

MILENA A. STACHELSKA, ANTONI JAKUBCZAK,
BOGUSŁAWA WIĘTCZAK, SYLWIA TYL

OCENA WRAŻLIWOŚCI *YERSINIA ENTEROCOLITICA* NA WYBRANE SOLE KWASÓW FENOLOWYCH

Streszczenie

Celem pracy była ocena aktywności przeciwbakteryjnej soli kwasów fenolowych w stosunku do *Yersinia enterocolitica* ATCC 23715. *Y. enterocolitica* jest fakultatywnie beztlenową pałeczką Gram-ujemną i jest przyczyną zatruc pokarmowych u ludzi. Sole kwasów fenolowych mogą skutecznie eliminować patogeny z żywności. Wykazano, że sole kwasów fenolowych hamowały wzrost tego patogenu. Badaniami objęto sole litu, sodu i potasu kwasów *o*-kumarowego, *m*-kumarowego oraz *p*-kumarowego. Zastosowano wodne roztwory soli o następujących stężeniach [%]: 1, 2, 3, 4 i 5. Wykorzystano metodę dyfuzyjno-studzienkową. Wyniki badań wykazały, że *Y. enterocolitica* jest wrażliwa na sole kwasów *o*-kumarowego i *m*-kumarowego, natomiast nie stwierdzono wrażliwości na sole kwasu *p*-kumarowego. Sole kwasów fenolowych mogą być użyte do utrwalania żywności jako naturalne konserwanty chemiczne.

Słowa kluczowe: *Yersinia enterocolitica*, działanie przeciwbakteryjne, sole kwasów fenolowych

Wprowadzenie

Do przedłużania okresu trwałości produktów spożywczych stosuje się m.in. konserwanty chemiczne, w tym benzoosan sodu, benzoosan wapnia, sorbinian potasu, które mają na celu przedłużenie okresu przydatności do spożycia produktów spożywczych. Mają one właściwości przeciwbakteryjne i przeciwutleniające, ale niekiedy nie są obojętne dla organizmu człowieka. Wiadomo, że ulegają metabolizmowi w organizmie, jednak mogą powodować niepożądane reakcje pokarmowe po spożyciu określonego produktu lub jego składników. Istnieje zatem zapotrzebowanie konsumentów na żywność, która jest wolna od wszelkich dodatków, a skutecznie działające antyoksydanty powinny być pochodzenia naturalnego [1].

Dr inż. M.A. Stachelska, prof. dr hab. A. Jakubczak, inż. B. Więtczak, mgr inż. S. Tyl, Instytut Technologii Żywności, Państwowa Wyższa Szkoła Informatyki i Przedsiębiorczości w Łomży, ul. Akademicka 14, 18-400 Łomża

Przedmiotem badań są interakcje związków biologicznie czynnych występujących w roślinach z różnymi mikroorganizmami. Ekstrakty roślinne wykazują właściwości hamowania wzrostu patogenów żywności, m.in. bakterii z rodzaju *Yersinia*, *Bacillus*, *Corynebacterium*, *Proteus*, *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Klebsiella*, *Micrococcus*, *Escherichia* i *Pseudomonas*, a także drożdży z rodzaju *Candida*, *Malassezia* i *Trichosporon* [3, 15]. Stąd alternatywą stosowania konserwantów chemicznych mogą być metody biokonserwacji żywności, zwiększające bezpieczeństwo produktów spożywczych. Właściwości przeciwutleniające wykazują aromatyczne hydroksykwasy: *o*-, *m*- i *p*-kumarowe, które są obecne w warzywach i owocach w różnych formach chemicznych, jako związki rozpuszczalne bądź nierozpuszczalne, a także związane z innymi cząsteczkami [13]. W roślinach istnieje grupa związków w postaci polifenoli, które skutecznie hamują powstawanie wolnych rodników i działają jako substancje hamujące wzrost mikroflory saprofitycznej i chorobotwórczej. Wolne rodniki, które mają niesparowany elektron, powstają na skutek oddziaływania promieniowania albo jako produkty uboczne procesów metabolicznych [16]. Z łatwością wchodzi w reakcję z różnymi składnikami komórki bakteryjnej, doprowadzając do jej uszkodzenia i uwolnienia składników [24]. Jednocześnie doprowadzają do utleniania tłuszczów w produktach spożywczych, co wpływa na pogorszenie właściwości sensorycznych żywności. Stąd wiele uwagi poświęca się roli związków fenolowych w zapewnieniu świeżości produktów spożywczych [6, 17, 20, 22].

