2008). Az alk(en)il triszulfidek antioxidáns aktivitást mutattak az emberi LDL (low-density lipoprotein) koleszterin oxidációjával szemben. Meglepő módon az alk(en)il diszulfidok nem mutattak hasonló tulajdonságot (Higuci, 2003). Epidemiológiai tanulmányok és kísérletek kimutatták, hogy az alk(en)il(poli)szulfidek képesek csökkenteni a rák kialakulásának kockázatát, illetve képesek megváltoztatni a tumorok viselkedését azáltal, hogy aktiválják a szervezet méregtelenítő enzimjeit, antiproliferatív hatást kiváltva (Fukao, 2004). A medvehagyma levelében található allicin kiváló fungicid tulajdonságokkal rendelkezik. Az allicin folyadékkromatográfiás és tömegspektrometriás vizsgálata során megállapították, hogy a medvehagyma levele 0,028 mg/ml allicint, míg a virága 1,946 mg/ml allicint tartalmaz (Pärvi et al., 2011).

1. táblázat: *Allium ursinum* olaj kémiai komponensei

Forrás: Godevac et al., 2008

Sorrend	Komponens megnevezése
1	Metil 2-propenil diszulfid
2	Metil propil diszulfid
3	(E)-Metil l-propenil diszulfid
4	Dimetil triszulfid
5	(E)-Hex-3-en-1-ol
6	Di-2-propenil diszulfid
7	2-Propenil propil diszulfid
8	(E)-l-Propenil 2-propenil diszulfid
9	Nonanal
10	Metil 2-propenil triszulfid
11	Metil propil triszulfid
12	(Z)-Metil l-propenil triszulfid
13	(E)-Metil l-propenil triszulfid
14	Dimetil tetraszulfid
15	Di-2-propenil triszulfid
16	Propil 2-propenil triszulfid
17	(Z)-l-Propenil 2-propenil triszulfid
18	(E)-l-Propenil 2-propenil triszulfid
19	Metil 2-propenil tetraszulfid
20	Di-2-propenil tetraszulfid

2.5. A kísérlet során felhasznált mikroorganizmusok jellemzése:



2. ábra: Gram+ és Gram- sejtfal

Forrás: <http://www.cellcycle.bme.hu/oktatas/mikrofiz/szoveg/cellwall.PDF>

Gram-pozitív baktériumok:

Etanolos differenciálás után színük lila lesz, a külső membrán réteg vékony, egyszerű és porózus, jellegzetes vegyülete a teikólsav. A belső réteg peptidoglikán peptid része bonyolultabb, rétegesebb (Gerő, 2003).

Bacillus cereus

Bacillus nemzetségbe tartozó faj. Pálcika alakú, tok nélküli, csillós baktérium. Elterjedt kórokozó, mely megtalálható a talajban, levegőben, vízben. Endospórák, fakultatív anaerob. Véres agaron széles hemolitikus zónát képez. 8°C és 55°C között szaporodik, jól tűri a savas, vagy sós környezetet. Hőstabil enterotoxinja hányást, hőlabilis enterotoxinja pedig hasmenést okoz. Lappangási ideje 8-12 óra, lázat nem okoz. Fertőzés forrásai lehetnek hús, tészta, rizs, tej, cukor, fűszerek. A fertőzés oka általában nem megfelelően előkészített, vagy tárolt élelmiszer. A megbetegítéshez elég $>10^5$ sejtszám 1 gramm élelmiszerben (Pesti, 2001).

Bacillus subtilis

Gram-pozitív, *Bacillus* nemzetségbe tartozó faj. Pálcika alakú, obligát anaerob és kataláz pozitív baktérium. Szaporodása kettéosztódással, bináris hasadással megy végbe.

Endospórát képez, mely hőrezisztens. A lisztben is megtalálható, spórája képes túlélni az extrém hősugárzást is, vegetatív sejtje alakulva a sütéstől számított 2-3 napon belül kenyér nyúlósodását okozza. A bél ragacsos, nyúlós lesz, szaga a gyümölcs-észteréhez hasonló. Ezt savanykásra kovászolással lehet meggátolni. Laboratóriumi vizsgálatok modellszervezeteként elterjedt, mert géntechnológiailag jól manipulálható. Elsősorban a sejtdifferenciálódás és a spóráképződés vizsgálatában használják (Pesti, 2001).

Staphylococcus aureus

Gömb alakú, 0,5 - 1µm átmérőjű baktériumok, melyek szőlőfűrthöz hasonló csoportokat alkotnak. Jól tűri a hideget. Az emberi szervezet egyik leggyakoribb opportunista kórokozója. Véres agaron aranyszínű pigmentet termel, innen kapta az „aureus” nevét. Megtalálhatók a bőrön, nyálkahártyán, székletben, talajban, porban. Vérmérgezést, tüdőgyulladást, enterotoxint termelő törzsei pedig ételmérgezést is okoznak. Az ételmérgezés gyorsan kialakul, akár már 1-4 órán belül jelentkeznek a panaszok. Tünetei a hányás, hasmenés, izomgörcs, gyomor- és bélgyulladás (Pesti, 2001). A kísérlet során 2 fajta *Staphylococcus aureus* törzssel dolgoztunk.

Gram-negatív baktériumok:

Etanolos differenciálás után színtelenek lesznek. A külső réteg valódi membrán, összetett LPS réteget tartalmaz, fontos immunológiai és patogenitási szerepet tölt be, a foszfolipidek a membrán alkotóelemei. A belső rétegben a peptidoglükán csak 1 réteget alkot, a belső réteg a sejt 10-20% át képezi (Gerő, 2003).

Escherichia coli

Enterobacteriaceae családba tartozó, Gram-negatív baktérium. Pálcika alakú, nem spórás, fakultatív aerob. Általában peritrich csillós, de lehet csilló nélküli is. Hossza 2 µm, átmérője 0,5 µm. Bakteriális konjugáció útján képesek DNS részletek átadására. Kevert savas fermentációval tejsavat, acetátot, etanolt, szukcinátot és szén-dioxidot képes termelni. Melegvérű állatok emésztőrendszerének végén, a bélben találhatók. A normál bélflóra tagja, jelenlétével gátolja bizonyos kórokozók szaporodását. Az újszülött a születést követő negyven órán belül megfertőződik *E.coli*-val, így az emberi test egyik legfontosabb kommenzialista

organizmusa. Virulens törzsei okozhatnak gasztroenteritist, meningitist, vagy húgyúti fertőzéseket. Indikátor baktériumnak is nevezik, mivel az élelmiszerben való jelenléte fekáliás szennyezettségre utal.

Néhány altípusa:

- EHEC: enterohemorrágiás *E. coli*, ételmérgezést okoz, a fertőzés a kérődzőktől indul, vérzéses bélgyulladást okoz
- ETEC: enterotoxikus *E. coli*, enterotoxinja „utazási hasmenést” okoz, toxinja lehet hőlabilis (LT) és hőstabil (ST)
- EIEC: enteroinvazív *E. coli*, tönkreteszi a nyálkahártyát, vérhashoz hasonló hasmenést vált ki
- EPEC: enteropatogén *E. coli*, vérzéses hasmenést okoz csecsemőknél (Rodler, 2005)

Pseudomonas putida

A Pseudomonadaceae családba tartozó, Gram- negatív, pálcika alakú, szaprotróf baktérium. Talajban, vízben található. Tok nélküli, nem spórás. Krónikus orrmelléküreg – gyulladást, húgyúti fertőzést, meningitist okoz. Opportunista patogén, azaz normális szervezetben nem képes betegséget okozni, csak a legyengült szervezetben. Ez az első szabadalmaztatott organizmus a világon (Marqués, 1993). Képes megvédeni a növényeket más mikroorganizmusoktól, illetve bioremediáció során alkalmazzák. A baktérium metabolizálja a környezetet káros kémiai szennyezőit, így csökkentve a vizek, talajok szennyezettségét. Képes szénhidrogéneket és azon származékait lebontani, oxidálni és saját növekedéséhez szénforrásként felhasználni. A talajban és a vizekben található monoaromás szénhidrogének, halogénezett szénhidrogének degradációjában is kulcsfontosságú szerepet játszik (Boopathi, 1999). A *Pseudomonas* nemzetség tagjai szaprofita baktériumok, melyek patogén baktériumokkal előfordulva, a baromfihús romlását okozzák (Bajcsi, 2011). A *P. putida*-t kísérleteink során modellszervezetként alkalmazzuk.

Serratia marcescens

Az Enterobacteriaceae családba tartozó, Gram- negatív, fakultatív aerob baktérium. Peritrich csillós, pálcika alakú, spórát nem képez. Talajban, trágyában, bőrön és a porban is megtalálható. Szaprofita, a nitrátot képes nitritté alakítani. Vörös színű prodigiosin pigmentet termel, amely vízben nem, viszont szerves oldószerben jól oldódik. Humánpatogén, hőmérséklet optimuma 25-30°C. Húgyúti fertőzéseket, kenyérbetegséget okoz. Mivel nem spórás, ezért a kenyér a fertőzést a rossz tárolási körülményeknek köszönhetően a sütés után kapja meg. A kenyérbél sötétvörös, majd skarlátvörös lesz, olyan, mintha foltokban véres lenne, innen kapta a „véres kenyér” elnevezést (Pesti, 2001).

3. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

3.1. Felhasznált medvehagyma levelek virágzás előtt, és virágzás után

A virágzás előtti medvehagyma leveleket április első hetében vásároltuk, míg a virágzás utáni leveleket május utolsó heteiben. Mindkét esetben a szegedi piacról szereztük be a leveleket. Az áprilisi levelek színe élénkzöld volt, tapintásra sima és húsosak voltak, míg a májusi levelek színe néhol már sárgult, színük halványabb, tapintásra fonnyadtabbak voltak. Aprítás során az illatukban is különbséget éreztünk. A virágzás előtti medvehagyma illata sokkal intenzívebb, csípősebb volt, mint a virágzás utánié. A két kivonat színbeli különbsége volt talán a legjelentősebb, a virágzás előtti sterilre szűrt kivonat aranysárga színű volt, míg a virágzás utáni kivonaté inkább rézsínre hasonlított

3.2. Felhasznált táptalajok és tápoldatok

Élesztőkivonat-tripton-glükóz táptalaj (TGE):

- 1% glükóz
- 0,5% pepton
- 0,25% élesztőkivonat
- 2% agar

Luria-Bertani táptalaj (LB)

- 1% pepton kazeinből
- 0,5% élesztőkivonat
- 1% Na Cl
- 1,2% agar

A vizsgálatok során használt tápoldatok a fenti recept alapján készültek az agar elhagyásával.

3.3. Felhasznált oldatok:

30%-os etanolos oldat:

- 30ml 96%-os etanol
- 70ml desztillált víz

3.4. Felhasznált mikroorganizmusok:

A kísérlet során felhasznált mikroorganizmusokat az alábbi táblázatban foglaltam össze. A törzseket LB és TGE táptalajon, havi átolással 4 °C-os, sötét szobában tároltuk.

2. táblázat: Felhasznált mikroorganizmusok és paramétereik

Baktérium neve	Hőmérséklet optimuma	Táptalaj	Törzsgyűjtemény kódja
<i>Bacillus subtilis</i>	30 C°	TGE	SZMC 0209
<i>Bacillus cereus</i> v. <i>mycoides</i>	30 C°	TGE	SZMC 0042
<i>Staphylococcus aureus</i>	37 C°	LB	SZMC 110007 ATCC 25923
<i>Staphylococcus aureus</i>	37 C°	LB	SZMC 6270 ATCC 43300
<i>Escherichia coli</i>	37 C°	LB	SZMC 0582
<i>Serratia marcescens</i>	30 C°	TGE	SZMC 0567
<i>Pseudomonas putida</i>	30 C°	TGE	SZMC 6010 DSM 291

3.5. Kivonatkészítés:

Két csomag friss medvehagyma levelet darálógéppel összevágunk. Ezután 30 g apróra vágott levelet 100 ml 30%-os etanolos oldatban 24 órán keresztül, sötét helyen rázattuk. 24 óra elteltével szűrőtölcsér, gézlap és papírszűrő segítségével leszűrtük. A látható levéldaraboktól mentes oldatot Falcon csövekbe töltöttük, ezután fagyasztóba tettük és a felhasználásáig fagyasztott állapotban tároltuk. A kivonat szárazanyag meghatározását rotációs vákuum bepárlóval (IKA RV 10 basic; IKA HB 10 basic fűtőegység) végeztük. Bepárlás előtt a bepárló lombikot lemértük. A bepárlást vákuum bepárlóval végeztük, előtte a lombikot analitikai mérlegen lemértük. Felolvasztott,- etanolos medvehagyma kivonatot belepipettáztunk a lombikba, majd 50 C°-on, bepároltuk. Nem használtunk magasabb hőmérsékletet, mert a medvehagymában található hatóanyagok nagyon illékonyak. A lombikban bepárolt víz-és etanol mentes kivonatot lemértük, majd az eredeti lombik tömegét kivontuk belőle, így megkaptuk a szárazanyag tartalmát. A virágzás előtti kivonat koncentrációja 39,9 mg/ml, a virágzás utánié 43 mg/ml lett.

3.6. Sterilre szűrés menete:

Az 50 mg/ml-es oldatot felolvasztottunk, majd fokozatosan csökkenő pórusméretű szűrők segítségével átszűrtük. A legkisebb pórusméretű (0,45 µm) szűrővel, steril fülke alatt sterilre szűrtük a kivonatot. A felhasználásig 20 C°-on tároltuk.

3.7. Mikroorganizmusok előkészítése:

A 4 C°-os hidegszobában, ferde agaron tárolt törzseket steril fülkében 15 ml-es falcon csövekbe oltottuk, majd 24 óra inkubálás után, Bürker kamra segítségével sejtszámolást végeztünk. Az így kapott sejtszámot figyelembe véve, a megfelelő tápoldatos hígítást alkalmazva, mindegyik törzsből készítettünk 4 ml $1 \cdot 10^5$ sejt/ ml sejtet tartalmazó szuszpenziót.

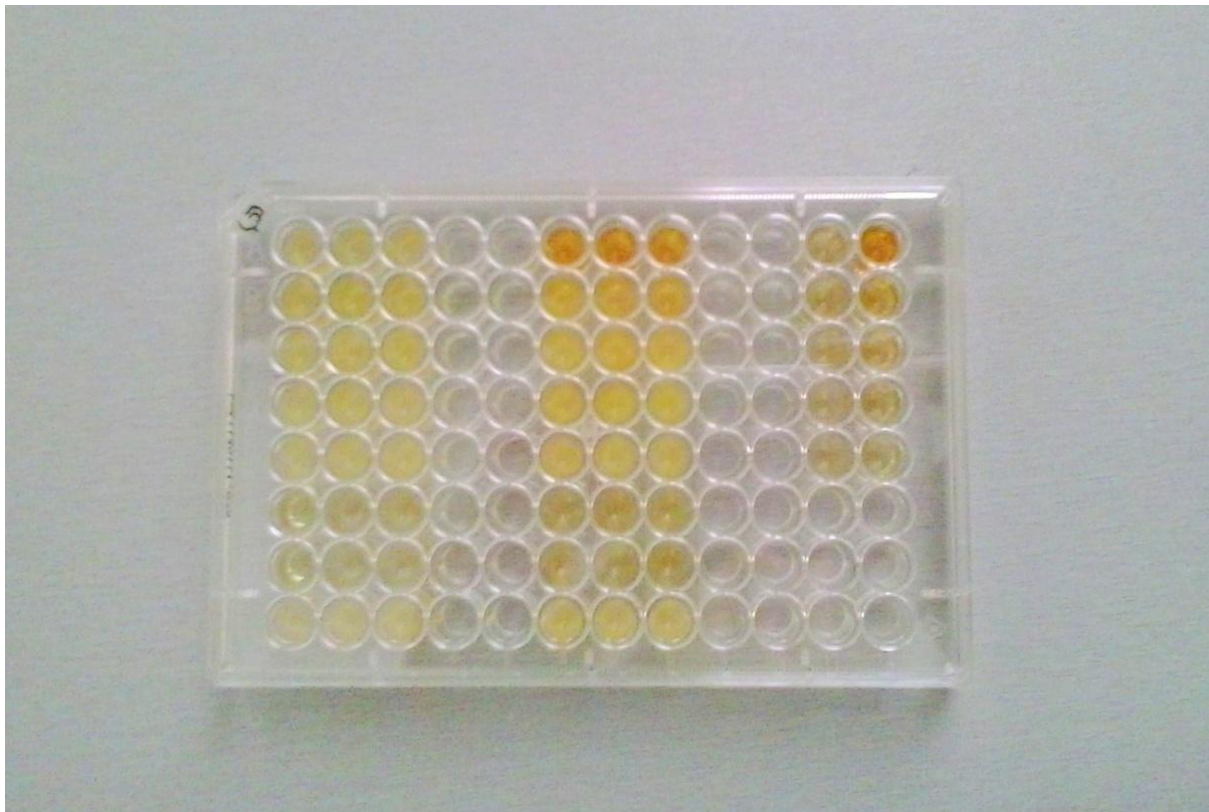


3. ábra: Sejtsuszpenziók

3.8. Antimikrobiális hatásvizsgálat mikrodilúciós módszerrel

A virágzás előtti és virágzás utáni kivonatok *in vitro* antimikrobiális hatását 96 lyukú mikrotiter lemezen abszorbancia méréssel (580 nm) vizsgáltuk (SPECTROstar Nano,

univerzális mikrotiter lemez leolvasó, Ortenberg, Németország). Minden lyuk 100 µl 10⁵ baktérium/ml szuszpenziót és 100 µl tápoldatban oldott, adott koncentrációjú kivonatokat (véggkoncentrációban: 19,95-1,246 és 21,5-1,343 mg/ml) tartalmazott. Növekedési kontrollként 100 µl tápoldatot és 100 µl 10⁵ baktérium/ml szuszpenzió elegyét, negatív kontrollként 100 µl tápoldat és 100 µl 1,246 és 1,343 mg/ml kivonatot alkalmaztunk. A mikrotiter lemezeket a 2. táblázat szerinti, az adott baktérium optimális hőmérsékletén inkubáltuk és az abszorbanciát 0 és 24 óra után mértük. Kísérleteinket 3 párhuzamos bevonásával végeztük el.



