

ETERINIŲ ALIEJŲ ANTIMIKROBINIS AKTYVUMAS

Rūta Mickienė¹, Annette Springorum, Bronius Bakutis¹, Joerg Hartung

¹ Lietuvos veterinarijos akademija, Tilžės g. 18. LT–47181 Kaunas, el. paštas: mickiene@lva.lt

² Hanoverio veterinarinės medicinos universitetas, Hanoveris, Vokietija

Gauta 2008-10-13; priimta spausdinti 2008-12-15

SANTRAUKA

Tvartų ore esančių mikroorganizmų skaičių mažinti rekomenduojama natūraliomis medžiagomis – eteriniais aliejais. Nustatytas pražangialapės mirtenės (*Malaleuca alternifolia*) ir tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) eterinių aliejų antimikrobinis aktyvumas. Naudotos gram+ (*Staphylococcus aureus* DSM No. 799, *Enterococcus faecium* DSM No. 2918), gram- (*Pseudomonas aeruginosa* DSM No. 939, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* DSM No. 788) bakterijų kultūros ir mielės *Candida albicans* DSM No. 1386. Antimikrobinės savybės vertintos praskiedimo metodu. Naudoti įvairių koncentracijų (0,1 iki 50,0%) pražangialapės mirtenės (*Malaleuca alternifolia*) ir tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) eteriniai aliejai. 0,5% pražangialapės mirtenės (*Malaleuca alternifolia*) aliejus bakterijų *Escherichia coli* augimą sumažino 99,9%, *Proteus mirabilis* augimą sumažino 100%. Aukštesnės koncentracijos (5%) pražangialapės mirtenės (*Malaleuca alternifolia*) reikėjo *Pseudomonas aeruginosa* ir *Enterococcus faecium*. *Staphylococcus aureus* bakterijų kultūrai reikėjo 8% eterinio aliejaus, kad slopintų bakterijų augimą 100%. *Candida albicans* mielės taip pat labai jautrios pražangialapės mirtenės (*Malaleuca alternifolia*) veikimui – 0,5% eterinis aliejus augimą sumažina 100%. Tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) eteriniam aliejui mikroorganizmai buvo atsparūs, todėl tik 50% koncentracijos aliejus 100% slopino mikroorganizmus.

Raktažodžiai: eteriniai aliejai, dezinfekcija, mikroorganizmai

IVADAS

Vieni svarbiausių veiksnių, turinčių įtakos gyvulių organizmui, yra šėrimas ir aplinkos veiksniai. Oras yra sudėtingas įvairių tarpusavyje susijusių veiksnių kompleksas, veikiantis gyvulio organizmą (medžiagų, šilumos, dujų apykaitą, kraujo fizines bei chemines savybes, termoreguliaciją). Mikroorganizmų rūšinė sudėtis ir kiekis tvartų aplinkoje nuolat kinta. J. Hartungas nurodo, kad daugiau nei 80% tvartų ore esančių mikroorganizmų sudaro streptokokai ir stafilokokai; mikromicetų, mielių gali būti daugiau nei 1% [13]. Tarp dulkių ir mikroorganizmų kiekio ore yra tamprus tarpusavio ryšys [2].

Aplinkos mikroorganizmai yra adsorbuojami dulkių dalelių, mažesnių nei 5 µm diametro. Tokios dulkės su mikroorganizmais patenka į kvėpavimo takus ir sukelia pneumoniją, astmą, bronchitą, rinitą ir kitas ligas [1, 6, 9, 14, 18, 20].

Eteriniai aliejai, augalai nuo seno naudojami liaudies medicinoje, maisto pramonėje, kosmetikoje ir farmacijoje kaip natūralios, aplinkai nekenksmingos medžiagos, slopinančios bakterijas, mikromicetus ir mieles [11,19, 26].

Mažai žinoma apie eterinių aliejų ir kvapų poveikį oro mikroorganizmams. Tačiau jau 1936 m. Risler, 1954 m. – Kellner ir Kober tyrinėjo eterinių aliejų ir kvapų poveikį ore esantiems mikroorganizmams.

Augalų kvapai, pasklidę į aplinką, padidina lengvųjų (neigiamų) jonų kiekį ore, kartu mažina sunkiųjų (teigiamų) jonų koncentraciją. Neigiami jonai aktyvina kvėpavimo takų gleivinę, jutimo receptorius, nervų galūnes, kvėpavimo fermentus. Teigiami gerina medžiagų apykaitą, kraują. Neigiami jonai ramina, didina raumenų galią, organizmo išvermingumą. Daugelis tyrinėtojų įrodė eterinių aliejų savybę jungtis su sunkiaisiais metalais bei kitomis toksinėmis cheminėmis medžiagomis ir jas pašalinti iš organizmo [3, 4, 15, 16, 17, 18].

