

Dr inż. Marzena TOMASZEWSKA

Dr inż. Wiesława GRZESIŃSKA

Dr inż. Beata BILSKA

Dr inż. Joanna TRAFIAŁEK

Katedra Technologii Gastronomicznej i Higieny Żywności

Wydział Nauk o Żywieniu Człowieka i Konsumpcji

SGGW w Warszawie

CHARAKTERYSTYKA BAKTERIOCYN JAKO NATURALNYCH KONSERWANTÓW ŻYWNOSCI®

Characteristics of the bacteriocins as a natural food preservatives®

Słowa kluczowe: utrwalanie żywności, metody kombinowane, bakteriocyny, bakterie fermentacji mlekowej (LAB), nisyna.

*Do produkcji żywności coraz częściej wykorzystywane są tzw. metody kombinowane, w których stosuje się m.in. biokonserwanty. Bakteriocyny są liczną grupą związków produkowanych przez bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne. Związki te które posiadają zdolność inaktywacji lub hamowania rozwoju innych drobnoustrojów, w tym niektórych niebezpiecznych dla człowieka patogenów, np. *Listeria monocytogenes*.*

W artykule scharakteryzowano bakteriocyny, które można wykorzystać jako naturalne konserwanty żywności. Przedstawiono klasyfikację bakteriocyn wraz z krótkim omówieniem poszczególnych klas, a także ich zastosowanie w przemyśle spożywczym.

Key words: food preservation, hurdle technology, bacteriocins, lactic acid bacteria (LAB), nisin.

*Manufacturers are increasingly using the hurdle technology in food production. Biopreservatives are used in these methods. Bacteriocins are a large group of compounds produced by Gram-positive and Gram-negative bacteria, which have the ability to inactivate or inhibit the growth of other microorganisms, including certain hazardous to human pathogens such as *Listeria monocytogenes*.*

This paper describes bacteriocins in the aspect their use as natural food preservatives. The classification of bacteriocins with a short overview of each classes was presented. Their application in the food industry has been characterized.

WSTĘP

Współczesny konsument jest coraz bardziej zainteresowany jakością produktów spożywczych. Oczekuje, że dostępne na rynku środki spożywcze będą smaczne, bezpieczne i korzystne dla zdrowia, a przy tym odpowiednio trwałe.

Tradycyjne metody utrwalania żywności, takie jak: sterylizacja i pasteryzacja cieplna, suszenie, zakwaszenie czy też ekstruzja, choć dają dobre efekty utrwalenia, to często prowadzą do znacznych zmian wyglądu, a także właściwości sensorycznych oraz żywieniowych utrwalanego produktu [10]. Tymczasem konsumenci poszukują produktów trwałych, ale jednocześnie mało „zmęczonych” procesem technologicznym.

W celu spełnienia tych wymagań, producenci żywności wykorzystują technologie zaliczane do grupy tzw. metod kombinowanych, w których wykorzystuje się kilka czynników utrwalających, np.: wysoką i niską temperaturę, pH, potencjał redox, konserwanty, stosowanych w określonej kolejności. W porównaniu do tradycyjnych metod utrwalania, wykorzystanie tej metody pozwala na zmniejszenie dawek zastosowanych czynników. Coraz częściej w metodach kombinowanych stosowane są naturalne czynniki utrwalające, takie jak: biokonserwanty, modyfikowana atmosfera pakowania, powłoki jadalne [15].

Celem artykułu jest przedstawienie aktualnej wiedzy oraz informacji o bakteriocynach i ich zastosowaniu jako naturalnych konserwantach żywności.

OGÓLNA CHARAKTERYSTYKA BAKTERIOCYN

Mikroorganizmy wytwarzają liczne substancje, mające zastosowanie w przemyśle spożywczym, do których należą między innymi: kwasy organiczne (kwas mlekowy, kwas propionowy), aldehydy, kwasy tłuszczowe, nadtlenek wodoru, lizozym, a także bakteriocyny. W praktyce najczęściej są stosowane bakteriocyny, w celu hamowania wzrostu obecnej w żywności mikroflory patogennej [25].