4. ábra: Leoltott mikrotiter lemez

3.9. MIC és MBC értékek meghatározása

Pontosabb eredményt kapunk, ha meghatározzuk hígítási módszerrel azt a legkisebb antibiotikum mennyiséget, amely 1 ml térfogatú oldatban (táptalajban) megakadályozza valamely baktérium szaporodását. Ezt az értéket minimális gátló koncentrációnak (minimum inhibitory concentration = MIC) nevezzük. Hasonlóan informatív lehet az antibiotikumok minimális koncentrációja (minimum bactericid concentration = MBC), az a mennyiség, amely az inokulumként bevitt baktériumok 99,9%-át elpusztítja.

A sejtszuszpenzióval beoltott, 19,95-1,246 és 21,5-1,343 mg/ml-es töménységig hígított kivonatokat tartalmazó lyukakból kipipettáztunk 10 µl-t, majd a Petri – csésze felső részére cseppentettük. Ezután a csészét megdöntve, lassan a háromnegyedéig lefolyattuk, ahol megvártuk, hogy beszáradjon. Száradás után elvégeztük a műveletet a következő hígítással, mind a 3 párhuzamost felhasználva. Kontrollnak a 10^5 baktérium/ ml sejtszuszpenziós tápoldatot használtuk. A csészéket 24 órán keresztül, a baktériumonként megfelelő hőmérsékleten inkubáltuk (Kevei, 2006).

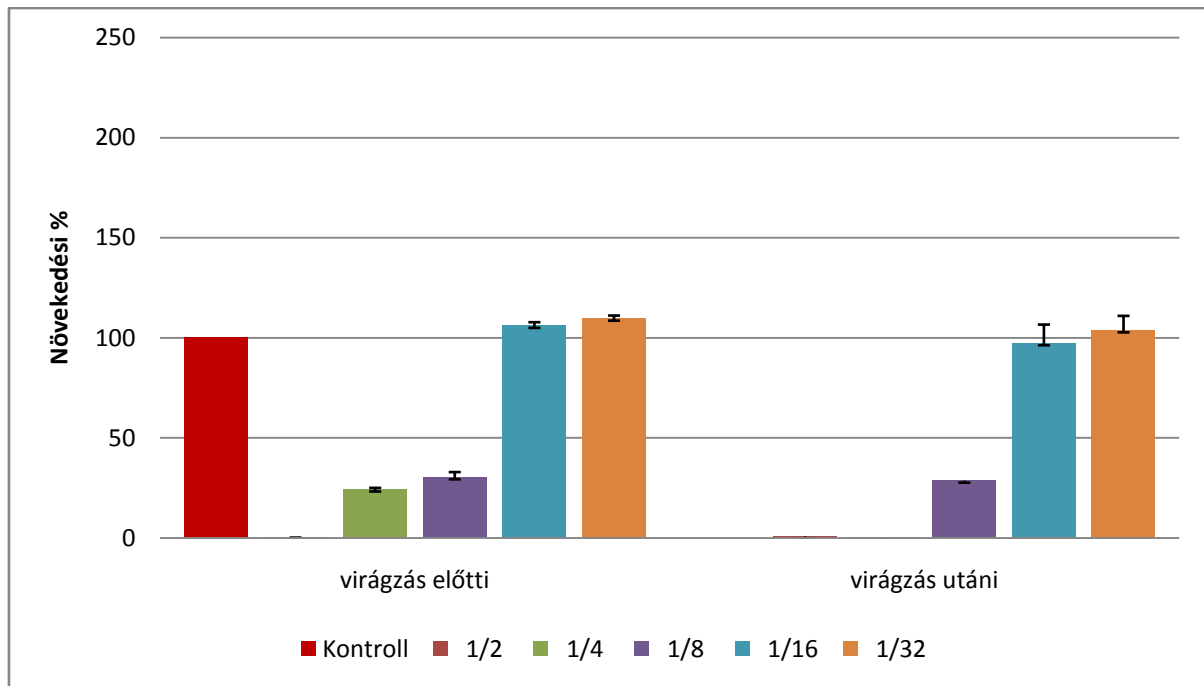
4. EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKEKELÉSÜK

4.1 Kivonatok növekedésgátlása

A 0 órás, 24 órás, ill. a virágzás előtti és virágzás utáni abszorbancia mérésekből kapott eredményeket összesítve az 5 - 11. ábrán mutatjuk be. Az „y” tengelyen tüntettük fel a növekedés mértékét, az „x” tengelyen a különböző koncentrációkat. A kontroll mintánk a küszöb értékünk, ennek az értéke 100%, ehhez viszonyítjuk a többi mikroba növekedését, vagy pusztulását. A kontroll minta minden esetben tápoldatot és az adott mikroba sejtszuszpenzióját tartalmazta. A grafikonon feltüntettük a hibasávokat is, melyek az eredmények szórását jelölik. A legmagasabb hibasávot a *P. putida*, valamint a *B. cereus* esetén kaptuk.

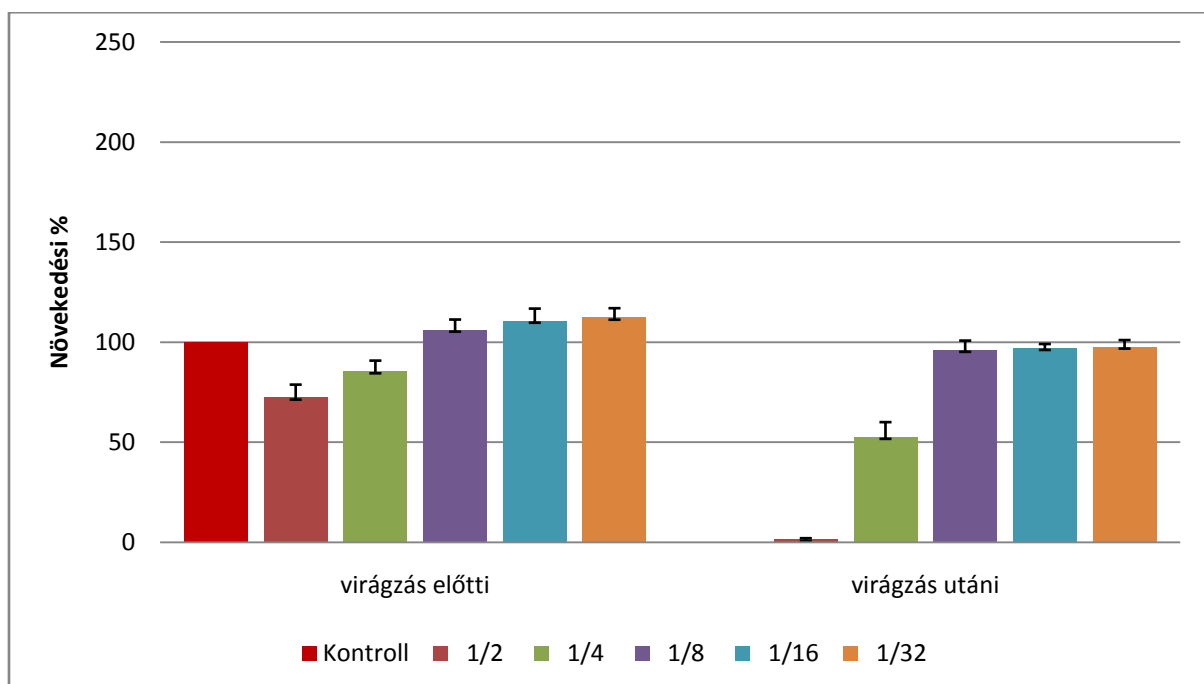
3. táblázat: Kivonatok koncentrációja különböző hígításoknál

Hígítás	Virágzás előtti koncentráció mg/ml	Virágzás utáni koncentráció mg/ml
1/2	19,95	21,50
1/4	9,97	10,75
1/8	4,98	5,37
1/16	2,49	2,68
1/32	1,24	1,34



