

JAGODA O. SZAFRAŃSKA, MAGDALENA POLAK-BERECKA

PLANTARYCYNY – BIOSYNTeza, MECHANIZM DZIAŁANIA I POTENCJAŁ W ZAPEWNIANIU BEZPIECZEŃSTWA ŻYWNOŚCI

Streszczenie

Scharakteryzowano właściwości, strukturę oraz spektrum aktywności plantarycyn wytwarzanych przez niektóre szczepy *Lactobacillus*. Przedstawiono ich klasyfikację, mechanizm biosyntezy, modele działania na inne bakterie oraz stabilność. Plantarycyny są dość różnorodne pod względem właściwości fizykochemicznych, struktury i spektrum aktywności przeciwdrobnoustrojowej.

Szczepy *Lactobacillus plantarum* zdolne do syntezy plantarycyn należą do mikroorganizmów najczęściej obecnych w fermentowanych produktach spożywczych, a także w napojach i innych wyrobach z dodatkiem mleka. Budowa cząsteczek, ich stabilność oraz mechanizm działania sprawiają, że plantarycyny charakteryzują się skutecznym działaniem bakteriobójczym. Ze względu na niewielką oporność organizmów patogennych na te substancje mogą być one alternatywą dla wielu stosowanych obecnie związków o działaniu przeciwdrobnoustrojowym. Plantarycyny wpływają na zahamowanie wzrostu drobnoustrojów chorobotwórczych, a w konsekwencji na poprawę zdrowia człowieka. Z uwagi na coraz większe zainteresowanie produktami naturalnymi plantarycyny mogą w przyszłości znaleźć zastosowanie w różnych gałęziach przemysłu. Wyniki badań dotyczące ich wykorzystania mogą stać się podstawą do projektowania efektywnych preparatów probiotycznych, kultur starterowych do produkcji fermentowanej żywności czy nowych metod zabezpieczania żywności, co w konsekwencji wpłynie na poprawę zdrowia i jakości życia człowieka.

Słowa kluczowe: plantarycyny, bezpieczeństwo żywności, *Lactobacillus plantarum*, operon plantarycyny

Wprowadzenie

Bakterie należące do gatunku *Lactobacillus plantarum* zasiedlają różnorodne nisze ekologiczne. Występują m.in. w mięsie, nabiale, warzywach oraz w produktach fermentowanych różnego pochodzenia, takich jak: ogórki, oliwki, sorgo, piwo, jęczmień, melasa, kefir oraz amasi (fermentowane mleko o smaku twarożku lub jogurtu

Mgr inż. J. O. Szafrąńska, Katedra Technologii Surowców Pochodzenia Zwierzęcego, Zakład Technologii Mleka i Hydrokoloidów, dr hab. M. Polak-Berecka, prof. UP, Katedra Biotechnologii, Mikrobiologii i Żywnienia Człowieka, Wydz. Nauk o Żywności i Biotechnologii, Uniwersytet Przyrodniczy w Lublinie, ul. Skromna 8, 20-704 Lublin. Kontakt: magdalena.polak-berecka@up.lublin.pl

naturalnego). Istotnym środowiskiem bytowania tego gatunku jest również układ pokarmowy człowieka. Bakterie *Lb. plantarum* są zdolne do syntezy większości aminokwasów *de novo* [10]. Fermentacja pentoz (ksylozy i rybozy) prowadzi do powstania pirogronianu i acetylofosforanu, a następnie konwersji tych związków do mleczanu i octanu. Z kolei heksozy (glukoza, fruktoza, mannoza) są przekształcane w mleczan, ditlenek węgla i etanol [10].

Niektóre szczepy bakterii w konkurencji z innymi drobnoustrojami o niszę ekologiczną wykorzystują zdolność wytwarzania związków przeciwdrobnoustrojowych, w szczególności bakteriocyn, czyli bakteriobójczych peptydów, syntetyzowanych rybosomalnie, o działaniu hamującym na różne grupy niepożądanych mikroorganizmów [24]. Zdolność taką wykazuje wiele szczepów z gatunku *Lb. plantarum*, produkujących substancje zwane plantarycynami. Związki te są syntetyzowane na rybosomach i mogą hamować wzrost zarówno gatunków pokrewnych, jak i odległych filogenetycznie [27].

Według ogólnej klasyfikacji plantarycyny w większości zalicza się do klasy II bakteriocyn. Są to nielantybiotyki, czyli białka termostabilne o masie poniżej $10 \cdot 10^3$ Da. Część poznanych plantarycyn to bakteriocyny dwupeptydowe. Zalicza się je do podklasy IIb. Ich aktywność zależy od komplementarnego działania dwóch peptydów. Przykładami takich bakteriocyn są plantarycyna JK oraz plantarycyna EF wytwarzane przez *Lb. plantarum* C11 [31]. Pozostałe szczepy z gatunku *Lb. plantarum* wytwarzają bakteriocyny, których aktywność nie zależy od obecności dwóch peptydów. Należące do klasy IIa działają podobnie do pediocyny. Przykładem jest plantarycyna BM-1 produkowana przez *Lb. plantarum* BM-1, szczep wyizolowany z tradycyjnie fermentowanego mięsa [46]. Dodatkowo niektóre z nich mogą być zaliczane do klasy I bakteriocyn znanych jako lantybiotyki, czyli policykliczne peptydy o masie cząsteczkowej mniejszej niż $5 \cdot 10^3$ Da, np. plantarycyna C wytwarzana przez *Lb. plantarum* LL441 [42].