Bogate w polifenole są glony. Równie wysoki poziom polifenoli, takich jak: katechiny, epikatechiny i kwas galusowy znajduje się w wodorostach [22]. Związki fenolowe, w tym flawonoidy, stanowią szczególną grupę substancji biologicznie czynnych pochodzenia roślinnego. Są one znane jako metabolity wtórne syntetyzowane przez prawie wszystkie rośliny. Flawonoidy wykazują działanie hamujące wzrost drobnoustrojów [17]. Prowadzone są badania eksperymentalne na temat zależności pomiędzy strukturą chemiczną substancji biologicznie aktywnych pochodzenia roślinnego a ich właściwościami przeciwdrobnoustrojowymi [12]. Zastosowanie naturalnych ekstraktów roślinnych stwarza możliwość eliminacji patogenów z żywności [2].

Przypuszcza się, że substancje czynne w postaci zawartych w warzywach i owocach związków fenolowych mają bezpośrednie biobójcze działanie na patogeny żywności. Wszelkie reakcje chemiczne i biologiczne są zależne od systemu redox – fenol – semichinon – chinon. Mają one zdolność do utraty dwóch elektronów i protonów, co prowadzi do tworzenia się bardziej aktywnych rodników chinonu i semichinonu, a to wpływa na całkowity efekt reakcji układu redoks [19]. Ze względu na takie cechy, polifenole i produkty ich utleniania skutecznie hamują aktywność enzymatyczną.

Związki fenolowe obecne w winach białych i czerwonych działały hamująco na wzrost *C. albicans*, przy czym średnica strefy zahamowania w przypadku *C. albicans* była mniejsza od średnicy mierzonej dla *S. aureus* i *E. coli*. Oznacza to, że szczepy

drożdży były mniej wrażliwe na działanie kwasów fenolowych w porównaniu ze szczepami bakterii. Zróżnicowana wrażliwość drożdży i bakterii na działanie kwasów fenolowych wynika z budowy ich ściany komórkowej [20, 24].

Dowiedziano także, że liczne przyprawy, takie jak: tymianek, bazylika, oregano i kminek charakteryzują się aktywnością przeciwbakteryjną. Hamują one wzrost wielu bakterii odpowiedzialnych za zatrucia pokarmowe, do których należą: *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus* i *S. aureus*. Mniejszą wrażliwość na działanie ekstraktów roślinnych wykazała *Listeria monocytogenes*, a *E. coli* i *Y. enterocolitica* były całkowicie odporne na działanie ekstraktu z kminku. W ekstraktach roślinnych występują bioaktywne polifenole w postaci kwasu kawowego, kwasu ferulowego, protokatechowego, kwercetyny i kempferolu [3, 17].

Ekstrakty obecne w roślinie jadalnej *Alpinia galanga* miały skuteczniejsze działanie hamujące wzrost bakterii Gram-dodatnich w porównaniu z bakteriami Gram-ujemnymi. Dużą wrażliwość na ich działanie wykazały gatunki, takie jak: *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *S. dysenteriae* i *S. boydii*. Ekstrakty roślinne uzyskane z rośliny *Alpinia galanga* nie wykazały zdolności do hamowania wzrostu gatunków z rodzaju *Salmonella*, gatunku *E. coli* O157:H7 czy też *S. sonnei*. Dużo skuteczniejsze oddziaływanie destrukcyjne związków fenolowych na komórki bakterii Gram-dodatnich wynika z faktu, że komórki bakterii Gram-ujemnych mają zewnętrzną powłokę otaczającą ścianę komórkową i tym samym utrudniającą dyfuzję związków hydrofobowych do wnętrza komórki przez błonę liposacharydową. Ekstrakty roślinne uzyskane z kłączy *Alpinia galanga* powodowały uszkodzenie i koagulację cytoplazmy w komórkach *S. aureus*.

Kwiaty roślin leczniczych i zioła wykazują właściwości hamowania wzrostu licznych bakterii chorobotwórczych. Ekstrakty roślinne z kwiatów rośliny *Phrygilanthus acutifolius* oddziaływały bakteriobójczo na *S. aureus* oraz bakteriostatycznie na *Pseudomonas aeruginosa* [8, 10]. Powszechnie znane w Tajlandii tzw. „flower vegetables” oddziaływały bakteriobójczo na *Bacillus cereus*, *E. coli* oraz *S. aureus* [11]. *S. aureus* był również bardzo wrażliwy na ekstrakty roślinne zawarte w *Michelia champaca*. Olejki eteryczne zawarte w roślinie *Phlomis mauritanica* skutecznie hamowały wzrost *S. aureus* i *S. typhimurium* [14]. Olejki eteryczne zawarte w kwiatach rośliny *Alangium salviifolium* uszkadzały komórki takich gatunków, jak: *Bacillus subtilis*, *S. aureus*, *S. sonnei*, *S. boydii* i *S. typhi* [4, 14].

