

SZAKDOLGOZAT

Demeter Diána Szakdolgozat

Demeter Diána

2022

Magyar Agrár - és Élettudományi Egyetem
Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet
Élelmiszer-mikrobiológia, -higiéncia és -biztonság Tanszék

Illóolajok antimikrobiális hatásának vizsgálata élelmiszerbiztonsági szempontból
jelentős baktériumokra

Demeter Diána
Budapest
2022



Szak neve: BSc Biomérnöki

Modul neve: Alkalmazott biotechnológiai

Modul szerinti tanszék: Sör- és Szeszipari Tanszék

Szakedolgozat készítés helye: Élelmiszer-mikrobiológia, -higiénia és -biztonság Tanszék

Hallgató: Demeter Diána

A szakdolgozat címe:

Illóolajok antimikrobiális hatásának vizsgálata élelmiszerbiztonsági szempontból jelentős baktériumokra

Konzulens: Dr. Pomázi Andrea

Beadás dátuma: 2022.04.25.

szakdolgozat készítés helyének vezetője
(Mohácsiné dr. Farkas Csilla)

konzulens
(Dr. Pomázi Andrea)

Dr. Nguyen Duc Quang
modul szerinti tanszék vezetője

Tartalomjegyzék

1. BEVEZETÉS	5
2. A MUNKA CÉLJA	6
3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS	8
3.1. ILLÓOLAJOK JELLEMZÉSE	8
3.1.1. <i>Illóolajok történelme</i>	8
3.1.2. <i>Az illóolajok összetevői</i>	9
3.1.3. <i>Az illóolajok antimikrobiális tulajdonságai</i>	10
3.1.4. <i>Az illóolajok felhasználása élelmiszerekben</i>	11
3.1.5. <i>Jogi szabályozás az illóolajok használatára</i>	12
3.1.6. <i>A felhasznált illóolajok bemutatása</i>	13
3.2. MIKROORGANIZMUSOK AZ ÉLELMISZERIPARBAN	16
3.2.1. <i>A vizsgált mikroorganizmusok jellemzése</i>	16
4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK	18
4.1. FELHASZNÁLT MIKROORGANIZMUSOK	18
4.2. FELHASZNÁLT ILLÓOLAJOK	18
4.3. TÁPKÖZEGEK ÉS ANYAGOK	19
4.4. TENYÉSZTÉSI KÖRÜLMÉNYEK	20
4.5. AZ ANTIMIKROBIÁLIS HATÁS VIZSGÁLATA	20
4.5.1. <i>Illóolajok antimikrobiális hatásának előtesztelése kontakt módszerrel</i>	20
4.5.2. <i>Az agardiffúziós lyukteszt illóolajok MIC értékének meghatározására</i>	21
4.5.3. <i>Illóolajok gőzterének antimikrobiális hatása</i>	21
4.5.4. <i>Illóolajok antimikrobiális hatásának vizsgálata Multiskan Ascent műszerrel</i>	22
5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELÉSÜK	24
5.1.1. <i>Illóolajok antimikrobiális hatásának előtesztelése kontakt módszerrel</i>	24
5.1.2. <i>Az agardiffúziós lyukteszt illóolajok MIC értékének meghatározására</i>	26
5.1.3. <i>Illóolajok gőzterének antimikrobiális hatása</i>	29
5.1.4. <i>Illóolajok antimikrobiális hatásának vizsgálata Multiskan Ascent műszerrel</i>	31
6. ÖSSZEFOGLALÁS	34
7. IRODALOM JEGYZÉK	36

8.	KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS.....	0
9.	NYILATKOZATOK.....	1

Demeter Diána Szakdolgozat

1. BEVEZETÉS

Még napjainkban is nagy mennyiségű élelmiszer megy veszendőbe anélkül, hogy eljutna a fogyasztókhoz, ennek oka az élelmiszerromlást okozó mikroorganizmusok jelenléte. Az élelmiszergyártók számára komoly kihívást jelentenek ezen mikrobák. A fertőzött élelmiszerek az egészségügyben is gondot okoznak, ugyanis az elfogyasztott ételek által okozott megbetegedések száma az évek során nem csökken, valamint az akut, súlyos megbetegedések mintegy 30%-ért felelősek. A mesterséges tartósítószer nagy részét a fogyasztók ellenzik. Az utóbbi években a zöld-mozgalmak és a tudatos vásárlói magatartás hatására a bio- és környezetbarátermékek népszerűsége fokozatosan nőtt, emiatt a természetes élelmiszer tartósítószer használata egyre inkább elterjedt, illetve terjedőben van. A hagyományos tartósítószer felhasználásakor kellemetlen melléktermékek képződhetnek. Ezek alapján elmondható, hogy szükségessé vált egy új, természetes eredetű antimikrobiális hatóanyagok alkalmazásán alapuló tartósítóeljárás kidolgozása, amelyek segítségével részben vagy egészben lehet helyettesíteni a szintetikus tartósítószereket. Az élelmiszeriparban az illóolajok felhasználása aromaanyagként régóta elterjedt. A legtöbb illóolaj rendelkezik GRAS (általánosan biztonságosnak tekintett) és FA (élelmiszer adalék) besorolással, a fogyasztók pedig elfogadják a használatukat az élelmiszerekben. Tartósítószerként való felhasználásuk akadálya, hogyha túl nagy koncentrációban adják az illóolajokat az ételekhez, akkor az erős aromájuk, miatt megváltoztatják az élelmiszerek ízét és illatát.

Munkám során kiválasztott illóolajok (bazsalikom, citrom, fahéj, kakukkfű, koriander, majoránna) antimikrobiális hatását teszteltem az élelmiszerekben romlást, illetve élelmiszer eredetű megbetegedést okozó *Escherichia coli* és *Staphylococcus aureus* baktériumok ellen.

2. A MUNKA CÉLJA

Az illóolajok és összetevőik antimikrobiális hatása régóta ismert, ennek ellenére az iparban főként aroma és -ízanyagként hasznosítják őket. Használatuk az élelmiszerekben a fagyosztók által is elfogadott, mivel a legtöbb illóolaj és főbb komponenseik rendelkeznek GRAS, általánosan biztonságosnak ítélt és FA, élelmiszer adalékanyag besorolással.

Napjainkban a zöld-mozgalmak hatására a természetes élelmiszer összetevők, alapanyagok felhasználása mellett a nem szintetikus tartósítószer kutatása és felhasználása az élelmiszerekben nagy figyelmet kap. Az illóolajok antimikrobiális, antibakteriális tulajdonságuk révén fontos szerepet játszhatnak az élelmiszerromlást okozó mikroorganizmusok szaporodásának gátlásában, így természetes tartósítószerként felhasználhatóvá válhatnak az élelmiszeriparban.

Kutatásom fő célja hat olyan illóolaj vizsgálata volt, amelyek a mindennapokban a leggyakrabban fordulnak elő a konyhák fűszeres polcain, ezáltal könnyen hozzáférhetőek és mindenki számára ismertek. Ezen hat illóolajnak az antibakteriális hatásának vizsgálatát végeztem el egy Gram-negatív és egy Gram-pozitív élelmiszerekben előforduló betegséget okozó modell baktériumra nézve különböző kísérleti módszerek mellett, majd a különböző módszerek hatékonyságát összevettem.

A következő konkrét célkitűzéseket fogalmaztam meg munkám előtt:

1. A kutatás során felhasznált illóolajok; bazsalikom, citrom, fahéj, kakukkfű, koriander, majoránna antibakteriális hatásának előtesztelése egyszerű mikrobapázsitra való felcseppentéssel.
2. A gátló hatást mutató illóolajok MIC értékének meghatározása agardiffúziós lyukteszttel az *Escherichia coli* és a *Staphylococcus aureus* baktériumra nézve.
3. Az illóolajok gőzterének antimikrobiális hatásának vizsgálata fordított Petri-csésze módszer (FPCs) alkalmazásával.

4. Egy műszeres módszer, MultiScan alkalmazása a legnagyobb gátló hatást kifejtő 3 illóolaj esetében a pontosabb elemzés érdekében.
5. A hat különböző illóolaj antibakteriális hatásának összevetése különböző módszerek figyelembevétele mellett.

Demeter Diána Szakdolgozat

3. IRODALMI ÁTTEKINTÉS

3.1. Illóolajok jellemzése

Az illóolajokat a növények különböző részeiből (levelekből, kérgekből, gyümölcsökből, virágokból, magvakból) nyerik ki vízgőzdesztillálással, egyes esetekben oldószeres kivonással vagy sajtolással. Az illóolajok aromatikusan, hidrofób tulajdonságú bonyolult összetételű anyagok, akár több száz komponensből is felépülhetnek. Az illó, azaz esszenciális olajok általánosságban folyékony halmazállapotúak, néhány kivételtől eltekintve szilárdok, illékony komponenseket tartalmaznak és erős illatuk alapján megkülönböztethetők egymástól (Fei és munkatársai, 2011). Az esszenciális olajokat széles körben használja az ipar. Illatszerekben, krémekben és kozmetikumokban hasznosítja őket a kozmetikai ipar, valamint előfordulnak élelmiszerekben íz- és aromaanyagként is. Az antimikrobiális és antioxidáns tulajdonsága az esszenciális olajoknak régóta ismert és számos szakirodalmi cikkben írtak már a baktériumokra, gombákra és vírusokra gyakorolt antimikrobiális tulajdonságukról. Legfontosabb hatóanyagaik a monoterpének, szeszkviterpének és diterpének, amik a terpenoidok közé tartoznak. Ezenkívül tartalmaznak még alkoholokat, aldehideket, aciklusos észtereket, alifás szénhidrogéneket, savakat és kumarint is (Burt, 2004).

3.1.1. Illóolajok történelme

Több mint 2000 évvel ezelőtt használtak desztillációs eljárást először az esszenciális olajok kinyeréséhez. Ez az akkori Perzsia, Egyiptom, India területein élő népcsoportok nevéhez fűződik, viszont az első autentikus leírás illóolaj desztillációról egy katalán orvos, Arnald de Villanova (1235-1311) nevéhez fűződik. A gyógyhatású növényekből, fűszerekből kinyert illóolajokat tartósításra, ízesítésre, testápolásra és illatosításra használták már az ókortól kezdve (Burt, 2004). Nagy szerepet töltöttek be a szakrális tevékenységek lebonyolításában is. Az egyiptomiak a halottak balzsamozása során használtak illóolajokat, ahol a konzerváló és baktériumölő hatásukat használták ki. A zsidó kultúrában füstölőként és illatszereként is alkalmazták az illóolajokat, míg Indiában a gyógyító masszázshoz használták fel ezeket a készítményeket. A kínai kultúrában jelent meg fahéj és a gyömbér használata a járványok idején, mivel ezek az olajok az antibakteriális hatásuk mellett jótékonyak bizonyultak a légúti fertőzések ellen és ellenállóbbá tették az

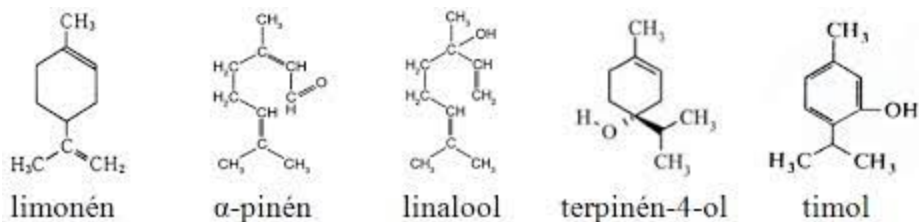
immunrendszert (Frank és Kürti, 2003). Az esszenciális olajokat a 13. században már gyógyszerészek állították elő és farmakológiai hatásuk is ismert volt, viszont használatuk csak a 16. században terjedt el széles körben az európai kontinensen. A 16. században két orvos, Burnschwing és Reiff egymástól függetlenül írtak illóolajok leírásáról és használatáról. Néhány illóolaj azok közül, amelyek szerepelnek a leírásokban: rozmaring, levendula, fahéj, szegfűszeg és szerecsendió. A 17. század végére a gyógyszertárakban már 15-20 különböző olajat is árultak. A 19-20. századra az illóolajok alkalmazása a gyógyászatban háttérbe szorult. Főként ízesítésre, aromaanyagként továbbá kozmetikai célokra alkalmazták őket az iparban (Guenther, 1948).

