

УДК 514.315

С. Г. Гюльяхмедов, Н. Ф. Гусейнова, Н. А. Абдуллаева, А. А. Кулиев

Бакинський державний університет, Азербайджан

**ВЛИЯНИЕ ЛЕЦИТИНА И КАЗЕИНА
НА СПЕКТР АНТИМИКРОБНОЙ АКТИВНОСТИ
БАКТЕРИОЦИНОВ МОЛОЧНОКИСЛЫХ БАКТЕРИЙ,
ИЗОЛИРОВАННЫХ ИЗ АЗЕРБАЙДЖАНСКИХ СЫРОВ**

Изучено влияние лецитина и казеина на спектр антимикробной активности бактериоцинов, выделенных из штаммов *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* BN ATS 8w, *Enterococcus faecium* A5 и *Lactobacillus rhamnosus* FAZ 16m. В качестве пассивной культуры использованы *Lactobacillus bulgaricus* 340, *Listeria innocua* CIP 80.11, *Escherichia coli* ATCC 23355, *Enterococcus faecalis* ATCC 1.144. При исследуемых концентрациях лецитин и казеин отрицательно влияли на активность бактериоцинов. Эти факторы входят в состав большинства ферментированных продуктов.

С. Г. Гюльяхмедов, Н. Ф. Гусейнова, Н. А. Абдуллаева, А. А. Кулиев

Бакинський державний університет, Азербайджан

**ВПЛИВ ЛЕЦИТИНУ ТА КАЗЕЇНУ НА СПЕКТР АНТИМИКРОБНОЇ
АКТИВНОСТІ БАКТЕРІОЦИНІВ МОЛОЧНОКИСЛИХ БАКТЕРІЙ,
ІЗОЛЬОВАНИХ З АЗЕРБАЙДЖАНСЬКИХ СИРІВ**

Досліджено вплив лецитину та казеїну на спектр антимікробної активності бактериоцинів, виділених із штамів *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* BN ATS 8w, *Enterococcus faecium* A5 і *Lactobacillus rhamnosus* FAZ 16m. Як пасивну культуру використано *Lactobacillus bulgaricus* 340, *Listeria innocua* CIP 80.11, *Escherichia coli* ATCC 23355, *Enterococcus faecalis* ATCC 1.144. За дослідних концентрацій лецитин і казеїн негативно впливали на активність бактериоцинів. Ці фактори входять до складу більшості ферментованих продуктів.

S. G. Gulahmedov, N. F. Huseynova, N. A. Abdullaeva, A. A. Kuliev

Baku State University, Azerbaijan

**INFLUENCE OF LECITHIN AND CASEIN ON THE ANTIMICROBIAL
ACTIVITIES OF BACTERIOCINS OF LACTIC-ACID BACTERIA,
ISOLATED FROM AZERBAIJANI CHEESES**

The influence of lecithin and casein on the antimicrobial activities of bacteriocins isolated from *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* BN ATS 8w, *Enterococcus faecium* A5 and *Lactobacillus rhamnosus* FAZ 16m strains was studied. *Lactobacillus bulgaricus* 340, *Listeria innocua* CIP 80.11, *Escherichia coli* ATCC 23355, *Enterococcus faecalis* ATCC 1.144 were used as target organisms. Used concentrations of lecithin and casein – 0.1 % and 1–5 g/L respectively – were antagonistic to the bacteriocins. These substances are constituents of most fermented products.

Введение

Молочнокислые бактерии продуцируют ряд биологически-активных веществ с антимикробными свойствами. Антагонизм МКБ в ферментированных продуктах ассоциируется с их метаболитами, такими как молочная и уксусная кислоты, перекись водорода или бактериоцины – молекулы пептидной природы [2; 4].

Секретия бактериоцинов внутри ферментированного продукта штаммами-продуцентами зависит от многих физико-химических и экологических факторов. Однако информация о взаимодействии бактериоцинов с ингредиентами пищи ограничена и касается только активности низина против клеток *L. monocytogenes* [7–9].

Цель настоящих исследований – оценить влияние лецитина и казеина на спектр антимикробной активности бактериоцинов молочнокислых бактерий, изолированных нами из Азербайджанских сыров [1; 6; 10].

Материал и методы исследований

В качестве пассивной культуры использованы *Lactobacillus bulgaricus* 340, *Listeria innocua* CIP 80.11, *Escherichia coli* ATCC 23355, *Enterococcus faecalis* ATCC 1.144. Изолированные нами штаммы *Lactobacillus paracasei* spp. *paracasei* BN ATS 8w, *Enterococcus faecium* A5 и *Lactobacillus rhamnosus* FAZ 16m использовали как продуценты параказеина 8w, энтероцина A5 и рамнозицина 16m соответственно.

