

Agata Stobnicka, Małgorzata Gniewosz, Anna Miętuszevska

PRZECIWBAKTERYJNE DZIAŁANIE SOKÓW OWOCOWYCH Z ŻURAWINY, ROKITNIKA, NONI I GOJI

Zakład Mikrobiologii i Biotechnologii Żywności Wydziału Nauk o Żywności
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: dr hab. S. Błażejczak, prof. SGGW

Określono minimalne stężenie hamujące (MIC) i minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) soków owocowych z żurawiny, rokitnika, noni i goji w stosunku do czterech szczepów bakteryjnych: S. aureus ATCC 25923, B. subtilis ATCC 6633, E. coli ATCC 25922 i S. Enteritidis ATCC 13076. Najskuteczniejszym badanym sokiem, który hamował wzrost bakterii Gram (+), okazał się sok żurawinowy niepasteryzowany. MIC tego soku w stosunku do S. aureus ATCC 25923 i B. subtilis ATCC 6633 wynosiło 2 mg/cm³. Wzrost bakterii Gram (-) najskuteczniej był hamowany przez sok z owoców noni, którego MIC wobec szczepów E. coli ATCC 25922 i S. Enteritidis ATCC 13076 wynosiło 7,8 mg/cm³. W przypadku działania bakteriobójczego badanych soków, analogicznie najefektywniejszym w stosunku do szczepu S. aureus ATCC 25923 i B. subtilis ATCC 6633 okazał się sok żurawinowy niepasteryzowany, a w stosunku do szczepów E. coli ATCC 25922 i S. Enteritidis ATCC 13076 sok z owoców noni. Szczep S. aureus ATCC 25923 był najbardziej wrażliwy na działanie wszystkich soków.

Hasła kluczowe: MIC, MBC, żurawina, rokitnik, goja, noni.

Key words: MIC, MBC, żurawina, rokitnik, goja, noni.

Zainteresowanie związkami chemicznymi o naturalnym pochodzeniu i działaniu przeciwdrobnoustrojowym przyczynia się do coraz częstszego prowadzenia badań w tym zakresie. W różnych strefach klimatycznych występuje szereg gatunków roślin, których liście, kora, korzenie lub owoce zawierają związki o działaniu hamującym lub bójczym w stosunku do bakterii, drożdży czy pleśni. Wiele z tych roślin wykorzystywanych jest przez lokalną ludność w tradycyjnej medycynie ludowej. W niniejszej pracy przedstawiono wyniki działania przeciwdrobnoustrojowego czterech soków z owoców mających zastosowanie w tradycyjnej medycynie ludowej, przeciwko wybranym szczepom bakterii.

Żurawina wielkoowocowa (*Vaccinium macrocarpon*) to wieloletnia krzewinka z rodziny *Ericaceae* występująca powszechnie na terenach bagiennych i podmokłych Ameryki Północnej, Europy i Syberii. W Polsce stanowi antropofit zamieszkiwany. Jej owoce stanowią czerwone lub czerwono-czarne jagody, o charakterystycznym

cierpkim smaku. Roślina ta od wieków stanowi nie tylko ważny składnik diety, ale stosowana jest również w medycynie ludowej w takich schorzeniach jak stany zapalne układu moczowego, zapalenia śluzówki jamy ustnej, przeziębienia, angina czy problemy żołądkowo-jelitowe (1). Sok z owoców bogaty jest w antocyjany (glikozydy cyjanidyny i peonidyny), flawonoidy (kwercetyna, kemferol, mirycetyna), kwasy organiczne (benzoesowy, cytrynowy, jabłkowy, p-kumarowy, malonowy, chinowy, p-anizowy, szikimowy), triterpeny (kwas oleanolowy i ursolowy), katechiny i proantocyjanidyny oligomeryczne (proantocyjanidyny typu A2 i B2 oraz ich tetramery) (2, 3).

