

Utjecaj AB-kulture i acidofilnog mlijeka na rast bakterije *Escherichia coli**

Ljerka Kršev i Anica Borović

Izvorni znanstveni rad - Original scientific paper

UDK: 579.864.1/842.11

Sažetak

Bakterije mliječne kiseline sintetiziraju mnoge antimikrobne tvari, uključujući organske kiseline, H_2O_2 , laktoperoksidaze i diacetil. Druga vrsta inhibitornih tvari koje proizvode te bakterije su bakteriocini.

Proučen je utjecaj kulture *Lactobacillus acidophilus* (komercionalni soj koji se koristi u proizvodnji acidofilnog mlijeka i AB-kulture) i mješovite kulture *L. acidophilus* i *Bifidobacterium bifidum* na rast i preživljavanje *Escherichia coli* u fermentiranom mlijeku (acidofilno mlijeko, AB-kultura). pH vrijednost proizvoda i preživljavanje *E. coli* određeni su odmah nakon proizvodnje tijekom čuvanja uzoraka pri 15°C i 37°C (svaki drugi dan), odnosno prvog, trećeg i šestog dana. *L. acidophilus* jače inhibira rast *E. coli* pri 37°C, dok se pri 15°C broj stanica *E. coli* nije značajno smanjio. Mješovita kultura *L. acidophilus* i *B. bifidum* jače od *L. acidophilus* inhibira rast *E. coli* pri 37°C. pH vrijednost fermentiranog mlijeka nakon 7 dana čuvanja iznosila je od 3,9 do 4,15 pH (acidofilno mlijeko), odnosno 4,1 do 4,25 pH (AB-kultura). Niski pH proizvoda povoljno utječe na inhibitorna svojstva mliječnog proizvoda.

Ključne riječi: inhibitorna aktivnost *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, utjecaj pH fermentiranog proizvoda na *E. coli*

Uvod

Općenito, poznato je da bakterije mliječne kiseline proizvode antimikrobne tvari, uključujući i metabolite, kao što su organske kiseline, vodikov peroksid, laktoperoksidaza, diacetil, te druge antimikrobne tvari, kao što su bakteriocini.

Proizvodnjom antimikrobnih tvari bakterije mliječne kiseline ometaju razmnožavanje nepoželjnih crijevnih mikroorganizama (Šušková i sur., 1993.). Mikroflora humanog probavnog sustava normalno je vrlo uravnotežena i stabilna. Međutim, taj se sustav može narušiti pod utjecajem različitih vanjskih i unutrašnjih činitelja, kao što su prehrana, mikroorganizmi iz hrane, infekcije, antibiotici. Narušavanje uravnoteženog mikrobnog sustava probavnog trakta vrlo često uzrokuje pojavu bolesti organizma (Mikelsaar, 1994.).

*Rad je prikazan na 24th Int. Dairy Congress, Melbourne 1994. i na Simpoziju za medicinsko prehrambena svojstva mlijeka, održanom u Zagrebu, 22. 11. 1995.

U sastavu mikroflore probavnog sustava nalaze se i *Lactobacillus acidophilus* i bifidobakterije. One čine onaj dio mikroflore zdravog organizma koji ometa razvoj nepoželjnih mikroorganizama u probavnom sustavu (Korhonen, 1994.).

L. acidophilus je jedna od najčešće proučavanih bakterija mliječne kiseline. U probavnom traktu čovjeka zastupljena je u gotovo najvećem broju (Šušković, 1992.). Bifidobakterije, koje su G (+) bakterije, striktno anaerobne, mogu se razvijati i opstati u probavnom traktu čovjeka, te proizvesti neke važne metabolite koji sprečavaju rast patogenih bakterija. Također, u literaturi se navodi da su važne pri obnavljanju zdravstveno povoljnih mikroorganizama u crijevima pacijenata liječenih antibioticima (Salminen i Tanaka, 1994.).