Все организмы молочнокислых бактерий культивировали в модифицированной МРС среде [5]. В одном литре среда содержала: 10 г – триптон, 5 г – дрожжевой экстракт, 2 г – K_2HPO_4 , 2 г – диаммоний-цитрат, 1 г – Твин 80, 0,1 г – $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, 0,05 г – $MnSO_4 \cdot H_2O$, 20 г – глюкоза (все реактивы фирмы Merck, Darmstadt, Germany). После стерилизации среды значение *pH* в ней составляло 6,4–6,5. Молочнокислые бактерии выращивали в анаэробных условиях при +30 °С, все остальные штаммы – на качалке без остановки (200 об./мин) при +37 °С.

Активность бактериоцинов определяли путем реципрокного разбавления их растворов до проявления минимальной антимикробной активности (2 мм), обнаруженной методом диффузии, и выражали как ПЕ/мл.

Лецитин из яичного желтка (Serva, Heidelberg, Germany) и казеин (Sigma, Deisenhofen, Germany) растворяли в модифицированной (мМРС) среде и раствор стерилизовали путем фильтрации. Влияние каждого компонента среды на активность бактериоцинов определяли отдельно при стандартных условиях. Влияние самих компонентов на рост пассивных культур определяли таким же путем без добавления бактериоцина.

Результаты и их обсуждение

Составные компоненты ферментированных пищевых и кормовых продуктов самыми различными путями влияют на микроорганизмы, населяющие эти продукты. При этом они могут взаимодействовать с клеточной мембраной бактерий или же с их метаболитами [7; 8]. Антимикробная активность бактериоцина является результатом гидрофобных и электростатических взаимодействий этих амфифильных, положительно заряженных пептидов с клеточной мембраной пассивной культуры. Поэтому мы изучили влияние лецитина (как эмульгатора) и казеина на активность бактериоцинов против клеток пассивных культур, список которых приводится в методической части.

Добавление лецитина в концентрации 1 % приводит к полному исчезновению бактериоциновой активности против всех пассивных штаммов (табл. 1). Лецитин в концентрации 0,1 % понижает активность бактериоцина против *L. bulgaricus* 340 на

45–63 %. Ингибирование бактериоциновой активности в аналогичных концентрациях по отношению к клеткам другого пассивного штамма – клеток *Listeria innocua* CIP 80.11 носило более интенсивный характер (59–76 %). По-видимому, устойчивость клеток второго пассивного штамма к влиянию изученных бактериоцинов больше по сравнению с клетками *L. bulgaricus* 340.

Таблица 1

Влияние лецитина на относительную антимикробную активность параказеина 8w, энтероцина А5 и рамнозицина 16m

Бактериоцины	<i>Lactobacillus bulgaricus</i> 340		<i>Listeria innocua</i> CIP 80.11		
	0,1 % лецитина	1,0 % лецитина	0,1 % лецитина	0,5 % лецитина	1,0 % лецитина
Параказеин 8w	0,55*	0	0,41	0,11	0
Энтероцин А5	0,32*	0	0,22	0,05	0
Рамнозицин 16m	0,37*	0	0,24	0,01	0

Примечание: * – относительная активность (активность бактериоцинов в стандартных условиях равна 1, pH 6,5).

Степень угнетения активности изученных бактериоцинов (параказеин 8w, энтероцин А5 и рамнозицин 16m) казеином зависела от видового разнообразия пассивных культур (табл. 2). Если активность бактериоцина против *E. faecalis* ATCC 1.144 была понижена в присутствии 1 г/л казеина на 60 %, то по отношению к *E. coli* ATCC 23355 такой ингибирующий эффект казеина был достигнут концентрацией 10 г/л. Необходимо отметить, что выбор таких концентраций лецитина и казеина не является случайным. Его количество в яичном желтке составляет 6 %, а в состав молока входит около 0,5 % фосфолипидов [2; 8].

Таблица 2

Влияние лецитина на относительную антимикробную активность параказеина 8w, энтероцина А5 и рамнозицина 16m

Бактериоцины	<i>Escherichia coli</i> ATCC 23355			<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 1.144		
	1 г/л казеина	5 г/л казеина	10 г/л казеина	0,1 г/л казеина	1 г/л казеина	10 г/л казеина
Параказеин 8w	0,95*	0,51	0,50	1,00	0,71	0,51
Энтероцин А5	0,98*	0,62	0,55	0,82	0,66	0,65
Рамнозицин 16m	1,00*	0,72	0,72	0,98	0,54	0,50

Примечание: см. табл. 1.