Olejki eteryczne zawarte w czosnku, cebuli, cynamonie, tymianku, oregano, czarnym pieprzu wykazują działanie przeciwdrobnoustrojowe. Skutecznie hamują rozwój bakterii, drożdży i pleśni. Stopień hamowania wzrostu zależy od rodzaju i koncentracji olejków eterycznych oraz od rodzaju komórek mikroorganizmów. Komórki wegetatywne i przetrwalnikujące *B. cereus* były bardziej wrażliwe na działanie olejków w porównaniu z komórkami *C. botulinum*. Większość olejków eterycznych przy zasto-

sowaniu powyżej 300 ppm wykazuje działanie hamujące wzrost mikroorganizmów. Stopień wrażliwości mikroorganizmów zależy od ich powinowactwa do wody. Im mniejsze jest ich powinowactwo do wody, tym bardziej wrażliwe będą na działanie olejków mających charakter hydrofobowy. Blank i wsp. [7] dowiedli, że komórki przetrwalnikujące *Bacillus licheniformis* wykazywały hydrofobowy charakter i tym samym były bardziej wrażliwe na działanie eugenolu i olejków eterycznych zawartych w goździkach w porównaniu z komórkami przetrwalnikującymi *Bacillus subtilis*. Właściwości przeciwdrobnoustrojowe olejków eterycznych zależą od ich budowy chemicznej i obecności frakcji aktywnej, która może mieć charakter związku fenolowego, kwasu, aldehydu, ketonu bądź węglowodoru. Wielu autorów podjęło próbę klasyfikacji olejków eterycznych pod względem ich właściwości przeciwdrobnoustrojowych. Gueldner i wsp. [10] stwierdzili, że olejki eteryczne jako związki fenolowe wykazały najlepsze właściwości hamowania wzrostu drobnoustrojów.

Przykładem drobnoustrojów stanowiących zanieczyszczenie żywności są bakterie z rodzaju *Yersinia*, należące do rodziny *Enterobacteriaceae*. W obrębie tego rodzaju istnieje 11 gatunków i 5 biowarów, w tym *Y. pestis*, jako pałeczka dżumy. Istotnym problemem dla naukowców jest skuteczne eliminowanie *Y. enterocolitica* z produktów spożywczych [9, 21]. *Y. enterocolitica* została wyizolowana z ciastek, wędlin pakowanych próżniowo, owoców morza, warzyw i mleka. Izolowano ją również z wołowiny, jagnięciny i wieprzowiny. Spośród wszystkich źródeł, świnia jest głównym nosicielem szczepów chorobotwórczych dla człowieka [6].

Celem przeprowadzenia badań było porównanie aktywności przeciwdrobnoustrojowej wybranych związków polifenolowych wobec *Yersinia enterocolitica*.

Material i metody badań

Związki do badań syntezowano w Zakładzie Chemii Politechniki Białostockiej. Sole metali pierwszej grupy układu okresowego otrzymano mieszając stechiometryczną ilość kwasu *o*-, *m*- i *p*-kumarowego (kwasy hydroksycynamonowe) z określoną objętością odpowiedniego wodorotlenku (litu, sodu lub potasu). Substancje reagują ze sobą w stosunku molowym 1:1. Otrzymane roztwory ogrzewano w łaźni wodnej, mieszając do całkowitego rozpuszczenia kwasu. Następnie rozpuszczalnik odparowywano, a otrzymane osady suszono w suszarce przez 24 h w temp. 110 °C. Poprawność analizy sprawdzano, rejestrując widma FT-IR w spektrofotometrze EQUINOX 55 firmy BRUKER. W celu sprawdzenia aktywności przeciwbakteryjnej soli wobec *Y. enterocolitica* przygotowano ich roztwory wodne o stężeniach [%]: 1, 2, 3, 4 i 5.

Szczep *Y. enterocolitica* ATCC 23715 użyty do analiz mikrobiologicznych uzyskano z kolekcji ATCC (American Type Culture Collection, USA). Kultura *Y. enterocolitica* była przechowywana w 5 % roztworze glicerolu w temp. -20 °C.

Badania prowadzono z użyciem 16-godzinnej hodowli *Y. enterocolitica* inkubowanej w pożywce płynnej Tryptic Soy Bulion (bioMérieux, Warszawa, Polska) w temp. 37 °C. Gęstość optyczną tej kultury określano przy długości fali $\lambda = 625$ nm (Ultraspec III, Pharmacia, Szwecja). Proces inkubacji kończono w momencie, gdy gęstość optyczna osiągała wartość mieszczącą się w przedziale 0,8-1,0. Rozcieńczenie kultury prowadzono do momentu uzyskania absorbancji 0,1 i w takiej postaci była używana do dalszych badań.

