

## Antibakterijska aktivnost različitih sojeva bakterije *Lactobacillus plantarum*

### Antibacterial Activity of Different Strains of Bacterium *Lactobacillus plantarum*

Blaženka Brkić, Jagoda Šušković i S. Matošić

Zavod za biokemijsko inženjerstvo, Prehrambeno-biotehnološki fakultet Sveučilišta u Zagrebu,  
Pierottijeva 6, 41000 Zagreb

Primljeno 27. 5. 1993.

Prihvaćeno 1. 7. 1993.

#### Sažetak

Ispitana je antibakterijska aktivnost bakterija mliječne kiseline: *Lactobacillus plantarum* LA, *Lactobacillus plantarum* Z88, *Lactobacillus plantarum* PS9, *Lactobacillus sp.* J91, prema test-mikroorganizmima: *Staphylococcus aureus* 3048, *Staphylococcus aureus* K-144, *Escherichia coli* 3014, *Salmonella mumm*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 i *Enterococcus faecium*.

Antibakterijsko djelovanje nerazrijeđenih i razrijeđenih supernatanta kultura laktobacila na rast test-mikroorganizama praćeno je turbidimetrijski, mjerenjem prividne apsorbancije pri 460 nm.

Ispitivani sojevi bakterija mliječne kiseline pokazuju antagonističko djelovanje prema svim navedenim test-mikroorganizmima. Posljedica toga djelovanja je smanjenje specifične brzine rasta ili zaustavljanje rasta pojedinih test-mikroorganizama.

#### Uvod

Tijekom mliječno-kisele vriobe odvija se proces fermentacije ugljikohidrata u organske kiseline i druge proizvode metabolizma (alkohol, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, diacetil i antibiotske supstancije) koji pridonose antimikrobnom djelovanju bakterija mliječne kiseline, a time i produženoj trajnosti i povećavanju kakvoće fermentiranih proizvoda (1). Stoga se bakterije mliječne kiseline koriste kao cjepiva (»starter kulture«) za pripremu cijelog niza prehrambenih proizvoda (fermentirani mliječni proizvodi, fermentirano voće i povrće, mesni proizvodi i kisela tijesta) i probiotičkih pripravaka (2-5).

Bakterija mliječne kiseline, *Lactobacillus plantarum*, često je u sastavu prirodne mikrobne populacije kiselog kupusa (6) i drugih vrsta kiselog povrća (krastavci, masline, mrkva i cikla) (7), a upotrebljava se također kao »starter kultura« za dobivanje silaže (8).

Dodavanjem fermentirane podloge *L. plantarum* ili zakiseljavanjem materijala pri fermentaciji različitih vrsta ži-

#### Summary

Antibacterial activity of lactic acid bacteria: *Lactobacillus plantarum* LA, *Lactobacillus plantarum* Z88, *Lactobacillus plantarum* PS9 and *Lactobacillus sp.* J91 was investigated against the test microorganisms: *Staphylococcus aureus* 3048, *Staphylococcus aureus* K-144, *Escherichia coli* 3014, *Salmonella mumm*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *Enterococcus faecium*.

The antibacterial effect of the diluted and nondiluted *Lactobacillus* cultures supernatants on the growth of the test microorganisms was examined turbidimetrically i.e. by measuring the apparent absorbance at 460 nm.

The lactic acid bacteria strains showed inhibitory activity against all mentioned test microorganisms. The consequence of antibacterial activity is the decrease of the specific growth rate or the cessation of the test microorganism growth.

tarica, sprečava se rast mikroorganizma *Bacillus cereus*, koji je čest onečišćavač u tim procesima (9). Bakterije roda *Salmonella* te *Escherichia coli* uzrokuju kvarenje fermentirane soje (10). *Staphylococcus aureus* proizvodi enterotoksin koji uzrokuje kvarenje mlijeka (11). Navedene bakterijske vrste mogu također biti onečišćavači mesa i mesnih proizvoda (12). Rast i metabolizam tih bakterija, onečišćavača fermentiranih namirnica, može se usporiti ili zaustaviti djelovanjem bakterija mliječne kiseline.

