

## Antibacterial Effects of Sour Cherry and Sea Buckthorn

Diána Furulyás<sup>1</sup>, Szabolcs Kesztői<sup>2</sup>, Tekla Engelhardt<sup>2</sup>, Csilla Mohácsi-Farkas<sup>2</sup>, Éva Stefanovits-Bányai<sup>3</sup>, Hegedűs Attila<sup>4</sup>, Papp Nóra<sup>3</sup>, Mónika Stégerne-Máté<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Food Preservation, Corvinus University of Budapest, Faculty of food Science

<sup>2</sup>Department of Microbiology and Biotechnology, Corvinus University of Budapest, Faculty of food Science

<sup>3</sup>Department of Applied Chemistry, Corvinus University of Budapest, Faculty of food Science

<sup>4</sup>Department of Genetics and Plant Breeding, Corvinus University of Budapest, Faculty of Horticultural Science

e-mail: diana.furulyas@uni-corvinus.hu

### Abstract

The aim of the study is to examine the anti-microbial effect of those plant species, which, based on our previous results, significantly inhibit the growth of microorganisms.

The cultivars of the chosen sea buckthorn and sour cherry species, originated in Hungarian growing regions, and they are rich in polyphenolic and anthocyanin compounds. The antioxidant capacity was determined by FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma), total polyphenol content (TPC) and TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) assays.

In this study, antimicrobial effect was tested on the strains of two bacteria (*E. coli*, *S. aureus*). The degree of inhibition was measured by rapid methods: impedance technique (RABIT, Don Whitley Scientific Ltd., UK). The antimicrobial effect was compared with analytical results.

The results of our measurement show that due to the high antioxidant capacity of sea buckthorn; have higher antimicrobial effect against chosen bacteria. Anti-microbial efficiency of sour cherry was significantly less than effect of sea buckthorn, but it reached greatly inhibition of microorganisms. Further researches these fruits can serve as a raw material for new, natural origin, and effective antimicrobial agents in a food industry which can use as bio-preservatives.

### Bevezetés

A XXI. században a fogyasztók egyre inkább olyan termékeket keresnek, melyeket kevésbé szélsőséges kezelésekkel és hozzáadott adalékanyagoktól mentes technológiával állítanak elő. Ennek érdekében egyre több kutatás folyik természetes adalékanyagok kifejlesztésére [1; 3; 4; 5; 7; 11].

A homoktövis latin néven *Hippophae rhamnoides* L., az ezüsfafélék (*Elaeagnaceae*) családjába tartozik, felhasználása széles körben elterjedt magas C-vitamin, és antioxidáns tartalma miatt, de jelentős a karotinoidok és egyéb vitamin (B-, E-, F-), aminosav (cisztein, lecitin, fenilalanin), illetve mikroelem tartalma is. Használják gyógyászati, kozmetikai és étkezési célokra egyaránt [6].

A meggy (*Prunus cerasus* L.) a *Rosaceae* család, *Prunoideae* alcsaládjába tartozó gyümölcs, mely úgyszintén számos értékes komponenst tartalmaz, köztük polifenolokat, antocianint, vitaminokat és ásványi anyagokat [9; 12; 13]

A homoktövis bogyós terméséről már köztudott, hogy nagymértékű antimikrobás hatékonysággal rendelkezik, azonban a meggy terméséről már kevésbé elterjedt ez a tény. Míg a homoktövis savanykás, markáns íze miatt kevesebb ételkészítéshez adható hozzá a termék ízének befolyásolása nélkül, a meggy íze és kedveltségi szintje lehetővé teszi szélesebb körű felhasználását.

Célunk megvizsgálni, illetve összehasonlítani a homoktövis és a meggy termésének antimikrobás hatékonyságát és mindezt összevetni antioxidáns kapacitásuk mértékével.

### Anyagok és módszerek

A gyümölcsök (homoktövis - *Hippophae rhamnoides* L., meggy - *Prunus cerasus* L) mindegyike hazánk termőterületeiről származó nagy antioxidáns kapacitással rendelkező fajták, melyeket több, Magyarországon elterjedt fajta közül előzetes vizsgálatokat követően választottuk ki: a Jászapátiból származó "Pető1" homoktövist, „Pipacs 1” meggyet.

