

Właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejków eterycznych z majeranku ogrodowego oraz tymianku właściwego w drobiowych kulach mięsnych

ŁUKASZ DROZD¹, KRZYSZTOF SZKUCIK¹, MONIKA ZIOMEK¹,
AGNIESZKA NAJDA², PRZEMYSŁAW KNYSZ¹, ZBIGNIEW BEŁKOT¹

¹Katedra Higieny Żywności Zwierzęcego Pochodzenia, Wydział Medycyny Weterynaryjnej,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin

²Katedra Warzywnictwa i Zielaństwa, Wydział Ogrodnictwa i Architektury Krajobrazu,
Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Doświadczalna 50A, 20-280 Lublin

Otrzymano 26.05.2023

Zaakceptowano 19.06.2023

Drozd Ł., Szkucik K., Ziomek M., Najda A., Knysz P., Bełkot Z.

Antimicrobial activity of marjoram and thyme essential oils in poultry meatballs

Summary

The aim of the study was to evaluate the possibility of using essential oils from marjoram and thyme to inhibit the growth of microorganisms in poultry meatballs. In the first stage, the values of minimum inhibitory concentrations (MIC) against 10 pathogenic bacteria were determined by serial two-fold dilution method. In the next stage, tests of the level of acceptance of smell and taste by the evaluation committee were carried out and the total number of microorganisms and the number of psychrotrophic microorganisms were determined in chicken fillet meatballs produced with the addition of essential oils of marjoram and thyme in the amount ensuring concentrations of: 0.1 mg/g, 0.5 mg/g and 1 mg/g. The control sample consisted of meatballs without the addition of essential oils. Microbiological tests were carried out on the day of making the meatballs and on the 3rd and 6th day of storage at +4°C. In the study of sensory characteristics, it was found that with the increase in the concentration of essential oil the acceptance of the smell and taste of meatballs significantly decreased. The studies of minimum inhibitory concentrations have shown that essential oils of marjoram and thyme have an inhibitory effect on the growth of microorganisms, and their effectiveness depends on the concentration of the essential oil and the type of bacteria. The highest effectiveness of marjoram essential oil was shown in inhibiting the growth of *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella* Enteritidis, for which the MIC value was 0.625 mg/ml. The strongest inhibitory effect of thyme essential oil was found against the following bacteria: *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella* Typhimurium, for which the MIC value was 0.039 mg/ml. The research showed that the addition of essential oils significantly reduced the total number of microorganisms in the meatballs. Statistically, a lower total number of microorganisms than in the meatballs without the addition of essential oils was found after 6 days of storage of the balls with the addition of oils at a concentration of 1 mg/g. Essential oils from marjoram and thyme have an inhibitory effect on the growth of microorganisms in poultry meatballs, and their effect depends on the type of oil and the concentration used. However, the use of essential oils in high concentration results in the lack of acceptance of the smell and taste.

Keywords: meatballs, thyme, marjoram, essential oil

W ostatnich latach wśród konsumentów wzrasta zainteresowanie żywnością wytworzoną wyłącznie przy użyciu naturalnych składników, a jednocześnie wykazującą bardzo dobrą jakość mikrobiologiczną. Wychodząc naprzeciw tym oczekiwaniom, producenci wyrobów mięsnych poszukują naturalnych sposobów na utrzymanie jakości mikrobiologicznej swoich produktów, przy jednoczesnym ograniczeniu lub całkowitym wykluczeniu konserwantów syntetycznych (18, 19). Olejki eteryczne nie tylko są naturalnymi

i skutecznymi konserwantami, ale również poprawiają aromat i smak produktów (1-3, 29, 34). Działanie przeciwdrobnoustrojowe olejków eterycznych można przypisać ich składnikom, głównie związkom fenolowym, takim jak karwakrol, eugenol i tymol (7, 32). Pełne olejki eteryczne mają większą aktywność przeciwdrobnoustrojową niż ich główne składniki razem, co sugeruje, iż niektóre składniki, występujące w mniejszej ilości, mogą wzmacniać działanie głównych związków chemicznych zawartych w olejkach (11, 20). Olejki

eteryczne są na ogół bardziej skuteczne, gdy wchodzi w bezpośredni kontakt z drobnoustrojami zawartymi w produktach mięsnych (35).