Tyrinėjami eterinius aliejus mokslininkai pastebėjo, kad eteriniams aliejams labiau jautrios yra Gram-teigiamos bakterijos nei Gram-neigiamos [5, 8, 12, 21, 24, 25].

Praskiedimo metodu įvertinti du skirtingai antimikrobiškai veikiantys eteriniai aliejai: pražangialapės mirtinės (*Malaleuca alternifolia*) ir tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*).

Tyrimų tikslas – eterinių aliejų antimikrobinio poveikio įvertinimas, naudojant gram-teigiamas ir gram-neigiamas bakterijas, mieles.

TYRIMŲ SĄLYGOS IR METODAI

Tyrimai atlikti 2007/2008 metais Vokietijoje, Hanoverio veterinarines medicinos universitete, mikrobiologijos laboratorijoje. Eterinių aliejų antibakteriniam aktyvumui įvertinti naudotos aplinkoje nepageidautinos, tarp jų – ir patogeninės, kultūros. Antimikrobinės savybės vertintos praskiedimo metodu. Pasirinktos gram-teigiamos bakterijos: *Staphylococcus aureus* DSM No. 799, *Enterococcus faecium* DSM No. 2918, gram-neigiamos: *Pseudomonas aeruginosa* DSM No. 939, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* DSM No. 788, ir mielės *Candida albicans* DSM No. 1386 (Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen GmbH).

Naudoti skirtingų koncentracijų (nuo 0,1 iki 50,0%) pražangialapės mirtinės (*Malaleuca alternifolia*) ir tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) (Vokietija) eteriniai aliejai. Skirtingos eterinių aliejų koncentracijos gaunamos praskiedžiant peptono vandeniu (Vokietija). Mikroorganizmų suspencija ruošta, peptono vandenį resuspenduojant pagal McFarland standartą Nr. 0,5. Bakterijų ir mielių suspencijos po 50 µl išpilstomos į mikrošulinėlius, pridėdant 50 µl skirtingų koncentracijų (nuo 0,1 iki 50,0%) eterinių aliejų, paliekamas kontrolinis šulinėlis be eterinių aliejų. Tiriamosios mikroorganizmų kultūros (100 µl) 24 valandas kultivuotos termostate 37°C temperatūroje. Toliau atliekami praskiedimai, o praskiesti tirpalai pasėjami į Petri lėkšteles. Bakterijoms naudojamos lėkštelės su mitybine terpe *Blutagar-Basis* Nr. 2 (Vokietija), kultivuojama 37°C temperatūroje. *Pseudomonas aeruginosa* kultivuojamas 30°C temperatūroje, o mielėms *C. albicans* naudojamos lėkštelės su mitybine terpe *Malzex-*

trakt-Agar (Vokietija) ir 48 valandas kultivuojama 25°C temperatūroje. Išaugusios kolonijos skaičiuojamos.

TYRIMŲ REZULTATAI IR JŲ APTARIMAS

Ištyrus pražangialapės mirtinės (*Malaleuca alternifolia*) ir tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) antimikrobinį veikimą nustatyta, kad skiriasi jų antimikrobinis aktyvumas. Jautriausios mikroorganizmų kultūros buvo *Proteus mirabilis*, *Candida albicans*. Pražangialapės mirtinės (*Malaleuca alternifolia*) 0,5% eterinis aliejus *Proteus mirabilis* ir *Candida albicans* bakterijų kultūras slopino 100% (1 lentelė). Didėsių pražangialapės mirtinės (*Malaleuca alternifolia*) koncentracijų šimtaprocentiniam slopinimui reikėjo *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium* bakterijų kultūroms. Nustatyta, kad *Escherichia coli* bakterijas 100% slopina 0,8% eterinis aliejus. Šimtaprocentiniam slopinimui *Pseudomonas aeruginosa* ir *Enterococcus faecium* reikėjo 5% pražangialapės mirtinės (*Malaleuca alternifolia*) eterinio aliejaus. *Staphylococcus aureus* kultūrai slopinti 100% reikia 8% koncentracijos eterinio aliejaus.