По литературным данным, нейтральные эмульгаторы, такие как монолаурин, моноолеат и Твин-80 стимулируют активность низина [3; 9]. Однако соединения с амфотерными свойствами, например лецитин, даже в низких концентрациях (0,1 %) угнетают его активность [4]. Это обстоятельство объясняется тем, что низин с амфотерной фосфолипидной молекулой образует стабильный комплекс. Результаты влияния лецитина на бактериоцины, представленные в наших опытах, хорошо коррелируют с этими данными.

Защитный эффект казеина к влиянию бактериоцинов в ранних работах не встречается. Причиной наблюдаемого в наших опытах снижения антимикробной активности бактериоцинов в присутствии казеина может служить их взаимодействие с казеином, который является амфифильной молекулой, содержащей отрицательный заряд и гидрофобный домен.

Выводы

Добавление лецитина в концентрации 1 % приводит к полному исчезновению бактериоциновой активности против всех пассивных штаммов. Лецитин в концентра-

ции 0,1 % понижает активность бактериоцина против *Lactobacillus bulgaricus* 340 на 45–63 %, против *Listeria innocua* СІР 80.11 – на 59–76 %.

Степень угнетения казеином активности параказеицина 8w, энтероцина А5 и рамнозицина 16m против *E. faecalis* АТСС 1.144 понижается в присутствии 1 г/л казеина на 60 %. Против *E. coli* АТСС 23355 такой ингибирующий эффект казеина достигнут концентрацией 10 г/л.

Полученные результаты углубляют наши знания о механизме влияния бактериоцинов на пассивные культуры в целом.

Библиографические ссылки

1. **Выделение** и характеристика бактериоциноподобных ингибиторных веществ молочнокислых бактерий, изолированных из азербайджанских сыров / С. Г. Гюльяхмедов, Н. Ф. Абдуллаева, Н. Ф. Гусейнова и др. // Прикладная биохимия и микробиология. – 2009. – Т. 45, № 3. – С. 297–303.
2. **Abee T.** Bacteriocins: Modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning / T. Abee, L. Krockel, C. Hill // Int. J. Food Microbiol. – 1995. – Vol. 28. – P. 169–185.
3. **Nisin** compositions for use as enhanced, broad range bacteriocins / P. Blackburn, J. Polack, S. Gusik, S. D. Rubino, inventors; Applied Microbiology Inc., assignee. 1989. – International patent application number PCT/US89/02625. – International publication number W089/12399.
4. **Bacteriocins:** Safe, natural antimicrobials for food preservation / J. Cleveland, T. J. Montville, I. F. Nes, M. L. Chikindas // Int. J. Food Microbiol. – 2001. – Vol. 71. – P. 1–20.
5. **De Man J. C.** A medium for the cultivation of lactobacilli / J. C. De Man, M. Rogosa, M. E. Sharpe // J. Appl. Bacteriol. – 1960. – Vol. 23. – P. 130–135.
6. **Characterization** of bacteriocin-like inhibitory substances (BLIS) from lactic acid bacteria isolated from traditional Azerbaijani dairy products / S. G. Gulahmadov, B. Batdorj, M. Dalgalarondo et al. // Europ. Food Rec. Technol. – 2006. – Vol. 224. – P. 338–345.
7. **Henning S.** New aspects for the application of nisin to food products based on its mode of action / S. Henning, R. Metz, W. P. Hammes // Int. J. Food Microbiol. – 1986. – Vol. 3. – P. 135–141.
8. **Antimicrobial** activity of bacteriocin-producing cultures in meat products / M. Hugas, B. Neumeyer, F. Pages et al. // Fleischwirtschaft. – 1996. – Vol. 76. – P. 649–652.
9. **Jung D.-S.** Influence of fat and emulsifiers on the efficacy of nisin in inhibiting *Listeria monocytogenes* in fluid milk / D.-S. Jung, F. W. Bodyfelt, M. A. Daeschel // J. Dairy Sci. – 1992. – Vol. 75. – P. 387–393.
10. **Phenotypic** and genotypic characterization of non-starter lactic acid bacteria from homemade Azerbaijani dairy products / A. Terzic-Vidojevic, S. G. Gulahmadov, M. Vukasinovic et al. // African J. Biotechnol. – 2009. – Vol. 8 (11). – P. 2576–2588.

Надійшла до редколегії 31.01.2011