

AKTYWNOŚĆ ANTAGONISTYCZNA BAKTERII FERMENTACJI MLEKOWEJ Z GATUNKU *LACTOBACILLUS PLANTARUM*

Joanna Kraszewska, Wiesław Wzorek, Eliza Sztando,
Anna Raczyńska-Cabaj

Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

Streszczenie. Celem pracy było określenie antagonistycznych właściwości 6 szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum*, używanych przez autorów w badaniach nad bioaktywnym napojem słodowym. Zastosowano metodę studzienkową i słupkową oraz zbadano możliwość produkcji przez badane szczepy nadtlenu wodoru. Antagonizm bakteryjny określano w stosunku do wybranych bakterii gram-dodatnich i gram-ujemnych oraz drożdży. Stwierdzono, że badane szczepy nie mają zdolności produkcji nadtlenu wodoru. Wszystkie szczepy *L. plantarum* hamują wzrost stosowanych bakterii wskaźnikowych, a powstałe strefy zahamowania wzrostu są prawdopodobnie wynikiem produkcji kwasu mlekowego przez bakterie antagonistyczne. Badane bakterie mlekowe nie wykazują inhibicji wzrostu drożdży. Zaobserwowano również zróżnicowany poziom wrażliwości wśród mikroorganizmów wskaźnikowych należących do tego samego rodzaju lub gatunku. W metodzie słupkowej stwierdzano większe strefy zahamowania wzrostu niż w metodzie studzienkowej.

Słowa kluczowe: bakterie fermentacji mlekowej, bakteriocyny, *Lactobacillus plantarum*, antagonizm, nadtlenek wodoru, kwas mlekowy

WSTĘP

Biologiczne przedłużanie trwałości żywności poprzez fermentację mlekową wykorzystywane było przez człowieka już w czasach starożytnych. Wiele wyników badań z ostatniego dziesięciolecia potwierdza, iż zastosowanie odpowiednich szczepów bakterii mlekowych przyczynia się do wyeliminowania lub zahamowania rozwoju drobnoustrojów patogennych, toksynotwórczych oraz powodujących psucie się produktów spożywczych [Lewus i Montville 1991, Tahara i in. 1996]. Dodatkowo wiedza na temat probiotyków oraz ich terapeutyczno-profilaktycznych właściwościach skłania do poszukiwania nowych szczepów bakterii fermentacji mlekowej o właściwościach prozdrowotnych.

Adres do korespondencji – Corresponding author: mgr Joanna Kraszewska, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Oceny Żywności Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie, ul. Nowoursynowska 159 C, 02-787 Warszawa, e-mail: koskowska@alpha.sggw.waw.pl

Jednym z wymagań stawianym bakteriom probiotycznym jest aktywność antagonizująca wobec bakterii gnilnych i chorobotwórczych [Mattila-Sandholm i in. 2002, Dunne i in. 2001].

Z danych zawartych w literaturze [Soomro i in. 2002, Hartnett i in. 2002, Ogunbanwo i in. 2003] wynika, że większość bakterii fermentacji mlekowej charakteryzuje się silnymi właściwościami antagonistycznymi uwarunkowanymi:

- zdolnością do znacznego obniżania pH przewodności pokarmowego dzięki wytwarzaniu metabolitów: kwasu mlekowego, octowego, propionowego,
- syntezą nadtlenu wodoru,
- produkcją bakteriocyn,
- wytwarzaniem niskocząsteczkowych produktów przemiany materii takich, jak reuteryna, diacetyl, kwasy tłuszczowe.

Syntetyzowane przez bakterie mlekowe związki wykazują hamujący wpływ na rozwój zarówno bakterii gram-dodatnich należących do *Micrococcus*, *Staphylococcus*, jak i bakterii gram-ujemnych, np. *Shigella*, *Salmonella*, *Klebsiela*, *Escherichia* [Ogunbanwo i in. 2003]. Czynnikiem hamującym wzrost bakterii gram-ujemnych są kwasy organiczne produkowane przez bakterie mlekowe [Alakomi i in. 2000]. Bakterie mlekowe produkują również bakteriocyny, charakteryzujące się aktywnością antagonistyczną w stosunku do bakterii gram-dodatnich [Abee i in. 1995].

Celem pracy było określenie antagonistycznych właściwości 6 szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* wobec wybranych bakterii gram-dodatnich i gram-ujemnych, w tym również chorobotwórczych. Wytypowane szczepy bakterii mlekowych stosowane są również w innych naszych badaniach dotyczących fermentowanego napoju słodowego. Określano także antagonizm badanych szczepów w stosunku do innych bakterii fermentacji mlekowej.

MATERIAŁY I METODY

Bakterie antagonistyczne (bakterie fermentacji mlekowej) oraz mikroorganizmy wskaźnikowe (bakterie gram-dodatnie i gram-ujemne) uaktywniano z zamrożonych (-75°C) 18-godzinnych hodowli zawierających 20% glicerolu, dwukrotnie pasażując je w odpowiednim podłożu (tab. 1). Bakterie wskaźnikowe (poza bakteriami mlekowymi) użyte w doświadczeniu hodowano na bulionie wzbogaconym [Klewicka i in. 1999], drożdże *Candida albicans* – na ekstrakcie drożdżowym z agarem i podłożu Sabourauda (bioMerieux) [Ogunbanwo i in. 2003, Navarro i in. 2000], prowadząc inkubację w warunkach podanych w tabeli 1. Bakterie fermentacji mlekowej hodowano na podłożu MRS lub MRS-0,2 (podłoże MRS zawierające 0,2% glukozy zamiast 2%) stosowanym w celu zahamowania syntezy kwasu mlekowego. Warunki beztlenowe stworzono używając anaerostatów firmy bioMerieux.

Do badań w ramach niniejszej pracy zastosowano podłoża stałe z tego powodu, iż produkty metabolizmu bakterii mlekowych o właściwościach antagonistycznych mają możliwość równomiernego rozprzestrzeniania się w środowisku żelowym oraz że bakterie mlekowe produkują większą ilość bakteriocyn na podłożach stałych niż w podłożach płynnych [Strus 1998].

W badaniach antagonizmu międzyszczepowego stosowano metodę studzienkową [Klewicka i in. 1999], a także zmodyfikowaną metodę słupkową zaproponowaną przez Strus [1998].

