

УДК 579.017.7

DOI: 10.18413/2313-8955-2016-2-3-56-63

Миралимова Ш.М.¹,
Огай Д.К.²,
Кутлиева Г.Д.³,
Ибрагимова А.⁴,
Сохибназарова Х.⁵

**СИНТЕЗ БАКТЕРИОЦИНОПОДОБНОГО ВЕЩЕСТВА
ШТАММОМ *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 42,
ВЫДЕЛЕННЫМ ИЗ КВАШЕНОЙ КАПУСТЫ**

- 1) старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, ул. А.Кадыри, 7В, Ташкент, 100128, Узбекистан,
E-mail: mirshakhlo@yahoo.com
- 2) старший научный сотрудник, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, ул. А.Кадыри, 7В, Ташкент, 100128, Узбекистан
- 3) зав. лабораторией, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан, ул. А.Кадыри, 7В, Ташкент, 100128, Узбекистан
- 4) стажер-исследователь, Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан,
ул. А.Кадыри, 7В, Ташкент, 100128, Узбекистан
- 5) младший научный сотрудник, Институт микробиологии Академии Наук Республики Узбекистан,
ул. А.Кадыри, 7В, Ташкент, 100128, Узбекистан

Аннотация

Бактериоцины – рибосомально синтезируемые антибактериальные белковые вещества, выделяемые определенными видами бактерий и активны против как близкородственных видов, так и против представителей других видов. В настоящее время бактериоцины рекомендуются для применения в качестве антимикробных веществ в пищевой промышленности и в медицине. Количество синтезируемого бактериоцина в значительной степени зависит от условий культивирования, таких как рН среды и температура. Бактериоцины могут как выделяться в среду культивирования, так и оставаться прикрепленными к клетке продуцента. Оптимизация условий продукции бактериоцина и увеличения его активности имеет важное экономическое значение для снижения стоимости его получения.

Целью данной работы было определение локализации бактериоцина *Lactobacillus plantarum* 42, активного против *Enterococcus faecalis* и определение оптимальных условий культивирования, при которых наблюдается его максимальная продукция.

Штамм *Lactobacillus plantarum* 42 синтезирует бактериоцин, активный против *Enterococcus faecalis*, который выделяется в твердую и жидкую питательную среду, однако в МРС бульоне обнаруживается только при 10-кратной концентрации. Бактериоцин обнаруживается на ранней стационарной фазе роста (18 часов) и продолжает оставаться активным до 76 часов после начала ферментации. Максимальное количество бактериоцина было обнаружено после 48 часов ферментации, при начальном значении рН среды от 5 до 7. Не было отмечено отличий в синтезе при температурах 30°C и 37°C. Данный бактериоцин оказался вторичным метаболитом.

Ключевые слова: *Lactobacillus plantarum* 42; бактериоцин; *Enterococcus faecalis*.

Миралимова Ш.¹,
Огай Д.²,
Кутлиева Г.³,
Ибрагимова А.⁴,
Сохибназарова Х.⁵

SYNTHESIS OF BACTERIOCIN-LIKE SUBSTANCE BY *LACTOBACILLUS PLANTARUM* 42 STRAIN ISOLATED FROM SOUR CABBAGE

- 1) Senior Researcher, PhD in Biology, Senior Scientific Researcher, Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 7B, A. Kadiry St, Tashkent, 100128, Uzbekistan, *E-mail: mirshakhlo@yahoo.com*
- 2) Senior Researcher, PhD in Biology, Senior Scientific Researcher Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 7B, A. Kadiry St, Tashkent, 100128, Uzbekistan
- 3) Head of Laboratory, PhD in Biology, Senior Scientific Researcher Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 7B, A. Kadiry St, Tashkent, 100128, Uzbekistan
- 4) Trainee Researcher Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 7 B, A. Kadiry St, Tashkent, 100128, Uzbekistan
- 5) Junior Researcher Institute of Microbiology, Academy of Sciences of the Republic of Uzbekistan, 7 B, A. Kadiry St, Tashkent, 100128, Uzbekistan

Abstract. Bacteriocins are ribosomally synthesized antibacterial peptides secreted by certain types of bacteria and are active against both closely related species, and members of other species. Currently bacteriocins are recommended for use as antimicrobial agents in the food industry and in medicine. Bacteriocin production significantly depends on several factors, such as culture conditions – pH, temperature and composition of the growth medium. Bacteriocins can both be released in the culture medium, and remain attached to the producer cell. The optimization of growth conditions for bacteriocin production and the increase of its activity are of great economic importance to reduce its production cost.