Bakterije mliječne kiseline koje mogu proizvoditi bakteriocine koji uz primarni metabolit, mliječnu kiselinu, pojačavaju antagonističko djelovanje prema nepoželjnim mikroorganizmima, imaju ekološku prednost pri uporabi u priređivanju fermentiranih namirnica. Bakteriocini su ekstracelularni, biološki aktivni metaboliti mikroorganizama uskog spektra djelovanja i imaju osobine proteina što ih razlikuje od peptidnih antibiotika (13). Bakteriocini interferiraju sa specifičnim receptorima, koji se nalaze na citoplazmnoj membrani osjetljive stanice, oštećuju stanič-

nu membranu i uzrokuju inhibiciju sinteze DNA i proteina, te raspad stanice (14-16).

Svrha ovog rada bila je ispitivanje antibakterijske aktivnosti četiri soja bakterija mliječne kiseline, izoliranih iz fermentiranog povrća i silaže: *L. plantarum* L4, *L. plantarum* Z88, *L. plantarum* PS9 i *Lactobacillus* sp. J91, prema različitim test-mikroorganizmima.

## Materijal i metode

### Mikroorganizmi

U ovom je radu provedeno ispitivanje antibakterijske aktivnosti bakterija mliječne kiseline: *Lactobacillus plantarum* L4 – cjepiva za siliranje; *Lactobacillus plantarum* Z88 – izolat iz mliječno-kisele fermentacije maslina; *Lactobacillus plantarum* PS9 – izolat iz spontanog procesa siliranja; *Lactobacillus* sp. J91 – izolat iz kiselog kupusa.

Antibakterijsko djelovanje navedenih bakterija mliječne kiseline ispitano je na test-mikroorganizmima: *Staphylococcus aureus* 3048, *Staphylococcus aureus* K-144, *Escherichia coli* 3014, *Salmonella mumm*, *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 i *Enterococcus faecium*.

Svi su mikroorganizmi pohranjeni u zbirci mikroorganizama Prehrambeno-biotehnološkog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu.

### Hranjive podloge

Za uzgoj bakterija mliječne kiseline i test-mikroorganizma *E. faecium* upotrijebljena je MRS tekuća podloga (17). Za uzgoj ostalih test-mikroorganizama upotrijebljen je hranjivi bujon.

### Uzgoj mikroorganizama

Sterilne tekuće podloge za uzgoj laktobacila nacijspljene su s 1 % obujmnog udjela cjepiva uzgojenog u MRS podlozi pri 37 °C tijekom 10-12 sati na rotacijskoj tresilici u vodenoj kupelji pri 130 okr/min. Mikroorganizmi su uzgajani u Erlenmeyerovim tikvicama od 100 mL s 50 mL hranjive podloge.

### Analitičke metode

Antibakterijska aktivnost supernatanta kultura laktobacila prema različitim test-mikroorganizmima određivala se turbidimetrijskom metodom.

Supernatanti kultura laktobacila priređivani su centrifugiranjem 20 min pri 8000 okr/min fermentirane hranjive podloge nakon 24 sata uzgoja. Obujmni udjel supernatanta u podlogama nacijspljenim s 1 % test-mikroorganizama iznosio je 10, 50 i 100 %.

Antibakterijska aktivnost definirala se rastom test-mikroorganizama pri uzgoju u tekućim hranjivim podlogama s dodanim supernatantom. Uzgoj test-mikroorganizama provodio se u Erlenmeyerovim tikvicama od 100 mL s 50 mL podloge pri 37 °C tijekom 24 sata na rotacijskoj tresilici pri 130 okr/min.

Broj stanica test-mikroorganizama tijekom 24 sata uzgoja određivan je neizravno, spektrofotometrijskim mjerenjem prividne apsorbancije, pri valnoj duljini 460 nm i očitanjem broja stanica sposobnih preživjeti iz baždarnog dijagrama. U baždarni su dijagram unesene vrijednosti koje prikazuju odnos apsorbancije uzorka, određen spek-

trofotometrijski, prema broju stanica sposobnih preživjeti, dobivenom brojanjem kolonija izraslih na čvrstim podlogama nacijspljenim decimalnim razrjeđenjima istog uzorka. Razlika u prividnoj apsorbanciji kontrole (nacijspljena tekuća hranjiva podloga bez dodanog supernatanta) i uzorka s dodanim supernatantom kulture, mjera je inhibicije rasta test-mikroorganizma. Slijepa je proba bila sterilna tekuća hranjiva podloga.

