

ANNA SIP, WŁODZIMIERZ GRAJEK

WPLYW ALKOHOLI I DETERGENTÓW NA AGREGACJĘ DIWERCYNY

Streszczenie

Stosując metodę filtracji membranowej stwierdzono, że diwercyna wykazuje tendencję do silnej agregacji w kompleksy zawierające ponad 25 monomerów. Agregaty diwercyny ulegały częściowemu rozszczepieniu pod wpływem etanolu, izopropanolu, SDS, Nonidetu P-40 oraz Tweenu 80. Najsilniejsze właściwości dezagregujące posiadał SDS. Spośród badanych alkoholi i detergentów, jedynie Tween 80 mógł być dodawany bezpośrednio do pożywki, gdyż nie wykazywał toksycznego działania na kulturę *Carnobacterium divergens* AS7. Obecność tego związku w pożywce hodowlanej zwiększała aktywność diwercyny, skutecznie ograniczała jej agregację i ułatwiała ultrafiltrację. Biorąc pod uwagę możliwość zastosowania tej bakteriocynty w przemyśle spożywczym, do dezagregacji diwercyny zalecany jest alkohol etylowy.

Wstęp

W ostatnich latach duże zainteresowanie wzbudza możliwość zwiększenia bezpieczeństwa mikrobiologicznego żywności za pomocą metabolitów wytwarzanych przez bakterie kwasu mlekowego. Jedną z bardziej interesujących grup metabolitów bakteryjnych, które mogą być zastosowane do eliminacji bakterii chorobotwórczych w żywności, są bakteriocynty. Wiele z nich posiada właściwości hydrofobowe i wykazuje tendencję do zbijania się w duże agregaty oraz łączy się z innymi hydrofobowymi cząsteczkami obecnymi w płynach hodowlanych [1, 4, 5, 7, 8, 9, 13, 18, 19]. Zdolność bakteriocyn do tworzenia wysokocząsteczkowych agregatów i kompleksów ze składnikami pożywek (lipidami, białkami) oraz z niektórymi produktami metabolizmu bakterii utrudnia separację bakteriocyn za pomocą filtracji membranowej oraz zmniejsza ich aktywność biologiczną. Problem ten jest istotny przy produkcji wysoko aktywnych

preparatów bakteriocynowych oraz przy stosowaniu bakteriocyn bezpośrednio w produktach spożywczych.

Dane literaturowe wskazują, że wysoko cząsteczkowe kompleksy bakteriocyn, podobnie jak innych hydrofobowych agregatów, można rozbić za pomocą związków powierzchniowo czynnych. Wykazano także, że obróbka surowych preparatów bakteriocyn za pomocą detergentów zwiększa ich aktywność antybakteryjną [6, 9]. Istnieją także dane, że agregaty bakteriocyn ulegają dezintegracji mechanicznej w czasie burzliwego przepływu roztworów zawierających te związki w modułach ultrafiltrów [9].

Jedną z ciekawszych bakteriocyn produkowanych przez bakterie fermentacji mlekowej *Carnobacterium divergens* jest diwercyna. Bakteriocyna ta posiada wartościowe, z technologicznego punktu widzenia, właściwości fizykochemiczne oraz interesujące spektrum aktywności antybakteryjnej. Jest termostabilnym białkiem o masie cząsteczkowej 4,223 kDa, całkowicie bezpiecznym dla organizmu człowieka. Działa bakteriobójczo na bakterie z gatunku *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Enterococcus faecalis* oraz niektóre szczepy bakterii *Clostridium tyrobutyricum* i *Carnobacterium piscicola* [11, 12]. Właściwości te mogą być wykorzystane do ochrony produktów spożywczych przed zakażeniami bakteriami z rodzaju *Listeria*, a więc w surowcach i przetworach mlecznych, mięsnych, rybnych, warzywnych i innych.

Wcześniejsze badania autorów wykazały, że diwercyna w środowisku hodowlanym ulega silnej agregacji [16, 17]. Stało się to bodźcem do podjęcia badań nad wpływem alkoholi i rozpuszczalników organicznych na agregację diwercyny. Jako kryterium dezagregacji kompleksów przyjęto transfer diwercyny przez kaskadę ultrafiltrów o malejącej średnicy por.