Olejki eteryczne mają intensywny aromat nawet przy niskich stężeniach i mogą być nieakceptowane przez konsumentów, dlatego zastosowanie olejków eterycznych do konserwacji żywności zależy od użycia odpowiedniego stężenia zapewniającego uzyskanie żywności o odpowiednich właściwościach organoleptycznych. W dostępnej literaturze brak jest kompleksowej oceny możliwości użycia olejków eterycznych w żywności pochodzenia zwierzęcego w stężeniu zapewniającym skuteczne działanie hamujące wzrost drobnoustrojów, a równocześnie pozwalającym na akceptację przez konsumentów podstawowych cech organoleptycznych, takich jak smak i zapach. W piśmiennictwie są jednak dane wskazujące na możliwość wykorzystania olejków eterycznych z majeranku i tymianku jako czynników hamujących wzrost bakterii w produktach mięsnych (1, 4, 6, 13, 15, 21). W związku z tym celem pracy była ocena wpływu dodatku olejków eterycznych z majeranku ogrodowego i tymianku właściwego na cechy sensoryczne oraz poziom zanieczyszczenia mikrobiologicznego drobiowych kul mięsnych.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiły olejki eteryczne pochodzące z majeranku ogrodowego (*Origanum majorana* L.) oraz tymianku właściwego (*Thymus vulgaris* L.). Olejki te pozyskano z 30 g wysuszonego surowca zielarskiego, stosując metodę bezpośredniej destylacji z parą wodną przez 180 minut w aparacie destylacyjnym typu Clevenger, wg zaleceń Farmakopei Polskiej XI (8). Roztwór olejku eterycznego przeznaczonego do dalszych badań sporządzono poprzez dodanie do 9,2 ml bulionu Mueller Hinton II Broth (MHB) wybranego olejku eterycznego w ilości 800 mg oraz emulgatora Tween 80 w ilości 50 µl.

Badanie wartości minimalnych stężeń hamujących (MIC) oznaczono przy użyciu metody seryjnych dwukrotnych rozcieńczeń w bulionie Mueller Hinton II Broth przy użyciu 96-dółkowych płytek titracyjnych, zgodnie z wytycznymi Clinical and Laboratory Standard Institute (CLSI) dla drobnoustrojów: *Bacillus cereus*, *Bacillus megaterium*, *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* subsp. *aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella* Enteritidis, *Salmonella* Typhimurium oraz *Yersinia enterocolitica*. Do sporządzenia zawiesiny bakteryjnej wykorzystano 24-godzinne hodowle bakteryjne na agarze odżywcym, z których następnie wykonywano zawiesinę w bulionie Mueller Hinton II Broth o gęstości optycznej 0,5 jednostek skali McFarlanda, co odpowiada stężeniu komórek bakteryjnych 1×10^8 jtk/ml. Następnie zawiesinę bakteryjną rozcieńczyło 100-krotnie w bulionie MHB, otrzymując stężenie komórek bakteryjnych 1×10^6 jtk/ml.

Na początku procedury badawczej w dołkach płytki titracyjnej umieszczono roztwór badanego olejku eterycznego w malejących stężeniach, w ilości 100 µl, następnie do każdego dołka dodano 100 µl zawiesiny bakteryjnej o stężeniu

komórek bakteryjnych 10^6 jtk/ml, zmieszano i pozostawiono 100 µl roztworu o stężeniu od 20 mg/ml do 0,039 mg/ml, co stanowiło 10 kolejnych rozcieńczeń dwukrotnych. Jako kontrolę jałowości procedury badawczej do pierwszego rzędu dodano wyłącznie bulion MHB w ilości 100 µl. Przeprowadzono również kontrolę wzrostu bakterii w bulionie MHB z zawiesiną bakteryjną w stosunku 1 : 1 i bez dodatku czynników hamujących – w tym celu do 12. rzędu dodano 100 µl przygotowanej zawiesiny bakteryjnej oraz 100 µl bulionu MHB. Po dokładnym wymieszaniu pozostawiono w studzienkach objętość 100 µl. Po wykonaniu powyższych czynności płytki zabezpieczono parafilmem, a następnie inkubowano przez 24 godziny w temperaturze 37°C.

Po inkubacji do każdej studzienki na płycie titracyjnej dodano jako indykator wzrostu bakterii 20 µl 0,01% resazuryiny sodowej, a następnie ponownie inkubowano płytki w temperaturze 37°C do czasu zmiany barwy próby ujemnej (2-4 godziny). Po tym czasie przeprowadzono odczyt wyników. Roztwór resazuryiny sodowej w obecności żywych komórek ulega redukcji, co powoduje zmianę barwy z niebieskiej na różową. Wśród studzienek zabarwionych na kolor niebieski ta, która zawierała olejek eteryczny w najniższym stężeniu, wyznaczała wartość MIC. Procedurę badawczą wykonano w trzech powtórzeniach.