Na osnovi dobivenih rezultata izračunana je specifična brzina rasta u  $h^{-1}$  pojedinih test-mikroorganizama, u logaritamskoj fazi rasta:

$$\mu = \frac{\ln N - \ln N_0}{t - t_0}$$

gdje su  $N_0$  i  $N$  – broj stanica na početku uzgoja ( $t_0$ ) i nakon vremena  $t$ .

Postotak inhibicije rasta izračunan je prema jednadžbi:

$$\text{postotak inhibicije rasta} = \frac{\mu_k - \mu_s}{\mu_k} \cdot 100$$

$\mu_k$  – specifična brzina rasta test-mikroorganizma u kontroli  
 $\mu_s$  – specifična brzina rasta test-mikroorganizma u podlozi s dodanim supernatantom.

Usporedno je testirana i antibakterijska aktivnost mliječne kiseline u masenim udjelima koji odgovaraju mliječnoj kiselini u supernatantima pojedinačnih sojeva laktobacila. Slobodna mliječna kiselina određivana je titracijom s 0,1 M NaOH. Pokusi i račun izvedeni su na isti način kao i ispitivanja antibakterijske aktivnosti supernatanta.

## Rezultati i rasprava

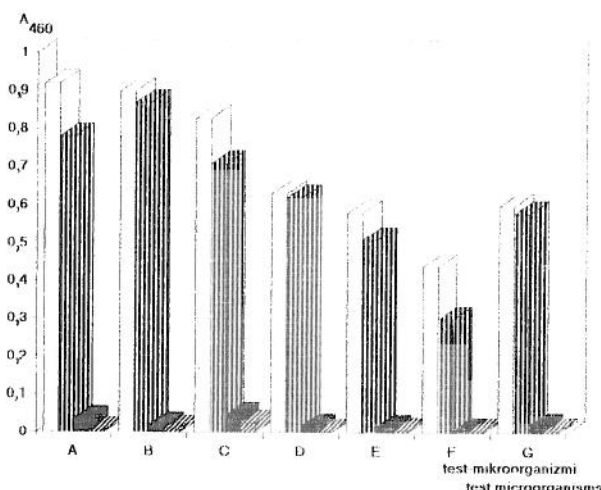
Antibakterijska aktivnost bakterija mliječne kiseline testirana je turbidimetrijskom metodom koja, za razliku od metode difuzije u agar, osigurava izravnu interakciju ispitivane supstancije i stanica test-mikroorganizma (18).

Supernatanti ispitivanih laktobacila priređeni su nakon završene logaritamske faze rasta stanica, jer je iz literature poznato da bakterije mliječne kiseline proizvode antibakterijske supstancije ekstracelularno, za vrijeme logaritamske faze rasta (14,19).

Djelovanje antibakterijskih supstancija laktobacila ovisi o pH-vrijednosti podloge i najbolje je u području pH od 4 do 6,5 (14,16,20). U podlogama s dodatkom 10, 50 i 100 % supernatanta ispitivanih bakterija mliječne kiseline, pH-vrijednost bila je u području od 4 do 5,5. Rezultati pokusa prikazani su na slikama od 1 do 4.

Navedene slike prikazuju antagonističko djelovanje ispitivanih bakterija mliječne kiseline prema pojedinim test-mikroorganizmima u vremenu kad je postignut maksimalan broj stanica u kontroli, tj. na prelasku iz eksponencijalne u stacionarnu fazu rasta. U toj je fazi postignuta najveća inhibicija rasta test-mikroorganizama (slike 1-4).

