

UDK 004/.007+3+5+6(05)

ISSN 0352-6542

UNIVERZITET U NIŠU
TEHNOLOŠKI FAKULTET U LESKOVCU

**Zbornik radova
Tehnološkog fakulteta
u Leskovcu**

20

Leskovac, 2011

ANTIMIKROBNA AKTIVNOST ETANOLNIH EKSTRAKATA PARADAJZA I PAPRIKE*

Radoš Pavlović¹, Jelena Mladenović¹, Blaga Radovanović²,
Gordana Aćamović-Đoković¹, Jasmina Zdravković³, Milan Zdravković³

¹ Agronomski fakultet, Univerzitet u Kragujevcu, Čačak, Srbija

² Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet u Nišu, Niš, Srbija

³ Institut za povtarstvo, Smederevska Palanka, Srbija

Plodovi paradajza (*Lycopersicon esculentum Mill.*) i paprike (*Capsicum annum L.*) ne samo da imaju hranljivu i dijetetsku ulogu već imaju široki profilaktički značaj u organizmu.

Antimikrobnja aktivnost etanolnih ekstrakata paradajza i paprike je određena disk difuzionom i mikrodilucionom metodom. Etanolni ekstrakti paprike i paradajza su pokazali prema *Salmonela enteritidis* slično antibakterijsko dejstvo (prečnik zone inhibicije rasta kod paradajza je 28 mm, a kod paprike 29 mm, dok je prema *Staphilococcus aureus* ekstrakt paradajza (27 mm) pokazao veću aktivnost nego ekstrakt paprike (21 mm). Veće inhibitorno dejstvo prema *Escherichia coli* je pokazao ekstrakt paradajza (24 mm) u odnosu na ekstrakt paprike (17 mm). Kao test mikroorganizmi korišćene su čiste kulture: *Staphilococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC13315, *Salmonela enteritidis* (D) ATCC 13076, *Bacillus suptilis* ATCC6633, *Candida albicans* ATCC10231, *Aspergillus niger* ATCC16404. Mikrodilucionom metodom određene su minimalne inhibitorne koncentracije (MIC). Upoređeno je i antimikrobro delovanje ekstrakta sa referentnim antibiotikom amracinom za bakterije i antimikotikom nistatinom za gljive. Cilj rada je utvrditi mogućnost primene ovih ekstrakata kao konzervanasa u industriji hrane. Dobijeni rezultati pokazuju da ekstrakti paradajza i paprike ispoljavaju značajnu antimikrobnu aktivnost.

Ključne reči: paradajz, paprika, ekstrakt, antimikrobnja aktivnost.

* Rad saopšten na IX Simpozijumu "Savremene tehnologije i privredni razvoj", Leskovac, 21. i 22. oktobar 2011. godine

Adresa autora: Jelena Mladenović, Agronomski fakultet, Univerzitet u Kragujevcu,
Cara Dušana 34, 32000 Čačak, Srbija
E-mail: jelenaml@tfc.kg.ac.rs

UVOD

Mikroorganizmi dovode do čestog kvarenja hrane tako da je njihovo prisustvo jedan od najvećih problema sa kojim se susrećemo. Mnogi mikroorganizmi, kao što su *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes*, su uzročnici kvarenja hrane i bolesti prenesenih konzumiranjem inficiranih životnih namirnica [1]. Iz tog razloga nužno je koristiti hemijske konzervante kao preventivnu meru za rast mikroba u procesu proizvodnje hrane. Međutim, danas se poklanja sve veća pažnja primeni prirodnih agenasa izolovanih iz biljaka koji imaju ulogu konzervanasa. Kao značajni prirodni antimikrobni agensi za ove svrhe posebno se ističu ekstrakti iz povrća. Paradajz je značajan zbog sadržaja ugljenih hidrata (glukoza i fruktoza), organskih kiselina, vitamina C i visokog sadržaja vitamina K, a istovremeno male kalorijske vrednosti. Plodove paprike odlikuje sadržaj ugljenih hidrata (najviše glukoze), jabučne i limunske kiseline i bojenih materija karotenoida, a posebno se ističe sadržaj vitamina C.