3.1.2. Az illóolajok összetevői

Az illóolajok organoleptikus tulajdonságai függenek a kinyerés módjától. Az iparban főként a gőz desztillációs eljárást alkalmazzák az extrakcióval szemben költséghatékonysági szempontok miatt. Extrakcióval kinyert esszenciális olajok organoleptikus tulajdonságai jobbak. (Packiyasothy és Kyle, 2002).

Az illóolajokat több mint hatvan különböző komponens alkotja, ezek között a fő összetevők aránya akár 85% is lehet, míg egyes összetevők csak kis mennyiségben fordulnak elő. A főbb alkotóelemek a terpének, terpenoidok (oxigén molekula kapcsolódik a terpénhez), alifás és aromás vegyületek. Ezek mellett tartalmaznak még minor komponens formájában savakat, alkoholokat, aldehideket, laktonokat és kis molekulatömegű kén- és nitrogéntartalmú vegyületeket (Burt, 2004). A terpének nyílt láncú vagy gyűrűs szénhidrogének (p-cimén), ezzel szemben a terpenoidok funkciós csoport alapján lehetnek alkoholok (linalool, gerániol), aldehidek (nerál, gerániál), észterek (linalil-acetát), fenolok (timol, karvakrol) vagy ketonok (kámfor, karvon). Ritkábban lehetnek aromás gyűrűs aldehidek (fahéjaldehid) vagy aromás gyűrűs fenolok (eugenol). Az 1. ábrán néhány fontosabb illóolaj összetevő szerkezeti képlete látható. A terpének izoprén alegységekből épülnek fel. A monoterpének két izoprén alegység kondezációja során keletkeznek. Az illóolajokban 90%-ban monoterpén (C_{10}) a fő komponensek, emellett lehetnek szeszkviterpének (C_{15}) és kisebb mennyiségben diterpének (C_{20}) (Bajpai és Baek, 2016; Bakkali és munkatársai, 2008; Burt, 2004).

Az azonos növényből kinyert olajok összetételét és hatóanyagtartalmát befolyásolja a földrajzi elhelyezkedés, a tengerszint feletti magasság, a talaj adottságai, az időjárási körülmények és az öntözés (Bajpai és Baek, 2016).



1. ábra: Néhány jelentősebb illóolaj összetevő képlete (Tserennadmid, 2010)

3.1.3. Az illóolajok antimikrobiális tulajdonságai

Az illóolajok antibakteriális, antiparazita, antifungális és antivirális hatását számos kutatás igazolta. A kutatásokban *in vitro* módszerekkel vizsgálták olajok antimikrobiális hatását különböző mikroorganizmusok ellen. Citotoxikus tulajdonságát a változatos összetételének köszönheti. Az illóolajok sejtfalon könnyen átjutnak, míg hidrofób tulajdonságuknak köszönhetően a sejtmembrán permeabilitását, áteresztőképességét is megváltoztatják. A membrán áteresztőképességének a megváltozása miatt makromolekulák szivárognak ki a sejtől, ami a sejt líziséhez vezet. Az intracelluláris ATP szint csökken és foszfát veszteség következik be emiatt. Gátolják az elektrontranszport-láncot, eukariótáknál a mitokondriális légzést és az ATP szintézist. Kicsapják a fehérjéket, károsítják a lipideket és a DNS transzkripcióra is hatással lehetnek. (Bakkali és mtsai, 2008). De Oliveira és munkatársai (2010) szerint a sejtartalom kiszivárgásával keletkező intracelluláris elem veszteség függ attól az időtartamtól, ameddig az illóolaj és a mikroorganizmus érintkezésben van. Ezeket a hatásokat az illóolajok kombinációi és egyes összetevői is képesek kiváltani.

Az esszenciális olajok antimikrobiális hatásának vizsgálatára többféle módszer is alkalmas. Folyadék tenyésztésben mikro- és makrohígításos tesztek alkalmaznak, míg szilárd táptalajon korongdiffúziós, lyukdiffúziós vagy agar hígításos módszert lehet alkalmazni. Minden felsorolt módszer a minimális gátló koncentráció (MIC - minimum inhibitory concentration) és a minimális baktericid koncentráció (MBC – minimum bactericidal concentration) megállapítására irányul. A módszerek során különböző koncentrációban alkalmazzák a kutatók az olajokat. Az MIC, az a legkisebb illóolaj koncentráció, ami a sejtek szaporodását gátolja. Az MBC a legkisebb illóolaj koncentráció, ami a sejtek pusztulásához vezet. A fizikai változások mikroszkóppal detektálják (Periccone és mtsai., 2015). A fent említett eljárások hátránya és nehézsége, hogy az olajok nem

képesek beoldódni az oldószerbe és a táptalajba, illetve illékony tulajdonságuknak köszönhetően könnyen elpárolognak (Schelz és munkatársai, 2010).

Az illóolajok baktériumölő hatása már régóta ismert és meg napjainkban is intenzíven kutatott terület. Számtalan kutatás során vizsgálták az esszenciális olajok hatását obligát és fakultatív humánpatogén mikroorganizmusokra, mint: *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pyogenes* stb. A kutatások kiterjedtek az élelmiszerromlást okozó- (*Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* stb.) élelmiszereredetű megbetegedést okozó- (*Escherichia coli*, *Shigella sonnei*, *Salmonella spp.* stb.) baktériumok elleni hatás vizsgálatára is (Dussault és mtsai., 2014; Fei és mtsai., 2011; Smith-Palmer és mtsai., 1998). A Gram-pozitív és Gram-negatív baktériumoknak különböző a sejtfalstruktúrájuk. A Gram-negatív baktériumok ellenállóbbak az illóolajokkal szemben a baktériumsejtfal külső membránjának köszönhetően, mely gátat jelent a hidrofób illóolaj komponensek számára (Burt, 2004). Nazzaro és munkatársai (2013) kutatása alapján az illóolajok megváltoztatják a baktériumok megtapadási képességét, a sejtmembrán összetételét, a „quorum sensing” (baktériumok közötti kommunikáció) aktivitását és a baktérium biofilmképzési képességét.

3.1.4. Az illóolajok felhasználása élelmiszerekben

Az olajok alkalmazása a kozmetikai-, szépség- és gyógyszeripar mellett az élelmiszeriparban is elterjedt. Az élelmiszerromlást okozó baktériumok ellen mesterséges tartósítószer helyett a természetes eredetű anyagok, esszenciális olajok alkalmazása a tudatos vásárlók igényeit igyekszik kielégíteni (Burt, 2004). Az illóolajok felhasználása az élelmiszeriparban sokoldalú. Az ételek hosszú idejű mesterséges anyagok hozzáadása nélküli, romlásmentes eltárolására irányuló megoldások manapság egyre nagyobb figyelmet kapnak, tehát a szintetikus tartósítószerekkel ellentétben a zöld és természetes anyagok felhasználása iránti igény egyre nő. Az antimikrobiális tulajdonságú illóolajok *in vitro* kísérletekben alacsony koncentrációval is képesek gátolni a mikroorganizmusok növekedését. Ezzel szemben az élelmiszerekben magasabb koncentráció alkalmazása szükséges és figyelembe kell venni az összetett kémiai környezetet, ami az illóolaj mikrobaölő hatását gátolhatja. A nagyobb koncentráció negatívan befolyásolhatja az élelmiszer érzékszervi tulajdonságait, úgymint állagát, ízét, színét és szagát is. Az olajok kombinált használatával ezek kiküszöbölhetőek (Tserennamid,

2010). Bassolé és Juliani (2011) munkája alapján kijelenthető, hogy különböző illóolajok és komponenseik miként hatnak egymásra, segítik vagy gátolják egymás működését. Egyes illóolajok egymásra antagonist hatást gyakorolnak, tehát gyengítik a másikat. *E. coli* baktériummal szemben a fahéjaldehid és timol vegyületek 1:1 arányban történő alkalmazásával 25%-kal kisebb koncentráció mellett már érzékelhető volt a növekedést gátló hatás. Ezt a *S. typhimurium* mikroorganizmusra is megfigyelték. A kutatásból kiderült, hogy a fenolos vagy alkoholos összetevőket tartalmazó olajok vegyítése során a mikroba gátló hatás növekszik, ennek köszönhetően kisebb mennyiségben is elegendő azok felhasználása.

Számos kutatás tesztelte az illóolajok és fő vegyületeik felhasználását növényi és állati eredetű élelmiszerekben. Roller és Seedhar (2002) kutatása a kivi gyümölcsén alkalmazott karvakrol és fahéjaldehid összetételű lemosó folyadékot, ami hatékonyan, azaz romlás-gátlónak bizonyult 0,15 µl/ml koncentrációban. Belletti és munkatársai (2010) a narancs alapú, nem pasztörözött üdítőitalok eltarthatóságát vizsgálták citrál, linalool és β-pinén megfelelő arányú kombinációjával. Az eredmények kifejezetten jók lettek 55°C-os hőkezelés mellett. Az állati eredetű élelmiszerek közül főként a gyorsan romló húsok (darált hús, hal, kolbász) eltarthatóságára irányultak a kísérletek. A vákuumsomagolt friss polip eltarthatóságát növelte 11, illetve 20 nappal a 0,2 és 0,4%-ban alkalmazott oregánó olaj (Atrea és munkatársai, 2009). Khanjari és munkatársai (2013) az oregánó illóolaj baktériumgátló hatását tesztelték *L. monocytogenes*-szel fertőzött nyers csirkemellen és azt tapasztalták, hogy az olajat kitozánnal alkalmazva a hús eltarthatósága 6 nappal meghosszabbodott.

3.1.5. Jogi szabályozás az illóolajok használatára

Az illóolajok élelmiszerekben való alkalmazására, mint ételízesítők és élelmiszer-adalékok különböző szabályozások vonatkoznak világszerte. Az Egyesült Államokban az FDA (Food and Drug Administration, USA) adhat „zöld utat” az új adalékok alkalmazására az élelmiszerekben. GRAS (Generally Recognised As Safe) és FA (Food Additive – élelmiszer-adalék) jelzést kaptak az FDA-tól az esszenciális olajok. Európában az illóolajok összetevőit, mint élelmiszer ízesítőanyagokat regisztrálják élelmiszerbiztonsági szempontból. Engedélyezett összetevők: citrál, eugenol, fahéj-aldehid, karvakrol, karvon, limonén, mentol, p-cimén és a timol. Az illóolajok összetett vegyületek, így nem szerepelhetnek az élelmiszer adalékanyagok között (E-lista). Az

Európai Unióban jelenleg nincs érvényes szabályozás az illóolajok élelmiszerekben való alkalmazásáról, viszont a GRAS és FA kiindulópont lehet a felhasználást illetően (Burt, 2004).

