

ELŻBIETA HAĆ-SZYMAŃCZUK, JOANNA ROMAN, KATARZYNA BEDNARCZYK

Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności
Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

BADANIE AKTYWNOŚCI PRZECIWBAKTERYJNEJ ROZMARYNU LEKARSKIEGO (*ROSMARINUS OFFICINALIS*)

Streszczenie. Celem niniejszej pracy było zbadanie aktywności przeciwbakteryjnej rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis*) w postaci olejku wyekstrahowanego ze świeżych liści, wyciągu wodnego z suszu oraz ekstraktu handlowego. Sprawdzano działanie rozmarynu w stosunku do wybranych szczepów bakterii saprofitycznych oraz patogennych. Aktywność przeciwbakteryjną rozmarynu określano metodą seryjnych rozcieńczeń w bulionie płynnym. Efektywność rozmarynu była związana z jego formą oraz stężeniem w podłożu doświadczalnym, a także zależała od szczepu bakterii. Spośród badanych bakterii szczepy gramododatnie były bardziej wrażliwe na działanie rozmarynu niż szczepy gramujemne. Badane formy rozmarynu nie spowodowały zahamowania wzrostu *Staphylococcus aureus* ani *Klebsiella pneumoniae*.

Słowa kluczowe: rozmaryn lekarski, *Rosmarinus officinalis*, aktywność przeciwbakteryjna, zahamowanie wzrostu

Wstęp

W obecnych czasach, kiedy to producenci mają do czynienia z coraz bardziej nowoczesnymi metodami wytwarzania produktów spożywczych, bezpieczeństwo żywności jest bardzo ważnym aspektem zdrowia publicznego. Według danych WHO (FOOD SAFETY... 2002) blisko 30% ludzi w krajach rozwiniętych cierpi z powodu zatruc spowodowanych spożyciem żywności.

Wielu autorów (BURT 2004, MAKALA 2005, NEDOROSTOVA i in. 2009) podaje, że do metod zapewnienia i przedłużania dobrej jakości żywności należą m.in.: metody biologiczne, systemy aktywnego pakowania oraz dodawanie chemicznych substancji konserwujących.

Często stosowanie przypraw wpływa korzystnie na przedłużenie trwałości środków spożywczych i z powodzeniem może zastępować dodatek chemicznych substancji konserwujących.

W zależności od formy użytych przypraw (świeże liście i owoce, olejki eteryczne, wyciągi wodne i etanolowe, susze) charakteryzują się one zróżnicowanym wpływem na hamowanie wzrostu drobnoustrojów w żywności. Efekt konserwujący ich działania jest potęgowany przez kondensację zawartości związków biologicznie czynnych. Najlepsze właściwości przeciwdrobnoustrojowe posiadają olejki eteryczne, potem ekstrakty tłuszczowe oraz wyciągi etanolowe przypraw. Zestawienie zamykają susze roślinne i ich wodne wyciągi (WIECZORKIEWICZ-GÓRNIK i PIĄTKIEWICZ 2001, BURT 2004, SUHAJ 2006).

Rozmaryn lekarski (*Rosmarinus officinalis*) to wiecznie zielona krzewinka, należąca do rodziny wargowych (*Labiatae*). W celach przyprawowych stosuje się ciemnozielone, skórzaste liście w postaci świeżej lub wysuszonej. Substancje czynne obecne w rozmarynie nadają mu szereg pożądanych z punktu widzenia przemysłu oraz ziołolecznictwa właściwości. Surowiec zawiera m.in.: olejki lotne (w ilości 1,5-2,5%), garbniki, flawonoidy, trójterpeny, gorycze, saponiny, żywice, fitosterole, kwas rozmarynowy i wiele innych. Olejek eteryczny odpowiada za silny, kamforowy zapach rozmarynu. Jego podstawowymi składnikami są: kamfora (14,5%), cineol (12%), borneol (10,5%), pinen (8,5%) oraz kamfen (7%) (RUMIŃSKA i OZAROWSKI 1990, SUHAJ 2006, DJEDDI i IN. 2007).

