



# Enzymatische Aktivität probiotischer Cocktails von PBGL

---

---

Datum der Veröffentlichung: 22/04/22

Bericht verfasst von **D. Rentmeister**

Bericht genehmigt von **E. Bouhajja**

## Contents

Probiotische Reiniger .....	3
Ein Blick auf die Wirksamkeitsprüfung im Labor .....	4
Potenzial des Enzymabbaus in unseren probiotischen Cocktails.....	4
Stärkeabbau.....	4
Abbau von Eigelb .....	5
Abbau von Magermilch.....	6
Hämolyse von Schafsmilch .....	7
Fazit .....	7
Verweise.....	8

## Probiotische Reiniger

### Was ist ein probiotischer Reiniger?

Probiotische Reiniger sind nachhaltige Reinigungsmittel, die mit „guten“ Bakterien angereichert sind. Wenn man das Produkt auf jede Art von Oberfläche sprüht, bleiben Probiotika daran haften und greifen den Schmutz sogar in den unsichtbaren und unerreichbaren Poren und Rissen an. Die Reinigungswirkung ist kontinuierlich, nach der ersten Anwendung zerstört die Reinigungsarmee über Stunden die Schmutzbestandteile.

### Was ist der Schlüssel zur bakteriellen Reinigung?

Ein probiotisches Bakterium produziert, wie jede lebende Zelle, verschiedene Enzyme. Diese Katalysatoren sind die Hauptakteure beim Abbau von organischem Schmutz in kleinere Moleküle, die anschließend vom Hersteller selbst und anderen Bakterien auf der Oberfläche zum Wachstum verwendet werden. Sie haben vielversprechende Reinigungseigenschaften und werden seit Jahren insbesondere in Waschmitteln und anderen Mehrzweckwaschmitteln eingesetzt. Die Wirkung von Enzymen auf eine Substanz (Substrat genannt) ist sehr spezifisch. Wissenschaftler haben an der Auflistung dieser Katalysatoren gearbeitet und sie je nach Substratspezifität in Familien eingeteilt. Zu den wichtigsten Enzymklassen, die in Waschmitteln verwendet werden, gehören Cellulasen, Proteasen, Lipasen und Amylasen (Niyonzima & More, 2015, Gürkök, 2019). Proteasen können Proteinflecken aus Lebensmitteln wie Blut, Ei, Milch usw. in Polypeptide oder freie Aminosäuren spalten. Lipasen erhöhen die Hydrolyse von Fetten zu Glycerin und freien Fettsäuren. Amylasen spalten Stärkemoleküle in einfache Zucker. Dabei kann ein einziges probiotisches Bakterium viele verschiedene Enzyme produzieren, die gleichzeitig Schmutzbestandteile wie Öle, Kohlenhydrate und Proteine angreifen können. Die Wirksamkeit des Abbaus hängt vom Hersteller des Probiotikums ab, da nicht alle Probiotika die gleichen Enzyme produzieren und nicht alle Enzyme aus der gleichen Familie eine ähnliche Abbauwirksamkeit aufweisen. Daher ist es interessanter und effektiver, eine Mischung aus Probiotika anstelle von reinen Stämmen in Reinigungsprodukten zu verwenden.

### Was geschieht bei der Nutzung von Provilan-Produkten?

In Provilan-Produkten gibt es je nach Produktsortiment zwei unterschiedliche probiotische Cocktails. Der Cocktail, der in Haustier- und Tierpflegeprodukten verwendet wird, wird als probiotischer Cocktail 1 (UB2) bezeichnet, und ein anderer, der in Waschmitteln verwendet wird, wird als probiotischer Cocktail 2 (BEBS2) bezeichnet. Beide Cocktails enthalten Bacillus-Bakterien in Lebensmittelqualität und sind für den Benutzer sicher. Sie ruhen im Produkt (Sporenform), um die Stabilität der Formulierung zu gewährleisten. Bei der Anwendung auf einer Oberfläche induziert der Kontakt ruhender Probiotika mit Wasser und organischen Substanzen die Aktivierung von Sporen und die Probiotika werden aktiv. Sie vermehren sich um den Schmutz herum und beginnen, abbauende Enzyme zu produzieren. Die Wirksamkeit unserer Probiotika wurde im Labor nachgewiesen, bevor sie dem Endprodukt zugesetzt wurden. Sie waren in der Lage, organische Verschmutzungen zu entfernen, die auf unbelebten Oberflächen des täglichen Lebens im häuslichen oder beruflichen Umfeld (z. B. Arbeitsplatte, Tische, Fußböden ...) und auf Tierhäuten zu finden waren.