3.1.6. A felhasznált illóolajok bemutatása

Bazsalikom

A bazsalikom (*Ocimum basilicum* L.) a *Lamiaceae* családba tartozó gyógynövény, ami antibakteriális tulajdonságáról ismert, ezenkívül közkedvelt fűszernövény. A bazsalikom növény eredetileg Indiából származik, főként a trópusi és szubtrópusi időjárást kedveli. Tradicionális orvosságként használták Indiában, különböző betegségek kezelésére; láz, megfázás, malária, bő és májmegbetegedések (Stanojevic és munkatársai, 2018). A bazsalikom illóolajat a növény virágzó hajtásából nyerik, ehhez víz-gőzdesztillációt használnak. A kinyerés hatékonysága 0,1-1%-os, és a termőhelytől függően változik. Az illóolaj fő komponensei: linalool (35-50%), esztragnol (15-25%), és az eugenol (5-60%). Ezek aránya és mennyisége kemotípusonként változik (Internet 1.). A bazsalikom olaját Indiában és Nepálban tradicionális gyógyhatású készítményként használják. A bazsalikom segít a stressz csökkentésében, ezáltal a nyugtalanság és a feszültség feloldásában. Emelet emésztőrendszeri, légzőrendszeri megbetegedések, valamint vese zavarok enyhítésére is alkalmazható (Singletary, 2018). Stanojevic és munkatársai (2017) vizsgálták a bazsalikom illóolaj antimikrobás tulajdonságát agardiffúziós lyukteszttel különböző mikroorganizmusokra (*Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enterica*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus*, *Providencia stuartii*, koaguláz-pozitív *Staphylococcus*). Megállapították, hogy az illóolaj erős gátló hatást mutatott mind az *E. coli*, *S. aureus* baktériumokra nézve, viszont a legjobban a koaguláz-pozitív *Staphylococcus* törzsek ellen érvényesült a gátló hatása.

Citromolaj

Az illóolajat a citromfa (*Citrus lemon*) gyümölcshéjának a hideg préselésével állítják elő. A citromfát trópusi vidékeken és a Földközi tenger vidékén termesztik. A kinyert olaj erősen citromillatú és halványsárgás színű. A fő komponensei közé tartozik a limonén (56-76%), β -pinén (7-17%), szabinén (1-3%), γ -terpinén (6-21%), β -kariofillén (maximum 0,5%), nerál (0,3-1,5%), α -terpinol (maximum 0,6%), neril-acetát (0,2-0,9%), geranil (0,5-2,3%) és geranil-acetát (0,1-0,8%) (Vekiari és mtsai, 2002). Az emberi szervezetre jótékony hatása van citromolajnak, serkenti

a szív, a vese és a máj működését. Hangulatjavító, nyugtató hatása is ismert, emellett alkalmas asztmás rohamok kezelésére (Tserennadmid, 2010). A *Citrus limon* (közönséges citrom) héjából kinyert olaj antimikrobiális és antioxidáns tulajdonságait *in vitro* és táplevesben, mint élelmiszer alapú modellben a kutatók már igazolták hatását (Moosay és mtsai, 2017). A *Citrus medica*, cédrátcitrom antimikrobiális tulajdonságát Mitropoulou és munkatársai (2017) vizsgálták. A kutatás során kimutatták, hogy az olaj effektív a patogén és romlást okozó mikroorganizmusok ellen, mint például *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes* és *Aspergillus niger*.

Fahéj illóolaj

Fűszer és gyógynövényként is használatos fahéj Délkelet-Ázsiából származik. A fahéj (*Cinnamomum zeylanicum*) *Lauraceae* családba tartozik. Több mint száz fajtája ismert, a két főfajtája mellett (Blázovics és munkatársa, 2020). Az illóolajat vízgőzdesztillációval *Cinnamomum zeylanicum* kérgéből állítják elő, ennek a kihozatala 0,5-4% között mozog. A növény illóolajának színe világos, illata fűszeres és aromás. Főbb komponensei a fahéjaldehid (65-75%) és az eugenol (5-18%) (Internet 2.). A fahéj a legrégebb óta használt növények között szerepel a természetes orvoslásban. Tradicionális gyógynövényként használják Kínában és Indiában. Alkalmazható emésztési zavarok (dyspepsia), gyomorbántalmak, vérkeringési zavarok, valamint gyulladás kezelésére (Wang és munkatársai, 2009). Zhang és munkatársai (2016) vizsgálták a fahéj illóolajának antibakteriális hatását kettő modell organizmusra, *Escherichia coli* és *Staphylococcus aureus* baktériumokra. Megállapították, hogy a fahéj megváltoztatja a sejtmembrán permeabilitását és integritását. A kutatásból kiderült, hogy a *Staphylococcus aureus* érzékenyebb az illóolajra, mint az *E. coli*.

Kakukkfű illóolaj

A *Thymus vulgaris* L. virágos hajtásából nyerik ki vízgőzdesztillációval a kakukkfű olajat. A kakukkfű virágából kinyert olaj halványsárga vagy színtelen színű és fűszeres illatú. A főbb komponensei közé tartozik a kámfor (40%), kámfén (17,6%), α -pinén (9,6%), 1,8-cineol (5,6%), borneol (5%), β -pinén (4,3%). Az illóolajat 54,8%-ban olyan monoterpen vegyületek alkotják, amelyekhez oxigén kapcsolódik (Imelouane, 2009). Gyulladáscsökkentő és köhögéscsillapító hatása miatt a gyógyászatban alkalmazzák. Megtalálható ezenkívül a bakteriális és gombás

fertőzések kezelésére alkalmas termékekben antimikrobiális tulajdonsága miatt (Internet 3.). A kakukkfűnek hatása van az étvágy növelésére, vérnyomásra, emellett élénkítő görcsoldó, nyálkaoldó és vizelethajtó is. Tüdőgyulladás, TBC és az asztma tüneteinek kezelésére alkalmas. Külsőleg alkalmazható fertőzött sebek borogatására (Temesvári, 2003). Rasooli és munkatársai (2006) kutatása bebizonyította, hogy a kakukkfűolaj a *Listeria monocytogenes* mikroorganizmus sejtfalát roncsolta, ez pedig a sejt líziséhez a citoplazma hiányához vezetett.

Koriander

A koriander (*Coriandrum sativum* L.) az *Apiaciae* család tagja. A korianderből kinyert illóolaj a leghasznosabbak közé tartozik. Maga az illóolaj a növény leveléből, virágából és szárából is kinyerhető (Mandal és munkatársa, 2015). A koriander olaját vízgőzdesztillációval nyerik ki. Az illóolajnak karakterisztikus illata és enyhén édeskés, aromás íze van. Az élelmiszeriparban, mint ételízesítő alkalmazzák. Az élelmiszerekben való alkalmazása teljesen biztonságos (Burdock és munkatársa, 2009). A legtöbb esszenciális olaj, mint a koriander is kettő vagy három fő komponensből tevődik össze (20-70%). A koriander esetében a linalool (68%) a fő komponens. A koriander olajnak baktérium szaporodás és biofilm képzésgátló tulajdonsága is ismert számos kutatás alapján (Duarte és munkatársai, 2016).

Majoránnaolaj

Az *Origanum majorana*, a majoránna Perzsiában őshonos fűszernövény, mára már Európa szerte termesztik. Az olaj igen drága, ugyanis illóolaj tartalma 1%. A majoránna legmagasabb mennyiségben terpinolént (29,6-35,7%) és terpinén-4-olt (15,8-19,5%) tartalmaz. Főbb komponensei közé tartozik még a szabinén (1,6-4,4%), γ -terpinén (4,4-5,6%), cisz-szabinén-hidrát (6,7-7,4%), β -pinén (5,1-5,3%) és 1,8-cineol (3,6-5,4%) (Vera és Chane-Ming, 1999). Az emberi szervezetre jótékony hatása van. A majoránna növényt köhögés, légzési zavarok, valamint fejfájás ellen alkalmazzák tea formájában. Feszültségoldó, nyugtató hatása miatt kedvelt a népgyógyászatban. Az illóolajat lehet alkalmazni nehezen gyógyuló sebek borogatására, lemosására. Homloküreggyulladás esetén inhalálva segít enyhíteni a tüneteket (Temesvári, 2003).

A majoránnaolaj erősebb gombaölő, mint antibakteriális hatással rendelkezik, tehát kevésbé hatékony az *E. coli* és más emberi szervezetre káros baktérium ellen, mint az *A. niger* ellen. Ezzel

szemben fonalagombák (*A. niger*) ellen már 1 µl/ml koncentrációban inhibitorként működik (Vági és mtsai, 2005).

3.2. Mikroorganizmusok az élelmiszeriparban

Annak ellenére, hogy élelmiszeriparban az elmúlt évtizedekben nagy figyelmet fordítottak a higiénikus előállítási körülmények megteremtésére, az élelmiszerbiztonság egyre nagyobb népegészségügyi problémává vált. A fejlett országokban évente körülbelül a népességnek a 30% esik át élelmiszereredetű megbetegedésen és 2000-ben több, mint 2 millió ember halt meg hasmenés okozta betegségben világszerte a WHO adatai szerint (Burt, 2004). Az élelmiszereredetű megbetegedések nagy részéért mikroorganizmusok (baktériumok, vírusok, gombák) és ezek toxinjai felelősek. Az élelmiszer szennyezetté válhat mikroorganizmusokkal átvitel útján is (állattal vagy szennyezett vízzel való érintkezés révén) (Scallan és mtsai, 2011).

3.2.1. A vizsgált mikroorganizmusok jellemzése

Escherichia coli

A Gram-negatív *E. coli* baktérium az *Enterobacteriaceae* család tagja, az emberi és állati bélbióta alkotója. Az emberi vastagbélben előforduló kólibaktérium szimbiózisban él a szervezettel, részt vesz a K-vitamin-ellátásában, valamint akadályozza patogén mikrobák megtapadását a bélben. Viszont egyes *E. coli* törzsek fertőző betegségeket okoznak (Deák és mtsai., 2006). Patogén *E. coli* törzsek altípusok alapján: enteropatogén *E. coli* (EPEC) a csecsemőknél okoz hasmenést, nyákos székletet; enteroinvazív *E. coli* (EIEC), amely a vastagbelet támadja és véres hasmenést okoz; enterotoxikogén *E. coli* (ETEC), amely hőstabilis és hőlabilis toxinokat termel, toxinjai a vékonybélben hatnak és hasmenést okoznak; enterohaemorrhagiás *E. coli* (EHEC) a vérzéses bélgyulladás okozója, amely véres széklettel jár, szövődeményeket okozhat időseknél és gyerekeknél; enteroagresszív *E. coli* (EaggEC) vizes hasmenéses tüneteket okoz a fertőzötnél (Rodler, 2005). Naimi és munkatársai (2003) esettanulmánya a petrezselyem elfogyasztása után jelentkező megbetegedést vizsgálta. A kutatás során kiderült, hogy az élelmiszerfertőzésre jellemző tüneteket az *E. coli* baktérium okozta.

A mikroorganizmusok közül az egyik legrészletesebben tanulmányozott az *E. coli* baktérium. Élelmiszermikrobiológiai vizsgálatokban az *E. coli* a fekáliás szennyeződés fő indikátora. A

géntechnológiában, genetikai kísérletekben a K12 jelű *E. coli* törzset gyakran alkalmazzák. Nem képez spórákat és fakultatív anaerob életmódot folytat. A baktérium sejtek pálcika alakúak, 2 µm hosszúak és 0,5 µm átmérőjűek. A sejtek peritrich flagellumokkal képesek mozogni (Pesti, 2001).