L. acidophilus i bifidobakterije u organizam se najčešće unose zajedno s drugim bakterijama mliječne kiseline, putem fermentiranih mliječnih proizvoda i ostalih namirnica. Posljednjih godina sve više se razvija proizvodnja mliječnih proizvoda koji sadržavaju jednu ili obje ove bakterije, jer je zapaženo njihovo povoljno djelovanje na zdravlje.

Cilj ovog rada bio je da se istraži inhibitorno djelovanje *L. acidophilus* (acidofilnog mlijeka) i mješavine *L. acidophilus* i bifidobakterija (AB-kultura) na *E. coli* (izolirana iz mastitičnog mlijeka).

Materijal i metode rada

Za pokuse su uzeti:

- komercijalna kultura *Lactobacillus acidophilus* te mješavina *L. acidophilus* i *Bifidobacterium bifidum* (1 : 1) (proizvođač Hansen' Laboratory) koja se koristi u pripravi acidofilnog mlijeka, odnosno AB-kulture,
- soj *Escherichia coli* izoliran iz mastitičnog mlijeka,
- obrano rekonstituirano mlijeko, sterilizirano pri 121°C/15',
- hranjivi agar za inkubaciju *E. coli*,
- Mac Conkey-agar za određivanje broja stanica *E. coli*/ml,
- pH metar za određivanje kiselosti uzoraka.

Pripravci uzoraka:

200 ml rekonstituiranog, obranog, steriliziranog mlijeka naciepljeno je:

- a) kulturom *L. acidophilus* 2% (U/v),
- b) mješavinom kulture *L. acidophilus* i *B. bifidum* (U/v).

U naciepljene uzorke mlijeka također je dodano približno 10^8 , 10^7 i 10^6 stanica svježe pripravljene *E. coli* (inkubirane 24^h u hranjivom agaru). Uzorci su inkubirani pri 37°C do postizavanja pH vrijednosti 4,6. Nakon završene fermentacije, dio uzoraka je čuvan pri temperaturi od 37°C, odnosno 15°C tijekom sedam dana. Preživljavanje test organizma (*E. coli*) određeno je odmah nakon proizvodnje te tijekom čuvanja, tj. prvi, treći i šesti dan, brojenjem kolonija na Mac Conkey-agaru

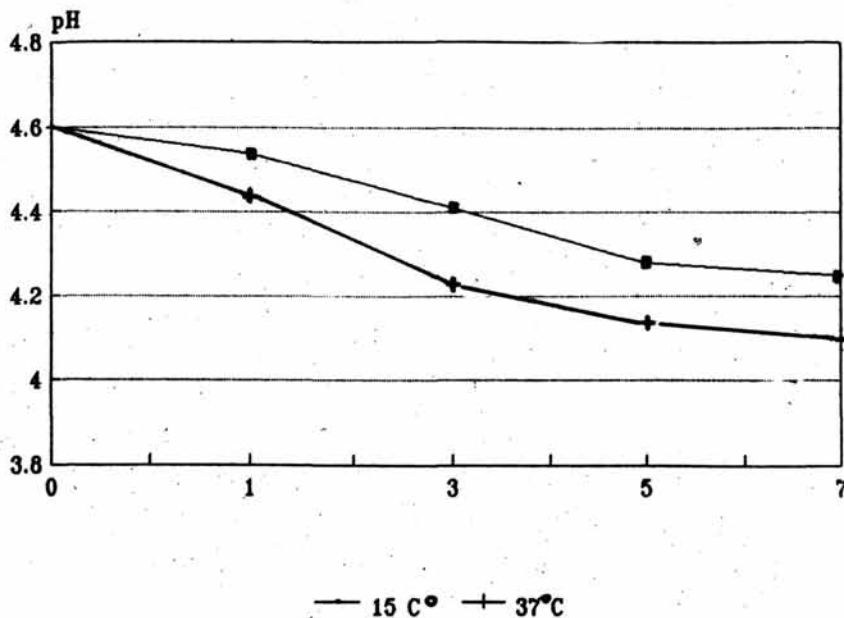
nakon inkubacije ploča 24 sata pri 37°C. Kiselost uzoraka (pH-vrijednost) određivana je tijekom čuvanja prvi, treći, peti i sedmi dan.