## Einblick in die Wirksamkeitsprüfung im Labor

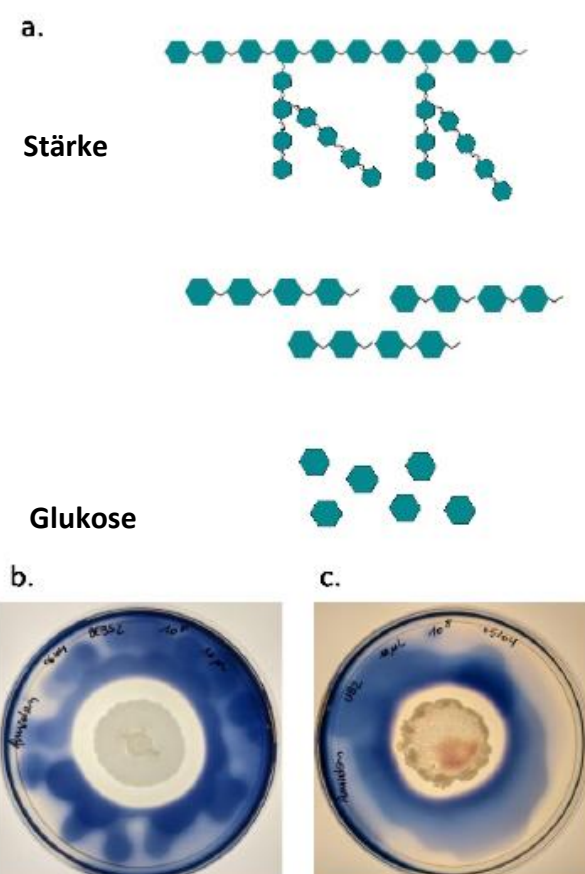
Um die Wirksamkeit unserer Probiotika zur Bekämpfung der Hauptschmutzkomponenten zu beurteilen, haben wir ihre Fähigkeit, verschiedene Abbauenzyme zu produzieren, geprüft, bevor wir das Endprodukt gemäß Reinigungsstandards getestet haben. Der Test besteht darin, eine Million (10<sup>6</sup>) probiotische Bakterien auf die Mitte eines Agarkulturmediums zu verteilen, das mit spezifischen Substraten für jede enzymatische Aktivität ergänzt ist. Verwendete Medien sind Stärke-Agar, Eigelb-Agar, Magermilch-Agar und Columbia-Schafblut-Agar, um den Abbau von Stärke, Fett, Protein und Bluthämolyse zu testen. Die Inkubation erfolgt 7 Tage lang bei Raumtemperatur, um den Bedingungen, unter denen unsere Produkte verwendet werden, so nahe wie möglich zu kommen. Positive Aktivitäten konnten durch das Erscheinen einer Klärungszone, die die Bakterien umgibt, nachgewiesen werden. Alle Aktivitäten können auf den Medien ohne Zugabe eines Indikators nachgewiesen werden, mit Ausnahme des Stärkeabbaus, bei dem Lugols Reagenz am Ende der Inkubation hinzugefügt wird, um den Abbauhof sichtbar zu machen. Das Reagenz wird blau-schwarz, wenn es mit nicht abgebauter Stärke reagiert (Valls et al., 2012).

## Potenzial des Enzymabbaus in unseren probiotischen Cocktails

### Stärkeabbau

Stärke ist ein komplexer Zucker, der häufig in Weizen (z. B. Nudeln), Reis, Kartoffeln, Mais usw. vorkommt. Er besteht aus mehreren verknüpften Untereinheiten von Glukose (Abbildung 1, a) (de Souza, 2010). Unsere probiotischen Cocktails produzieren Amylasen-Enzyme zum Abbau von Stärke bei Raumtemperatur, wie in Abbildung 1 b. und c. gezeigt. Das Stärke-Agar-Medium enthält hauptsächlich Stärke und andere Nährstoffe, die für das Wachstum von Bakterien erforderlich sind. Von Bakterien produzierte Amylasen bauen die Stärke zu einfachen Zuckern wie Tri-, Di- und Glucose ab (de Souza, 2010). Die resultierende Glukose wird dann von Bakterien verstoffwechselt, um zu überleben und zu wachsen.