Biosynteza

Geny odpowiedzialne za biosyntezę bakteriocyn mogą być zlokalizowane na chromosomie bakteryjnym lub plazmidach. Zdolność do syntezy związków przeciwdrobnoustrojowych może w przypadku niektórych szczepów być cechą niestabilną, wskazującą na istnienie mechanizmów regulacyjnych [27]. Spośród różnych systemów opisujących sposób produkcji bakteriocyn przez szczepy *Lb. plantarum* [11, 22, 32] najlepiej poznany i opisany został regulon szczepu *Lb. plantarum* C11. Składa się on z pięciu operonów. Pierwszy z nich, regulatorowy, koduje peptyd indukcyjny (PInA). Peptydy indukcyjne PP (ang. *peptide pheromones*) przemieszczają się dzięki ABC-transporterom. Wszystkie należące do klasy II bakteriocyny są wytwarzane z prekursora N-terminalnego. Proces ten jest jednakowy dla wszystkich bakteriocyn [23]. Drugi operon składa się z histydynowej kinazy białkowej (PInB) oraz dwóch regulatorów

odpowiedzi (PlnC i PlnD) [20; 23]. Białko regulacji odpowiedzi RR (ang. *response regulator protein*) jest ostatnim elementem szlaku sygnałowego biosyntezy bakteriocyn. Ufosforylowane białko RR wiąże się do promotorów regulatorowych i aktywuje transkrypcję genów biorących udział w syntezie bakteriocyny [23]. Operony plnEFI i plnJKLR kodują dwupeptydowe bakteriocyny: PlnEF i PlnJK oraz odpowiadające im białka odporności. Operon plnMNOP zawiera takie geny, jak plnN, o nieznanym funkcjach związanych z syntezą bakteriocyny. Ostatni operon plnGHSTUVWXY koduje białka układu transportowego ABC, który wydziela i przetwarza prekursor bakteriocyny. Peptyd PlnA indukuje transkrypcję tych pięciu operonów [12].

Podobną strukturę i sekwencję genu *pln* odkryto u *Lb. plantarum* WCFS1, który został wyizolowany z ludzkiej śliny [21]. Natomiast inną organizację locus *pln* opisano w przypadku szczepu *Lb. plantarum* NC8 wytwarzającego indukowalną dwupeptydową plantarycinę NC8 β a, której operon regulatorowy obejmuje peptyd indukujący PlnC8IF, histydynową kinazę białkową PlnC8HK i regulator odpowiedzi PlnD [25]. Szczepy *Lb. plantarum* J23 i J51 wykazują pewne wspólne cechy z *Lb. plantarum* C11 i NC8, ale odkryto u nich nowe regiony, obejmujące nieznane wcześniej ramki odczytu (orfs) [37].

Mechanizm działania

W zależności od wielkości cząsteczki oraz budowy chemicznej plantarycyny mogą charakteryzować się różnymi mechanizmami działania na mikroorganizmy patogene (tab. 1).

Przeciwbakteryjne działanie plantarycyn należących do podklasy IIb polega na hamowaniu biosyntezy kwasów nukleinowych, białek oraz ściany komórkowej poprzez oddziaływania elektrostatyczne z błoną komórkową i/lub tworzenie specyficznych wiązań ze składnikami błony komórkowej. Inny mechanizm działania na komórki bakterii polega na perforacji błony komórkowej, co w konsekwencji powoduje wyciek jonów i substancji niskocząsteczkowych, zaburza równowagę osmotyczną i skutkuje śmiercią komórki. Aby lepiej wytłumaczyć mechanizmy związane z tym sposobem oddziaływania zaproponowano ich opis według modelu dywanowego (*barrel-stave*) i modelu klinowego [44]. Model opisujący tworzenie porów w błonie cytoplazmatycznej *barrel-stave* powiązano z aktywnością bakteriocyn należących do klasy IIb. Komplementarne działanie tych związków powoduje, że łączą się, tworząc kompleks między jednym lub dwoma peptydami amfifilowymi, co wpływa na ich oligomeryzację oraz na tworzenie porów w membranie i kanałów jonowych [36]. Model dywanowy opisuje działanie pojedynczych peptydów, które mogą być zorientowane równolegle do powierzchni membrany i zakłócać organizację dwuwarstwową błony bez tworzenia agregatu peptydowego. Gdy we wzajemnym sąsiedztwie znajduje się wystarczająco

dużo peptydów, membrana tymczasowo zapada się z powodu silnej aktywności mobilizującej fosfolipidów, która powoduje lokalną i przejściową przenikalność [28].

Tabela 1. Zakres aktywności przeciwdrobnoustrojowej bakteriocyn wytwarzanych przez szczepy *Lactobacillus plantarum*

Table 1. Range of antimicrobial activity of bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* strains