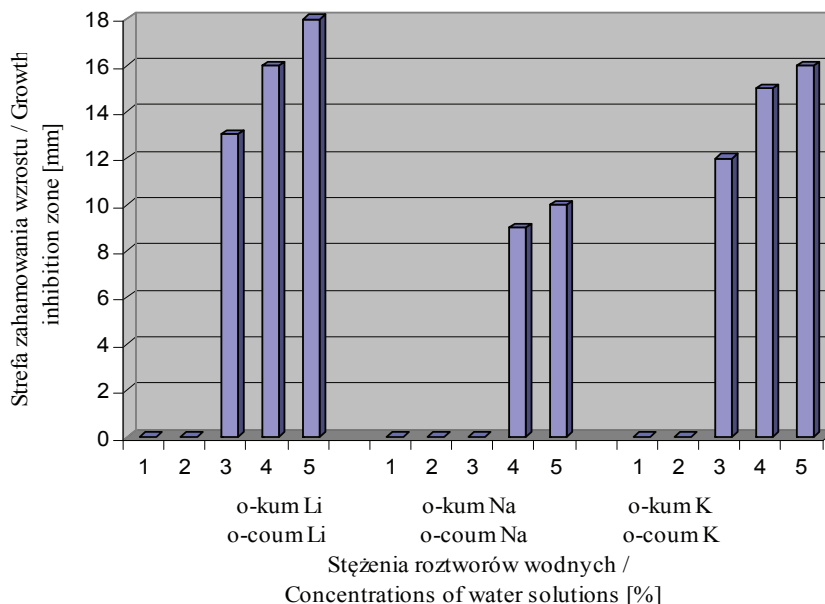
Aktywność przeciwbakteryjną związków fenolowych określano za pomocą metody dyfuzyjno-studzienkowej [18]. Do badań używano płytek Petriego (\varnothing 10 cm) z podłożem stałym agar Columbia z krwią baranią (bioMérieux, Warszawa, Polska). Hodowlę bakteryjną 16-godzinną rozcieńczano płynem fizjologicznym do uzyskania absorbancji 0,1. Dokonywano posiewu 1 ml takiego rozcieńczenia na powierzchni wstępnie podsuszonych płytek z podłożem. Płytki pozostawiano przez 20 min w temp. 20 – 24 °C celem absorpcji bakterii do podłoża. W każdej płytce Petriego wykonywano pięć równooddalonych od siebie studzienek za pomocą sterylnego korkoboru (\varnothing 7 mm). Do każdej ze studzienek dodawano za pomocą pipety (Eppendorf) po 0,05 ml wodnego roztworu soli kwasu fenolowego o stężeniu [%]: 1, 2, 3, 4 i 5. Próbę kontrolną przygotowano poprzez dodanie 0,05 ml płynnego podłoża Tryptic Soy Bulion. Tak przygotowane płytki inkubowano w temp. 37 °C przez 24 h.

Po inkubacji mierzono strefy zahamowania wzrostu na płytkach Petriego, a wyniki wyrażano w milimetrach. Aktywność hamującą każdej soli kwasu fenolowego określano poprzez pomiar średnicy strefy zahamowania wzrostu kolonii szczepu *Y. enterocolitica*. Wynik każdego badania jest średnią z trzech równoległych powtórzeń.

Analizę statystyczną uzyskanych wyników przeprowadzono z użyciem testu Kruskala-Wallisa ($p < 0,05$), z zastosowaniem programu Statistica 6.1 (Stat Soft, Tulsa, OK, USA).

Wyniki i dyskusja

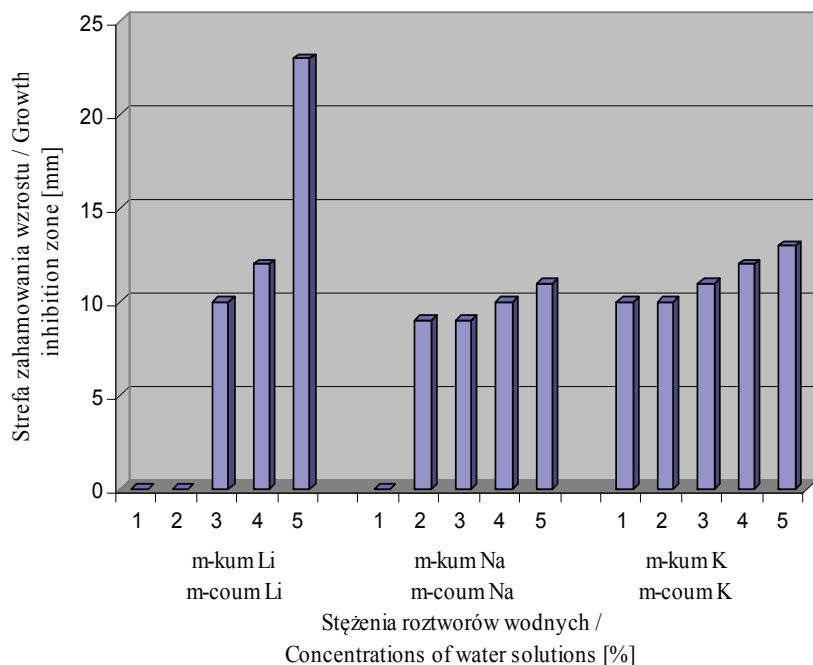
W pracy określono aktywność przeciwbakteryjną dziewięciu soli kwasów fenolowych o różnych strukturach chemicznych wobec pałeczki Gram-ujemnej *Y. enterocolitica* [5]. Sole wykazały zróżnicowaną zdolność hamowania wzrostu *Y. enterocolitica* (rys. 1). Właściwości przeciwdrobnoustrojowe związków fenolowych oraz ich potencjalne zastosowanie w eliminacji ryzyka wystąpienia patogenów w żywności określono poprzez pomiar średnicy zahamowania wzrostu wokół studzienki [23].