Staphylococcus aureus

A *Staphylococcus aureus* a *Staphylococcaceae* családból származó gömbölyű, nem spóráképző, Gram-pozitív és kataláz pozitív baktérium. A baktérium megtalálható az egészséges emberek ornyálkahártyáján, bőrén és székletében, ennek ellenére fakultatív kórokozónak számít. A baktérium szaporodásának a húsok, tejtermékek, saláták, tehát a nyers, magas fehérjetartalmú ételek kedveznek. A *Staphylococcus* fajok nagyrészt emlősökben és madarakban fordulnak elő. A *S. aureus* az élelmiszerekbe a következő két módon kerül: a gyártás közben emberi érintkezés útján vagy emlőgyulladásban szenvedő tehének, kecskék tejének a felhasználásával. A *Staphylococcus* fajok enterotoxinjai rezisztensek különböző környezeti körülményekre, mint például: alacsony pH, szárítás, fagyasztás, hőkezelés. Az enterotoxinok ellenállnak a proteolitikus enzimekkel szemben is, így képesek megőrizni az aktivitásukat az emésztőrendszerben (Hennekine és munkatársai, 2012).

A mikroorganizmus 18-40 °C közötti hőmérséklet tartományban aerob és anaerob (fakultatív anaerob) körülmények között is képes növekedni (Taylor és munkatársa, 2022). A *Staphylococcus* által termelt enterotoxinok okozták a legtöbb élelmiszere eredetű megbetegedést az European Food Safety Authority (EFSA) 2013-as felmérései alapján az Európai Unióban 2011-ben.

4. ANYAGOK ÉS MÓDSZEREK

4.1. Felhasznált mikroorganizmusok

A kísérlet során alkalmazott mikroorganizmusokat a 1. táblázat tartalmazza. Az egyes baktériumok fenntartása TGE ferde agaron történt, a törzseket 4°C-on hűtőszekrényben tároltam.

1.táblázat. A kísérlet során felhasznált laboratóriumi törzsek.

Fajnév	Törzsgyűjtemény kódja	Gram szerinti besorolás
<i>Escherichia coli</i>	ATCC8739	negatív
<i>Staphylococcus aureus</i>	B1758	pozitív

Az *E. coli* ATCC8739 a American Type Culture Collection (ATCC) törzsgyűjteményéből származik (Amerikai Egyesült Államok). A *S. aureus* B1758 a Mezőgazdasági és Ipari Mikroorganizmusok Nemzeti Gyűjteményéből (MIMNG) származik (Magyar Agrár- és Élettudományi Egyetem Élelmiszertudományi és Technológiai Intézet, Budapest, Magyarország).

4.2. Felhasznált illóolajok

Az alkalmazott illóolajokat az Aromax Zrt-től szereztem be (Budapest, Magyarország). A 2. táblázat tartalmazza az illóolajokat.

2.táblázat. A kísérletek során felhasznált illóolajok.

Növény (Latin név)	Növényrész*
Bazsalikom (<i>Ocimum basilicum</i>)	Hajtás
Citrom (<i>Citrus lemon</i>)	Gyümölcshéj
Fahéj (<i>Cinnamomum zeylanicum</i>)	Fahéjfa belső kérgéből
Kakukkfű (<i>Thymus vulgaris</i>)	Vastagabb, fás szárak nélküli virágzó hajtás

Koriander (<i>Coriandrum sativum</i>)	Termés
Majoranna (<i>Origanum majorana</i>)	Hajtás

*A gyártó által megadott adatok alapján

4.3. Tápközegek és anyagok

TGE tápagar

5 g pepton
 2,5 g élesztő
 1 g glükóz
 15 g agar
 1000 ml desztillált víz

4x-es TGE tápagar

20 g pepton
 10 g élesztő
 4 g glükóz
 60 g agar
 1000 ml desztillált víz

Fiziológiás sóoldat:

8,5 g NaCl
 1000 ml desztillált víz

Étolaj: Kereskedelmi forgalomban kapható étolaj, az illóolajok hígításához használtam, melynek mikrobás szennyezettségét előre teszteltem.

A vizsgálat során felhasznált tápoldatok a fenti recept alapján készültek az agar elhagyásával.

Az általam készített anyagokat autoklávban 121°C-on 15 percig sterilizáltam.

A műszeres módszernél steril vizet alkalmaztam a kísérleti beállításoknál.

4.4. Tenyésztési körülmények

Az antimikrobiális érzékenység vizsgálatokhoz a kísérletek során alkalmazott mikroorganizmusokat, *Escherichia. coli* és *Staphylococcus aureus* TGE ferde agar tenyészetben neveltem. A tesztek során a törzseket 37°C-on inkubáltam.

4.5. Az antimikrobiális hatás vizsgálata

Az illóolajok (2. táblázat) baktérium gátló hatásának felmérését egy alap kísérlettel kezdtem. A kísérlet során a kereskedelmi forgalomban kapható illóolajok és étolaj mikrobás szennyezettségét vizsgáltam. A mikrobiológiai szennyezettség vizsgálatához 100 µl-t mértem ki az anyagokból pipettával TGE tápközegre ezután szélesztést végeztem. A vizsgálat során kontroll Petri-csészéket is alkalmaztam.

4.5.1. Illóolajok antimikrobiális hatásának előtesztelése kontakt módszerrel

A szennyezettség teszten kívül előtesztelést is végeztem az illóolajok (2. táblázat) gátló hatásának feltérképezésére. Az antimikrobiális hatás előteszteléséhez TGE agart, 24 órás sejtszuszpenziót az 1. táblázat baktériumaiból, az illóolajokat, valamint az illóolajok étolajjal 50%-os hígított verzióját használtam fel. A sejtszuszpenzió optikai densitását a McFarland densitásmérő alkalmazásával készítettem el. A mikroorganizmusokból előállított szuszpenzió optikai densitását 0,3-ra (10^6 TKE/ml) állítottam be, ehhez fiziológias sóoldatot alkalmaztam. Ezután TGE agarra készítettem mikrobapázsitot szélesztéssel a sejtszuszpenzióból, ezen módszer alapján: TGE táptalajra 1 ml szuszpenziót pipettáztam és szélesztőbot segítségével szélesztettem a baktérium pázsitot. A felesleges mikrobaszuszpenziót pipetta segítségével lemértem, így egyenletes mikrobapázsit tudott kialakulni. A sejtszuszpenzió száradása után 10 µl tömény illóolajat és étolajjal hígított olajat pipettáztam a táptalaj elkülönülő részeire. A csészéket 37°C-on inkubáltam. Az eredményeket 24 óra elteltével olvastam le. Az előtesztelés során 2 párhuzamos mérést végeztem, a kiértékeléshez ezek adatait használtam fel.

4.5.2. Az agardiffúziós lyukteszt illóolajok MIC értékének meghatározására

A minimális gátló koncentráció (MIC) meghatározására alkalmaztam ezt a módszert. Az MIC a legkisebb illóolaj vagy illóolaj komponens koncentráció, amely az adott mikroorganizmus szaporodását megakadályozza (Kerekes, 2017).

Az antibakteriális hatás vizsgálatához megfelelő tápközeget (TGE) tartalmazó Petri-csészékre 24 órás előtenyészetből készített sejtszuszpenziót alkalmaztam. A sejtszuszpenziót és a mikrobapázsitot a 4.5.1.-es fejezetben leírtak alapján készítettem el. A sejtszuszpenziók megszáradása után steril dugó fúróval a leoltott táplemezbe 8 mm átmérőjű lyukakat fúrtam. Az illóolajokat (2. táblázat) étolajjal hígítottam, felező hígítási sort készítettem 4 lépésben. A következő anyagokkal dolgoztam tömény 100%-os illóolaj, 50%- 25%- 12,5%- 6,25%-ra hígított illóolajok. A kísérlet során: 100-100 µl-t mértem ki pipettával a lyukakba. Kontrollként 100 µl étolajat alkalmaztam. A csészéket ezután 37°C hőmérsékleten inkubáltam. A gátlási zónák átmérőit 24 óra letelte után határoztam meg, az eredmények pontos kiértékeléséhez 2 párhuzamos mérés átlagával számoltam.

A gátlási zónát ezen metódus alapján számoltam: a mért átmérőből kivontam a lyukátmérőt (8 mm).

4.5.3. Illóolajok gőzterének antimikrobiális hatása

A kísérlethez TGE táptalajt használtam Petri-csészékre kiöntve. A teszthez a fordított Petri-csésze módszert (FPCs) használtam (Singh és munkatársai, 2008). A mikrobaszuszpenziót és a mikrobapázsitot a 4.5.1-es pontban leírtak alapján készítettem el. A kísérlethez 100%-os koncentrációban alkalmaztam a 2. táblázat illóolajait. Előre sterilizált szűrőpapír korongra 5,0 µl-t mértem ki pipetta segítségével a különböző illóolajokból. Kontrollként illóolaj mentes steril szűrőpapír korongot helyeztem a csészébe. A fordított Petri-csésze módszer alapján a csésze tetejére helyeztem a korongokat, nem az elkészített mikrobapázsitra. A csészéket parafilm segítségével légmentesen zártam le, az illóolaj gőze így nem tudott kijutni a Petri-csészből. A csészéket fordított helyzetben 37°C-on inkubáltam. A feltisztulási zónák átmérőjét 24 óra elmúltával mértem. A kiértékelés során 2 párhuzamos mérés eredményével számoltam.

4.5.4. Illóolajok antimikrobiális hatásának vizsgálata Multiskan Ascent műszerrel

A teszt során 4x-es TGE táplevest alkalmaztam. A kísérlethez 24 órás előtenyészeteket alkalmaztam, amiket TGE ferde agaron növesztettem. A tenyészetekből a mikrobaszuszpenziót steril víz segítségével készítettem el. Az optikai denzitásmérővel a szuszpenziókat 0,5 értékre állítottam be. Ezután a 3. táblázat adatai alapján összeállítottam a mérés mintáit Eppendorf csövekben. A minták összeállítását a tápleves bemérésével kezdtem, ezután a steril vizet mértem be a csövekbe, majd a szuszpenziót és végezetül hozzámértem az illóolajat (2. táblázat illóolajai közül az előző mérések eredményei alapján választottakat). Az összeállított minták illóolaj koncentrációja 10%. A minták és vak minták összemérése után az Eppendorf-csövek tartalmát Vortex segítségével tettem egyenletessé. A mikrotiter lemez csöveibe egyenletesen 300-300 µl-t mértem be pipetta segítségével. A 4.táblázat alapján történt a minták elrendezése a mikrotiter lemez csöveiben a teszt során. A lemez csöveibe, ahová nem minta került, steril vizet mértem be, hogy az esetleges kiszáradást elkerüljem.

A fotometriás vizsgálathoz a Multiskan Ascent készüléket használtam. A mérés 24 órán keresztül tartott, 37°C-on és az optikai denzitás 595 nm hullámhosszon történt. A 24 óra alatt 49-szer történt az abszorbancia értékeinek mérése. Az minták abszorbancia értékeinek mérése előtt 30 másodperces 600 rpm-el történő rázatást állítottam be.

3. táblázat: A denzitás méréshez használt minták, vak minták és tápleves kontroll összeállítása (megadott mennyiségek µl-ben értendők).