Najwięcej doniesień dotyczy właściwości przeciwutleniających rozmarynu lekarskiego. Ekstrakt rozmarynu pod postacią emulsji, proszku albo roztworu olejowego może skutecznie zastępować BHA (butylohydroksyanizol) w odwodnionych jajach kurzych, mięsie oraz rybach, a wyciąg rozmarynowy – w kielbasach, makaronie, maśle orzechowym oraz oleju (KOSTRZEWA i OWCZARCZYK 1996, EKSTRAKTY... 1998).

Olejek eteryczny oraz ekstrakty, zarówno wodne, jak i tłuszczowe, pozyskane z rozmarynu cechują się dużą aktywnością przeciwdrobnoustrojową. Kompleks lotnych olejków rozmarynu hamuje wzrost wielu bakterii gramdodatnich, a także gramujemnych. Wśród szczególnie wrażliwych na jego działanie szczepów znajdują się: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis* oraz *Klebsiella pneumoniae*. Fitonocydy zawarte w przyprawach prowadzą do zniszczenia ścian komórkowych i błon cytoplazmatycznych bakterii oraz grzybów, co prowadzi do zachwiania naturalnej równowagi komórki, a w konsekwencji do wycieku cytoplazmy. Zakłada się także możliwość hamowania syntezy DNA, RNA, protein czy polisacharydów oraz enzymów (MANGENA i MUYIMA 1999, SUHAJ 2006, CELIKTAS i IN. 2007, DJEDDI i IN. 2007).

Celem przeprowadzonych badań było ilościowe określenie aktywności przeciwbakteryjnej rozmarynu lekarskiego w stosunku do szczepów bakterii saprofitycznych i patogennych, mogących występować w żywności pochodzenia zwierzęcego.

Material i metody

Przedmiotem badań był olejek wyekstrahowany ze świeżych liści rozmarynu lekarskiego (n = 3), wyciąg wodny z jego suszu (n = 3) oraz ekstrakt rozmarynu TasteGuard P (n = 3). Do oznaczania właściwości przeciwbakteryjnych rozmarynu wykorzystano następujące gatunki bakterii (z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW): *Micrococcus* sp., *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Tetra-*

coccus sp., *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), *Proteus vulgaris* (458), *Proteus mirabilis* (180), *Escherichia coli* (ATCC 25922) oraz *Klebsiella pneumoniae* (196).

Przygotowanie rozmarynu do badań

W celu ekstrakcji olejku eterycznego świeże liście rozmarynu (Swedoponic Polska, materiał zakupiony w supermarkecie Leclerc) rozdrabniano, przenoszono do kolby okrągłodennej, zalewano wodą i całość destylowano w aparacie do otrzymywania olejków eterycznych firmy Simax według Derynga (BIAŁECKA-FLORIAŃCZYK i WŁOSTOWSKA 2007). Ochłodzony destylat czterokrotnie ekstrahowano chlorkiem metylenu w rozdzielniku, następnie usuwano z niego wodę, dodając bezwodny siarczan magnezu. Część rozpuszczalnika odparowywano w wyparce rotacyjnej z regulowanym ciśnieniem firmy Buchi (ciśnienie 540-560 hPa, temperatura 30°C).

Przy sporządzaniu wyciągu wodnego z rozmarynu suszonego (firmy Kamis) umieszczano go w lnianym woreczku, który następnie przenoszono do naczynia zawierającego zimną wodę. Całość doprowadzano do wrzenia. Po 24 h przechowywania w temperaturze 2°C usuwano woreczek z przyprawami, a otrzymany wyciąg zagęszczano trzykrotnie w wyparce laboratoryjnej firmy Buchi (temperatura 30°C, ciśnienie 50 hPa) (JANKIEWICZ i SŁOWIŃSKI 1999).

