

Izabela Steinka

BIOSTATYCZNE WŁAŚCIWOŚCI HERBAT WIELOSKŁADNIKOWYCH

Zakład Higieny Żywności, Katedra Żywienia Klinicznego
Gdański Uniwersytet Medyczny
Kierownik: Prof. dr hab. *I. Steinka*

*Celem badań była ocena właściwości bakteriostatycznych wieloskładnikowych herbat smakowych w stosunku do *Staphylococcus aureus*. Badania prowadzono w układzie modelowym stosując 1% wodnych naparów i inokulum gronkowców od 6,2-7,43 jtk/g. Wyniki badań wykazały różnicowane zdolności wodnych naparów mieszanin herbat w zależności od rodzaju i stężenia podstawowych i dodatkowych składników. Trójskładnikowe i wieloskładnikowe mieszaniny wykazywały porównywalne zdolności hamujące do obserwowanych w przypadku naparów herbat zielonych.*

Hasła kluczowe: biostatyka, mieszaniny herbat, napary wodne, *Staphylococcus aureus*

Key words: biostatic, tea mixture, water infusion, *Staphylococcus aureus*

Grupa używek wieloroślinnych określanych mianem herbat smakowych, to mieszaniny zawierające oprócz herbat np. zioła, liście innych roślin ich kwiatostany, a także owoce, warzywa dodawane w postaci suszów.

Biostatyczne właściwości niektórych z nich (herbatek ziołowych, czarnych i zielonych) są znane (1-12). Istnieje niewiele danych na temat zdolności inhibicyjnych w stosunku do mikroflory, herbat stanowiących mieszaninę różnych roślin (8). Badania zdolności biostatycznych tych mieszanek w postaci naparów nie znajdują znaczącego odzwierciedlenia w piśmiennictwie.

Celem badań była ocena właściwości bakteriostatycznych wieloskładnikowych herbat smakowych w stosunku do *Staphylococcus aureus*.

MATERIAŁ I METODY

Badania prowadzono w układzie modelowym. Analizie mikrobiologicznej poddano 10 rodzajów herbat stanowiących mieszaniny na bazie liści herbaty zielonej, czarnej i ostrokrzewu paragwajskiego, hibiskusa oraz suszów owocowych i płatków kwiatowych. Sporządzano wodne napary o stężeniu 2%, a następnie 1 ml naparów dodawano do 9 ml hodowli bulionowej *Staphylococcus aureus* 25923. Inokulum mikroorganizmów wahało się od 6,2 do 7,43 log jtk ml⁻¹.

Rodzaje badanych herbat oznaczono symbolami od A-J:

- A- zielona bez dodatku
- B- zielona +0,5% jaśminu
- C- zielona + 1% jaśminu
- D- czarna + płatki bławatka + olejek bergamotki
- E- ostrokrzew paragwajski +skórka pomarańczowa+ trawa cytrynowa
- F- ostrokrzew paragwajski+ gałązki ostrokrzewu
- G- ostrokrzew paragwajski +płatki róż
- H- ostrokrzew paragwajski+ mięta pieprzowa
- I- czerwonostrzew afrykański +papaja kandyzowana + ananas+czarna porzeczka +truskawka+płatki słonecznika
- J- hibiskus+suszone jabłka+skórka pomarańczowa+cynamon+suszone wiśnie+ goździki+suszone owoce dzikiej róży +płatki dzikiej róży

Aktywność biostatyczną naparów oceniano po 30 minutach od momentu dodania do hodowli gronkowców. Liczbę gronkowców oceniono wg. PN-EN ISO 6888-1 na podłożu *Baird-Parker* RPF po 48 godzinnej inkubacji w 37°C (13). Badaniom poddano 20 próbek mieszanek, a wyniki posiewów mikrobiologicznych oceniano na podstawie średniej z dwóch płytek.

Zmiany liczby gronkowców pod wpływem naparów poddawano analizie statystycznej za pomocą Programu komputerowego Statistica 6,1v. Analizowano korelację liniową między początkową i końcową liczbą gronkowców w zależności od rodzaju mieszaniny.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki badań wykazały zróżnicowane zdolności naparów. Największą aktywność hamowania rozwoju *Staphylococcus aureus* wykazywały napary z mieszanin zawierających płatki bławatka, olejek bergamotki oraz napary herbaty zielonej i dodatkowo wzbogacanej liśćmi jaśminu (rys 1.)