Mažesnę gram-neigiamų bakterijų jautrumą eteriniams aliejams galima paaiškinti skirtinga bakterijų ląstelių sienelės membranos sandara [23]. Tačiau yra ir kitokių duomenų [7], o ir mūsų tyrimai tai patvirtino, jog gram-neigiamos bakterijų kultūros gali būti jautresnės už gram-teigiamas bakterijų kultūras (1, 2 lentelės). Ir tai galima paaiš-

1 lentelė. Mikroorganizmų jautrumas (%) pražangialapės mirtinės (*Malaleuca alternifolia*) eteriniam aliejui nuo 0,1% iki 0,5% koncentracijos
Table 1. Mikroorganism sensitivity (%) to *Malaleuca alternifolia* essential oil

Mikroorganizmai Microorganisms	Koncentracija (%) Concentration (%)				
	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5
<i>Proteus mirabilis</i>	95,6	96,2	97,9	98,7	100
<i>Candida albicans</i>	85,6	89,5	95,7	97,5	100

2 lentelė. Mikroorganizmų jautrumas (%) pražangialapės mirtinės (*Malaleuca alternifolia*) eteriniam aliejui nuo 0,5% iki 50% koncentracijos
Table 2. Mikroorganism sensitivity (%) to *Malaleuca alternifolia* essential oil

Mikroorganizmai Microorganisms	Koncentracija (%) Concentration (%)							
	0,5	0,8	1	2	5	8	10	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	74	79,6	81,2	98,1	100	100	100	100
<i>Escherichia coli</i>	99,9	100	100	100	100	100	100	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	99	99,1	99,2	99,9	99,9	100	100	100
<i>Enterococcus faecium</i>	75,2	84	93,7	99,9	100	100	100	100

kinti individualia eterinių aliejų chemine sandara, kuri priklauso nuo to, kaip augalas suderina cheminius elementus, esančius ore, dirvožemyje ir vandenyje, tokius kaip anglis, deguonis ir vandenilis, tuomet iš tų atomų sukuria šimtus skirtingų kvapiųjų molekulių: rūgštis, alkoholius, aldehidus, ketonus, esterius, fenolius, seskviterpenus ir terpenus [10].

Mūsų tyrimai parodė, kad gali būti ir silpnas antimikrobinis veikimas. Tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) eterinis aliejus turėjo silpną antimikrobinį poveikį visoms mūsų tirtoms bakterijų kultūroms. Visų tirtų bakterijų – ir gram-neigiamų, ir gram-teigiamų – augimą 100% slopino tik 50% tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) eterinis aliejus, o silpniausią poveikį 0,5% koncentracijos eterinis aliejus turėjo *Escherichia coli* bakterijų kultūrai, – bakterijų augimą slopino 8,4%. Šiek tiek stipriau veikė *Candida albicans*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*. Jautriausios tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) eteriniui aliejui buvo *Proteus mirabilis* ir *Staphylococcus aureus* bakterijų kultūros (3 lentelė.).

3 lentelė. Mikroorganizmų jautrumas (%) tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) eteriniam aliejui nuo 0,5% iki 50% koncentracijos
Table 3. Mikroorganism sensitivity (%) to *Zingiber officinale* essential oil

Mikroorganizmai Microorganisms	Koncentracija (%) Concentration (%)							
	0,5	0,8	1	2	5	8	10	50
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	40	69	73,7	80	84,4	87,9	89,3	99,9
<i>Escherichia coli</i>	8,4	41	45,9	57,6	56	64	64,6	100
<i>Staphylococcus aureus</i>	79,8	82,5	85,6	86,2	86,6	89,2	91,8	100
<i>Enterococcus faecium</i>	19,3	30	45	73,6	79	85,5	92,9	100
<i>Proteus mirabilis</i>	76,6	80,5	83,6	86,9	90,3	92,3	95,8	100
<i>Candida albicans</i>	13,5	29	54,5	68	79,9	90,7	94,4	100

IŠVADOS

Atlikus tyrimus su pražangialapės mirtenės (*Malaleuca alternifolia*) ir tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) eteriniais aliejais ir šešiomis mikroorganizmų kultūromis nustatyta:

1. Abu eteriniai aliejai veikė mikroorganizmų augimą, tačiau pražangialapės mirtenės (*Malaleuca alternifolia*) eterinis aliejus tas pačias *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* ir *Candida albicans* mikroorganizmų kultūras veikė žymiai stipriau, nei tikrojo imbiero (*Zingiber officinale*) eterinis aliejus.

2. Pražangialapės mirtenės (*Malaleuca alternifolia*) eteriniam aliejui jautriausi yra *Proteus mirabilis* ir *Candida albicans* mikroorganizmai. Šiems mikroorganizmams slopinti reikėjo žemiausių pražangialapės mirtenės (*Malaleuca alternifolia*) koncentracijų.

