

Florentyna Wanda KUDRZYCKA-BIEŁOSZABSKA

Próba zmniejszenia zanieczyszczenia mikroflorą roślinnych surowców leczniczych

Попытка уменьшения микрофлоры в растительном сырье

An Attempt at Diminishing Impurities on Vegetable Drugs

Każdy roślinny organ (czy to nadziemny, jak liść, ziele, czy podziemny, jak kłącze, korzeń, bulwa) pokryty jest mniejszą lub większą ilością bakterii, pleśni itp. mikroorganizmów (2, 6). Wywołują one na początku suszenia, gdy organ więdnie, a następnie w czasie jego przechowywania, szczególnie w warunkach dużej wilgotności powietrza, często znaczne zmiany w składzie chemicznym. Pinies (3) podkreśla, że o mikrobiologicznych procesach, które mają tak wielkie znaczenie dla wartości surowca, zbyt mało wiemy i jeszcze mniej poświęcamy im uwagi. Wprawdzie w czasie suszenia niektórych surowców w temperaturze 40°—50°—70° giną bakterie bezzarodnikowe i ich zawartość obniża się do 20—25%, lecz ilość pleśniaków zmniejsza się tylko nieznacznie.

Poza tym obecność mikroflory ma niemałe znaczenie dla higieny surowca. Stosowanie sproszkowanych liści, czy korzeni w recepturze i wyciągach spirytusowych robionych z surowców nawet w dobrych warunkach wyprodukowanych i przechowywanych nie da leku pozbawionego bakterii. Dlatego też produkcja surowców zielarskich musi się odbywać w higienicznych warunkach. Zwracałam już na to uwagę w 1951 roku (2), a obecnie przedstawiam wyniki badań nad wpływem mycia nie tylko podziemnych organów, co się zwykle robi, ale i zielnych, tj. liści i ziół.

Celem pracy było zbadanie, czy obmywanie świeżo zerwanych liści roślin leczniczych przed ich suszeniem wpływa na zmniejszenie zanieczyszczenia surowców mikroflorą.

BADANIA WŁASNE

Do badania użyto materiału roślinnego (patrz tabela) zebranego w Ogrodzie Farmakognostycznym Akademii Medycznej w Lublinie. Natychmiast po zbiorze liście podzielono na dwie próbki, z których jedną poddano suszeniu, a drugą najpierw obmyto bieżącą wodą, następnie po otrząśnięciu luźno rozłożono na siatkach i po powierzchniowym obeschnięciu z wody suszono w temperaturze 25°.

Metoda pracy

a) Pobieranie surowca do badania mikrobiologicznego. Biorąc pod uwagę to, że na ilość bakterii wpływa powierzchnia organu, pobierano z liści próbki o tej samej ściśle określonej obustronnej powierzchni (50 cm²), którą oznaczano na siatce milimetrowej.

b) Obmywanie liści przeprowadzano w warunkach jałowych w słoikach ze szlifem w 50 ml wody przez łagodne wstrząsanie w ciągu 30 sek., po czym pobierano płyn do badania pozostawiając liście do dalszego obmywania w ciągu 30 min. Po 30 sek. lub 30 min. pobierano 0,1 ml płynu do próbki i po dodaniu 0,9 ml wody i wstrząsaniu rozlewano go na powierzchni pożywki bulionowo-agarowej w płytce Petriego, wstawiano do cieplarki na 48 godz. i następnie obliczano ilość kolonii, które miały barwę białawą, szaro-białą, kremową, cytrynowo-żółtą, żółcisto-żółtą, cielistą i pomarańczową. Kolonie były koliste, rzadziej wydłużone lub nieforemne, całobrzegie lub z postrzępionymi głęboko falistymi brzegami. Występujące na dużej powierzchni pleśnie barwy szaro-białej miały postać nieforemną. Obliczoną ilość kolonii na 1 płytce przeliczano na 1 ml płynu popłuczynowego.

c) Badanie mikrobiologiczne wykonywano wg ogólnie przyjętych metod (4, 5, 6), określając rodzaj bakterii, reakcję na barwienie metodą Grama i towarzyszącą mikroflorę.