Izračunavanjem značajnog kinetičkog parametra, specifične brzine rasta test-mikroorganizama, htjelo se utvrditi djelovanje supernatanta ispitivanih laktobacila na kinetiku rasta test-mikroorganizama. U tablici 1 dane su specifične brzine rasta dobivene uzgojem test-mikroorganizama u podlogama bez dodatka supernatanta. Rezultati u tablici 2 pokazuju da supernatanti ispitivanih bakterija mliječne kiseline, dodani u hranjivu podlogu, smanjuju specifične brzine rasta svih test-mikroorganizama.

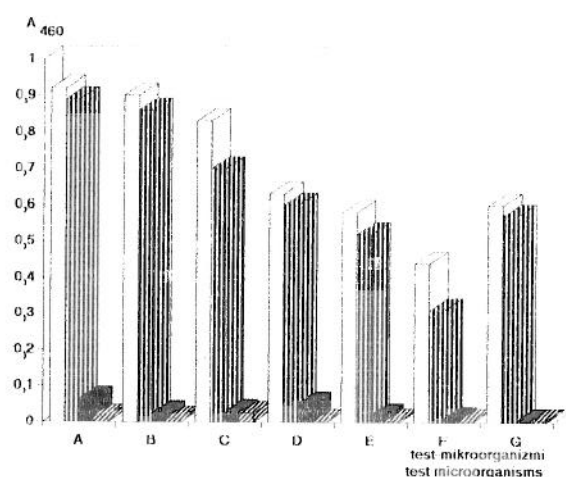


Slika 1. Inhibicija rasta test-mikroorganizama supernatantom kulture *Lactobacillus plantarum* L4 (nakon 12 sati uzgoja):

■ – kontrola; ▨ – 10 % supernatanta; ▩ – 50 % supernatanta; ▧ – 100 % supernatanta.

Fig. 1. Inhibition of the growth of the test microorganisms by the *Lactobacillus plantarum* L4 supernatant (after 12 hours of cultivation): ■ – control; ▨ – 10 % of the supernatant; ▩ – 50 % of the supernatant; ▧ – 100 % of the supernatant.

A – *S. aureus* 3048; B – *S. aureus* K-144; C – *E. coli*; D – *S. miumum*; E – *B. cereus*; F – *B. subtilis*; G – *E. faecium*.

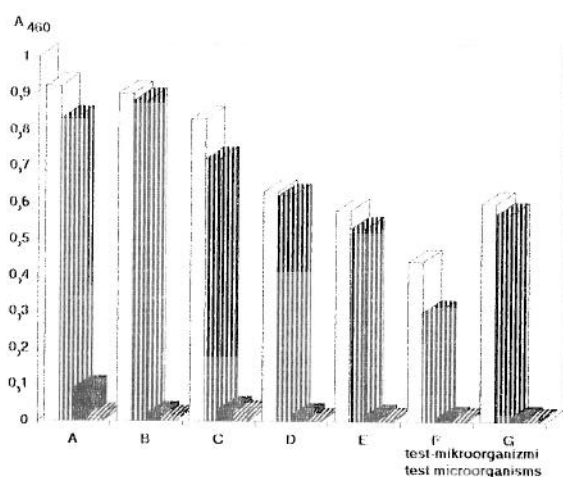


Slika 2. Inhibicija rasta test-mikroorganizama supernatantom kulture *Lactobacillus plantarum* Z88 (nakon 12 sati uzgoja):

■ – kontrola; ▨ – 10 % supernatanta; ▩ – 50 % supernatanta; ▧ – 100 % supernatanta.

Fig. 2. Inhibition of the growth of the test microorganisms by the *Lactobacillus plantarum* Z88 supernatant (after 12 hours of cultivation): ■ – control; ▨ – 10 % of the supernatant; ▩ – 50 % of the supernatant; ▧ – 100 % of the supernatant.

A – *S. aureus* 3048; B – *S. aureus* K-144; C – *E. coli*; D – *S. miumum*; E – *B. cereus*; F – *B. subtilis*; G – *E. faecium*.