Populacja gronkowca wykazywała redukcję początkowej liczby o 1,29 do 1,58 log jtk/ml pod wpływem dodatku 1% naparu wodnego herbat zielonych. Dodatek jaśminu do herbat zielonych nie wpływał istotnie na poziom redukcji gronkowców. Trendy zmian liczby gronkowca pod wpływem naparów herbat zielonych można było opisać równaniem korelacji liniowej (1).

$$Y = -0,14x + 1,676 \text{ dla } r = 0,825(1)$$

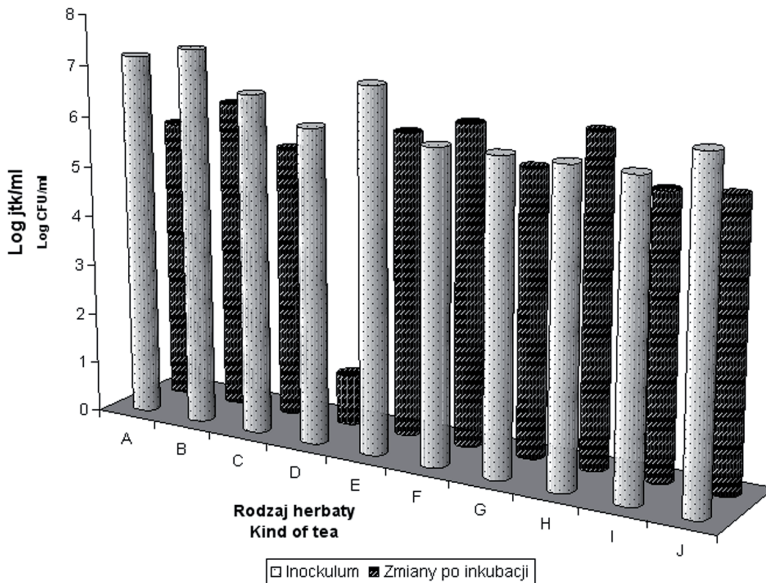
gdzie Y- wielkość redukcji *Staphylococcus aureus*

x – początkowa liczba *Staphylococcus aureus*

Dla 1% dodatku naparu herbaty czarnej z bławatką i olejkiem bergamotki (D) stwierdzono znacznie efektywniejsze oddziaływanie na gronkowce niż w przypadku stosowania herbat zielonych. Liczba bakterii *Staphylococcus aureus* zmniejszała się pod wpływem interakcji z naparem średnio o 5,2 log jtk/cm³.

Dla herbat dwuskładnikowych na bazie ostrokrzewów (F,G,H) stwierdzono nieznaczny wzrost liczby gronkowców w badanej mieszaninie, a także brak kore-

lacji liniowej między liczebnością populacji w inokulum i pod wpływem działania naparów sporządzanych z tych mieszanin (ryc.1).



Ryc. 1. Wpływ rodzaju herbaty na zmiany liczby *Staphylococcus aureus*
 Fig. 1. Influence of tea kind on *Staphylococcus aureus* count changes

W przypadku stosowania naparów herbat stanowiących mieszaniny trój- i wieloskładnikowe (herbaty E, I, J) stwierdzono zmiany liczby populacji testowanych bakterii wahające się średnio od 0,50 do 1,14 log jtk/ml. Obserwowano istnienie korelacji liniowej między początkową liczbą bakterii, a ich liczbą pod wpływem dodatku naparu wieloskładnikowego ($r=0,913$).

Wśród tych mieszanek wieloskładnikowych, najniższy stopień aktywności biostatycznej był obserwowany w przypadku stosowania do badań naparu z mieszaniny zawierającej znaczne ilości czerwonej kawy afrykańskiej. Liczba komórek *S. aureus* pod wpływem tego naparu zmniejszyła się jedynie o 0,5 log jtk/cm³.