Aby sporządzić zawiesinę ekstraktu TasteGuard P (CHR Hansen), który jest produktem otrzymywanym w drodze naturalnej ekstrakcji rozmarynu i zawierającym malto-dekstrynę (nośnik standaryzujący), 1 g proszku przenoszono do kolbki stożkowej o pojemności 50 ml i zalewano 20 ml 40-procentowego alkoholu etylowego.

Tak przygotowany olejek eteryczny, wyciąg wodny oraz zawiesinę przechowywano w temperaturze 4°C w szczelnie zamkniętych butelkach z ciemnego szkła.

Oznaczanie aktywności przeciwbakteryjnej rozmarynu

Badania ilościowe przeprowadzono zgodnie z zasadami wyznaczania lekowrażliwości bakterii (GRZYBOWSKI i REISS 2001). W tym celu sporządzono szereg dwukrotnych rozcieńczeń badanych wyciągów w płynnym bulionie wzbogaconym. Tak przygotowane podłoże szczepiono 10 µl zawiesiny bakterii w podłożu PBS o gęstości optycznej odpowiadającej wartości 0,5° w skali McFarlanda (1×10^8 komórek w 1 ml), co sprawdzano z użyciem densymatu firmy BioMerieux.

Wpływ działania wyciągów z rozmarynu w określonych stężeniach na badane drobnoustroje określano metodą płytkową po ustalonym czasie inkubacji. Liczbę drobnoustrojów, których wzrost został zahamowany przez działanie składników pochodzących wyłącznie z rozmarynu, uzyskiwano jako różnicę pomiędzy liczbą kolonii wyrosłych na podłożu z rozpuszczalnikiem oraz liczbą kolonii wyrosłych na podłożu zawierającym wyciąg, w takim samym stężeniu. Wartość tę odnoszono do liczby kolonii wyrosłych na podłożu bez dodatku rozmarynu bądź rozpuszczalnika i na tej podstawie obliczano procentowe zahamowanie wzrostu bakterii przez działanie składników pochodzących z rozmarynu.

Badania ilościowe aktywności przeciwbakteryjnej przeprowadzono w trzech seriach badawczych (dwa równoległe powtórzenia dla każdego oznaczenia) z zachowaniem tych samych warunków.

Analiza statystyczna wyników

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej, wykorzystując program statystyczny Statgraphics Plus oraz Microsoft Excel XP. Do oceny wyników otrzymanych przy oznaczaniu procentowego zahamowania wzrostu drobnoustrojów zastosowano jednoczynnikową analizę wariancji (One-Way Anova). Porównania szczegółowe wyników wykonano za pomocą testu Tukeya HSD dla poziomu istotności $\alpha = 0,05$.

Wyniki i dyskusja

Wpływ działania wyciągów z rozmarynu lekarskiego na bakterie gramdodatnie

Spośród badanych szczepów bakterii jedynie *Micrococcus* sp. i *Bacillus subtilis* reagowały na działanie wszystkich badanych form rozmarynu.

Ekstrakt rozmarynu w stężeniu 0,78% po 20 h oddziaływania spowodował zahamowanie wzrostu bakterii *Micrococcus* sp. rzędu 80,4% (tab. 1). Wraz ze wzrostem jego stężenia w podłożu zwiększała się również jego aktywność bakteriostatyczna w stosunku do szczepu *Micrococcus* sp., czego wynikiem był wyższy stopień zahamowania jego wzrostu.

Tabela 1. Stopień zahamowania wzrostu wybranych bakterii gramdodatnich w wyniku działania olejku eterycznego, wyciągu wodnego i ekstraktu handlowego z rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis*) (%)

Table 1. The level of growth inhibition of selected Grampositive bacteria depending on the rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil, water extract and commercial extract (%)