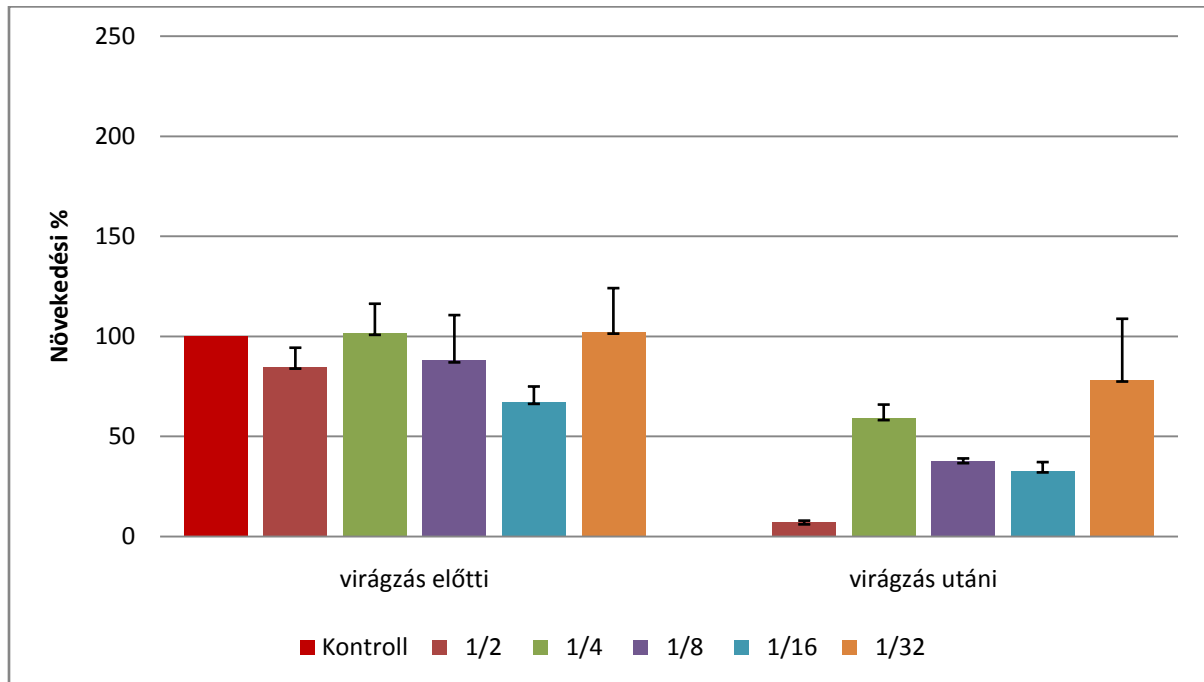
5. ábra: *Allium ursinum* kivonatok hatása az *Escherichia coli* törzsre

Az *E. coli*-nál tapasztaltuk a legnagyobb gátlást. A virágzás utáni kivonat hatásosabbnak bizonyult, mint a virágzás előtti. Jól látható, hogy 10,75 mg/ml-es koncentráció (1/4 hígítás) esetén is 0% körüli a növekedési százalék.



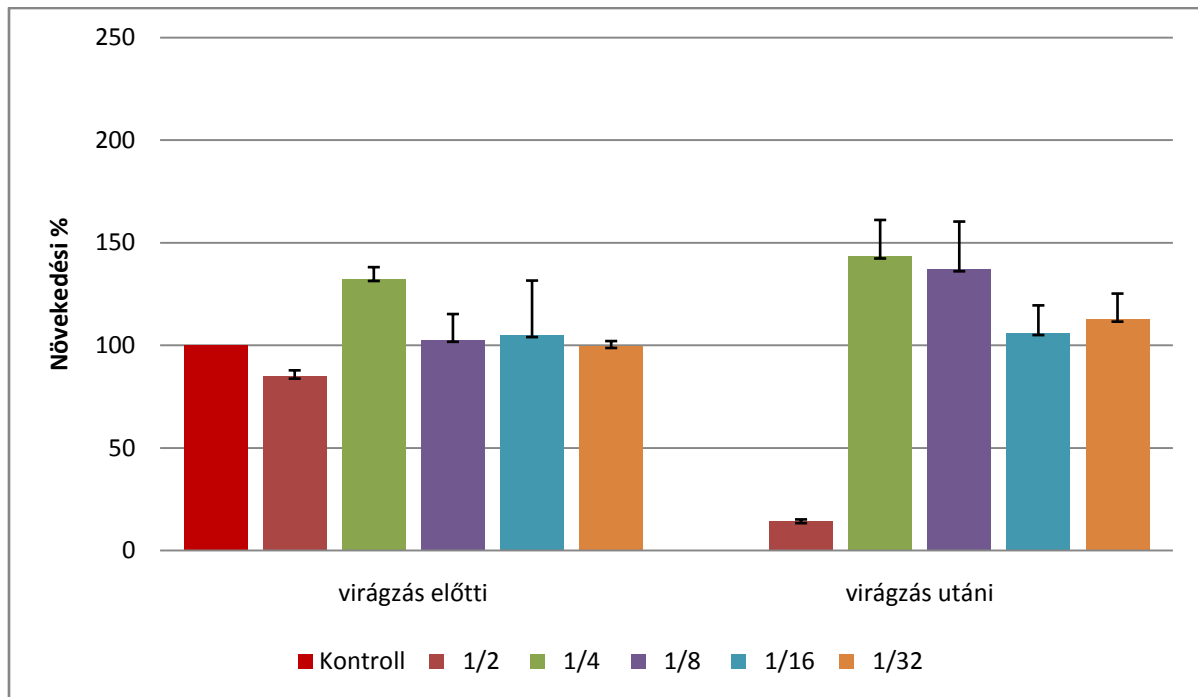
6. ábra: *Allium ursinum* kivonatok hatása a *Serratia marcescens* törzsre

A második legérzékenyebb baktérium a *S. marcescens* volt. Itt már jóval szembetűnőbb a virágzás előtti és a virágzás utáni kivontatok közti különbség. Az antibakteriális hatás azonban az 1/4 hígítás után szinte megszűnt.



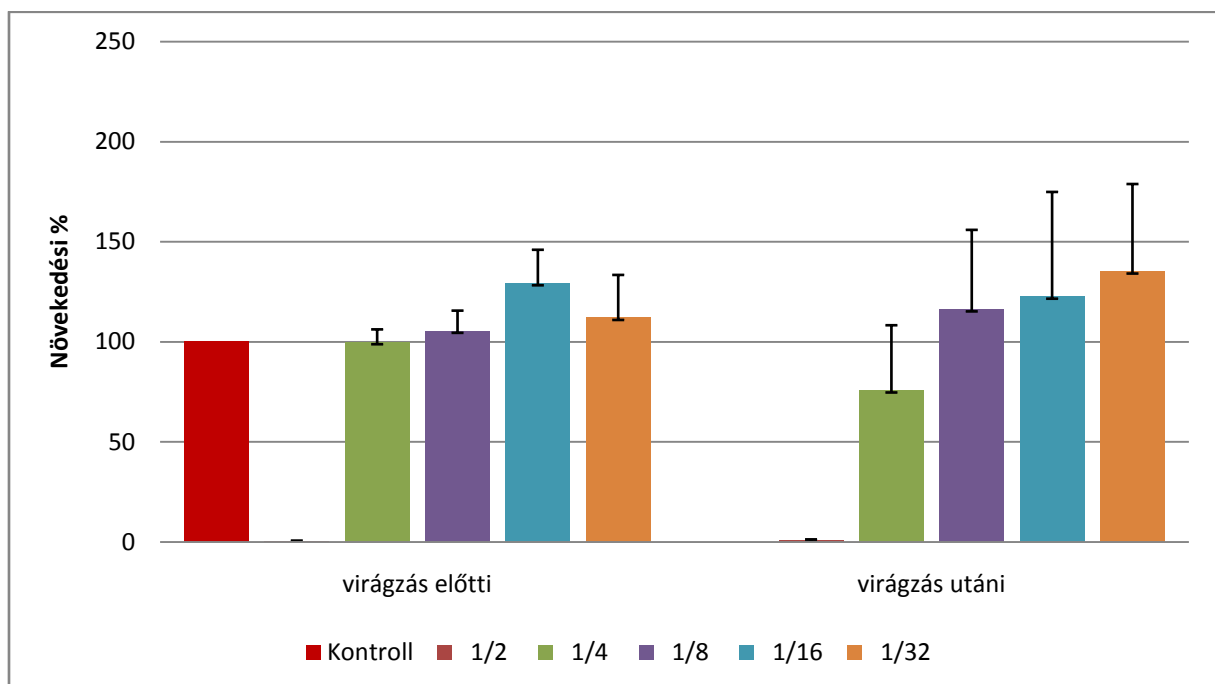
7. ábra: *Allium ursinum* kivontatok hatása a *Staphylococcus aureus* törzsre

A *S. aureus*-nál szintén megfigyelhető a virágzás előtti és utáni hatásos közti különbség. Érdekes módon a hígabb kivontatok jobban gátoltak (1/8; 1/16), mint a töményebbek. Ennek talán az lehet a magyarázata, hogy a töményebb oldatokban elegendő cukor is volt a kivonatban, ami elegendő energiát szolgáltatott a hatóanyag sejtből történő „kipumpálásához”.