Szczep Strain	Plantarycyna Plantaricin	Gatunki wrażliwe Sensitive species	Lit. Ref.
<i>Lb. plantarum</i> MBSa4	Dwa rodzaje Two types MBSa4	<i>Listeria monocytogenes</i>	[6]
<i>Lb. plantarum</i> KL-1	KL-1Y	<i>Salmonella</i> Enteritidis DMST 17368, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 15442, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 9027, <i>Escherichia coli</i> O157:H7 oraz <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739	[35]
<i>Lb. plantarum</i> ST8SH	ST8SH	<i>Enterococcus</i> spp., <i>Klebsiella pneumoniae</i> , <i>Listeria</i> spp., <i>Streptococcus</i> spp.	[40]
<i>Lb. plantarum</i> B391	B391	<i>Enterococcus faecalis</i> NCTC 775, <i>Clostridium perfringens</i> NCTC 13170, <i>Listeria monocytogenes</i>	[14]
<i>Lb. plantarum</i> LPC010	S i T	<i>Lactobacillus</i> spp., <i>Leuconostoc</i> spp., <i>Pediococcus</i> spp., <i>Micrococcus</i> spp., <i>Streptococcus thermophilus</i> , <i>Clostridium tyrobutyricum</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Propionibacterium</i> spp.	[19]
<i>Lb. plantarum</i> BM-1	BM-1	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella</i> spp.	[46]
<i>Lb. plantarum</i> 8P-A3	EFi NC8	<i>Streptococcus agalactiae</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i>	[41]
<i>Lb. plantarum</i> PMU 33	W	Niektóre szczepy / Some strains: <i>Bacillus coagulans</i> , <i>Bacillus cereus</i> , <i>Bacillus subtilis</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> supsp <i>sakei</i> JCM 1157, <i>Lactobacillus curvatus</i> ATCC 25601, <i>Leuconostoc mesenteroides</i> ATCC 10830, <i>Listeria innocua</i> IFRPD 2071, <i>Micrococcus luteus</i> TISTR 884, <i>Pediococcus acidilactici</i> ATCC 8081, <i>Pediococcus pentosaceus</i> TISTR 374, <i>Propionibacterium freudenreichii</i> TISTR 446, <i>Staphylococcus aureus</i>	[30]
<i>Lb. plantarum</i> LL441	C	<i>Lactobacillus fermentum</i> LMG 13554, <i>Lactobacillus sakei</i> CECT 906	[16]
<i>Lb. plantarum</i> C19	C19	<i>Listeria grayi</i> IP 6818	[3]
<i>Lb. plantarum</i> 432	423	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Clostridium sporogenes</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Listeria</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp.	[43]
<i>Lb. plantarum</i> C11	EF i JK	<i>Pediococcus pentosaceus</i> Pac 1.0, <i>Pediococcus pentosaceus</i> NCDO 990, <i>Pediococcus acidilactici</i> CH, <i>Lactobacillus plantarum</i> 965, <i>Lactobacillus casei</i> subsp. <i>casei</i> NCDO 161, <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> NCDO 2714, <i>Lactobacillus viridescens</i> NCDO 1655, <i>Lactobacillus plantarum</i> UI50, <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> 706, <i>Lactobacillus curvatus</i> 89, <i>Chryseobacterium piscicola</i> UI49	[2]

<i>Lb. plantarum</i> NC8	NC8	Niektóre szczepy / Some strains: <i>Lactobacillus fermentum</i> , <i>Lactobacillus hilgardii</i> LB76, <i>Lactobacillus pentosus</i> ATCC 8041, <i>Lactobacillus plantarum</i> ATCC 8014, <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> NCFB 2714, <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> CNRZ 485, <i>Pediococcus pentosaceus</i> FBB63	[25; 26]
<i>Lb. plantarum</i> BF001	F	Niektóre bakterie z rodzajów / Some bacteria of the genera: <i>Lactobacillus</i> , <i>Lactococcus</i> , <i>Listeria</i> , <i>Micrococcus</i> , <i>Leuconostoc</i> , <i>Pediococcus</i> , <i>Staphylococcus</i> , <i>Streptococcus</i> , <i>Salmonella</i> i <i>Pseudomonas</i>	[15]
<i>Lb. plantarum</i> TMW1.25	1.25a	Niektóre szczepy / Some strains: <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus coryniformis</i> LMG2308	[34]
<i>Lb. plantarum</i> LPL-1	LPL-1	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Bacillus pumilus</i> , <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> , <i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus delbrueckii</i> , <i>Lactobacillus salivarius</i>	[45]
<i>Lb. plantarum</i> 163	163	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923, <i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 19114, <i>Bacillus pumilus</i> CMCC 63202, <i>Bacillus cereus</i> AS 1.1846, <i>Micrococcus luteus</i> CMCC 28001, <i>Lactobacillus rhamnosus</i> , <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> AS 1.2620, <i>Pseudomonas fluorescens</i> AS 3.6452	[5]
<i>Lb. plantarum</i> A-1	ASM1	<i>Lactobacillus plantarum</i> , <i>Lactobacillus pentosus</i> , <i>Lactobacillus curvatus</i> , <i>Lactobacillus lindneri</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>Enterococcus faecalis</i>	[4]
<i>Lb. plantarum</i> 510	Y	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Lactobacillus sakei</i> subsp. <i>sakei</i> BCRC 14622T, <i>Weissella paramesenteroides</i> BCRC 14006T, <i>Weissella hellenica</i> BCRC 80264T, <i>Weissella minor</i> BCRC 14049T, <i>Weissella viridescens</i> BCRC 11650T, <i>Lactococcus taiwanensis</i> BCRC 80460T, <i>Streptococcus salivarius</i> subsp. <i>thermophilus</i> BCRC 13869T, <i>Bacillus subtilis</i> subsp. <i>subtilis</i> BCRC 10255T	[8]
<i>Lb. plantarum</i> ZJ5	ZJ5	<i>Enterococcus faecalis</i> , <i>Bacillus subtilis</i>	[38]

Do innych mechanizmów działania plantarycyń na komórki bakterii należy rozproszenie potencjału błonowego i zmniejszenie wewnątrzkomórkowego stężenia adenylozotryfosforanu (ATP). Aktywność peptydów bakteriocyń klasy IIB jest dość niska, gdy działają indywidualnie [6]. Przykładem mogą być wytwarzane przez szczep *Lb. plantarum* C11 plantarycyny E i F należące do dwupeptydowych bakteriocyń. Ich działanie polega na wiązaniu się z określonym białkiem błonowym (receptorem plantarycyny). Interakcja między plantarycyną a białkiem receptorowym prowadzi do perforacji błony komórkowej i zwiększenia jej przepuszczalności względem małych cząstek, co w efekcie prowadzi do śmierci komórki [29].