Goja (*Lycium barbarum*), zwana kolcowojem pospolitym należy do rodziny psiankowatych *Solanaceae*. Roślina ta występuje na terenie Tybetu, Mongolii, Indii i Chin. Owocem goji są jaskrawoczerwone jagody o łagodnym, słodko-kwaśnym smaku (4). Sok z owoców bogaty jest w karotenoidy (zeaksantyna), polisacharydy, flawonoidy czy związki seskwiterpenowe (solawetiwon, α -cyperon) (5). Roślina ta znana jest głównie ze swoich właściwości przeciwutleniających, ale w literaturze istnieją także doniesienia odnośnie jej działania przeciwdrobnoustrojowego w stosunku do szczepów *Staphylococcus aureus* i *Escherichia coli* (6).

Noni (*Morinda citrifolia*), czyli tzw. morwa indyjska należy do rodziny marzanowatych *Rubiaceae*. Krzew ten pochodzi z południowo-wschodniej Azji i wysp Pacyfiku, a uprawiany jest powszechnie w Indiach, Polinezji, Ameryce Południowej i na Karaibach (7). Owoce tej rośliny są białe i charakteryzują się soczystym miąższem o nieprzyjemnym smaku i zapachu. Od wieków *Morinda citrifolia* stosowana jest przez Polinezyjczyków jako roślina lecznicza, tzw. aspiryna przeszłości (8). Sok z owoców używany był jako płyn do płukania gardła w celu złagodzenia jego bólu, co wskazuje na jego aktywność przeciwzapalną. Owoce mają również zastosowanie w leczeniu schorzeń układu pokarmowego. Wyniki badań wskazują na możliwość zastosowania dojrzałych i niedojrzałych owoców w leczeniu i zapobieganiu infekcji żołądka i jelit (9). Badania wykazały, że noni jest bogatym źródłem antrachinonów, takich jak damnacanthal, rubiadim, morindon i lucidin. W soku obecne są także triterpeny (kwas ursolowy), związki fenolowe, β -sitosterol, alizaryna, kseronina. Za możliwe działanie przeciwdrobnoustrojowe odpowiedzialne są głównie związki z grupy antrachinonów i triterpenów (10, 11).

Rokitnik (*Hippophae rhamnoides*), czyli tzw. rosyjski ananas to gatunek rośliny z rodziny oliwnikowatych (*Elaeagnaceae*). Występuje w Europie i Azji, aż po Chiny, głównie wzdłuż wybrzeży morskich oraz w Polsce na wybrzeżu Morza Bałtyckiego (12). Owoce są soczyste, aromatyczne, o charakterystycznym kwaśno-cierpkim smaku, słodkie stają się dopiero po przemarznięciu. W medycynie tradycyjnej owoce stosowane są przy dolegliwościach żołądkowych, przeziębieniach i chorobach skóry. W soku z rokitnika obecne są kwasy organiczne (kwas malonowy, kwas ursolowy, kwas chininowy), beta-karoten, polisacharydy i flawonoidy (13-15). Zastosowanie powyższych roślin w tradycyjnej medycynie przeciwko schorzeniom typu zapalnego i bakteryjnego wskazuje na ich możliwe działanie przeciwdrobnoustrojowe, dlatego zasadne było podjęcie badań w tym zakresie.

MATERIAŁ I METODY

Do badań użyto 100% pasteryzowanego i 100% niepasteryzowanego soku z owoców żurawiny wielkoowocowej (*Vaccinium macrocarpon*) (Oleofarm, Polska), 100% niepasteryzowanego soku z owoców goji (*Lycium barbarum*) (Oleofarm, Polska), 100% pasteryzowanego soku z owoców noni (*Morinda citrifolia*) (Oleofarm, Polska) oraz 100% pasteryzowanego soku z owoców rokitnika (*Hippophae rhamnoides*) (Oleofarm, Polska). Wszystkie badane soki nie zawierały dodatku środków konserwujących. W badaniach wykorzystano szczepy testowe bakterii: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Salmonella Enteritidis* ATCC 13076 oraz *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Inokulum bakterii testowych zawierało $1,0 \times 10^7$ komórek/cm³. Dla każdego soku oznaczono minimalne stężenie hamujące (MIC, ang. Minimal Inhibitory Concentration) i minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC, ang. Minimal Bactericidal Concentration) w stosunku do szczepów testowych. MIC oznaczono metodą makrorozcieńczeń na podłożu płynnym *Mueller-Hinton* (Merck, Niemcy). MBC oznaczono metodą płytkową na podłożu stałym *Mueller-Hinton Agar* (BTL, Polska) (16).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Wyniki badań dotyczących minimalnego stężenia hamującego oraz minimalnego stężenia bakteriobójczego soków w stosunku do badanych szczepów bakterii przedstawiono w tab. I.