Kule mięsne użyte do badań mikrobiologicznych i sensorycznych wytworzono z mięśni piersiowych kurczaka pochodzących ze sprzedaży detalicznej. Po dostarczeniu pobranych próbek do laboratorium mięso rozdrobniono maszynką do mielenia mięsa z użyciem sitka o średnicy oczek 3 mm. Następnie w sposób jałowy odważono 3 próbki mięsa mielonego, do którego dodano odpowiedni olejek eteryczny w ilości zapewniającej uzyskanie stężeń: 0,1 mg/g, 0,5 mg/g i 1 mg/g. Po dokładnym wymieszaniu sporządzono kule mięsne o masie 20 g każda, które następnie poddano obróbce termicznej w temperaturze wrzenia przez 90 sekund. Kule z dodatkiem olejków eterycznych w różnych stężeniach gotowano oddzielnie, zachowując jałowe warunki pracy. Próbkę kontrolną stanowiły kule mięsne bez dodatku olejków eterycznych. Procedurę wykonano w sześciu powtórzeniach. Po ostudzeniu część kul mięsnych przeznaczono do badania organoleptycznego, a pozostałą część, przeznaczoną do badań mikrobiologicznych, pakowano w jałowe worki i przechowywano w warunkach chłodniczych (+4°C) przez maksymalnie 6 dni.

Badanie zapachu oraz smaku odbyło się w dniu wytworzenia kul mięsnych i zostało przeprowadzone przez zespół badawczy zgodnie z Polskimi Normami (26, 27). Podczas analizy sensorycznej określono akceptację wrażeń zapachowych i smakowych zapachowych kul mięsnych z dodatkiem olejków eterycznych. Komisja badawcza składała się z sześciu osób. Oceniający zostali przeszkoleni i pouczeni o sposobie przeprowadzenia analizy sensorycznej. Rodzaj olejku eterycznego oraz jego stężenie zostały zakodowane, a cechy sensoryczne kul mięsnych były oceniane w zestawach składających się z kuli mięsnej bez dodatku olejku eterycznego oraz kul mięsnych z dodatkiem olejku eterycznego w ilości 0,1 mg/g, 0,5 mg/g oraz 1,0 mg/g. Wyniki zapisano na arkuszu oceny organoleptycznej, posługując się sześciopunktową skalą akceptacji smaku oraz zapachu (1 – zdecydowanie nieakceptowany, 2 – nieakceptowany, 3 – lekko nieakceptowany, 4 – lekko akceptowany, 5 – akceptowany, 6 – zdecydowanie akceptowany).

Badanie zanieczyszczenia mikrobiologicznego przeprowadzono w dniu wykonania kul mięsnych, bezpośrednio po wystygnięciu kul oraz w 3. i 6. dniu przechowywania w warunkach chłodniczych, w temperaturze +4°C. Wszystkie procedury związane z przygotowaniem próbek do badań oraz sporządzeniem zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych przygotowano według zasad zawartych w Polskich Normach (23, 24). W badanym materiale przeprowadzono oznaczenia ogólnej liczby drobnoustrojów oraz liczby drobnoustrojów psychrotrofowych, które przeprowadzono według wskazań Polskich Norm (22, 25).

Otrzymane wyniki poddano analizie statystycznej przy użyciu programu Statistica 13.1 oraz arkusza kalkulacyjnego Excel wyliczono wartości średnie ($\bar{x}$) i odchylenie standardowe (SD). Wpływ czynników zmienności na oznaczane parametry określono w oparciu o jednoczynnikową analizę wariancji na poziomie istotności wynoszącym 5%. W celu ustalenia statystycznie istotnych różnic pomiędzy porównywanymi grupami zastosowano test post-hoc wielokrotnych przedziałów ufności T Tukeya dla $p < 0,05$. Do obliczeń wykorzystano pakiet Statistica 10 firmy StatSoft.

Wyniki i omówienie

Minimalne stężenia hamujące. W przeprowadzonych badaniach (tab. 1) stwierdzono, że na działanie hamujące olejku eterycznego z majeranku ogrodowego najbardziej podatne były *Klebsiella pneumoniae* oraz *Salmonella* Enteritidis, dla których wartość MIC wynosiła 0,625 mg/ml. Skuteczność olejku eterycznego z majeranku potwierdzają również badania przeprowadzone w Brazylii przez Busatta i wsp. (6). Badacze ci wykazali wartość MIC tego olejku dla *Klebsiella pneumoniae* wynoszącą 0,920 mg/ml. Identyczną wartość MIC stwierdzili także dla *Escherichia coli*, natomiast