Minta száma	1-3.	4-6.	7-9.	10.	11.	12.
	<i>E. coli</i> mintái	<i>S. aureus</i> mintái	illóolaj kontroll	tápleves kontroll	szaporodás kontroll <i>E. coli</i>	szaporodás kontroll <i>S. aureus</i>
tápleves	250	250	250	250	250	250
szuszpenzió	100	100	0	0	100	100
kivonat/illóolaj	100	100	100	0	0	0
steril víz	550	550	650	750	650	650
összesen	1000	1000	1000	1000	1000	1000

4. táblázat: A minták elhelyezése a mikrotiter lemezen (x = steril víz).

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
B	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
C	x	1	2	3	1	2	3	1	2	3	x	x
D	x	4	5	6	4	5	6	4	5	6	x	x
E	x	7	8	9	7	8	9	7	8	9	x	x
F	x	10	11	12	10	11	12	10	11	12	x	x
G	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
H	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x

1-4-7: Fahéj illóolaj

2-5-8: Kakukkfű illóolaj

3-6-9: Koriander illóolaj

10: tápleves kontroll

11: *E. coli* szaporodás kontroll

12: *S. aureus* szaporodás kontroll

C sor: *E. coli*

D sor: *S. aureus*

E sor: illóolaj kontrollok

F sor: kontrollok (lásd. 3.táblázat)

5. KÍSÉRLETI EREDMÉNYEK ÉS ÉRTÉKELEÉSÜK

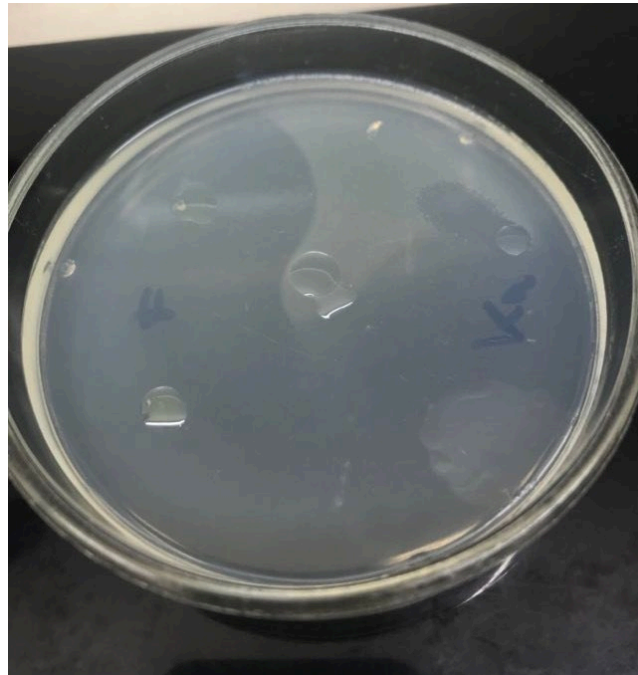
Az előtesztelés során sikeresen megállapítottam, hogy a vásárolt illóolajok (1.táblázat) egyike sem fertőződött be, mivel a táptalajok felszínén nem növekedett mikroorganizmus az inkubáció során. Ugyanez elmondható a hígításhoz használt kereskedelmi étolaj esetében is. Tehát megállapítható, hogy az általam tesztelt 100 µl-es mennyiségben a mikrobakoncentráció kevesebb, mint 10 sejt/ml van. Mivel az egyes vizsgálatok során 100 µl mennyiségnél kevesebbet használtam ez nem zavarta a mérést, így a kísérletek során kizárható volt egyfelől, hogy az esetleges antagonista hatást nem az illóolaj okozza, másfelől az, hogy az olajban lévő mikroorganizmus szaporodása miatt nem észlelhető a gátló hatás.

5.1.1. Illóolajok antimikrobiális hatásának előtesztelése kontakt módszerrel

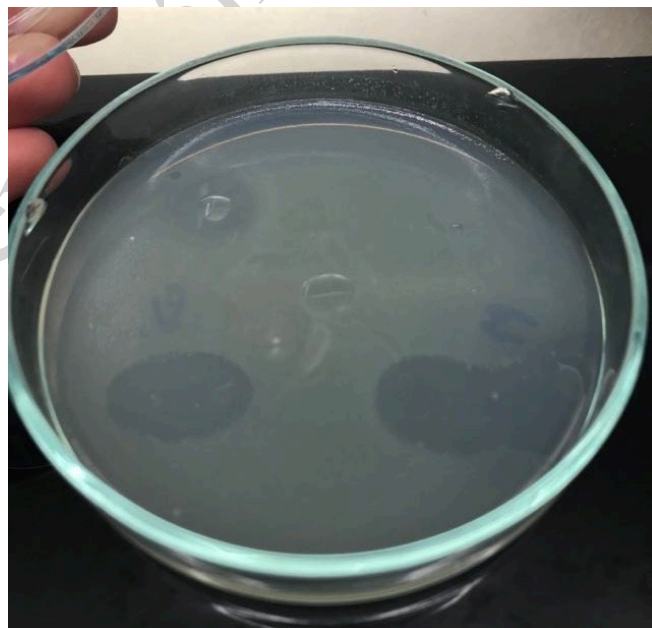
A másik előtesztelést az illóolajok és az 50%-os hígított verziójuk mikrobapázsitra való felcseppentésével végeztem el. Az étolajnak nincs antibakteriális hatása, mivel nem jelent meg gátlási zóna az olaj csepp körül. Kijelenthető, hogy az étolaj használható az illóolajok hígítására. Ugyanakkor megfigyeltem, hogy illóolaj és étolaj elkeveredése nem 100%-os, viszont hosszas idejű Vortex használatával a homogenitás növelhető. A kontakt módszer eredményei közül kettő a 2. és 3. ábrán látható. A fahéj illóolaj esetében mindkettő baktériumnál hatalmas gátlási zónákat figyeltem meg, míg a majoránna esetében a felező hígítás első tagjánál (50%) már alig észlelhető gátlási zónákat láttam. Azt is megállapítottam, hogy az MIC meghatározásához majdnem minden illóolaj esetében kisebb hígítási százalékkal kell számolnom, mint az 50%, mivel ebben a koncentrációban minden vizsgált illóolaj gátlást fejtett ki. A kontakt módszer, vagyis az illóolaj táptalajra való pipettázása nem a legalkalmasabb módszer a gátlási zónák pontos lemérésére, mivel teszt során kiderült, hogy az illóolaj és étolaj keveréke nem szívódik fel a táptalajba, míg a tömény illóolaj idővel elpárolog. Emiatt a csészék mozgatásának hatására a csepp elkenődik, így a feltisztulási zónák elmosódnak.

Elmondható, hogy az étolaj, mint hígítószer nem a legalkalmasabb, egyrészt nehezen mérhető ki a pipettával, hiszen nagy a viszkozitása így a pipetta falán egy-két csepp étolaj odaragadhat, valamint gondosan ügyelni kell az étolaj és az illóolaj elegyítésére is, hogy megfelelően homogén mintát kapjunk. Ennek ellenére kijelenthető, hogy a kontakt módszer az illóolajok antimikrobiális hatásának előszkreenelésére alkalmas, hiszen könnyen elvégezhető

módszer, nem időigényes és emellett az antibakteriális hatást tökéletesen mutatta minden illóolaj és a hígított változatuk esetében is.



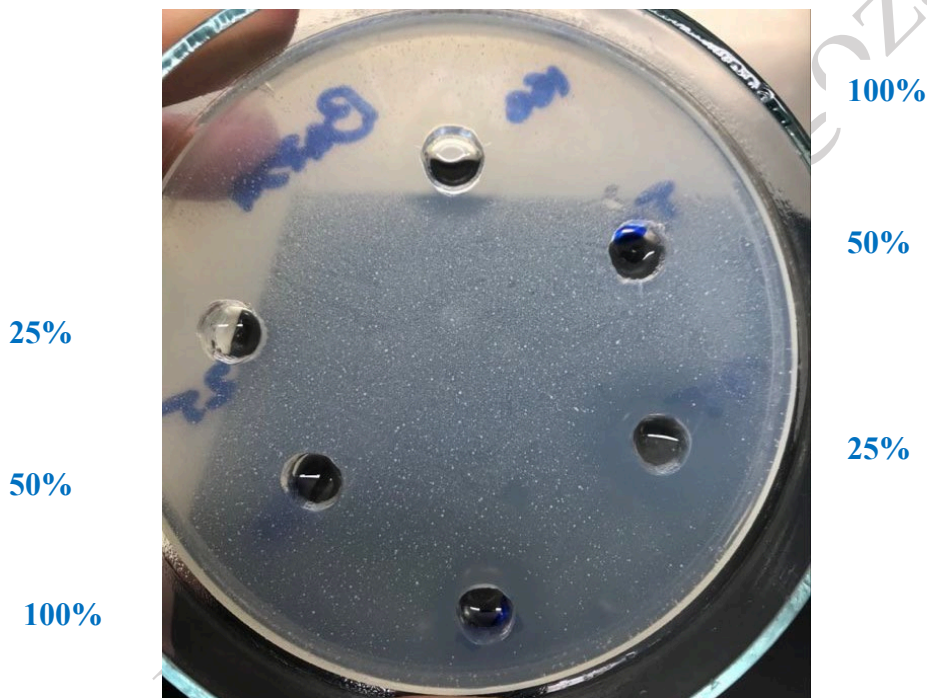
2. ábra: A fahéj (bal oldalon) és kakukkfű (jobb oldalon) (étolaj közepén) illóolaj antimikrobiális hatásának előtesztelése *E. coli* baktériumra.



3. ábra: Citrom (bal oldalon) és majoránna (jobb oldalon) (étolaj közepén) illóolaj antimikrobiális hatásának előtesztelése *S. aureus* baktériumra.

5.1.2. Az agardiffúziós lyukteszt illóolajok MIC értékének meghatározására

Az előtesztelésre alkalmas kontakt módszer után az agardiffúziós lyuktesztet alkalmaztam, hogy pontosabban meg tudjam határozni a gátlási zónákat és ezáltal a MIC értékeket. A 2. táblázat összes illóolajával végeztem el, mivel az előtesztelés során mindegyik antimikrobiális hatásúnak bizonyult. A kísérlet során két párhuzamos mérést végeztem, így a táblázatokban (5-7. táblázat) az adatokat ezek átlagaként kell tekinteni.



3. ábra: Bazsalikom illóolaj hatásának vizsgálata agardiffúziós lyuktesztje *E. coli* mikrobapázsiton.

Az agardiffúziós teszt segítségével az agarba fúrt lyukak körül a gátlási zónák szépen megjelentek, viszont a negyedik hígítási tagnál (6,25%) már egyik alkalmazott illóolaj sem mutatott gátló hatást.

A bazsalikom és citrom esetében csak a tömény illóolaj mutatott baktériumellenes hatást (5. táblázat), annak ellenére, hogy az előszkreenelés után 50%-os hígítás körüli értékre vártam a gátló koncentrációt (5.1.1. fejezet). Ennek oka lehet, hogy a lyuk falán át az olajból kevésbé tudtak a gátló komponensek a tápargba bejutni. A *Staphylococcus aureus* az, amelyik a gátlási zóna mérete alapján nagyobb érzékenységet mutatott ennél a kettő illóolajnál.

A fahéj olaja a legkisebb hígítási tagnál 12,5% is mutatott némi inhibitor hatást (5. táblázat). A gátlási zóna mérete ennél a koncentrációnál 2,28 mm az *E. coli* esetében, és 2,5 mm a *S. aureus* baktériumnál (5. táblázat). A fahéj esetében is a vizsgált Gram-pozitív baktérium (*S. aureus*) bizonyult érzékenyebbnek.

