

MAŁGORZATA JAŁOSIŃSKA

**PRZEŻYwalNOŚĆ SZCZEPU *STAPHYLOCOCCUS AUREUS*
ATCC 25923 W PROBIOTYCZNYM I SYNBIOTYCZNYM
BANANOWO-MLECZNYM NAPOJU FERMENTOWANYM
PODCZAS PRZECHOWYWANIA**

Streszczenie

Celem pracy było określenie przeżywalności szczepu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 w bananowo-mlecznym napoju fermentowanym z udziałem szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* Łock 0900, podczas przechowywania w temp. 15 °C. Zbadano także wpływ dodatku prebiotyku (oligofruktozy) w ilości 3 i 5 % na przeżywalność patogenu. Próbą kontrolną był napój niefermentowany (bez dodatku probiotyku i prebiotyku). Dodatkowo określono przeżywalność szczepu *S. aureus* w produkcie niezawierającym probiotyku, ale o takim pH, jaki miał napój probiotyczny po fermentacji.

Stwierdzono, że warunki panujące w produkcie fermentowanym z udziałem probiotyku były letalne dla szczepu *S. aureus*. W ciągu 6 dni analizy nastąpiła bowiem redukcja liczby żywych komórek patogenu o 2 rzędy logarytmiczne. Nie stwierdzono natomiast, aby dodatek oligofruktozy miał wpływ na redukcję żywych komórek patogenu. W produkcie niefermentowanym nastąpił wzrost liczby komórek *S. aureus* o 6 rzędów logarytmicznych w ciągu 21 dni. Zaobserwowano znaczne obniżenie pH produktu z poziomu 5,02 (przed fermentacją) do 3,90 (ostatniego dnia badania), niezależnie od stężenia oligofruktozy. Wyniki badania kontrolnego wskazują na prawdopodobny brak wpływu innych metabolitów niż kwas mlekowy na zamieranie szczepu *S. aureus*.

Słowa kluczowe: *Staphylococcus aureus*, probiotyki, oligofruktoza, mleczny napój fermentowany

Wprowadzenie

Zainteresowanie mikroorganizmami probiotycznymi związane jest z ich właściwościami prozdrowotnymi. Drobnoustroje te, poprzez swoją aktywność metaboliczną, w sposób pośredni lub bezpośredni korzystnie oddziałują na organizm człowieka.

Wciąż prowadzone są badania na ten temat, jak również izolowane są nowe szczepy, które spełniają kryteria stawiane szczepom probiotycznym [1].

Zastosowanie odpowiednich szczepów bakterii mlekowych (LAB) przyczynia się do wyeliminowania lub zahamowania rozwoju drobnoustrojów patogennych, toksynotwórczych oraz powodujących psucie się żywności. Potencjał antybakteryjny bakterii mlekowych związany jest z produkcją przez nie kwasu mlekowego oraz innych metabolitów, takich jak bakteriocyny lub nadtlenek wodoru. Stwarzają one warunki środowiska niekorzystne dla rozwoju innej mikroflory bakteryjnej, w tym chorobotwórczej. Konkurencyjność probiotyków można zwiększyć przez dodatek do produktów prebiotyków, czyli związków stymulujących wzrost i metabolizm bakterii probiotycznych [4, 6].

Badanie wpływu probiotyków na patogeny w żywności nie jest łatwe. Produkty spożywcze stanowią złożone środowiska, zróżnicowane pod względem składu surowcowego, składu mikroflory oraz warunków przechowywania. Badania genetyczne i biochemiczne dowodzą, że zarówno zdolność do produkcji określonych substancji przeciwbakteryjnych, jak i wrażliwość na nie, są uwarunkowane nie tylko gatunkowo, ale również szczepowo, a ekspresja genów odpowiedzialnych za daną cechę zależy w dużym stopniu od środowiska bytowania danego mikroorganizmu. Istnieje więc potrzeba poszerzania wiedzy na temat charakterystyki poszczególnych szczepów oraz występujących między nimi interakcji w różnych produktach spożywczych [8, 11].

Celem pracy było określenie przeżywalności szczepu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 w bananowo-mlecznym napoju fermentowanym z udziałem szczepu probiotycznego *Lactobacillus casei* Łock 0900, przechowywanym w temp. 15 °C. Ponadto zbadano wpływ dodatku prebiotyku (oligofruktozy) w ilości 3 i 5 % na przeżywalność tego patogenu.