Materialy i metody badań

W badaniach stosowano bakterie *Carnobacterium divergens* AS7. Bakterie te hodowano na zmodyfikowanej pożywce MRS [15] bez Tweenu 80 i z dodatkiem 0,01, 0,05, 0,1 i 1% Tweenu 80. Pożywkę sterylizowano w temperaturze 121°C przez 60 min. Hodowle bakterii prowadzono metodą okresową w bioreaktorach Bioflo III firmy New Brunswick Sci. (Edison, N.J., USA), w warunkach optymalnych do produkcji diwercyny, tj. w temperaturze 30°C, przy stałym pH 6,5, mieszaniu 80 obr./min, w warunkach beztlenowych. Wartość pH hodowli utrzymywano na stałym poziomie poprzez automatyczne dozowanie 5 M NaOH. Jako materiał posiewowy stosowano 2% (V) 14 h inoculum. Hodowle prowadzono przez 15 h.

Oznaczanie aktywności diwercyny przeprowadzono według metody krytycznych rozcieńczeń, stosując mikroorganizm wskaźnikowy *Carnobacterium piscicola* NCDO 2765 [3, 14].

Sposób przygotowania aktywnych ekstraktów diwercyny

Z 15-godzinnej hodowli pobierano płyn hodowlany i odwirowywano go przez 10 min, przy 8000 g. Otrzymany supernatant ogrzewano przez 10 min w temperaturze 100°C, w celu inaktywacji enzymów proteolitycznych, a następnie chłodzono w lodowej łaźni wodnej.

*Ultrafiltracja supernatantów kultury *C. divergens**

Filtracje supernatantów zawierających diwercynę prowadzono przy użyciu systemu filtracyjnego Amicon model CH2RSA, wyposażonego w hydrofilowe membrany wykonane z octanu celulozy o punktach odcięcia 5, 10, 30 i 100 kDa. Ultrafiltrację prowadzono w sposób kaskadowy, filtrując porcje 1000 ml supernatantów kolejno przez filtry o malejącej średnicy por. W permeatach uzyskanych z kolejnych membran oznaczano aktywność diwercyny. Kontrole stanowiły próby, w których diwercynę w supernatantach inaktywowano za pomocą enzymu pronazy E (Serva), w koncentracji 0,1 mg/ml.

Dezagregacja diwercyny za pomocą alkoholi i detergentów

Do supernatantów otrzymanych po wirowaniu płynów pochodowlanych, zawierających diwercynę, wprowadzano detergenty: Tween 80, Nonidet P-40 i SDS w stężeniu 0,01, 0,05, 0,1, 1% oraz rozpuszczalniki organiczne: etanol i izopropanol w stężeniach 1, 3, 5 i 7%. Przygotowane mieszaniny inkubowano w temperaturze 30°C przez 4 h, przy stałym mieszaniu. Po inkubacji roztwory poddawano ultrafiltracji kaskadowej. Produkty ultrafiltracji testowano pod kątem aktywności przeciwdrobnoustrojowej diwercyny w teście z *C. piscicola*. W oznaczeniach aktywności diwercyny kontrole stanowiły permeaty zawierające diwercynę inaktywowaną za pomocą pronazy E (Serva) w koncentracji 0,1 mg/ml.

Oznaczanie antybakteryjnej aktywności diwercyny

Aktywność diwercyny oznaczano metodą krytycznych rozcieńczeń, opisaną przez Pilet i wsp. [12], względem bakterii wskaźnikowych *Carnobacterium piscicola* NCDO 2762 i wyrażano w umownych jednostkach AU/ml, oznaczających odwrotność najniższego rozcieńczenia nie wykazującego już zdolności do inhibowania wzrostu bakterii.

Wyniki i dyskusja

*Wydajność objętościowa ultrafiltracji supernatantów z kultury *C. divergens**

Supernatant z hodowli bakterii *C. divergens*, poddany ultrafiltracji kaskadowej, swobodnie przechodził przez membrany z octanu celulozy o punktach odcięcia od 100

kDa do 10 kDa i dopiero 44% objętości supernatantu zostało zatrzymane w formie retentatu na membranie o porowatości 5 kDa (tab. 1).