Tabela 1. Szczepy mikroorganizmów antagonistycznych i wskaźnikowych użytych w doświadczeniu oraz warunki ich hodowli
Table 1. Strains of antagonistic and indicator microorganisms were used in experiment and their condition of culture

Szczep Strains	Pochodzenie Origin	Warunki hodowli Condition of culture
1	2	3
Szczepy antagonistyczne – Antagonistic strains:		
<i>Lactobacillus plantarum</i> 44	ZBiMŻ	MRS, 28°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactobacillus plantarum</i> 1	IBPRS	MRS, 28°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactobacillus plantarum</i> 299 v	ProViva	MRS, 28°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactobacillus plantarum</i> 4080	ATCC	MRS, 28°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactobacillus plantarum</i> B. 01149	NCAIM	MRS, 28°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactobacillus plantarum</i> B. 01834	NCAIM	MRS, 28°C, beztlonowo – anaerobic
Szczepy wskaźnikowe – Indicator strains:		
• Bakterie fermentacji mlekowej – Lactic acid bacteria:		
<i>Lactobacillus acidophilus</i> La5	Chr. Hansen	MRS, 37°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactobacillus acidophilus</i> Lac 4	Ezal	MRS, 37°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i>	Biolacta – Texel	MRS, 28°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactobacillus brevis</i>	Biolacta – Texel	MRS, 28°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactobacillus helveticus</i>	Biolacta – Texel	MRS, 37°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Biolacta – Texel	MRS, 28°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i>	Biolacta – Texel	MRS, 28°C, beztlonowo – anaerobic
<i>Bifidobacterium</i> BB-12	Chr. Hansen	MRS, 37°C, beztlonowo – anaerobic
• Bakterie gram-dodatnie – Gram-positive bacteria		
<i>Staphylococcus aureus</i> 25923	ATCC	Bulion wzbogacony – Enrichment broth, 37°C
<i>Staphylococcus aureus</i> 6538P	ATCC	Bulion wzbogacony – Enrichment broth, 37°C
<i>Staphylococcus epidermidis</i> 12228	ATCC	Bulion wzbogacony – Enrichment broth, 37°C
<i>Micrococcus</i> sp.	ART-Olsztyn	Bulion wzbogacony – Enrichment broth, 30°C
<i>Bacillus subtilis</i> 6633	ATCC	Bulion wzbogacony – Enrichment broth, 30°C
<i>Bacillus cereus</i> 11778	ATCC	Bulion wzbogacony – Enrichment broth, 30°C

1	2	3
<i>Bacillus pumilus</i> 8241	ATCC	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 30°C
<i>Bacillus megaterium</i>	PZH	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 30°C
<i>Enterococcus faecalis</i> 29212	ATCC	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 37 °C beztlenowo – anaerobic
<i>Sarcina lutea</i> B6	PZH	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 30°C
• Bakterie gram-ujemne – Gram-negative bacteria		
<i>Escherichia coli</i> 25922	ATCC	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 37°C
<i>Escherichia coli</i> DH5a	IBB	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 37°C
<i>Salmonella enteritidis</i>	PZH	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 37°C
<i>Salmonella typhi</i>	ART-Olsztyn	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 37°C
<i>Klebsiella ornithinolytica</i>	PZH	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 37°C
<i>Citrobacter freundii</i> 488	WSSE	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 37°C
<i>Pseudomonas fluorescens</i> 16/94	PZH	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 30 °C
<i>Proteus mirabilis</i> 180	WSSE	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 37°C
<i>Serratia marcescens</i> S1	OBRB	Bulion wzbogacony– Enrichment broth, 37°C
• Drożdże – Yeast		
<i>Candida albicans</i> 10231	ATCC	ekstrakt drożdżowy z agarem, podłoże Sabourauda, yeast extract agar, Sabouraud medium, 37°C

ATCC – American Type Culture Collection; NCAIM - National Collection Agricultural and Industrial Microorganisms, Budapest; ProViva – Skane Dairy, Szwecja; IBPRS – Instytut Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Warszawa; Biolacta – Texel, Olsztyn; IBB – Instytut Biochemii i Biofizyki PAN, Warszawa; ZBiMŻ – Zakład Biotechnologii i Mikrobiologii Żywności, SGGW Warszawa; PZH – Państwowy Zakład Higieny, Warszawa; WSSE – Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna, Warszawa; OBRB – Ośrodek Badawczo-Rozwojowy Biotechnologii, Warszawa; Chr. Hansen – Czosnów; Ezal – Francja.

Metoda słupkowa

Do kolbki zawierającej 40 cm³ roztopionego i ochłodzonego podłoża MRS (2% agaru) dodawano 4 cm³ 24-godzinnej hodowli bakterii mlekowych, zawartość kolbki mieszano, wylewano na szalkę Petriego i inkubowano w anaerostatach w 28°C. Po 24-godzinnej inkubacji w płytkach agarowych wycinano słupki o średnicy 11 mm, które następnie przenoszono na płytki z uprzednio wylanym (20 cm³) podłożem (1,5% agar) zawierającym 0,02 cm³ 24-godzinnej hodowli szczepu wskaźnikowego. Płytki inkubowano w 37°C. Po 24-godzinnej inkubacji, mierzono średnice stref zahamowania wzrostu mikroorganizmów wskaźnikowych, a wyniki podawano w milimetrach po odjęciu średnicy słupka.

Metoda studzienkowa

Na płytkę wylewano 20 cm³ podłoża (1,5% agar) uprzednio zaszczepionego 24-godziną hodowlą szczepu wskaźnikowego (0,02 cm³), następnie w podłożu wycinano studzienki o średnicy 11 mm. Na dno studzienki wprowadzano 0,02 cm³ agaru o stężeniu 1-procentowym, a następnie 0,1 cm³ 24-godzinnej hodowli szczepu antagonistycznego i ponownie 0,02 cm³ agaru o stężeniu 1-procentowym. Po 24-godzinnej inkubacji, mierzono średnice stref zahamowania wzrostu mikroorganizmów wskaźnikowych, a wyniki podawano w milimetrach po odjęciu średnicy studzienki.

Zdolność syntezy nadtlenu wodoru [Klewicka i in. 2003, Brauncajs i in. 2001, Visser i Holzapfel 1992]

Do 100 cm³ rozpuszczonego i ochłodzonego podłoża MRS dodawano 25 mg kwasu 2,2'-azyno-bis(3-etylobenzotiazolino-6-sulfonowego) (ABS) firmy Sigma oraz 1 mg peroksydazy (Sigma). Następnie metodą posiewu redukcyjnego nanoszono na płytki bakterie fermentacji mlekowej. Płytki inkubowano w 28°C w anaerostatach. Po 48-godzinnej inkubacji płytki wyjmowano z anaerostatów i pozostawiano w temperaturze pokojowej na 5-8 godzin. W wypadku wyniku dodatniego (produkcja nadtlenu wodoru) podłoże wokół rosnących kolonii, a niekiedy i kolonie bakterii, zabarwi się na fioletowo. Jako próbę kontrolną stosowano podłoże MRS zawierające ABS, peroksydazę i 3% H₂O₂.

Wykonano 5 serii doświadczeń, każdą w dwóch powtórzeniach. Wyliczano średnią arytmetyczną oraz odchylenie standardowe.

