

Antimikrobno i antimutageno djelovanje probiotika

Ljerka Gregurek

Stručni rad - Professional paper

UDK: 637.055:579.8

Sažetak

Pojavom antibiotik-rezistentnih bakterija, koncept probiotika kao prirodnog načina sprječavanja rasta patogenih bakterija postaje vrlo zanimljiv.

*Probiotici su definirani kao živi mikrobnii dodatak hrani koji osigurava povoljan učinak na domaćina, te poboljšava ravnotežu mikroflore njegovog probavnog sustava. U humanoj prehrani najčešće se kao probiotici koriste bakterije *Lactobacillus acidophilus*, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* i kvasac *Saccharomyces boulardii*. Probiotici proizvode organske kiseline od kojih su octena, mliječna i pirogroždana u najvećoj količini. Neki istraživači vjeruju da je mliječna kiselina jedina značajna antimikrobna tvar.*

Prikazana je antimutagena aktivnost octene, maslačne, mliječne i pirogroždane kiseline koje proizvode probiotici, prema 8 mutagenih ili promutagenih tvari.

Ključne riječi: probiotici, antimikrobna aktivnost, antimutagena aktivnost

Uvod

Kako se u zadnjih pedeset godina uporaba antibiotika pokazuje u mnogo slučajeva neefikasnom, t.j. sve se više zapaža razvitak antibiotske rezistencije (Šušćović i sur., 1998.), koncept korištenja probiotika kao prirodnog načina sprečavanja rasta bakterija postaje sve privlačniji i intenzivno se nastoje proširiti saznanja o primjeni i djelovanju probiotika. Probiotičke bakterije se natječu s ostalom mikroflorom u probavnom sustavu i na taj način potiskuju rast "nepoželjnih mikroorganizama". Njihov rast ima povoljne učinke i na zdravlje domaćina (Metchnikoff, 1908.). Probiotici su definirani kao "živi" mikrobnii dodatak hrani koji osigurava povoljan učinak na domaćina, jer poboljšava ravnotežu mikroflore njegovog probavnog sustava. Najčešće se u humanoj prehrani koriste probiotici: *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* i kvasac *Saccharomyces boulardii* (Fuller, 1992.).

Antimikrobno djelovanje probiotika

Mikroorganizmi - koje smatramo probioticima - moraju imati nekoliko vrlo važnih karakteristika te svojstvo da proizvode antimikrobne tvari: organske kiseline (mliječna i octena kiselina), vodikov peroksid i bakteriocine kako bi potisnuli razvoj patogenih i truležnih bakterija. Zbog tih svojstava probiotici pokazuju jaku antimikrobnu aktivnost prema G (+) bakterijama kao što su *Sta-*

phylococcus aureus i *Clostridium perfringens*. Vodikov peroksid pokazuje u prisutnosti bakterija mliječne kiseline, jači inhibitorni učinak.

Probiotici proizvode nekoliko vrsta organskih kiselina od kojih su najvažnije octena, mliječna i pirogroždana. U manjim količinama proizvode: citronsku, hipurinsku, arotičnu i maslačnu kiselinu (Lanka puthra and Shah, 1998.). Od ukupno proizvedenih kiselina koje proizvode probiotici - 90% su mliječna i octena kiselina. Neki znanstvenici vjeruju da je samo mliječna kiselina učinkovita antimikrobna tvar. Djelovanjem mliječne i octene kiseline, koje djeluju baktericidno i bakteriostatski, snizuje se pH vrijednost u probavnom sustavu. Dva su tipa mliječne kiseline koji se proizvode tijekom fermentacije bakterijama mliječne kiseline: L (+) i D (-).

U tablici 1 prikazani su tipovi mliječne kiseline koje proizvode bakterije mliječne kiseline.