w badaniach własnych wartość MIC dla tej bakterii była nieco wyższa i wynosiła 1,25 mg/ml. W podobnych badaniach uzyskano dla *Escherichia coli* wartość MIC wynoszącą 1,562 mg/ml, a dla *Salmonella* Typhimurium 3,125 mg/ml, podczas gdy w badaniach własnych wartość MIC dla *Salmonella* Typhimurium wynosiła 1,25 mg/ml (14). Efektywność olejku eterycznego z majeranku ogrodowego w stosunku do *Salmonella* Typhimurium potwierdziły badania Hajlaoui i wsp., którzy stwierdzili wartość MIC wynoszącą 1,562 mg/ml (12). Podobnie jak w badaniach przeprowadzonych przez Busatta i wsp. (6) stwierdzono małą wrażliwość *Enterococcus faecalis* na olejek eteryczny z majeranku. W badaniach własnych wartość MIC tego olejku dla *Enterococcus faecalis* ATCC 29212 wynosiła 5 mg/ml, a w badaniach wymienionych autorów 2,3 mg/ml.

W badaniach własnych, podobnie jak w badaniach innych autorów (16, 30), stwierdzono wysoką skuteczność olejku eterycznego z tymianku właściwego. Najsilniejsze działanie hamujące tego olejku stwierdzono wobec bakterii: *Klebsiella pneumoniae* oraz *Salmonella* Typhimurium, dla których wartość MIC wynosiła 0,039 mg/ml. W badaniach Kon i wsp. (16) stwierdzono wyższą wartość MIC wobec *Staphylococcus aureus*, wynoszącą 4,0 mg/ml oraz *Escherichia coli*, wynoszącą 2,8 mg/ml. Podobne badania przeprowadzono również w Brazylii, gdzie uzyskano dla *Staphylococcus aureus* wartość MIC równą 1 mg/ml (30).

Cechy sensoryczne kul mięsnych. Wyniki badań dotyczących akceptacji zapachu i smaku kul mięsnych z fileta z kurczaka z dodatkiem badanych olejków eterycznych przedstawiono w tabelach 2 i 3. Badania te wykazały statystycznie istotne różnice między kulami z dodatkiem wybranych olejków eterycznych w stężeniu 0,1 mg/g, 0,5 mg/g oraz 1,0 mg/g. Nie wykazano natomiast istotnych różnic w akceptacji zapachu oraz smaku między kulami mięsnymi z dodatkiem olejków eterycznych z majeranku i tymianku w takim samym stężeniu.

W przeprowadzonych badaniach wykazano, iż zapach kul mięsnych z dodatkiem olejków eterycznych na poziomie 0,1 mg/g i 0,5 mg/g był akceptowany, natomiast przy stężeniu 1 mg/g – uznany za lekko nieakceptowany. Podobne wyniki, ale dotyczące olejku eterycznego z cynamonu uzyskali Ghabraie i wsp. (10), którzy stwierdzili, iż dodatek do mięsa mielonego poddanego obróbce termicznej tego olejku jest akceptowany do poziomu 0,5 mg/g. Analiza własnych wyników akceptacji smaku kul mięsnych z fileta z kurczaka z dodatkiem olejków eterycznych wykazała, iż smak kul mięsnych z dodatkiem olejków eterycznych na poziomie 0,1 mg/g był akceptowany przez zespół oceniający, w stężeniu

Tab. 1. Wartość minimalnych stężeń hamujących (MIC) olejków eterycznych (mg/ml)

Bakterie	Olejki eteryczne	
	Majeranek ogrodowy (<i>Origanum majorana</i>)	Tymianek właściwy (<i>Thymus vulgaris</i>)
Gram +		
<i>Bacillus cereus</i>	2,5	0,625
<i>Bacillus megaterium</i>	1,25	0,313
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	5	2,5
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 15313	2,5	0,625
<i>Staphylococcus aureus</i> subsp. <i>aureus</i> ATCC 33591	2,5	1,25
<i>Staphylococcus epidermidis</i> ATCC 12228	2,5	1,25
Gram –		
<i>Citrobacter freundii</i>	2,5	1,25
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1,25	0,313
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 10031	0,625	0,039
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Enteritidis ATCC 13076	0,625	0,156
<i>Salmonella enterica</i> subsp. <i>enterica</i> serovar Typhimurium ATCC 13311	1,25	0,039
<i>Yersinia enterocolitica</i>	1,25	0,078

Tab. 2. Ocena zapachu kul mięsnych z fileta z kurczaka z dodatkiem olejków eterycznych (punkty)