Material i metody badań

Materiałem do badań były napoje bananowo-mleczne fermentowane szczepem probiotycznym *Lactobacillus casei* Łock 0900, bez dodatku oligofruktozy oraz z jej udziałem w ilości 3 i 5 %. Szczep probiotyczny pochodził z kolekcji muzealnej Instytutu Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej. Próbką kontrolną były dwa napoje niefermentowane, w tym jeden z nich zawierał kwas mlekowy (Sigma-Aldrich, Germany). Posłużył on do obniżenia pH tego napoju do wartości, jaką miały napoje fermentowane po zakończeniu fermentacji. Wszystkie badane produkty były zanieczyszczone szczepem *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Szczep pochodził z kolekcji muzealnej Zakładu Higieny i Zarządzania Jakością Żywności SGGW w Warszawie.

Napoje bananowo-mleczne sporządzano z mleka UHT o 2-procentowej zawartości tłuszczu i z pasteryzowanego nektaru bananowego. Zarówno mleko, jak i nektar

pochodziły z handlu detalicznego. Mieszano je w warunkach jałowych w stosunku 2 : 3 i do części z nich dodawano oligofruktozę (Raftilose P95, ORAFIT, Belgia) w ilości 3 i 5 %. Mleko oraz nektar nie były poddawane dodatkowej obróbce, natomiast oligofruktoza po rozpuszczeniu w mleku została poddana sterylizacji metodą mikrofiltracji, z wykorzystaniem pompy próżniowej i membran z octanu celulozy (firmy Corning), o średnicy 70 mm i średnicy porów 0,22 μm . Wszystkie próbki zaszczepiano 24-godzinną hodowlą szczepu probiotycznego *L. casei* Łock 0900 o gęstości zawiesiny 10^9 jtk/ml. Szczep był uprzednio ożywiany w bulionie MRS (MerckKGaA, Germany), a gęstość zawiesiny sprawdzano, posiewając hodowlę na agarze MRS (MerckKGaA, Germany). Przygotowane napoje poddawano 12-godzinnej fermentacji w temp. 37 °C. Po zakończeniu fermentacji próbki bez dodatku oligofruktozy, z 3-procentowym dodatkiem oligofruktozy, z 5-procentowym dodatkiem oligofruktozy oraz próbki kontrolne niefermentowane, w tym jedna z dodatkiem kwasu mlekowego, zaszczepiano hodowlą szczepu *Staphylococcus aureus* ATTC 25923 (zawiesina o gęstości 10^5 jtk/ml). Zawiesinę wyjściową przygotowywano, wykonując naprzemienny pasaż na bulionie i agarze odżywczym (MerckKGaA, Germany), a jej gęstość sprawdzano, posiewając hodowlę na podłożu Baird-Parker (MerckKGaA, Germany). W tak przygotowanych próbkach oznaczano liczbę komórek *S. aureus*, liczbę *Lb. casei* Łock 0900 oraz mierzono pH. Następnie próbki przechowywano w temp. 15 °C. Produkty fermentowane i produkt niefermentowany z dodatkiem kwasu mlekowego przechowywano do uzyskania jak najmniejszej liczby komórek, możliwej do oznaczenia metodą płytkową – do 6 dni, produkt niefermentowany bez dodatku probiotyku i prebiotyku przechowywano do uzyskania fazy zamierania populacji – do 21 dni. Co 24 h oznaczano liczbę komórek gronkowca i mierzono pH, a w ostatnim dniu przechowywania dodatkowo określano liczbę komórek szczepu probiotycznego. Wykonano trzy serie badawcze, po 10 próbek w każdej serii.

Liczbę komórek szczepu *S. aureus* oznaczano metodą płytkową powierzchniową, z zastosowaniem podłoża selektywnego Baird-Parker (MerckKGaA, Germany). Inkubację prowadzono w temp. 37 °C przez 48 h. Liczbę komórek szczepu probiotycznego (*Lb. casei* Łock 0900) oznaczano metodą płytkową wgłębną, na podłożu MRS (MerckKGaA, Germany). Stosowano identyczne warunki inkubacji: temp. 37 °C, 48 h. Wyniki oznaczeń podawano jako log liczby jednostek tworzących kolonie (jtk) w 1 ml danego produktu.