Tablica 1: Tipovi mliječne kiseline koje proizvode bakterije mliječne kiseline
Table 1: Types of lactic acid produced by lactic acid bacteria

Bakterije mliječne kiseline Lactic acid bacteria	D(-) Mliječna kiselina Lactic acid	L (+) Mliječna kiselina Lactic acid
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> spp <i>bulgaricus</i>	+	-
<i>Lactobacillus lactis</i>	+	-
<i>Streptococcus</i> spp. (neki/some)	-	+
<i>Lactobacillus casei</i>	-	+
<i>Lactobacillus helveticus</i>	+	+
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	+	+

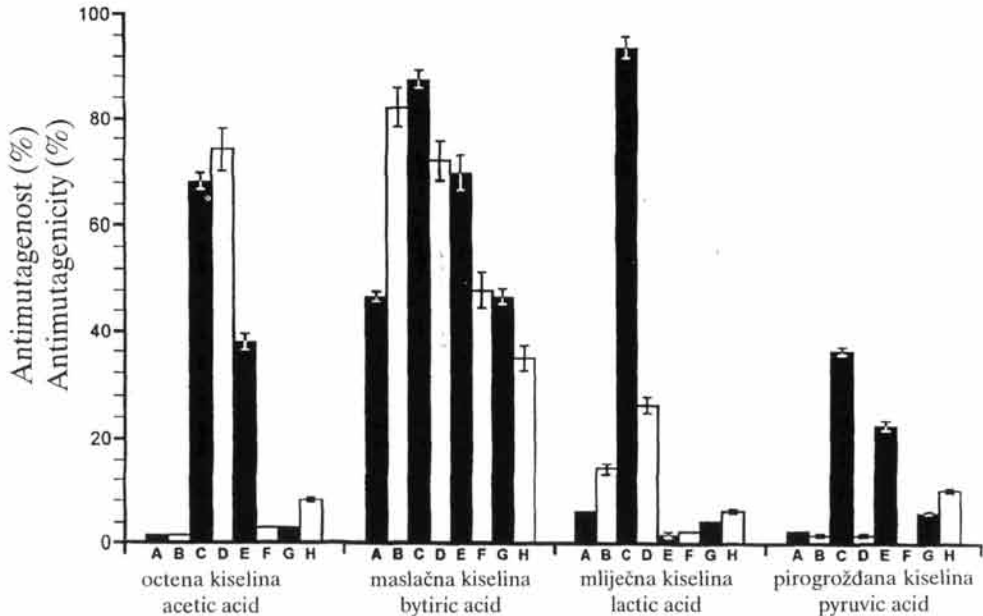
D (-) izomer se u organizmu ne metabolizira do pirogroždane kiseline zbog nedovoljne količine D 2 - hidroksikisele dehidrogenaze. Posljedica toga je moguća acidoza kod novorođenčadi. L (+) izomer je neškodljiv.

Bifidobakterije proizvode L (+) mliječnu kiselinu koja se lako metabolizira i osigurava antimikrobni učinak u probavnom sustavu domaćina. Zapaženo je da mliječna kiselina stimulira peristaltiku crijeva što poboljšava probavu i absorpciju mliječnih proizvoda.

Bakteriocini

O nekim bakteriocinima, koje proizvode probiotičke bakterije, ima već dovoljno podataka. Tako *Lactobacillus acidophilus* proizvodi acidofilin, lakto-

Slika 1: Antimutagenost organskih kiselina koje proizvode probiotičke bakterije
 Figure 1: Antimutagenicity of organic acids commonly produced by probiotic bacteria