W preparatach mikroskopowych obserwowanych pod immersją stwierdzono, że wszystkie bakterie są gramododatnie. Były to ziarniaki, dwoinki, czworaczki, sześcianki, gronkowce i pałeczki. Odpowiednie dla każdego liścia gatunki bakterii podano w tabeli. W skupiskach pleśni znaleziono w przeważającej ilości grzybnię *Mucor mucedo*, rzadziej występowały pleśnie z rodzaju *Aspergillus* i *Penicilium*. Otrzymane wyniki zebrane w tabeli (rubryki 1 i 2) opracowano statystycznie, celem sprawdzenia, czy mycie liści przed suszeniem wpływa na ich czystość bakteriologiczną. Zastosowano dla różnicy dwóch średnich normalnych nie skorelowanych test istotności t Studenta. Obliczone t° empiryczne z poniższego wzoru wynosi — t° = 2,610

$$t^{\circ} = \frac{\bar{y}_1 - \bar{y}_2}{\sqrt{\frac{n_1 S_1^2 + n_2 S_2^2}{n_1 + n_2 - 2} \left(\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2} \right)}}$$

Dla n — 1 = 15° swobody i ryzyka błędu 5% (pu = 0,95), wartość graniczna odczytana z tablic wynosi t_{0,05} = 2,131, a ponieważ 2,610 > 2,131, można wyprowadzić wniosek, że mycie przed suszeniem istotnie zwiększa czystość bakteriologiczną liści.

Tabela
Wyniki badania zakażenia bakteryjnego liści
Results of the examination of bacterial infection of leaves

Nazwa liścia	Badanie tuż po wysuszeniu				Badanie po 8 mies. przechowywania			
	nie myte		myte		nie myte		myte	
<i>Fol. Athaeae</i>	*80	pał. gron.	70	pał. ziarn.	90	ziarn. pał. pleśniaki		—
	**120	pał. ziarn. pleśniaki	80	pał. ziarn. gronk. pleśn.	20	ziarn. czwor. sześć. pleśn.		—
<i>Fol. Digitalis purpureae</i>	70	pał. ziarn.	50	ziarn. sześć. gronk.	10	pał. pleśn.		—
	140	ziarn. sześć. pleśniaki	70	pał. ziarn.	0	pleśń		—
<i>Fol. Digitalis lanatae</i>	30	pał. gron. ziarn.	50	ziarn. gronk.	0	pleśń		—
	40	ziarn. sześć. pleśniaki	20	pał. ziarn. pleśń	0	pleśń		—
<i>Fol. Farfarae</i>	90	pał. ziarn. sześć. dwoin. pleśniaki	40	pał. ziarn.		—		—
	30	pał. ziarn. gronk. pleśn.	90	pał. ziarn. sześć.		—		—
<i>Fol. Menthae piperitae</i>	80	pał. ziarn. pleśniaki	30	pał. pleśn.	120	sześć. pał. pleśn. gron. ziarn. czwor.	100	ziarn. dwoin. czwor. sześć. pał. pleśn.
	110	pał. sześć. ziarn.	40	pał. pleśn.	60	sześć. pał. pleśn. gron. ziarn. czwor.	80	pleśn. czwor. sześć. pał.
<i>Fol. Menthae crispae</i>	110	pał. czwor. ziarn.	90	pał. ziarn. gronk. pleśn.	20	gronk. ziarn. czwor. sześć. pleśn.	20	pał. pleśń
	150	ziarn. czwor.	20	pał. ziarn.	50	gronk. ziarn. dwoin. pleśn.	50	ziarn. pleśń
<i>Fol. Salviae</i>	30	pał. sześć. gronk.	100	sześć. czwor. pleśn.	20	ziarn. pał. pleśn.		—
	60	gronk. sześć.	30	sześć czwor. pleśn.	60	gronk. dwoin. pał. pleśn.		—
<i>Fol. Stramontii</i>	110	pał. ziarn. pleśn.	30	pał.		—		—
	120	pał. ziarn. pleśniaki	40	ziarn. czwor.		—		—
Srednia	$\bar{Y}_1 = 85,6$		$\bar{Y}_2 = 53,1$		$\bar{Y}_3 = 37,5$		$\bar{Y}_4 = 65$	
Odchylen. standard.	S = 1643,36		S = 652,73		S = 1385,41		S = 875	

*) Ilość kolonii z płukania w czasie 30 sek.