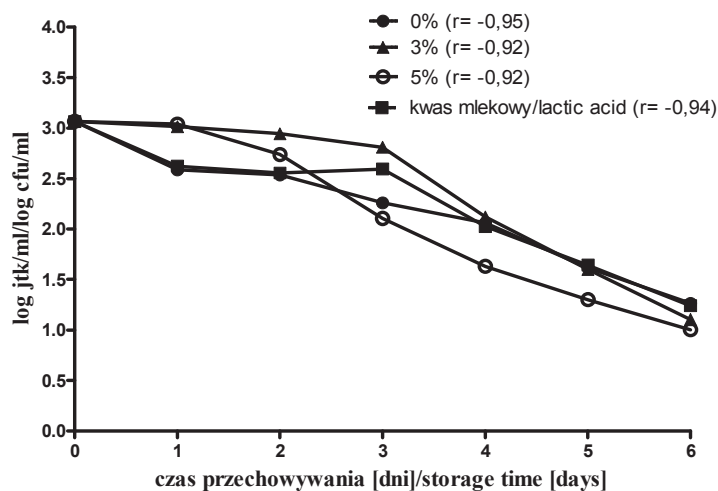
Pomiar pH produktów podczas trwania doświadczenia przeprowadzono metodą potencjometryczną przy użyciu aparatu Lab 860, firmy Schott Instruments (Germany), po jego wcześniejszej kalibracji. Wynik odczytywano z dokładnością do 0,01 jednostki pH.

Opracowanie statystyczne wyników przeprowadzono w programach Statistica 10 (StatSoft, Polska) i Graph Pad 6.0. Zastosowano analizę korelacji i regresji oraz jednoczynnikową analizę wariancji z testem Tukeya ($p < 0,05$).

Wyniki i dyskusja

We wszystkich produktach fermentowanych z udziałem szczepu probiotycznego *L. casei* Łock 0900 liczba komórek szczepu *S. aureus* została zredukowana w ciągu 6 dni o ok. 2 rzędy logarytmiczne (rys. 1).

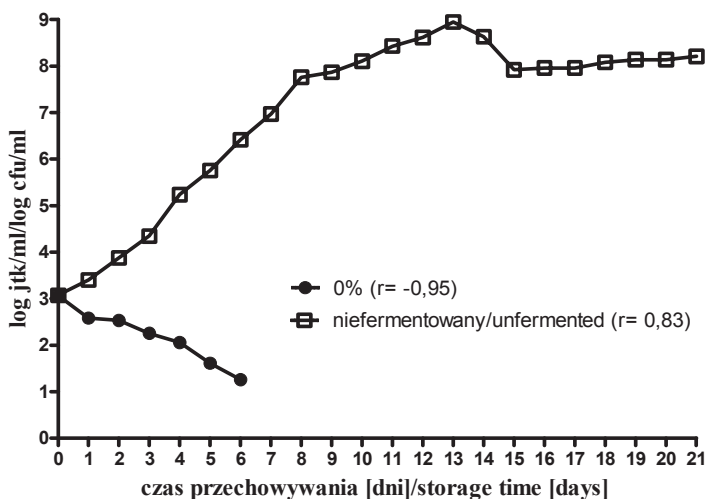
Wykazano silną zależność pomiędzy czasem przechowywania produktów a przeżywalnością szczepu gronkowca. Współczynniki korelacji kształtowały się w zakresie od $r = -0,92$ do $r = -0,95$ ($p < 0,05$) – rys. 1. Zależności te zostały potwierdzone wynikami regresji liniowej. Równocześnie wykazano brak statystycznie istotnych różnic ($p < 0,05$) pomiędzy wartościami uwzględnionymi na poszczególnych krzywych przeżywalności. Przeżywalność badanego szczepu gronkowca była zbliżona we wszystkich rodzajach napojów: probiotycznym i synbiotycznych, niezależnie od stężenia prebiotyku.