A termések mikroba gátló hatását kétféle mikroorganizmussal szemben vizsgáltuk: *Escherichia coli* (6739), *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538), melyek a Budapesti Corvinus Egyetem Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszékén fenntartott törzsek.

A vizsgálatokat megelőzően a gyümölcsöket azonos mintaelőkészítési módszernek vetettük alá. Gyümölcsök aprítását követően liofilizáltuk a mintákat, majd vizes extrakcióval 80mg/ml-es oldatokat készítettünk. A mintákat egy órán keresztül ultrahangos fürdőbe helyeztük, majd szűrővatta segítségével átszűrtük. A mintákon elvégzett vizsgálatok a következők voltak:

- **Vasredukálóképességen alapuló antioxidáns kapacitás meghatározását (FRAP)** Benzie és Strain [2] által kidolgozott módszerrel mértük. A minta antioxidáns kapacitását aszkorbinsav ekvivalensben határoztuk meg (mM AS/100g).
- **Összes polifenol tartalmat (TPC)** Singleton és Rossi [10] módszere alapján határoztuk meg. Az eredményeket mM galluszsav/100g mértékegységben kaptuk meg (mM GS/100 g).
- **Troloxra vonatkoztatott antioxidáns kapacitás (TEAC)** meghatározását Miller és munkatársainak [8] módszere alapján végeztük el. (mM trolox ekvivalens /L mértékegységben megadva, mM TS/L)
- **Antimikrobás mérés:** A Budapesti Corvinus Egyetem Mikrobiológiai és Biotechnológiai Tanszékén elhelyezett RABIT (Rapid Automated Bacterial Impedance Technique) műszer impedancia mérésén alapuló technológia, mely a mikroorganizmusok szaporodása által bekövetkezett ellenállás- vagy vezetőképesség változását detektálja. A mérésekhez steril, elektródákkal ellátott RABIT-csővekbe 2-2 ml Don Whitley táplevest adagoltunk, melybe 700 µl baktérium szuszpenziót és 300 µl gyümölcs extraktumot tartalmazó minta került. A méréseknél pozitív kontrollként csak táplevest és baktérium szuszpenziót tartalmazó, negatív kontrollként pedig csak táplevest tartalmazó mintát alkalmaztunk. A mérési időintervallum 24 óra volt, a mintamérés 6 percenként automatikusan történt. Az inkubálási hőmérséklet 37°C volt. A kiértékelést a vezetőképességi görbékről leolvasható detekciós időkkal (TTD), illetve a görbék alatti területek (TE) segítségével elemeztük. Az integrálszámításokat R-project 3.2.1 programmal számítottuk.

### Eredmények és értékelés

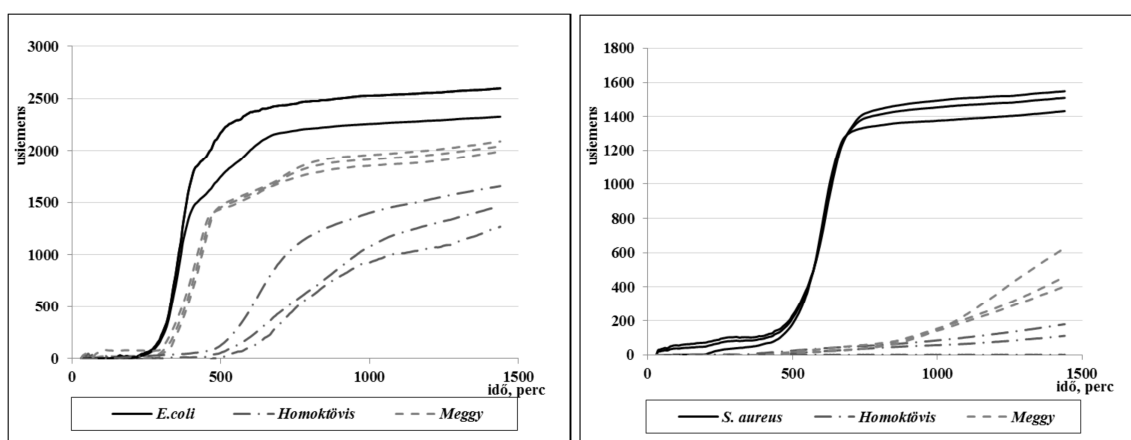
Az antioxidáns kapacitás (AOC) eredményeinek átlagértékeit az 1. táblázatban foglaltuk össze. A homoktövis vasredukálóképességen alapuló antioxidáns kapacitása (FRAP) nagyobb, mint tízszerese a meggy mintának. Az összes polifenol tartalomnál ez az arány már kisebb, de még mindig szignifikáns mértékű. A legkisebb eltérést a troloxra vonatkoztatott antioxidáns kapacitásnál mértük, de még itt is közel kétszerese a homoktövis AOC értéke a meggy mintának.