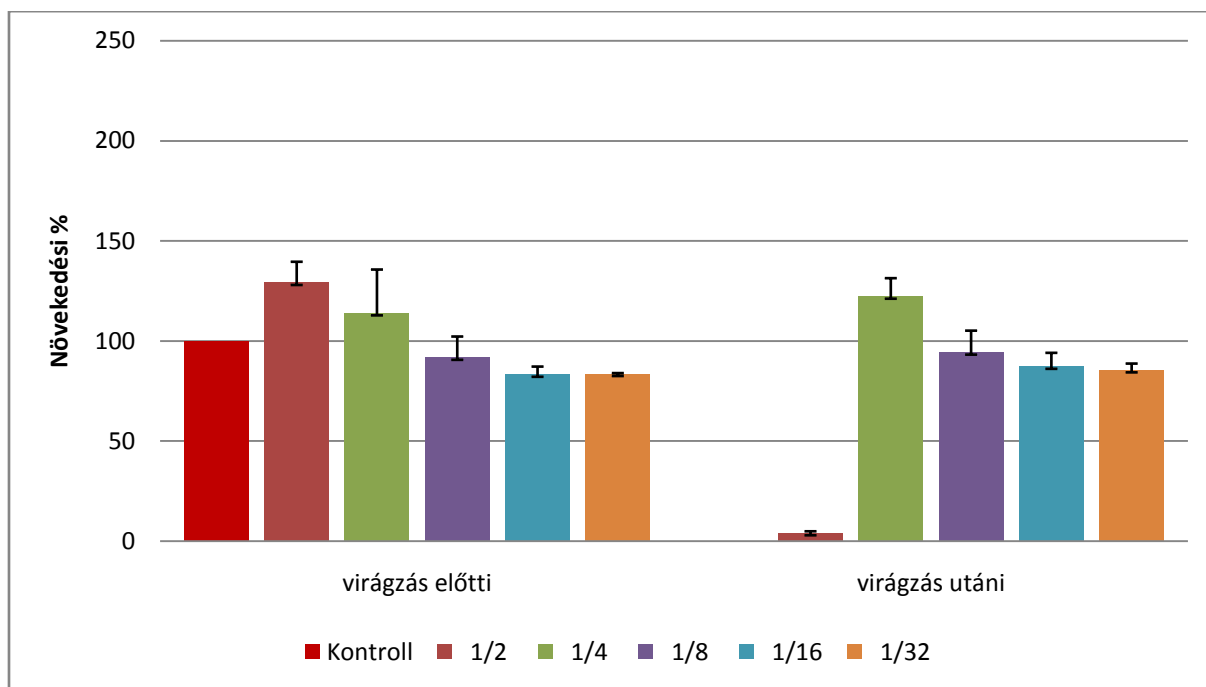
8. ábra: *Allium ursinum* kivonatok hatása a *Staphylococcus aureus* – ATC43300 törzsre

A *S. aureus* ATC43300 törzs esetében a 21,5 mg/ml-es koncentráció mutatott valamilyen gátlást, kisebb töménységben a kontroll mintáknál jóval nagyobb mértékű növekedést tapasztaltunk.



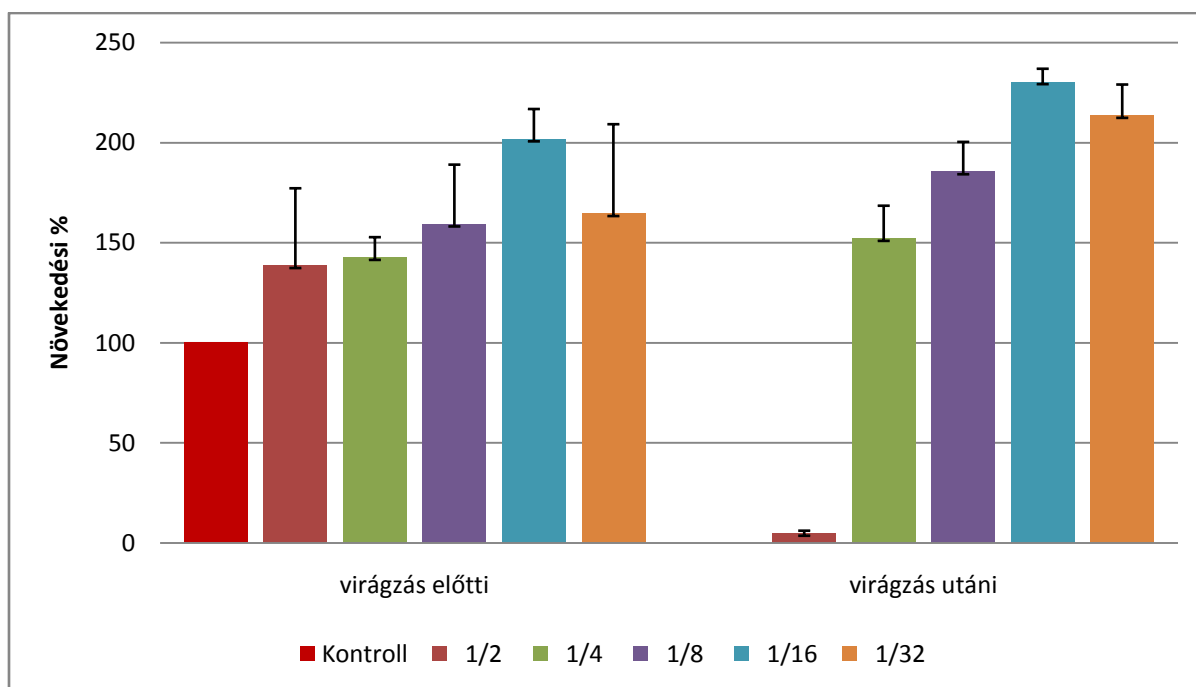
9. ábra: *Allium ursinum* kivonatok hatása a *Pseudomonas putida* törzsre

A *P. putida*-nál szintén csak a 21,5 és 19,95 mg/ml-es koncentrációjú kivonat hatott. Kisebb koncentrációban alkalmazott kivonat semmilyen gátlást nem mutatott.



10. ábra: *Allium ursinum* kivonatok hatása a *Bacillus subtilis* törzsre

A *B. subtilis* esetén kizárólag a virágzás utáni 21,5 mg/ml-es töménységben volt észlelhető antimikrobiális hatás.



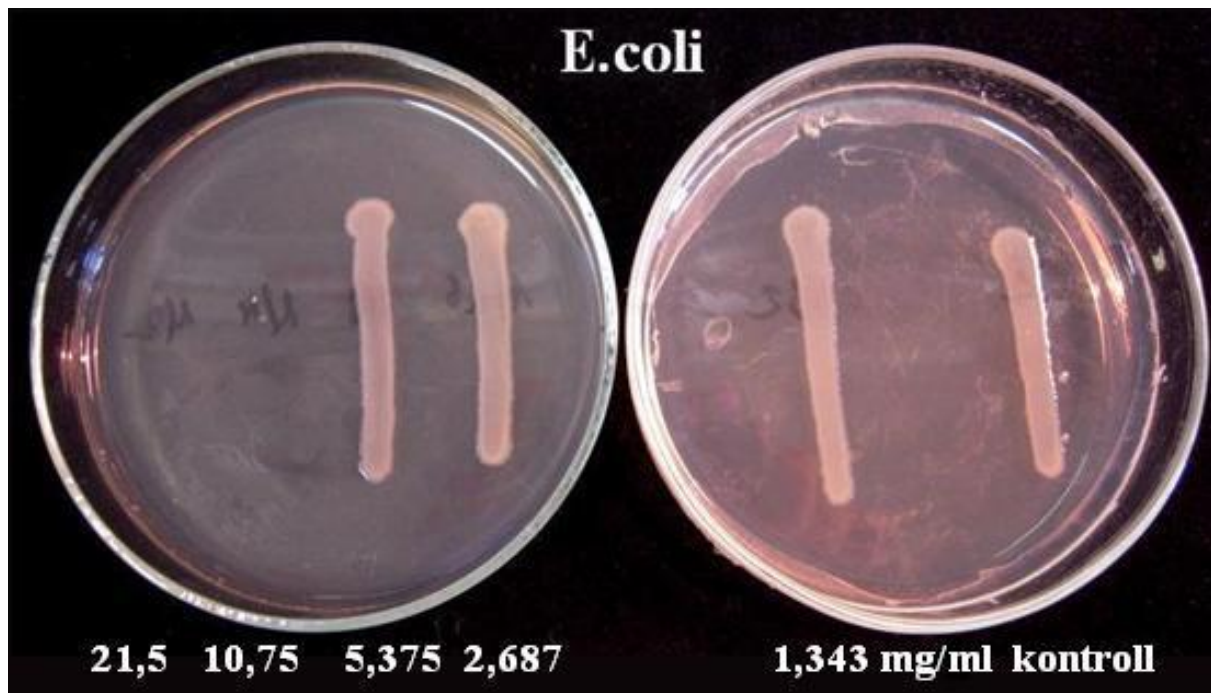
11. ábra: *Allium ursinum* kivonatok hatása a *Bacillus cereus* törzsre

A legkevésbé a *B. cereus* reagált a medvehagyma kivonatára. A grafikon alapján kijelenthetjük, hogy serkenti a szaporodását, főleg 2,49 és 2,69 mg/ml-es koncentráció esetén.