Rys. 1. Krzywe przeżywalności szczepu *Staphylococcus aureus* w produkcie niefermentowanym z kwasem mlekowym oraz w produktach fermentowanych, różniących się dodatkiem oligofruktozy (0, 3 i 5 %), podczas przechowywania w temp. 15 °C – z zaznaczonymi współczynnikami korelacji (r)

Fig. 1. Survival curves of *Staphylococcus aureus* strain in unfermented product with lactic acid and in fermented products with varying amounts of oligofructose added (0, 3, 5 %) during storage at temp. of 15 °C – with marked correlation coefficients (r)

W próbie kontrolnej niefermentowanej liczba żywych komórek *S. aureus* zwiększała się systematycznie do 13. doby. W porównaniu z początkowym poziomem (3,07 log jtk/ml) liczba komórek gronkowca zwiększyła się o prawie 6 rzędów logarytmicznych, osiągając wartość 8,95 log jtk/ml. Od 13. doby przechowywania liczba komórek badanego szczepu obniżała się nieznacznie, aby 15. dnia osiągnąć wartość 7,92 log jtk/ml. Do ostatniego dnia przechowywania liczba żywych komórek gronkowca utrzymywała się na poziomie ok. 8 log jtk/ml. Potwierdzono silny, wprost proporcjonalny, związek pomiędzy czasem badania a liczbą komórek gronkowca ($p < 0,05$) – rys. 2. Dla porównania, na rys. 2. przedstawiono ponownie krzywą przeżywalności badanego szczepu w produkcie probiotycznym.



Rys. 2. Krzywe przeżywalności szczepu *Staphylococcus aureus* w produkcie niefermentowanym oraz w fermentowanym bez dodatku oligofruktozy (0 %), podczas przechowywania w temp. 15 °C – z zaznaczonymi współczynnikami korelacji (r)

Fig. 2. Survival curves of *Staphylococcus aureus* strain in unfermented product and in fermented product without oligofructose added (0 %) during storage at temp. of 15 °C – with marked correlation coefficients (r)

Szczep *S. aureus* intensywnie namnażał się w produkcie charakteryzującym się tym samym składem surowcowym, ale bez dodatku probiotyku, czyli niefermentowanym (rys. 2). Jak można sądzić, bezpośrednią przyczyną zamierania patogenu w produkcie fermentowanym było oddziaływanie szczepu probiotycznego *L. casei* Łock 0900. Może być kilka przyczyn tego zjawiska. Bakterie LAB zapewniają ochronę przed wzrostem gronkowca złocistego poprzez aktywność antagonistyczną ich metabo-

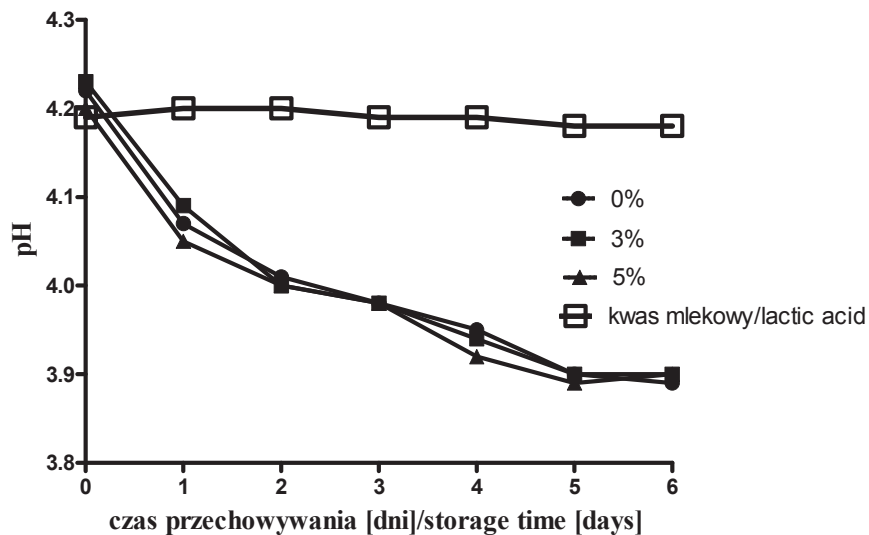
litów, konkurowanie o składniki odżywcze oraz powodowanie zmian środowiska niekorzystnych dla tego patogenu. Jednak jako podstawowy czynnik hamowania mikroflory patogennej przez bakterie LAB podaje się obniżanie pH produktu, wskutek produkcji kwasów organicznych [10, 12].