***) Ilość kolonii z płukania w czasie 30 min.

W sposób podobny obliczono istotność wpływu czasu przechowywania surowca nie mytego na zakażenie bakteryjne. Porównano wyniki badań przedstawionych w rubryce I i III (liści nie mytych przechowywanych w ciągu 8 miesięcy i liście nie myte badane zaraz po suszeniu). Obliczone jak poprzednio $t^{\circ} = 3,103$, gdy odczytane $t_{0,05}$ dla $n_1 + n_3 - 2$, co daje 26 stopni swobody, wynosi 2,056. Z tego wynika, że przechowywanie surowca nie mytego w czasie 8 miesięcy w dobrych warunkach, istotnie obniża ilość bakterii. Po trzecie nie wykazano istotnej różnicy między surowcem mytym, badanym tuż po suszeniu (rubryka II) a tym samym surowcem przechowywanym przez 8 miesięcy (rubryka IV).

WNIOSKI

1. Mycie pod bieżącą wodą liści *Folium Althaeae*, *Folium Digitalis purpureae*, *Folium Digitalis lanatae*, *Folium Farfarae*, *Folium Menthae piperitae*, *Folium Menthae crispae*, *Folium Salviae* i *Folium Stramonii* wpływa na zwiększenie ich czystości bakteriologicznej natychmiast po wysuszeniu.

2. Stopień zakażenia liści mytych, zaraz po wysuszeniu i po 8 miesiącach odpowiedniego przechowywania nie wykazuje różnicy.

3. Przechowywanie przez okres 8 miesięcy suchych liści (nie mytych) w warunkach zabezpieczających przed dodatkowym zakażeniem obniża ilość bakterii.

PIŚMIENNICTWO

1. Elandt R.: Statystyka matematyczna w zastosowaniu do doświadczalnictwa rolniczego. PWN, Warszawa 1964.
2. Kudrzycka-Bieloszabska F. W.: Farm. Pol., nr 9, 234—239, 1951.
3. Pinies A. I.: Aptecznoje dzieło, 6, 32, 1957.
4. Przesmycki F.: Zarys bakteriologii praktycznej. Lek. Inst. Nauk. Bad., 38, 43, 44, 45, 53, 59, Warszawa 1947.
5. Strasburger E., Noll F., Schimper A.: Botanika, 509—530, PWRiL, Warszawa 1960.
6. Szafer W., Dyakowski B.: Zarys Botaniki z ćwiczeniami, 294, 301, PWS, Warszawa 1947.

Otrzymano 18 XII 1968.

РЕЗЮМЕ

Автором установлено, что количество разнообразных грамположительных бактерий, выступающих на листьях: *Folium Althaeae*, *Digitalis purp.*, *Digitalis lan.*, *Farfarae*, *Menthae crisp.*, *Salviae*, *Stramonii*, после обмывания водой перед сушением уменьшается и после 8 ме-

сяцев хранения не изменяется. Количество бактерий на невымытых листьях после 8 месяцев хранения уменьшается. Проведены статистические вычисления.

SUMMARY

The author reports that the amount of gram-positive bacteria, on leaves of *Folium Althaeae*, *Digitalis purp.*, *Digitalis lan.*, *Farfarae*, *Menthae crisp.*, *Salviae* and *Stramonii*, decreased after washing with water, prior to drying up process, and maintained the same level after an eight-month storage period. The author also reports that the amount of the bacteria in the unwashed leaves, adequately stored for an eight-month period, was found to decrease. The results were statistically estimated.