Jak podaje Błaszczyk [4], bakteriocyny występujące naturalnie w niektórych produktach spożywczych, były spożywane przez ludzi nieświadomie od dawna. Odkryto je w połowie lat 20. XX wieku. Po raz pierwszy zostały opisane przez belgijskiego mikrobiologa Andre Gratia [12]. W 1925 r. odkrył on antagonistyczne działanie komórek *E. coli* w stosunku do innego serotypu *E. coli* [6].

Bakteriocyny są związkami o charakterze białkowym, wytwarzanymi przez liczne gatunki bakterii zarówno Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych. Mają zdolność inaktywacji lub inhibicji wzrostu innych bakterii (w tym niektórych

Tabela 1. Podstawowe cechy bakteriocyn

Table 1. Basic characteristics of the bacteriocins

Cechy bakteriocyn	Opis
wpływ na organizm człowieka	związki całkowicie bezpieczne dla człowieka – niecytotoksyczne, niealergiczne i niekancerogenne
aktywność przeciwdrobnoustrojowa	działanie antagonistyczne na określone grupy drobnoustrojów; wiele bakteriocyn wykazuje aktywność względem chorobotwórczych dla człowieka bakterii z rodzajów <i>Staphylococcus</i> , <i>Clostridium</i> , <i>Bacillus</i> , <i>Listeria</i> , <i>Salmonella</i> , <i>Pseudomonas</i> oraz enteropatogennych bakterii <i>E. coli</i> ; zakres aktywności poszczególnych bakteriocyn jest różny
charakter działania antagonistycznego	działanie bakteriobójcze, działanie bakteriostatyczne, działanie grzybobójcze (niektóre bakteriocyny)
mechanizm działania	porażka membrany cytoplazmatycznej, liza komórek, inhibicja biosyntezy DNA, RNA i białka
struktura chemiczna	proste białka, kompleksy białkowo-węglowodanowe, kompleksy białkowo-lipidowe, kompleksy białkowo-węglowodanowo-lipidowe
masa cząsteczkowa	od kilku do kilkudziesięciu kDa; najczęściej poniżej 5kDa
rozpuszczalność	dobrze rozpuszczalne w wodzie, najlepiej rozpuszczalne w roztworach kwaśnych
wrażliwość na działanie temperatury	związki termostabilne; większość bakteriocyn wytrzymuje 15 – 30 min. ogrzewanie w temp. 100°C; wyjątek stanowią bakteriocyny wysokocząsteczkowe (klasa III),
wrażliwość na działanie enzymów	wrażliwe na działanie enzymów proteolitycznych (pepsyny, trypsyny, pronazy), a bakteriocyny o złożonej budowie również na działanie enzymów amylolitycznych lub/i lipolitycznych
wrażliwość na odczyn środowiska	Większość bakteriocyn jest stabilna w środowisku o pH od 2,0 do 8,0

Źródło: Sip A., Jusik P. 2008, Sip i wsp. 2009b [20, 22]