Stabilność

Na stabilność oraz związaną z nią aktywność bakteriocyń wpływ ma wiele czynników, np. temperatura, pH, stopień oczyszczenia oraz obecność składników ochronnych w środowisku [18]. Większość bakteriocyń o niskiej masie cząsteczkowej, jak

plantarycyny, przy pH 7 przejawia charakter kationowy i wykazuje większą aktywność przeciwdrobnoustrojową przy niskim pH. Innymi czynnikami, które mogą wpływać na spektrum aktywności plantarycyn są enzymy proteolityczne, sole i detergenty oraz skład aminokwasowy cząsteczki plantarycyny [39].

W badaniach nad dwupeptydową plantarycyną wytwarzaną przez *Lb. plantarum* MBSa4 wykazano, że aktywność utrzymywała się w zakresie 4 ÷ 100 °C. Dodatkowo stwierdzono, że plantarycyna pozostawała aktywna przez 15 min w temp. 121 °C oraz w zakresie pH 2 ÷ 6. Natomiast w środowisku o pH 8 część aktywności została utraczona, zaś kompletna inaktywacja była zauważalna przy pH 10 [7]. Rumjuankiat i wsp. [35] badali trzy plantarycyny: KL-1X, KL-1Y oraz KL-1Z wytwarzane przez *Lb. plantarum* KL-1 i wykazali, że bakteriocyny te zachowywały stabilność w środowisku o pH 2 ÷ 6 oraz cechowały się odpornością na endoproteinazę Glu-C, natomiast były wrażliwe na proteazę typu XIII i pepsynę. Zarówno plantarycyna KL-1R, jak i KL-1Z były całkowicie inaktywowane przez trypsynę, α -chymotrypsynę, proteazy typu XIII, pepsynę i aktynazy E, ale tylko plantarycyna KL-1Z była wrażliwa na proteinazę K [35]. Gwiazdowska i Trojanowska [18] potwierdziły, że na stabilność plantarycyn wpływ mają także takie związki, jak rozpuszczalniki organiczne, surfaktanty czy czynniki redukujące [18].

Dzięki wysokiej termostabilności plantarycyn oraz aktywności w szerokim zakresie pH można rozważać wykorzystanie tych związków w procesach produkcyjnych żywności związanych z obróbką termiczną.

Mechanizmy oporności

Mechanizmy komórkowe oporności na bakteriocyny można zaliczyć do oporności nabytej, która rozwinęła się u szczepów wcześniej wrażliwych i oporności wrodzonej, która jest charakterystyczna tylko dla określonych rodzajów lub gatunków bakterii.

Do tej pory w literaturze naukowej opisano tylko kilka szczepów bakterii, które rozwinęły oporność na plantarycyny, jak np. *L. monocytogenes* ATTC15313 na plantarycynę C19 [33]. Wykazano, że mutanty *L. monocytogenes* ATTC15313 odporne na jedną z trzech badanych bakteriocyn klasy II – mesenterocynę 52B (IIc), kurwacynę 13 (IIa) i plantarycynę C19 (IIa) – wykazywały pewien stopień oporności krzyżowej na dwie pozostałe. Związane jest to ze stosowaniem dwóch lub większej liczby różnych rodzajów plantarycyn, o różnych mechanizmach działania, co w konsekwencji może wpływać na zmniejszenie oporności na plantarycynę wśród organizmów patogennych [8].

W 2017 roku prowadzono badania dotyczące oporności szczepu *W. viridescens* NCFB 1655 na plantarycynę JK. Stwierdzono, że oporność na plantarycynę jest wynikiem mutacji w genie związanym z rodziną białek transporterowych APC (ang. *amino-*

acid-polyamine-organocation). Po pojawieniu się mutacji punktowej w kodonie 377 aminokwasu alaniny mutanty uzyskiwały odporność na działanie bakteriocyny [13].

Poznanie mechanizmów związanych z nabywaniem oporności na plantarycyny jest ważne w celu uzyskania pełnej wiedzy o sposobie działania tych bakteriocyn, a także zapobiegania w przyszłości zjawisku powstawania oporności bakterii patogennych na działanie plantarycyn. W przypadku bakterii kwasu mlekowego (ang. Lactic Acid Bacteria, LAB) geny produkcji plantarycyny i geny odporności są na ogół blisko zlokalizowane lub ściśle powiązane ze sobą. Natomiast u *Lb. plantarum* LPCO10, który wytwarza dwa rodzaje plantarycyn S i T, te dwie cechy można rozdzielić. Jiménez-Díaz i wsp. [19] wykazali niezależność fenotypów Bac⁺ i Bac^f u tego szczepu, co może być wykorzystane do konstruowania szczepów odpornych na plantarycynę [19].