The aim of this study was to determine the localization of a bacteriocin of *Lactobacillus plantarum* 42, active against *Enterococcus faecalis*, and to determine the optimal culture conditions in which its maximum output can be observed.

The *Lactobacillus plantarum* 42 strain synthesizes bacteriocin, which is active against *Enterococcus faecalis*, which is released into a solid and a liquid nutrient medium, but in MRS Broth it is found only with tenfold concentration. Bacteriocin is detected at early stationary growth phase (18 hours) and remains active until 76 hours after initiation of fermentation. Max quantity of bacteriocin was detected after 48 hours of fermentation with the initial pH value of 6. There was no difference in the cultivation temperatures of 30°C and 37°C. This bacteriocin proved to be a secondary metabolite.

Keywords: *Lactobacillus plantarum* 42; bacteriocin; *Enterococcus faecalis*.

Молочнокислые бактерии (МКБ) выделяют большое количество антимикробных веществ, в том числе органические кислоты, реутерин, диацетил, перекись водорода и бактериоцины, которые способны подавлять рост патогенных микроорганизмов [12]. Бактериоцины – белковые, рибосомально синтезируемые антибактериальные вещества, выделяемые определенными видами бактерий и активны против как близкородственных видов [19], так и против представителей других видов [14]. В настоящее время бактериоцины рекомендуются для применения в качестве антимикробных веществ в пищевой промышленности и в медицине [14, 15]. Разные бактериоцины имеют разный спектр чувствительных микроорганизмов, в том числе вызывающих порчу пищевых продуктов и поэтому они могут служить натуральным заменителем синтетических консервантов [20], в связи с чем в последнее время возрос интерес ученых к поиску новых потенциальных источников этих белковых компонентов. Сообщалось, что продукция бактериоцина зависит от ряда факторов, таких как условия культивирования – pH, температура, состав питательной среды и фазы роста и развития продуцента [10]. Бактериоцины могут как выделяться в среду культивирования [22], так и оставаться прикрепленными к клетке продуцента [11]. Оптимизация условий продукции бактериоцина и увеличения его активности имеет важное экономическое значение для снижения стоимости его получения.

Целью данной работы было определение локализации бактериоцина *Lactobacillus plantarum* 42, активного против *Enterococcus faecalis* и определение оптимальных условий культивирования, при которых наблюдается его максимальная продукция.

Экспериментальная часть

Бактериальные культуры. В работе использовался в качестве продуцента бактериоцин-синтезирующий штамм *Lactobacillus plantarum* 42 [2], выделенный из квашеной капусты и хранящийся в лаборатории генетики молочнокислых бактерий АН РУз в лиофильно высушенном состоянии. Для проведения исследований культуру восстанавливали путем двукратного пересева в МРС бульон (HiMedia) (количество вносимого инокулята 1%) и культивирования при 37°C в течение 24 часов. Индикаторным штаммом служил типовой штамм *Enterococcus faecalis*.

Определение локализации синтезированного бактериоцина. Для того чтобы определить, секретруется ли продуцируемый антимикробный пептид во внешнюю среду или остается прикрепленным к клетке, изучали наличие антимикробной активности: а) в толще твердого МРС агара, б) в бесклеточной культуральной среде и в) в лизате клеток. На твердой агаровой среде продукцию бактериоцина изучали методом пятен, описанным Harris и сотр. [3]. Для этого ночную культуру *L. plantarum* 42, выращенную в МРС бульоне, засеивали пятном (7 мкл) на поверхность чашки с МРС агаром и культивировали при 37°C 48 часов при анаэробных условиях для

предотвращения синтеза перекиси водорода. Штаммы *L. plantarum* 43 и *L. plantarum* ATCC были использованы для сравнительного анализа. Для выяснения белковой природы ингибирующего вещества, около пятна выросшей исследуемой культуры помещали каплю (5 мкл) протеаз – пепсина и протеиназы К. Затем чашки покрывали вторым слоем мягкого сердечно-мозгового агара (СМА, HiMedia), в котором было суспендировано 10 мл индикаторной культуры *E. faecalis* в стационарной фазе роста. После 24-часового культивирования при аэробных условиях проверяли наличие и измеряли диаметр зоны подавления роста в индикаторном слое клеток и наблюдали наличие протеазной активности, которая выражалась в росте индикаторной культуры в точках действия пепсина и протеиназы К.