Rys. 1. Wpływ stężenia wodnych roztworów soli litu, sodu i potasu kwasu *o*-kumarowego na wielkość strefy zahamowania wzrostu pałeczek *Y. enterocolitica*.

Fig. 1. Effect of water solution concentrations of lithium, sodium, and potassium salts of *o*-coumaric acid on the size of *Y. enterocolitica* growth inhibition zone.

Sole kwasu *o*-kumarowego wykazywały działanie hamujące wzrost pałeczki *Y. enterocolitica*. Sole potasu i litu kwasu *o*-kumarowego wykazywały znacznie wyższą aktywność hamującą wzrost *Y. enterocolitica* w porównaniu z solą sodową kwasu *o*-kumarowego. Strefa zahamowania wzrostu pałeczki na skutek aktywności soli litu kwasu *o*-kumarowego wyniosła 18 mm przy 5 % stężeniu roztworu wodnego tej soli, 16 mm przy 4 % stężeniu, 13 mm przy 3 % stężeniu. Jednocześnie 1 % i 2 % roztwory wodne tej soli nie wykazały jakiegokolwiek działania hamującego wobec *Y. enterocolitica* (rys. 1). Równie wysoką skutecznością hamowania wzrostu *Y. enterocolitica* charakteryzowała się sól potasowa kwasu *o*-kumarowego. Strefa zahamowania wzrostu pałeczki na skutek aktywności tej soli wyniosła 16 mm przy 5 % stężeniu jej roztworu wodnego, 15 mm przy 4 % stężeniu, 12 mm przy 3 % stężeniu. Jednocześnie jej 1 % i 2 % roztwory wodne nie wykazały jakiegokolwiek działania hamującego wobec *Y. enterocolitica* (rys. 1). Stwierdzono również, że sól sodowa kwasu *o*-kumarowego miała najslabsze działanie hamujące wzrost *Y. enterocolitica* w porównaniu z solami litu i potasu kwasu *o*-kumarowego. Strefa zahamowania wzrostu pałeczek na skutek aktywności tej soli wyniosła 10 mm przy 5 % stężeniu roztworu wodnego i 9 mm przy 4 % stężeniu. Jednocześnie jej 1, 2 i 3 % roztwory wodne nie wykazały jakiegokolwiek działania hamującego wobec *Y. enterocolitica*.



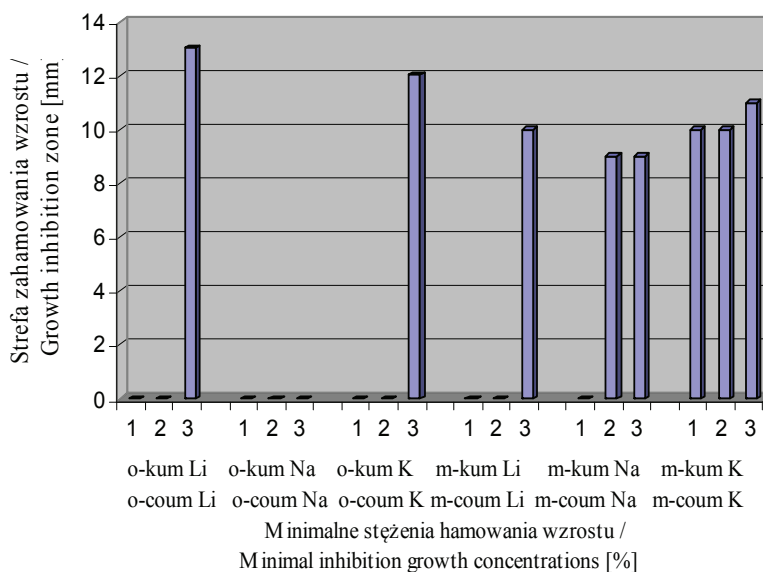
Rys. 2. Wpływ stężenia wodnych roztworów soli litu, sodu i potasu kwasu *m*-kumarowego na wielkość strefy zahamowania wzrostu pałeczek *Y. enterocolitica*.