Analizując transfer diwercyny przez poszczególne membrany stwierdzono, że w trakcie ultrafiltracji gwałtownie malała aktywność bakteriocyny. Spadek aktywności diwercyny był największy na membranie o punkcie odcięcia 100 kDa. W permeacie uzyskiwanym z tej membrany aktywność diwercyny wynosiła 51 200 AU/ml i była ona szesnastokrotnie niższa od aktywności diwercyny w nadawie. Po przejściu przez membranę 10 kDa aktywność diwercyny obniżyła się do 3 200 AU/ml, a więc zmniejszyła się ponownie szesnaście razy, natomiast membrana o punkcie odcięcia 5 kDa była już całkowicie nieprzepuszczalna w stosunku do cząsteczek bakteriocyny. W związku z tym można stwierdzić, że diwercyna występowała w płynie hodowlanym w postaci agregatów o masie cząsteczkowej znacznie większej od 5 kDa. Fakt, iż diwercyna była silnie zatrzymywana na membranie 100 kDa sugeruje jednocześnie, że wśród agregatów tworzonych przez cząsteczki tej bakteriocyny znaczny udział miały konglomeraty o masie cząsteczkowej powyżej 100 kDa, a więc obejmujące co najmniej 24–25 monomerów.

Tabela 1

Dystrybucja objętościowa supernatantu kultury *C. divergens* w trakcie ultrafiltracji kaskadowej przez membrany o malejącej średnicy por
Volumetric distribution of *C. divergens* culture supernatant in result of cascade ultrafiltration using membranes of decreasing cut off

Porowatość membrany Membrane porosity [kDa]	Objętość / Volume [ml]		
	Nadawa / Feed	Permeat / Permeate	Retentat / Retentate
100	1000	770	0
30	770	500	0
10	500	230	0
5	230	40	100

Wpływ alkoholi i detergentów na agregację diwercyny

W celu rozbicia agregatów diwercyny, obecnych w supernatancie z płynu hodowlanego, a tym samym do polepszenia warunków filtracji, do supernatantu dodawano alkohole: etanol i izopropanol w stężeniu 1, 3, 5 i 7% oraz detergenty: Tween 80, Nonidet P-40 i SDS w stężeniu 0,01, 0,05, 0,1, 1%. Agregacji diwercyny starano się również przeciwdziałać w trakcie biosyntezy bakteriocyn, a więc poprzez wprowadzenie detergentów bezpośrednio do pożywki hodowlanej. Skuteczność dezagregującego

działania detergentów i rozpuszczalników oceniano na podstawie transferu diwercyny przez filtry membranowe o różnej porowatości.

Dodatek etanolu i izopropanolu do supernatantu poprawił transfer diwercyny przez membrany o punktach odcięcia 100, 30 i 10 kDa. Przy 5 i 7% dodatku tych związków aktywność diwercyny w permeatach uzyskiwanych z membran 100 i 30 kDa była równa aktywności diwercyny w nadawie, natomiast przy mniejszym ich dodatku malała po przejściu przez te membrany (tab. 2). W supernatancie z dodatkiem 1% etanolu i izopropanolu spadek aktywności diwercyny podczas filtracji prowadzonej przez membrany 100 i 30 kDa był większy od stwierdzonego w supernatancie, do którego wprowadzono 3% alkoholi. Po przejściu przez membranę 10 kDa, aktywność diwercyny w supernatancie z dodatkiem 1 i 3% alkoholi obniżała się najbardziej. Niezależnie jednak od stężenia alkoholi dodanych do supernatantu, diwercyna nie przechodziła przez membranę 5 kDa. Oznacza to, że stosowane alkohole nie powodowały całkowitej dezagregacji jej cząsteczek do monomerów.