Tabela 1. Wyniki działania przeciwbakteryjnego soków (MIC, MBC) na badane szczepy bakterii

Table 1. Results of antibacterial activity of juices (MIC, MBC) on tested bacteria strains

Szczep	Sok żurawinowy niepasteryzowany		Sok żurawinowy pasteryzowany		Sok z rokitnika		Sok z noni		Sok z goji	
	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC	MIC	MBC
	[mg/cm ³]									
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	2,0	4,0	2,3	9,3	4,8	9,7	7,8	15,7	22,1	-
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	2,0	2,0	4,7	4,7	4,8	4,8	7,8	7,8	44,2	44,2
<i>E.coli</i> ATCC 25922	8,1	16,2	9,3	18,7	9,7	19,3	7,8	15,7	44,2	-
<i>S.Enteritidis</i> ATCC 13076	8,1	16,2	9,3	18,7	9,7	19,3	7,8	15,7	44,2	88,5

(-) brak działania bakteriobójczego.

Wszystkie badane soki były aktywne w stosunku do badanych szczepów bakterii testowych. Minimalne stężenie hamujące (MIC) soku żurawinowego niepasteryzowanego w stosunku do *S. aureus* ATCC 25923 wynosiło $2,0 \text{ mg/cm}^3$, natomiast minimalne stężenie bakteriobójcze (MBC) $4,0 \text{ mg/cm}^3$. Dla *B. subtilis* ATCC 6633 wartości MIC i MBC były równe i wynosiły $2,0 \text{ mg/cm}^3$. W przypadku *E. coli* ATCC 25922 oraz *S. Enteritidis* ATCC 13076, wartości MIC i MBC kształtowały się odpowiednio na poziomie $8,1 \text{ mg/cm}^3$ oraz $16,2 \text{ mg/cm}^3$.

Wartości MIC soku żurawinowego pasteryzowanego w stosunku do *S. aureus* ATCC 25923, *E. coli* ATCC 25922 i *S. Enteritidis* ATCC 13076 były niewiele większe od wartości MIC tego soku nie poddanego pasteryzacji. Natomiast dwukrotnie większe MIC i MBC soku stwierdzono w stosunku do *B. subtilis* ATCC 6633 ($4,7 \text{ mg/cm}^3$).

Sok z rokitnika wykazywał słabsze działanie bakteriostatyczne i bakteriobójcze wobec wszystkich szczepów w porównaniu z sokami z żurawiny. W stosunku do *S. aureus* ATCC 25923 MIC tego soku wynosiło $4,8 \text{ mg/cm}^3$, a MBC $9,7 \text{ mg/cm}^3$. Podobnie jak w przypadku poprzednich soków, wartości MIC i MBC soku z rokitnika względem *B. subtilis* ATCC 6633 były sobie równe i wynosiły $4,8 \text{ mg/cm}^3$. Szczepy bakterii gramujemnych tj. *E. coli* ATCC 25922 i *S. Enteritidis* ATCC 13076 były mniej wrażliwe na działanie tego soku od bakterii gramodatnich. Wartości MIC oraz MBC kształtowały się odpowiednio na poziomie $9,7 \text{ mg/cm}^3$ oraz $19,3 \text{ mg/cm}^3$.

Sok z noni wykazywał najsilniejsze działanie hamujące wzrost bakterii gramujemnych spośród wszystkich badanych soków. Stwierdzono jednakowe bakteriostatyczne działanie tego soku w stosunku do szczepów testowych wynoszące $7,8 \text{ mg/cm}^3$. Równocześnie obserwowano słabsze jego działanie na bakterie gramodatnie, zwłaszcza bakteriobójcze, które było zróżnicowane i mieściło się w granicach $7,8\text{-}15,7 \text{ mg/cm}^3$.