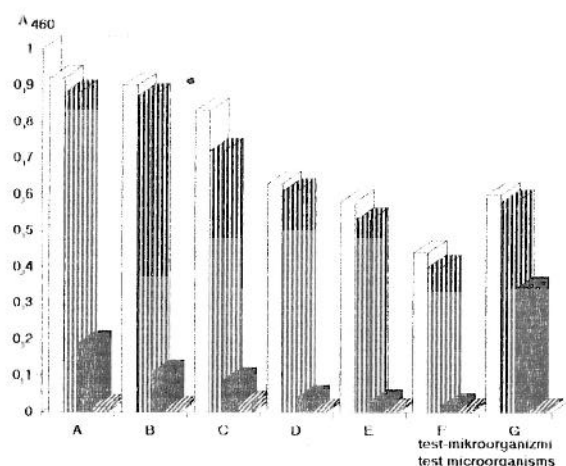


Slika 3. Inhibicija rasta test-mikroorganizama supernatantom kulture *Lactobacillus plantarum* PS9 (nakon 12 sati uzgoja):

■ – kontrola; ▨ – 10 % supernatanta; ▩ – 50 % supernatanta; ▧ – 100 % supernatanta.

Fig. 3. Inhibition of the growth of the test microorganisms by the *Lactobacillus plantarum* PS9 supernatant (after 12 hours of cultivation): ■ – control; ▨ – 10 % of the supernatant; ▩ – 50 % of the supernatant; ▧ – 100 % of the supernatant.

A – *S. aureus* 3048; B – *S. aureus* K-144; C – *E. coli*; D – *S. miumum*; E – *B. cereus*; F – *B. subtilis*; G – *E. faecium*.



Slika 4. Inhibicija rasta test-mikroorganizama supernatantom kulture *Lactobacillus* sp. J91 (nakon 12 sati uzgoja):

■ – kontrola; ▨ – 10 % supernatanta; ▩ – 50 % supernatanta; ▧ – 100 % supernatanta.

Fig. 4. Inhibition of the growth of the test microorganisms by the *Lactobacillus* sp. J91 supernatant (after 12 hours of cultivation): ■ – control; ▨ – 10 % of the supernatant; ▩ – 50 % of the supernatant; ▧ – 100 % of the supernatant.

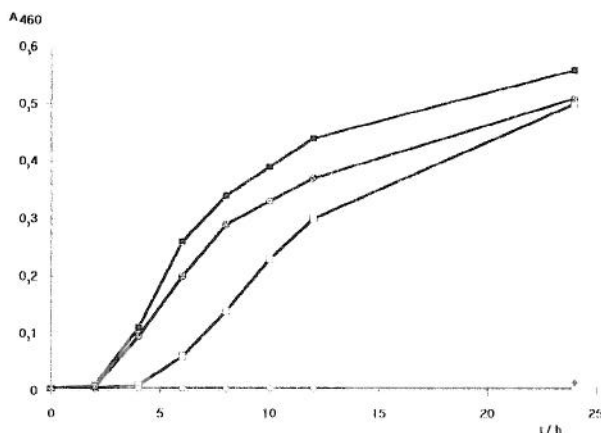
A – *S. aureus* 3048; B – *S. aureus* K-144; C – *E. coli*; D – *S. miumum*; E – *B. cereus*; F – *B. subtilis*; G – *E. faecium*.

Tablica 1. Specifične brzine rasta test-mikroorganizama  
Table 1. Specific growth rates of test microorganisms

Test-mikroorganizam Test microorganism	$\mu / h^{-1}$
<i>Staphylococcus aureus</i> 3048	0,48
<i>Staphylococcus aureus</i> K-144	0,47
<i>Escherichia coli</i>	0,87
<i>Salmonella mimum</i>	0,52
<i>Bacillus cereus</i>	0,40
<i>Bacillus subtilis</i>	0,64
<i>Enterococcus faecium</i>	1,00

Da bi se isključilo antagonističko djelovanje same mliječne kiseline prema test-mikroorganizmima, provedeno je testiranje s dodatkom mliječne kiseline masenih udjela koji odgovaraju udjelima mliječne kiseline, određenim u pojedinim supernatantima kultura laktobacila (u tablici 2 navedene su srednje vrijednosti priređenih masenih udjela). Pri testiranju dodatka 10 % supernatanta, najveću osjetljivost pokazali su test-mikroorganizmi *S. aureus* 3048, *B. subtilis* i *E. faecium*. Dodanih 50 % supernatanta u podlogu uzrokuje značajano smanjenje vrijednosti specifičnih brzina rasta test-mikroorganizama, pa je i postotak inhibicije rasta test-mikroorganizama veći nego u podlogama s 10 % supernatanta (tablica 2). Nerazrijeđeni supernatant u potpunosti sprečava rast test-mikroorganizama ( $\mu = 0$  za sve test-mikroorganizme) (slike 1-4).