Для определения антимикробной активности культуральной жидкости, восстановленные клетки выращивали в течение 48 часов при 30°C в МРС бульоне, отделяли от культуральной жидкости центрифугированием при 5000 об/мин в течение 15 минут. Супернатант пропускали через мембранный фильтр с размером пор 0.22 мкм для удаления остаточных клеток, концентрировали в 10 раз путем сублимационной сушки с последующим растворением в меньшем количестве воды. Кроме того, из высушенного супернатанта готовили 10% раствор в дистиллированной воде из расчета на массу сухого остатка (100 мкг сухого остатка растворяли в 1 мл стерильной дистиллированной воды.). В качестве контроля использовали питательный МРС-бульон, 10-кратно концентрированный путем лиофильного высушивания с последующим растворением в меньшем количестве воды.

Чтобы определить антимикробную активность лизата клеток, *Lactobacillus plantarum* 42 восстанавливали путем двукратного посева на среду МРС и инкубировали при 30°C 24 часа. Культуру центрифугировали при 5000 об/мин в течение 15 мин, осажденную биомассу ресуспендировали в 300 мл 70% изопропанола и 0.1% трифторуксусной кислоты [11] и перемешивали на магнитной мешалке при комнатной температуре в течение 3 часов. Остатки клеточной стенки удаляли центрифугированием при 5000 об/мин в течение 15 мин и далее из супернатанта выпаривали изопропанол на роторном испарителе.

Сырой экстракт белков из культуральной жидкости *L. plantarum* 42 получали путем высаливания аммония сульфатом с последующим

диализом в диализном мешке с размерами пор 1000 кДа и сублимационной сушкой.

Проверяли антимикробную активность супернатанта, лизата клеток и сырого экстракта белков методом лунок в агаре [4].

Подбор оптимальных условий культивирования для максимального синтеза бактериоцина. Время максимального бактериоцинообразования оценивали методом пятен на агаре по зоне подавления индикаторного штамма *E. faecalis* после 24, 36, 48, 60 и 72 часов ферментации.

Оптимальная температура культивирования определялась при выращивании бактериоциногенной тест-культуры при 30°C и 37°C с последующим измерением зоны подавления роста индикаторного штамма в двухслойном агаре.

Влияние значения рН среды культивирования на бактериоцинообразование изучали при выращивании культуры продуцента на МРС среде, где начальную рН доводили до значений 4.0, 5.0, 6.0, 7.0 и 8.0 с помощью растворов HCl и NaOH и наблюдали изменение диаметра зоны подавления индикаторной культуры описанным выше методом.

В следующей серии опытов изучено образование бактериоцина при следующем режиме ферментации: температуры 37°C, при перемешивании на качалке (с количеством оборотов не менее 200 оборотов в минуту) в колбах с узким и длинным горлом для создания частичной анаэробности и в динамике роста – через 12, 18, 24, 36 и 48 часов.

Определяли в динамике роста изменения рН среды, накопление живых клеток по оптической плотности бактериальной суспензии при длине волны 600 (OD₆₀₀), количеству живых клеток в 1 мл среды и антимикробную активность культуральной жидкости по диаметру зоны отсутствия роста индикаторной культуры *E. faecalis*.

Время начала синтеза бактериоцина. Жидкую культуру *L. plantarum* 42, выращенную в МРС бульоне, рассевали на твердый МРС агар для получения поверхностных колоний, затем после 12 ч. роста облучали УФ лучами в течение 30 сек для индукции бактериоцинообразования [1]. Из поверхностных колоний получали бактериальную суспензию с плотностью клеток 10⁹ КОЕ/мл путем смыва физиологическим раствором. Затем посевной материал вносили в количестве 5% в колбы со 100 мл МРС бульона. Время начала синтеза бактериоцина определяли на 6, 12, 18, 24, 36, 48, 60 часы ферментации путем нанесения отцентрифугированного и

пропущенного через мембранный фильтр с размерами пор 0.22 мкм супернатанта в количестве 7 мкл на поверхность слоя индикаторной культуры, посеянной в мягкий СМА. После культивирования при 37°C 24 часа отмечали отсутствие роста индикаторной культуры в зоне нанесения супернатанта.

Результаты исследования и их обсуждение
Антимикробная активность *L. plantarum* 42 на твердой среде, лизата его клеток и супернатанта.