Zamieranie szczepu *S. aureus* bezpośrednio w żywności, spowodowane obecnością bakterii fermentacji mlekowej, wykazali m.in. Anas i wsp. [5]. Autorzy stwierdzili, że szczep należący do gatunku *L. plantarum* wykazał zdolność do ograniczania wzrostu *S. aureus* w odtłuszczonym mleku i spowodował redukcję liczby komórek *S. aureus* o ok. 2 rzędy logarytmiczne w ciągu 24 h, natomiast brak patogenu stwierdzono już w 3. dniu badania. W innych badaniach, dotyczących wpływu LAB na różne patogeny w żywności, potwierdzono ich antybakteryjne właściwości. Wykazano je wobec takich patogenów, jak: *Salmonella*, *Campylobacter*, *Yersinia*, *E. coli*, *Shigella*, *Vibrio* spp., *L. monocytogenes*, *B. cereus*, *Cl. perfringens*. Wyniki uzyskane przez różnych badaczy trudno jest ze sobą porównać, gdyż nie istnieje żaden standard przeprowadzania tego typu badań. W niektórych doświadczeniach stwierdzono tylko zahamowanie wzrostu patogenów, zaś w innych bakterie LAB oddziaływały bakteriobójczo lub też nie stwierdzono jakichkolwiek interakcji [2, 14].

Podczas przechowywania fermentowanych produktów co 24 h mierzono ich kwasowość czynną. Dowiedziono, że w każdym z trzech składowanych napojów fermentowanych pH ulegało systematycznemu obniżaniu (rys. 3). Wykazano silną zależność pomiędzy czasem przechowywania a wartościami pH ($r = -0,92$ do $r = -0,94$). Równocześnie stwierdzono brak statystycznie istotnych ($p < 0,05$) różnic pomiędzy średnimi wartościami pH, co świadczy o braku wpływu stężenia prebiotyku na zmianę wartości tego wskaźnika.

W niniejszej pracy określono również liczbę komórek szczepu probiotycznego bezpośrednio po fermentacji produktów oraz w ostatnim dniu badania. Stwierdzono nieznaczne zmniejszenie liczby komórek *L. casei* Łock 0900 we wszystkich produktach, niezależnie od stężenia oligofruktozy, ale jedynie o niecałe pół rzędu logarytmicznego (z 8,95 log jtk/ml do 8,63 log jtk/ml). Uzyskane wyniki świadczą o dobrej przeżywalności szczepu probiotycznego w badanym produkcie, niezależnie od stężenia prebiotyku i prowadzenia procesu fermentacji do końca trwania doświadczenia, co potwierdzają wyniki kwasowości czynnej (rys. 3).

W przedstawionych badaniach nie stwierdzono wpływu dodatku oligofruktozy na przeżywalność szczepu *S. aureus* w produkcie fermentowanym. Analiza wyników zmiany pH produktów oraz wyników dotyczących liczby bakterii szczepu probiotycznego pozwala stwierdzić, że oligofruktoza nie wpłynęła na intensyfikację fermentacji oraz wzrostu liczby komórek probiotyku w produktach. Wiele badań potwierdza korzystne działanie prebiotyków na wzrost i aktywność przeciwbakteryjną LAB, jednak



Rys. 3. Krzywe zmian pH produktu niefermentowanego z dodatkiem kwasu mlekowego oraz produktów fermentowanych różniących się dodatkiem oligofruktozy (0, 3 i 5 %), podczas przechowywania w temp. 15°C