Rodzaj olejku	Stężenie olejku w mg/g					
	0,1		0,5		1,0	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
Majeranek	4,77 ^{Aa}	0,43	4,20 ^{Ba}	0,61	3,07 ^{Ca}	0,69
Tymianek	4,73 ^{Aa}	0,45	4,13 ^{Ba}	0,73	2,97 ^{Ca}	0,67

Objaśnienia: a – średnie oznaczone małą literą „a” nie różnią się istotnie w pionie przy $p \leq 0,05$; A, B, C – średnie oznaczone różnymi dużymi literami różnią się istotnie w poziomie przy $p \leq 0,05$

0,5 mg/g był lekko nieakceptowany, natomiast w stężeniu 1 mg/g został uznany za nieakceptowany. Również inni autorzy (6, 9, 33) wskazują, że właściwości organoleptyczne produktów mięsnych z dodatkiem olejków eterycznych zależą od zastosowanego stężenia olejku eterycznego, który w niższych stężeniach może poprawić właściwości sensoryczne, natomiast w wyższych stężeniach istotnie zmienia te właściwości, co może powodować brak akceptacji produktów spożywczych.

Zanieczyszczenie mikrobiologiczne kul mięsnych. Przeprowadzone badania wykazały, że dodatek olejków eterycznych z majeranku i tymianku w różnych stężeniach istotnie wpływał na zmniejszenie ogólnej liczby drobnoustrojów w kulach mięsnych wytworzonych z fileta z kurczaka. Po 6 dniach przechowywania kul mięsnych z dodatkiem badanych olejków eterycznych w stężeniu 1 mg/g stwierdzono statystycznie niższą ogólną liczbę drobnoustrojów niż w kulach bez dodatku olejków eterycznych (tab. 4). Nie stwierdzono również istotnych różnic w liczbie drobnoustrojów psychrotrofowych określonej dla wszystkich badanych stężeń olejków eterycznych z majeranku i tymianku w dniu wytworzenia kul (dzień 0.) oraz po 3 i 6 dniach przechowywania (tab. 5).

Badania wielu autorów (6, 13, 21) potwierdzają skuteczność olejku eterycznego z majeranku w hamowaniu wzrostu bakterii w produktach mięsnych. Jak wykazali Busatta i wsp. (6) dodanie olejku eterycznego z majeranku do świeżej kiełbasy wywiera działanie bakteriostatyczne lub bakteriobójcze, zależnie od zastosowanego stężenia olejku. W badaniach tych wykazano, iż olejek eteryczny z majeranku może być wykorzystywany do przedłużenia przydatności do spożycia świeżej kiełbasy, gdyż zmniejsza liczbę naturalnie występujących bakterii oraz liczbę *E. coli*. Podobne wyniki uzyskali Krisch i wsp. (17), którzy stwierdzili znaczące zmniejszenie liczby *E. coli* w mielonym mięsie wieprzowym po 24 godzinach przechowywania mięsa w temperaturze 5°C. Podobne wyniki badań przeprowadzonych przez Omara i wsp. (21) potwierdzają, że olejek eteryczny z majeranku może odgrywać ważną rolę jako środek przeciwdrobnoustrojowy w schłodzonym mięsie

Tab. 3. Ocena smaku kul mięsnych z fileta z kurczaka z dodatkiem olejków eterycznych (punkty)

Rodzaj olejku	Stężenie olejku w mg/g					
	0,1		0,5		1,0	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
Majeranek	4,30 ^{Aa}	0,70	2,97 ^{Ba}	0,76	2,07 ^{Ca}	0,64
Tymianek	4,40 ^{Aa}	0,67	3,03 ^{Ba}	0,76	2,13 ^{Ca}	0,73

Objaśnienia: a – średnie oznaczone małą literą „a” nie różnią się istotnie w pionie przy $p \leq 0,05$; A, B, C – średnie oznaczone różnymi dużymi literami różnią się istotnie w poziomie przy $p \leq 0,05$

mielonym i zdaniem tych autorów, potencjalnie może być używany jako naturalny składnik konserwujący w przemyśle spożywczym.

W badaniach własnych wykazano, iż dodatek olejku eterycznego z tymianku w stężeniu 1 mg/g istotnie zmniejsza ogólną liczbę drobnoustrojów w kulach mięsnych. Podobne wyniki uzyskano w badaniach, w których dodawano olejki eteryczne do mięsa mielonego i produktów mięsnych przechowywanych zarówno w warunkach chłodniczych, jak i w stanie zamrożonym (4, 31, 33). Badania przeprowadzone przez Sedki i wsp.