Fig. 2. Effect of water solution concentrations of lithium, sodium, and potassium salts of *m*-coumaric acid on the size of *Y. enterocolitica* growth inhibition zone.

Dowodzono, że sole kwasu *m*-kumarowego wykazują stosunkowo wysoką aktywność hamującą wobec *Y. enterocolitica*. Jednakże ich aktywność była nieznacznie słabsza w porównaniu z solami kwasu *o*-kumarowego. Stwierdzono, że 5 % roztwór wodny soli litu kwasu *m*-kumarowego miał najwyższą aktywność hamującą wzrost *Y. enterocolitica*, a strefa zahamowania wzrostu wyniosła 23 mm. Natomiast 1 i 2 % roztwory wodne tej soli nie wykazały działania hamującego, a 3 i 4 % roztwory wodne miały podobne właściwości antybakteryjne, jak sole sodu i potasu kwasu *m*-kumarowego (rys. 2). Strefa hamowania wzrostu pałeczek na skutek aktywności soli litu kwasu *m*-kumarowego wyniosła 12 mm przy 4 % stężeniu roztworu wodnego tej soli i 10 mm przy 3 % stężeniu. Sole sodu i potasu kwasu *m*-kumarowego miały podobną aktywność wobec *Y. enterocolitica*. Jednakże bardziej skuteczna była sól potasowa kwasu *m*-kumarowego. Strefa zahamowania wzrostu pałeczek na skutek aktywności tej soli wyniosła 13 mm przy 5 % stężeniu jej roztworu wodnego, 12 mm przy 4 % stężeniu, 11 mm przy 3 % stężeniu, 10 mm przy 1 % i 2 % stężeniu (rys. 2). Najśłabsze działanie hamujące w porównaniu z innymi solami kwasu *m*-kumarowego miała sól sodowa. Strefa zahamowania wzrostu pałeczek na skutek aktywności tej soli

wyniosła 11 mm przy 5 % stężeniu jej roztworu wodnego, 10 mm przy 4 % stężeniu, 9 mm przy 3 i 4 % stężeniu. Jednocześnie jej 1 % roztwór wodny nie wykazał jakiegokolwiek działania hamującego wobec *Y. enterocolitica* (rys. 2).

Sole kwasu *p*-kumarowego nie wykazały żadnej aktywności antybakteryjnej względem *Y. enterocolitica*.



Rys. 3. Minimalne stężenie hamujące wodnych roztworów soli litu, sodu i potasu kwasów *o*- i *m*-kumarowego wobec *Y. enterocolitica*.

Fig. 3. Minimal inhibitory concentration of water solutions of lithium, sodium, and potassium salts of *o*- and *m*-coumaric acids against *Y. enterocolitica*.

Zaobserwowano, że sól potasowa kwasu *m*-kumarowego przejawiała największą zdolność hamowania wzrostu, ponieważ jej 1 % roztwór wodny umożliwił uzyskanie strefy zahamowania o wielkości 10 mm. Było to najmniejsze stężenie hamujące, przy którym nastąpiła eliminacja patogenu z żywności (rys. 3). Druga pod względem aktywności antybakteryjnej okazała się sól sodowa kwasu *m*-kumarowego. Jej 2 % roztwór wodny wpłynął na uzyskanie strefy zahamowania o wielkości 9 mm, a również było to najmniejsze stężenie hamujące wzrost pałeczek. Roztwory wodne o stężeniu 1 i 2 % soli litu, sodu i potasu kwasu *o*-kumarowego oraz soli litu kwasu *m*-kumarowego nie wykazały działania hamującego wzrost *Y. enterocolitica*. Dopiero ich 3 % roztwory, z wyjątkiem roztworu wodnego soli sodowej kwasu *o*-kumarowego, powodowały zahamowanie wzrostu. Najskuteczniejszą okazała się sól litu kwasu *o*-kumarowego, przy czym jej 3 % roztwór wodny pozwolił na uzyskanie strefy zahamowania o wielkości 13 mm. Kolejną pod względem aktywności była sól potasowa kwasu

o-kumarowego, przy czym jej 3 % roztwór wodny pozwalał na uzyskanie strefy hamowania o wielkości 12 mm. Najmniej aktywną była sól litu kwasu *m*-kumarowego, przy czym jej 3 % roztwór wodny pozwolił na uzyskanie strefy zahamowania o wielkości 10 mm.