WYNIKI I DYSKUSJA

W pierwszej części doświadczenia badano tzw. izoantagonizm wśród bakterii fermentacji mlekowej. Celem badania było określenie możliwości komponowania różnych szczepów bakterii mlekowych w szczepionkach starterowych przy założeniu, że użyta kultura nie powinna powodować eliminacji szczepu wrażliwego. Jako mikroorganizmów antagonistycznych użyto szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum*, stosowanych w innych naszych badaniach dotyczących bioaktywnych napojów słodowych. Wyniki uzyskane metodą słupkową i studzienkową (tab. 2 i 3) pozwalają stwierdzić, że każdy z badanych szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* ma zdolność hamowania wzrostu stosowanych bakterii z rodzaju *Lactobacillus*, *Lactococcus* i *Bifidobacterium*, jednak ich antagonistyczne oddziaływanie są słabe w porównaniu z działaniem w stosunku do bakterii gram-dodatnich i gram-ujemnych, w tym także chorobotwórczych. Otrzymane strefy zahamowania wzrostu są większe jeżeli stosujemy metodę słupkową (rys. 1).

Ogunbanwo i in. [2003] podają, że bakterie z rodzaju *Lactobacillus* charakteryzują się silnymi właściwościami antagonistycznymi w stosunku do mikroorganizmów powodujących psucie się żywności oraz patogennych.

Na podstawie uzyskanych wyników (zarówno metodą słupkową, jak i studzienkową) można stwierdzić, że każdy z badanych szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* wykazuje szerokie spektrum antagonistycznego działania w stosunku do zastosowanych

Tabela 2. Aktywność antagonistyczna szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* w stosunku do innych bakterii fermentacji mlekowej – metoda słupkowa, MRS (2% glukozy)

Table 2. Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* strains against other lactic acid bacteria – agar slab method, MRS (2% glucose)

Szczepy – strefy zahamowania wzrostu Strains – zones inhibition mm	<i>L.p.</i> 44	<i>L.p.</i> 1	<i>L.p.</i> 299 v	<i>L.p.</i> ATCC 4080	<i>L.p.</i> NCAIM B. 01449	<i>L.p.</i> NCAIM B. 01834
<i>L.p.</i> 44	nb	4,4 (± 0,55)	4,2 (± 0,45)	4,8 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)	3,2 (± 0,45)
<i>L.p.</i> 1	2,6 (± 0,55)	nb	3,2 (± 0,45)	3,2 (± 0,45)	1,2 (± 0,45)	2,8 (± 0,45)
<i>L.p.</i> 299 v	3,2 (± 0,45)	3,4 (± 0,89)	nb	2,8 (± 0,45)	1,8 (± 0,45)	3,2 (± 0,45)
<i>L.p.</i> ATCC 4080	4,2 (± 0,45)	1,0 (± 0,00)	4,8 (± 0,45)	nb	1,8 (± 0,45)	2,8 (± 0,45)
<i>L.p.</i> NCAIM B. 01149	4,8 (± 0,45)	3,8 (± 0,45)	6,2 (± 0,45)	6,2 (± 0,45)	nb	4,2 (± 0,45)
<i>L.p.</i> NCAIM B. 01834	4,8 (± 0,45)	5,4 (± 0,89)	7,2 (± 0,84)	4,2 (± 0,45)	4,4 (± 0,55)	nb
<i>Lc. cremoris</i>	2,6 (± 0,55)	4,4 (± 0,89)	4,8 (± 0,45)	3,4 (± 0,55)	2,8 (± 0,45)	3,8 (± 0,45)
<i>L. helveticus</i>	3,4 (± 0,55)	2,8 (± 0,45)	6,4 (± 0,55)	3,2 (± 0,45)	2,2 (± 0,45)	4,8 (± 0,84)
<i>L. casei</i>	3,2 (± 0,45)	2,6 (± 0,55)	5,2 (± 0,84)	4,0 (± 0,71)	2,2 (± 0,45)	4,2 (± 0,84)
<i>Lc. lactis</i>	1,2 (± 0,45)	2,2 (± 0,45)	2,2 (± 0,45)	2,0 (± 0,71)	1,4 (± 0,89)	1,2 (± 0,45)
<i>Bifidobacterium</i> BB-12	1,4 (± 0,55)	3,0 (± 0,00)	2,8 (± 0,84)	2,6 (± 0,55)	1,4 (± 0,55)	1,2 (± 0,45)
<i>L. brevis</i>	1,4 (± 0,55)	1,6 (± 0,55)	1,2 (± 0,45)	1,2 (± 0,45)	1,6 (± 0,55)	1,2 (± 0,45)
<i>L. acidophilus</i> La 5	2,4 (± 0,55)	3,6 (± 0,55)	3,8 (± 0,45)	3,4 (± 0,45)	3,2 (± 0,55)	3,4 (± 0,55)
<i>L. acidophilus</i> Lac 4	1,2 (± 0,45)	1,2 (± 0,45)	1,2 (± 0,45)	1,2 (± 0,45)	1,0 (± 0,00)	1,2 (± 0,00)
<i>L. bulgaricus</i>	2,4 (± 0,55)	3,6 (± 0,55)	4,4 (± 0,55)	3,2 (± 0,45)	4,4 (± 0,55)	2,8 (± 0,45)

Wyniki podano jako średnią arytmetyczną z 5 serii.

(±) – odchylenie standardowe.

nb – nie badano.

The results were provided as arithmetic mean from 5 series.

(±) – standard deviation.

nb – not detected.

drobnoustrojów wskaźnikowych. Badane bakterie hamowały wzrost zarówno bakterii gram-dodatnich, jak i gram-ujemnych, jednak poziom tej aktywności był zróżnicowany, podobnie jak wrażliwość drobnoustrojów wskaźnikowych.

W metodzie słupkowej (tab. 4) najbardziej wrażliwym z badanych szczepów bakterii gram-ujemnych okazał się szczep *Pseudomonas fluorescens*, o czym świadczą największe strefy zahamowania wzrostu (20,8-25,4 mm), a najmniejszą wrażliwością charakteryzowały się *Klebsiella ornithinolytica* (4,4-6,4 mm) oraz *Salmonella typhi* (4,0-5,8 mm). Wśród badanych bakterii gram-dodatnich najmniejszą opornością odznaczał się szczep *Staphylococcus epidermidis*, dając strefy przejaśnienia 19,4-21,2 mm, a największą opornością szczepy *Sarcina lutea* (3,8-5,8 mm) oraz *Bacillus megaterium* (3,6-5,6 mm).

