

PORÓWNANIE DZIAŁANIA PRZECIWDROBNOUSTROJOWEGO OLEJKÓW ETERYCZNYCH Z SZAŁWII (*SALVIA OFFICINALIS* L.) I OREGANO (*ORIGANUM VULGARE* L.)*

Elżbieta Hać-Szymańczuk, Edyta Lipińska,
Anna Chlebowska-Śmigiel*

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Streszczenie. Celem pracy było otrzymanie olejków eterycznych z szalwii i oregano, określenie ich składu chemicznego oraz aktywności przeciwdrobnoustrojowej w stosunku do wybranych szczepów bakterii. Olejki otrzymywano za pomocą destylacji z parą wodną przy użyciu aparatu Derynga. Do oceny aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejków wykorzystano oznaczenie minimalnego stężenia hamującego (MIC) oraz minimalnego stężenia bakteriobójczego (MBC) olejków. Oznaczano również strefy zahamowania wzrostu metodą krążkowo-dyfuzyjną. Olejek z oregano charakteryzował się największym udziałem karwakrolu ($644,89 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), 1,4-cyneolu ($1,36 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$) i γ -terpinenu ($1,35 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), z kolei olejek z szalwii – kamfory ($11,62 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), linalolu ($6,82 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), R(+) limonenu ($4,03 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$) i karwakrolu ($2,18 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$). Olejek z oregano był bardziej skuteczny w hamowaniu wzrostu drobnoustrojów w porównaniu z olejkiem z szalwii.

Słowa kluczowe: szalwia, oregano, olejki eteryczne, MIC, MBC

WSTĘP

Od kilku lat w obszarze alternatywnych metod utrwalania żywności przedmiotem badań są naturalne substancje wyizolowane z roślin, posiadające właściwości przeciwdrobnoustrojowe. Należą do nich ekstrakty i olejki eteryczne pochodzące z roślin przyprawo-

*Badanie wykonane w ramach projektu badawczego własnego nr N N312 257040.

Adres do korespondencji – Corresponding author: Elżbieta Hać-Szymańczuk, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, Wydział Nauk o Żywności, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności, ul. Nowoursynowska 159c, 02-776 Warszawa, e-mail: elzbieta_hac_szymanczuk@sggw.pl

wych. Olejki eteryczne to wieloskładnikowe mieszaniny lotnych związków chemicznych wyodrębniane metodą destylacji z parą wodną. Zawierają one od kilkudziesięciu do kilkuset składników i są to głównie monoterpenuoidy, alkohole, aldehydy, ketony, fenole i ich pochodne oraz inne lotne związki [Dorman i Deans 2000, Justesen i Knuthsen 2001, Lambert i in. 2001, Souza i in. 2006, Fasseas i in. 2007, Wroniak i Ratusz 2011, Góra i Lis 2012, Generalić Mekinić i in. 2014].

Szacuje się, że w naturze występuje 18 tysięcy olejkodajnych gatunków roślin, na skalę przemysłową produkuje się około 300 olejków, a wykorzystuje się tylko kilkadziesiąt z nich. Do roślin, które są wykorzystywane jako przyprawy i z których pozyskuje się olejki zaliczane są m.in. szalwia i oregano [Góra i Lis 2012].

Ze względu na właściwości przeciwzapalne i przeciwbakteryjne, szalwia oraz preparaty z niej otrzymywane od stuleci znajdują zastosowanie w medycynie i farmacji. Szalwia działa na szerokie spektrum bakterii i grzybów, między innymi na gatunki: *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella infantis*, *Staphylococcus aureus*, *Campylobacter coli*, *Proteus vulgaris*, *Bacillus cereus*, *Aspergillus flavus* oraz drobnoustroje należące do rodzajów *Enterobacter*, *Candida*, *Saccharomyces* i *Fusarium*. Głównymi związkami chemicznymi, odpowiadającymi za powyższe właściwości szalwii, są: α -pinen, eukaliptol (1,8-cineol), borneol, kwas karnozolowy, karnozol oraz kamfora. Są to związki, które wchodzi również w skład olejków eterycznych z szalwii [Dorman i Deans 2000, Marino i in. 2001, Tepe i in. 2004, Hayouni i in. 2008, Kelen i Tepe 2008, Kozłowska i Ścibisz 2011, Generalić Mekinić i in. 2014].