A = 2-amino-3metil-3H-imidazokinolin

A = 2-amino-3methyl-3H-imidazoquinoline

B = N-metil, N-nitro, N-nitrozogvanidin

B = N-methyl, N-nitro, N-nitrosoguanidine

C = 4-nitrokinolin-N-oksid

C = 4-nitroquinoline-N-oxide

D = 2-nitroflouren

D = 2-nitrofluorene

E = 4-nitro-O-fenilendiamin

E = 4-nitro-O-phenylenediamine

F = Aflatoksin-B

F = Aflatoxin-B

G = 2-amino-1-metil-6-fenil-imidazo(4,5-b) piridin

G = 2-amino-1-methyl-6-phenyl-imidazo(4,5-b) pyridine

H = 2-amino-3-metil-9H-pirido(3,3-6) indol

H = 2-amino-3-methyl-9H-pyrido(3,3-6) indole

bacilin i lactodin. Navedeni bakteriocini pokazuju antimikrobnu aktivnost prema vrstama iz rodova: *Escherichia*, *Salmonella*, *Shigella* i *Pseudomonas*, što potvrđuje da probiotici mogu potisnuti rast truležnih bakterija u crijevu. Ima također podataka da bakteriocini koje proizvode bakterije mliječne kiseline potiskuju rast *Listeria*. Bakteriocini, koje proizvodi *Lactobacillus* GG inhibiraju rast bakterijskih vrsta iz rodova: *Escherichia*, *Pseudomonas*, *Salmonella*, *Bacillus* i *Clostridium*.

Antimutageno djelovanje probiotika

Antimutageno djelovanje fermentiranih mlijeka zapaženo je prema cijelom nizu mutagenih i promutagenih tvari.

Neki sojevi *Lactobacillus acidophilus* i bifidobakterije pokazuju antimutageno i antikancerogeno djelovanje. Smatra se da do antikancerogenih efekata dolazi vjerojatno zbog svojstva bakterija da smanje količinu fekalnih enzima koji sudjeluju u konverziji prokancerogenih tvari u kancerogene. Probiotici umanjuju i količinu štetnih enzima, kao što je β -glukozidaza i β -glukoronidaza, koje kataliziraju konverziju štetnih amina u nitrozamine. Međutim, mehanizam antimutagenog djelovanja probiotika nije još sasvim razumljiv, t.j. nije istražen.

Kao mogućnost mehanizma djelovanja spominje se stvaranje veze između bakterija i mutagenih tvari (Orrhage i sur., 1994.). Rezultati nekih novijih radova (Tanaka i sur., 1990.) sugeriraju da kratkolančane masne kiseline djeluju na razini DNA u popravljanju pogrešnog genetskog očitavanja. Kako većina probiotika proizvodi različite kratkolančane masne kiseline (octenu i maslačnu), postoji vjerojatnost da te kiseline djeluju kao antimutageni. Lankaputhra i Shah (1998.) istraživali su antimikrobne tvari koje proizvode probiotici.

Svi sojevi - koje su ispitali navedeni autori - proizvodili su octenu, mliječnu i pirogroždanu kiselinu, a maslačnu kiselinu neki sojevi nisu proizvodili.

Oko 90% svih proizvedenih organskih kiselina su mliječna i octena kiselina. Ostale kiseline, koje su ispitivani probiotici proizveli u manjim količinama, su citronska, hipuronska orotska i mokraćna kiselina. Isti autori istraživali su i antimutagena svojstva ovih kiselina, prema 8 mutagenih tvari, što je prikazano na slici 1. Autori su, kao indikator organizam mutagenosti, koristili *Salmonella typhimurium* (His) soj. Istraživanja su pokazala da octena kiselina ima veću antimutagenu aktivnost od mliječne ili pirogroždane kiseline prema svim istraživanim mutagenima osim prema 4-nitrokinolin-N-oksidu (NQO). Prema tome podatku izgleda da mliječna kiselina, koju proizvode bakterije mliječne kiseline, imaju manje značajnu ulogu za mutagenu aktivnost u usporedbi s maslačnom kiselinom koju proizvode probiotici. Smith (1995.) navodi da maslačna kiselina sprečava kancerogeno djelovanje na molekularnom (DNA) nivou, a prema istraživanjima Yangii i sur., (1993.) antimutagena svojstva

Tablica 2: Rezultati istraživanja količine octene, maslačne, mliječne i pirogroždane kiseline koje proizvode neki sojevi *Lactobacillus acidophilus* i bifidobakterije
 Table 2: The amount of acetic, bytiric, lactic and pyruvic acids produced by several strains of *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp.