Supernatant kulture *L. plantarum* L4 pokazao je najveće antibakterijsko djelovanje prema test-mikroorganizmima. Izrazitu osjetljivost prema supernatantima ispitivanih kultura laktobacila pokazao je test-mikroorganizam *B. subtilis* (tablica 2). Na slici 5 vidi se da je 10 % supernatanta kulture *L. plantarum* L4 uzrokovalo produljenje lag-faze rasta i smanjenje specifične brzine rasta *B. subtilis*. Mliječna kiselina, dodana u masenom udjelu koji odgovara udjelu mliječne kiseline u 10 % supernatanta, pokazala je slabiju antibakterijsku aktivnost od supernatanta kulture



Slika 5. Rast test-mikroorganizma *Bacillus subtilis* u podlogama s različitim masenim udjelima supernatanta kulture *Lactobacillus plantarum* L4: ■ – kontrola; □ – 10 % supernatanta; ◆ – 50 % supernatanta; ◇ – 100 % supernatanta, ○ – 0,1 % mliječne kiseline

Fig. 5. Growth rate of the test microorganism *Bacillus subtilis* in the presence of different concentrations of *Lactobacillus plantarum* L4 supernatant added to the test medium: ■ – control; □ – 10 % of the supernatant; ◆ – 50 % of the supernatant; ◇ – 100 % of the supernatant, ○ – 0,1 % of the lactic acid.

*L. plantarum* L4. Na veću osjetljivost test-mikroorganizma *B. subtilis*, u usporedbi s drugim test-mikroorganizmima, upućuje i činjenica da je 50 % supernatanta u podlozi potpuno inhibiralo njegov rast (tablica 2, slika 5). Taj je rezultat korisna informacija, jer je *B. subtilis* čest onečišćavač mnogih prehrambenih proizvoda i silaže, gdje se ta bakterija mliječne kiseline primjenjuje kao cjepivo (8).

Antibakterijsko djelovanje deset puta razrijeđenih supernatanta laktobacila najslabije je prema test-mikroor-

Tablica 2. Inhibicija rasta test-mikroorganizama u podlogama s 10 i 50 % supernatanta (S) iz fermentirane podloge laktobacila (izračunano prema specifičnoj brzini rasta triju ponovljenih pokusa)

Table 2. Inhibition of the growth of the test microorganisms cultivated in the test media containing 10 and 50 % of the lactobacilli culture supernatants (S) (calculated with respect to the specific growth rate; means of three replicates)

Proizvodni mikroorganizmi Microorganisms producers	S %	Inhibicija rasta test-mikroorganizama / % Inhibition of the growth of test microorganisms / %						
		<i>S. aureus</i> 3048	<i>S. aureus</i> K-144	<i>E. coli</i>	<i>S. mimum</i>	<i>B. cereus</i>	<i>B. subtilis</i>	<i>E. faecium</i>
<i>L. plantarum</i> L4	10	29,20	8,51	10,35	5,77	15,00	21,88	50,00
	50	64,58	95,74	89,65	98,08	97,50	100,00	97,00
<i>L. plantarum</i> Z88	10	20,83	6,33	10,34	1,92	2,50	18,75	49,00
	50	50,00	95,74	88,50	96,15	97,50	98,44	97,00
<i>L. plantarum</i> PS9	10	25,00	8,51	14,94	3,85	7,50	23,44	45,00
	50	47,91	93,60	86,20	96,15	97,50	98,44	100,00
<i>Lactobacillus</i> sp. J91	10	18,75	6,33	10,34	0,00	5,00	15,63	4,00
	50	43,75	82,93	85,06	96,15	95,00	95,31	67,00
Mliječna kiselina Lactic acid / %	0,1*	8,33	0,00	8,75	1,92	2,50	15,63	24,00
	0,5	45,83	91,43	88,50	96,15	95,00	93,75	92,00