	FRAP mM AS/L	TPC mM GS/L	TEAC mM trolox ekvivalens/L
Homoktövis	242,37	305,81	130,89
Meggy	21,54	40,59	66,13

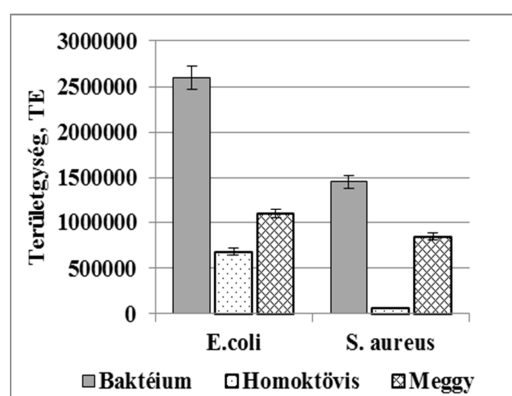
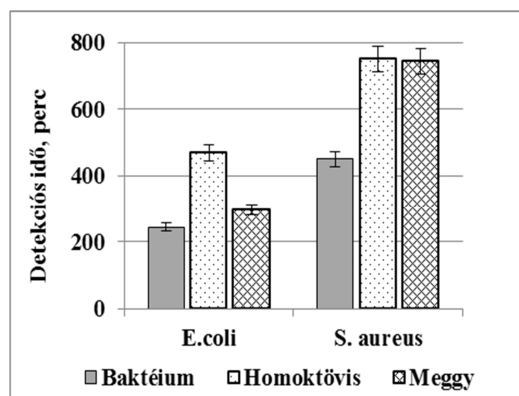
1. táblázat: Antioxidáns mérések átlageredményei mM/L-ben

Az antimikrobás mérések során kapott vezetőképességi görbéket az idő függvényében ábrázoltuk (1. ábra), ahol a pozitív kontrollként alkalmazott, csak baktérium szuszpenziót tartalmazó minták (—), a homoktövis hozzáadásával készült minták (- • - • -), valamint a meggy hozzáadásával készült minták (- - - -) vezetőképességi görbét láthatjuk. A görbe kezdeti (lag) szakasza a baktériumok adott körülményekhez való adaptációját jelzi, majd ezt követi a hirtelen emelkedő exponenciális szakasz, ahol a mikroba szaporodása eléri a maximális sebességét. Ennek kezdeti pontja adja meg a detekciós időt (TTD). A görbe harmadik szakasza a stacioner fázis, ahol a mikroorganizmus szaporodási sebessége állandósul.

Az 1. ábrán megfigyelhető, hogy a baktériumok szaporodása közben bekövetkező elektromos vezetőképesség legnagyobb mértékű csökkenését a homoktövis minta hozzáadásával értük el. Azonban a meggy is jelentős gátlást mutatott. Mindkét növény esetében a *S.aureus* baktériummal szemben erősebb tendenciát mutat a jelcsökkenés mértéke.



1. ábra: RABIT műszer által detektált vezetőképességi görbék



**2. ábra:** Vezetőképességi görbék detekciós idejének átlagértékei (perc)

**3. ábra** Vezetőképességi görbék alatti területek átlagértékei (TE)

A 2. ábra a görbék detekciós idejének átlagértékeit jeleníti meg. A detekciós idő fordítottan arányos a baktérium szaporodásának mértékével. Mindkét gyümölcs-extraktum hozzáadása szignifikánsan növelte a detekciós időket.