Tabela 2. Klasyfikacja i charakterystyka bakteriocyn bakterii gram – dodatnich

Table 2. Classification and characteristics of the gram – positive bacteriocins

KLASA	PODKLASA	CHARAKTERYSTYKA	PRZYKŁAD
Klasa I. lantybiotyki	I a. Lantybiotyki typu A	wydłużone, elastyczne cząsteczki alifatyczne; działanie bakteriobójcze poprzez tworzenie porów w błonie cytoplazmatycznej wrażliwych komórek	Nizyna
	I b. Lantybiotyki typu B	szytywne, globularne cząsteczki o zróżnicowanym mechanizmie działania (najczęściej zakłócenie biosyntezy ściany komórkowej)	
Klasa II. nielantybiotyki (niszczą komórki organizmów wrażliwych przez permeabilizację ściany komórkowej)	II a. bakteriocyny pediocynopodobne	polipeptydowy łańcuch zawierający zwykle dwie reszty cysteiny, która umożliwia powstawanie wiązań di siarczkowych; wiązania S-S prawdopodobnie mają wpływ na ich aktywność biologiczną; silna aktywność wobec <i>Listeria spp.</i> ; ze względu na właściwości fizyczne oraz silną aktywność antybakteryjną – obecnie najczęściej badana grupa bakteriocyn	Pediocyna AcH, Leukocyna A-UAL187, Diwercyna V41
	II b. bakteriocyny dwupeptydowe	zalicza się bakteriocyny, których: aktywność warunkowana jest komplementarnym działaniem dwóch peptydów (brak aktywności pojedynczego peptydu), oraz pojedyncze peptydy posiadają pewną aktywność, lecz kombinacja dwóch znacznie ją zwiększa	Laktokokcyjna M, Laktokokcyjna G
	II c. bakteriocyny <i>sec</i> -zależne	w odróżnieniu od lantybiotyków i większości bakteriocyn nielantybiotykowych, bakteriocyny należące do tej podklasy są wydzielane za pomocą tzw. białek <i>sec</i> ,	Diwercyna A, Laktokokcyjna 972
	II d. inne bakteriocyny	obejmuje bakteriocyny, które odbiegają budową i mechanizmem sekrecji i działania od bakteriocyn zaklasyfikowanych do podklas II a-II c	Diacetyna B, Enterocyna B
Klasa III. bakteriocyny wysokocząsteczkowe		bakteriocyny o dużej masie cząsteczkowej, ulegają inaktywacji pod wpływem wysokiej temperatury (60-100°C przez 10 – 15 minut); brak stabilności w wysokich temperaturach oraz brak dokładnej ich charakterystyki powoduje, że są one mniej interesujące dla naukowców zajmujących się problematyką żywności	Kaseicyna 80 Helwetycyna J
Klasa IV. Kompleksy B-L lub B-W	glikoproteiny	do pełnej aktywności antymikrobiologicznej wymagają obecności reszty lipidowej (B-L) lub węglowodanowej (B-W)	Leukocyna S
	lipoproteiny		Mesenterocyna 52

Źródło: Opracowanie własne na podstawie: [2, 4, 6, 8, 13]

patogennych), nie powodując przy tym toksycznych efektów ubocznych. Dlatego też, stanowią one alternatywę dla chemicznych środków konserwujących. Ze względu na swoje właściwości (istotną cechą wielu bakteriocyn jest termostabilność), stały się one obiektem zainteresowania i poszukiwania możliwości zastosowania ich w praktyce [3, 4, 13]. Podstawowe cechy bakteriocyn przedstawiono w tabeli 1.

KLASYFIKACJA BAKTERIOCYN

Bakteriocyny to grupa związków zróżnicowanych pod względem właściwości fizycznych, biochemicznych, aktywności biologicznej, a także mechanizmu działania. Zanim przyjęto obecny podział bakteriocyn, posługiwano się wieloma innymi klasyfikacjami. Brano pod uwagę, np. nazwę gatunków będących producentami bakteriocyn, czy różnice strukturalne cząsteczek bakteriocynowych. Należy podkreślić, że wielu autorów przedstawiających wcześniejsze podziały bakteriocyn, nie posiadało wiedzy, którą dysponują dzisiejsi naukowcy zajmujący się tą problematyką. Wiedza ta umożliwiła dokonanie klasyfikacji zawartej w tabelach 2 i 3.

Z czasem, gdy odkryto szereg nowych bakteriocyn produkowanych przez bakterie Gram-dodatnie, oraz pojawiły się nowe fakty związane z właściwościami tych związków, zaistniała potrzeba opracowania (obecnie istniejącego) podziału na dwie grupy, tj. na bakteriocyny bakterii Gram-dodatnich oraz bakteriocyny bakterii Gram-ujemnych [2].

Bakteriocyny produkowane przez bakterie gram-dodatnie podzielone są na dwie duże klasy: lantynytyki i nielantynytyki [4]. Większość prac przeglądowych poświęconych problematyce bakteriocyn [2, 6, 8] najczęściej odwołuje się jednak do podziału bakteriocyn Gram-dodatniach zaproponowanego przez Klaenhammera na cztery główne klasy: antybiotyki, nielantynytyki, bakteriocyny wysokocząsteczkowe oraz kompleksy białkowo-lipidowe lub białkowo-węglowodanowe. Klasyfikację bakteriocyn produkowanych przez bakterie Gram-dodatnie wg Klaenhammera z podziałem na podklasy wraz z ich krótką charakterystyką przedstawiono w tabeli 2.