Również oregano, ze względu na swoje właściwości wykrztuśne, rozkurczające i gojące, wykorzystywane jest w medycynie. Jako przyprawa wzbogaca smak zup, jarzyn, pomidorów oraz potraw mięsnych, drobiu, kiełbas i tłustych sosów. Dodawane jest również do pizzy, zapiekanek i spaghetti. Ziele oregano zawiera do 3% olejku eterycznego, którego głównymi składnikami są karwakrol, tymol, p-cymen i γ -terpinen. Związki te wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe w stosunku do bakterii *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli* i *Yersinia enterocolitica* oraz grzybów *Saccharomyces cerevisiae*, *Rhizopus oryzae* i *Aspergillus niger* [Justesen i Knuthsen 2001, Özcan i Erkman 2001, Burt 2004, Busatta i in. 2007, Generalić Mekinić i in. 2014].

Celem pracy było otrzymanie olejków eterycznych z szalwii i oregano, określenie ich składu chemicznego oraz aktywności przeciwdrobnoustrojowej w stosunku do wybranych szczepów bakterii.

MATERIAŁ I METODY

W procesie ekstrakcji olejków eterycznych świeże liście szalwii i oregano rozdrabniało, zalewano wodą i poddawano destylacji w aparacie Derynga do otrzymywania olejków eterycznych firmy Simax [Białecka-Florjańczyk i Włostowska 2007]. Ochłodzony destylat czterokrotnie ekstrahowano chlorkiem metylenu w rozdzielaczu, a następnie usuwano wodę, dodając bezwodny siarczan magnezu. Rozpuszczalnik odparowywano w temperaturze 30°C i pod ciśnieniem 540–560 hPa w wyparce laboratoryjnej z regulowanym ciśnieniem firmy Büchi Labortechnik AG (Flawil, Szwajcaria). Wydajność

procesu wynosiła ok. 30 mg ze 150 g surowca roślinnego. Olejki przechowywano w temperaturze 4°C w butelkach z ciemnego szkła.

W celu oznaczenia i identyfikacji wybranych na podstawie danych literaturowych [Burt 2004, Longaray Delamare i in. 2007, Karabagias i in. 2011] związków lotnych z olejków wykorzystano chromatograf gazowy z detektorem FID (Perkin Elmer, Autosystem XL). Warunki prowadzenia rozdziału były następujące: kolumna HP-5 (30 m × 0,32 mm × 0,25 μm). Jako gaz nośny zastosowano hel (3 cm³·min⁻¹). Próbkę wprowadzano na kolumnę w systemie split (1 : 100). Temperatura iniekcji wynosiła 270°C, natomiast detektora FID – 300°C. W oznaczeniach stosowano następujący program przyrostu temperatury pieca chromatograficznego: temperatura początkowa 35°C·5 min⁻¹, następnie przyrost temperatury 30°C·min⁻¹ do temperatury 60°C, później 6°C·min⁻¹ do 200°C i 30°C·min⁻¹ do uzyskania temperatury 280°C.