Značajan deo ispitivanja bio je usmeren ka razmatranju tendencije konzervisanja hrane ekstraktima plodova paradajza i paprike kao mogućim prirodnim konzervansima u budućnosti, što je bio glavni cilj istraživanja u ovom radu.

EKSPERIMENTALNI DEO

Biljni materijal. Za potrebe ovih istraživanja paradajz i paprika uzbunjani su u potećnom ciklusu gajenja u zaštićenim prostorima tipa visokih plastenika, bez dopunskog zagrevanja u mestu Trbušani kod Čačka i ubrani u fazi fiziološke zrelosti. Kod paradajza je korišćen hibrid *Nada* visokog tipa rasta, a kod paprike sorte *Palanačko čudo* tipa šilje-kapije, selekcionisanih u Institutu za povrtarstvo iz Smederevske Palanke.

Ekstrakcija. Zreli plodovi paradajza i paprike su usitnjeni, osušeni i samleveni. Biljni materijali (30 g) je ekstrahovan sa po 300 cm^3 50 % etanola 24h na sobnoj temperaturi. Ekstrakti paradajza (E_1) i paprike (E_2) su dobijeni filtriranjem na Bihner-ovom levku, a zatim upareni do suva na rotacionom vakuum uparivaču na 40°C .

Mikrobiološka ispitivanja. U cilju određivanja antimikrobne aktivnosti ekstrakta kao test mikroorganizmi korišćene su čiste kulture dobijene iz Instituta za virusologiju i bakteriologiju „Toričić“ Beograd: *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonella enteritidis*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*. Za određivanje minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) dobijenih ekstrakta korišćene su sledeće podloge, za bakterije Mueller-Hintonova tečna, za gljive Sabouraud- dekstrozna tečna [2].

Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) ekstrakta se određuje mikrodilucionom metodom u mikrodilucionim pločama [4]. Mikrodilucione ploče sadrže 96 jamica (12 kolona i 8 vrsta). Zapremina od $100 \mu\text{l}$ ekstrakata E_1 i E_2 je odpipetirana u prvi red ploča. U sve ostale jamice je dodato $50 \mu\text{l}$ Mueller-Hinton odnosno Sabouraudovog

dekstroznog agara. Radi se dvostruko razblaženje u svakoj vrsti mikrotitar pločice [5]. Potom u svaku jamicu se doda 10 µl rastvora resazurin indikatora (270 mg tableta /40 µl sterilne destilovane vode). Standardni antibiotik amracin je korišćen za kontrolu osetljivosti ispitivanih bakterija, dok je nistatin korišćen kao kontrola za osetljivost testiranih gljivica. Zatim su pločice inkubirane na 37 °C u trajanju od 24 h [6]. Nakon završene inkubacije utvrđuje se minimalna inhibitorna koncentracija, vizuelno na osnovu boje. Svaka promena boje iz ljubičaste u roze ili bezbojnu ocenjuje se kao pozitivna [7,8]. Najniža koncentracija pri kojoj je došlo do promene boje se uzima za MIC vrednost [9]. Rade se tri merenja, a potom se određuje srednja vrednost za MIC. Za disk difuzionu metodu kao podloge su korišćene Chapman-ova i endo-agar (EA), a kao referentni antibiotik korišćen je chloramphenicol. Zone inhibicije rasta mikroba merene su posle 24 h [10].