Tabela 3. Aktywność antagonistyczna szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* w stosunku do innych bakterii fermentacji mlekowej – metoda studzienkowa, MRS (2% glukozy)
 Table 3. Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* strains against other lactic acid bacteria – well diffusion assay, MRS (2% glucose)

Szczepy – strefy zahamowania wzrostu Strains – zones inhibition mm	<i>L.p.</i> 44	<i>L.p.</i> 1	<i>L.p.</i> 299 v	<i>L.p.</i> ATCC 4080	<i>L.p.</i> NCAIM B. 01449	<i>L.p.</i> NCAIM B. 01834
<i>L.p.</i> 44	nb	2,2 (± 0,55)	2,2 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)	1,6 (± 0,55)	1,6 (± 0,55)
<i>L.p.</i> 1	1,8 (± 0,45)	nb	1,6 (± 0,55)	2,6 (± 0,55)	1,2 (± 0,45)	1,4 (± 0,55)
<i>L.p.</i> 299 v	1,4 (± 0,55)	1,6 (± 0,55)	nb	1,8 (± 0,45)	1,4 (± 0,55)	1,4 (± 0,55)
<i>L.p.</i> ATCC 4080	1,8 (± 0,45)	2,6 (± 0,55)	2,4 (± 0,55)	nb	1,6 (± 0,55)	1,2 (± 0,45)
<i>L.p.</i> NCAIM B. 01149	2,2 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)	2,4 (± 0,55)	1,8 (± 0,45)	nb	2,4 (± 0,55)
<i>L.p.</i> NCAIM B. 01834	2,2 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)	2,2 (± 0,45)	2,8 (± 0,45)	3,0 (± 0,00)	nb
<i>Lc. cremoris</i>	1,6 (± 0,55)	2,4 (± 0,55)	2,6 (± 0,55)	2,6 (± 0,55)	1,6 (± 0,55)	1,8 (± 0,45)
<i>L. helveticus</i>	1,8 (± 0,45)	1,4 (± 0,55)	3,2 (± 0,45)	1,4 (± 0,55)	1,2 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)
<i>L. casei</i>	2,6 (± 0,55)	1,6 (± 0,55)	3,4 (± 0,55)	2,2 (± 0,45)	1,2 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)
<i>Lc. lactis</i>	1,0 (± 0,00)	1,2 (± 0,45)	1,4 (± 0,55)	1,2 (± 0,45)	1,2 (± 0,45)	1,0 (± 0,00)
<i>Bifidobacterium</i> BB-12	1,2 (± 0,45)	1,4 (± 0,55)	1,6 (± 0,55)	1,6 (± 0,55)	1,0 (± 0,00)	1,2 (± 0,45)
<i>L. brevis</i>	1,0 (± 0,00)	1,2 (± 0,45)	1,2 (± 0,45)	1,0 (± 0,00)	1,2 (± 0,45)	1,0 (± 0,00)
<i>L. acidophilus</i> La 5	1,2 (± 0,45)	2,2 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)	2,2 (± 0,45)	2,0 (± 0,71)	1,6 (± 0,55)
<i>L. acidophilus</i> Lac 4	2,4 (± 0,55)	2,6 (± 0,55)	2,6 (± 0,55)	1,2 (± 0,45)	1,2 (± 0,45)	1,2 (± 0,45)
<i>L. bulgaricus</i>	1,4 (± 0,55)	2,2 (± 0,45)	2,6 (± 0,55)	1,8 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)	1,4 (± 0,55)

Wyniki podano jako średnią arytmetyczną z 5 serii.

(±) – odchylenie standardowe.

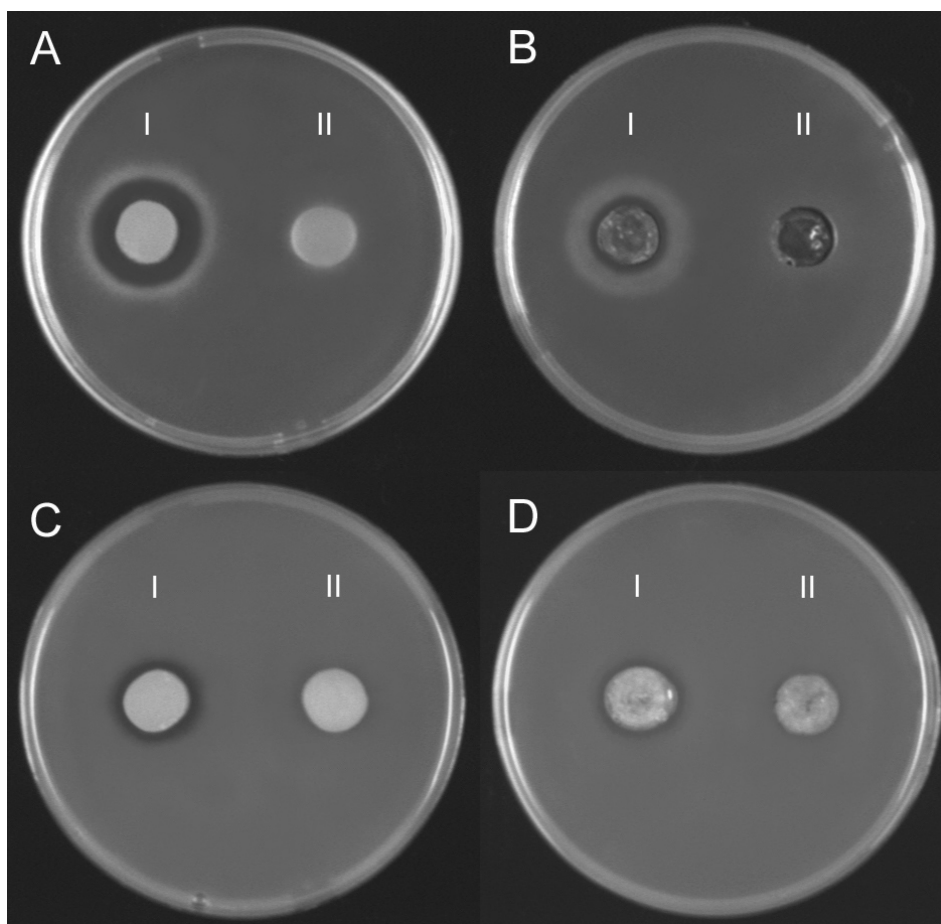
nb – nie badano.

The results were provided as arithmetic mean from 5 series.

(±) – standard deviation.

nb – not detected.