Rozmaryn	Szczep bakterii	Stężenie w podłożu (%)						
		0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25,0	50,0
Olejek eteryczny ze świeżego rozmarynu (n = 3)	<i>Micrococcus</i> sp.	3,1 ^a	9,7 ^b	10,3 ^b	27,3 ^c	45,8 ^d	54,1 ^d	100 ^e
	<i>Bacillus subtilis</i>	2,9 ^a	8,7 ^b	16,4 ^c	100 ^d	100 ^d	100 ^d	100 ^d
	<i>Tetracoccus</i> sp.	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0
Wyciąg wodny z suszonego rozmarynu (n = 3)	<i>Micrococcus</i> sp.	73,7 ^a	85,4 ^{a,b}	97,0 ^{b,c}	99,5 ^c	100 ^c	100 ^c	100 ^c
	<i>Bacillus subtilis</i>	42,9 ^a	66,1 ^b	82,6 ^c	93,8 ^d	98,5 ^{d,e}	99,9 ^e	100 ^f
	<i>Tetracoccus</i> sp.	91,0 ^a	94,9 ^b	98,5 ^c	99,9 ^d	100 ^e	100 ^e	100 ^e
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0
Ekstrakt handlowy rozmarynu (n = 3)	<i>Micrococcus</i> sp.	80,4 ^a	100 ^b	100 ^b	100 ^b	100 ^b	100 ^b	100 ^b
	<i>Bacillus subtilis</i>	54,0 ^a	70,6 ^b	71,3 ^b	100 ^c	100 ^c	100 ^c	100 ^c
	<i>Tetracoccus</i> sp.	19,2 ^a	34,2 ^b	44,7 ^c	100 ^d	100 ^d	100 ^d	100 ^d
	<i>Staphylococcus aureus</i>	0	0	0	0	0	0	0

a, b, c – różnice istotne statystycznie przy $\alpha = 0,05$.

Wyciąg z suszonego rozmarynu, niezależnie od zastosowanego stężenia w podłożu, przyczynił się do istotnej ($\alpha = 0,05$) redukcji liczby bakterii *Micrococcus* sp. W porównaniu ze stężeniem 0,78%, w którym zahamowanie wzrostu osiągnęło wartość 73,7%, istotnie ($\alpha = 0,05$) większe zahamowanie wzrostu, wynoszące 85,4%, spowodował wyciąg wodny w stężeniu 1,56%. Całkowite zahamowanie wzrostu bakterii zaobserwowano dopiero w podłożu z zawartością 12,50% powyższego wyciągu, choć zbliżony efekt hamujący (96,9%) zapewniało już stężenie 3,12% (tab. 1).

Najmniej efektywny pod względem ilościowego stopnia zahamowania wzrostu *Micrococcus* sp. okazał się olejek eteryczny, ponieważ w słabych jego stężeniach (0,78-25,0%) obserwowano mniejszą redukcję liczby drobnoustrojów w porównaniu z olejkami i wyciągiem wodnym (tab. 1).

Wrażliwość bakterii *Micrococcus* sp. na działanie olejku eterycznego otrzymanego z roślin przyprawowych badali MARINO i IN. (2001). Do analizy działania przeciwbakteryjnego autorzy ci wykorzystali olejek z szałwii oraz olejek z oregano (rośliny spokrewnione z rozmarynem lekarskim). Po 60 min oddziaływania na bakterie olejek z oregano cechował się silniejszym działaniem przeciwbakteryjnym na badane ziarniaki niż olejek uzyskany z szałwii. Już 200 $\mu\text{g/ml}$ olejku z oregano w podłożu spowodowało prawie 100-procentową inhibicję wzrostu bakterii *Micrococcus* sp., natomiast olejek z szałwii, nawet w stężeniu czterokrotnie silniejszym, nie pozwolił na osiągnięcie podobnego efektu.

Podobnie na działanie rozmarynu reagowały laseczki *Bacillus subtilis*, ponieważ niezależnie od stężenia zarówno ekstrakt, jak i wyciąg wodny oraz olejek eteryczny destylowany ze świeżych liści rozmarynu istotnie ($\alpha = 0,05$) hamowały wzrost tych pałeczek. W przypadku najslabszego analizowanego stężenia ekstraktu (0,78%) stopień redukcji liczby bakterii oscylował wokół 54,0%, natomiast wraz ze wzrostem stężenia w podłożu do 1,56% wartość ta wzrosła do 70,7%. W przypadku silniejszych stężeń wyciągu zaobserwowano tendencję do większego hamowania wzrostu bakterii, jednak różnice te nie były statystycznie istotne ($\alpha = 0,05$) (tab. 1).