Uzyskane wyniki badań wykazały, że zarówno herbaty zielone jak i mieszaniny trój i wieloskładnikowe powodowały hamowanie populacji gronkowców. W przypadku herbat zielonych oraz mieszaniny dziewięć-składnikowej zawierającej kwiat hibiskusa obserwowano ponad 10-krotne zmniejszenie liczby *Staphylococcus aureus* pod wpływem 1% dodatku tych naparów. Właściwości biostatyczne związków fenolowych zawartych w herbatach zielonych są omawiane w piśmiennictwie (7,12). Wykazano jednak, że w przypadku herbat zielonych dodatek kwiatu jaśminu powodował nieznaczne osłabienie efektu biostatycznego mimo obecności związków fenolowych zawartych również w jaśminie (5,8).

Dodatek bergamotki do herbat czarnych powodował istotny efekt biostatyczny prawdopodobnie z uwagi na znaczną liczbę substancji antybakteryjnych

znajdujących się w olejku z liści tej rośliny, takich jak geraniol czy pinen (14). Niska aktywność hamująca cechowała natomiast badane próbki Yerba Mate, herbat zawierających wysokie stężenia ostrokrzewu paragwajskiego i dodatkowo jeden składnik wzbogacający. Jednakże już w układzie trójskładnikowym, kiedy dodatki do ostrokrzewu stanowiły: skórka pomarańczowa i trawa cytrynowa aktywność biostatyczna wzrastała i była prawdopodobnie wynikiem synergistycznego oddziaływania składników dodatkowych zawartych w mieszaninie (15).

Ostrokrzew paragwajski obecny w Yerba Mate wykazuje zawartość znacznego stężenia garbników, a także kwasu ursolowego i chlorogenowego (14). Jednakże w niniejszych badaniach obserwowano niski stopień wrażliwości gronkowców na składniki ekstrahowane do naparu z tej rośliny. Z badań wynika też, że dodatkowe składniki tych herbat nie wykazują istotnego działania inhibicyjnego w stosunku do testowanych bakterii. Dotyczy to zarówno płatków róż, które należąc do rodziny *Rosaceae* posiadają właściwości biostatyczne w stosunku do *Staphylococcus aureus*, jak również z uwagi na liście mięty pieprzowej zawierającej liczne antybakteryjne składniki takie jak mentol, mentan 3-on oraz menton furan (15,16). Brak efektu hamującego jest prawdopodobnie spowodowany proporcjami komponentów w dwuskładnikowych mieszankach Yerba Mate.

W herbatach wieloskładnikowych jednym z komponentów wzmacniających efekt biostatyczny był prawdopodobnie cynamon zawierający związki terpenowe takie jak: kamfora, borneol i pinen, na które *Staphylococcus aureus* wykazują znaczną wrażliwość. Drugim składnikiem tej mieszaniny, o znaczącej sile hamowania rozwoju gronkowców jest hibiskus. Z danych wynika, że zawiera on znaczne ilości kwasów organicznych takich jak cytrynowy, szczawiovowy, winowy będących inhibitorami rozwoju drobnoustrojów (14).

Czerwonokrzew afrykański stanowi 74 % zawartości herbaty, w której znajdują się także m.in. kandyzowane owoce. To prawdopodobnie one są odpowiedzialne za podtrzymywanie rozwoju gronkowców, które wykorzystują zawarty w nich cukier jako źródło węgla.

Tym samym stopień hamowania bakterii przez napar sporządzany z tej dziewięcioskładnikowej mieszaniny w stosunku do innych naparów wieloskładnikowych jest dwukrotnie niższy.

WNIOSKI

1. Wodne napary herbat zielonych i czarnych z dodatkiem bergamotki powodowały dziesięciokrotne zmniejszanie liczebności populacji *Staphylococcus aureus*.

2. Napary Yerba Mate suplementowane jednym rodzajem składnika dodatkowego nie wykazywały hamowania rozwoju populacji gronkowców.

3. Stwierdzono istotne właściwości biostatyczne herbat trój i wieloskładnikowych w stosunku do *Staphylococcus aureus*.

I. Steinka

BIOSTATIC PROPERTIES OF MULTICOMPONENT TEA

Summary

The aim of this study was to evaluate the bacteriostatic properties of multicomponent flavored tea with regard to *Staphylococcus aureus*. The study was conducted in the modeling system using 1% of infusions and the inoculum of Staphylococci from 6,2 to 7,43 cfu /g. The results showed a differential ability of mixtures of aqueous infusions of tea, depending on the type and concentration of primary and secondary components. The greatest inhibiting activity in terms of *Staphylococcus aureus* growth was found for mixtures containing infusions of black tea, cornflower petals, oil of bergamot, and green tea infusions from the leaves of jasmine. Biostatic activity of two-component mixtures containing yerba mate was low. Three-component and multicomponent mixtures exhibited inhibitory capacity comparable to those observed for green tea infusions. The level of reduction of *Staphylococcus aureus* ranged from 0.5 to 5.2 log cfu * ml⁻¹.