Rezultati rada

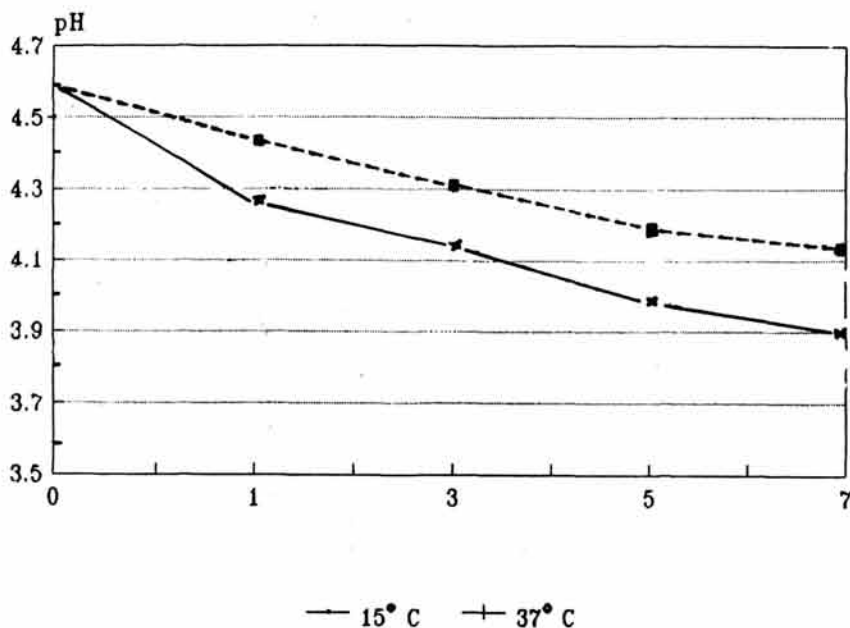
Prema istraživanju mnogih autora (Korhonen, 1994; Mykkänen, 1994; Salmiinen i Tanaka, 1994.) fermentirani mliječni proizvodi sadržavaju brojne biološki aktivne tvari koje povoljno utječu na zdravlje potrošača. U nekim se radovima (Perdigi sur., 1993.) navode i antitumorna i antimutagena svojstva nekih bakterija mliječne kiseline. Također, navodi se da su inhibitorna svojstva bakterija mliječne kiseline posebno izražena prema nekim bakterijama, kao što je to *E. coli*. Štoviše, nizak pH fermentiranih mliječnih proizvoda pojačava inhibitorno djelovanje.

U radu su istražena inhibitorna djelovanja dva fermentirana mliječna proizvoda, acidofilnog mlijeka i AB-kulture, na *E. coli*. Proučavan je i utjecaj promjene pH vrijednosti tijekom čuvanja proizvoda na rast *E. coli*.

Rezultati su prikazani u slikama 1 i 2, te tablicama 1 i 2.



Slika 1. Promjene pH-vrijednosti acidofilnog mlijeka tijekom čuvanja pri 15°C i 37°C
Figure 1 Variation in acidophilus milk pH value during storage at 15°C and 37°C.



Slika 2. Promjene pH vrijednosti AB-kulture tijekom čuvanja pri 15°C i 37°C.
Figure 2 Variation in AB-culture pH value during storage at 15°C and 37°C.

Tablica 1. Inhibitorno djelovanje acidofilnog mlijeka na rast *E. coli* tijekom čuvanja uzoraka pri 15°C i 37°C.

Table 1 Antagonistic activity of acidophilus milk against *E. coli* during storage at 15°C and 37°C.

Dani (Days of testing)	Dodatak (st./ml) - Added CFU/ml					
	10	10 ²	10 ³	10	10 ²	10 ³
	Temperatura (Temperature)					
	15°C			37°C		
1	80	1000	4000	50	650	3450
3	30	150	500	10	65	600
6	1	100	100	<1	5	40

Tablica 2. Inhibitorno djelovanje AB-kulture na rast *E. coli* tijekom čuvanja proizvoda pri 15°C i 37°C.