Fig. 3. Curves of changes in pH of unfermented product with lactic acid added and in fermented products with varying amounts of oligofructose added (0 %, 3 %, 5 %) during storage at temp. of 15°C

często jest to zależne od szczepu probiotycznego czy stężenia prebiotyku. Zastosowanie prebiotyku (FOS) w celu zahamowania wzrostu patogenów badali m.in. Lim i wsp. [13]. Autorzy wykazali że dodatek prebiotyku wzmacnia działanie szczepów *Lactobacillus acidophilus* i *Lactobacillus paracasei* przeciwko szczepom *Staphylococcus aureus* i *Listeria monocytogenes*. Jednak w większości przypadków zwiększenie dodatku oligofruktozy z 1 do 2 % nie powodowało dalszej intensyfikacji tego zjawiska. Autorzy nie stwierdzili także znaczących różnic pod względem wzrostu biomasy tych szczepów podczas inkubacji w bulionie MRS o różnym stężeniu prebiotyku (0, 1 i 2 %). Dodatni wpływ fruktooligosacharydów na produkcję biomasy oraz kwasu mlekowego nie jest oczywiste, na co wskazują Munoz i wsp. [15]. Autorzy ci zaobserwowali, że wzrost poziomu prebiotyku oddziaływał niejednakowo na różne szczepy należące do rodzaju *Lactobacillus*. W niektórych przypadkach stwierdzono wzrost liczby żywych komórek bakterii przy zwiększaniu stężenia FOS, zaś w innych wykazano odwrotną zależność. Podobne wyniki uzyskali w stosunku do ilości wytwarzanego kwasu mlekowego. Ponadto niektóre szczepy namnażały się intensywniej w produkcie zawierającym 2 % oligofruktozy niż w produkcie z 5-procentową zawartością FOS. Powyższe wyniki świadczą więc o tym, że istnieje możliwość zwiększenia działania antagonistycznego LAB poprzez dodatek prebiotyku. Nie bez znaczenia jest jednak

rodzaj użytego prebiotyku oraz zastosowana matryca, a różne wykorzystanie prebiotyku można tłumaczyć uwarunkowaniami szczepowymi. W niniejszych badaniach stymulujący wpływ oligofruktozy na liczbę LAB mógłby być bardziej widoczny, gdyby podłoże było mniej zasobne w węglowodany. Można przypuszczać, że szczep *L. casei* Łock 0900 fermentował zawartą w produkcie laktozę, sacharozę oraz inne cukry proste wchodzące w skład zarówno mleka, jak i nektaru bananowego użytych do przygotowania napoju fermentowanego. Przy tak bogatym w węglowodany podłożu, dodatek oligofruktozy nie wpłynął już znacząco na fermentację, obniżenie pH i wzrost biomasy szczepu probiotycznego.

Przeżywalność szczepu *S. aureus* ATCC 25923 została zbadana także w napoju bananowo-mlecznym niefermentowanym, do którego dodano roztwór kwasu mlekowego. Celem tego badania było sprawdzenie, czy czynnikiem hamującym wzrost był tylko kwas mlekowy produkowany przez szczep probiotyczny (bakterie należące do gatunku *Lactobacillus casei* są homofermentatywne, co oznacza, że podczas fermentacji wytwarzają głównie kwas mlekowy), czy też inne metabolity uwalniane przez ten szczep do produktu. W tym celu do napoju niefermentowanego dodany został kwas mlekowy w takiej ilości, aby jego pH miało taką samą wartość jak pH produktu probiotycznego po fermentacji. Przez cały okres trwania doświadczenia kwasowość czynna utrzymywała się na zbliżonym poziomie – pH = 4,2 (rys. 3).

Liczba komórek szczepu *S. aureus* w napoju niefermentowanym z dodatkiem kwasu mlekowego została zredukowana o ok. 2 rzędy logarytmiczne (z 3,06 log jtk/ml do 1,24 log jtk/ml) (rys. 1). Wykazano silną zależność pomiędzy liczbą komórek badanego szczepu gronkowca a czasem przechowywania. Wyniki przeżywalności badanego patogenu w produkcie z dodatkiem kwasu mlekowego oraz probiotycznym poddano analizie wariancji. Wykazano brak statystycznie istotnych różnic ($p < 0,05$) pomiędzy średnimi wartościami przeżywalności bakterii w obu produktach.

Podobne wyniki uzyskali inni autorzy. Alomar i wsp. [3] stwierdzili, że bakterie LAB ograniczały wzrost *S. aureus* w mleku tylko w wyniku wytworzonych kwasów organicznych. Charlier i wsp. [7] również potwierdzili, że zakwaszenie mleka kwasem mlekowym do pH 4,4 - 4,5 całkowicie hamuje wzrost, a wartości pH poniżej 4,0 są letalne dla szczepów należących do gatunku *S. aureus*. Można więc stwierdzić, że główną przyczyną redukcji liczby żywych komórek szczepu *S. aureus* było znaczne obniżenie pH produktu.