Stwierdzono zróżnicowany poziom wrażliwości wśród mikroorganizmów wskaźnikowych z tego samego rodzaju, jak i gatunku. Na przykład wśród czterech różnych gatunków rodzaju *Bacillus*, a mianowicie: *B. subtilis*, *B. cereus*, *B. pumilus* i *B. megaterium* obserwowano różne wielkości stref przejaśnienia, odpowiednio 8,0-10,4 mm, 9,2-10,8 mm, 5,4-7,0 mm i 3,6-5,6 mm. Wśród badanych gatunków z rodzaju *Salmonella* występowała ta sama tendencja. Wielkość stref zahamowania wzrostu wynosiła dla *Salmonelli enteritidis* 8,2-9,8 mm, natomiast dla *Salmonelli typhi* 4,0-5,8 mm. Zróżnicowanie szczepowe w obrębie tego samego gatunku obserwowano dla *S. aureus*, gdzie strefy zahamowania wzrostu wynosiły dla szczepu *S. aureus* ATCC 25923 5,6-7,2 mm, podczas gdy dla *S. aureus* ATCC 6538P – 8,6-10,8 mm. Wrażliwość *E. coli* ATCC 25922 i *E. coli* DH5α na metabolity antagonistyczne bakterii fermentacji mlekowej była podobna i wynosiła odpowiednio 10,8-13,0 mm i 11,6-14,0 mm. Sugeruje to, że badane szczepy *Lactobacillus plantarum* mogą wykazywać podobną aktywność antagonistyczną



Rys. 1. Przykład aktywności antagonistycznej szczepu *Lactobacillus plantarum* 44 : A) metoda słupkowa, jako mikroorganizm wskaźnikowy *E. coli* ATCC 25923, B) metoda studzienkowa, jako mikroorganizm wskaźnikowy *E. coli* ATCC 25923, C) metoda słupkowa, jako mikroorganizm wskaźnikowy *L. plantarum* NCAIM B. 01834, D) metoda studzienkowa, jako mikroorganizm wskaźnikowy *L. plantarum* NCAIM B. 01834, I – MRS, II – MRS z 0,2% dodatkiem glukozy

Fig. 1. Example of antagonistic activity of strain *Lactobacillus plantarum* 44: A) agar slab method, as indicator microorganism *E. coli* ATCC 25923, B) well diffusin assay, as indicator microorganism *E. coli* ATCC 25923, C) agar slab method, as indicator microorganism *L. plantarum* NCAIM B. 01834, D) well diffusin assay, as indicator microorganism *L. plantarum* NCAIM B. 01834, I – MRS, II – MRS with 0.2% glucose

w stosunku do innych szczepów z gatunku *E. coli*, a nie jedynie w stosunku do badanych szczepów.

Dane literaturowe [Annuk i in. 2003] potwierdzają zaobserwowane zróżnicowanie szczepowe bakterii wskaźnikowych dotyczące wrażliwości na metabolity bakterii antagonistycznych.

Tabela 4. Aktywność antagonistyczna szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* w stosunku do mikroorganizmów wskaźnikowych – metoda słupkowa, MRS (2% glukozy)Table 4. Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* strains against indicator microorganisms – agar slab method, MRS (2% glucose)

Szczepy – strefy zahamowania wzrostu Strains – zones inhibition mm	<i>L.p.</i> 44	<i>L.p.</i> 1	<i>L.p.</i> 299 v	<i>L.p.</i> ATCC 4080	<i>L.p.</i> NCAIM B. 01449	<i>L.p.</i> NCAIM B. 01834
Bakterie gram-dodatnie – Gram-positive bacteria						
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	6,2 (± 0,84)	6,8 (± 1,10)	7,2 (± 0,84)	6,8 (± 0,84)	5,6 (± 0,55)	5,8 (± 0,84)
<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	10,6 (± 0,55)	10,4 (± 0,89)	9,0 (± 0,71)	10,8 (± 0,84)	8,6 (± 0,55)	8,8 (± 0,84)
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	21,0 (± 1,00)	20,2 (± 0,84)	20,4 (± 0,55)	21,2 (± 0,84)	19,4 (± 0,89)	20,4 (± 0,89)
<i>Micrococcus</i> sp.	9,6 (± 0,89)	9,2 (± 0,84)	8,8 (± 0,45)	10,4 (± 0,89)	8,0 (± 0,71)	11,0 (± 0,71)
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	9,0 (± 0,71)	9,4 (± 0,55)	10,4 (± 0,55)	8,0 (± 1,00)	8,0 (± 1,00)	8,2 (± 0,84)
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	10,4 (± 0,89)	10,8 (± 0,84)	9,4 (± 0,89)	9,2 (± 0,84)	9,2 (± 0,45)	9,2 (± 0,45)
<i>B. pumilus</i> ATCC 8241	6,6 (± 0,55)	6,4 (± 0,55)	7,0 (± 0,71)	6,8 (± 0,45)	6,2 (± 0,84)	5,4 (± 0,55)
<i>B. megaterium</i>	4,0 (± 1,00)	5,0 (± 1,00)	5,6 (± 0,89)	3,6 (± 0,55)	3,8 (± 0,84)	4,4 (± 0,55)
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	8,2 (± 0,84)	7,8 (± 0,84)	7,0 (± 0,71)	7,6 (± 0,89)	9,0 (± 1,00)	9,0 (± 1,22)
<i>S. lutea</i> B6	4,2 (± 0,84)	5,8 (± 0,84)	5,0 (± 0,71)	4,2 (± 0,84)	3,8 (± 0,84)	4,8 (± 0,45)
Bakterie gram-ujemne – Gram-negative bacteria						
<i>E. coli</i> ATCC 25922	12,0 (± 0,71)	13,0 (± 0,71)	11,0 (± 0,71)	10,8 (± 0,84)	10,8 (± 0,84)	10,8 (± 0,84)
<i>E. coli</i> DH5a	13,4 (± 0,89)	14,0 (± 0,71)	13,4 (± 0,89)	12,8 (± 0,84)	11,6 (± 0,89)	12,4 (± 0,89)
<i>S. enteritidis</i>	8,4 (± 0,89)	9,0 (± 1,00)	9,8 (± 0,45)	9,2 (± 0,45)	8,2 (± 0,45)	8,6 (± 0,55)
<i>S. typhi</i>	5,4 (± 0,55)	5,8 (± 0,84)	4,8 (± 0,45)	5,4 (± 0,55)	4,0 (± 0,71)	4,2 (± 0,84)
<i>K. ornithinolytica</i>	4,4 (± 0,55)	5,6 (± 0,55)	6,4 (± 0,89)	4,6 (± 0,89)	5,0 (± 0,71)	4,8 (± 0,45)
<i>C. freundii</i> 488	5,8 (± 0,84)	6,8 (± 0,45)	7,4 (± 0,55)	6,8 (± 0,84)	8,8 (± 0,84)	6,6 (± 0,55)
<i>P. fluorescens</i> 16/94	22,2 (± 0,84)	22,2 (± 0,84)	25,4 (± 0,55)	22,8 (± 0,84)	21,6 (± 0,89)	20,8 (± 0,84)
<i>P. mirabilis</i> 180	5,4 (± 0,55)	6,4 (± 0,89)	6,0 (± 0,71)	6,4 (± 0,89)	6,0 (± 1,00)	5,6 (± 0,55)
<i>S. marcescens</i> S1	5,2 (± 0,84)	7,0 (± 1,00)	6,0 (± 1,00)	6,0 (± 1,00)	5,0 (± 0,71)	4,8 (± 0,45)
Drożdże – Yeast						
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	brak absence	brak absence	brak absence	brak absence	brak absence	brak absence

Wyniki podano jako średnią arytmetyczną z 5 serii.