Wyciąg z suszonego rozmarynu w badanym stężeniu (0,78%) spowodował inhibicję wzrostu bakterii na poziomie około 43%, natomiast zastosowanie stężenia 12,50% pozwoliło na uzyskanie zahamowania wzrostu *Bacillus subtilis* w podłożu doświadczalnym na poziomie 98,5%. Ustalono, że silniejsze stężenia wyciągu nie różnicowały jego aktywności przeciwbakteryjnej w sposób istotny statystycznie ($\alpha = 0,05$), choć całkowitą redukcję liczby bakterii stwierdzono dopiero przy największym stężeniu wyciągu w podłożu (50%).

CELIKAS i IN. (2007) przeanalizowali zmienność składu chemicznego olejków uzyskanych z *Rosmarinus officinalis* w zależności od regionu oraz miesiąca, w którym dokonywano zbioru rośliny. Autorzy ci posłużyli się szczepem *Bacillus subtilis*, aby określić wpływ powyższych czynników na wielkość minimalnego stężenia hamującego wzrost bakterii (MIC) i stwierdzili, że powodują one zmienność składu chemicznego roślin, a co za tym idzie przyczyniają się do zmian wartości MIC. W przypadku *Bacillus subtilis* minimalne stężenie bakteriostatyczne przyjmowało wartości z zakresu od 2,5 do 20 mg/ml.

Wyciąg z suszonego rozmarynu już przy najslabszym zastosowanym stężeniu (0,78%) działał istotnie ($\alpha = 0,05$) hamująco w stosunku do 91,0% komórek bakterii *Tetracoccus* sp. zawartych w podłożu doświadczalnym (tab. 1). Wraz ze wzrostem

stężenia od 0,78, poprzez 1,56 i 3,12, do 6,25% odnotowano istotne ($\alpha = 0,05$) zwiększenie się efektu inhibitującego. Niemal całkowitą redukcję wzrostu *Tetracoccus* sp. (99,9%) zapewnił dodatek wyciągu z suszonego rozmarynu o stężeniu 6,25%. W przypadku ekstraktu rozmarynu, niezależnie od jego stężenia, aktywność bakteriostatyczna była zdecydowanie mniejsza niż w przypadku wyciągu z suszonego rozmarynu (tab. 1).

Dyskusja nad wynikami otrzymanymi w niniejszej pracy jest utrudniona, ponieważ podobna problematyka nie stanowiła dotąd przedmiotu zainteresowań innych autorów. W badaniach prowadzonych przez HAMMERA i IN. (1999) oznaczono minimalne stężenie bakteriostatyczne olejków z: bazylii, majeranku, oregano, szalwii oraz tymianku. Materiałem biologicznym były ziarniaki z gatunku *Enterococcus faecalis*. Największą skuteczność w hamowaniu rozwoju bakterii wykazały olejki z oregano (MIC = 0,25%) oraz tymianku (MIC = 0,5%), natomiast pozostałe olejki wykazały działanie bakteriostatyczne dopiero przy stężeniu około 2,0%.

W przypadku bakterii *Staphylococcus aureus* nie oznaczono procentowego zahamowania wzrostu bakterii w podłożu doświadczalnym z dodatkiem badanych form rozmarynu, ponieważ żadna z nich nie była aktywna w stosunku do tego szczepu (tab. 1). HAMMER i IN. (1999) określili najmniejsze stężenie olejku z rozmarynu w podłożu gwarantujące inhibicję wzrostu *Staphylococcus aureus* na 1,0%.