Do oznaczenia właściwości przeciwdrobnoustrojowych olejków wykorzystano szczepy bakterii pochodzące z Kolekcji Czystych Kultur Zakładu Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności SGGW: *Micrococcus* sp., *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Tetracoccus* sp., *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Proteus vulgaris* 458, *Proteus mirabilis* 180, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* 196 oraz *Salmonella enteritidis* ATCC 13076. W przypadku każdego szczepu wyznaczano minimalne stężenie hamujące olejków [μl·cm⁻³] (MIC, ang. Minimal Inhibitory Concentration) oraz minimalne stężenie bakterioobójcze olejków [μl·cm⁻³] (MBC, ang. Minimal Bactericidal Concentration). Do powyższych oznaczeń wykorzystywano metodykę zgodną ze standardami NCCLS [Inouye i in. 2001]. W metodzie makrorozcieńczeń wyznaczania MIC stosowano podwójny test szeregowy, w którym do pierwszej próbki zawierającej 2 cm³ płynnego podłoża Mueller-Hinton (Merck, Niemcy) wprowadzano 20 μl olejku eterycznego. Zawartość pierwszej próbki dokładnie mieszano i przenoszono 2 cm³ podłoża wraz z olejkami do kolejnej próbki. Otrzymywano w ten sposób szeregi o malejącym stężeniu olejków eterycznych z szałwii i oregano. Do dalszych badań wykorzystywano 24-godzinne hodowle bakterii w płynnym bulionie wzbogaconym (BTL, Polska). Liczebność używanego inokulum bakteryjnego wynosiła 1,0 · 10⁷ jtk·cm⁻³. Przygotowywano również próbę kontrolną, którą była hodowla drobnoustrojów bez olejków eterycznych. Zaszczepione inokulum bakteryjnym szeregi z olejkami oraz próbę kontrolną inkubowano w temperaturze 37 ± 1°C przez 20–24 godziny. Wartość MIC wyznaczało najmniejsze stężenie olejków, przy którym nie obserwowano wizualnie wzrostu (zmętnienia podłoża) badanego szczepu bakterii, a jednocześnie poprzedzało stężenie, w którym wzrost był widoczny. Powyższe oznaczenia wykonywano w czterech powtórzeniach.

Aktywność przeciwdrobnoustrojową olejków wyznaczano również metodą krążkowo-dyfuzyjną. Szczepy bakteryjne z 24-godzinnych hodowli o liczebności 1,0 · 10⁵ jtk·cm⁻³ wysiewano w głębieniu w ilości 0,1 cm³ na płytce Petriego i zalewano podłożem Mueller-Hinton (Merck, Niemcy). Po zestaleniu się podłoża, na jego powierzchni umieszczano 4 jałowe krążki z bibuły o średnicy 6 mm. Na 3 krążki nanoszono po 10 μl olejku, a na czwarty, który stanowił próbę kontrolną, nanoszono chlorek metylenu. Płytki inkubowano w temperaturze 37 ± 1°C przez 24 godziny. Strefy zahamowania wzrostu bakterii mierzone za pomocą suwmiarki. Wyniki podawano, po odjęciu średnicy krążka oraz strefy zahamowania wzrostu dla próby kontrolnej, w milimetrach [Kraśniewska i in. 2010]. Oznaczenie to wykonano w 12 powtórzeniach.

Analiza statystyczna

Analizę statystyczną uzyskanych podczas wyznaczania MIC i MBC wyników przeprowadzono z wykorzystaniem pakietu Microsoft Excel 2010, obliczając wartość średnią oraz odchylenie standardowe.

WYNIKI I Dyskusja

Zarówno olejek z szalwii, jak i olejek z oregano zawierały te same związki chemiczne, ale w innych ilościach (tab. 1). Większość związków zidentyfikowanych w olejkach z szalwii i oregano należała do grupy monoterpenu. Olejek eteryczny z szalwii charakteryzował się największym udziałem kamfory ($11,62 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), linalolu ($6,82 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), R(+) limonenu ($4,03 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$) i karwakrolu ($2,18 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$). W olejku z oregano karwakrolu było blisko trzysta razy więcej ($644,89 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$). Oznaczono również dużą ilość 1,4-cyneolu ($1,36 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$) i γ -terpinenu ($1,35 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$).