PIŚMIENNICTWO

1. Akiyama H, Fuji K, Yamasaki O, Oono T, Iwatsuki K.: Antibacterial action of several tannins against *Staphylococcus aureus*. *J. Antimicrobial Chem.* 2001;48:487-491.-2. Chuang KT, Stevens SE, Lin WF, Wei C L.: Growth inhibition of selected food-borne bacteria by tannic acid, propyl galate and related compounds. *Lett. Appl. Microbiol.* 1993;17:29-31.- 3. Hamilton –Miller JMT.: Antimicrobial properties of tea (*Camelia sinensis* L.). *Antimicrob. Agents Chem.* 1995;39(11):2375-2377. -4. Hatano T, Kusuda M, Hori M, Tsuchiya T, Yoshida T.: Theasinensin A, a tea polyphenol formed form (-) – epigallocatechin gallate, suppresses antibiotic resistance of methicyllin –resistant *Staphylococcus aureus*. *Planta Med.* 2003;69(11):984-989. -5. Rath C C., Devi S., Dash S.K., Mishra R.K.: Antibacterial potential assessment of jasmine essential oil against *E. coli*, *Indian J. Pharm. Sci.* 2008; 70, (2), 238-241. -6. Stapleton PD, Shah S, Anderson JC, Hamilton-Miller MJ, Taylor PW.: Modulation of beta-lactam resistance in *Staphylococcus aureus* by catechins and gallates. *Int. J. Antimicrob. Agents.* 2004;23(5):462-467.-7. Toda M, Okubo S, Ikigani H, Suzuki T, Hara Y, Shimamura T.: The protective activity of tea catechins against experimental infection by *Vibrio cholerae* O1, *Microbiol. Immunol.* 1992;36:999-1001.- 8. Toda S.: Polyphenol content and antioxidant effects in herbs teas. *Chinese Med.* 2011;2:29-31. -9. Tylor PW, Hamilton –Miller JMT, Stapleton PD.: Antimicrobial properties of green tea catechins. *Food Sci. Technol. Bull.* 2005;2:71-81. -10. Vijaya K, Ananthan S, Nalini R.: Antibacterial effect of theaflavin, polyphenon 60 (*Camelia sinensis*) and *Euphorbia hirta* on *Shigella spp.* –a cell culture study. *J. Ethnopharmacol.* 1995;49:115-118. -11. Ya C, Gaffney SH, Lilley TH, Haslam E.: Carbohydrate –polyphenol and complexation, in: *Chemistry and significance of condensed tannins*. RW. Hemingway and J.J., Karchesy. New York, Plenum Press; 1988; 553. -12. Yam TS, Shah S, Hamilton –Miller JMT.: Microbiological activity of whole and fractionated crude extracts of tea (*Camellia sinensis*), and of tea components. *FEMS Microbiol. Lett.* 1997;152:169-174.- 13. PN-EN ISO 6888-1, Mikrobiologia żywności i pasz –horyzontalna metoda oznaczania liczby gronowców koagulododatnich (*Staphylococcus aureus* i innych gatunków). -14. Strzelecka H., Kowalski J., Encyklopedia ziołarstwa i ziołolecznictwa Wyd. PWN, Warszawa, 2000, 399.-15. Zahin M., Aquil F., Khan M.S.A., Ahmad I., 2010, Ethnomedicinal plants derived antibacterials and their prospects, in *Ethnomedicine: A source of Complementary Therapeutics*, Ed. Debrased Chattopadhyay, Kerala, India. 2010; 149-178. -16. Steinka I., Kukulowicz A.: Effects of selected plants on the survival of *Staphylococcus aureus* in Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances. Ed. A. Mendez-Vilas. 2011; 1186-1194.