Wpływ działania wyciągów z rozmarynu lekarskiego na bakterie gramujemne

Niezależnie od stężenia w przypadku ekstraktu rozmarynu stwierdzono istotne ($\alpha = 0,05$) zahamowanie wzrostu bakterii *Proteus vulgaris* w podłożu doświadczalnym. Działanie przeciwbakteryjne ekstraktu w stężeniach 0,78 i 1,56% spowodowało zahamowanie wzrostu bakterii kształtujące się na poziomie odpowiednio 24,4 i 40,9% (tab. 2). Podobne tendencje zaobserwowano w przypadku zastosowania olejku eterycznego destylowanego z liści świeżego rozmarynu, gdzie efekt hamujący wzrost bakterii zwiększał się wraz ze wzrostem jego stężenia.

MARINO i IN. (2001) w swoich badaniach udowodnili zdolność wyciągu z oregano do hamowania wzrostu bakterii *Proteus vulgaris*. Zastosowanie olejku w stężeniu 100 $\mu\text{g/ml}$ w podłożu doświadczalnym spowodowało istotne zahamowanie wzrostu bakterii (24%) w porównaniu z podłożem kontrolnym (bez wyciągu) po 60 min inkubacji w temperaturze pokojowej. Największe zahamowanie wzrostu odnotowano w przypadku stężeń wynoszących 400 i 800 $\mu\text{g/ml}$, kiedy to procentowe zahamowanie wzrostu osiągnęło wartość około 95-100%.

Bakterie *Proteus mirabilis* oraz *Escherichia coli* okazały się wrażliwe tylko na działanie olejku eterycznego ze świeżego rozmarynu (tab. 2).

Ich działanie, zarówno w stężeniu 0,78, jak i 1,56%, wpłynęło istotnie ($\alpha = 0,05$) na zahamowanie wzrostu bakterii *Proteus mirabilis*, który to wzrost przy stężeniu olejków w podłożu 0,78% oscylował wokół wartości 16,1%. Podwojenie stężenia olejku istotnie (ponad dwukrotnie) zwiększyło jego moc inhibitującą (tab. 2).

Podobne zależności stwierdzono w przypadku bakterii *Escherichia coli* (tab. 2). W przypadku najsłabszego badanego stężenia olejku w podłożu (0,78%) stopień zahamowania wzrostu bakterii *Escherichia coli* wyniósł 16,5% i zwiększał się wraz ze wzrostem stężenia.

Aktywnością przeciwbakteryjną w stosunku do *Proteus mirabilis* charakteryzuje się także olejek z oregano. Na podstawie badań (MARINO i IN. 2001) stwierdzono, iż dodatek

Tabela 2. Stopień zahamowania wzrostu wybranych bakterii gramujemnych w wyniku działania olejku eterycznego, wyciągu wodnego i ekstraktu handlowego z rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis*) (%)Table 2. The level of growth inhibition of selected Gramnegative bacteria depending on the rosemary (*Rosmarinus officinalis*) essential oil, water extract and commercial extract (%)

Rozmaryn	Szczep bakterii	Stężenie w podłożu (%)						
		0,78	1,56	3,12	6,25	12,5	25,0	50,0
Olejek eteryczny ze świeżego rozmarynu (n = 3)	<i>Proteus vulgaris</i>	16,6 ^a	22,9 ^a	100 ^b	100 ^b	100 ^b	100 ^b	100 ^b
	<i>Proteus mirabilis</i>	16,1 ^a	30,9 ^b	100 ^c	100 ^c	100 ^c	100 ^c	100 ^c
	<i>Escherichia coli</i>	16,5 ^a	31,5 ^b	39,5 ^c	100 ^d	100 ^d	100 ^d	100 ^d
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0
Wyciąg wodny z suszonego rozmarynu (n = 3)	<i>Proteus vulgaris</i>	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0
Ekstrakt handlowy rozmarynu (n = 3)	<i>Proteus vulgaris</i>	24,4 ^a	40,9 ^b	100 ^c	100 ^c	100 ^c	100 ^c	100 ^c
	<i>Proteus mirabilis</i>	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	0	0	0
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0	0	0	0	0	0	0

a, b, c – różnice istotne statystycznie przy $\alpha = 0,05$.

olejku do podłoża w stężeniu 800 $\mu\text{g/ml}$ spowodował całkowitą redukcję liczby bakterii. Szczegółowa analiza składu chemicznego oregano wskazuje, iż działanie hamujące wzrost drobnoustrojów wynika z obecności związków fenolowych w oregano oraz w roślinach z nim spokrewnionych.