A kakukkfű esetében megállapítható, hogy az első és a második hígítási tagnál a kakukkfű hatásosabb az *E. coli* baktériumra, mint a *S. aureus*-ra, ez a többi illóolajtól eltérő eredmény (5. táblázat). A kakukkfű olaj 25%-os hígítás alatt már nem adott gátlási zónát.

A majoránna illóolajat töményen alkalmazva az *E. coli* és *S. aureus* gátlási zónája ugyanakkora lett, kisebb koncentrációknál viszont ez az azonosság nem mutatkozott meg. Kisebb koncentrációban alkalmazva a *S. aureus*-ra hatott jobban a majoránna olaja.

A koriander illóolaj közeli eredményeket adott mindkettő vizsgált mikroorganizmus esetében, töményen alkalmazva 5,0 mm (*E. coli*) és 5,28 mm (*S. aureus*) a gátlási zóna mérete, továbbá 50%-os hígításnál 2,75 mm mm (*E. coli*) és 2,87 mm (*S. aureus*) nagyságú gátlási zóna jelent meg a lyukak körül (5.táblázat).

Az illóolajokat összehasonlítva a zónaméreték alapján, a legnagyobb mértékű hatást a fahéj olaj fejtette ki, majd ezt követte a kakukkfűolaj, míg a legkisebb hatásúnak a citromolaj bizonyult.

5. táblázat: Feltisztulási zónák (mm) 100-12,5% hígításban mindkettő baktériumra.

Illóolaj/Baktérium	<i>Escherichia coli</i>				<i>Staphylococcus aureus</i>			
	100 %	50%	25%	12,5%	100%	50%	25%	12,5%
Bazsalikom	3,48	-	-	-	3,85	-	-	-
Citrom	2,28	-	-	-	2,63	-	-	-
Fahéj	14,28	7,38	5,5	2,28	18,48	9,5	5,68	2,5
Kakukkfű	7,88	4,38	2,5	-	7,28	4,0	3,0	-
Koriander	5,0	2,75	-	-	5,28	2,87	-	-
Majoránna	4,88	2,38	-	-	4,88	3,12	2,75	-

Ez a módszer hatásos volt a minimális inhibitor koncentráció (MIC) megállapítására. A minimális inhibitor koncentrációk *E. coli* baktérium esetében a 6. táblázatban láthatóak. Ezen adatok alapján kijelenthető, hogy a fahéj a leghatásosabb erre a mikroorganizmusra 12,5%-os

hígításban is fejt ki hatást 2,28 mm feltisztulási zónával. A *S. aureus* MIC értékei a 7. táblázatban láthatóak, erre a mikrobára is a fahéj illóolaj bizonyult hatásosabbnak, 12,5% MIC érték mellett 2,5 mm gátlási zónával. Kijelenthető, hogy az 5-7. táblázat adatai alapján, hogy a *S. aureus* baktérium érzékenyebb a felhasznált illóolajokra, mint az *E. coli*, valamint a fahéj olajnak van a legnagyobb gátló hatása.

6. táblázat: MIC értékek és gátlási zónák mérete *E. coli* baktériumnál.

Illóolaj	MIC (%)	Gátlási zóna (mm)
Bazsalikom	100	3,48
Citrom	100	2,28
Fahéj	12,5	2,28
Kakukkfű	25	2,50
Koriander	50	2,75
Majoránna	50	2,38

7. táblázat: MIC értékek és gátlási zónák mérete *S. aureus* baktériumnál.

Illóolaj	MIC (%)	Gátlási zóna (mm)
Bazsalikom	100	3,85
Citrom	100	2,63
Fahéj	12,5	2,5
Kakukkfű	25	3,0
Koriander	50	2,87
Majoránna	25	2,75

A mérés során felmerült ugyanaz a probléma, ami az előtesztelés során is kitűnt. Az étolaj, mint hígítószer nem volt jól alkalmazható a pontos koncentrációk kimérésére a nagy felületi viszkozitása miatt. Maga az illóolaj és az étolaj sem képes a tápközegbe diffundálni közvetlenül, viszont az illóolajok antimikrobiális hatóanyagai bejutottak a táptalajba és kifejtették a gátló hatásukat.

5.1.3. Illóolajok gőzterének antimikrobiális hatása

Az illóolajok párolognak, elillannak és zárt térben a gőzterük antimikrobiális azaz baktérium növekedés gátló hatást képes kifejteni (Tserennadmid, 2010). A zárt tér megteremtéséhez a parafilm hatásosnak bizonyult a kísérlet során. A szűrőpapír korong illóolaj felvételét előzetesen teszteltem és azt tapasztaltam, hogy 5 μl az a mennyiség, amit a korong fel tudott venni anélkül, hogy az illóolaj lefolyt volna róla. A 10 μl -es mennyiséghez dupla korong használatát is kipróbáltam, viszont az sem tartotta magában a dupla mennyiségű olajat. Emiatt 5 μl tömény illóolajjal végeztem el a kísérletet.



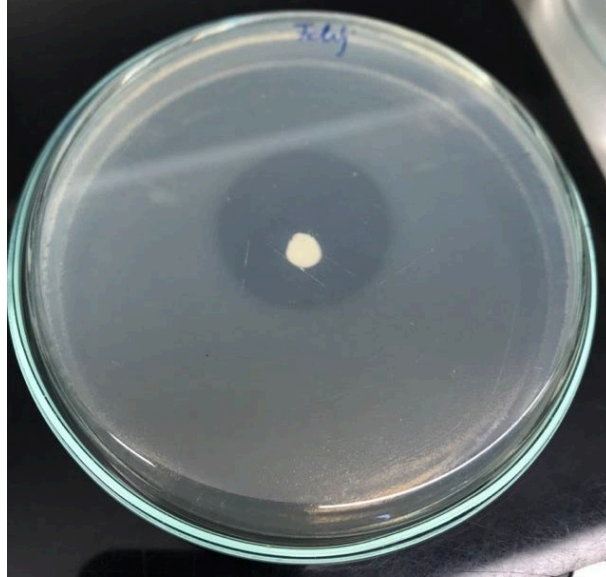
4. ábra: Kakukkfű illóolaj párolgásának hatása *E. coli* baktériumra.

8. táblázat: Illóolajok párolgásának hatása *E. coli* és *S. aureus* baktériumra

Illóolaj	<i>E. coli</i> Gátlási zóna (mm)	<i>S. aureus</i> Gátlási zóna (mm)
Bazsalikom	-	-
Citrom	-	-
Fahéj	12,0	12,5
Kakukkfű	12,3	12,2
Koriander	9,0	8,8
Majoránna	-	-

5,0 µl mennyiségben nem minden illóolaj esetében tapasztaltam feltisztulási zónát a korongok felett. A feltisztulási zónák méretéről a 8. táblázatban láthatóak adatok. A szűrőpapír korongok felett ezen illóolajok esetében jelent meg a jól kirajzolódó feltisztulási zóna: fahéj (5.ábra), kakukkfű (4.ábra) és koriander. A szaporodás kontroll Petri-csészékben összefüggő, szép nagy telepeket és tenyészetet láttam *E. coli* és a *S. aureus* esetében is. Megfigyeltem, hogy a többi illóolaj; bazsalikom, citrom, majoránna esetében ugyan nem figyelhető meg gátlási zóna a korong felett, viszont a mikrobapázsit sűrűsége a kontrollhoz képest gyengébb, egyes Petri-csészékben pedig alig észlelhető a mikrobanövekedés, mint például citrom és bazsalikom *S. aureus* baktériumra gyakorolt hatásának vizsgálatakor. Tehát elmondható, hogy maga a baktérium az illóolaj párolgó hatása miatt kevésbé növekedett az egész csészében, annak ellenére, hogy feltisztulási zóna nem keletkezett.

Megállapítható, hogy az illóolajok párolgásuk során is kifejtik a baktériumgátló hatásukat. A leghatásosabb illóolajok a fahéj, kakukkfű és koriander növényből kinyert olajok. A fahéjnak és a kakukkfűnek azonos méretű gátlási zónái vannak mindkét mikroba esetében, azaz ezen két illóolaj gőze közel azonos mértékű hatást fejtett ki, míg a koriander olajé ezekhez képest kisebb (8. táblázat).



5. ábra: A fahéj illóolaj párolgásának hatása *S. aureus* baktériumra.

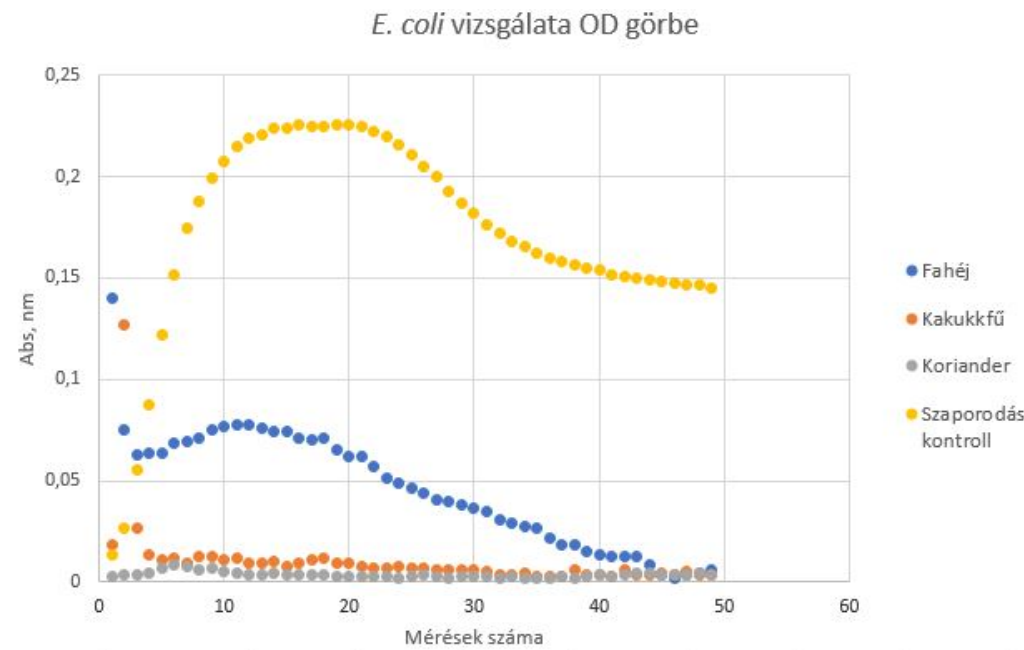
5.1.4. Illóolajok antimikrobiális hatásának vizsgálata Multiskan Ascent műszerrel

Az előtesztelés kimutatta, hogy az illóolajoknak van antimikrobiális hatása, továbbá az agardiffúziós lyukteszttel az MIC értékeket is meg tudtam állapítani, végül pedig az illóolajok gőzterét teszteltem, ami szintén jól alátámasztotta, illetve kiegészítette a kapott eredményeket. Az előző tesztek eredményei alapján választottam ki azt a három olajat, amelyekkel a műszeres vizsgálatot is elvégeztem. A fahéj és a kakukkfű kiemelkedő eredményeket adott a többihez képest. A harmadik olajnak a koriandert választottam, ugyan a majoránna nagyobb hatást fejtett ki az agardiffúziós lyuktesztnél, a gőztér vizsgálatánál azonban nem mutatott kiemelkedő hatást a korianderrel ellentétben.