Adaszyńska i inni [2013] podają, że wiele związków czynnych jest tracona w czasie pozyskiwania olejków w wyniku odparowywania rozpuszczalnika pod ciśnieniem oraz w wyniku różnicy rozpuszczalności ekstrahowanych związków. Skład olejków jest

Tabela 1. Skład chemiczny olejków eterycznych z szalwii i oregano [$\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$]

Table 1. Chemical composition of essential oils from sage and oregano [$\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$]

Związek chemiczny Chemical compound	Czas retencji Retention time [min]	Olejek z szalwii Sage oil	Olejek z oregano Oregano oil
		Stężenie – Concentration [$\text{mg}\cdot\text{cm}^{-3}$]	
α -pinen – α -pinene	7,88	0,04	0,04
β -pinen – β -pinene	8,79	0,02	0,22
mircen – myrcene	9,21	0,03	0,35
1,4-cyneol – 1,4-cineole	9,72	0,04	1,36
p-cymen – p-cymene	9,92	0,07	0,26
R(+) limonen – R(+) limonene	10,13	4,03	0,06
γ -terpinen – γ -terpinene	10,71	0,22	1,35
linalol – linalol	11,70	6,82	0,52
kamfora – camphor	12,26	11,62	0,32
borneol – borneol	13,15	0,45	0,31
karwon – carvone	14,93	0,11	0,37
bergamol – bergamol	15,23	0,13	0,06
tymol – thymol	15,99	0,21	0,90
karwakrol – carvacrol	16,20	2,18	644,89
eugenol – eugenol	17,42	0,34	0,14
β -kariofilen β -caryophyllene	18,73	0,04	0,80

również warunkowany czynnikami środowiskowymi, m.in. pochodzeniem i wiekiem rośliny oraz nasłonecznieniem. Według Longaray Delamare i innych [2007], głównymi składnikami szałwii odpowiedzialnymi za jej przeciwdrobnoustrojowe działanie są monoterpény: α -tujon, 1,8-cineol i kamfora. Wielu autorów [Lambert i in. 2001, Baydar i in. 2004, Preuss i in. 2005] podaje, że za hamowanie wzrostu drobnoustrojów takich jak *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Helicobacter pylori* czy *Mycobacterium terrae* odpowiadają związki fenolowe zawarte w oregano: karwakrol, tymol, γ -terpinen i p-cymen. Powodują one uszkodzenie błony komórkowej bakterii, a przez to zachwianie jej integralności i wyciek ważnych składników wewnątrzkomórkowych.

Olejek z szałwii w badanym stężeniu wykazał działanie hamujące (MIC) wzrost analizowanych bakterii Gram-dodatnich, z kolei wśród bakterii Gram-ujemnych wrażliwe na jego działanie były jedynie bakterie z rodzaju *Proteus* (tab. 2). Jego działanie bakteriobójcze (MBC) stwierdzono jedynie w przypadku Gram-dodatnich ziarniaków: *Micrococcus* sp., *Tetracoccus* sp. i *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Olejek z oregano, w porównaniu z olejkiem z szałwii, wykazał się silniejszym działaniem hamującym wzrost badanych bakterii, ponieważ wszystkie drobnoustroje testowe były wrażliwe na jego działanie. Wartości MIC olejku z oregano wyznaczone dla bakterii Gram-dodatnich były porównywalne z wartościami wyznaczonymi dla bakterii Gram-ujemnych. Najwyższą wartość MIC dla tego olejku ($1,25 \mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$) stwierdzono w przypadku bakterii *Escherichia coli* ATCC 25922, co świadczy o oporności tego szczepu na działanie aktywnych składników zawartych w olejku z oregano.

Wyniki badań dotyczących wyznaczania wartości MIC olejków eterycznych są bardzo zróżnicowane. Marino i inni [2001] badali aktywność olejków eterycznych

Tabela 2. Wartości MIC oraz MBC olejków z szałwii i oregano dla wybranych bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych [$\mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$]

Table 2. The values of MIC and MBC oils of sage and oregano for selected Gram-positive and Gram-negative bacteria [$\mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$]