*Abbildung 1: a. Stärkestruktur, b. Amylase-Aktivität des probiotischen Cocktails 2 (BEBS2) nach 7 Tagen c. Amylaseaktivität des probiotischen Cocktails 1 (UB2) nach 7 Tagen. Ein klarer Hof um die wachsenden Probiotika zeigt an, dass Stärke durch produzierte Amylasen hydrolysiert wurde.*



## Abbau von Eigelb

Eigelb enthält unter anderem eine Mischung aus verschiedenen Proteinen und Lipiden. Das Eigelb-Agar-Medium enthält Eigelb-Emulsion und essentielle Nährstoffe für das Wachstum von Bakterien. Die Eigelbemulsion verleiht dem Medium eine opake gelb-weiße Farbe. Bakterien, die Proteasen und Lipasen produzieren, könnten den Abbau von Proteinen und Lipiden im Eigelb katalysieren (Aryal, 2022).

Unsere probiotischen Cocktails wurden positiv auf Proteasen, Lecithinasen und andere auf Eigelb aktive Lipasen getestet. Der Abbau von Lecithin (einem funktionellen Lipid im Eigelb) durch Lecithinase-Enzyme ist am Auftreten einer schmalen, weißen, opaken Niederschlagszone zu erkennen, die sich über den Rand der wachsenden Bakterien hinaus ausbreitet (Abbildung 2 a.). Gleichzeitig erscheint ein breiterer klarer Hof um Probiotika aufgrund des Abbaus der Eigelbproteine (wie in Abbildung 2 a. gezeigt). Die Aktivität anderer Lipasen kann durch das Erscheinen eines Glanzes (ölige Schicht auf Wasser) auf Bakterienkolonien nachgewiesen werden, da diese Enzyme nicht leicht durch den Agar diffundieren können und sie die im Medium vorhandenen freien Fette lokal zu Glycerin und freien Fettsäuren hydrolysieren (Abbildung 2 b.) (Aryal, 2022).

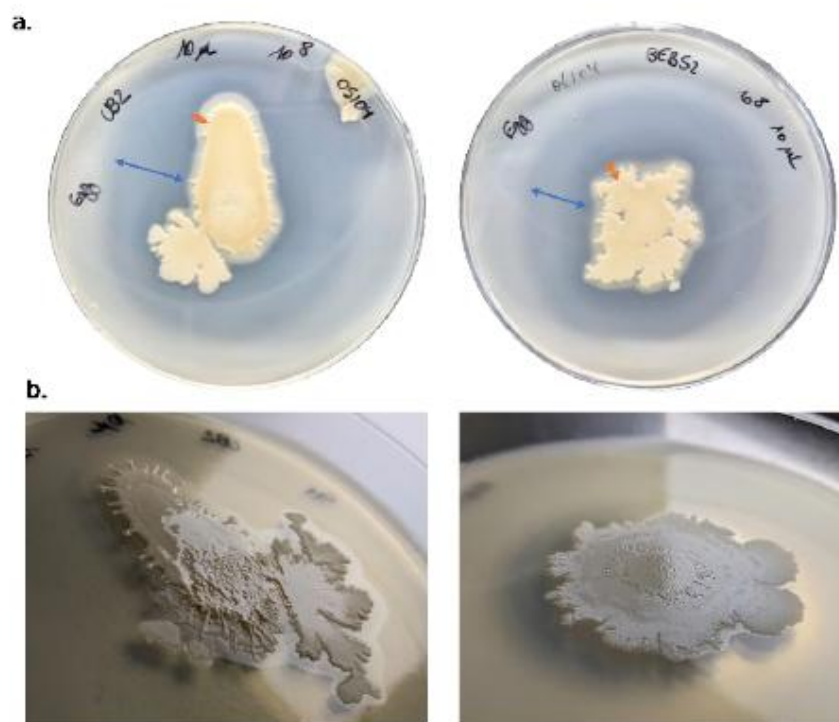
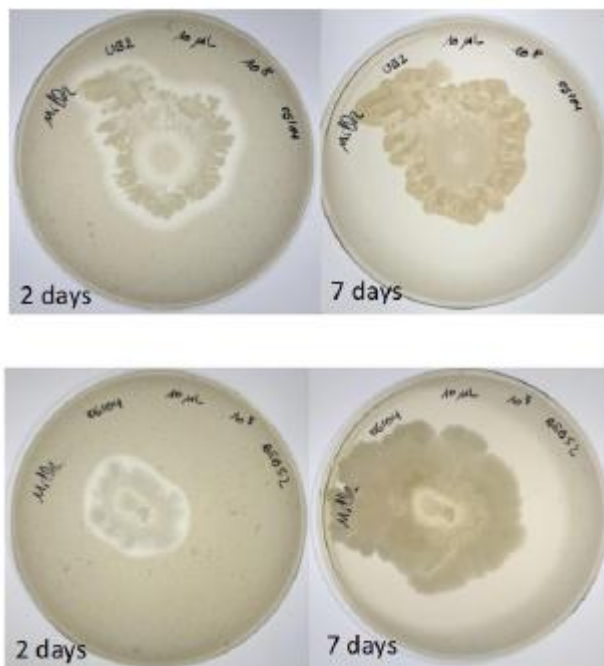