\*maseni udjel mliječne kiseline odgovara udjelu pri testiranju s 10 i 50 % supernatanta  
mass fraction of lactic acid corresponds to the concentration of the 10 and 50 % of the supernatant, respectively

ganizmu *S. mumum*. To se može pripisati složenijoj građi stanične stijenke Gram-negativnih bakterija, što ih čini otpornijim na antibiotičke supstancije od Gram-pozitivnih bakterija. Gram-negativne bakterije imaju dodatni sloj na staničnoj stijenci koji sadržava fosfolipide, lipopolisaharide, polisaharide i proteine. Andersson (19) potkrepljuje ovu tvrdnju, jer je transformacijom Gram-negativne bakterije, *E. coli*, u sferoplast, dobio stanice osjetljive na bakteriocin.

Mliječna kiselina, dodana u hranjivu podlogu, pokazuje antibakterijsko djelovanje, ali je veća osjetljivost test-mikroorganizama na supernatante ispitivanih kultura laktobacila, što se vidi iz rezultata prikazanih u tablici 2. Jače antibakterijsko djelovanje supernatanta kultura laktobacila moglo bi upućivati na prisutnost antibiotičke supstancije (bakteriocina), jer je iz literature poznato da sojevi bakterije *L. plantarum* proizvode supstancije s antibiotskim djelovanjem u vrlo malim masenim udjelima (14,15,19). Velik postotak inhibicije rasta test-mikroorganizma *E. faecium* također upućuje na moguću prisutnost bakteriocina, jer je u mnogim istraživanjima zaključeno da antibiotičke supstancije bakterija mliječne kiseline inhibiraju rast mikroorganizama unutar iste vrste (14,15,18-20).

U tablici 2 također se vidi da je *E. coli* pokazala jednaku osjetljivost na mliječnu kiselinu, kao i na supernatante ispitivanih laktobacila. To bi se moglo objasniti velikom osjetljivošću *E. coli* prema kratkolančanim organskim kiselinama (21). Naime, mliječna kiselina, kao kratkolančana organska kiselina, ulazi u stanice acidonetolerantnih mikroorganizama u nedisociranom obliku i disocira tek unutar stanice. To rezultira zakiseljavanjem citoplazme što dovodi do inhibicije sinteze molekula nukleinskih kiselina, lipida, peptidoglikana i proteina osjetljive stanice (22).

Upoznavanje metabolizma, fiziologije i genetike ispitivanih sojeva bakterije *L. plantarum* važno je za poboljšanje fermentacijskih procesa u industriji, gdje se te bakterije mogu upotrijebiti. Bilo bi značajno utvrditi da li ispitivani laktobacili imaju plazmide odgovorne za proizvodnju antibiotičke supstancije – bakteriocina.

## Zaključci

Praćenjem kinetike rasta test-mikroorganizama utvrđena je antibakterijska aktivnost supernatanta ispitivanih kultura laktobacila, izražena kao postotak inhibicije rasta test-mikroorganizama.

Najveće antibakterijsko djelovanje prema ispitivanim test-mikroorganizmima pokazao je supernatant kulture *Lactobacillus plantarum* L4.

Antagonističko djelovanje supernatanta ispitivanih bakterija mliječne kiseline veće je prema Gram-pozitivnim test-mikroorganizmima, nego prema Gram-negativnim.

Također je utvrđeno da supernatanti ispitivanih laktobacila više inhibiraju rast test-mikroorganizama, nego sama mliječna kiselina.

## Extended abstract

As known, lactic acid bacteria are capable to inhibit the growth and activity of many other microorganisms, including spoilage organisms and pathogens. Four *Lactobacillus plantarum* strains, from silage and vegetable fermentation, were tested for antibacterial activity against the enteropathogenic microorganisms (*Staph. aureus* 3048, *Staph. aureus* K-144, *Salmonella mumum*, *E. coli* and spore-forming bacteria

*B. subtilis* and *B. cereus*. *Enterococcus faecium*, as a lactic acid bacterium, was also included as a test microorganism).