Bakteriocyny produkowane przez bakterie Gram-ujemne, charakteryzują się węższym zakresem działania w porównaniu do wytwarzanych przez bakterie Gram-dodatnie. Bakteriocyny bakterii Gram-ujemnych wytwarzane są głównie przez bakterie z rodziny *Enterobacteriaceae*, klasyfikowane jako kolicyny i mikrocyny. Cechą charakterystyczną bakteriocyn bakterii Gram-ujemnych jest przynależność do tej samej rodziny, a przede wszystkim do tego samego gatunku zarówno producenta, jak i szczepu wrażliwego [2, 8]. Podział bakteriocyn produkowanych przez bakterie Gram-ujemne wraz z ogólną charakterystyką przedstawiono w tabeli 3.

SPECYFICZNOŚĆ PRZECIWDROBNOUSTROJOWA BAKTERIOCYN

Spektrum działania większości bakteriocyn jest ograniczone głównie do szczepów tego samego gatunku, co bakteria wytwarzająca bakteriocynę oraz do bakterii blisko z nią spokrewnionych [4]. Badania wykazują, że wiele z tych związków posiada też zdolność hamowania rozwoju bakterii należących do innych gatunków niż producent. Biorąc pod

uwagę spektrum działania bakteriocyn, można je podzielić na trzy podstawowe grupy związków [4, 8]:

- o wąskim zakresie aktywności przeciwdrobnoustrojowej, których działanie ogranicza się do szczepów tego samego gatunku, co organizm producenta np. laktokokcyna A, kazeicyna 80, bądź do gatunków tego samego rodzaju np. laktocyna 27, laktacyna B, laktostrepcyna 5,
- o umiarkowanym zakresie aktywności, których aktywność antymikrobiologiczna w stosunku do pierwszej grupy, rozszerzona jest na inne gatunki bakterii, w tym organizmy patogenne, takie jak: *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium botulinum*,
- o szerokim zakresie działania antymikrobiologicznego, przeciw bakteriom Gram-dodatnim i Gram-ujemnym, a nawet grzybom; główną bakteriocyną należącą do tej grupy jest nizyna, ale zaliczana do tej grupy jest również pediocyna AcH, pediocyna PA-1 oraz propionicyna PLG-1.

W aspekcie praktycznego wykorzystania bakteriocyn, najbardziej interesującą jest trzecia grupa, charakteryzująca się szerokim zakresem aktywności przeciwdrobnoustrojowej [8].

Istnieje możliwość utrwalania żywności za pomocą kilku bakteriocyn jednocześnie. Skuteczność działania pediocyny AcH stosowanej w połączeniu z nizyną jest znacznie większa niż działanie każdej bakteriocyny pojedynczo. Konsekwencją łącznego stosowania bakteriocyn różnych klas może być pojawienie się w żywności bakterii opornych na działanie tych bakteriocyn. Wykazano, iż nabyta oporność na bakteriocyny może mieć charakter przejściowy. Oporność zanika po kilku generacjach od usunięcia bakteriocyny ze środowiska, co świadczy o wysokim stopniu rewersji bakteriocynoopornych mutantów. Przy rozsądnej aplikacji bakteriocyn jako elementu technologii płatków, mało prawdopodobne jest masowe pojawienie się w żywności bakterii opornych na ich działanie [21].

ZASTOSOWANIE BAKTERIOCYN

Substancje o właściwościach antymikrobiologicznych, wykorzystywane w przemyśle spożywczym do konserwowania żywności, powinny posiadać określone właściwości. Jako niezwykle istotne wymienia się: bezpieczeństwo dla konsumenta, szerokie spektrum działania, wybrane cechy fizykochemiczne (termostabilność, odporność na zmiany pH), niezbyt duża masa cząsteczkowa (łatwiejsza dyfuzja w produktach półpłynnych) [4]. Sip [19] podkreśla, że bakteriocyny stosowane jako konserwanty do żywności powinny, poza wyżej wymienionymi, charakteryzować się takimi cechami, jak: brak oddziaływania ze składnikami żywności, brak wpływu na właściwości sensoryczne utrwalanych produktów, stabilność w czasie przechowywania, efektywność działania w niskich stężeniach.