Показано, что вокруг *L. plantarum* 42 появляется большая зона задержки роста (более 20 мм) у *E. faecalis*. Антимикробный агент *L. plantarum* 42 теряет свою активность против энтерококка после обработки пепсином и протеиназой К, что проявляется в виде участка роста культуры в зоне подавления роста. Это указывает на белковую природу вещества (рис. 1). Другие штаммы *L. plantarum* (*L. plantarum* 43 и *L. plantarum* ATCC) не имеют антимикробной активности против данной культуры.

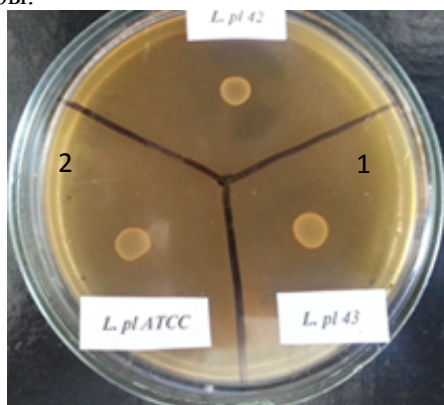


Рис. 1. Антимикробная активность *L. plantarum* 42, обусловленная бактериоцином, к *E. faecalis*
1 – зона разрушения бактериоцина пепсином
2 – зона разрушения бактериоцина протеиназой К

Рис. 1. Antimicrobial activity of *L. plantarum* 42, caused by bacteriocin, against *E. faecalis*
1 – the zone of bactericon destruction by pepsin
2 – the zone of bactericon destruction by proteinase K

Установлено, что лизат клеток не обладает антимикробной активностью к *E. faecalis*, в то время как культуральная жидкость проявляет антимикробную активность, обусловленную веществом белковой природы, только при 10-кратном концентрировании. 10% раствор высушенного супернатанта и 10-кратно концентрированный супернатант имеют зону подавления роста *Enterococcus faecalis* 13 мм и

26 мм соответственно, в то время как концентрированный МРС бульон не обладает антагонистической активностью по отношению к индикаторной культуре (рис. 2).

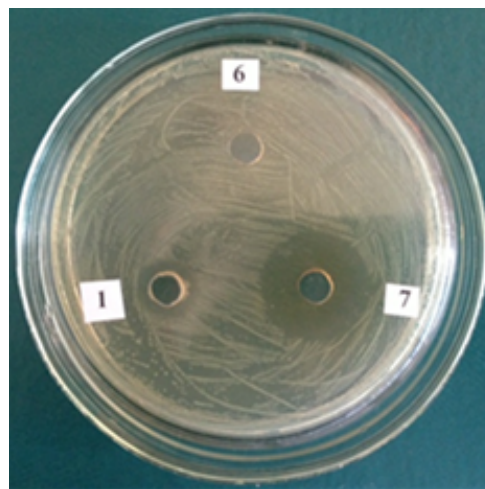


Рис. 2. Антимикробная активность культуральной жидкости *L. plantarum* 42 к *E. faecalis*
1. 10% раствор сухого остатка супернатанта *L. plantarum* 42

6. 10-кратно концентрированный МРС бульон
7. 10-кратно концентрированный супернатант
Рис. 2. Antimicrobial activity of *L. plantarum* 42 culture media against *E. faecalis*

1. 10% solution of dried *L. plantarum* 42 supernatant
6. 10-times concentrated MRS Broth
7. 10-times concentrated supernatant

Полученный путем высаливания сульфатом аммония из культуральной жидкости сырой экстракт белков *L. plantarum* 42 в концентрации 2.5% и 25% также проявил антимикробную активность к *E. faecalis*, при этом наблюдалось увеличение зоны подавления роста индикаторной культуры от 17 до 25 мм.

По литературным данным, в большинстве случаев бактериоцины накапливаются в супернатанте в достаточном количестве, поскольку их активность обнаруживается не только в сыром супернатанте, но и при его разведении в несколько раз [6, 9, 21]. Однако некоторые бактериоцины, такие как плантарицин F [16], лактацин В [5] и плантацин В [23], секретируются в жидкую питательную среду в достаточно малых количествах, поэтому он не обнаруживается без концентрирования супернатанта. Несмотря на это, в твердой питательной среде накопление таких бактериоцинов идет достаточно эффективно, поэтому обнаружение их наличия и активности проводится на агаровой среде. Изучаемый нами бактериоцин *L. plantarum* 42, также как и

плантарицин F, лактацин В и плантацин В, секретируется преимущественно в твердую питательную среду.