REZULTATI I DISKUSIJA

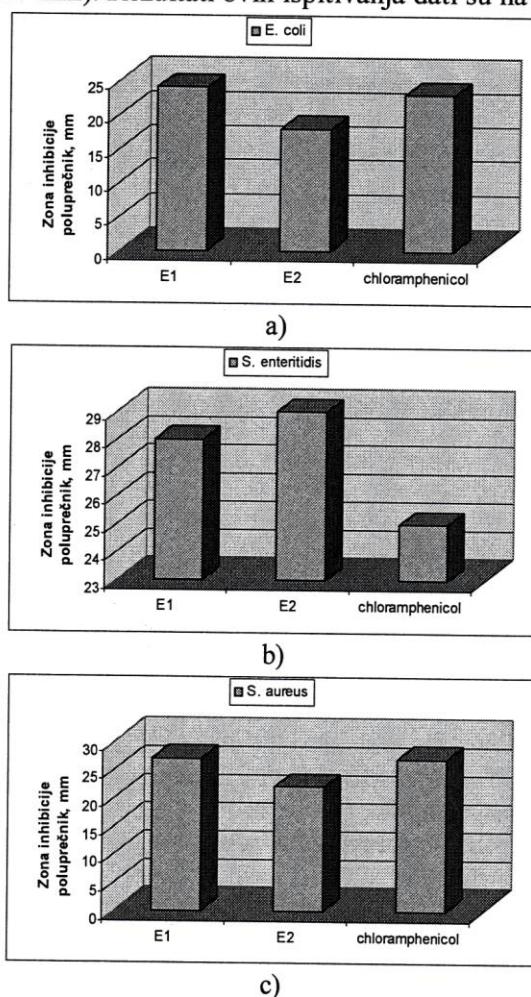
U tabeli 1 dati su rezultati ispitivanja MIC etanolnih ekstrakata paradajza (E₁), paprike (E₂), standarrdnog antibiotika, amracina (A) i antimikotika, nistatina (N) za testirane bakterije i gljive.

Tabela 1. Minimalna inhibitorna koncentracija (MIC) ekstrakata paradajza (E₁), paprike (E₂) standardnog antibiotika, amracina (A) i antimikotika, nistatina (N) za ispitivane mikrobe.

Mikroorganizmi	MIC µg/ml			
	E ₁	E ₂	A	N
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	156,25	39,1	0,97	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	312,5	78,125	0,49	/
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	312,5	78,125	0,97	/
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	78,125	156,25	0,49	/
<i>Salmonela enteritidis</i> (D) ATCC 13076	78,125	78,125	0,49	/
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	156,25	39,1	0,24	/
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	156,25	78,125	/	1,95
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	39,1	19,53	/	0,97

Na osnovu rezultata može se uočiti da etanolni ekstrakti paradajza (E_1) i paprike (E_2) inhibiraju rast obe vrste gljivica i svih ispitivanih bakterija. Postoje razlike u MIC koncentracijama na istim sojevima između ekstrakata E_1 i E_2 . Ekstrakt E_1 najefikasnije deluje na *Aspergillus niger* (MIC, $39,10 \text{ mg/cm}^3$), dok ekstrakt E_2 najefikasnije deluje na *Aspergillus niger* (MIC $19,53 \mu\text{g/ml}$) i na sojeve *Bacillus subtilis* i *Staphylococcus aureus* (MIC $39,1 \mu\text{g/ml}$).

Antimikrobne aktivnosti ekstrakta plodova paprike i paradajza su pokazali prema *Salmonela enteritidis* slično antibakterijsko dejstvo (prečnik zone inhibicije rasta mikroba kod paradajza je 28 mm, a kod paprike 29 mm). Prema *Staphylococcus aureus* ekstrakt paradajza je pokazao veću aktivnost (zona inhibicije rasta mikroba je 27 mm) nego ekstrakt paprike (zona inhibicije rasta mikroba je 21 mm). Veće inhibitorno dejstvo prema *Escherichia coli* je takođe pokazao ekstrakt paradajza (24 mm) u odnosu na ekstrakt paprike (17 mm). Rezultati ovih ispitivanja dati su na slici 1 a, b i c.