Abbildung 2: Proteasen-, Lipasen- und Lecithinase-Aktivitäten von Probiotika nach 7 Tagen bei Raumtemperatur. a. Proteasen (blauer Pfeil) und Lecithinasen (oranger Pfeil) Aktivitäten von Probiotika-Cocktails. b. Lipase-Aktivität von Probiotika-Cocktails auf Eigelb, wie durch die glänzende Schicht auf den wachsenden Bakterien gezeigt wird.

## Abbau von Magermilch

Das Magermilchmedium enthält Nährstoffe, die für das Wachstum von Bakterien und Magermilchpulver wesentlich sind. Das Medium hat aufgrund des Kaseinproteins der Milch eine weiße Farbe. Viele Bakterien können verschiedene Proteasen produzieren, die in Milch enthaltene Proteine, einschließlich Kasein, hydrolysieren können. Abbauprodukte werden anschließend im Stoffwechsel von Bakterien eingesetzt, um deren Vermehrung sicherzustellen (Aryal, 2021).

Probiotische Cocktails können Casein abbauen, wie in Abbildung 3 gezeigt. Die anfänglich cremefarbene Farbe des Mediums verschwindet, wenn das Casein im Magermilchpulver durch die Proteasen der Probiotika hydrolysiert wird, was zu einem klaren Hof führt. Die enzymatische Aktivität beginnt nach 2 Tagen sichtbar zu werden und wird stärker, wenn die Probiotika wachsen. Es fällt auf, dass die zwei verschiedenen Cocktails nicht die gleiche Aktivität haben, da die Hof-Größe nach 7 Tagen unterschiedlich ist. Bakterien von Mischung 1 haben eine höhere Aktivität als Bakterien in Mischung 2. Tatsächlich haben beide Cocktails unterschiedliche Bakterienstämme mit unterschiedlichem enzymatischem Potenzial.



*Abbildung 3: Proteaseaktivität von Probiotika auf Magermilchagar.*

*Produktion von Proteasen durch probiotischen Cocktail 1 (oben) und 2 (unten) nach 2 und 7 Tagen Inkubation bei Raumtemperatur. Der Abbauhof um die wachsenden Bakterien wird größer, wenn die Bakterien wachsen. Ringsum die Kolonie besteht zwischen Tag 2 und 7 Wachstum, was darauf hinweist, dass mehr Proteasen produziert wurden und dass die Proteasen durch das Medium diffundieren können*

## Hämolyse von Schafsblut

Die rote Farbe der roten Blutkörperchen wird dem Hämoglobin zugeschrieben, einem eisenhaltigen Protein, das dafür verantwortlich ist, Sauerstoff von den Atmungsorganen zu den anderen Geweben im Körper zu transportieren. Einige Bakterien, insbesondere die der Bacillus-Gruppe, können Hämoglobin dissoziieren und einige der freigesetzten Produkte als Eisenquelle verwenden (Sato et al., 1999).