(±) – odchylenie standardowe.

The results were provided as arithmetic mean from 5 series.

(±) – standard deviation.

Zbadano również właściwości antagonistyczne stosowanych bakterii fermentacji mlekowej w stosunku do drożdży *Candida albicans*. Stosowano metodę słupkową oraz dwa podłoża (ekstrakt drożdżowy z agarem i podłoże Sabouranda). Brak stref zahamowania wzrostu na obydwu podłożach wskazuje na dużą odporność badanych drożdży na związki o charakterze antagonistycznym produkowane przez bakterie mlekowe.

Usajewicz [1998] podaje, że pałeczki mlekowe z rodzaju *Lactobacillus*, dzięki produkowanym związkom, hamują lub ograniczają wzrost drożdży *Candida albicans*.

Ogunbanwo i in. [2003] obserwowali hamujący wpływ szczepu *Lactobacillus brevis* OG1 w stosunku do bakterii gnilnych, a także patogennych oraz brak stref zahamowania wzrostu szczepu *Candida albicans* ATCC 10231 używanego również w niniejszej pracy.

W badaniach nad antagonizmem, oprócz metody słupkowej, posłużono się równoległą metodą studzienkową (tab. 5). Stwierdzono, że efektywność inhibicji wzrostu szczepu

Tabela 5. Aktywność antagonistyczna szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* w stosunku do mikroorganizmów wskaźnikowych – metoda studzienkowa, MRS (2% glukozy)

Table 5. Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* strains against indicator microorganisms – well diffusion assays, MRS (2% glucose)

Szczepy – strefy zahamowania wzrostu Strains – zones inhibition mm	<i>L.p.</i> 44	<i>L.p.</i> 1	<i>L.p.</i> 299 v	<i>L.p.</i> ATCC 4080	<i>L.p.</i> NCAIM B. 01449	<i>L.p.</i> NCAIM B. 01834
Bakterie gram-dodatnie – Gram-positive bacteria						
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	nb	nb	nb	nb	nb	nb
<i>S. aureus</i> ATCC 6538P	nb	nb	nb	nb	nb	nb
<i>S. epidermidis</i> ATCC 12228	13,2 (± 0,45)	13,2 (± 0,45)	11,6 (± 0,55)	13,0 (± 0,71)	13,6 (± 0,55)	13,4 (± 0,55)
<i>Micrococcus</i> sp.	5,0 (± 0,71)	4,4 (± 0,55)	5,2 (± 0,84)	4,8 (± 0,84)	4,6 (± 0,55)	4,2 (± 0,45)
<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	4,2 (± 0,84)	4,0 (± 0,71)	4,6 (± 0,55)	3,8 (± 0,45)	3,6 (± 0,55)	3,2 (± 0,45)
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	2,6 (± 0,55)	3,0 (± 0,71)	2,8 (± 0,45)	2,6 (± 0,55)	2,8 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)
<i>B. pumilus</i> ATCC 8241	6,2 (± 0,45)	7,0 (± 0,71)	6,2 (± 0,84)	6,8 (± 0,84)	6,2 (± 0,45)	6,4 (± 0,55)
<i>B. megaterium</i>	5,6 (± 0,55)	6,2 (± 0,84)	6,0 (± 0,71)	6,4 (± 0,55)	7,2 (± 0,45)	7,0 (± 0,71)
<i>E. faecalis</i> ATCC 29212	7,2 (± 0,41)	6,8 (± 0,41)	7,3 (± 0,82)	7,2 (± 0,41)	7,7 (± 0,52)	6,8 (± 0,41)
<i>S. lutea</i> B6	7,2 (± 0,84)	6,4 (± 0,55)	6,4 (± 0,55)	7,0 (± 0,71)	7,2 (± 0,45)	7,2 (± 0,75)
Bakterie gram-ujemne – Gram-negative bacteria						
<i>E. coli</i> ATCC 25922	3,4 (± 0,55)	4,0 (± 0,71)	4,2 (± 0,45)	3,8 (± 0,84)	2,6 (± 0,55)	2,4 (± 0,55)
<i>E. coli</i> DH5a	3,2 (± 0,84)	2,8 (± 0,84)	2,6 (± 0,55)	2,6 (± 0,55)	2,8 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)
<i>S. enteritidis</i>	nb	nb	nb	nb	nb	nb
<i>S. typhi</i>	nb	nb	nb	nb	nb	nb
<i>K. ornithinolytica</i>	3,0 (± 0,71)	3,2 (± 0,45)	2,8 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)	2,8 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)
<i>C. freundii</i> 488	3,2 (± 0,45)	4,2 (± 0,45)	3,6 (± 0,55)	2,6 (± 0,55)	2,8 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)
<i>P. fluorescens</i> 16/94	3,2 (± 0,45)	4,2 (± 0,84)	3,4 (± 0,55)	2,6 (± 0,55)	3,6 (± 0,89)	3,0 (± 0,00)
<i>P. mirabilis</i> 180	1,8 (± 0,84)	2,8 (± 0,84)	2,0 (± 0,71)	1,6 (± 0,55)	1,2 (± 0,45)	2,2 (± 0,45)
<i>S. marcescens</i> S1	1,8 (± 0,45)	2,4 (± 0,55)	2,2 (± 0,45)	2,8 (± 0,45)	2,6 (± 0,55)	1,4 (± 0,55)
Drożdże – Yeast						
<i>C. albicans</i> ATCC 10231	nb	nb	nb	nb	nb	nb

Wyniki podano jako średnią arytmetyczną z 5 serii.

(±) – odchylenie standardowe.

nb – nie badano.

The results were provided as arithmetic mean from 5 series.