Właściwości przeciwdrobnoustrojowe wybranych soli kwasów fenolowych stanowiły przedmiot badań także innych prac. Sole kwasu kumarowego skutecznie hamowały wzrost *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* i *Candida albicans*. Kwasy fenolowe są szczególnie powszechnie obecne w winach czerwonych i wykazują działanie hamujące wzrost licznych bakterii chorobotwórczych zarówno Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych. Dowiedziono, że szczepy bakterii Gram-dodatnich są bardziej wrażliwe na działanie soli kwasów fenolowych niż szczepy bakterii Gram-ujemnych. Takie obserwacje można przypisać różnicom w strukturze ściany komórkowej bakterii. Prostsza w swojej budowie ściana komórkowa bakterii Gram-dodatnich sprawia, że z większą łatwością mogą wnikać przez nią związki przeciwbakteryjne, powodując lizę komórek [1, 12, 18].

Wyniki badań niniejszej pracy wskazują, iż kwasy fenolowe i ich wybrane sole charakteryzowały się aktywnością antybakteryjną względem *Y. enterocolitica*. Pałeczka ta wykazuje zróżnicowaną wrażliwość na poszczególne sole kwasów fenolowych, które jako substancje biologicznie czynne powinny być stosowane do eliminacji tej bakterii z żywności.

Wnioski

1. Sole kwasów fenolowych mają zróżnicowane właściwości hamowania wzrostu pałeczek *Y. enterocolitica*. Sole kwasu *m*-kumarowego działały skuteczniej w porównaniu z solami kwasu *o*-kumarowego, podczas gdy sole kwasu *p*-kumarowego wykazały całkowity brak aktywności wobec badanej bakterii.
2. Spośród soli kwasu *o*-kumarowego sól litu wykazała najsilniejsze działanie przeciwbakteryjne. Nieco słabszą aktywność przejawiała sól potasu, a sól sodu najslabiej hamowała wzrost bakterii.
3. Wśród soli kwasu *m*-kumarowego bardziej aktywna była sól potasu w porównaniu z solą sodu. Najbardziej aktywny był 5 % roztwór soli litu, podczas gdy jej słabsze stężenia hamowały wzrost *Y. enterocolitica* w sposób podobny do soli potasu i sodu.
4. Roztwory soli litu i potasu kwasu *o*-kumarowego oraz roztwór soli litu kwasu *m*-kumarowego wykazały aktywność przeciwbakteryjną przy 3 % stężeniu substancji czynnej, podczas gdy ich 1 i 2 % roztwory wodne były całkowicie nieaktywne. Wśród 3 % roztworów wodnych największą siłą hamowania wzrostu miała sól litu kwasu *o*-kumarowego, nieco słabiej działała sól potasowa kwasu *o*-kumarowego, a najmniej skuteczna była sól litu kwasu *m*-kumarowego. Roztwór

wodny soli sodowej kwasu *o*-kumarowego o stężeniu 3 % nie wykazał żadnej aktywności przeciwbakteryjnej.

Pracę zrealizowano w ramach projektu badawczego N N312 427639.