3. Pražangialapės mirtenės (*Malaleuca alternifolia*) eterinis aliejus gali būti naudojamas kaip natūrali medžiaga, slopinanti mikroorganizmų augimą.

Literatūra

1. Atin A., Reponen T., Lee S.A. et al. Assessment of human exposure to airborne fungi in agricultural confinements: personal inhalable sampling versus stationary sampling. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine*. 2002. Vol. 11. P. 269–277.
2. Bakutis B. Gyvulių auginimo sąlygų įtaka sveikatingumui. 2007. P. 8–12.
3. Botsoglou N.A., Florou-Paner P., Chiristaki E. et al. Effect of dietary oregano essential oil on performance of chickens and on iron-induced lipid oxidation of breast, thigh and abdominal fat tissue. *British Poultry Science*. 2002. Vol. 43. P. 223–230.
4. Chithra V., Leelamma S. Coriandrum sativum changes the levels of lipid peroxides and activity of antioxidant enzymes in experimental animals. *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*. 1999. Vol. 36. P. 5961.
5. Cimanga K., Kambu., Tona L. et al. Correlation between chemical composition and antibacterial activity of essential oils of some aromatic medicinal plants growing in the Democratic Republic of Congo. *Journal of Ethnopharmacology*. 2002. Vol. 79. P. 213–220.
6. Crook B., Robertson J.F., Glass S.A. et al. Airborne dust, ammonia, microorganisms, and antigens in pig confinement houses and the respiratory health of exposed farm workers. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 1991. Vol. 52. P. 271–279.
7. Deans S.G., Ritchie G. Antibacterial properties of plant essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 1987. Vol. 5. P. 165–180.
8. Delaquis P. J., Stanich K., Girard B. et al. Antimicrobial activity of individual and mixed fractions of dill, cilantro, coriander and eucalyptus essential oils. *International Journal of Food Microbiology*. 2002. Vol. 74. P. 101–109.
9. Donham K. J., Scallan L. J., Pependorf W. Characterization of dusts collected from swine confinement buildings. *American Industrial Hygiene Association Journal*. 1986. Vol. 47. P. 404–410.
10. Dorman H.J.D., Deans S.G. Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of Applied Microbiology*. 2000. Vol. 88. P. 308–316.
11. Elgayyar M., Draughon F.A., Golden D.A. et al. Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *Journal of Food Protection*. 2001. Vol. 64. P. 1019–1024.
12. Farag R.S., Daw Z.Y., Hewedi F.M. et al. Antimicrobial activity of some Egyptian spice essential oils. *Journal of Food Protection*. 1989. Vol. 52. P. 665–667.
13. Hartung J., Wathers C.M., Charles D.R. Environment and Animal Health. Livestock housing. CAB International. Wallingford, 1994. P. 25– 48.
14. Heber A.J., Ni J.Q., Lim T.T. et al. Effect of a manure additive on ammonia emission from swine finishing buildings. *Trans ASAE*. 2000. Vol. 43. P. 1895–1902.
15. Lambert R. J. W., Skandamis P. N., Coote P. et al. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *Journal of Applied Microbiology*. 2001. Vol. 91. P. 453–462.
16. Lee K. G., Shibamoto T. Determination of antioxidant potential of volatile extracts isolated from various herbs and spices. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002. Vol. 50. P. 4947–4952.
17. Lopez-Bote L. J., Gray J. I., Gomaa E. A. et al. Effect of dietary administration of oil extracts from rosemary and sage on lipid oxidation in broiler meat. *British Poultry Science*. 1998. Vol. 39. P. 235–240.

18. Mackie R. T., Stroot P. G., Varel V. H. Biochemical identification and biological origin of key odor components in livestock waste. *Journal of Animal Science*. 1998. Vol. 76. P. 1331–1342.
19. Mccrory D. F., Hobbs P. J. Additives to reduce ammonia and odor emissions from livestock wastes: a review. *Journal Environmental Quality*. 2001. Vol. 30. P. 345–355.
20. Miura K., Kikuzaki H., Nakatani N. Antioxidant activity of chemical components from sage (*Salvia officinalis* L.) and oregano (*Thymus vulgaris* L.) measured by the oil stability index method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002. Vol. 50. P. 1845–1851.
21. Olson D. K., Bark S. M. Health hazards affecting the animal confinement farm worker. *American Association Occupational Health Nurse Journal*. 1996. Vol. 44. P.198–204.
22. Pintore G., Usai M., Bradesi P. et al. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. Oils from Sardinia and Corsica. *Flavour and Fragrance Journal*. 2002. Vol.17. P. 15–19.
23. Ratledge C., Wilkinson S. G. An overview of microbial lipids. Academic Press Limited, London. 1988. P. 3–22.
24. Ruberto G., Baratta M.T., Deans S.G. et al. Antioxidant and antimicrobial activity of *Foeniculum vulgare* and *Crithmum maritimum* essential oils. *Planta Medicina*. 2000. Vol. 66. P. 687–693.
25. Senatore F., Napolitano F., Ozcan M. Composition and antibacterial activity of the essential oil from *Crithmum maritimum* L. growing wild in Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*. 2000. Vol. 15. P. 186–189.
26. Singh G., Kapoor I. P., Pandey S. K. et al. Studies on essential oils: part 10; antibacterial activity of volatile oils of some spices. *Phytotherapy Research*. 2002. Vol. 16. P. 680–682.