HAMMER i IN. (1999) scharakteryzowali właściwości przeciwbakteryjne olejku z rozmarynu lekarskiego poprzez wyznaczenie minimalnego stężenia bakteriostatycznego (MIC) dla bakterii *Escherichia coli*. Metoda seryjnych rozcieńczeń olejku w podłożu doświadczalnym wykazała, że wzrost bakterii został zahamowany przy stężeniu olejku wynoszącym 1,0%. Autorzy zaznaczyli przy tym ogromną rolę czynników związanych z kształtowaniem się profilu związków chemicznych, które wchodzą w skład olejków eterycznych.

W przypadku wyników uzyskanych w niniejszej pracy brak działania przeciwbakteryjnego wyciągów z rozmarynu w stosunku do bakterii *Klebsiella pneumoniae* można tłumaczyć opornością użytego szczepu na związki chemiczne zawarte w *Rosmarinus officinalis* (tab. 2). Podobnie jak *Staphylococcus aureus*, omawiane drobnoustroje prawdopodobnie nabyły oporność na czynniki stresowe w czasie przechowywania i wielokrotnego przeszczepiania na świeże podłoża. Jednocześnie należy podkreślić, iż w pracy zastosowano najprostsze metody pozyskiwania wyciągów z roślin, które nie gwarantują

otrzymania skoncentrowanego źródła substancji o właściwościach skutecznie hamujących rozwój drobnoustrojów.

Według HAMMERA i IN. (1999), po 24 h inkubacji wartość minimalnego stężenia olejku hamującego rozwój bakterii *Klebsiella pneumoniae* wyniosła 2,0%. Autorzy podkreślają, iż *Klebsiella pneumoniae* była niszczone mniej efektywnie przez olejek z rozmarynu niż *Escherichia coli* czy *Staphylococcus aureus*. Istnieje zespół czynników, od których zależą zdolności bakteriobójcze komponentów olejków eterycznych, w tym: skład chemiczny lotnych wydzielin, metoda badawcza, warunki prowadzenia doświadczeń, liczba komórek w inokulum.

Wnioski

1. Określona w przedstawionych badaniach aktywność przeciwbakteryjna rozmarynu nawet w niewielkich stężeniach świadczy o tym, że jest on źródłem substancji hamujących wzrost wielu drobnoustrojów.

2. Skuteczność działania hamującego wzrost drobnoustrojów przez olejek i wyciąg wodny rozmarynu jest zależna od sposobu przygotowania (destylacja, ekstrakcja), który prawdopodobnie powoduje kształtowanie się różnych profili związków chemicznych.

3. Bakterie gramdodatnie charakteryzowały się większą wrażliwością na składniki rozmarynu niż bakterie gramujemne, co może wynikać z różnic w budowie ich ścian komórkowych.

4. Badane formy rozmarynu nie hamowały wzrostu patogenów *Staphylococcus aureus* i *Klebsiella pneumoniae*, co może świadczyć o oporności tych bakterii na działanie składników roślinnych zawartych w rozmarynie lekarskim.