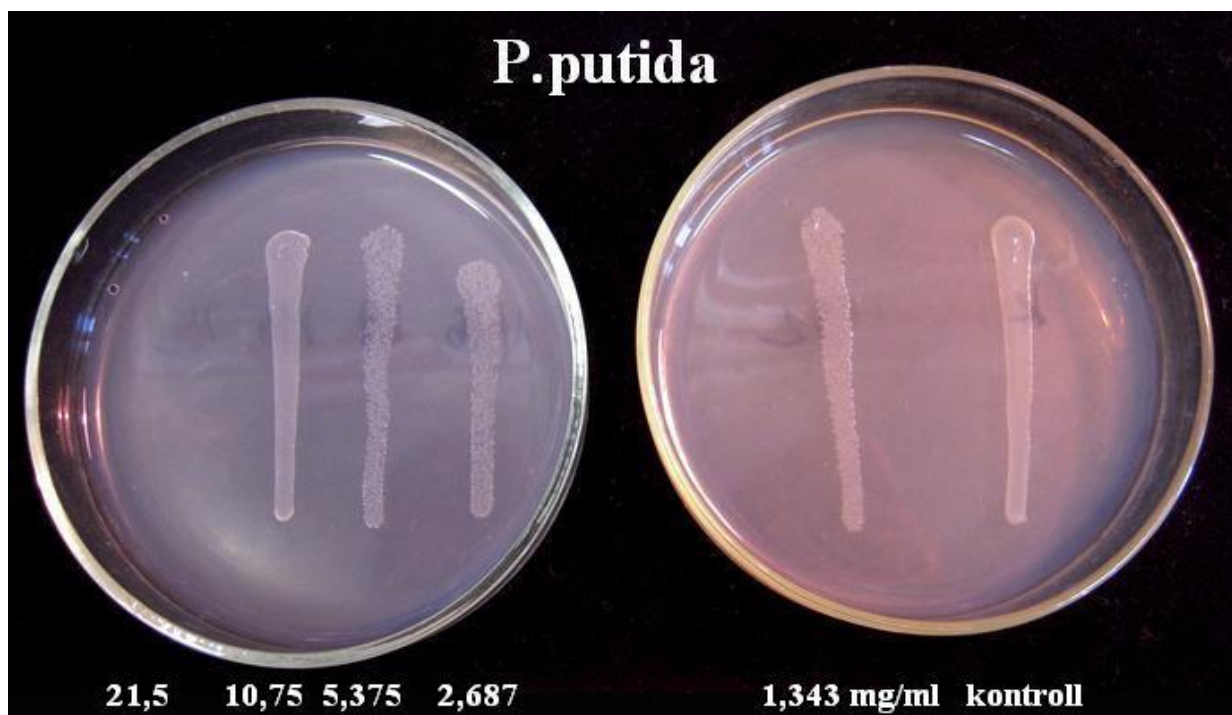
Sapunjjeva és munkatársai (2012) éppen ellenkező eredményeket kaptak, a Gram + baktériumok érzékenyebben reagáltak a medvehagyma kivonatára. A *Staphylococcus aureus* gátlási zónája közel háromszor nagyobb volt az *Escherichia coli* gátlási zónájánál.

A medvehagyma különböző kivonatát vizsgálta Maria és munkatársai (2013). A legmagasabb fungicid hatást a *Candida albicans* esetén, a legmagasabb baktericid hatást pedig az *E. coli* esetén mérték. 5%-os, vizes medvehagyma kivonat esetén semmilyen gátlást nem tapasztaltak. Az 5%-os, ecetsavas kivonat gátolta a legjobban az *Aspergillus glaucus* növekedését, az 5%-os, etanolos kivonat pedig nagymértékben csökkentette a *Geotrichum candidum* szaporodását. A *Saccharomyces cerevisiae* esetén még a 70%-os, etanolos kivonatnál sem alakult ki gátlási zóna. Az *Allium ursinum* hagyma részéből készített, 5%-os kivonat nagy gátlási zónát hozott létre a *Staphylococcus aureus* és a *Streptococcus pyogenes* esetén. A levélből készített 5%-os kivonat közepes gátlási zónákat eredményezett.

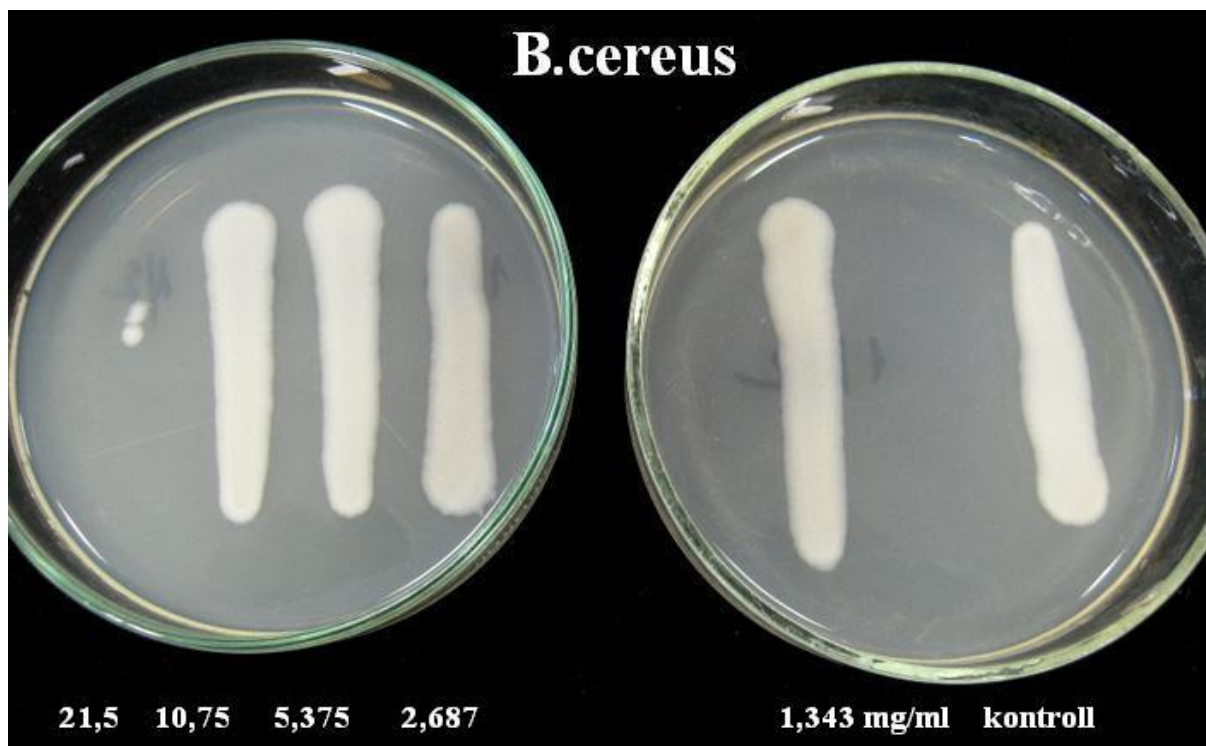
4.2. A MIC és MBC értékek meghatározása



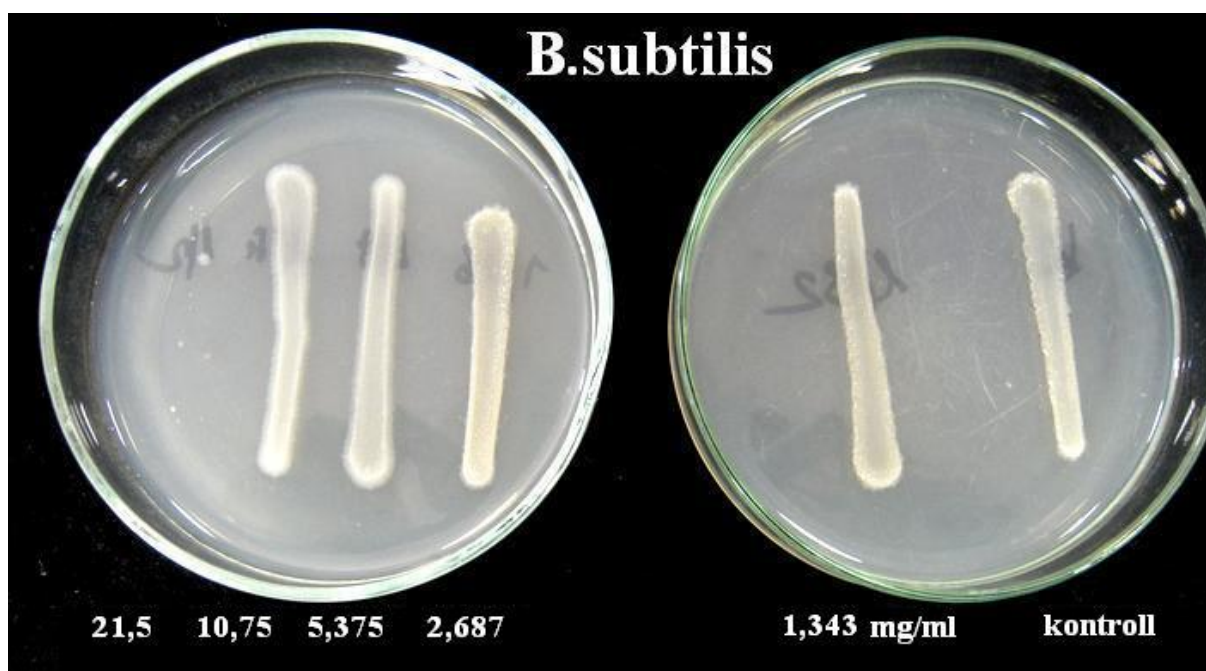
12. ábra: *Escherichia coli* növekedése különböző koncentrációjú virágzás utáni *Allium ursinum* kivonat mellett