Different amounts of spent broth supernatants from lactobacilli cultures were added to the nutrient media for detection of growth or inhibition of the test microorganisms. The results in Figs. 1-4 showed different degree of inhibitory activity of examined lactobacilli against the test microorganisms. As a consequence of the antibacterial activity a decreased specific growth rate of the test microorganisms resulted (Table 2). The comparison of antibacterial activities of the supernatants and corresponding concentration of lactic acid suggests that the inhibitory effects were not identical. Namely, antibacterial activities of the supernatants of the lactobacilli cultures were higher than the antibacterial activity of the pure lactic acid itself (Table 2).

Gram positive test microorganisms were more sensitive than the gram negative ones (Table 2). The highest antibacterial activity has been detected in the supernatant of *L. plantarum* L4, isolated from silage.

*B. subtilis* has expressed significant sensitivity to all tested strains of *Lactobacillus plantarum* (especially *L. plantarum* L4). Addition of 10 % supernatant to the medium has caused the prolongation of the lag *L. plantarum* L4 growth phase and a decrease of the specific growth rate of *B. subtilis*. When 50 % of the supernatant has been added to the medium, the growth of *B. subtilis* was completely inhibited (Fig. 5).

## Literatura

1. S. E. Lindgren, W. J. Dobrogosz, *FEMS Microbiol. Rev.* 87 (1990) 149.
2. A. Hosono, R. Wardojo, H. Otani, *Agric. Biol. Chem.* 54 (1990) 1639.
3. A. Lonvand-Funel, A. Joyeux, J. Ledoux, *J. Appl. Bacteriol.* 71 (1991) 501.
4. P. Mensah, A. M. Tomkins, B. S. Drasar, T. J. Harrison, *J. Appl. Bacteriol.* 70 (1991) 203.
5. C. Ahn, M. E. Stiles, *J. Appl. Bacteriol.* 69 (1990) 302.
6. H. P. Fleming, R. F. Mcfeeters, E. G. Humpries, *Biotech. Bioeng.* 31 (1988b) 189.
7. M. A. Daeschel, R. E. Andersson, H. P. Fleming, *FEMS Microbiol. Rev.* 46 (1987) 357.
8. R. Sharp, A. G. O'Donnell, H. G. Gilbert, G. P. Hazlewood, *Appl. Environ. Microbiol.* 58 (1992) 2517.
9. M. Ashenafi, M. Busse, *J. Appl. Bacteriol.* 70 (1991) 315.
10. M. Ashenafi, M. Busse, *J. Food Prot.* 52 (1989) 169.
11. E. Rarente, A. Mazzatura, *J. Food Sci.* 1 (1991) 27.
12. B. P. David, V. Purushothman, R. A. Venkatesan, *Letts. Appl. Microbiol.* 15 (1992) 96.
13. T. R. Klaenhammer, *Biochemie*, 70 (1988) 337.
14. M. A. Daeschel, M. C. Mckenney, L. C. McDonald, *Food Microbiology*, 7 (1990) 91.
15. R. E. Andersson, M. A. Daeschel, H. M. Hassan, *Biochemie*, 70 (1980) 381.
16. R. Kodoma, *J. Antibiot.* 5 (1952) 72.
17. J. C. De Man, M. Rogosa, E. Sharpe, *J. Appl. Bacteriol.* 23 (1960) 130.
18. F. M. Barnby-Smith, S. D. Roller, L. F. Woods, M. Barker, M. Nightingale, P. A. Gibbs, *Research Reports*, 662 (1989)
19. R. Andersson, *Intern. J. Food Microbiol.* 3 (1986) 146.
20. S. E. Barefoot, T. R. Klaenhammer, *Antimicrob. Agents. Chemother.* 26 (1984) 1328.
21. C. A. Cherrington, M. Hinton, G. R. Pearson, I. Chopra, *J. Appl. Bacteriol.* 70 (1991) 161.
22. C. A. Cherrington, M. Hinton, I. Chopra, *J. Appl. Bacteriol.* 68 (1990) 69.