Za bezpieczne uważane jest stosowanie do żywności bakteriocyn syntetyzowanych przez szczepy bakterii fermentacji mlekowej [Lactic Acid Bacteria – LAB], takich jak

Tabela 3. Klasyfikacja i charakterystyka bakteriocyn bakterii gram – ujemnych

Table 3. Classification and characteristics of the gram – negative bacteriocins

KLASA	PODKLASA	CHARAKTERYSTYKA	PRZYKŁAD
Kolicyny		wytwarzane przez szczepy <i>Escherichia coli</i> oraz rodzaje <i>Shigella</i> i <i>Serratia</i> ; aktywność antymikrobiologiczna w stosunku do blisko spokrewnionych szczepów bakterii; bakterie wrażliwe zawierają na powierzchni komórek specyficzny receptor kolicynowy, do którego kolicyny się wiążą; działanie przeciwdrobnoustrojowe polega głównie na formowaniu w błonie cytoplazmatycznej komórek wrażliwych kanałów jonowych, co powoduje depolaryzację błony, możliwe jest także, np. kolicyna M, działanie poprzez hamowanie syntezy peptydoglikanu w ścianie komórkowej bakterii wrażliwej; synteza kolicyn jest zabójcza dla komórki producenta i powoduje jej liżę,	Kolicyna B, Kolicyna U, Kolicyna M, Kolicyna E2, Kolicyna E8,
Mikrocyny	o masie cząsteczkowej <5 kDa	wytwarzane przez bakterie z rodziny <i>Enterobacteriaceae</i> , antagonistycznie aktywne wobec szczepów blisko spokrewnionych; podlegające modyfikacji potranslacyjnej i atakujące struktury wewnątrzkomórkowe, synteza mikrocytn nie jest zabójcza dla komórki producenta, cechują się: termostabilnością, hydrofobowością i odpornością na ekstremalne warunki,	Mikrocyna B17, Mikrocyna J25, Mikrocyna H47, Mikrocyna E492,
	o masie cząsteczkowej od 7 kDa do 10 kDa	wytwarzane przez bakterie z rodziny <i>Enterobacteriaceae</i> , antagonistycznie aktywne wobec szczepów blisko spokrewnionych; nie modyfikowane potranslacyjnie i działające antagonistycznie poprzez uszkodzenie błony komórkowej, synteza mikrocytn nie jest zabójcza dla komórki producenta, cechują się: termostabilnością, hydrofobowością i odpornością na ekstremalne warunki,	

Źródło: Opracowanie własne na podstawie: [2, 4, 7, 8, 13]

Tabela 4. Stosowanie i dawkowanie nizyny zgodnie z polskim prawem

Table 4. The use and dosage of nisin in accordance with the Polish law

Numer wg systemu oznaczeń Unii Europejskiej	Nazwa	Środek spożywczy	Maksymalny poziom
E 234	Nizyna	Pudding z semoliny i tapioki i produkty podobne	3 mg/kg
		Sery dojrzewające i sery topine	12,5 mg/kg
		Clotted cream	10 mg/kg
		Mascarpone	10 mg/kg

Źródło: Dz. U. 2010 r., nr 232, poz. 1525 [18]

Lactococcus sp., *Lactobacillus sp.*, *Pediococcus sp.*, *Carnobacterium sp.*, czy *Leuconostoc sp.* [25]. Bakteriocyny, będące obok kwasów organicznych, nadtlenu wodoru, związków systemu laktoperoksydazy, diacetylu, czy aldehydu octowego, metabolitami komórkowymi LAB, hamują wzrost bakterii patogennych i organizmów zanieczyszczających żywność oraz powodujących jej psucie [23, 24].

Obecnie dużym zainteresowaniem cieszy się możliwość wykorzystywania bakterii fermentacji mlekowej (LAB) do zwalczania *Listerii*. Spośród wymienionych metabolitów LAB, najsilniejszą bakteriobójczą aktywność względem chorobotwórczych dla człowieka *L. monocytogenes* mają bakteriocyny klasy IIa [23].

Słońska i Klimuszko [24] informują, że w okresie minionych dziesięcioleci częstym obiektem badań były bakteriocyny produkowane przez pałeczki *Lactobacillus*. Cytowane przez autorki badania Barefoota i Klaenhammera wykazały, że 63% z 52 przebadanych szczepów *L. acidophilus* produkuje bakteriocyny.

