

ДОСЛІДЖЕННЯ АНТАГОНІСТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ШТАМУ *LACTOCOCCUS LACTIS* SUBSP. *LACTIS*

Михайленко М.М., Потемська О.І.

Інститут продовольчих ресурсів НААН України, potenskaok@gmail.com

Abstract

The study of the antagonistic activity of the Lactococcus lactis subsp. lactis strain against pathogenic and opportunistic microbiota is a necessary condition for selecting cultures for bacterial preparations used in the production of fermented products. It was found that the Lactococcus lactis subsp. lactis strain did not affect the growth of Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter aerogenes, and Proteus vulgaris. The most sensitive strain was Escherichia coli 055.

Keywords: *antagonistic activity, bacteriocin, Lactococcus lactis subsp. lactis.*

Вступ. Бактеріоцин нізін, відкритий у Англії Роджерсом і Віттєром у 1928 році, продукується певними штамми *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Його біосинтез відбувається під час експоненційної фази росту та повністю припиняється, коли клітини переходять у стаціонарну фазу. За структурою це 34-амінокислотний поліпептид, який має катіонні та гідрофобні властивості, молекулярною масою 3500 Да, що належить до сімейства лантібіотиків завдяки наявності лантиніону та метиллантиніону [1].

На продукцію нізину впливають кілька культурних факторів, таких як штам-продуцент, склад поживного середовища, рН, температура [2], аерація та перемішування [3]. Крім того, відомо про вплив інших факторів, наприклад, інгібування субстратом і продуктом, адсорбція нізину на клітинах-продуцентах та ферментативна активність [2, 3].

Відомо, що антагоністична активність штамів молочнокислих бактерій, зокрема і *L. lactis* subsp. *lactis*, відіграє провідну роль при їх відборі для створення полікомпонентних пробіотичних продуктів. Механізм антагоністичних властивостей пов'язаний з продукцією бактеріоцинів, органічних кислот та вітамінів. Загалом, здатність до синтезу антибактеріальних сполук, особливо бактеріоцинів, є штамовою ознакою.

Метою цієї роботи була перевірка чутливості умовно патогенних мікроорганізмів до цього бактеріоцину, який продукує культура *Lactococcus lactis*.

Матеріали та методи. У роботі було використано штам *L. lactis* subsp. *lactis* з колекції типових культур відділу біотехнології інституту продовольчих ресурсів НААН, що продукує нізін. 10 індикаторних штамів, було перевірено на їх чутливість до нізину, який продукує *L. lactis* subsp. *lactis*.

Робочі культури вирощували на середовищі М17 та триптон-соевому агарі у вигляді скошеного агару. Безпосередньо перед проведенням досліджень індикаторні культури двічі розмножували у триптон-соевому бульйоні, штам *L. lactis* subsp. *lactis* – у MRS бульйоні за температури 30 °C, протягом 12 годин.

Антагоністичну активність по відношенню до тест-культур патогенних і умовно патогенних мікроорганізмів досліджували в умовах *in vitro* за методом лунок, згідно з [4], вимірюючи розмір зон відсутності росту тест-культур на твердому поживному середовищі у мм.

Результати та обговорення. Штам *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* ізольований із самоквасних молочних продуктів має такі характеристики: грампозитивні коки, нерухомі, величиною 0,6–0,7 мкм, розташовані у вигляді диплококів та коротких ланцюгів коків. У товщі агару з гідролізованим молоком утворює колонії білого кольору, круглі або у вигляді «човників», 1–2 мм у діаметрі. У гідролізованому бульйоні росте з утворенням однорідної муті та дрібнодисперсного осаду. На поверхні середовища Редді утворює білі малі круглі колонії. Оптимальна температура росту – (30 ± 1) °C. Росте у гідролізованому молоці з вмістом жовчі до 40 % та NaCl до 4 %, не росте у м'ясопептонному бульйоні з активною кислотністю вище 9,6 од. рН; утворює аміак з аргініну. Штам ферментує глюкозу, ксилон, мальтозу, галактозу, лактозу, сахарозу, фруктозу, рафінозу, не ферментує сорбіт, маніт, гліцерин, інозит, ксилону, арабінозу.

Дослідження антагоністичної активності *L. lactis* subsp. *lactis*, щодо тест-культур *Salmonella enteritidis* та *Salmonella typhimurium* засвідчили, що цей мікроорганізм пригнічує розвиток тільки *Salmonella enteritidis*, зона пригнічення росту становить 9 ± 1 мм, також штам майже однаково інгібував ріст *Enterobacter sakazakii*, *Staphylococcus aureus* 209 та *Shigella flexneri*. Зона пригнічення росту становила 12 ± 1 мм, 12 ± 1 мм, та 15 ± 1 мм відповідно.

Найвищий рівень пригнічення росту встановлено для штаму *Escherichia coli* 055. Зона лізису становила 22 ± 4 мм. Штам *L. lactis* subsp. *lactis* не впливав на ріст тест-культур *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter aerogenes* та *Proteus vulgaris*.

Висновки. Досліджуваний штам *L. lactis* subsp. *lactis* продемонстрував виражену антагоністичну активність проти таких умовно-патогенних мікроорганізмів як, *Escherichia coli*, *Shigella flexneri*, *Enterobacter sakazakii* та *Staphylococcus aureus*. Найвищі рівні пригнічення росту виявлено для *E. coli* 055. Встановлено, що штам не впливає на ріст тест-культури *Salmonella typhimurium*, що свідчить про штамоспецифічну дію нізину. Отримані результати свідчать про потенціал *L. lactis* subsp. *lactis* як кандидата для створення пробіотичних продуктів із антибактеріальними властивостями.

Список використаної літератури:

1. Nisin biotechnological production and application: a review / L. J. de Arauz et al. *Trends in Food Science & Technology*. 2009. Vol. 20, no. 3-4. P. 146–154. URL: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.01.056>.
2. Pongtharangkul T., Demirci A. Evaluation of culture medium for nisin production in a repeated-batch biofilm reactor. *Biotechnology Progress*. 2006. Vol. 22, no. 1. P. 217–224. URL: <https://doi.org/10.1021/bp050295q>.
3. Desjardins P., Meghrou J., Lacroix C. Effect of aeration and dilution rate on nisin Z production during continuous fermentation with free and immobilized *Lactococcus lactis* UL719 in supplemented whey permeate. *International Dairy Journal*. 2001. Vol. 11, no. 11-12. P. 943–951. URL: [https://doi.org/10.1016/s0958-6946\(01\)00128-5](https://doi.org/10.1016/s0958-6946(01)00128-5).
4. Pongtharangkul T., Demirci A. Evaluation of agar diffusion bioassay for nisin quantification. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2004. Vol. 65, no. 3. URL: <https://doi.org/10.1007/s00253-004-1579-5>.