Условия культивирования для максимального накопления бактериоцина

Результаты показали, что наибольшая продукция бактериоцина наблюдается через 48 часов ферментации, к 60 и 72 часам культивирования, бактериоцинообразование снижается. Температура инкубации – 30°C и 37°C – не влияет значительно на синтез бактериоцина (табл. 1).

Таблица 1

Диаметр зоны задержки роста индикаторной культуры бактериоцином *L. plantarum* 42 в зависимости от времени культивирования и температуры (мм)

Table 1

Diameter of the indicator strain growth inhibition by *L. plantarum* 42 related to the time of cultivation and temperature

Температура	Время культивирования, ч				
	24	36	48	60	72
30°C	12.4±0.31	15.2±0.48	20.2±0.48	19.4±0.31	17.6±0.23
37°C	13.4±0.31	15.6±0.52	19.4±0.31	19.6±0.52	17.6±0.52

Изучение влияния значения pH на синтез бактериоцина показало, что синтез бактериоцина максимален при pH 6, диаметр зоны подавления роста индикаторной культуры составляет 19.6 мм, при pH 5.0 и 7.0 также наблюдается значительный синтез бактериоцина и диаметр зоны подавления роста составляет 17.6 и 17.8 мм. При pH ниже 5 бактериоцинообразования не наблюдается и при pH 8 синтез бактериоцина значительно снижается (табл. 2).

Таблица 2

Влияние pH среды на образование бактериоцина штаммом *L. plantarum* 42

Table 2

Influence of initial pH of growth media on bacteriocin production by *L. plantarum* 42

pH питательной среды MRS	Диаметр зоны отсутствия роста, мм
4.0	-
5.0	17.6±0.52
6.0	19.6±0.31
7.0	17.8±0.48
8.0	12.2±0.26

Условия культивирования, такие как начальное значение pH среды и температура, являются важным фактором для продукции бактериоцинов [20].

Определение бактериоцинообразования в динамике роста при ферментации продуцента на

качалке показало, что максимальный синтез бактериоцина при данных условиях происходит через 24 часа после начала ферментации, когда наблюдается максимальное количество живых клеток в среде (1.4×10^9). Диаметр зоны отсутствия роста индикаторной культуры при этом составлял 15.5 мм, тогда как через 48 часов после начала инкубации наряду со снижением количества живых клеток в среде и накоплением кислот (pH среды снижается до 3.5), уменьшается диаметр зоны отсутствия роста до 14.8 мм (табл.3).

Таблица 3

Бактериоциногенная активность *L. plantarum* 42 в динамике роста и развития

Table 3

Bacteriocinogenic activity of *L. plantarum* 42 in the dynamics of growth and development

Показатели	Время культивирования, ч				
	12	18	24	36	48
pH	4.7	4.5	3.8	3.5	3.5
Оптическая плотность бактер. суспензии	2.38	2.71	2.75	2.78	3.1
Количество живых клеток/мл культуральной среды	$5.5 \cdot 10^8$	$1.2 \cdot 10^9$	$1.4 \cdot 10^9$	$9.5 \cdot 10^8$	$7.5 \cdot 10^8$
Зона бактерицидного действия	12.2±0.48	14.5±0.45	15.5±0.45	15.1±0.14	14.8±0.59

Время начала синтеза бактериоцина

При нанесении супернатанта *L. plantarum* 42 на поверхность слоя с индикаторной культурой было отмечено, что не во всех образцах наблюдается подавление роста *E. faecalis* на месте нанесения супернатанта. Подавление начинает проявляться в образце, взятом через 18 часов после начала культивирования, что соответствует началу стационарной фазы роста исследуемой культуры. Ингибирующая активность супернатанта сохраняется до 72 часов, после чего наблюдение было остановлено. Сохранение активности в течение длительного времени возможно связано с тем, что культура не образует внеклеточных протеаз.

В отличие от многих бактериоцинов МКБ, активность бактериоцина *L. plantarum* 42 не обнаруживается в культуральной жидкости до начала стационарной фазы роста. В такой же фазе роста обнаруживаются активность бактериоцина плантарицина F [16], в то время как плантарицин Т, продуцируемый *L. plantarum* LPC010,

обнаруживается только во время поздней фазы стационарного роста [17]. В отличие от них, плантарицины А, ВN, С и S [7, 13, 8, 17] – все бактериоцины *L. plantarum*, обнаруживались в период активного роста, также как и педиоцин АсН, низин, сакацин А и лейконоцин Lcm I [24].

