

IN VITRO ANTIMIKROBNA AKTIVNOST MRKVE KAO POTENCIJALNI PRIRODNI ANTIOKSIDANSI

*Radoš Pavlović¹, Jelena Mladenović¹, Pavle Mašković¹, Gordana Aćamović-Đoković¹
Jasmina Zdravković²*

Rezime

U ovom radu je ispitivana antimikrobna aktivnost etanolskih ekstrakata mrkve sa mogućnošću njihove upotrebe kao potencijalnih prirodnih konzervanasa. U ispitivanjima je bila zastupljena sorta mrkve Nantes SP-80 selekcija Instituta za povrtarstvo u Smederevskoj Palanci. Antimikrobna aktivnost ekstrakata testirana je na sledeće sojeve: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Klebsiella pneumoniae* ATCC13883, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Proteus vulgaris* ATCC13315, *Proteus mirabilis* ATCC14153, *Bacillus subtilis* ATCC6633, *Candida albicans* ATCC10231, *Aspergillus niger* ATCC16404. Antimikrobna aktivnost određena je mikrodilucionom metodom. Antimikrobna aktivnost je testirana sa standarnim antibioticima, i to Nistatin za gljivice i Amracin za bakterije, sa ciljem da se ispita njena mogućnost primene u prehrambenoj industriji. Istraživanja su pokazala da ekstrakti mrkve pokazuju značajnu antimikrobnu aktivnost.

Ključne reči: mrkva, ekstrakt, antimikrobna aktivnost.

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*, *Listeria monocytogenes*, su uzročnici kvarenja hrane i bolesti prenesenih konzumiranjem životnih namirnica (Cowan, 1999).

Iz tog razloga nužno je koristiti hemijske konzervanse kao preventivnu meru za rast mikroba u procesu proizvodnje hrane. Međutim, danas se poklanja sve veća pažnja primeni komponenti prirodnih derivata izolovanih iz biljaka. Kao jedan od načina prevazilaženja tog problema je i konstantan razvoj primene novih dostupnih prirodnih antimikrobnih agenasa, u čemu se posebno ističu razne povrtarske vrste. Jedna od takvih je i mrkva, koja poslednjih godina sve više dobija na značaju i uzima sve veće učešće u ishrani stanovništva bilo u svežem ili prerađenom stanju. Ovakvom trendu doprinela su i nova saznanja o hranljivim i lekovitim svojstvima mrkve, kao i njen sam kvalitet. U pogledu kvaliteta od mrkve i ostalog povrća koje se koristi u svežem ili prerađenom stanju postavljaju se visoki zahtevi u pogledu biološkog i nutritivnog kvaliteta, kao i zdravstvene ispravnosti. Veliki uticaj na hemijski sastav povrća, a samim tim i antioksidativno i antimikrobno delovanje, imaju i uslovi gajenja, kao i sam način proizvodnje (Pavlović i sar., 2011). Prema mnogim ispitivanjima, teži se dobijanju povrća sa velikim antioksidativnim kapacitetom i

¹ Faculty of Agronomy, University of Kragujevac, Cara Dusana 34, 32000 Cacak, Serbia

² Institute of Vegetable Crops, Karadorđeva 71, 26 000 Smederevska Palanka, Srbija

prisutnom antimikrobnom aktivnosti (Lewis i Ausubel, 2006), što ukazuje na ogromnu ulogu povrća u prevenciji mnogih bolesti savremenog doba.

Material i metod rada

Prethodno usitnjen i osušen biljni materijal (30 g) ekstrahovan je sa 50 % etanolom. Dobijeni rastvori su nakon 24^h profiltrirani i upareni na rotacionom vakuum uparivaču na temperaturi od 40°C (Butterweck1,2003). Dobijen je etanolni ekstrakt S .U cilju određivanja antimikrobne aktivnosti ekstrakta kao test mikroorganizmi korištene su čiste kulture dobijene iz Instituta za virusologiju i bakteriologiju „Torlak” Beograd: *Staphilococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Salmonela enteritidis*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*.