MIC soku z goji względem bakterii testowych były kilkakrotnie większe niż dla pozostałych soków. Wzrost szczepu *S. aureus* ATCC 25923 był hamowany dopiero przy stężeniu $22,1 \text{ mg/cm}^3$ i równocześnie sok ten nie wykazywał działania bakteriobójczego w stosunku do tej bakterii. Dwukrotnie większe wartości MIC ($44,2 \text{ mg/cm}^3$) stwierdzono w stosunku do *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922, *S. Enteritidis* ATCC 13076. Wartość MBC wobec *S. Enteritidis* ATCC 13076 była największa i wynosiła aż $88,5 \text{ mg/cm}^3$.

Biorąc pod uwagę działanie soków hamujące wzrost bakterii testowych stwierdzono, że zarówno sok żurawinowy pasteryzowany jak i niepasteryzowany były najbardziej skuteczne w stosunku do szczepu *S. aureus* ATCC 25923. Z kolei szczep *B. subtilis* ATCC 6633 był najbardziej wrażliwy na działanie soku żurawinowego niepasteryzowanego, a szczepy *E. coli* ATCC 25922 i *S. Enteritidis* ATCC 13076 na działanie soku z owoców noni.

Podobnie działały soki bakteriobójczo; najefektywniejszym w stosunku do szczepu *S. aureus* ATCC 25923 i równocześnie *B. subtilis* ATCC 6633 okazał się sok żurawinowy niepasteryzowany, a w stosunku do szczepów *E. coli* ATCC 25922 i *S. Enteritidis* ATCC 13076 sok z owoców noni. Szczepem najbardziej wrażliwym

na działanie wszystkich soków był *S. aureus* ATCC 25923. Najskuteczniejszym badanym sokiem wykazującym działanie hamujące wzrost testowych bakterii przy najniższym stężeniu był sok żurawinowy niepasteryzowany. Oznacza to, że sok ten zawierał prawdopodobnie silniejsze związki o działaniu przeciwbakteryjnym, niż pozostałe soki, które wykazują takie działanie dopiero w wyższych stężeniach. Wszystkie badane szczepy wykazywały większą wrażliwość na niepasteryzowany niż na pasteryzowany sok żurawinowy. Różnica w skuteczności przeciwbakteryjnego działania tych soków, wskazuje na niekorzystne efekty stosowania wysokiej temperatury utrwalania soku w stosunku do jego aktywnych składników, które prawdopodobnie zostały inaktywowane w trakcie tego procesu.

Według danych literaturowych wszystkie badane soki zawierają związki o charakterze kwasowym (2, 5, 7, 15). W związku z tym, głównym, ale najprawdopodobniej nie jedynym, czynnikiem hamującym wzrost badanych drobnoustrojów było obniżenie pH podłoża.

WNIOSKI

1. Najskuteczniejsze działanie hamujące i bakteriobójcze w stosunku do bakterii Gram (+) wykazuje sok żurawinowy niepasteryzowany.
2. Najskuteczniejsze działanie hamujące i bakteriobójcze w stosunku do bakterii Gram (-) wykazuje sok z owoców noni.
3. Szczepem o największej wrażliwości w stosunku do badanych soków jest szczep *S. aureus* ATCC 25923.
4. Pasteryzacja soku żurawinowego spowodowała obniżenie działania bakteriostatycznego i bakteriobójczego wobec szczepów testowych.

PODZIĘKOWANIA

Dziękujemy firmie Oleofarm (Polska) za udostępnienie próbek soków do badań.