Szczep bakterii Strain of bacteria	Olejek z szałwii Sage oil		Olejek z oregano Oregano oil	
	MIC	MBC	MIC	MBC
	[$\mu\text{l}\cdot\text{cm}^{-3}$]			
<i>Micrococcus</i> sp.	20	20	0,156	0,625
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	20	> 20	0,156	1,250
<i>Tetracoccus</i> sp.	20	20	0,625	1,250
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	20	> 20	0,625	1,250
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	20	20	0,625	1,250
<i>Proteus vulgaris</i> 458	20	> 20	0,156	0,156
<i>Proteus mirabilis</i> 180	20	> 20	0,156	0,156
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	> 20	> 20	1,250	1,250
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 196	> 20	> 20	0,625	0,625
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	> 20	> 20	0,625	0,625

z szaławii wobec bakterii: *Escherichia coli*, *Escherichia coli* O157:H7, *Proteus mirabilis*, *Proteus vulgaris*, *Micrococcus* sp., *Staphylococcus aureus*, *Bacillus licheniformis*, *Bacillus thuringiensis* i *Listeria innocua*. Autorzy podają, że w stężeniu 800 ppm olejek eteryczny z szaławii działał bakteriostatycznie wobec wszystkich badanych szczepów. Największą wrażliwością charakteryzowały się bakterie *Micrococcus* sp. i *Escherichia coli* O157:H7. Autorzy podali również, że bakterie Gram-dodatnie są bardziej wrażliwe na działanie olejku eterycznego niż bakterie Gram-ujemne. Tepe i inni [2004] wyznaczyli wartość MIC olejku eterycznego z *Origanum syriacum* w stosunku do bakterii *Klebsiella pneumoniae*, która wynosiła $1,12 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$. Busatta i inni [2007] wyznaczyli MIC dla bakterii *Escherichia coli* równy $0,460 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$, a według Nedorostova i innych [2009] wartość MIC olejku z *Origanum vulgare* wobec bakterii *Salmonella enteritidis* wynosiła $0,13 \mu\text{g}\cdot\text{cm}^{-3}$. Zaouali i inni [2010] wykazali, że Gram-ujemne pałeczki *Klebsiella pneumoniae* były wrażliwe na działanie olejków eterycznych zawierających duże ilości borneolu, a Gram-dodatnie ziarniaki *Staphylococcus aureus* na formy bogate w α -pinen.

Aktywność przeciwdrobnoustrojową olejków z szaławii i oregano potwierdzono w badaniach prowadzonych z wykorzystaniem metody krążkowo-dyfuzyjnej (tab. 3). Wielkość stref zahamowania wzrostu w przypadku olejku z szaławii zawierała się w granicach od 6,9 (*Bacillus subtilis* ATCC 6633) do 8,8 mm (*Micrococcus* sp.). Nie stwierdzono wyraźnych różnic w wielkości stref zahamowania wzrostu będących efektem działania olejku z szaławii między bakteriami Gram-dodatnimi i Gram-ujemnymi. W przypadku olejku z oregano strefy zahamowania wzrostu były co najmniej trzykrotnie większe – najmniejszą średnicę zahamowania wzrostu wyznaczono dla szczepu *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (17,6 mm), a największą (42,8 mm) w przypadku bakterii *Tetracoccus* sp.

Wyniki dotyczące aktywności przeciwdrobnoustrojowej olejku z szaławii otrzymane w niniejszej pracy nie znalazły potwierdzenia w literaturze. Zdaniem Hayouni i innych

Tabela 3. Strefy zahamowania wzrostu drobnoustrojów [mm] (wartości średnie i odchylenia – SD)
Table 3. Inhibition zones of microorganism growth [mm] (means and standard deviation – SD)

Szczep bakterii Strain of bacteria	Olejek z szaławii Sage oil	Olejek z oregano Oregano oil
	[mm] \pm SD	
<i>Micrococcus</i> sp.	8,8 \pm 0,3	41,3 \pm 0,2
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	6,9 \pm 0,5	26,7 \pm 0,3
<i>Tetracoccus</i> sp.	7,2 \pm 0,1	42,8 \pm 0,7
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	7,4 \pm 0,6	28,6 \pm 0,5
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	7,7 \pm 0,4	17,6 \pm 0,3
<i>Proteus vulgaris</i> 458	7,9 \pm 0,3	27,9 \pm 0,4
<i>Proteus mirabilis</i> 180	8,6 \pm 0,5	39,5 \pm 0,5
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	7,5 \pm 0,7	28,3 \pm 0,6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> 196	8,2 \pm 0,3	35,7 \pm 0,3
<i>Salmonella enteritidis</i> ATCC 13076	7,6 \pm 0,2	34,0 \pm 0,5