W przemyśle spożywczym bakterie mlekowe używane są najczęściej w postaci kultur starterowych [11]. Są to specjalnie wyselekcjonowane bakterie kwasu mlekowego, stosowane przy wyrobieniu różnych fermentowanych produktów

spożywczych. Kultury starterowe mogą pełnić jednocześnie funkcje kultur ochronnych, powodujących utrudnianie rozmnażania się niepożądanych mikroorganizmów, przez co następuje naturalne utrwalenie produktu [1]. LAB wykorzystuje się głównie do produkcji wyrobów mlecznych, kiszzonej kapusty, korniszonów i oliwek [11].

W przemyśle spożywczym bakteriocyny mogą być stosowane w formie oczyszczonej, częściowo oczyszczonej lub surowej – w postaci bakteriocynogennych kultur [11, 19, 26].

Bakteriocyny mogą być aplikowane do żywności różnymi metodami. Powszechnie stosowane jest [6, 9]:

1. szczepienie produktów spożywczych bakteriami fermentacji mlekowej (LAB), które następnie wytwarzają bakteriocyny;
2. wprowadzenie oczyszczonej lub częściowo oczyszczonej bakteriocyny;
3. wprowadzenie do żywności produktu poddanego wcześniej fermentacji z wykorzystaniem bakterii mających zdolność produkcji bakteriocyn.

Najlepiej poznaną bakteriocyną należącą do klasy I jest nizyna produkowana przez *Lactococcus lactis*. Po raz pierwszy została opisana w 1928 roku i jest jedyną bakteriocyną

produkowaną w skali przemysłowej [24, 26]. Nizyna jest stosowana już od 30 lat jako naturalny i bezpieczny konserwant żywności. W 1988 roku zyskała ona status GRAS (*generally recognised as safe*) [5] i jest dopuszczona do użytku w 50 krajach pod nazwą handlową Nisaplin [4, 6, 11].

Nizyna nie hamuje rozwoju bakterii Gram-ujemnych, drożdży i pleśni [6], natomiast wykazuje działanie antagonistyczne w stosunku do szeregu szczepów bakterii z rodzaju *Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Clostridium*, *Bacillus*, *Listeria*, *Lactococcus* i *Lactobacillus*. Ze względu na to, że jest łatwo trawiona przez trypsynę, jest ona nietoksyczna w stosunku do organizmów wyższych, a więc jest bezpieczna dla ludzi. W większości krajów nie ustalono maksymalnego poziomu dodatku nizyny do żywności [4]. W Polsce dawkowanie nizyny jest określone w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia z dn. 22 listopada 2010 r. w sprawie dozwolonych substancji dodatkowych (tab. 4).

Nizyna od lat jest stosowana w produkcji serów dojrzewających i przetworzonych, niektórych deserów, bitej śmietany, mascarpone. W niektórych krajach została dopuszczona jako biokonserwant przy produkcji konserw warzywnych i owocowych, produktów z mięsa, ryb i jaj [4]. Jak podkreślają Jurkowski i Błaszczuk [11], użycie wyłącznie bakteriocynów, nie jest w stanie zapewnić pełnego bezpieczeństwa, szczególnie w stosunku do bakterii Gram-ujemnych. Wskazane jest stosowanie tej bakteriocyny w połączeniu z innymi związkami o właściwościach konserwujących lub innymi technologiami, które niszczą ścianę komórkową, umożliwiając bakteriocynom niszczenie patogenów.

W przypadku produktów mięsnych, stosowanie na powierzchni wyrobu mieszaniny nizyny z pediocyną powodowało, że obie substancje skutecznie hamowały wzrost bakterii z rodzaju *Listeria* [4]. W innym badaniu, także cytowanym przez Błaszczuk [4], obok nizyny, jako dodatkowy czynnik utrwalający, zastosowano pakowanie w modyfikowanej atmosferze (MAP). W doświadczeniu tym mięso wieprzowe lub drobiowe zanurzano w roztworze zawierającym bakteriocynę, a następnie pakowano w atmosferze powietrza lub w MAP. Tak przygotowane próbki przechowywano w warunkach chłodniczych. W przypadku MAP obserwowano całkowite zahamowanie wzrostu *L. monocytogenes*, podczas gdy warunki tlenowe umożliwiły mutację i dalszy rozwój mikroorganizmów z rodzaju *Listeria*. Literatura podaje wiele przykładów łączenia nizyny z innymi związkami w celu zwiększenia jej skuteczności. Pawar i wsp. [16] wykazali, że połączenie nizyny i chlorku sodu (2%), zwiększa skuteczność działania tej bakteriocyny, niezależnie od temperatury przechowywania produktów.