Отсутствие активности бактериоцина F во время экспоненциальной фазы роста Paunter и сотр [16] объясняются следующими факторами: либо он не синтезируется в этой фазе роста, либо он синтезируется во время активного роста, но адсорбирован на клетке до тех пор, пока pH не снижается до того уровня, который приводит к десорбции. В нашем исследовании показано, что pH не влияет на десорбцию бактериоцина, так через 12 часов культивирования, когда активности бактериоцина еще не наблюдается и через 18 часов культивирования, когда уже проявляется активность, значение pH отличается незначительно. Это подтверждается отсутствием антимикробной активности лизата клеток *L. plantarum* 42. Вероятно, синтез бактериоцина начинается только в ранней стационарной фазе роста *L. plantarum* 42, что означает, что он является вторичным метаболитом. В большинстве случаев, синтез бактериоцинов МКБ происходит во время активной фазы роста [21], но некоторые исследования указывают, что МКБ могут синтезировать бактериоцин в стационарной фазе [16].

Условия культивирования, такие как начальное значение pH среды и температура, являются важным фактором для продукции бактериоцинов [20]. По данным Prema [18], оптимальными условиями накопления бактериоцина тремя штаммами *L. plantarum* (IZ, A1, F1), выделенными из растительного сырья, является МРС-среда с pH=6.5, температура инкубации 37°C и время ферментации 48 часов. Такие же условия культивирования являются оптимальными для продукции бактериоцина *L. plantarum* 42, хотя температура в пределах от 30°C до 37°C не изменяла синтез бактериоцина. В другом исследовании синтеза бактериоцина *L. plantarum* ST194BZ в работе Todorov S.D. и Dicks L.M.T [21] оптимальное значение pH также установлено выше 4.5, хотя оптимальная температура для синтеза равна 30°C. Из полученных нами результатов и литературных данных можно сделать вывод, что оптимальной температурой продукции бактериоцинов *L. plantarum* является температура в пределах 30°C и 37°C и оптимальное значение pH = 6.

Кроме температуры и pH среды, на синтез бактериоцинов большое влияние оказывает

состав питательной среды [21], что будет изучено нами в дальнейших исследованиях.

Заключение

L. plantarum 42, выделенный из квашеной капусты, синтезирует бактериоцин, активный против *E. faecalis*, который секретируется в питательную среду. Максимальная продукция бактериоцина наблюдается при начальном значении pH среды, равном 6 и при температуре от 30°C до 37°C. Бактериоцин *L. plantarum* 42 является вторичным метаболитом.

Для дальнейшей оптимизации бактериоцинообразования целесообразным является подбор состава питательной среды.

Список литературы

1. МУК 4.2.2602-10. Методы контроля. Биологические и микробиологические факторы. Система предрегистрационного доклинического изучения безопасности препаратов. Отбор, проверка и хранение производственных штаммов, используемых при производстве пробиотиков. Методические указания. 2010 г. URL: http://www.hippocratic.ru/medtext2/medtext_28555.htm (дата обращения 17.05.2016)
2. Пробиотические свойства бактериоциногенного штамма *Lactobacillus plantarum* / Миралимова Ш.М., Огай Д.К., Элова Н.А., Сохибназарова Х.А., Кутлиева Г.Д., Шакирова Д.Н. // Фармацевтический журнал. 2016. № 2. С.111-116.
3. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* / Harris L. J., Daeschel M. A., Stiles M. E., Klaenhammer T. R. J Food Prot. 1999. № 52. P.384-387.
4. Balouiri M., Sadiki M., Ibsouda S. K. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis. 2016. Vol. 6. № 2. P. 71-79.
5. Barefoot S. F., Klaenhammer T. R. Purification and characterization of the lactobacillus acidophilus bacteriocin, lactacin B. Antimicrobial agent and chemotherapy. 1984. № 26. P. 328-334.
6. Characterization and purification of a new bacteriocin with a broad inhibitory spectrum produced by *Lactobacillus plantarum* lp 31 strain isolated from dry-fermented sausage / Muller D. M., Carrasco M. S., Tonarelli G. G. and Simonetta A. C. Journal of Applied Microbiology. 2009. Vol. 106. P. 2031-2040.
7. Daeschel M. A., McKenney M. C., McDonald L. C. Bacteriocidal activity of *Lactobacillus plantarum* C-11. Food microbiology. 1990. № 7. P. 91-98.
8. Detection, purification and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a *Lactobacillus plantarum* strain of dairy origin / Gonzales B., Arca P., Mayo B., Suarez J. E. Applied and environmental microbiology. 1994. № 60. P. 2158-2163.