Wykorzystanie bakteriocyn wytwarzanych przez szczepy *Lb. plantarum*

Produkcja żywności

Coraz większe zainteresowanie konsumentów naturalnymi produktami spożywczymi spowodowało, że badacze z całego świata chętniej testują możliwość zastosowania plantarycyn jako naturalnych konserwantów żywności [1]. Zhang i wsp. [48] wykazali, że plantarycyna wytwarzana przez szczep *Lb. plantarum* TK9 wyizolowany z naturalnie fermentowanej owsianki ryżowej, zwanej congee, działa hamująco na wzrost większości gatunków powodujących psucie się żywności, takich jak: *Penicillium roqueforti*, *P. citrinum*, *P. oxalicum*, *Aspergillus fumigatus*, *A. flavus* oraz *Rhizopus nigricans*. Stwierdzili także, że plantarycyny mogą przedłużyć okres trwałości żywności nawet do 72 ÷ 96 h [48]. Todorov i wsp. [40] analizowali bakteriobójczą aktywność plantarycyny ST8SH wytwarzanej przez szczep *Lb. plantarum* ST8SH i działającej hamująco na wzrost *Enterococcus* spp., *Klebsiella pneumoniae*, *Listeria* spp., *Streptococcus* spp. oraz niektórych bakterii patogennych powodujących choroby u ludzi. Z kolei Fernandes i wsp. [14] stwierdzili szerokie spektrum działania plantarycyny B391 w szczególności przeciwko wielu szczepom z rodzaju *Listeria* spp., *E. faecalis* oraz *Cl. perfringens*. Takie spektrum aktywności przeciwdrobnoustrojowej umożliwia zastosowanie plantarycyny B391 jako związku zapewniającego bezpieczeństwo biologiczne żywności, w szczególności w przemyśle mleczarskim, poprzez ograniczenie wzrostu i rozwoju *L. monocytogenes* w mleku przez długi okres [14].

Szczepy *Lb. plantarum* wytwarzające plantarycyny są wykorzystywane jako kultury starterowe w produkcji fermentowanych produktów spożywczych. Starterami nazywa się odpowiednio wyselekcjonowane drobnoustroje, które dodane do żywności mają na celu poprawę smaku i wyglądu produktu końcowego. Szczep *Lb. plantarum* 423 wytwarzający plantarycynę oraz *Lb. curvatus* DF126 syntetyzujący kurwacynę

zostały wraz z *Micrococcus* spp. MC50 połączone w kulturę starterową. Taka kokultura bakterii skutecznie hamowała wzrost *L. monocytogenes* w salami. Szczep *Lb. plantarum* 423 jest uważany za cenny składnik kultur starterowych w produkcji salami z różnych rodzajów mięsa. Wyniki badań wskazują, że wpływa na poprawę cech sensorycznych produktu [13].

Penteado i wsp. [cyt. za 9] wykazali, że szczepy *Lb. plantarum* wykorzystywane do produkcji kiszonki trawy mombaça dzięki swojej aktywności wpływały na poprawę intensywności fermentacji oraz sprzyjały rozwojowi innych dobroczynnych bakterii mlekowych.

Plantarycyny mogą być również wykorzystane jako czynnik aktywny wchodzący w skład bioaktywnych opakowań. Ten typ opakowań może chronić żywność nie tylko przed zanieczyszczeniami zewnętrznymi, ale także, dzięki obecności bakteriocyn wbudowanych w strukturę opakowania danego produktu spożywczego, osłaniać go przed psuciem, które zazwyczaj zaczyna się od wewnątrz. Istnieje kilka sposobów przygotowania foliowych opakowań zawierających omawiane substancje. Jednym z nich jest wprowadzenie plantarycyny bezpośrednio do polimerów poprzez prasę cieplną. Inna metoda polega na opłaszczeniu lub adsorpcji plantarycyn do powierzchni polimeru. Stopniowe uwalnianie substancji z opakowania na powierzchnię żywności jest skuteczniejsze od innych metod, np. rozpylania czy zanurzania produktu w samej bakteriocynie [18]. Zhang i wsp. [47] opracowali i scharakteryzowali biologicznie konserwujące folie polietylenowe (PE) zawierające plantarycynę BM-1 wytwarzaną przez *Lb. plantarum* BM-1. Wykazali, że PE o niskiej gęstości (LDPE) i opakowania foliowe o dużej gęstości PE (HDPE) namoczone w roztworze plantarycyny BM-1 wykazywały działanie przeciwdrobnoustrojowe przeciwko *L. monocytogenes*. Ponadto efekt hamujący wzrost patogenów w przypadku aktywnych opakowań zawierających plantarycynę BM-1 był stabilny co najmniej przez 120 dni w temp. 25 °C.

Zastosowanie w medycynie

Szczepy *Lb. plantarum* wytwarzające plantarycyny są dodawane do leków i suplementów diety mających na celu poprawę zdrowia ludzi. Jednym z takich szczepów jest *Lb. plantarum* 8P-A3, syntetyzujący plantarycynę EF oraz plantarycynę NC8. Pomimo tego, że nie poznano dokładnego mechanizmu działania tego szczepu, na podstawie obserwacji stwierdzono, że działa przeciw bakteriom chorobotwórczym *Streptococcus agalactiae*, *S. pyogenes*, *E. coli*, *P. aeruginosa* czy *Klebsiella pneumoniae* i jest stosowany od 1973 r. jako dodatek do produktów probiotycznych [41]. Z kolei bakteriocyny wytwarzane przez szczep *Lb. plantarum* LD1 działają hamująco na wzrost takich patogennych mikroorganizmów, jak *S. aureus*, *Shigella flexneri*, *P. aeruginosa*, odpowiedzialną za infekcje dróg moczowych i pęcherza. *E. coli* i *Vibrio* spp. [18].