Az előkísérlet során tapasztalható volt, hogy az illóolaj és az étolaj, mint hígítószer az egységes elkeveredése és a homogén eloszlás biztosítása érdekében erőteljes keverésre van szükség, emiatt a kísérleti beállításoknál magasabb rázadási sebességet (600 rpm) és hosszabb rázadási időt választottam (30 másodperc) az alapbeállításokhoz képest. Ezek a beállítások elősegítették az egységesebb eloszlást az OD mérésnél.

A kapott adatok három párhuzamos mérés átlagából származnak. A kísérlet során a tápleves kontroll, amely nem volt mikroorganizmussal beoltva egységes abszorbancia értéket mutatott végig a mérésen, tehát nem történt növekedés a mikrotiter lemez 10-es jelzésű csöveiben (4. táblázat). Az illóolaj kontrollok esetében a mért abszorbancia értékek azonos érték körül ingadoztak. A fahéj $0,331 \pm 0,105$; a kakukkfű $0,0638 \pm 0,017$ és a koriander $0,0697 \pm 0,002$

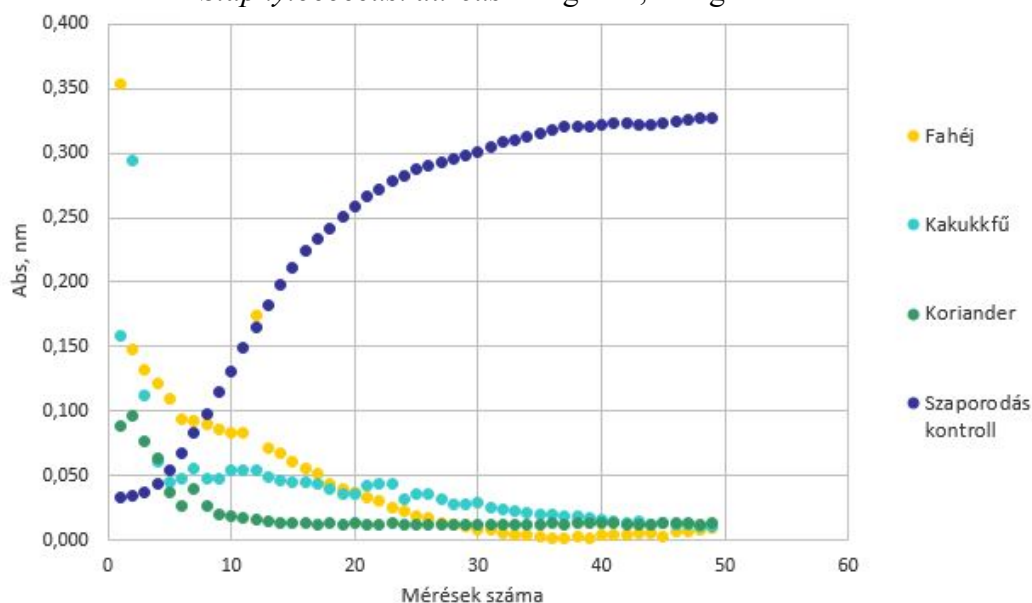
abszorbancia érték körül ingadozott. A diagram ábrázolásánál az adatsorok felvételénél a háttérzajokat, szaporodás és illóolaj kontrollokat kivontam mintákból, így kaptam meg az ábrázolt adatsorokat.



6.ábra: Az *E. coli* OD görbéi.

A 6.ábrán az *E. coli* baktérium OD görbéi láthatóak. A mikroba a táplevesben megfelelően szaporodott a mérés közben. Leolvasható, hogy az illóolajat nem tartalmazó kontrolban baktérium sejtek sűrűsége a mérés során folyamatosan növekedett kb. 12. mérésig (6 óra) majd egy maximum abszorbanciát elérve stagnált, ez kb. 25. mérésnél (12 óra) következett be, és a mérés vége felé egyre kevesebb sejt maradt életben, a sejtek pusztulása látható. Az illóolajok gátló hatása megnyilvánult a műszeres mérés során is. A szaporodási kontrollhoz képest az olajok OD görbéje sokkal alacsonyabb abszorbancia értéken marad, sőt egyáltalán nem volt növekedés tapasztalható, tehát a vizsgált olajok 10%-os koncentrációban gátolták az *Escherichia coli* növekedését. Az illóolajok ebben a mérési és kísérleti összeállításban kifejezetten hatékonyak voltak, így már a mérés elején kifejtették a gátló hatásukat.

Staphylococcus. aureus vizsgálata, OD görbe



7. ábra: A *S. aureus* OD görbéi.

A 7. ábrán a *Staphylococcus. aureus* OD görbéi láthatóak. A szaporodás kontrollról leolvasható, hogy a mikroba a mérés során a tápközegben folyamatosan növekedett kb. a 40. mérésig (20 óra), utána a növekedése stagnált. Az illóolajok mindegyike 10%-os koncentrációban antimikrobiális hatást fejtett ki a baktériumra. A mérés kezdeti szakaszában magasabb abszorbancia értékek olvashatóak le az OD görbékről.

A műszeres kísérlet eredményeként elmondható, hogy az adott kísérleti összeállításban mindegyik illóolaj hatékonyan gátolta a baktériumok növekedést. Az előző módszerekhez képest kisebb koncentrációban, 10%-os hígításban alkalmaztam az olajokat, ami mindegyik olaj esetében kisebb, mint az agardiffúziós lyukteszttel megállapított MIC értéke. Tehát elmondható, hogy az OD mérésen alapuló műszeres módszerrel a lyukdiffúziós teszttel megállapított MIC értéknél kisebb illóolaj koncentrációkban is kimutatható volt gátló hatás. Ez magyarázható azzal, hogy az illóolaj antimikrobiális hatást kifejtő komponensei a vizes szuszpenzióban nagyobb felületen érintkeznek a baktérium sejtekkel, így könnyebben képesek beoldódni és kifejteni a hatásukat.

6. ÖSSZEFOGLALÁS

Az élelmiszeripar napjainkban a legmeghatározóbb és leggyorsabban fejlődő iparág. Fokozott odafigyelés és előírások betartása szükséges jó minőségű élelmiszerek előállításához. A gyártók és forgalmazók számára folyamatos kihívást jelent az élelmiszerromlást és élelmiszereredetű megbetegedést okozó mikroorganizmusok elszaporodása, erre új technológiák és tartósítószer fejlesztése szükséges. A tartósítószer nagyrésze mesterséges, ami számos fogyasztó ellenére van. Az illóolajok tömény hidrofób folyadékok, melyeket vízgőzdesztillációval nyernek ki növényekből. Antimikrobiális tulajdonságuk ismert és az élelmiszeripari felhasználásukra van GRAS (általánosan biztonságosnak elfogadott) és FA (élelmiszer adalék) besorolásuk, így a fogyasztók által is elfogadottak.

A dolgozat célja volt a forgalomban lévő általam választott hat illóolaj antibakteriális hatásának vizsgálata, az antimikrobiális hatás vizsgálatára alkalmazott módszerek alkalmazhatóságának a megítélése, valamint a módszerek összevetése.

A kontakt módszerrel végzett előtesztelés során kiderült, hogy a kiválasztott illóolajok mindegyikének van antibakteriális hatása, így a további kísérleteknél az összes illóolajra elvégeztem a vizsgálatokat. Az agardiffúziós lyukteszt alkalmasnak bizonyult a minimális gátló koncentráció, MIC megállapítására. A kapott adatok alapján kijelenthető, hogy a fahéj illóolaja a leghatásosabb. Az *E. coli* a mikroorganizmusra 12,5%-os hígításban is fejt ki hatást 2,28 mm feltisztulási zónával. A MIC értékek és a gátlási zónák a többi illóolaj esetében: bazsalikom 100% 3,48 mm; citrom 100% 2,28 mm; kakukkfű 25% 2,50 mm; koriander 50% 2,75 mm; majoránna 50% 2,38 mm. A *S. aureus* mikrobára is a fahéj illóolaj bizonyult a leghatásosabbnak, 12% MIC mellett 2,5 mm gátlási zónával. Az MIC értékek és a gátlási zónák a többi illóolaj esetében: bazsalikom 100% 3,85 mm; citrom 100% 2,63 mm; kakukkfű 25% 3,0 mm; koriander 50% 2,87 mm; majoránna 25% 2,75 mm. Ezen módszer esetében a két modell baktérium közül a *Staphylococcus aureus* bizonyult érzékenyebbnek az illóolajokra. Az illóolajokat összehasonlítva a citromolaj fejtette ki a legkisebb gátló hatást.

Az illóolajok gőzterének baktériumgátló hatásást vizsgálva a steril szűrőpapír korongot alkalmaztam az illóolaj megtartásához, ami tökéletesnek bizonyult az olaj megtartásához, viszont kis mennyiséget tudott csak magában tartani. Az olajok közül csak három olajnál, fahéj, kakukkfű,

koriander jelent meg feltisztulási zóna. A bazsalikom, a citrom és a majoránna esetében a gyengébb mikrobapázsit jelent meg, a kontrollokhöz képest, ami részleges gátlásra utal.

A MultiScan műszeres módszer során kisebb koncentrációval lehetett dolgozni, mint az előzetesen megállapított MIC értékek, így ez a módszer bizonyult a leghatásosabbnak a minimális inhibitor koncentrációk meghatározásához, a folyékony vizes közeg alkalmazása miatt nagyobb felületen érintkeznek az illóolaj összetevői a baktérium sejtekkel, így könnyebben fejtik ki gátló hatásukat. A továbbiakban a műszeres módszer alkalmazása javasolt alacsonyabb illóolaj koncentrációk mellett a minimális gátló koncentráció pontosabb meghatározásához. Az eredmények arra is rávilágítottak, hogy illóolajok esetében az agarlyuk diffúziós teszt csak korlátozottan alkalmas a MIC érték meghatározására, inkább csak annak becslését teszi lehetővé.

Az olvasott szakirodalmi adatokkal megegyező eredményt kaptam a kettő baktérium érzékenységének összehasonlítása során, a Gram-negatív *E. coli* ellenállóbbnak bizonyult a kísérletek során az illóolajokkal szemben, mint a Gram-pozitív *S. aureus* (Bakkali és munkatársai, 2008).

Az előzetes tesztek során az is kiderült, hogy az étolaj nem a legalkalmasabb hígítószerként, mivel az olaj nem elegyedett el teljesen az illóolajjal, nem segítette a beszívódását sem a táptalajba, továbbá pontos kimérése is nehézkes pipettával a nagy viszkozitása miatt. A kísérletek folytatása során javaslom a DMSO vagy Tween 40-80 hígítószerként való alkalmazhatóságának a kipróbálását.