Table 2 Antagonistic activity of AB-culture against *E. coli* during storage at 15°C i 37°C.

Dani (Days of testing)	Dodatak (st./ml) - Added CFU/ml					
	10	10 ²	10 ³	10	10 ²	10 ³
	Temperatura (Temperature)					
	15°C			37°C		
1	15	250	900	10	200	700
3	9	20	40	<1	10	30
6	<1	7	11	<1	<1	<1

Zaključak

Tijekom čuvanja acidofilnog mlijeka, kultura *L. acidophilus* brže inhibira rast *E. coli* pri 37°C nego pri 15°C. Mješovita kultura *L. acidophilus* i *B. bifidum* također brže inhibira rast *E. coli* pri 37°C nego pri 15°C.

Uočena je znatno jača antimikrobna aktivnost mješovite kulture *L. acidophilus* i *B. bifidum* u odnosu na *L. acidophilus*.

Niska pH-vrijednost proizvoda povoljno utječe na inhibitorno djelovanje kulture mikroorganizama, t.j. istraživanih proizvoda.

EFFECTS OF AB-CULTURE AND ACIDOPHILUS MILK ON GROWTH OF ESCHERICHIA COLI

Summary

The lactic acid bacteria produce a number of antimicrobial agents including metabolic products such as organic acids, hydrogen peroxidase and diacetyl. Another class of inhibitory agents produced by lactic acid bacteria are the bacteriocins.

Influence of *Lactobacillus acidophilus* (comercial strain used in fermented products named acidophilus milk and AB-cultura) and a mixed culture of *L. acidophilus* and *Bifidobacterium bifidum* on the growth and survival of *E. coli* where investigated.

The pH-value and survival of *E. coli* added to the milk were examined after fermentation, and later on days 2; 4 and 6.

L. acidophilus restricted growth of *E. coli* faster at 37°C than at 15°C.

When samples were stored at 15°C there was no significant decrease of *E. coli* count throughout storage periods.

The mixed culture of *L. acidophilus* and *B. bifidum* inhibited growth of *E. coli* faster at 37°C.

The pH of fermented milks ranged from 3.9 - 4.15 pH (acidophilus milk) and 4.1 - 4.25 pH (AB-culture) low pH played a role in the observed antibiosis.

Additional index words: inhibitory activity of Lactobacillus acidophilus, Bifidobacterium bifidum, influence of fermented products pH of E. coli

Literatura

- KORHONEN HANNU (1994): Bioactive compounds in fermented milks, **IDF Nutrition Newsletter 3**, 10. - 11.
- MIKELSAAR MARIKA (1994): Lactobacillar probiotics and intestinal microecology, **IDF Nutrition Newsletter 3**, 10 - 12.
- MYKKÄNEN, H. (1994): Fermented dairy products and colon-cancer related enzymes, **IDF Nutrition Newsletter 3**, 11.
- PERDIGON, G., MEDICI, M., BIBAS BONET DE JORRAT, M. E., VALVERDE DE BUDEGUER M., PESCE DE RUIZ HOLGADO A. (1993): Immunomodulating effect of lactic acid bacteria on mucosal and tumoral immunity, **Int. J. Immunotherapy (1)** 29 - 52.
- SALMINEN SEPPO i TANAKA RYUICHIRO (1994): Role of cultured and culture-containing dairy products in health, **IDF Nutrition Newsletter 3**, 12 - 16.
- ŠUŠKOVIĆ JAGODA, KROBOT MAŠA, MEHAK MILENA i MATOŠIĆ S. (1993): Antimikrobna aktivnost Lactobacillus acidophilus. **Mljekarstvo 43** (2) 95 - 106.

Adrese autora - Author's addresses:

Prof. dr. Ljerka Kršev
Mr. Anica Borović
"Dukat" Mljekara Zagreb d.d.
Zagreb, M Čavića 9

Primljeno - Received

10. 10. 1995.