Jurkowski i Błaszczuk [11] podają, że bakterie fermentacji mlekowej mogą wykazywać działanie niepożądane, np. być odpowiedzialne za psucie się napojów alkoholowych takich jak sake lub piwo. Jak wykazały badania, dodatek nizyny w stężeniu 0,25-2,5 mg/l skutecznie zapobiega niekorzystnym zmianom. Ze względu na brak antagonistycznego wpływu nizyny na drożdże, może być ona stosowana podczas fermentacji [4].

Wnikliwym badaniom poddawane są także inne bakteriocyny. Szczególną uwagę zwraca się zwłaszcza na te, które wykazują silną aktywność skierowaną przeciwko *Listerii*

monocytogenes. Lauková i wsp. [14] badali skuteczność enterocyny CCM 4231 (klasa II bakteriocyn) w stosunku do *L. monocytogenes* w salami. Dodatek enterocyny CCM 4231 zmniejszył liczbę *L. monocytogenes* o 1,7 log₁₀ natychmiast po dodaniu (liczba początkowa 10⁸ jtk/g). Po pierwszym tygodniu dojrzewania salami, w próbie kontrolnej (bez dodatku bakteriocyny), stwierdzono liczbę 10⁷ jtk/g, zaś w materiale z dodatkiem enterocyny liczba ta wyniosła 10⁴ jtk/g. Różnica ta utrzymywała się w czasie dalszego 2. – 3. tygodniowego dojrzewania salami.

Działanie antagonistyczne wobec *Listeria monocytogenes* wykazuje szczep *Lactococcus lactis* DPC4275 produkujący laktocynę 3147, zapewniając bezpieczne spożywanie produktów mlecznych, zwłaszcza zaraz po fermentacji. Laktocyna 3147 stosowana jest również do produkcji sera pleśniowego [4]. Twomey [26] zaznacza, że bakteriocyny wytwarzane przez LAB, w tym właśnie Laktacyna 3147, wydają się posiadać równie duży potencjał komercyjny, co nizyna. Laktokokcyny A, B i M powodują lizę zaczynów kultur bakteryjnych w trakcie produkcji sera. W wyniku uwolnienia enzymów proteolitycznych dochodzi do hydrolizy kazeiny, a powstałe fragmenty aminokwasów i peptydów nadają korzystny smak i poprawiają jakość produktów [4].

Sip [19] podkreśla, że skuteczność działania bakteriocynów w żywności można zwiększyć między innymi poprzez:

- stosowanie ich w kombinacji z chemicznymi konserwantami żywności (chlorkiem sodu, sacharozą i innymi cukrami, azotanami, kwasami organicznymi i ich solami),
- stosowanie układów złożonych z kilku bakteriocynów (o podobnym lub odmiennym zakresie działania),
- stosowaniu wraz z antybiotykami,
- stosowaniu wraz ze związkami uszkadzającymi zewnętrzną warstwę ściany komórkowej bakterii Gram-ujemnych (EDTA, surfaktantami, enzymami litycznymi),
- stosowanie w połączeniu z nietermicznymi metodami konserwowania żywności (wysokie ciśnienia UHP, zmienne pole elektryczne PEF, pakowanie w modyfikowanej atmosferze MAP, pakowanie próżniowe VP).