[2008], średnica strefy zahamowania wzrostu bakterii *Escherichia coli* w przypadku zastosowania 20 µl olejku eterycznego z *Salvia officinalis* wyniosła 14 mm. Dorman i Deans [2000], stosując 15 µl olejku eterycznego z oregano otrzymali strefy zahamowania wzrostu bakterii *Proteus vulgaris* o średnicy 40,6 mm. Według Kivrak i innych [2009], którzy sprawdzali aktywność olejku eterycznego i ekstraktu alkoholowego uzyskanego z *Salvia potentillifolia*, największe strefy zahamowania wzrostu dla obu form wyciągu uzyskano w przypadku szczepu z gatunku *Bacillus subtilis* (20–22 mm). Odnotowano również zahamowanie wzrostu drobnoustrojów takich jak: *Klebsiella pneumoniae* (10–18 mm), *Staphylococcus aureus* (15–20 mm), *Proteus vulgaris* (12–16 mm), *Salmonella enteritidis* (8–14 mm) i *Escherichia coli* (10–12 mm). Z kolei Souza i inni [2006], nanosząc na krążki 20 µl olejku eterycznego z *Origanum vulgare* otrzymali strefy zahamowania wzrostu bakterii *Klebsiella pneumoniae* o średnicy 34 mm. W doświadczeniu Kelen i Tepe [2008] najbardziej aktywne wobec bakterii *Escherichia coli* były wyciągi uzyskane z *Salvia aramiensis* i *S. aucheri* var. *aucheri* – strefy zahamowania wzrostu wynosiły odpowiednio 11,0 i 12,0 mm. Prawdopodobnie największy wpływ na aktywność przeciwdrobnoustrojową olejków eterycznych używanych w niniejszym doświadczeniu mógł mieć użyty surowiec, efektywność procesów otrzymania olejków, a także zawartość składników aktywnych o działaniu antybakteryjnym wobec badanych szczepów.

WNIOSKI

1. Olejki eteryczne z szałwii i oregano odznaczały się aktywnością przeciwdrobnoustrojową względem większości użytych w doświadczeniu bakterii. Było to spowodowane zawartością w olejkach związków takich jak karwakrol, kamfora, linalol, R(+) limonen, 1,4-cyneol i γ -terpinen.

2. Bakterie Gram-dodatnie były bardziej wrażliwe niż bakterie Gram-ujemne na działanie olejków z szałwii i oregano. Wśród bakterii Gram-dodatnich szczepem najbardziej wrażliwym na ich działanie okazał się *Tetracoccus* sp., a wśród bakterii Gram-ujemnych – *Proteus mirabilis* 180 oraz *Proteus vulgaris* 458.

3. Najsilniejsze działanie hamujące oraz bakteriobójcze (najniższe wartości MIC oraz MBC) w stosunku do większości badanych bakterii wykazywał olejek z oregano. Można wnioskować, że jest on źródłem substancji aktywnych, które hamują wzrost i rozwój wybranych szczepów bakterii.

4. Uzyskane wyniki wskazują, że olejki eteryczne z szałwii i oregano mogą być skutecznymi środkami konserwującymi, wykorzystywanymi do utrwalania produktów spożywczych.

SPIS LITERATURY

Adaszyńska M., Swarczewicz M., Markowska-Szczupak A., Jadczyk D., 2013. Skład chemiczny i właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejku eterycznego i ekstraktu z mięty pieprzowej odmiany Asia. *Żywność. Nauka. Technologia. Jakość* 2 (87), 116–125.