Der Columbia-Schaf-Blutagar ist das Medium, das zum Nachweis von Enzymen verwendet wird, die an der Bluthämolyse beteiligt sind. Es enthält Schafsblut und Nährstoffe, die für das Wachstum von Bakterien notwendig sind. Die Probiotika-Cocktails 1 und 2 können bei Raumtemperatur innerhalb von 7 Tagen hämolytische Enzyme produzieren. Diese Enzyme zersetzen rote Blutkörperchen und die Denaturierung von Hämoglobin, um ein farbloses Produkt zu bilden (Abbildung 4).

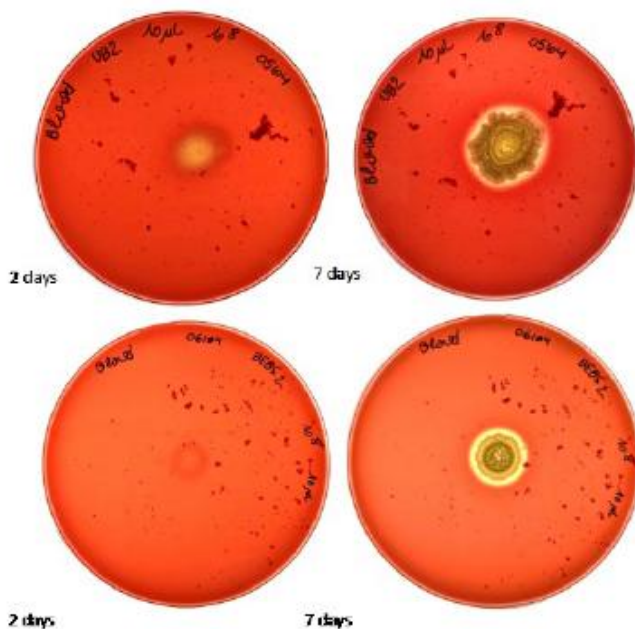


Abbildung 4: Durch den probiotischen Cocktail 1 (oben) und 2 (unten) induzierte Hämolyse nach 2 und 7 Tagen. Um die wachsenden Bakterien, in denen Hämolyse stattgefunden hat, erscheint ein klarer Hof.

## Fazit

Probiotische Cocktails, die in unserem Sortiment verwendet werden, können eine Handvoll Enzyme produzieren, die in der Lage sind, Hauptbestandteile organischer Verschmutzungen wie Stärke, Eiweißproteine und -lipide, Milchproteine und Blut abzubauen. Probiotika können die beim Abbau komplexer Substanzen auf einer Oberfläche entstehenden Nährstoffe nutzen, um die mikrobielle Vielfalt von Oberflächen und Haut zu vermehren und zu erhalten.

## Verweise

- Aryal, S. (2021, August). Casein Hydrolysis Test- Objectives, Principle, Media, Procedure, Results. *Microbes Notes*. <https://microbenotes.com/casein-hydrolysis-test/>
- Aryal, S. (2022, January). Egg Yolk Agar- Composition, Principle, Preparation, Results, Uses. *Microbe Notes*. <https://microbenotes.com/egg-yolk-agar/?msclkid=55965705c15611ec8b3faf181fc92676>
- de Souza, P. M. (2010). APPLICATION OF MICROBIAL ALPHA-AMYLASE IN INDUSTRY – A REVIEW. *Brazilian Journal of Microbiology*, 41, 850–861.
- Gürkök, S. (2019). *Microbial Enzymes in Detergents: A Review*. 10(9), 8.
- Niyonzima, F. N., & More, S. S. (2015). Coproduction of detergent compatible bacterial enzymes and stain removal evaluation. *Journal of Basic Microbiology*, 55(10), 1149–1158. <https://doi.org/10.1002/jobm.201500112>
- Sato, N., Ikeda, S., Mikami, S., & Matsumoto, T. (1999). Bacillus cereus dissociates hemoglobin and uses released heme as an iron source. *Biol Pharm Bull.*, 10, 1118–1121. <https://doi.org/doi:10.1248/bpb.22.1118>.
- Valls, C., Rojas, C., Pujadas, G., Garcia-Vallve, S., & Mulero, M. (2012). Characterization of the activity and stability of amylase from saliva and detergent: Laboratory practicals for studying the activity and stability of amylase from saliva and various commercial detergents. *Biochemistry and Molecular Biology Education*, 40(4), 254–265. <https://doi.org/10.1002/bmb.20612>