Tab. 4. Ogólna liczba drobnoustrojów w kulach mięsnych z fileta z kurczaka z dodatkiem olejków eterycznych (log jtk/g)

Olejek eteryczny	Dzień 0.		Dzień 3.		Dzień 6.	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
Kule bez dodatku olejku	3,04 ^{Aa}	0,12	3,24 ^{Aa}	0,12	5,25 ^{Ba}	0,18
Majeranek 0,1 mg/g	3,04 ^{Aa}	0,14	3,20 ^{Aa}	0,12	5,21 ^{Bab}	0,16
Majeranek 0,5 mg/g	3,06 ^{Aa}	0,09	3,24 ^{Aa}	0,14	5,12 ^{Bab}	0,21
Majeranek 1,0 mg/g	3,04 ^{Aa}	0,07	3,19 ^{Aa}	0,13	4,94 ^{Bb}	0,16
Kule bez dodatku olejku	3,00 ^{Aa}	0,09	3,17 ^{Aa}	0,18	5,26 ^{Ba}	0,11
Tymianek 0,1 mg/g	3,02 ^{Aa}	0,08	3,18 ^{Aa}	0,17	5,21 ^{Bab}	0,13
Tymianek 0,5 mg/g	3,03 ^{Aa}	0,08	3,17 ^{Aa}	0,14	5,10 ^{Bab}	0,20
Tymianek 1,0 mg/g	3,02 ^{Aa}	0,07	3,14 ^{Aa}	0,12	5,01 ^{Bb}	0,16

Objaśnienia: a, b – średnie oznaczone różnymi małymi literami różnią się istotnie w pionie przy $p \leq 0,05$; A, B – średnie oznaczone różnymi dużymi literami różnią się istotnie w poziomie przy $p \leq 0,05$

Tab. 5. Liczba drobnoustrojów psychrotrofowych w kulach mięsnych z fileta z kurczaka z dodatkiem olejków eterycznych (log jtk/g)

Olejek eteryczny	Dzień 0.		Dzień 3.		Dzień 6.	
	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD	$\bar{x}$	SD
Kule bez dodatku olejku	2,89 ^{Aa}	0,12	3,12 ^{Aa}	0,17	5,14 ^{Ba}	0,19
Majeranek 0,1 mg/g	2,86 ^{Aa}	0,09	3,12 ^{Aa}	0,13	5,07 ^{Ba}	0,25
Majeranek 0,5 mg/g	2,87 ^{Aa}	0,11	3,13 ^{Aa}	0,17	5,00 ^{Ba}	0,31
Majeranek 1,0 mg/g	2,88 ^{Aa}	0,09	3,08 ^{Aa}	0,14	4,88 ^{Ba}	0,15
Kule bez dodatku olejku	2,87 ^{Aa}	0,12	3,12 ^{Aa}	0,13	5,11 ^{Ba}	0,24
Tymianek 0,1 mg/g	2,89 ^{Aa}	0,10	3,10 ^{Aa}	0,14	5,06 ^{Ba}	0,18
Tymianek 0,5 mg/g	2,87 ^{Aa}	0,09	3,08 ^{Aa}	0,09	4,96 ^{Ba}	0,31
Tymianek 1,0 mg/g	2,88 ^{Aa}	0,11	3,02 ^{Aa}	0,12	4,90 ^{Ba}	0,12

Objaśnienia: a, b – średnie oznaczone różnymi małymi literami różnią się istotnie w pionie przy $p \leq 0,05$; A, B – średnie oznaczone różnymi dużymi literami różnią się istotnie w poziomie przy $p \leq 0,05$

(31) dotyczące wpływu ww. olejku na jakość mikrobiologiczną mrożonych kielbas wołowych wykazały, iż olejek ten może być wykorzystywany do przedłużenia trwałości kielbasy. Również badania innych autorów (1, 4, 15, 28) wskazują na możliwość wykorzystania olejku eterycznego z tymianku w przemyśle mięsnym jako czynnika przeciwdrobnoustrojowego oraz hamującego wzrost bakterii patogennych. W badaniach przeprowadzonych przez Saad i wsp. (28) stwierdzono, że dodatek olejku eterycznego z tymianku w stężeniu 1% zwiększa bezpieczeństwo mięsa przez hamowanie wzrostu *Staphylococcus aureus* i *E. coli* oraz przedłuża trwałość mięsa mielonego. Podobne wyniki uzyskali również Ibrahim-Hemmat i wsp. (15), którzy badali wpływ dodatku tego olejku na liczbę *Staphylococcus aureus* w wołowym mięsie mielonym przechowywanym w warunkach chłodniczych. Wykazali oni, iż olejek ten istotnie zmniejszał liczbę *Staphylococcus aureus*, a wzrost koncentracji olejku w mięsie dodatkowo obniżał to zanieczyszczenie. Skuteczność olejku eterycznego z tymianku wobec bakterii patogennych potwierdzają również badania Boskovic i wsp. (4), którzy wykazali istotne zmniejszenie liczby bakterii z rodziny *Enterobacteriaceae*, w tym także pałeczek *Salmonella* oraz bakterii fermentacji mlekowej w mielonym mięsie wieprzowym pakowanym w modyfikowanej atmosferze.