Przeciwbakteryjny wpływ związków innych niż kwas mlekowy stwierdzono natomiast w badaniach innych autorów. Guessas i wsp. [9] zaobserwowali, że 96 szczepów LAB, wyizolowanych z 12 próbek koziego i owczego surowego mleka, wykazywało właściwości antagonistyczne w stosunku do szczepu *S. aureus* podczas wspólnej inkubacji w sterylizowanym mleku. W większości było to spowodowane obniżeniem pH produktu, jednak w przypadku dwóch szczepów alkalizowany supernatant uzyska-

ny przez odwirowanie kultury bakteryjnej wykazywał właściwości hamujące wzrost *S. aureus*, co sugeruje wpływ innych substancji aniżeli kwasy organiczne. Sip i wsp. [16] wykazali wpływ innych związków o aktywności przeciw bakteriom z rodzaju *Listeria*, ale tylko w przypadku 2,5 % przebadanych szczepów. Na podstawie analizy genomu dowiedziono, że szczepy te posiadały geny odpowiedzialne za produkcję bakteriocyn. Białka te są bakteriobójcze tylko wobec niektórych rodzajów i gatunków bakterii. Bardzo często charakteryzują się one wąskim spektrum oddziaływania [12]. W niniejszych badaniach przeżywalność szczepu *S. aureus* nie różniła się w produkcie probiotycznym i z dodatkiem kwasu mlekowego, co może wskazywać na brak bakteriocynogenności zastosowanego szczepu probiotycznego. Wymaga to jednak potwierdzenia odpowiednimi badaniami genetycznymi.

Wnioski

1. Liczba komórek szczepu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 w probiotycznym i synbiotycznych produktach fermentowanych została zredukowana w ciągu 6 dni o dwa rzędy logarytmiczne, niezależnie od dodatku prebiotyku.
2. Liczba komórek szczepu *L. casei* Łock 0900 podczas 21 dni przechowywania produktów fermentowanych uległa nieznacznej redukcji w każdym z nich, o niecałe 0,5 rzędu logarytmicznego, niezależnie od dodatku prebiotyku.
3. Wartość pH wszystkich produktów fermentowanych, zarówno bez dodatku oligofruktozy, jak i z jej udziałem, uległa obniżeniu z ok. 4,20 do ok. 3,90, natomiast pH napoju niefermentowanego, do którego dodany został kwas mlekowy, nie zmieniało się podczas przechowywania i wynosiło średnio 4,19.
4. Szczep probiotyczny *L. casei* Łock 0900 podczas przechowywania stworzył warunki letalne dla szczepu *S. aureus* ATCC 25923, w porównaniu z warunkami panującymi w produkcie niefermentowanym. Redukcja liczby komórek patogenu nie była prawdopodobnie spowodowana obecnością innych metabolitów niż kwas mlekowy.

Literatura

- [1] Adam J.K., Odhav B., Naidu K.S.B.: Probiotics: recent understandings and biomedical applications. *Curr. Trends Biotechnol. Pharmacy*, 2012, **1** (6), 1-14.
- [2] Adams M.R., Nicolaides L.: Review of the sensitivity of different foodborne pathogens to fermentation. *Food Control*, 1997, **5/6** (8), 227-239.
- [3] Alomar J., Loubiere P., Delbes C., Nouaille S., Montel M.C.: Effect of *Lactococcus garvieae*, *Lactococcus lactis* and *Enterococcus faecalis* on the behaviour of *Staphylococcus aureus* in microfiltered milk. *Food Microbiol.*, 2008, **5** (25), 502-508.
- [4] Ammor S., Tauveron G., Dufour E., Chevallier I.: Antibacterial activity of lactic acid bacteria against spoilage and pathogenic bacteria isolated from the same meat small-scale facility – screening and characterization of the antibacterial compounds. *Food Control*, 2006, **4** (17), 454-461.
- [5] Anas M., Eddine H.J., Kihal M.: Antimicrobial activity of *Lactobacillus* species isolated from Algerian raw Goat's milk against *Staphylococcus aureus*. *World J. Dairy Food Sci.*, 2009, **2** (3), 39-49.