A. Stobnicka, M. Gniewosz, A. Miętuszevska

ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CRANBERRY, SEA-BUCKTHORN, NONI AND WOLFBERRY JUICES

Summary

Defined the minimum inhibitory concentration (MIC) and minimum bactericidal concentration (MBC) of cranberry, wolfberry, noni and the sea-buckthorn juices against four bacterial strains: *S. aureus* ATCC 25923, *B. subtilis* ATCC 6633, *E. coli* ATCC 25922 and *S. Enteritidis* ATCC 13076. Unpasteurized cranberry juice was the most effective juice, which inhibited the growth of Gram (+). For *S. aureus* ATCC 25923 and *B. subtilis* ATCC 6633, the MIC of this juice was 2 g/cm³. Noni juice had the most effective inhibitory activity for Gram (-) strains. MIC for *E. coli* ATCC 25922 and *S. Enteritidis* ATCC 13076 at a concentration of 7.8 g/cm³. In the case of bactericidal activity, the most

effective juice against *S. aureus* ATCC 25923 was unpasteurized cranberry juice (MBC 4.0 g/cm³). Unpasteurized cranberry juice was the most effective against *B. subtilis* ATCC 6633, as well (MBC 2.0 g/cm³). Noni juice was the most effective against *E. coli* ATCC 25922 and *S. Enteritidis* ATCC 13076 (MBC 9.7 g/cm³, pH 4.0). *S. aureus* ATCC 25923 was the most sensitive strain on all juices.

PIŚMIENNICTWO

1. Rodowski D.: Żurawina – nowe spojrzenie na właściwości lecznicze. Post. Fit., 2001; 2-3: 28-31.
2. Hong V., Wrolstad R.E.: Cranberry juice composition. J. AOAC Int., 1986; 69: 199-207.
3. Witkowska-Banaszczak E., Bylka W.: Bezpieczeństwo stosowania owoców żurawiny, Herba Polonica, 2006, 3 (52): 109-110.
4. Bogacz K.: Goji – owoc zdrowia i długowieczności, Przem. Ferment. Owoc. Warz., 2009; 9 (53): 33-34.
5. Potterat O.: Goji (*Lycium barbarum* and *L. chinense*): Phytochemistry, Pharmacology and Safety in the Perspective of Traditional Uses and Recent Popularity. Planta Med., 2010; 76: 7-19.
6. Dong W., Wang T., Wang F.: Antibacterial function of seleniferous lycium barbarum on *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. J. Xingxiang Med. College, 2009; 26 (3): 249-251.
7. Chan-Blanco Y., Vaillant F., Mercedes Perez A., Reynes M., Brillouet J.M., Brat P.: The noni fruit (*Morinda citrifolia* L.): A review of agricultural research, nutritional and therapeutic properties. J. Food Comp. Anal., 2006; 19: 645-654.
8. Druri M.: Superowoce. Przem. Spoż., 2010; 5 (64): 12-16.
9. Rajarajan S., Nisha K.J., Shanthi S.: In vitro bactericidal activities of extracts from ripe and unripe fruit of “noni”. Nature Precedings, 2009; 6.
10. Mian-Ying W., West J.B., Jensen C.J., Nowicki D., Chen S., Palu A., Anderson G., Morinda citrifolia (Noni): A literature review and recent advances in Noni research, Acta Pharmacol. Sin., 2002; 23 (12): 1127-1141.
11. Yang J., Gadi R., Paulino R., Thomson T.: Total phenolics, ascorbic acid, and antioxidant capacity of noni (*Morinda citrifolia* L.) juice and powder as affected by illumination during storage, Food Chem., 2010; 122: 627-632.
12. Mazerant-Leszkowska A.: Mała księga ziół. Warszawa: Inst. Wyd. Zw. Zawodowych, 1990; 234.
13. Zheng R.X., Xu X.D., Tian Z., Yang J.S.: Chemical constituents from the fruits of *Hippophae rhamnoides*, Nat. Prod. Res., 2009; 23 (15): 1451-1456.
14. Sannai A., Fujimori T., Kato K.: Isolation of (-)-1,2-dehydro- α -cyperone and solavetivone from *Lycium chinense*. Phytochem., 1982; 21: 2986-2987.
15. Tian M., Wang M.: Studies on extraction, isolation, and composition of *Lycium barbarum* polysaccharides. J. Trad. Chinese Herb Drugs, 2006; 31 (19): 1603-1607.
16. Espinel-Ingroff A., Pfaller MA.: Antifungal agents and susceptibility testing. In: Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH, editors. Manual of clinical microbiology. Washington DC, ASM Press, 1995.

Adres: 02-776 Warszawa, Nowoursynowska 159c.