Podsumowując należy zauważyć, iż zarówno badania własne, jak i większość opublikowanych wyników badań wskazuje na potrzebę stosowania dość wysokich stężeń olejków eterycznych w produktach żywnościowych, aby skutecznie zahamować wzrost drobnoustrojów w żywności (5). Natomiast akceptacja zapachu, a przede wszystkim smaku zmniejsza się wraz ze wzrostem stężenia olejku eterycznego, zatem jest mało prawdopodobne, aby badane olejki eteryczne mogły być stosowane jako jedyny naturalny środek konserwujący.

Piśmiennictwo

- Ballester-Costa C., Sendra E., Fernández-López J., Pérez-Álvarez J. A., Viuda-Martos M.: Assessment of antioxidant and antibacterial properties on meat homogenates of essential oils obtained from four thymus species achieved from organic growth. *Foods* 2017, 6, 59.
- Bhat R., Alias A. K., Paliyath G.: Essential Oils and Other Plant Extracts as Food Preservatives. *Progress in Food Preservation*. John Wiley & Sons, New Jersey 2011, 539-580.
- Bleasel N., Tate B., Rademaker M.: Allergic contact dermatitis following exposure to essential oils. *Aust. J. Dermatol.* 2002, 43, 211-213.
- Boskovic M., Djordjevic J., Ivanovic J., Janjic J., Zdravkovic N., Glisic M., Glamoclija N., Baltic B., Djordjevic V., Baltic M.: Inhibition of Salmonella by thyme essential oil and its effect on microbiological and sensory properties of minced pork meat packaged under vacuum and modified atmosphere. *Int. J. Food Microbiol.* 2017, 258, 58-67.
- Burt S.: Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods – a review. *Int. J. Food Microbiol.* 2004, 94, 223-253.
- Busatta C., Vidal R. S., Popielski A. S., Mossi A. J., Dariva C., Rodrigues M. R., Corazza F. C., Corazza M. L., Oliveira H., Cansian R.: Application of Origanum majorana L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food Microbiol.* 2008, 25, 207-211.
- Cosentino S., Tuberoso C. I. G., Pisano B., Satta M., Mascia V., Arzede E., Palmas F.: In vitro antimicrobial activity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils. *Lett. Appl. Microbiol.* 1999, 29, 130-135.
- Farmakopea Polska XII. Urząd Rejestracji Produktów Leczniczych, Wyrobów Medycznych i Produktów Biobójczych, PTF, Warszawa 2017.
- Gaio I., Saggiolato A. G., Treichel H., Cichoski A. J., Astolfi V., Cardoso R. I., Toniazzo G., Valduga E., Paroul N., Rogério L. C.: Antibacterial activity of basil essential oil (*Ocimum basilicum* L.) in Italian-type sausage. *J. Verbrauch Lebensm.* 2015, 10, 323-329.
- Ghabraie M., Vu K. D., Tata L., Salmieri S., Lacroix M.: Antimicrobial effect of essential oils in combinations against five bacteria and their effect on sensorial quality of ground meat. *LWT – Food Sci. Technol.* 2016, 66, 332-339.
- Gill A. O., Delaquis P., Russo P., Holley R. A.: Evaluation of antilisterial action of cilantro oil on vacuum packed ham. *Int. J. Food Microbiol.* 2002, 73, 83-92.
- Hajlaoui H., Mighri H., Aouni M., Gharsallah N., Kadri A.: Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian Origanum majorana L. essential oil. *Microb. Pathog.* 2016, 95, 86-94.
- Hetta H. F., Kh Meshaal A., Algamal A. M., Yahia R., Makharita R. R., Marraiki N., Shah M. A., Hassan H. M., Batiha G. E.: In-vitro antimicrobial activity of essential oils and spices powder of some medicinal plants against Bacillus species isolated from raw and processed Meat. *Infect. Drug Resist.* 2020, 13, 4367-4378.
- Ibrahim F., Bellail A., Hamad A., Mecherara-Idjeri S.: Antimicrobial activities and chemical composition of the essential oil of Origanum majorana L. growing in Libya. *Int. J. Pharm. Sci. Res.* 2017, 8, 1-11.
- Ibrahim-Hemmat M., El Sabagh-Rasha A., Abou El-Roos-Nahla A., Abd El Fattah-Hend.: Antimicrobial effect of some essential oils on Staphylococcus aureus in minced meat. *Benha Veterinary Medical Journal* 2016, 30, 183-191.