(±) – standard deviation.

nb – not detected.

wskaźnikowego przejawiająca się strefami zahamowania wzrostu zależała nie tylko od wrażliwości badanego szczepu wskaźnikowego, ale i od zastosowanej metody badawczej. W metodzie studzienkowej (rys. 1) uzyskano mniejsze strefy przejśnienia, co może być spowodowane wysychaniem hodowli szczepu antagonistycznego w studzienkach, a w konsekwencji zahamowaniem wzrostu i syntezy produktów antagonistycznych lub też użyciem do doświadczenia mniejszej ilości hodowli szczepu antagonistycznego w porównaniu z metodą słupkową. Inną przyczyną powstawania większych stref zahamowania wzrostu w metodzie słupkowej może być większa koncentracja substancji antagonistycznych, powstała na skutek mniejszej powierzchni styku słupka z powierzchnią płytki agarowej zaszczerpionej mikroorganizmami wskaźnikowymi. W metodzie słupkowej stwierdzano większe strefy zahamowania, charakteryzujące się również większym zróżnicowaniem. Np. w metodzie słupkowej *P. fluorescens* cechował się największymi strefami zahamowania (20,8-25,4 mm), podczas gdy w metodzie studzienkowej średnice stref dla *P. fluorescens* wynosiły 2,6-4,2 mm. Jak zauważyła wcześniej Strus [1998] metoda słupkowa umożliwia po przeniesieniu drobnoustrojów antagonistycznych w słupku agarowym dalszy ich wzrost, równoległy do wzrostu bakterii wskaźnikowych.

Messi i in. [2001] stwierdzili dużą aktywność antagonistyczną szczepu *L. plantarum* 35d w stosunku do *S. aureus*, *L. monocytogenes*, *E. faecalis* i *A. hydrophila*.

Todorov i in. [1999] podają, że *L. plantarum* ST 31 produkuje bakteriocynę hamującą wzrost innych gatunków należących do rodzaju *Lactobacillus*, a także z rodzaju *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Bacillus* i *Staphylococcus*.

Właściwości antagonistyczne badanych szczepów z gatunku *Lactobacillus plantarum* w stosunku do mikroorganizmów wskaźnikowych (obserwowane zarówno w metodzie studzienkowej, jak i słupkowej) mogą wynikać z hamującego wpływu produktów metabolizmu tych bakterii takich, jak kwasy organiczne (głównie kwas mlekowy), nadtlenek wodoru, ale także bakteriocyn [Messens i Vuyst 2002, Brauncajs i in. 2001]. Nadtlenek wodoru wykazuje zróżnicowane właściwości hamujące w stosunku do niektórych mikroorganizmów patogennych zanieczyszczających żywność. Jego przeciwdrobnoustrojowy efekt wynika z wytwarzania bardziej aktywnych i toksycznych dla komórki rodników hydroksylowych [Klewicka i Libudzisz 1998].

W celu dokładnego określenia przyczyny występującego antagonizmu, przede wszystkim zbadano zdolność syntezy nadtlenku wodoru przez stosowane szczepy. Żaden z 6 badanych szczepów *Lactobacillus plantarum* nie wytwarzał w/w związku, o czym świadczy brak zmiany barwy podłoża na kolor fioletowy (wyników nie zamieszczono).

W dalszej części doświadczenia postanowiono sprawdzić czy obserwowana aktywność antagonistyczna jest wynikiem hamującego wpływu produkowanego kwasu mlekowego lub/i bakteriocyn. Wielu naukowców, w celu ograniczenia produkcji kwasu mlekowego przez badane szczepy, stosowało podłoże MRS zawierające 0,2% glukozy [Schillinger i Lücke 1989, Çon i Gökalp 2000, Çon i in. 2001]. Z kolei hodując bakterie mlekowe w warunkach beztlenowych minimalizuje się powstawanie nadtlenku wodoru oraz kwasu octowego [Çon i in. 2001, Kot i in. 2000].

Lewus i Montville [1991] zaobserwowali, że używając podłoża MRS uzyskiwano większe strefy zahamowania wzrostu bakterii wskaźnikowych niż stosując podłoże TSAYE (bez glukozy), wzbogacone w 0,5% ekstraktu drożdżowego. Zastosowanie podłoża TSAYE, wg autorów, eliminowało inhibicję mikroorganizmów wskaźnikowych przez kwas mlekowy. Podłoże to stosowali również w badaniach Navarro i in. [2000].

Schillinger i Lücke [1989] badali możliwość produkcji bakteriocyn oraz spektrum ich działania stosując supernatant uzyskany z hodowli prowadzonej na podłożu MRS oraz MRS-0,2. Supernatant uzyskany z hodowli na zwykłym podłożu MRS dawał większe strefy zahamowania w stosunku do uzyskanego z hodowli na podłożu zawierającym obniżoną ilość glukozy.

W naszych doświadczeniach, w celu ograniczenia produkcji kwasu mlekowego, zastosowano również podłoże MRS-0,2. Ponieważ badane szczepy nie produkują nadtlenu wodoru, powstałe ewentualnie strefy zahamowania byłyby wynikiem działania bakteriocyn. Brak stref przejaśnienia w badaniach z MRS-0,2, obserwowany w obydwu metodach, sugeruje brak produkcji aktywnych bakteriocyn w stosunku do badanych szczepów wskaźnikowych przez wybrane bakterie z gatunku *L. plantarum*. Z powodu braku stref zahamowania wzrostu we wszystkich wypadkach, wyników nie zamieszczono.

WNIOSKI

1. Wszystkie badane szczepy z gatunku *L. plantarum* (używane w innych naszych badaniach dotyczących produkcji bioaktywnego napoju słodowego) wykazywały antagonistyczne właściwości w stosunku do badanych bakterii gram-dodatnich i gram-ujemnych, w tym również chorobotwórczych.

2. Badane bakterie fermentacji mlekowej nie wykazywały zdolności hamowania wzrostu drożdży *Candida albicans* ATCC 10231.

3. Zaobserwowano zróżnicowany poziom wrażliwości wśród mikroorganizmów wskaźnikowych zarówno tego samego rodzaju, jak i gatunku na metabolity produkowane przez badane szczepy bakterii fermentacji mlekowej.

4. Wszystkie badane szczepy bakterii mlekowych wykazywały słabą inhibicję w stosunku do innych użytych bakterii fermentacji mlekowej.

5. Otrzymane w metodzie słupkowej strefy przejaśnienia były większe w porównaniu ze strefami stwierdzanymi w metodzie studzienkowej.

6. Wydaje się, iż otrzymane strefy zahamowania wzrostu bakterii wskaźnikowych są spowodowane hamującym wpływem kwasu mlekowego produkowanego przez szczepy antagonistyczne.

PIŚMIENNICTWO

- Abee T., Krockel L., Hill C., 1995. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Int. J. Food Microbiol.* 28, 169-185.
- Alakomi H.L., Skytta E., Saarela M., Mattila-Sandholm T., Latva-Kala K., Helander I.M., 2000. Lactic acid permeabilizes Gram-negative bacteria by disrupting the outer membrane. *Appl. Environ. Microbiol.* 66, 2001-2005.
- Annuk H., Shchepetova J., Kullisaar T., Songisepp E., Zilmer M., Mikelsaar M., 2003. Characterization of intestinal lactobacilli as putative probiotic candidates. *J. Appl. Microbiol.* 94, 403-412.
- Brauncajs M., Sakowska D., Krzemiński Z., 2001. Występowanie w jamie ustnej pałeczek kwasu mlekowego wytwarzających nadtlenuk wodoru. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 53, 331-336.
- Çon A.H., Gökalp H.Y., 2000. Production of bacteriocin-like metabolites by lactic acid cultures isolated from sucuk samples. *Meat Sci.* 55, 89-96.