Slika 1. Antimikrobna aktivnost ekstrakta paradajza (E_1), paprike (E_2) i standardnog antibiotika chloramphenikola određena disk difuzionom metodom na a) *Escherichia coli* b) *Salmonela enteritidis* i c) *Staphylococcus aureus*

ZAKLJUČAK

Najvažniji rezultat i zaključak ovih ispitivanja je da ekstrakti plodova paradajza, E₁ i paprike, E₂ pokazuju izraženu antimikrobnu aktivnost na testirane mikrobe. Ispitani ekstrakti mogu se koristiti u prehrabenoj industriji kao konzervansi jer štite proizvod od razvoja mikroorganizama kao uzročnika kvarenja. Takođe imaju i brojne biološke i farmakološke prednosti, što dodatno opravdava njihovu primenu i praktični značaj.

Zahvalnica

Ovaj rad je deo istraživanja projekta TR 31059 koji finansira Ministarstvo prosvete i nauke Republike Srbije .

Literatura

- [1] O. Stark, Clinical laboratory analysis, Belgrade, Serbia, 1969.
- [2] F. Gaedcke, St. John, Medicinal and Aromatic Plants-Industrial Profiles (2003), 49-64.
- [3] A. B. Silva, F. Ferreres, J. O. Malva, Food Chem. 90 (2005) 157-167.
- [4] A. Singh , Eur J Clin Pharmacol. 62 (2006) 225-33.
- [5] M. A. Couceiro, F. Afreen, Plant Sci. 170 (2006) 128-134.
- [6] J. Reichling, A. Weseler, R. Saller, Pharmacopsychiatry 31 (2001) 116-118.
- [7] G. E. Meral, N. U. Karabay, J.Biotechn. (2002) 6-10.
- [8] G. Fenaroli, Aromatizzazione, Pirola, Milan, 1985.
- [9] Duh, P.D., and Yed, G.C, Food Chem. 60 (1997) 639-645.
- [10] M. Fernández, M. Garcia, M. Sáenz, J. Ethnopharmacol. 53 (1996), 11–14.

SUMMARY

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF TOMATO AND PEPPER ETHANOL EXTRACTS

(Original scientific paper)

Radoš Pavlović¹, Jelena Mladenović¹, Blaga Radovanović²,

Gordana Čamović-Đoković¹, Jasmina Zdravković³, Milan Zdravković³

¹ Faculty of Agronomy, University of Kragujevac, Cacak, Serbia

² Faculty of Science, University of Niš, Niš, Serbia

³ Institute of Vegetable Crops, Smederevska Palanka, Srbija

Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and pepper (*Capsicum annuum* L.) are not only nutritious and dietetic products, but they also have a wider significance for the organism as prophylactics. The antimicrobial activity has been determined by the disc-diffusion method for the strains of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Salmonella enteritidis*(D) ATCC 13076 and *Escherichia coli* ATCC 25922. Tomato and pepper extracts have produced a similar antibacterial effect on *Salmonela enteritidis* (The

inhibition zone diameter of tomato and pepper is 28 and 29 mm) whereas in the case of *Staphilococcus aureus*, tomato extract (27 mm) has demonstrated a greater activity than pepper extract (21 mm). A greater inhibitory effect towards *Escherichia coli* has been produced by tomato extract (24 mm) in comparison to pepper extract (17 mm). The inhibition zone diameters have been compared with the reference antibiotic chloramphenicol and their value is 23 mm for *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and 27 mm for *Salmonela enteritidis*. MIC µg/ml of papper extract for *Staphylococcus aureus* 78.125; *Salmonela enteritidis(D)* is 39.1; *Escherichia coli* is 78.125. MIC µg/ml of tomato extract *Staphylococcus aureus* 156.25; *Salmonela enteritidis(D)* is 19.53; *Escherichia coli* is 78.125.

To determine the antimicrobial activity of the extract as the test organisms, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC 13315, *Salmonella enteritidis (D)* ATCC 13076, *Bacillus suptilis* ATCC 6633, *Candida albicans* ATCC 10231, *Aspergillus niger* ATCC 16404. Antimicrobial activity was determined and microdilution method. The extracts possess significant antimicrobial activity.

Key words: tomato, papper, extract, antimicrobial activity.

Primljen / Received: 20. maj 2011. godine

Prihvaćen / Accepted: 15. jun 2011. godine