Za određivanje minimalne inhibitorne koncentracije dobijenih ekstrakta korišćene su sledeće podloge, za bakterije Muller-Hinton-ova tečna, za gljive Sabouard- dekstrozna tečna.

Minimalna inhibitorna koncentracija ekstrakta za testirane bakterije i gljivice se određuje na osnovu mikrodilucione metode u mikrodilucionim pločama. Mikrodilucione ploče sadrže 96 jamica (12 kolona i 8 vrsta). Zapremina od 100 µl ekstrakata S₁ i S₂ je odpipetirana u prvi red ploče. U sve ostale jamice je dodato 50 µl Miler Hinton odnosno Saboro - dekstroznog bujona. Radi se dvostruko razblaženje u svakoj vrsti mikrotitar pločice (Peto i sar., 1999).

Potom u svaku jamicu se doda 10 µl rastvora rezazurin indikatora (pripremljen rastvaranjem 270-mg tableta u 40 µl sterilne destilovane vode). Na kraju, 10 µl bakterijske suspenzije (10⁶ \CFU/ µl) odnosno suspenzije spora gljivice (3 × 10⁴ CFU / µl). Za svaki soj uslovi rasta i sterilnost medija su provereni. Standardni antibiotik amracin je korišćen za kontrolu osetljivosti ispitivanih bakterija, dok Nistatin je korišćen kao kontrola nad testiranim gljivica. Zatim su pločice inkubirane na 37 °C u trajanju od 24^h (Cvijović i sar., 2003). Nakon završene inkubacije utvrđuje se minimalna inhibitorna koncentracija, vizuelno na osnovu boje (Radulović,1999).

Svaka promena boje iz ljubičaste u roze ili bezbojnu ocenjuje se kao pozitivna. Najniža koncentracija pri kojoj je došlo do promene boje se uzima kao MIC vrednost (Varagić i sar., 2001). Rade se tri merenja, a potom se izračuna srednja vrednost za MIC (Takao i sar., 1994).

Ispitivani ekstrakti pokazali su različito delovanje na testirane mikroorganizme.

U tabeli 1. dati su rezultati ispitivanja minimalne inhibitorne koncentracije (MIC) etanolskih ekstrakata mrkve. Za upoređivanje ispitivane antimikrobne aktivnosti korišćeni su antibiotici amracin (A) i nistatina (N).

Rezultati i diskusija

Minimalne inhibitorne koncentracije (µg/ml), etanolskog ekstrakta mrkve su prikazane u tabeli 1. Dobijeni rezultati ukazuju da je najbolja antimikrobna aktivnost ekstrakta mrkve ostvarena na sojeve *K. pneumoniae*, *P.vulgaris*, *P. mirabilis*, *B.suhtilis* u koncentraciji od 78,12 µg/ml. Nešto manju aktivnost pokazuju prema sojevima bakterija *S.aureus* i *E.coli* 156,25 µg/ml . Ispitivani ekstrakt je pokazao podjednako dobru minimalnu inhibitornu koncentraciju i na sojeve gljivica *C. Albicans* i *A. Niger* u koncentraciji od 78,12 µg/ml. Standardni antibiotik za bakterije Amracin je pokazao minimalnu inhibitornu koncentraciju za *B. subtilis* 0,24 µg/ml, a za sojeve *K. pneumoniae*, *P. vulgaris*, *P. mirabilis* je 0,49 µg/ml, dok je za *S. aureus* i *E. coli* iznosila 0,97 µg/ml. Referentni antibiotik Nistatin koji se koristi

za sojeve gljivica, *C. Albicans* i *A. niger* je pokazao minimalnu inhibitornu koncentraciju 1,95 i 0,97 µg/ml.