Wykazano, że niektóre plantarycyny, zachowują swoją aktywność nawet w warunkach niskiego pH żołądka [17]. Tego rodzaju biologicznie aktywne związki są szczególnie pożądane i poszukiwane w czasie postępującej antybiotykooporności.

Podsumowanie

Plantarycyny wytwarzane przez różne szczepy *Lb. plantarum* charakteryzują się wysokim potencjałem aktywności przeciwdrobnoustrojowej, hamują wzrost mikroorganizmów powodujących psucie żywności oraz szczepów patogennych. Bakteriocynty te, ze względu na swoje właściwości, są w stanie przedłużać okres trwałości produktów spożywczych i zapobiegać rozwojowi większości gatunków powodujących ich psucie. Dzięki wykorzystaniu nowoczesnych technologii mogą stać się w przyszłości ważnym elementem codziennego życia, np. w postaci produktów spożywczych sprzedawanych w opakowaniach bioaktywnych.

W związku z rosnącym zainteresowaniem konsumentów naturalnymi produktami spożywczymi plantarycyny mogą być potencjalnymi związkami do wykorzystania w produkcji żywności i medycynie. Wyniki badań mogą stać się podstawą do projektowania preparatów probiotycznych sprzyjających poprawie zdrowia, komponowania efektywnych kultur starterowych do produkcji fermentowanej żywności, a także opracowania nowych naturalnych metod ochrony żywności.

Literatura

- [1] Abdulhussain Kareem R., Razavi S.H.: Plantaricin bacteriocins: As safe alternative antimicrobial peptides in food preservation – A review. *J. Food Saf.*, 2019, 40(1), #e12735. DOI: 10.1111/jfs.12735.
- [2] Anderssen E.L., Diep D.B., Nes I.F., Eijsink V.G.H., Nissen-Meyer J.: Antagonistic activity of *Lactobacillus plantarum* C11: Two new two-peptide bacteriocins, plantaricins EF and JK, and the induction factor plantaricin A. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1998, 64 (6), 2269-2272.
- [3] Atrih A., Rekhif N., Moir A.J., Lebrihi A., Lefebvre G.: Mode of action, purification and amino acid sequence of plantaricin C19, an anti-listeria bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* C19. *Int. J. Food Microbiol.*, 2001, 68, 93-104.
- [4] Bactibase: Plantaricin ASM1 [on line]. Dostęp w Internecie [07.02.2020]: <http://bactibase.hammamilab.org/BAC185>
- [5] Bactibase: Plantaricin 161 [on line]. Dostęp w Internecie [07.02.2020]: <http://bactibase.hammamilab.org/BAC225>
- [6] Balciunas E.M., Martinez F.A.C., Todorov S.D., de Melo Franco B.D.G., Converti A., de Souza Oliveira R.P.: Novel biotechnological applications of bacteriocins: A review. *Food Control*, 2013, 32 (1), 134-142.
- [7] Barbosa M.S., Todorov S.D., Ivanova I.V., Belguesmia Y., Choiset Y., Rabesona H., Chobert J.-M., Haertlé T., Franco B.D.G.M.: Characterization of a two-peptide plantaricin produced by *Lactobacillus plantarum* MBSa4 isolated from Brazilian salami. *Food Control*, 2016, 60, 103-112.