Literatura

- BIAŁECKA-FLORJAŃCZYK E., WŁOSTOWSKA J., 2007. Ćwiczenia laboratoryjne z chemii organicznej. Wyd. SGGW, Warszawa.
- BURT S., 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 3: 223-253.
- CELIK TAS O., KOCABAS E.E., BEDIR E., SUKAN F., OZEK T., BASER K., 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. *Food Chem.* 100, 2: 553-559.
- DJEDDI S., BOUCHENAH N., SETTAR I., SKAL TSA H.D., 2007. Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Rosmarinus officinalis* L. from Algeria. *Chem. Nat. Compd.* 43, 4: 487-490.
- EKSTRAKTY przypraw w płynie do przetworów mięsnych. Nowe możliwości produktu i produkcji. 1998. Mięso Wędliny 1: 22-24.
- FOOD SAFETY and foodborne illness. 2002. WHO Facts Geneva 237.
- GRZYBOWSKI J., REISS J., 2001. Praktyczna bakteriologia lekarska i sanitarna. Bellona, Warszawa.
- HAMMER K.A., CARSON C.F., RILEY T.V., 1999. Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *J. Appl. Microb.* 86, 2: 985-990.
- JANKIEWICZ L., SŁOWIŃSKI M., 1999. Technologia produkcji wędlin. Część 2: Wędzonki parzone. Polskie Wydawnictwo Fachowe, Warszawa.

Hać-Szymańczuk E., Roman J., Bednarczyk K., 2009. Badanie aktywności przeciwbakteryjnej rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis*). *Nauka Przyr. Technol.* 3, 4, #128.

- KOSTRZEWA E., OWCZARCZYK B., 1996. Wybrane zagadnienia dotyczące przypraw ziołowych stosowanych w przemyśle spożywczym. *Stan Aktual. Perspek. Rozw. Wybr. Dziedz. Przetw. Żywn.* 3: 47-77.
- MAKALA H., 2005. Przyprawy znane i nieznanne w przetwórstwie mięsa. *Gosp. Mięsna* 4: 10-19.
- MANGENA T., MUYIMA N.Y.O., 1999. Comparative evaluation of the antimicrobial activities of essential oils of *Artemisia afra*, *Pteronia incana* and *Rosmarinus officinalis* on selected bacteria and yeasts strains. *Lett. Appl. Microbiol.* 28, 4: 291-296.
- MARINO M., BERSANI C., COMI G., 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oils from *Lamiaceae* and *Compositae*. *Int. J. Food Microbiol.* 67, 4: 187-195.
- NEDOROSTOVA L., KLOUCEK P., KOKOSKA L., STOLCOWA M., PULKRABEK J., 2009. Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Cont.* 20: 157-160.
- RUMIŃSKA A., OZAROWSKI A., 1990. Leksykon roślin leczniczych. PWRiL, Warszawa.
- SUHAJ M., 2006. Spice antioxidants isolation and their antiradical activity: a review. *J. Food Comp. Anal.* 19: 531-537.
- WIECZORKIEWICZ-GÓRNIK M., PIĄTKIEWICZ A., 2001. Mikrobiologiczne zanieczyszczenie przypraw ziołowych. *Gosp. Mięsna* 8: 46, 48-50.

A STUDY OF THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ROSEMARY (*ROSMARINUS OFFICINALIS*)

Summary. The goal of this work was to test the antibacterial activity of the rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in essential oil, water extract and commercial extract form. Rosemary was investigated for activity against selected bacteria. The antibacterial activities of rosemary were tested by the broth microdilution method. The efficiency of rosemary was linked to the type and concentration and depended on the test bacteria strain, too. Among all the bacteria tested, Grampositive were more sensitive to the activity of rosemary than Gramnegative. The rosemary tested had no inhibitory effect on the *Staphylococcus aureus* and *Klebsiella pneumoniae*.

Key words: rosemary, *Rosmarinus officinalis*, rosemary antibacterial activity, inhibitory effect on bacteria

Adres do korespondencji – Corresponding address:

Elżbieta Hać-Szymańczuk, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-776 Warszawa, Poland, e-mail: elzbieta_hac_szymanczuk@sggw.pl

Zaakceptowano do druku – Accepted for print:
7.10.2009

Do cytowania – For citation:

Hać-Szymańczuk E., Roman J., Bednarczyk K., 2009. Badanie aktywności przeciwbakteryjnej rozmarynu lekarskiego (*Rosmarinus officinalis*). *Nauka Przyr. Technol.* 3, 4, #128.