- Çon A.H., Gökalp H.Y., Kaya M., 2001. Antagonistic effect on *Listeria monocytogenes* and *L. innocua* of bacteriocin-like metabolite produced by lactic acid bacteria isolated from sucuk. *Meat Sci.* 59, 437-441.
- Dunne C., O'Mahony L., Murphy L., Thornton G., Morrissey D., O'Halloran., Feeney M., Flynn S., Fitzgerald G., Daly C., Kiely B., O'Sullivan G., Shanahan F., Collins J. K., 2001. In vitro selection criteria for probiotic bacteria of human origin: correlation with in vivo findings. *Am. J. Clin. Nutr.* 73, 386S-92S.
- Hartnett D.J., Vaughan A., Van Sinderen D. 2002. Antimicrobial-producing lactic acid bacteria isolated from raw barley and sorghum. *J. Inst. Brew.* 108 (2), 169-177.
- Klewicka E., Libudzisz Z., 1998. Przeciwdrobnoustrojowa aktywność bakterii mlekowych. *Prz. Mlecz.* 12, 411-416.
- Klewicka E., Libudzisz Z., Czajka D., Kuc K., 1999. Antagonistyczna aktywność bakterii fermentacji mlekowej *Lactobacillus acidophilus*. *Żywność*, 4 (21), 168-175.
- Klewicka E., Motyl I., Libudzisz Z., 2003. Oporność probiotycznych kultur LAB na spermicydy i ich zdolność do nagromadzenia H₂O₂. *Bakterie fermentacji mlekowej: Metabolizm, genetyka, wykorzystanie*. Spała, 2003.
- Kot B., Jakubczak A., Bukowski K., 2000. Wpływ temperatury na antybakteryjną aktywność bakterii fermentacji mlekowej w stosunku do bakterii gram-ujemnych. W: *Materiały Szkoły Letniej „Bakterie fermentacji mlekowej – klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie”*. 29 maja-2 czerwca 2000, Kazimierz Dolny.
- Lewis C.B., Montville T.J., 1991. Detection of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *J. Microbiol. Meth.* 13, 145-150.
- Mattila-Sandholm T., Myllärinen P., Crittenden R., Mogensen G., Fondén R., Saarela M., 2002. Technological challenges for future probiotic foods. *Int. Dairy J.* 12, 173-182.
- Messens W., Vuyst L., 2002. Inhibitory substances produced by *Lactobacilli* isolated from sourdoughs-a review. *Int. J. Food Microbiol.* 72, 31-43.
- Messi P., Bondi M., Sabia C., Battini G., Manicardi G., 2001. Detection and preliminary characterization of a bacteriocin (plantaricin 35d) produced by a *Lactobacillus plantarum* strain. *Int. J. Food Microbiol.* 64, 193-198.
- Navarro L., Zarazaga M., Saenz J., Ruiz-Larrea F., Torres C., 2000. Bacteriocin production by lactic acid bacteria isolated from Rioja red wines. *J. Appl. Microbiol.* 88, 44-51.
- Ogunbanwo S.T., Sanni A.I., Onilude A.A. 2003. Influence of cultural conditions on the production of bacteriocin by *Lactobacillus brevis* OG1. *Afr. J. Biotechnol.* 2 (7), 179-184.
- Ogunbanwo S.T., Sanni A.I., Onilude A.A., 2003. Influence of cultural conditions on the production of bacteriocin by *Lactobacillus brevis* OG1. *Afr. J. Biotechnol.* 2(7), 179-184.
- Schillinger U., Lücke F.-K., 1989. Antibacterial Activity of *Lactobacillus sake* Isolated from Meat. *Appl. Environ. Microbiol.* 55, 8, 1901-1906.
- Soomro A.H., Masud T., Anwaar K. 2002. Role of lactic acid bacteria (LAB) in food preservation and human health-a review. *Pak. J. Nutr.* 1 (1), 20-24.
- Strus M., 1998. Nowa metoda oceny antagonistycznego działania bakterii kwasu mlekowego (LAB) na wybrane, chorobotwórcze bakterie wskaźnikowe. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 50, 123-130.
- Tahara T., Oshimura M., Umezawa C., Kanatani K., 1996. Isolation, partial characterization, and mode of action of acidocin J1132, a two-component bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* JCM 1132. *Appl. Environ. Microbiol.* 62, 3, 892-897.
- Todorov S., Onno B., Sorokine O., Chobert J.M., Ivanova I., Dousset X., 1999. Detection and characterization of a novel antibacterial substance produced by *Lactobacillus plantarum* ST 31 isolated from sourdough. *Int. J. Food Microbiol.* 48, 167-177.
- Usajewicz I., 1998. Fizjologiczne i immunologiczne uwarunkowania stosowania bakterii fermentacji mlekowej w żywieniu człowieka. W: *Bakterie fermentacji mlekowej: klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie*. Red. Z. Libudzisz, P. Walczak, J. Bardowski. Wyd. P. Łódź.
- Visser R., Holzapfel W.H., 1992. Lactic acid bacteria in the control of plant pathogens. W: *The lactic acid bacteria: The lactic acid bacteria in health and disease*. Red. B.J.B. Wood. Elsevier London.

ANTAGONISTIC ACTIVITY OF *LACTOBACILLUS PLANTARUM* STRAINS

Abstract. The aim of this study was to determine the antagonistic properties of six *Lactobacillus plantarum* strains against Gram-positive, Gram-negative bacteria and chosen yeast strain. Agar slab method and well diffusion assays were used in this study. The ability of bacteria to produce the hydrogen peroxide was investigated. All the chosen *L. plantarum* strains are able to inhibit used indicator bacterial strains. It was concluded that there appeared lack of bacterial growth zones and it resulted in lactic acid production. The chosen lactic acid bacteria did not inhibit growth of *C. albicans* yeast. Better results – bigger inhibition zones were obtained using agar slab method then well diffusion assays. All the *L. plantarum* strains did not reveal production hydrogen peroxide.

Key words: lactic acid bacteria, bacteriocin, *Lactobacillus plantarum*, antagonism, hydrogen peroxide, lactic acid

Zaakceptowano do druku – Accepted for print: 21.03.2005 r.

Do cytowania - For citation: Kraszewska J., Wzorek W., Sztando E., Raczyńska-Cabaj A., 2005. Aktywność antagonistyczna bakterii fermentacji mlekowej z gatunku *Lactobacillus plantarum*. *Acta Sci. Pol., Technol. Aliment.* 4(1), 39-52.