9. Dufour A., Hindre T., Haras D., Le Penne J. P. The biology of lantibiotics from the lactacin 481 group is coming of age. *FEMS Microbiol. Rev.* 2007. Vol. 31. P. 134-167
10. Ennahar S., Sonomoto K. and Ishizaki A. Class IIa Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Antibacterial Activity and Food Preservation. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 1999. Vol. 87. № 6. P. 705-716.
11. Field D., Connor P. M. O., Cotter P. D., Hill C., Ross R. P. The generation of nisin variants with enhanced activity against specific Gram-positive pathogens. *Molecular Microbiology.* 2008. Vol. 69. № 1. P. 218-230.
12. Leroy F. and De Vuyst L. Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for the Food Fermentation Industry. *Trends in Food Science & Technology.* 2004. Vol. 15, № 2, P. 67-78.
13. Lewus C. B., Montville T. J. Further characterization of bacteriocins plantaricin BN, Bavaricin MN and pediocin A. *Food biotechnology.* 1992. N 6, P. 153-174.
14. Nes I.F., Yoon S.S., Diep D.B. Ribosomally synthesized antimicrobial peptides (bacteriocins) in Lactic acid bacteria. *Food science biotechnology.* 2007. Vol.16. № 5. P. 675-690.
15. Papagianni M. Ribosomally Synthesized Peptides and Antimicrobial Properties: Biosynthesis, Structure, Function, and Applications. *Biotechnology Advances.* 2003. Vol. 21, № 6. P. 465-499.
16. Paynter M. J. B., Brown K. A., Hayasaka S. S. Factors affecting the production of an antimicrobial agent, plantaricin F, by *Lactobacillus plantarum* BF001. *Letters in applied microbiology.* 1997. № 24. P. 159-165.
17. Plantaricins S and T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPC010 isolated from a green olive fermentation / Jimenez-Diaz R., Rios-Sanchez R. M., Desmazeaud M., Riuz-Barba J.L. *Applied and environmental microbiology.* 1993. № 59. P. 1416-1424.
18. Prema P. In vitro antagonistic activity of probiotic *Lactobacillus plantarum* against water borne pathogens. *International Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences.* 2013. Vol. 5. № 4. P. 175-178.
19. Riley M. A. and Wertz J. E. Bacteriocins: Evolution, Ecology, and Application // *Annual Review of Microbiology.* 2002. Vol. 56. № 3. P. 117-137.
20. Tagg J. R., Dajani A. S. and Wannamaker L. W. Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria. *Bacteriological Reviews.* 1976. Vol. 40. № 3. P. 722-756.
21. Todorov S. D., Dicks L. M. T. Effect of growth medium on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST194BZ, a strain isolated from Boza. *Food Technol. Biotechnol.* 2005. Vol. 43. № 2. P. 165-173.
22. Vijayakumar P.P, Muriana P.M. A Microplate Growth Inhibition Assay for Screening Bacteriocins against *Listeria monocytogenes* to Differentiate Their Mode-of-Action. *Biomolecules.* 2015. Vol. 5. P. 1178-1194.
23. West C.A., Warner P.J. Plantacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* NCDO 1193. *FEMS microbiology letters.* 1988. № 49. P. 163-165.
24. Yang R., Johnson M.C., Ray B. Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Applied and environmental microbiology.* 1992. № 58, P. 3355-3359.