- Baydar H., Sađdic O., Özkan G., Karadoğan T., 2004. Antibacterial activity and composition of essential oils from *Origanum*, *Thymbra* and *Satureja* species with commercial importance in Turkey. *Food Cont.* 15 (3), 169–172.
- Białecka-Florjańczyk W., Włostowska J. (red.), 2007. Ćwiczenia laboratoryjne z chemii organicznej. Wydawnictwo SGGW, Warszawa, 34–36.
- Burt S., 2004. Essential oils, their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* 94, 223–253.
- Busatta C., Mossi A.J., Rodrigues M.R.A., Cansian R.L., de Oliveira J.V., 2007. Evaluation of *Origanum vulgare* essential oil as antimicrobial agent in sausage. *Braz. J. Microbiol.* 38, 610–616.
- Dorman H.J.D., Deans S.G., 2000. Antimicrobial agents from plants, antibacterial activity of plant volatile oils. *J. Applied Microbiol.* 88, 308–316.
- Fasseas M.K., Mountzouris K.C., Tarantilis P.A., Polissiou M., Zervas G., 2007. Antioxidant activity in meat treated with oregano and sage essential oils. *Food Chem.* 106, 1188–1194.
- Generalić Mekinić I., Skroza D., Ljubenković I., Šimat V., Možina S.S., Katalinić V., 2014. In vitro antioxidant and antibacterial activity of Lamiaceae phenolic extracts: a correlation study. *Food Technol. Biotechnol.* 52 (1), 119–127.
- Góra J., Lis A., 2012. Najcenniejsze olejki eteryczne. Cz. I. Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej, Łódź, 271–283.
- Hayouni E.I.A., Chraïef I., Abedrabba M., Bouix M., Leveau J.Y., Mohammed H., Hamdi M., 2008. Tunisian *Salvia officinalis* L. and *Schinus molle* L. essentials oils: their chemical composition and their preservative effects against *Salmonella* inoculated in minced beef meat. *Int. J. Food Microbiol.* 2008, 125, 242–251.
- Inouye S., Yamaguchi H., Takizawa T., 2001. Screening of the antibacterial effects of a variety of essential oils on respiratory tract pathogens, using the modified dilution assay method. *J. Inf. Chemother.* 7 (11), 251–254.
- Justesen U., Knuthsen P., 2001. Composition of flavonoids in fresh herbs and calculation of flavonoid intake by use of herbs in traditional Danish dishes. *Food Chem.* 73, 245–250.
- Karabagias I., Badeka A., Kontominas M.G., 2011. Shelf life extension of lamb meat using thyme or oregano essential oils and modified atmosphere packaging. *Meat Sci.* 88, 109–118.
- Kelen M., Tepe B., 2008. Chemical composition, antioxidant and antimicrobial properties of the essential oils of three *Salvia species* from Turkish flora. *Bioresource Technol.* 99 (10), 4096–4100.
- Kivrak I., Duru M.E., Ozturk M., Mercan N., Harmandar M., Topcu G., 2009. Antioxidant, anticholinesterase and antimicrobial constituents from the essential oil and ethanol extract of *Salvia potentillifolia*. *Food Chem.* 116 (2), 470–479.
- Kozłowska M., Ścibisz I., 2011. Właściwości przeciwutleniające oraz zawartość związków fenolowych w ekstraktach przypraw i ziół z rodziny *Lamiaceae*. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 558, 131–140.
- Kraśniewska K., Gniewosz M., Bączek K., 2010. Przeciwbakteryjne właściwości filmów pullulanowych z dodatkiem ekstraktów z wiązówki błotnej (*Filipendula almaria*). *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 553, 139–145.
- Lambert R.J.W., Skandamis P.N., Coote P.J., Nychas G.J.E., 2001. A study of the minimum inhibitory concentration and mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. *J. Applied Microbiol.* 91 (3), 453–462.
- Longaray Delamare A.P., Moschen-Pistorello I.T., Artico L., Atti-Serafini L., Echeverrigaray S., 2007. Antibacterial activity of the essential oils of *Salvia officinalis* L. and *Salvia triloba* L. cultivated in South Brazil. *Food Chem.* 100, 603–608.