- [6] Champagne C.P.: Some Technological Challenges in the Addition of Probiotic Bacteria to Foods. In: Prebiotics and Probiotics. Science and Technology. Eds. D. Charalampopoulos, R.A. Rastal. Springer Science+Business Media LLC, New York 2009, pp. 591-637.
- [7] Charlier C., Cretenet M., Even S., Le Loir Y.: Interactions between *Staphylococcus aureus* and lactic acid bacteria: An old story with new perspectives. Int. J. Food Microbiol., 2009, **11 (131)**, 30-39.
- [8] Del Piano M., Morelli L., Strozzi G.P., Allesina S., Barba M., Deidda F., Lorenzini P., Ballare M., Montino F., Orsello M., Sartori M., Garello E., Carmagnola S., Pagliarulo M., Capurso L.: Probiotics: from research to consumer. Digest. Liver Dis., 2006, **4 (38)**, 248-255.
- [9] Guessas B., Hadadji M., Saidi N., Kihal M.: Inhibition of *Staphylococcus aureus* growth by lactic acid bacteria in milk. African Crop Science Conference Proceedings, 2007, **8**, 1159-1163.
- [10] Jay J.M., Loessner M.J., Golden D.A.: Modern Food Microbiology. Springer Science+Business Media LLC, New York 2005.
- [11] Kneifel W., Mettina-Sandholm T., Wright A.: Probiotic Bacteria. In: Encyclopedia of Food Microbiology. Ed. R.K. Robinson. Academic Press, London 2000, pp. 1783-1789.
- [12] Leroy F., Vuyst L.: Lactic acid bacteria as functional starter cultures for the food fermentation industry. Trends Food Sci. Technol., 2004, **15**, 67-78.
- [13] Lim S., Jeong K., Lee N., Park S., Ahn D.: Synergy effects by combination with lactic acid bacteria and fructooligosaccharides on the cell growth and antimicrobial activity. Food Sci. Biotechnol., 2011, **5 (20)**, 1389-1397.
- [14] Mensah P.: Fermentation-the key to food safety assurance in Africa. Food Control, 1997, **5/6 (8)**, 271-278.
- [15] Munoz M., Mosquera A., Almeciga-Diaz C.J., Melendez A.P., Sanchez O.F.: Fructooligosaccharides metabolism and effect on bacteriocin production in *Lactobacillus* strains isolated from ensiled corn and molasses. Anaerobe, 2012, **18**, 321-330.
- [16] Sip A., Więckowicz M., Olejnik-Schmidt A., Grajek W.: Anti-*Listeria* activity of lactic acid bacteria isolated from golka, a regional cheese produced in Poland. Food Control, 2012, **26**, 117-124.

SURVIVAL OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ATCC 25923 STRAIN IN PROBIOTIC AND SYNBIOTIC FERMENTED BANANA-MILK DRINK DURING STORAGE

S u m m a r y

The objective of the research study was to determine the survival of *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 strain in banana-milk drink fermented using *Lactobacillus casei* Lock 0900 strain, during its storage at a temperature of 15 °C. Moreover, the effect was investigated of the addition of prebiotic (oligofructose), its concentration rate being 3 and 5 %, on the survival of the pathogen. An unfermented drink (neither probiotic nor prebiotic were added) was a control sample. Furthermore, the survival of *S. aureus* strain was determined in a product that contained no probiotic, but its pH value was similar to that of the probiotic drink after fermentation.

It was found that the conditions in the fermented probiotic product were lethal for the *S. aureus* strain. During a 6 day period of analysis, the amount of living cells of the pathogen was reduced by 2 logarithmic orders. On the other hand, it was reported that the addition of oligofructose had no effect on the reduction in the living cells of that pathogen. In the unfermented product, during a 21-day period, the amount of *S. aureus* cells increased by 6 logarithmic orders. Regardless of the oligofructose concentration, a significant decrease was reported in the pH value of the product: from 5.02 (prior to fermentation) to 3.9 (on the last day of the analysis). The results of the control analysis show that the metabolites other than lactic acid have no impact on the dying of *S. aureus* strain.

Key words: *Staphylococcus aureus*, probiotics, oligofructose, fermented milk drink ☒