Tabela 2

Wpływ dodatku etanolu i izopropanolu na transfer diwercyny przez kaskadę membran ultrafiltracyjnych
Effect of ethanol and isopropanol addition on the transfer of divercin through the cascade of ultrafiltration membranes

Punkt odcięcia Cut off [kDa]	Super- natant	Supernatant z dodatkiem etanolu Supernatant with ethanol addition				Supernatant z dodatkiem izopropanolu Supernatant with isopropanol addition			
Przed filtracją / Before filtration [AU/ml]									
None	None	1%	3%	5%	7%	1%	3%	5%	7%
	819200	819200	819200	1638400	1638400	819200	819200	1638400	1638400
Aktywność diwercyny w permeatach / Divercin activity in permeates [AU/ml]									
100	51200	204800	409600	1638400	1638400	102400	409600	1638400	1638400
30	12800	25600	204800	1638400	1638400	25600	102400	1638400	1638400
10	3200	6400	51200	204800	409600	3200	6400	12800	12800
5	0	0	0	0	0	0	0	0	0

Na skuteczność filtracji diwercyny przez kaskadę membran wykonanych z octanu celulozy silny wpływ wywierał również dodatek Nonidetu P-40, SDS i Tweenu 80 (tab. 3 i 4). Związki te po wprowadzeniu do supernatantu w koncentracji od 0,01 do 1% poprawiły transfer diwercyny przez membrany o punktach odcięcia 100, 30 i 10 kDa. Przy ich dodatku na poziomie od 0,1 do 1% diwercyna nie była zatrzymywana na membranach o punktach odcięcia 100 i 30 kDa, natomiast przy mniejszym dodatku,

podczas przechodzenia przez te membrany, jej aktywność stopniowo malała. We wszystkich permeatach otrzymanych z membrany 10 kDa aktywność diwercyny była niższa od aktywności w permeatach uzyskiwanych z poprzedniego filtra. Nie-wielka ilość diwercyny obecnej w roztworach, do których wprowadzono od 0,01 do 1% SDS przechodziła przez membranę o punkcie odcięcia 5 kDa, co świadczy o tym, że detergent ten rozszczepiał agregaty tworzone przez diwercynę także do związków o masie zbliżonej do masy pojedynczych jej molekuł. Analizując transfer diwercyny przez membrany z octanu celulozy o malejącej porowatości stwierdzono, że w ekstrak-tach, do których wprowadzono Nonidet i Tween, diwercyna występowała głównie w postaci agregatów o masie cząsteczkowej mieszczącej się w przedziale od 30 do 10 kDa, natomiast wśród agregatów diwercyny obecnych w ekstraktach aktywnych, do których dodano SDS, dominowały układy o masie pomiędzy 10 a 5 kDa.

Tabela 3

Wpływ dodatku Nonidetu P-40 i SDS na transfer diwercyny przez zestawy membran wykonanych z octanu celulozy.

Influence of Nonidet P-40 and SDS addition on the divercin transfer through the cascade of ultrafiltration membranes made of cellulose acetate.

Punkt odcięcia Cut off [kDa]	Super-natant	Supernatant z dodatkiem etanolu Supernatant with ethanol addition				Supernatant z dodatkiem izopropanolu Supernatant with isopropanol addition			
Przed filtracją / Before filtration [AU/ml]									
None	None	0,01%	0,05%	0,1%	1%	0,01%	0,05%	0,1%	1%
	819200	1638400	3276800	6553600	6553600	1638400	1638400	3276800	6553600
Aktywność diwercyny w permeatach / Divercin activity in permeates [AU/ml]									
100	51200	819200	3276800	6553600	6553600	1638400	1638400	3276800	6553600
30	12800	409600	819200	6553600	6553600	409600	819200	3276800	6553600
10	3200	25600	102400	409600	819200	102400	409600	1638400	3276800
5	0	0	0	0	0	400	400	800	800

Korzystny wpływ na transfer diwercyny przez zestaw membran wywierał także dodatek Tweenu 80 bezpośrednio do pożywki hodowlanej. Należy przy tym zaznaczyć, że pozostałe detergenty i alkohole dodane do hodowli bakterii działały toksycznie na komórki *C. divergens* AS7 i wyraźnie obniżały jej zdolność do syntezy diwercyny [16]. Obecność Tweenu 80 w środowisku hodowlanym wpływała natomiast w korzystny sposób zarówno na produkcję i sekrecję diwercyny. Dodatek tego związku poprawiał także wydajność filtracji diwercyny przez membrany o punkcie odcięcia