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OILS

Rūta Mickienė^{1, 1}, Annette Springorum, Bronius Bakutis¹, Joerg Hartung,

¹ Lithuanian Veterinary Academy,

Tilžės str. 18. LT-47181 Kaunas, Lithuania

² Institute for Animal Hygiene University of Veterinary Medicine Hannover

Summary

Recently essential oil sprays were recommended as a new approach to reduce airborne microorganisms in animal houses. The antibacterial activity of such oils from *Malaleuca alternifolia*, *Zingiber officinale*, was tested on 2 gram+ (*Staphylococcus aureus* DSM No.799, *Enterococcus faecium* DSM No. 2918), 3 gram- (*Pseudomonas aeruginosa* DSM No. 939, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* DSM No.788) species and the yeast *Candida albicans* DSM No.1386 using the broth dilution method. Standard bacterial broth cultures were mixed with different concentrations of essential oils in steps from 0.5 to 50% in order to determine the lowest effective antibacterial concentration. The oils showed a very wide spectrum of antibacterial activity. Concentrations of 0,5% of *Malaleuca alternifolia* reduced total bacterial counts of *Escherichia coli* and *Proteus mirabilis* to below 1%. 5% inactivated *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecium*, for *Staphylococcus aureus* 8% were necessary. *Candida albicans* are sensitive for *Malaleuca alternifolia* 0,5%. Contrary, a low antibacterial activity presented *Zingiber officinale* essential oil, where concentration to 50%. Needed to decrease bacterial counts to less than 1%.

Keywords: essential oils, disinfection, microorganisms

¹ Corresponding author. Tel.

, e-mail: mickiene@lva.lt

АНТИБАКТЕРИАЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ НЕКОТОРЫХ ЭФИРНЫХ МАСЕЛ

Рута Мицкене^{1, 2}, Аннете Спригорум², Бронюс Бакутис¹, Йозег Гарттунг²

¹ Lithuanian Veterinary Academy,
Tilžės str. 18. LT-47181 Kaunas, Lithuania

² Institute for Animal Hygiene University of Veterinary Medicine Hannover

Резюме

Одним из новых методов уменьшения количества микроорганизмов в воздухе животноводческих помещений является использование таких натуральных природных веществ, как эфирные масла. Исследовано антимикробное действие эфирных масел, выделенных из *Malaleuca alternifolia* и *Zingiber officinale*. В опытах использовали грамм-положительные *Staphylococcus aureus* DSM No.799, *Enterococcus faecium* DSM No. 2918 и грам-отрицательные *Pseudomonas aeruginosa* DSM No. 939, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis* DSM No. 788 культуры бактерий и дрожжи *Candida albicans* DSM No. 1386. Антимикробные свойства исследовали методом разбавления. Для исследования использовали эфирные масла разных концентраций – от 0,1 до 50,0%. 0,5-процентная концентрация *Malaleuca alternifolia* остановила рост бактерий *Escherichia coli* на 99,9%, *Proteus mirabilis* – на 100%. Более высокие концентрации *Malaleuca alternifolia* понадобились для уничтожения роста бактерий *Pseudomonas aeruginosa* и *Enterococcus faecium* (5%), для *Staphylococcus aureus* – 8-процентная концентрация эфирного масла. Дрожжи *Candida albicans* очень чувствительны к действию *Malaleuca alternifolia*. Использование 0,5% эфирного масла снизило рост дрожжей на 100%. Установлено, что к эфирному маслу *Zingiber officinale* микроорганизмы устойчивы. Только 50-процентная концентрация уничтожила микроорганизмы на 100%.

Ключевые слова: эфирные масла, дезинфекция, микроорганизмы

² Автор для переписки. E-mail: mickiene@lva.lt