7. IRODALOM JEGYZÉK

1. Atrea, I., Papavergou, A., Amvrosiadis, I. and Savvaidis, I.N. (2009): Combined effect of vacuum-packaging and oregano essential oil on the shelf-life of Mediterranean octopus (*Octopus vulgaris*) from the Aegean Sea stored at 40°C. *J. Food Microbiol.* 26(2): 166–172. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fm.2008.10.005>
2. Bajpai, V. K., Baek, K. H. (2016): Biological efficacy and application of essential oils in foods-A review. *Journal of Essent Oil Bear P.* 19(1): 1-19. DOI: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2014.935033>
3. Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., Idaomar, M. (2008): Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology.* 46(2): 446–475. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
4. Bassolé I. H. N., Juliani, H. R. (2012): Essential oils in combination and their antimicrobial properties. *Molecules.* 17(4): 3989–4006. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules17043989>
5. Belletti, N., Kamdem, S. S., Tabanelli, G., Lanciotti, R., Gardini, F. (2010): Modeling of combined effects of citral, linalool and β -pinene used against *Saccharomyces cerevisiae* in citrus-based beverages subjected to a mild heat treatment. *International Journal of Food Microbiology.* 136(3): 283–289. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.10.030>
6. Blázovics A., Héthelyi B. É. (2020): A *Cinnamomum cassia*, a kínai orvoslás fontos gyógynövénye. *Orvosi Hetilap.* 161(48): 2053-2056. DOI: <https://doi.org/10.1556/650.2020.HO2669>

7. Burdock, G. A., Carabin, I. G. (2009): Safety assessment of coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil as a food ingredient. *Food and Chemical Toxicology*. 47(1): 22–34. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2008.11.006>
8. Burt, S. (2004): Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food. Microbiol.* 94(3): 223– 253. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
9. Deák T., Kiskó G., Maráz A. (2006): Élelmiszer-mikrobiológia. Mezőgazda Kiadó, ISBN 978-963-286-525-6
10. de Oliveira, M. M. M., Brugnera, D. F., Cardoso, M. das G., Alves, E., Piccoli, R. H. (2010): Disinfectant action of *Cymbopogon* sp. essential oils in different phases of biofilm formation by *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. *Food Control*. 21(4): 549-553. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2009.08.003>
11. Duarte, A., Luís, A., Oleastro, M., Domingues, C. F. (2016): Antioxidant properties of coriander essential oil and linalool and their potential to control *Campylobacter* spp. *Food Control*. 61: 115-122. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.09.033>
12. Dussault, D., Vu, K. D., Lacroix, M. (2014): In vitro evaluation of antimicrobial activities of various commercial essential oils, oleoresin and pure compounds against food pathogens and application in ham. *Meat Sci.* 96(1): 514-520. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2013.08.015>
13. Fei, L., Hao, L., Qipeng, Y., Chunfang, L. (2011): In vitro antimicrobial effects and mechanism of action of selected plant essential oil combinations against four food-related microorganisms. *Food Res. Int.* 44(9): 3057–3064. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2011.07.030>

14. Frank Zs., Kürti G. (2003): Gyógyítás illóolajokkal. Püldo Kiadó, Budapest
15. Guenther, E. (1948): The Essential Oils, Vol. 1, David van Nostrand Co. Inc, New York
16. Hennekinne, J.A., De Buyser, M.L., Dragacci, S., (2012): *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation. *FEMS Microbiol Rev.* 36(4): 815– 836. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2011.00311.x>
17. Imelouane, B., Amhamdi, H., Wathelet, J. P., Ankit, M., Khedid, K., el Bachiri, A. (2009): Chemical Composition and Antimicrobial Activity of Essential Oil of Thyme (*Thymus vulgaris*) from Eastern Morocco. *International Journal of Agriculture and Biology.* 11(2): 205-208.
18. Internet 1. Aromax-bazsalikom: <https://aromax.hu/reszletek/bazsalikomolaj-10-ml/>
19. Internet 2. Aromax-fahéj: <https://aromax.hu/reszletek/fahejolaj-10-ml/>
20. Internet 3. Aromax-kakukkfű: <https://aromax.hu/reszletek/kakukkfuoalaj-10-ml/>
21. Kerekes E. B. (2017): Az illóolajok hatása élelmiszeriparban előforduló mikroorganizmusok biofilmképzésére és sejt-sejt közötti kommunikációjára. Doktori értekezés, Szeged
22. Khanjari, A., Karabagias, I. K., Kontominas, M. G. (2013): Combined effect of N,Ocarboxymethyl chitosan and oregano essential oil to extend shelf life and control *Listeria monocytogenes* in raw chicken meat fillets. *LWT - Food Sci Technol.* 53(1): 94–99. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2013.02.012>
23. Mandal, S., Mandal, M. (2015): Coriander (*Coriandrum sativum* L.) essential oil: Chemistry and biological activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(6): 421–428. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.apjtb.2015.04.001>

24. Mitropoulou, G., Fitsiou, E., Spyridopoulou, K., Tiptiri-Kourpeti, A., Bardouki, H., Vamvakias, M., Kourkoutas, Y. (2017): Citrus medica essential oil exhibits significant antimicrobial and antiproliferative activity. *LWT*. 84: 344–352. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.05.036>
25. Naimi, T. S., Wicklund, J. H., Olsen, S. J., Krause, G., Wells, J. G., Bartkus, Jo.M., Boxrud, D. J., Sullivan, M., Kassenborg, H., Besser, J. M., Mintz, E. D., Osterholm, M. T., Hedberg, C. W. (2003): Concurrent outbreaks of *Shigella sonnei* and enterotoxigenic *Escherichia coli* infections associated with parsley: implications for surveillance and control of foodborne illness. *J Food Prot.* 66(4): 535-709. DOI: <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.4.535>
26. Nazzaro, F., Fratianni, F., de Martino, L., Coppola, R., de Feo, V. (2013): Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharm.* 6(12): 1451–1474. DOI: <https://doi.org/10.3390/ph6121451>
27. Packiyasothy, E. V., Kyle, S. (2002): Antimicrobial properties of some herb essential oils. *Food Australia*, 54(9): 384-387.
28. Perricone, M., Arace, E., Corbo, M. R., Sinigaglia, M., & Bevilacqua, A. (2015): Bioactivity of essential oils: a review on their interaction with food components. *Frontiers in Microbiology*, 6. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.00076>
29. Pesti M. (szerk.) (2001): Általános mikrobiológia. Dialóg Campus, Budapest-Pécs
30. Rasooli, I., Fakoor, M.H., Yadegarinia, D., Gachkar, L., Allameh, A., Rezaei, M.B., (2008): Antimycotoxigenic characteristics of *Rosmarinus officinalis* and *Trachyspermum copticum* L. essential oils. *Int. J. Food Microbiol.* 122(1-2):135-139. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.048>

31. Rodler Imre (szerk.) (2005): Élelmezés- és táplálkozás egészségtan. Medicina, Budapest
32. Roller, S., Seedhar, P. (2002): Carvacrol and cinnamic acid inhibit microbial growth in fresh-cut melon and kiwifruit at 4° and 8°C. *Lett Appl Microbiol.* 35(5): 390–394. DOI: <https://doi.org/10.1046/j.1472-765X.2002.01209.x>
33. Scallan, E., Hoekstra, R. M., Angulo, F. J., Tauxe, R. V., Widdowson, M.-A., Roy, S. L., Griffin, P. M. (2011): Foodborne Illness Acquired in the United States—Major Pathogens. *Emerging Infectious Diseases*, 17(1): 7–15.
34. Schelz, Zs., Hohmann, J., Molnár, J. (2010). Recent advances in research of antimicrobial effects of essential oils and plant derived compounds on bacteria. *Ethnomed.* 661(2): 179–201.
35. Singletary, K. W. (2018): Basil: A brief summary of potential health benefits. *Nutrition Today.* 53(2): 92-97.
36. Smith-Palmer, A., Stewart, J., Fyfe, L. (2001): The potential application of plant essential oils as natural food preservatives in soft cheese. *J Food Microbiol.* 18(4): 463-470.
37. Stanojevic, L. P., Marjanovic-Balaban, Z. R., Kalaba, V. D., Stanojevic, J. S., Cvetkovic, D. J., & Cakic, M. D. (2017): Chemical composition, antioxidant and antimicrobial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) essential oil. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(6): 1557–1569. DOI: <https://doi.org/10.1080/0972060X.2017.1401963>
38. Taylor, T. A., Unakal, C. G. (2022): *Staphylococcus aureus*. StatPearls Publishing. NCBI. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441868/>
39. Temesvári G. (2003): Illóolajok az egészségért. BioTer Bt, Budapest
ISBN: 963-00-2508-6

40. Tserennadmid R. (2010): Illóolajok és kombinációik hatása az élelmiszerromlást okozó mikroorganizmusokra. Doktori értekezés, Szeged
41. Vági, E., Simándi, B., Suhajda, Á., Héthelyi, É. (2005): Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Research International*. 38(1): 51–57. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2004.07.006>
42. Vekiari, S.A, Papadopoulou, E.E.P., Panou, C. and Vamvakias, M. (2002): Composition and seasonal variation of the essential oil from leaves and peels of certain lemon varieties. *J. Agri. Food Chem.* 2: 147-153
43. Vera, R. R., Chane-Ming, J. (1999): Chemical composition of the essential oil of marjoram (*Origanum majorana* L.) from Reunion Island. *Food Chem.* 66(2):143-145.
44. Wang, R., Wang, R., & Yang, B. (2009): Extraction of essential oils from five cinnamon leaves and identification of their volatile compound compositions. *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 10(2): 289–292. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2008.12.002>
45. Zhang, Y., Liu, X., Wang, Y., Jiang, P., & Quek, S. (2016): Antibacterial activity and mechanism of cinnamon essential oil against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Food Control*, 59: 282–289. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2015.05.032>

8. KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Hálás köszönettel tartozom Dr. Pomázi Andrea témavezetőmnek, aki a tanszéken fogadott és iránymutató szakmai tanácsaival segítette az előrehaladását a szakdolgozatomnak, valamint munkám során mind szakmailag, mind emberileg nyújtott sokrétű és önzetlen segítségéért.

Köszönetemet fejezem Kovács Rita műszaki alkalmazottnak, aki a labormunka elvégzéséhez nyújtott segítséget.

Külön köszönettel tartozom szüleimnek, testvéremnek és barátaimnak, akik mindvégig támogattak, mellettem álltak és türelmes, nyugodt, biztos hátteret biztosítottak munkám elvégzéséhez.

Demeter Diána Szakdolgozat

9. NYILATKOZATOK

Szerzői nyilatkozat

Alulírott Demeter Diána(név) (szaktagozat) kijelentem, hogy című szakdolgozat a saját munkám eredménye. Azon részeket, melyeket más szerzők munkájából vettem át, egyértelműen megjelöltem, s az irodalomjegyzékben szerepeltettem.

Ha a fenti nyilatkozattal valótlan állítottam, tudomásul veszem, hogy a Záróvizsga-bizottság a záróvizsgából kizár és záróvizsgát csak új dolgozat készítése után tehetek.

Budapest, 2022. április 25.

a hallgató aláírása

KÖNYVTÁRI NYILATKOZAT

a szakdolgozat, diplomamunka nyilvános hozzáféréséről

A szerző neve: Demeter Diána

A dolgozat címe: Illóolajok antimikrobiális hatásának vizsgálata élelmiszerbiztonsági szempontból jelentős baktériumokra

A megjelenés éve: 2022.

A tanszék neve: Élelmiszer-mikrobiológia, -higiénia és -biztonság Tanszék

Kijelentem, hogy diplomadolgozatom papír és elektronikus változata tartalmilag és formailag azonos.

Tudomásul veszem, hogy dolgozatom elektronikus változata feltöltésre kerül a SZIE Entz Ferenc Könyvtár és Levéltár szakdolgozat archívumába. A teljes szöveg kizárólag a Budai Campus számítógépeiről tekinthető meg.

A vízjellel ellátott pdf dokumentum szerkesztését nem, megtekintését engedélyezem. Tudomásul veszem, hogy a vízjel nélkül leadott dokumentum szerzői jogai sérülhetnek.

Budapest, 2022. április 25.

.....