100, 30 i 10 kDa. Niewielka część diwercyny, produkowanej w pożywce zawierającej Tween 80, przechodziła także przez membranę 5 kDa, czego nie stwierdzono podczas filtracji ekstraktów aktywnych diwercyny, do których wprowadzano ten związek dopiero po zakończeniu hodowli. Diwercyna wydzielona do pożywki z dodatkiem Tweenu 80 była najsilniej zatrzymywana na membranie 5 kDa, natomiast produkowana w pożywce pozbawionej tego związku już na membranie 100 kDa. Oznacza to, że w pożywce z dodatkiem Tweenu 80 diwercyna ulegała znacznie słabszej agregacji niż w pożywce, do której nie wprowadzano tego detergentu. Na podstawie danych zamieszczonych w tab. 4. stwierdzono także, że wydajność filtracji diwercyny produkowanej w pożywce z dodatkiem Tweenu 80 była wyraźnie większa, niż diwercyny zawartej w płynach hodowlanych, do których wprowadzono ten związek dopiero po usunięciu komórek. Oznacza to, że Tween 80 wprowadzony bezpośrednio do pożywki silnie ograniczał agregację diwercyny.

Tabela 4

Wpływ dodatku Tweenu 80 na transfer diwercyny przez zestawy membran wykonanych z octanu celulozy.
Effect of Tween 80 addition on the divercin transfer through the cascade of ultrafiltration membranes made of cellulose acetate.

Punkt odcięcia Cut off [kDa]	Super- natant	Supernatant z dodatkiem Tween 80 Supernatant with Tween 80 addition								Supernatant z kultury bakterii prowadzonej z dodatkiem Tweenu 80 do pożywki Supernatant obtained from the bacteria culture carried out with Tween 80 introduced into culture medium	
		Przed filtracją / Before filtration [AU/ml]									
	None	0,01%	0,05%	0,1%	1%	0,01%	0,05%	0,1%	1%		
	819200	1638400	1638400	1638400	3276800	819200	1638400	3276800	6553600		
	Aktywność diwercyny w permeatach / Divercin activity in permeates [AU/ml]										
100	51200	819200	1638400	1638400	3276800	409600	819200	3276800	3276800		
30	12800	409600	819200	1638400	3276800	204800	409600	3276800	3276800		
10	3200	3200	6400	12800	204800	102400	204800	819200	1638400		
5	0	0	0	0	0	0	400	800	800		

Wpływ detergentów na stopień agregacji bakteriocyn był także badany przez innych autorów. Muriana i Klaenhammer [9] zaobserwowali, że dodatek Nonidetu P-40 i SDS w stężeniu 1% powodował dezagregację laktacyny F i w konsekwencji tego zwiększał jej aktywność o 75%. Pod wpływem działania SDS dezagregacji ulegały również wysokocząsteczkowe kompleksy BLIS 213. Jednocześnie obróbka ta zwiększała

szała prawie dwukrotnie aktywność tej bakteriocynty [6]. SDS skutecznie rozszczepiał także agregaty laktocyny 27 [18], helwetycyny J [4] oraz helwetycyny V-1829 [2]. W następstwie swego dezagregującego działania destabilizował on jednak aktywność helwetycyny V-1829. Przyczyny tego zjawiska nie zostały jak dotąd wyjaśnione.

Zdolność do rozbijania agregatów bakteriocyn posiadał także Tween 80. Nissen-Meyer i wsp. [10] stwierdzili, że związek ten wyraźnie obniżał stopień agregacji laktokokocyny G, silnie zwiększając przy tym jej aktywność. Żaden z wymienionych autorów nie zbadał jednak wpływu dodatku detergentów na transfer bakteriocyn przez membrany, powszechnie stosowane do separacji metabolitów, produkowanych przez drobnoustroje lub wykorzystywane do ich wstępnego oczyszczania.

Podczas badań zaobserwowano również, że roztwory stosowanych detergentów i alkoholi nie wykazywały aktywności antybakteryjnej w stężeniu poniżej 0,1%. W wyższych stężeniach hamowały one natomiast wzrost bakterii wskaźnikowych *C. piscicola* NCDO 2765 w filtratach uzyskanych z membran o porowatości powyżej 10 kDa. SDS w stężeniu 1% w antagonistyczny sposób wpływał także na bakterie wskaźnikowe *Lb. delbrueckii* subsp. *lactis* 47970 [9], *C. piscicola* LMG 9839 [6] oraz *Lb. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 1489 [2].