- [8] Coelho M.L.V., Coutinho B.G., Santos O.C.S., Nes I.F., Bastos M.C.F.: Immunity to the *Staphylococcus aureus* leaderless four-peptide bacteriocin aureocin A70 is conferred by AurI, an integral membrane protein. *Res. Microbiol.*, 2014, 165 (1), 50-59.
- [9] Da Silva Sabo S., Vitolo M., Domínguez González J.M., de Souza Oliveira R.P.: Overview of *Lactobacillus plantarum* as a promising bacteriocin producer among lactic acid bacteria. *Food Res. Int.*, 2014, 64, 527-536.
- [10] Diep D.B., Havarstein L.S., Nes I.F.: Characterization of the locus responsible for the bacteriocin production in *Lactobacillus plantarum* C11. *J. Bacteriol.*, 1996, 178, 4472-4483.
- [11] Diep D.B., Myhre R., Johnsborg O., Aakra A., Nes I.F.: Inducible bacteriocin production in *Lactobacillus* is regulated by differential expression of the pln operons and by two antagonizing response regulators, the activity of which is enhanced upon phosphorylation. *Mol. Microbiol.*, 2003, 47, 483-494.
- [12] Ekblad B., Nissen-Meyer J., Kristensen T.: Whole-genome sequencing of mutants with increased resistance against the two-peptide bacteriocin plantaricin JK reveals a putative receptor and potential docking site. *Plos One*, 2017. DOI: 10.1371/journal.pone.0185279.
- [13] Favaro L., Todorov S.D.: Bacteriocinogenic LAB strains for fermented meat preservation: Perspectives, challenges, and limitations. *Probiotic. Antimicrob.*, 2017, 9 (4), 444-458.
- [14] Fernandes P., Loureiro D., Monteiro V., Ramos C., Nero L.A., Todorov S.D., Guerreiro J.S.: *Lactobacillus plantarum* isolated from cheese: Production and partial characterization of bacteriocin B391. *Ann. Microbiol.*, 2017, 67(1-2), 433-442.
- [15] Fricourt B.V., Barefoot S.F., Testing R.F., Hayasaka S.S.: Detection and activity of plantaricin F an antibacterial substance from *Lactobacillus plantarum* BF001 isolated from processed channel catfish. *J. Food Prot.*, 1994, 57 (8), 698-702.
- [16] Gonzalez B., Glaesker E., Kunji E.R.S., Driessen A.J.M., Suarez J.E., Konings W.N.: Bactericidal mode of action of plantaricin C. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1996, 62 (8), 2701-2709.
- [17] Gupta A., Tiwari S.K.: Probiotic potential of *Lactobacillus plantarum* LD1 isolated from batter of dosa, a South Indian fermented food. *Probiotics Antimicrob.*, 2014, 6 (2), 73-81.
- [18] Gwiazdowska D., Trojanowska K.: Bakteriocynty – właściwości i aktywność przeciwdrobnoustrojowa. *Biotechnologia*, 2005, 1 (68), 114-130.
- [19] Jiménez-Díaz R., Ríos-Sánchez R.M., Desmazeaud M., Ruiz-Barba J.L., Piard J.-C.: Plantaricins S and T, two new bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* LPCO10 isolated from a green olive fermentation. *Appl. Environ. Microb.*, 1993, 59 (5), 1416-1424.
- [20] Johnsborg O., Diep D.B., Nes I.F.: Structural analysis of the peptide pheromone receptor PlnB, a histidine protein kinase from *Lactobacillus plantarum*. *J. Bacteriol.*, 2003, 185 (23), 6913-6920.
- [21] Kleerebezem M., Siezen R.J., van Kranenburg R., Molenaar D., Kuipers O.P., Leer R., Turchini R., Peters S.A., Sandbrink H.M., Fiers M.W., Stiekema W., Lankhorst R.M., Bron P.A., Hoffer S.M., Groot M.N., Kerkhoven R., de Vries M., Ursing B., de Vos W.M., Siezen R.J.: Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, 100 (4), 1990-1995.
- [22] Li P., Gu Q., Zhou Q.: Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* LZ206, a potential probiotic strain with antimicrobial activity against food-borne pathogenic microorganisms. *J. Biotechnol.*, 2016, 238, 52-55.
- [23] Liu H.-W., Mander L.: *Comprehensive Natural Products II: Chemistry and Biology*. Elsevier, Oxford, 2010, pp.205-236.
- [24] Lopetuso L., Giorgio M., Saviano A., Scaldaferrì F., Gasbarrini A., Cammarota G.: Bacteriocins and bacteriophages: Therapeutic weapons for gastrointestinal diseases? *Int. J. Mol. Sci.*, 2019, 20 (1), #183. DOI: 10.3390/ijms20010183.

- [25] Maldonado A., Ruiz-Barba J.L., Jiménez-Díaz R.: Production of plantaricin NC8 by *Lactobacillus plantarum* NC8 is induced in the presence of different types of gram-positive bacteria. *Arch. Microbiol.*, 2004, 181, 8-16.
- [26] Maldonado A., Ruiz-Barba J.L., Jiménez-Díaz R.: Purification and genetic characterization of plantaricin NC8, a novel coculture-inducible two-peptide bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* NC8. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69 (1), 383-389.
- [27] Maldonado-Barragán A., Ruiz-Barba J.L., Jiménez-Díaz R.: Knockout of three-component regulatory systems reveals that the apparently constitutive plantaricin-production phenotype shown by *Lactobacillus plantarum* on solid medium is regulated via quorum sensing. *Int. J. Food Microbiol.*, 2009, 130 (1), 35-42.
- [28] Moll G.N., Konings W.N., Driessen A.J.M.: Bacteriocins: Mechanism of membrane insertion and pore formation. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 1999, 76 (1-4), 185-198.
- [29] Moll G.N., van den Akker E., Hauge H.H., Nissen-Meyer J., Nes I.F., Konings W.N., Driessen A.J.: Complementary and overlapping selectivity of the two-peptide bacteriocins plantaricin EF and JK. *J. Bacteriol.*, 1999, 181 (16), 4848-4852.
- [30] Noonpakdee W., Jumriangrit P., Wittayakom K., Panyim S.: Two-peptide bacteriocin from *Lactobacillus plantarum* PMU 33 strain isolated from som-fak, a Thai low salt fermented fish product. *Asia-Pac. J. Mol. Biol.*, 2009, 17 (1), 19-25.
- [31] Parada J.L., Caron C.R., Medeiros A.B.P., Soccol C.R.: Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Purification, properties and use as biopreservatives. *Braz. Arch. Biol. Tech.*, 2007, 50 (3), 521-542.
- [32] Paramithiotis S., Papadelli M., Pardali E., Mataragas M., Drosinos E.H.: Evaluation of plantaricin genes expression during fermentation of *Raphanus sativus* roots with a plantaricin-producing *Lactobacillus plantarum* starter. *Curr. Microbiol.*, 2019, 76 (7), 909-916.
- [33] Rekhif N., Atrih A., Lefebvre G.: Selection and properties of spontaneous mutants of *Listeria monocytogenes* ATCC 15313 resistant to different bacteriocins produced by Lactic Acid Bacteria strains. *Curr. Microbiol.*, 1994, 28 (4), 237-241.
- [34] Remiger A., Eijsink V.G.H., Ehrmann A., Sletten K., Nes I.F., Vogel R.F.: Purification and partial amino acid sequence of plantaricin 1.25 α and 1.25 β , two bacteriocins produced by *Lactobacillus plantarum* TMW1.25. *J. Appl. Microbiol.*, 1999, 86, 1053-1058.
- [35] Rumjuankiat K., Perez R.H., Pilasombut K., Keawsompong S., Zendo T., Sonomoto K., Nitisinprasert S.: Purification and characterization of a novel plantaricin KL-1Y, from *Lactobacillus plantarum* KL-1. *World J. Microb. Biot.* 2015, 31 (6), 983-994.
- [36] Sablon E., Contreras B., Vandamme E.: Antimicrobial peptides of Lactic Acid Bacteria: Mode of action, genetics and biosynthesis. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.*, 2000, 68, 21-60.
- [37] Sáenz Y., Rojo-Bezares B., Navarro L., Díez L., Somalo S., Zarazaga M., Ruiz-Larrea F., Torres C.: Genetic diversity of the pln locus among oenological *Lactobacillus plantarum* strains. *Int. J. Food Microbiol.*, 2009, 134, 176-183.
- [38] Song D.-F., Zhu M.-Y., Gu Q.: Purification and characterization of plantaricin ZJ5, a new bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ZJ5. *PLoS ONE*, 2014, 9 (8), #e105549. DOI: 10.1371/journal.pone.0105549.
- [39] Todorov S.D.: Bacteriocins from *Lactobacillus plantarum* – production, genetic organization and mode of action. *Braz. J. Microbiol.*, 2009, 40 (2), 209-221.
- [40] Todorov S.D., Holzapfel W., Nero L.A.: Characterization of a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* ST8SH and some aspects of its mode of action. *Ann. Microbiol.*, 2016, 66 (3), 949-962.
- [41] Tsapieva A., Duplik N., Suvorov A.: Structure of plantaricin locus of *Lactobacillus plantarum* 8P-A3. *Beneficial Microbes.*, 2011, 2 (4), 255-261.