Literatura

- [1] Acar G., Dogan N.M., Duru M.E., Kivrak I.: Phenolic profiles, antimicrobial and antioxidant activity of the various extracts of *Crocus* species in Anatolia. *Afric. J. Microb. Res.*, 2010, **4** (11), 1154-1161.
- [2] Ahmad I., Beg A.Z.: Antimicrobial and phytochemical studies on 45 Indian medicinal plants against multi-drug resistant human pathogens. *J. Ethnopharmacol.*, 2001, **74**, 113-123.
- [3] Ali-Shtayeh M.S., Yaghmour R.M.R., Faidi Y.R., Salem K., Al-Nuri M.A.: Antimicrobial activity of 20 plants used in folkloric medicine in the Palestinian area. *J. Ethnopharmacol.*, 1998, **60**, 265-271.
- [4] Amor I.L.B., Neffati A., Sgaier M.B., Bhourri W., Boubaker J., Skandrani I., Bouhlel I., Kilani S., Ammar R.B., Chraief I., Hammami M., Ghoul M., Chekir-Ghedira L., Ghedira K.: Antimicrobial activity of essential oils isolated from *Phlomis crinita* Cav. ssp. *Mauritanica* Munby. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 2008, **85**, 845-849.
- [5] Baratta M.T., Dorman H.J.D., Deans S.G., Figueiredo A.C., Barroso J.G., Ruberto G.: Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial oils. *Flavour Frag. J.*, 1998, **13**, 235-244.
- [6] Bhaskarwar B., Itankar P., Fulke A.: Evaluation of antimicrobial activity of medicinal plant *Jatropha podagrica* (Hook). *Roumanian Biotechnological Letters*, 2008, **13** (5), 3873-3877.
- [7] Blank G., Melnyk D., Henderson H. M.: Sporostatic activity of eugenol in relation to spore hydrophobicity. *Lebensm. Wiss. U. Technol.*, 1990, **23**, 361-363.
- [8] Daud A., Gallo A., Sanchez Riera A.: Antimicrobial properties of *Phrygilanthus acutifolius*. *J. Ethnopharmacol.*, 2005, **99**, 193-197.
- [9] Goyal S.N., Arora S., Sharma A.K., Joshi S., Ray R., Bhatia J., Kumari S., Arya D.S.: Preventive effect of crocin of *Crocus sativus* on hemodynamic, biochemical, histopathological and ultrastructural alterations in isoproterenol-induced cardiotoxicity in rats. *Phytomedicine*, 2010, **17**, 227-232.
- [10] Gueldner R.C., Wilson D.M., Heidt A.: Volatile compounds inhibiting *Aspergillus flavus*. *J. Food Chem.*, 1985, **33**, 441-443.
- [11] Krasaekoopt W., Kongkarnchanatip A.: Antimicrobial properties of Thai traditional flower vegetable extracts. *Assumption U J. Technol., Thailand*, 2005, **9**, 71-74.
- [12] Mbosso E.J.T., Ngouela S., Nguedia J.C.A., Beng V.P., Rohmer M., Tsamo E.: *In vitro* antimicrobial activity of extracts and compounds of some selected medicinal plants from Cameroon. *J. Ethnopharmacol.*, 2010, **128**, 476-481.
- [13] Moller J.K.S., Madsen H.L., Altonen T., Skibsted L.H.: Dittany (*Origanum dictamnus*) as a source of water-extractable antioxidants. *Food Chem.*, 1999, **64**, 215-219.
- [14] Mosaddik M.A., Kabir K.E., Hassan P.: Antibacterial activity of *Alangium salviifolium* flowers. *Fitoterapia*, 2000, **71**, 447-449.
- [15] Nørbæk R., Kondo T.: Flower Pigment Composition of *Crocus* species and cultivars used for a chemotaxonomic investigation. *Biochem. Syst. Ecol.*, 2002, **30**, 763-791.
- [16] Oke F., Aslim B., Ozturk S., Altundag S.: Essential oil composition, antimicrobial and antioxidant activities of *Satureja cuneifolia* Ten. *Food Chem.*, 2009, **112**, 874-879.
- [17] Oussalah M., Caillet S., Saucier L., Lacroix M.: Antimicrobial effects of selected plant essential oils on the growth of a *Pseudomonas putida* strain isolated from meat. *Meat Sci.*, 2006, **73**, 236-244.
- [18] Perez C., Paul M., Bazerque P.: Antibiotic assay by agar-well diffusion method. *Acta Biologica et Medicine Experimentalist.*, 1990, **15**, 113-115.

- [19] Park Y.K., Koo M.H., Ikegaki M., Contado J.L.: Comparison of the flavonoid aglycone contents of *Apis mellifera* propolis from various regions of Brazil. *Arquivos de Biologiae Technologia*, 1997, **40** (1), 97-106.
- [20] Simic M.G.: Mechanisms of inhibition of free-radical processed in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutation Res.*, 1998, **202**, 377-386.
- [21] Tanaka M., Kuei C.W., Nagashima Y., Taguchi T.: Application of antioxidative maillrad reaction products from histidine and glucose to sardine products. *Nippon Suisan Gakk*, 1998, **54**, 1409-1414.
- [22] Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M.: Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa*. *Food Chem.*, 2005, **90**, 333-340.
- [23] Vahidi H., Kamalinejad M., Sedaghati N.: Antimicrobial properties of *Crocus sativus* L. Iranian. *J. Pharmacol. Res.*, 2002, **1**, 33-35.
- [24] Yanga J.H., Linb H.C., Maub J.L.: Antioxidant properties of several commercial mushrooms. *Food Chem.*, 2002, **77**, 229-235.

ASSESSING SUSCEPTIBILITY OF *YERSINIA ENTEROCOLITICA* TO SOME SELECTED SALTS OF PHENOLIC ACIDS

S u m m a r y

The objective of this study was to assess the antimicrobial activity of salts of phenolic acids against *Yersinia enterocolitica* ATCC 23715. *Y. enterocolitica* is known to be a facultatively anaerobic, Gram-negative coccoid bacillus responsible for human alimentary intoxication. Salts of phenolic acids can effectively eliminate pathogens in food products. It was proved that the salts of phenolic acids inhibited the growth of this pathogen. The analysis comprised the lithium, sodium, and potassium salts of the *o*-coumaric, *m*-coumaric, and *p*-coumaric acids. Water solutions of those salts were applied; their concentrations were 1 %, 2 %, 3 %, 4 %, and 5 %. A diffusion-well method was used. The analysis results showed that *Y. enterocolitica* was susceptible to the salts of *o*-coumaric and *m*-coumaric acids, however, its susceptibility to the salts of *p*-coumaric acid was not confirmed. The salts of phenolic acids can be applied as natural chemical preservatives in food conservation processes.

Key words: *Yersinia enterocolitica*, antimicrobial activity, salts of phenolic acids ☒