- Kon K., Rai M.: Antibacterial activity of Thymus vulgaris essential oil alone and in combination with other essential oils. *Nusantara Bioscience* 2012, 4, 50-56.
- Krisch J., Pardi Z., Tserennadmid R., Papp T., Vagvolgyi C.: Antimicrobial effects of commercial herbs, spices and essential oils in minced pork. *Acta Biol. Szeged.* 2010, 54, 131-134.
- Marija B., Milan B. Z., Jelena I., Jelena D., Jasna L., Marija D., Radmila M.: Use of essential oils in order to prevent food borne illnesses caused by pathogens in meat. *Tehnologija Mesa* 2013, 54, 14-20.
- Mariutti L. R. B., Nogueira G. C., Bragagnolo N.: Lipid and cholesterol oxidation in chicken meat are inhibited by sage but not by garlic. *J. Food Sci.* 2011, 76, 909-915.
- Mourey A., Canillac N.: Anti-Listeria monocytogenes activity of essential oils components of conifers. *Food Control* 2002, 13, 289-292.
- Omara S. T., Abd El-Moez S., Mohamed A.: Antibacterial effect of Origanum majorana L. (marjoram) and Rosmarinus officinalis L. (rosemary) essential oils on food borne pathogens isolated from raw minced meat in Egypt. *Glob. Vet.* 2014, 13, 1056-1064.
- PN-EN ISO 4833:2004 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów – Metoda płytkowa w temperaturze 30°C.
- PN-EN ISO 6887-1:2000 Mikrobiologia żywności i pasz – Przygotowanie próbek, zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych do badań mikrobiologicznych – Część 1: Ogólne zasady przygotowania zawiesiny wyjściowej i rozcieńczeń dziesięciokrotnych.
- PN-EN ISO 7218:2008 Mikrobiologia żywności i pasz – Wymagania ogólne i zasady badań mikrobiologicznych.
- PN-ISO 17410:2004 Mikrobiologia żywności i pasz – Horyzontalna metoda oznaczania liczby drobnoustrojów psychrotrofowych.
- PN-ISO 4121 Analiza sensoryczna – Metodologia – Ocena produktów żywnościowych przy użyciu metod skalowania.
- PN-ISO 6658 Analiza sensoryczna – Metodologia – Wytyczne ogólne.
- Saad S., Shaltout F., Elroos N., El-Nahas S.: Antimicrobial effect of some essential oils on some pathogenic bacteria in minced meat. *J. Food Nutr. Res.* 2019, 2, 13-21.
- Sandulachi E., Macari A., Ghendov-Mosanu A., Cojocari D., Sturza R.: Antioxidant and antimicrobial activity of basil, thyme and tarragon used in meat products. *J. Adv. Microbiol.* 2021, 11, 591-606.
- Sartoratto A., Machad A., Delarmelina C., Figueira G., Duarte M., Rehder V.: Composition and antimicrobial activity of essential oils from aromatic plants used in Brazil. *Braz. J. Microbiol.* 2004, 35, 275-280.
- Sedki A., El-Zainy A., Rajab B.: Thyme and clove essential oils as antioxidants and antimicrobial in beef sausage. *Polish J. Food Nutr. Sci.* 2020, 8, 117-126.
- Seydim A. C., Sarikus G.: Antimicrobial activity of whey protein based edible films incorporated with oregano, rosemary and garlic essential oils. *Food Res. Int.* 2006, 39, 639-644.
- Shaltout F., Thabet H., Koura H.: Impact of some essential oils on the quality aspect and shelf life of meat. *J. Nutr. Food Sci.* 2017, 7, 647.
- Sharafati-Chaleshtori R., Rokni N., Rafeian-Kopaei M., Drees F., Salehi E.: Antioxidant and antibacterial activity of basil (*Ocimum basilicum* L.) Essential oil in beef burger. *J. Agric. Sci. Technol.* 2015, 17, 817-826.
- Skandamis P. N., Nychas G.-J. E.: Development and evaluation of a model predicting the survival of Escherichia coli O157:H7 NCTC 12900 in homemade eggplant salad at various temperatures, pHs, and oregano essential oil concentrations. *Appl. Environ. Microbiol.* 2000, 66, 1646-1653.

Autor korespondencyjny: dr Przemysław Knysz, ul. Akademicka 12, 20-033 Lublin; e-mail: przemyslaw.knysz@up.lublin.pl