- [42] Turner D.L., Brennan L., Meyer H.E., Lohaus C., Siethoff C., Costa H.S., Gonzalez B., Santos H., Suárez J.E.: Solution structure of plantaricin C, a novel lantibiotic. *Eur. J. Biochem.*, 1999, 264, 833-839.
- [43] Van Reenen C.A., Dicks L.M., Chikindas M.L.: Isolation, purification and partial characterization of plantaricin 423, a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum*. *J. Appl. Microbiol.*, 1998, 84 (6), 1131-1137.
- [44] Varish A.V., Khan M.S., Jamal Q.M.S., Alzohairy M.A., Al Karaawi M.A., Siddiqui M.U.: Antimicrobial potential of bacteriocins: In therapy, agriculture and food preservation. *Int. J. Antimicrobiol.*, 2017, 49 (1), 1-11.
- [45] Wang Y., Qin Y., Xie Q., Zhang Y., Hu J., Li P.: Purification and characterization of plantaricin LPL-1, a novel class IIa bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LPL-1 isolated from fermented fish. *Front. Microbiol.*, 2018, 9, #2276. DOI: 10.3389/fmicb.2018.02276.
- [46] Zhang H., Liu L., Hao Y., Zhong S., Liu H., Han T., Xie Y.: Isolation and partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* BM-1 isolated from a traditionally fermented Chinese meat product. *Microbiol. Immunol.*, 2013, 57 (11), 746-755.
- [47] Zhang M., Gao X., Zhang H., Liu H., Jin J., Yang W., Xie Y.: Development and antilisterial activity of PE-based biological preservative films incorporating plantaricin BM-1. *FEMS Microbiol. Lett.*, 2017, 364(7). DOI: 10.1093/femsle/fnw283.
- [48] Zhang N., Liu J., Li J., Chen C., Zhang H., Wang H., Lu F.: Characteristics and application in food preservatives of *Lactobacillus plantarum* tk9 isolated from naturally fermented congee. *Int. J. Food Eng.*, 2016, 12 (4), 377-384.

PLANTARICINS – BIOSYNTHESIS, MODE OF ACTION AND POTENTIAL IN ENSURING FOOD SAFETY

S u m m a r y

There were characterised the properties, structure and spectrum of activity of plantaricins produced by some *Lactobacillus* strains. There were illustrated their classification, biosynthesis mechanism, models of their action when affecting other bacteria and stability. Plantaricins are quite diverse in terms of the physical-chemical properties, structure and spectrum of antimicrobial activity.

Lactobacillus plantarum strains that are capable of synthesising plantaricins belong to microorganisms most frequently present in the fermented food products and also in beverages and other milk-based products. The structure of molecules, their stability and the mechanisms of action make plantaricins effective in bactericidal activity. Owing to the low resistance of pathogenic organisms to those substances, the plantaricins could be an alternative to many currently used antimicrobial compounds with antimicrobial activity. Plantaricins affect the inhibition of the growth of pathogenic microorganisms and, consequently, they contribute to the improvement of human health. Because of the growing interest in natural products, in the future plantaricins can be applied in various industrial branches. The results of the studies on their use could become a basis to develop effective probiotic preparations, starter cultures to produce fermented food or novel food preservation methods; as a consequence all those measures will contribute to the improvement of human health and life.

Key words: plantaricins, food safety, *Lactobacillus plantarum*, plantaricin operon 