References

1. MUK 4.2.2602-10. Control Methods. Biological and Microbiological Factors. The System of Pre-registration of Preclinical Safety Studies of Drugs. Sampling, Testing and Storage of Production Strains Used in the Production of Probiotics. Methodical Instructions. 2010 URL: http://www.hippocratic.ru/medtext2/medtext_28555.htm (date of access: July 15, 2016).
2. Probiotic Properties of Bacteriocinogenic Strain *Lactobacillus Plantarum* / Miralimova Sh.M., Ogai D.K., Elova N.A., Sokhibnazarova H.A., Kutlieva G.D., Shakirova D.N. *Pharmaceutical Journal.* 2016. №: 2. Pp.111-116.
3. Antimicrobial activity of lactic acid bacteria against *Listeria monocytogenes* / Harris L. J., Daescheyl M. A., Stiles M. E., Klaenhammer T. R. *J Food Prot.* 1999. № 52. P.384-387.
4. Balouiri M., Sadiki M., Ibsouda S. K.. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis.* 2016. Vol. 6. № 2. P. 71-79.
5. Barefoot S. F., Klaenhammer T. R. Purification and characterization of the *Lactobacillus acidophilus* bacteriocin, lactacin B. *Antimicrobial agent and chemotherapy.* 1984. № 26. P. 328-334.
6. Characterization and purification of a new bacteriocin with a broad inhibitory spectrum produced by *Lactobacillus plantarum* lp 31 strain isolated from dry-fermented sausage / Muller D. M., Carrasco M. S., Tonarelli G. G. and Simonetta A. C. *Journal of Applied Microbiology.* 2009. Vol. 106. P. 2031-2040.
7. Daeschel M. A., McKenney M. C., McDonald L. C. Bacteriocidal activity of *Lactobacillus plantarum* C-11. *Food microbiology.* 1990. № 7. P. 91-98.
8. Detection, purification and partial characterization of plantaricin C, a bacteriocin produced by a *Lactobacillus plantarum* strain of dairy origin / Gonzales B., Arca P., Mayo B., Suarez J. E. *Applied and environmental microbiology.* 1994. № 60. P. 2158-2163.
9. Dufour A., Hindre T., Haras D., Le Penne J. P. The biology of lantibiotics from the lactacin 481 group is coming of age. *FEMS Microbiol. Rev.* 2007. Vol. 31. P. 134-167.
10. Ennahar S., Sonomoto K. and Ishizaki A. Class IIa Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Antibacterial Activity and Food Preservation. *Journal of Bioscience and Bioengineering.* 1999. Vol. 87. № 6. P. 705-716.
11. Field D., Connor P. M. O., Cotter P. D., Hill C., Ross R. P. The generation of nisin variants with enhanced activity against specific Gram-positive pathogens. *Molecular Microbiology.* 2008. Vol. 69. № 1. P. 218-230.
12. Leroy F. and De Vuyst L. Lactic Acid Bacteria as Functional Starter Cultures for the Food Fermentation Industry. *Trends in Food Science & Technology.* 2004. Vol. 15, № 2, P. 67-78.

13. Lewus C. B., Montville T. J. Further characterization of bacteriocins plantaricin BN, Bavarin MN and pediocin A. Food biotechnology. 1992. N 6, P. 153-174.

14. Nes I.F., Yoon S.S., Diep D.B. Ribosomally synthesized antimicrobial peptides (bacteriocins) in Lactic acid bacteria. Food science biotechnology. 2007. Vol.16. № 5. P. 675-690.

15. Papagianni M. Ribosomally Synthesized Peptides and Antimicrobial Properties: Biosynthesis, Structure, Function, and Applications. Biotechnology Advances. 2003. Vol. 21, № 6. P. 465-499.

16. Paynter M. J. B., Brown K. A., Hayasaka S. S. Factors affecting the production of an antimicrobial agent, plantaricin F, by *Lactobacillus plantarum* BF001. Letters in applied microbiology. 1997. № 24. P. 159-165.

17. Plantaricins S and T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPC010 isolated from a green olive fermentation / Jimenez-Diaz R., Rios-Sanchez R. M., Desmazeaud M., Riuz-Barba J.L. Applied and environmental microbiology. 1993. № 59. P. 1416-1424.

18. Prema P. In vitro antagonistic activity of probiotic *Lactobacillus plantarum* against water borne

pathogens. International Journal of pharmacy and pharmaceutical sciences. 2013. Vol. 5. № 4. P. 175-178.

19. Riley M. A. and Wertz J. E. Bacteriocins: Evolution, Ecology, and Application // Annual Review of Microbiology. 2002. Vol. 56. № 3. P. 117-137.

20. Tagg J. R., Dajani A. S. and Wannamaker L. W. Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria. Bacteriological Reviews. 1976. Vol. 40. № 3. P. 722-756.

21. Todorov S. D., Dicks L. M. T. Effect of growth medium on bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST194BZ, a strain isolated from Boza. Food Technol. Biotechnol. 2005. Vol. 43. № 2. P. 165-173.

22. Vijayakumar P.P, Muriana P.M. A Microplate Growth Inhibition Assay for Screening Bacteriocins against *Listeria monocytogenes* to Differentiate Their Mode-of-Action. Biomolecules. 2015. Vol. 5. P. 1178-1194.

23. West C.A., Warner P.J. Plantacin B, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* NCDO 1193. FEMS microbiology letters. 1988. № 49. P. 163-165.

24. Yang R., Johnson M.C., Ray B. Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. Applied and environmental microbiology. 1992. № 58, P. 3355-3359.