Sojevi Probiotic strains	Organske kiseline ($\mu\text{g/ml}^{-1}$) MRS 18h/37°C Organic acids ($\mu\text{g/ml}^{-1}$) MRS for 18h/37°C			
	Octena Acetic acid	Maslačna Bytiric acid	Mliječna Lactic acid	Pirogroždana Pyruvic acid
<i>Lactobacillus acidophilus</i>				
2400	65	50	1850	13
2401	80	60	2100	22
2404	175	52	2670	16
2405	67	8	1480	7
<i>Bifidobacterium</i> spp				
1900	60	85	420	3
1912	96	147	567	3
1930	680	-	1576	3
20097	98	75	436	4
20099	620	-	1843	5

probiotika su rezultat inhibitornog djelovanja probiotika proizvodnje organskih kiselina, posebno maslačne.

Lankhapurta i Shah (1998.) ispitivali su i antimutagena svojstva živih i neživih stanica probiotičkog mikroorganizma.

Po tim autorima, žive stanice probiotika (posebno bifidobakterija) pokazuju veću antimutagenu aktivnost u odnosu na nežive stanice što upućuje na zaključak da žive stanice mogu metabolizirati ili vezati mutagene tvari! Ovi rezultati pokazuju da je bolje trošiti proizvode koji sadržavaju žive od proizvoda koji ne sadržavaju žive stanice probiotika. Probiotici su jedna ili više kultura živih mikroorganizama.

ANTIMICROBIAL AND ANTIMUTAGENIC ACTIVITY OF PROBIOTICS

Summary

With the emergence of antibiotic-resistant bacteria, the concept of probiotics as a natural way of suppressing pathogens has attracted much attention. Probiotics are defined as a "live microbial good supplement, which provide beneficial effects on the host by improving its intestinal microbial balance."

Lactobacillus acidophilus, *Lactobacillus casei*, *Bifidobacterium bifidum*, *Bifidobacterium longum* and the yeast *Saccharomyces boulardii* are the most commonly organisms used as probiotics in human diet.

Probiotic bacteria produce several organic acids with acetic, lactic and pyruvic acid being the major ones. Several researches believe that lactic acid is the only antimicrobial agent of importance. The antimutagenic activity of acetic, butyric, lactic and pyruvic acids, produced by probiotics, versus 8 mutagens or promutagens is reported.

Key words: probiotics, antimicrobial activity, antimutagenic activity

Literatura

- Fuller, R. (1992.): Probiotics. The Scientific Basis. Chapman and Hall, London.
- Havenaar R., B. T. Brink i J.H.Y. Huis in t Veld (1992.): Probiotics: A Generale View. U: The Lactic Acid Bacteria in Health and Disease vol 1. (B.J. Word, ed.) Elsevier Applied Science, London, 151-170.
- Lankaputhra, W.E.V, and Shah, N.P. (1998.): Antimutagenic properties of probiotic bacteria and of organic acids. Mutation Research 397, 169-182.
- Metchnikoff (1908.): The prolongation of life. G.P. Putman s Sons, New York.
- Orrhage, Sillerstrom, E., Gustafsson, J.A., Nord, C.E., and Raftar, J. (1994.): Binding of mutagenic heterocyclic amines by intestinal and lactic acid bacteria. Mutation Research 311, 239-248.
- Smith, J. G. (1995): Molecular and genetic effects of dietary derived butyric acid. Food Technol, 11, 87- 90.
- Šušković J., Kos B., Matošić S. (1998.): Probiotici: Znanstvena činjenica ili pomodni trend? Mljekarstvo 48 (3), 129- 208.
- Tanaka, Y., Bush, K., Eguchi, T., Ikekawa, IV, Tekaguchi, T., Kobayama, Y., and Higgins, P.J. (1990.): Effects of 1,25-dihydroxy vitamin D3 and its analysis on butyrate - induced differentiation of HT-29 human colonic carcinoma cells and on the reversal of the differentiated phenotype, Arch. Biochem. Biophysics, 276, 415- 423.
- Yangi, S., Yamashita, M., and Imagi, S. (1993.): Sodium butyrate inhibits the enhancing effect of high fat diet on mammary tumorigenesis. Oncology, 150, 201- 204.

Adresa autora - Author address:

Dr. sc. Ljerka Gregurek
PROBIOTIK d.o.o.
Zagreb

Primljeno - Received: 25. 11. 1999.
Prihvaćeno - Accepted: 26. 01. 2000.