Wnioski

1. Podczas biosyntezy w kulturze bakteryjnej diwercyna wykazuje tendencję do zbijania się w duże agregaty, z których ponad 30% zawiera więcej niż 24-25 monomerów.
2. Agregaty diwercyny mogą być rozbite do mniejszych fragmentów poprzez dodatki alkoholi i detergentów do roztworów tej bakteriocynty. Spośród detergentów największą skuteczność dezagregującą wykazały SDS i Nonidet P-40, które już przy dodatku 0,01% uwalniały monomery diwercyny.
3. Przy przeznaczeniu preparatów diwercyny do zastosowań w przemyśle spożywczym, należy zalecać rozbijanie kompleksów diwercyny za pomocą 5–7% dodatku etanolu, który łatwo usunąć z produktu.

LITERATURA

- [1] Barefoot S.F., Klaenhammer T.R.: Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin lactocin B. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **26**, 1994, 326.
- [2] Fitzgerald G.F., Vaughan E.V., Daly C.: Identification and characterization of helveticin V-1829, a bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 1829. *J. Appl. Bacteriol.*, **73**, 1992, 299.
- [3] Grajek W., Lassocinska T., Sip A.: Production of bacteriocin by *Carnobacterium divergens* grown in culture media containing hydrolysates of whey, caseicin and malt roots. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, **5**, 1996, 74.

- [4] Joerger M.C., Klaenhammer T.R.: Characterization and purification of helveticin J and evidence for a chromosomally determined bacteriocin produced by *Lactobacillus helveticus* 481. *J. Bacteriol.*, **167**, 1996, 439.
- [5] Kabuki T., Saito T., Kawai Y., Uemura J., Itoh T.: Production, purification and characterization of reuterin 6, a bacteriocin with lytic activity produced by *Lactobacillus reuteri* LA6. *Int. J. Food Microbiol.*, **34**, 1997, 145.
- [6] Khouiti Z., Simon J.P.: Detection and partial characterization of bacteriocin produced by *Carnobacterium piscicola* 213. *Ind. Microbiol. Biotechnol.*, **19**, 1997, 28.
- [7] Lyon W.J., Glatz B.A.: Isolation and purification of propionicin PLG-1, a bacteriocin produced by a strain *Propionibacter thoenii*. *Appl. Environ. Microbiol.*, **59**, 1993, 83.
- [8] Mortvedt C.J., Nissen-Mayer J., Sletten K., Nes I.F.: Purification and amino acid sequence of lactocin S, a bacteriocin produced by *Lactobacillus sake* L45. *Appl. Environ. Microbiol.*, **57**, 1991, 114.
- [9] Muriana P.M., Klaenhammer T.R.: Purification and partial characterization of lactocin F, a bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* 11088. *Appl. Microbiol.*, **57**, 1991, 114.
- [10] Nissen-Meyer J., Holo H., Haverstein L.S., Sletten K., Nes I.F.: A novel lactococcal bacteriocin whose activity depends on the complementary action two peptides. *J. Bacteriol.*, **174**, 1992, 5686.
- [11] Pilet M.F.: Characterisation de la divercine V41 et de la piscicocine V1, bacteriocines produites par *Carnobacterium divergens* V41 et *Carnobacterium piscicola* V1 isolee de produits marins. Ph.D. Thesis, Universite de Caen, Institut de Recherches en Biologie Appliquee., 1994, p. 1-139
- [12] Pilet M.F., Dusset X., Barre R., Novel G., Desmazaud M., Piard J.Ch.: Evidence for two bacteriocins produced by *Carnobacterium piscicola* and *Carnobacterium divergens* isolated from fish and active against *Listeria monocytogenes*. *J. Food Protect.*, **58**, 1995, 256.
- [13] Schved F., Lalazar A., Henis Y., Juven B.J.: Purification, partial characterization and plasmid-linkage of pediocin SJ-1, a bacteriocin produced by *Pediococcus acidilactici*. *J. Appl. Bacteriol.*, **74**, 1995, 67.
- [14] Sip A., Grajek W.: Production of divercin by *Carnobacterium divergens* in presence of divercin-sensitive bacteria *Carnobacterium piscicola* and *Listeria innocua*. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, **3**, 1997, 1.
- [15] Sip A., Grajek W., Boyaval P.: Enhancement of bacteriocin production by *Carnobacterium divergens* AS7 in the presence of a bacteriocin-sensitive strain *Carnobacterium piscicola*. *Int. J. Food Microbiol.*, **42**, 1998, 63.
- [16] Sip A.: Production of divercin by bacteria *Carnobacterium divergens* AS7. (Pol.). Ph.D. Thesis. August Cieszkowski Agricultural University, Faculty of Food Technology, Poznan (Poland), 1999, p. 1-246.
- [17] Sip A., Grajek W., Boyaval P.: Production of bacteriocin by *Carnobacterium divergens* in batch and continuous culture. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, **8/49**, 1999, 27.
- [18] Upreti G.C., Hindsill R.D.: Isolation and characterization of a bacteriocin from homofermentative *Lactobacillus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **4**, 1973, 487.
- [19] Upreti G.C., Hindsill R.D.: Production and mode of action of lactocin 27: bacteriocin from homofermentative *Lactobacillus*. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **7**, 1975, 139.