13. ábra: *Pseudomonas putida* növekedése különböző koncentrációjú virágzás utáni *Allium ursinum* kivonat mellett



14. ábra: *Bacillus cereus* növekedése különböző koncentrációjú virágzás utáni *Allium ursinum* kivonat mellett



15. ábra: *Bacillus subtilis* növekedése különböző koncentrációjú virágzás utáni *Allium ursinum* kivonat mellett



16. ábra: *Serratia marcescens* növekedése különböző koncentrációjú virágzás utáni *Allium ursinum* kivonat mellett

A Petri-csésze fotón jól látszik, hogy az *E. coli*-nál 21,5 mg/ml és a 10,75 mg/ml esetén se volt telepnövekedés. 5,375 mg/ml-es koncentrációtól már egybefüggő telepek nőttek, így telepszámlálást nem tudtunk elvégezni. Makromorfológiai tulajdonságait tekintve a telepek színe sárgás, felülete S-telepes, azaz „smooth”, sima és fénylő, a telepek széle sima.

A *P. putida* esetén a 21,5 mg/ml-es koncentrációnál egy telep sem nőtt. Érdekes módon a 10,75 mg/ml-es töménység esetén egybefüggő telepet kaptunk, majd a hígabb, 5,375 mg/ml-es hígítás esetén a csík alakú telep alakja szabálytalan lett, egybefüggősége megszűnt, sejtszáma lecsökkent. A telepek számát azonban még nem tudtuk megszámolni. A 2,687 mg/ml koncentrációnál hasonló telepek nőttek, majd az 1,343 mg/ml-es koncentrációnál már csak a telep szélein tapasztaltunk kisebb változást, a sejtszám láthatóan nőtt. Makromorfológiai jellemzőit tekintve S-telepes, színe halványsárga, szinte már fehér. Telepszélei simák.

Bacillus cereus-nál a 21,5 mg/ml-es koncentráció esetén két telep nőtt, azonban ebből a telepszámból nem tudunk MIC értéket meghatározni. Hígabb koncentráció esetén összefüggő, széles telepek nőttek. Makromorfológiai jellemzőit tekintve nagy, szabálytalan szélű, R-

telepeket, azaz matt, rögös, érdes felszínű telepeket képzett. Színe fehér, a telepszélek hullámosak.

Bacillus subtilis esetén a 21,5 mg/ml-es koncentrációnál 12 darab telepet számoltunk. Hígabb koncentráció esetén összefüggő telepek nőttek, szabad szemmel változás nem tapasztalható. Makromorfológiai jellemzőit tekintve fehér színű, szabálytalan, R-telepeket képzett. A telepszélek hullámosak.

A *Serratia marcescens* esetén a 21,5 mg/ml-es koncentrációnál a telep homogén, sima felszíne megszűnt. Bár különálló telepeket nem tudtunk megkülönböztetni, azonban az *Allium ursinum* kivonat hatása szemmel látható. Hígabb koncentráció esetén összefüggő telepek nőttek, gátlást szabad szemmel nem tapasztaltunk. Makromorfológiai jellemzőit tekintve narancssárga színű, szabályos szélű, S-telepeket képzett. A telepek felszíne csillogó.

A baktériumtörzsek hatóanyaggal szembeni érzékenységét befolyásolja a baktérium szerkezeti tulajdonsága (Tynecka, 1975).

4. táblázat: MIC és MBC értékek a vizsgált mikroorganizmusokra

Mikroorganizmusok	Virágzás előtti		Virágzás utáni	
	MIC mg/ml	MBC mg/ml	MIC mg/ml	MBC mg/ml
<i>Escherichia coli</i>	20	20	10,8	10,8
<i>Pseudomonas putida</i>	20	>20	21,5	21,5
<i>Bacillus subtilis</i>	>20	>20	21,5	>21,5
<i>Bacillus cereus</i> v. <i>mycoides</i>	>20	>20	21,5	>21,5
<i>Serratia marcescens</i>	>20	>20	21,5	>21,5
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	>20	>20	21,5	>21,5
<i>Staphylococcus aureus</i> – ATC43300	>20	>20	>21,5	>21,5

Marcel és társai (2011) a medvehagyma levelét és virágát is megvizsgálták. A virágból készített kivonatot alkalmazva a *Botrytis cinerea* MIC értéke 60 mg/ml volt, a leveléből készített kivonatot használva a MIC érték 80 mg/ml volt. A virág allicin tartalma magasabb, mint a levélé. Flukonazollal összehasonlítva, a *Botrytis cinerea* MIC értéke 120 mg/ml volt. A medvehagymából készített kivonatok gombaellenes hatása magasabb volt, mint a flukonazolé. A flukonazol gombaellenes gyógyszer, amit szájon át, intravénásan vagy vaginálisan alkalmaznak a gomba- és élesztőgomba-fertőzések kezelésére. Májkárosító mellékhatása van.

A fokhagyma (*Allium sativum*) esetén a Gram + baktériumoknál 6-11 mg/ml volt a MIC érték, a Gram – baktériumok esetén 7-12 mg/ml közötti volt ez az érték (Srinivasan et. al, 2009).

A medvehagyma kivonat antibakteriális hatása számos tényezőtől függ, például a növényfajtájától, a szedés idejétől, a kivonathoz használt növényi résztől, az extrakciós oldószertől, illetve a kivonatok tárolási körülményeitől. A fokhagyma esetén például jelentős különbséget tapasztaltak a szobahőmérsékleten (20 °C), valamint a fagyasztóban (-20 °C) tárolt kivonatok hatékonyságát illetően. A szobahőmérsékleten tárolt kivonat hatékonysága már 7 nap után elveszett, míg a fagyasztott kivonaté csak 90 nap után tűnt el (Srinivasan et.al, 2009).

Antibakteriális, fungicid, valamint protozoa ellenes hatásáért felelős vegyületek az allicin, isoallin, methiin, flavonos glikozidok, szaponinok, polifenolok és egyéb szekunder metabolitok (Ivanova et. al, 2009).

A tioszulfátok jelenléte szintén meghatározza az antibiotikus hatást. Hughes és Lawson (1991) munkájuk során eltávolították a tioszulfátokat a kivonatokból, ezután megvizsgálták az antibiotikus hatásukat. A kapott eredmények azt bizonyították, hogy teljesen megszűnt ez a hatás. Ying és Cheng (2003) négy különböző tioszulfát mikrobaölő tulajdonságát vizsgálták darált marhahúsban. Ezek közül kettő tioszulfát jelentősen csökkentette és gátolta a patogén baktériumokat, mint például *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter jejuni*.

Kutatási eredmények azt mutatták, hogy 1 mg allicin antibiotikus hatása megegyezik 15 IU (Nemzetközi egység) penicillinével (Han et. al, 1995). Az allicin képes teljes mértékben meggátolni az RNS- szintézist. Legelőször az RNS-t károsítja, a DNS –szintézist csak részlegesen képes gátolni (Fedberg et. al, 1988). Ha az RNS nem termelődik, vagy csak kisebb mértékben, akkor a fehérjesszintézisben súlyos zavar lép fel. Leállnak az mRNS, rRNS és a tRNS folyamatok, így aminosavak és fehérjék sem keletkeznek. A mikroorganizmus növekedése, fejlődése leáll, az életben maradásához szükséges alapvető anyagokat nem kapja meg. A baktériumoknak egyetlen típusú RNS-polimeráza van, amely az mRNS-en kívül a tRNS és rRns gének átírását is végzi. Az RNS –polimeráz közvetlenül kötődik a DNS promóter régiójához. Az RNS szintézis jellegzetessége prokarióták esetén, hogy a fehérjesszintézissel kapcsolatos zajlik (Novák, 2001).

A baktériumok pusztulását az is okozhatja, hogy a Gram +, vagy Gram – sejtek plazmamembránja nem képes megfelelően kialakulni. A plazmamembrán elkülöníti a sejt belsejét a külvilágtól, szűrőként és kommunikációs csatornaként is funkcionál (Srinivasan, 2009).

5. ÖSSZEFOGLALÁS

A XXI. században tudatosabban figyelünk testi és lelki egészségünkre, egyre fontosabbá vált a betegségek kezelése helyett a megelőzés. Jobban figyelünk a táplálkozásunkra, élelmiszereinkre és azok összetevőire. Ezzel egyidejűleg előtérbe kerültek egyes összetevők emberi szervezetre gyakorolt hatásai is. Az adalékanyagok közül a fogyasztók körében leginkább fenntartással fogadott csoport a tartósítószerké.