A 3. ábrán mutatjuk be a vezetőképességi görbék területességét, amely egyenesen arányos a baktériumok sejtszámával. Itt is az látszódik, hogy a homoktövis a meggyénél nagyobb mértékben gátolta a baktériumok szaporodását.

### Következtetés

Az antimikrobás mérési eredmények azt mutatták, hogy a minták jelentős mértékű gátlást fejtettek ki mindkét mikroorganizmussal szemben. A homoktövis mindkét baktérium esetében nagyobb mértékű szaporodásgátlást ért el, mint a meggy minta. A *S.aureus* törzzsel szemben erősebb gátlást tapasztaltunk mindkét gyümölcs hozzáadása esetében.

Az analitikai eredményeket összevetve az impedimetriás gyorsmódszerrel mért eredményekkel egyértelmű korreláció mutatkozik az antioxidáns kapacitás és az antimikrobás hatás között. A homoktövis nagyobb mértékű antioxidáns kapacitásának következtében lényegesen erősebb szaporodás gátlást tudott elérni a mikroorganizmusoknál, azonban a meggy antimikrobás hatása is jelentős, így javasolható az élelmiszeriparban természetes tartósítószerként történő felhasználásának további vizsgálata.

### Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom az OTKA K84290 támogatásáért.

### Irodalomjegyzék

- [1] R. Arora, S. Mundra, A. Yadav, R.B. Srivastava, T. Stodban, Antimicrobial activity of seed, pomace and leaf extracts of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* L.) against foodborne and food spoilage pathogens, African Journal of Biotechnology (2012) 11(45):10424-10430.
- [2] Benzie, I.I.F., Strain, J.J. 1966. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measuring of "antioxidant power": The FRAP assay. Analytical Biochemistry 239, 70-76.
- [3] G.W. Gould, Overview, In New Methods of Food Preservation. Blackie Academic & Professional (1995) Glasgow, XV-XIX
- [4] G.W. Gould, Industry perspectives on the use of natural antimicrobials and inhibitors for food applications, Journal of Food Protection (1996) 82–86.
- [5] A. Hegedűs, A csonthéjas gyümölcsök antioxidáns hatásában megnyilvánuló genetikai variabilitás jellemzése, Doktori (Ph.D) értekezés, Budapesti Corvinus Egyetem (2013) Budapest
- [6] L. Hornok (szerk), Gyógynövények termesztése és feldolgozása. Második átdolgozott kiadás, Budapest, Mezőgazdasági Kiadó (1990) 161-164.
- [7] T.E. Michel, G. Destandaua, F. Le, M.E. Lucchesi, C. Elfakir, Antimicrobial, antioxidant and phytochemical investigations of sea buckthorn (*Hippophaë rhamnoides* L.) leaf, stem, root and seed. Food Chemistry, (2012) 131(3):754-760.
- [8] Miller, N.J., Rice-evans, C., Davies, M.J., Gopinathan, V., Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates, Clinical Science, 84, 407-412.
- [9] N. Papp, B. Szilvássy, Z. Szabó, J. Nyéki, É. Stefanovits-Bányai, A. Hegedűs, Antioxidant capacity, total phenolics and mineral element contents in fruits of Hungarian sour cherry cultivars, International Journal of Horticultural Science (2008) 14 (1–2):59–64.

- [10] Singleton, V.L., Rossi, J.A., 1965. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144–158.
- [11] G. Tarnavölgyi, Az élelmiszeradalékanyagok szakmai és fogyasztói megítélése. Kaposvári Egyetem, Doktori (Ph.D) értekezés (2008) Kaposvár
- [12] Zs. Veres, M. G. Fári Antioxidánsok a mezőgazdaságban. Debreceni Egyetem, Agrártudományi közlemények (2004) 195–200.
- [13] Zs. Veres, I. Holb, J. Nyéki, Z. Szabó, M. G. Fári, Total anthocyanine content and antioxidant density of some Hungarian sour cherry varieties. *International Journal of Horticultural Science* (2005) 11 (2):109–113.