Tabela 1. Minimalna inhibitorna koncentracija ekstrakata mrkve

Bakterijski sojevi	MIC (µg/ml)	A	N
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	156.25	0.97	/
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 13883	78.12	0.49	/
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	78.12	0.97	/
<i>Proteus vulgaris</i> ATCC 13315	78.12	0.49	/
<i>Proteus mirabilis</i> ATCC 14153	156.25	0.49	/
<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	78.12	0.24	/
<i>Candida albicans</i> ATCC 10231	78.12	/	1.95
<i>Aspergillus niger</i> ATCC 16404	78.12	/	0.97

Rezultati su prikazani kao srednja vrednost tri ponavljanja (Hansel i sar., 1999). Antimikrobna aktivnost mrkve je u saglasnosti sa antimikrobnom aktivnošću drugih vrsta povrća, kao što su u svojim istraživanjima prethodno utvrdili Pavlović i sar.(2011).

Zaključak

Najvažniji rezultat i zaključak ovih ispitivanja je da ekstrakt mrkve pokazuje izraženu antimikrobnu aktivnost. Ispitani ekstrakti mogu se koristiti u prehrambenoj industriji. Istraživanja takođe pokazuju da mrkva koja je poznata po svojim brojnim biološkim i farmakološkim prednostima može imati veliki praktični značaj kao prirodni konzervans.

Zahvalnica

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

Literatura

- Cowan, M. M.(1999): Clinical Microbiology Reviews 12, 564-582.
 Cvijović,G. G., Miroslav, M., Vrvic, M.(2003):Praktikum za mikrobiološku hemiju – Beograd, 123-171.
 Hänsel,R., Sticher,O., Steinegger, S. (1999): Pharmakognosie-Phytophyrmazie, Springer-Verlag, Berlin, 645-734.

- Lewis, K., Ausubel, F. M. (2006): *Nat. biot.* 24, 1504-1507.
- Pavlović, R., Mašković, P., Mladenović, J., Zdravković, J., Aćamović-Đoković, G., Zdravković, M., Cvikić, D. (2011): In vitro antimicrobial activity of ethanol lettuce extracts as a potential natural conservancy, 22nd International Symposium Food safety production, Trebinje, 417-419.
- Prieto, P., Pineda M. and Aguilar M. (1999): *Analytical Biochemistry*, pp. 337–341.
- Radulović, Š. (1999): *Mikrobiologija sa epidemiologijom – Beograd*, 235-376.
- Takao, T., Watanabe, N., Yagi, I., Sakata, K. (1994). A simple screening method for antioxidants and isolation of several antioxidants produced by marine bacteria from fish and shellfish. *Biosci. Biotechnol. Biochem.* 58, 1780-1783.
- Varagić, V., Milošević, M. (2001): *Farmakologija, Elit-Medica, Beograd*, 453-478.

IN VITRO ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF CARROT AS A POTENTIAL NATURAL ANTIOXIDANTS

*Rados Pavlovic¹, Jelena Mladenovic¹, Gordana Acamovic-Djokovic¹, Pavle Maskovic¹
Jasmina Zdravkovic², Milan Zdravkovic²*

Abstract

In this study we investigated the antimicrobial activity of extracts of carrot etanolskih with the possibility of their use as potential natural preservatives. The study was represented carrot variety Nantes SP-80 selection of the Institute of Vegetable Crops in Smederevo. Antimicrobial activity of extracts was tested on the following strains: Staphylococcus aureus ATCC 25923, Klebsiella pneumoniae ATCC13883, Escherichia coli ATCC 25922, Proteus vulgaris ATCC13315, Proteus mirabilis ATCC14153, Bacillus subtilis ATCC6633, Candida albicans ATCC10231, Aspergillus niger ATCC16404. Antimicrobial activity was determined mikrodilucionom method. Antimicrobial activity was tested with standard antibiotics, and Nystatin for yeast and bacteria Amracin for, in order to investigate the possibility of its application in food industry. Studies have shown that extracts of carrot showed a significant antimicrobial activity.

Key words: carrot, extract, antimicrobial activity.

¹ Faculty of Agronomy, University of Kragujevac, Cara Dusana 34, 32000 Cacak, Serbia

² Institute of Vegetable Crops, Karadordeva 71, 26 000 Smederevska Palanka, Srbija