Kísérletünk során megvizsgáltuk a medvehagyma *Allium ursinum* antibakteriális tulajdonságát. Ezen felül összehasonlítottuk a virágzás előtti és utáni levelekből készített kivonatok közti különbséget.

A medvehagyma jellegzetes fokhagyma illatú növény, melynek a levelét fogyasztják. Rengeteg pozitív hatással rendelkezik, tisztítja a vesét, a húgyhólyagot, gátolja a vérlemezke összecsapódást, mikrobaölő hatású, magas az antioxidáns tartalma, így lassítja az öregedést. Teakeverékként fogyasztva, pedig vérnyomáscsökkentő hatású, sötétzöld színű levelében lévő klorofill kitűnő antioxidáns.

Kísérleteinkhez a virágzás előtti, illetve a virágzás utáni medvehagyma levelekből kivonatokat készítettünk, majd megvizsgáltuk, hogy milyen mértékben gátolja egyes élelmiszerromlást okozó, illetve patogén mikroorganizmusok szaporodását. Ehhez mikrodilúciós módszert alkalmaztunk, majd meghatároztuk a MIC (minimális gátló koncentrációt) és az MBC (minimális baktériumölő koncentrációt) értékeket.

Egyes mikroorganizmusoknál jelentős különbséget véltünk felfedezni a virágzás előtti, illetve a virágzás utáni kivonat hatásosságát illetően. Kísérleteink az mutatták, hogy a Gram - baktériumok érzékenyebben reagáltak a kivonatra, mint a Gram + baktériumok. Ennek oka az eltérő sejtfal szerkezet, a membránok lipid rétege, valamint a sejtfal permeabilitása (Srinivasan et. al, 2009). Az *E. coli* volt a legérzékenyebb a medvehagyma kivonatára, szaporodás csak a jóval hígabb koncentrációnál volt. Érdekes eredményt kaptunk a *B. cereus* esetén, a medvehagyma jelenléte elősegítette annak szaporodását, virágzás utáni 2,687 mg/ml koncentrációnál 230%-os növekedést tapasztaltunk.

A MIC érték az az érték volt, ahol a kivonatot tartalmazó szuszpenzió abszorbancia növekedése $\leq 10\%$, mint a kivonatot nem tartalmazó szuszpenzió abszorbancia növekedése. Az MBC meghatározásához mikrotiter lemezekre oltottunk le. Ahol nem volt növekedés, ott

tudtuk meghatározni az MBC értékhez tartozó koncentrációt. A 4. táblázat tartalmazza ezeket a koncentrációkat. Jól látszódik, hogy az *E. coli*-nál kaptuk a legalacsonyabb MIC és MBC - értékeket. A virágzás utáni kivonat esetén 6 mikroorganizmusra tudtunk pontos MIC - értéket meghatározni.

Összefoglalásként elmondhatjuk, hogy az általunk vizsgált medvehagyma bizonyos mikroorganizmusokkal szemben antimikrobiális tulajdonsággal bír. Érdeemes lenne valós élelmiszerekben is kipróbálni hatását, illetve azt, hogy milyen mértékben változtatja meg annak érzékszervi tulajdonságait. A medvehagyma lassan kezd visszatérni a köztudatba, így kutatásunk segített abban, hogy közelebb kerüljünk a szintetikus tartósítószeret kiváltó növényekhez és azok hatóanyagaihoz. Fontos az is, hogy megállítsák a multirezisztens kórokozók terjedését. A fokhagyma például szinergikus hatást mutat antibiotikumokkal együtt használva, viszont vele szemben rezisztencia - a jelenlegi kutatási eredmények szerint - nem alakul ki (Srinivasan et. al, 2009). Ez az *in vitro* kísérlet egy lépéssel közelebb hozta a gyógyszer – valamint az élelmiszeripart, hogy a jövőben kevesebb antibiotikum rezisztencia alakuljon ki és hogy, a természetes tartósítási eljárások jobban előtérbe kerüljenek.

6. FELHASZNÁLT IRODALOM

- Annous, B.A., Fratamico, P.M., Smith, J.L. (2009)— Quorum sensing in biofilms: Why bacteria behave the way they do, *Journal Food Science* 74: 24-36.
- Barna É. et. al. (2000): A táplálkozás egészségkönyve, Kossuth kiadó, Budapest
- Boopathi, E., Rao, K.S. “A sideophore from *Pseudomonas putida* type A1: structural and biological characterization”. November 1999. Volume 1435. p.30-40.
- Charanjit K., Harish C. K.: Antioxidant in fruits and vegetables – the millennium’s helath, *International Journal of Food Science and Technology* 2001, 703-725
- Deák, T. (szerk) Élesztőgombák, Mezőgazdasági Szaktudás Kiadó, Budapest, 1998
- Devlieghere, F., Vermeulen, A. and Debevere, J. (2004) Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *J. Food Microbiology* 21: 703–714
- Dorman, H.J.D. and Deans, S.G. (2000) Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Appl. Microbiology* 88: 308–316
- Farkas G. (1984): Növényi biokémia, Akadémia Kiadó, Budapest
- Frank Zsófia-Kürti Gábor (2003): Gyógyítás illóolajokkal, Püldo Kiadó
- Fehér L., Gerő L., Tanács L. (2000): Alkalmazott biológia, - mikrobiológia, SZÉF, Szeged
- Fehér O. (2013): A medvehagyma *Allium ursinum* L. termesztése és felhasználása, *Agro napló 2013 (17. évf.) 1.sz.* 82-83. oldal
- Gerő L.: Alkalmazott biológia élelmiszertechnológus mérnök hallgatók részére, 2003, SZÉF, Szeged
- Jakucs E., Vajna L. (2003) Mikológia, Agroinform Kiadó, Budapest
- Hajós Gy. (2008): *Élelmiszer – kémia*, Akadémia kiadó, Budapest
- Kevei F., Kucsera J., Manczinger L., Pfeiffer I., Varga J., Vágvolgyi Cs.: Mikrobiológiai gyakorlatok I., JatePress Szeged 2006

- Novák I., Zámboi-Németh É., Horváth H., Seregély Zs., Kaffka K. (2003) Study of essential oil components in different *Origanum* species by GC and sensory analysis, *Acta Aliment.* 32: 141-150.
- Novák Béla (2001): *Sejtbiológia*
- Nagy I. (2006): Ezerarcú medvehagyma. In: Nagy Bandó A: Orfűi medvehagyma kincseskönyv. Szamárful kiadó, Orfű 53. oldal
- Marcel P., Alina E. P., Laurian V., Oana R. C., Ovidiu P.: Antifungal properties of *Allium ursinum* L. ethanol extract, *Journal of Medicinal Plants Research* Vol. 5, 2011, 2041 – 2046
- Mariana Lupoe, Dragomir Coprean, Rodica Dinica, Paul Lupoe, Gabriela Gurau, Gabriela Bahrim (2013): Antimicrobial activity of extracts of wild garlic (*Allium ursinum*) from romanian spontaneous flore, 2013, 14 (4), pp. 221-227
- Mark C. Enright†, D. Ashley Robinson, Gaynor Randle, Edward J. Feil, Hajo Grundmann, and Brian G. Spratt (2002) - The evolutionary history of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). 2002, 7687-7692
- Marqués, Silvia; Ramos, Juan L. (1993). "Transcriptional control of the *Pseudomonas putida* TOL plasmid catabolic pathways". *Molecular Microbiology* 9 (5): 923–9
- Országos Fogyasztóvédelmi Egyesület – Fogalom magyarázat, 2014
- Pap Z. (2008): Egy széles körűen használható növény: a medvehagyma, *Agrofórum*, 90-91. oldal
- Pesti M. (2001): Általános mikrobiológia. Dialóg Campus, Budapest-Pécs
- Pol I .E., Mastwijk H. C., Slump R. A., Popa M. E. and Smid E. J.: Influence of food matrix on inactivation of *Bacillus cereus* by combinations of nisin, pulsed electric field treatment, and carvacrol, *Journal of Food Protection* 2001, 1012-1018
- Radu V. B., Brigitha V., Monica B.: Chemical Composition and *in Vitro* Antifungal Activity Screening of the *Allium ursinum* L. (Liliaceae), *International Journal of Molecular Sciences*, 2012, 1426-1436

Schelz Z., Molnar J. and Hohmann J. (2006) Antimicrobial and antiplasmid activities of essential oils, *Fitoterapia*, 279–285

Srinivasan Durairaj, Sangeetha Srinivasan, P. Lakshmanaperumalsamy (2009): *In vitro* Antibacterial Activity and Stability of Garlic Extract at Different pH and Temperature, *Electronic Journal of Biology*, 2009, Vol. 5(1): 5-10

<http://mek.oszk.hu/01200/01215/html/tartosito.htm>, 2014. szeptember 7

http://www2.pharm.u-szeged.hu/phcogweb/Cikkek/HT%202008_februar.pdf, 2014. augusztus 28

http://ca.wikipedia.org/wiki/Allium_ursinum#mediaviewer/File:Illustration_Allium_ursinum1.jpg