- Marino M., Bersani C., Comi G., 2001. Impedance measurements to study the antimicrobial activity of essential oil from *Lamiaceae* and *Compositae*. *Int. J. Food Microbiol.* 67 (3), 187–195.
- Nedorostova L., Kloucek P., Kokoska L., Stolcova M., Pulkrabek J., 2009. Antimicrobial properties of selected essential oils in vapour phase against foodborne bacteria. *Food Cont.* 20, 157–160.
- Özkan M., Erkman O., 2001. Antimicrobial activity of the essential oils of Turkish plant spices. *Eur. Food Res. Technol.* 212 (6), 658–660.
- Preuss H.G., Echard B., Enig M., Brook I., Elliott T.B., 2005. Minimum inhibitory concentrations of herbal essential oils and monolaurin for gram-positive and gram-negative bacteria. *Mol. Cel. Biochem.* 272 (1–2), 29–34.
- Souza E.L., Montenegro Stamford T.L., de Oliveira Lima E., 2006. Sensitivity of spoiling and pathogen food-related bacteria to *Origanum vulgare* L. (*Lamiaceae*) essential oil. *Braz. J. Microbiol.* 37, 527–532.
- Tepe B., Donmez E., Unlu M., Candan F., Daferera D., Vardar-Unlu G., Polissiou M., Sokmen A., 2004. Antimicrobial and antioxidative activities of the essential oils and methanol extracts of *Salvia cryptantha* (Montbret et Aucher ex Benth) and *Salvia multicaulis* (Vahl). *Food Chem.* 84, 519–525.
- Wroniak M., Ratusz K., 2011. Wpływ dodatku oleożywic rozmarynu i oregano na zmiany oksydacyjne olejów tłoczonych na zimno w teście termostatowym. *Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczych* 558, 301–309.
- Zaouali Y., Bouzaine T., Boussaid M., 2010. Essential oils composition in two *Rosmarinus officinalis* L. varieties and incidence for antimicrobial and antioxidant activities. *Food Chem. Toxicol.* 48 (11), 3144–3152.

COMPARISON OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SAGE (*SALVIA OFFICINALIS* L.) AND OREGANO (*ORIGANUM VULGARE* L.) ESSENTIAL OILS

Summary. In the recent years, many studies on the effectiveness of activity and possibilities of application of different types of herbs have been conducted using: fragments of dried plants, water and alcoholic extracts and essential oils for food. The aim of this study was to obtain essential oils of sage and oregano, to determine their chemical composition and antimicrobial activity against selected strains of bacteria. Essential oils were investigated for activity against *Micrococcus* sp., *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Tetracoccus* sp., *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Proteus vulgaris* 458, *Proteus mirabilis* 180, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* 196 and *Salmonella enteritidis* ATCC 13076. The essential oils were produced by steam distillation using a Deryng apparatus. To evaluate the antimicrobial activity of essential oils used to define a minimal inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of oils. Also determined zones of inhibition by disk-diffusion method. Both of essential oils (sage and oregano) contain the same compounds but in different amounts. Most of the compounds identified in the oils belonged to the group of monoterpenes. Oregano oil characterized by the highest content of carvacrol ($644.89 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), 1,4-cineole ($1.36 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$) and γ -terpinene ($1.35 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), while oil of sage – camphor ($11.62 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), linalol ($6.82 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$), R(+) limonene ($4.03 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$) and carvacrol ($2.18 \text{ mg}\cdot\text{cm}^{-3}$). MIC values

of essential oil of oregano determined for Gram-positive bacteria were comparable with the values assigned to the Gram-negative bacteria. Oregano essential oil was more effective in inhibiting the growth of microorganisms as compared to the essential oil of sage because all the microorganisms were sensitive to its effects. This was also confirmed by the disk-diffusion method, which was obtained three times more zone of microorganisms inhibition by the action oil of oregano. The size of the zones of growth inhibition of sage essential oil contained in the range from 6.9 (*Bacillus subtilis* ATCC 6633) to 8.8 mm (*Micrococcus* sp.). For essential oil of oregano zones of inhibition were at least three times – the smallest diameter of growth inhibition was determined for strain *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 (17.6 mm) and the highest (42.8 mm) – for bacteria *Tetracoccus* sp. It can be concluded that the essential oil of oregano is a source of active substances which inhibits the growth and development of selected strains of bacteria.

Key words: sage, oregano, essential oils, MIC, MBC