INFLUENCE OF ALCOHOLS AND DETERGENTS ON DIVERCIN AGGREGATION

Summary

Based on the divercin transfer through ultrafiltration membrane, it was showed that this bacteriocin tends to form large aggregates with the molecular weight over 100 kDa, contains over 25 monomers. The

aggregates were partially depolymerised by ethanol, isopropanol, SDS, Nonidet P-40 and Tween 80. The greatest depolymerization of divercin aggregates was observed when SDS was used. Among alcohols and detergents tested, only Tween 80 can be introduced directly into *Carnobacterium divergens* AS7 culture because of its non toxic effect on the bacteria cells. The presence of Tween 80 increased divercin activity, limited divercin aggregation and make easy its ultrafiltration. Taking into account the application of divercin in food industry, ethanol can be suggested for disaggregating of bacteriocin macromolecules. ☒

PTTŻ członkiem Euro Fed Lipid

W 2000 roku cztery państwa Unii Europejskiej – Niemcy, Francja, Wielka Brytania i Holandia – powołały Europejską Federację ds. Nauki i Technologii Tłuszczów (European Federation for the Science and Technology of Lipids) w skrócie Euro Fed Lipid. Jej zasadniczym celem jest z jednej strony skupianie, a z drugiej reprezentowanie wobec władz Unii Europejskiej możliwie wszystkich europejskich instytucji związanych z nauką i technologią tłuszczów. Wstępne rozmowy z Brukselą potwierdziły, że Euro Fed Lipid będzie opiniowało wszystkie decyzje Unii Europejskiej związane z tłuszczami. W roku 2001 do Federacji przyjęto dwóch nowych członków, w tym Polskę, a konkretnie Polskie Towarzystwo Technologów Żywności. Można więc powiedzieć, że PTTŻ jest już w Unii Europejskiej! W czasie ostatniego Światowego Kongresu Tłuszczowego, który miał miejsce we wrześniu w Berlinie, odbyło się Walne Zgromadzenie Federacji i dokonano wyboru sześciuosobowego Zarządu (Managing Council). Pierwszym Prezydentem został Francuz, prof. dr Michel Permentier, V-Prezydentem prof. dr Fridrich Spener z Niemiec, a skarbnikiem dr Parkash Kochhar z Wielkiej Brytanii. Na funkcję jednego z pozostałych trzech członków zarządu wybrano prof. dr Krzysztofa Krygiera, V-Prezesa PTTŻ. Aktualnie w Federacji trwają prace związane z rejestracją, organizacją siedziby i biura (Niemcy), uzgodnienia ostatecznych kontaktów z władzami Unii Europejskiej oraz przygotowaniem wniosku o finansowanie (częściowe) działalności Federacji w Unii.

Wszystkich zainteresowanych prosimy o kontakt z prof. K. Krygierem:

Wydział Technologii Żywności SGGW,
ul. Nowoursynowska 159 C, 02-787 Warszawa,
tel./fax +847 58 17, e-mail: krzysztofkrygier@wp.pl