Bakteriocyny mogą mieć zastosowanie w innych (poza produkcją żywności), dziedzinach gospodarki. Mogą być wykorzystywane jako dodatek do mydeł, kremów, past do zębów, toników itp. Ze względu na wzrastającą antybiotykoodporność, bakteriocyny stają się także alternatywą dla antybiotyków. Mogą być również wykorzystywane jako komponenty leków [4]. Ma to znaczenie zwłaszcza w przypadku hodowli zwierząt, np. drobiu, gdzie antybiotyki pełnią nie tylko rolę terapeutyków, lecz także tzw. antybiotykowych stymulatorów wzrostu (ASW). Ponieważ od 1 stycznia 2006 roku na terenie Unii Europejskiej prawo zabrania używania ASW, dlatego uwagę zwraca się na inne związki (lub metody) stosowane w profilaktyce i zwalczaniu infekcji bakteryjnych u drobiu. Szeroko rozważana jest możliwość stosowania właśnie bakteriocynów zamiast antybiotyków [17].

PODSUMOWANIE

Metody kombinowane są coraz powszechniej wykorzystywane w przemyśle spożywczym do produkcji gotowych

produktów. Jednoczesne zastosowanie w procesie technologicznym kilku czynników utrwalających, umożliwia zastosowanie ich mniejszych dawek, co ma pozytywny wpływ na jakość wyrobu końcowego. Duży potencjał posiadają zwłaszcza te preparaty, które są syntetyzowane naturalnie.

Bakteriocyny są liczną grupą związków wytwarzanych przez bakterie Gram-dodatnie i Gram-ujemne. Mają one zdolność zabijania lub inhibicji wzrostu innych bakterii, w tym niektórych patogennych, nie powodując toksycznych efektów ubocznych dla organizmu człowieka. Z tego względu stanowią one alternatywę dla dodatków chemicznych, co przy wzrastającej świadomości konsumentów, dotyczącej korelacji pomiędzy żywnością a zdrowiem, stanowi ich ogromną zaletę.

Produkcja bakteriocyn przez mikroorganizmy, a także skuteczność ich działania jest procesem uzależnionym od wielu czynników, dlatego w celu ich optymalnego wykorzystania w przetwórstwie spożywczym, ważne jest zrozumienie specyfiki działania tych związków.

LITERATURA

- [1] ANONIM. 1999. *Biokonserwowanie mięsa*. Mięso i Wędliny, 4, 36-39.
- [2] BAKTERIOCYN. CHARAKTERYSTYKA I ZASTOSOWANIE 2011. http://biotechnologia.pl/biotechnologia-portal/info/biotechnologia/160_artykuly-specjalistyczne/229840,bakteriocyny__charakterystyka_i_zastosowanie_.html [dostęp: 06.06.2013].
- [3] BARDOWSKI J. 1995. *Bakterie mlekowe – od badań podstawowych do nowatorskich zastosowań*. Przegląd Mleczarski, 1, 24-25.
- [4] BŁASZCZYK U. 2008. *Bakteriocyny- właściwości i zastosowanie*. Laboratorium, 10, 28-32. <http://www.laboratorium.elamed.pl/strona-numer-10-2008.html> [dostęp: 06.06.2013].
- [5] BYSTRON J., MOLEND A. J. 2004. *Rola bakterii kwasu mlekowego w utrwalaniu fermentowanych przetworów mięsnych*. Życie Weterynaryjne, 79, 12, 688-690.
- [6] CHEN H., HOOVER, D. G. 2003. *Bacteriocins and their Food Applications*. Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety, 2, 82-96.
- [7] GÖKÇE İ., LAKEY J. H. 2003. *Production of an E. coli Toxin Protein; Colicin A in E. coli Using an Inducible System*. Turkish Journal of Chemistry, 27, 323-331.
- [8] GWIAZDOWSKA D., TROJANOWSKA K. 2005a. *Bakteriocyny - właściwości i aktywność przeciwdrobnoustrojowa*. Biotechnologia, 68, 1, 114-130.
- [9] GWIAZDOWSKA D., TROJANOWSKA K. 2005b. *Zastosowanie bakteriocyn jako biokonserwantów żywności*. Towaroznawcze Problemy Jakości, 2, 1, 40-52.
- [10] JANICKI A. 1993. *Żywność wygodna definicje i etapy rozwoju*. Przemysł Spożywczy, 9, 227-230.
- [11] JURKOWSKI M., BŁASZCZYK M. 2012. *Charakterystyka fizjologiczno-biochemiczna bakterii fermentacji mlekowej*. Kosmos. Problemy Nauk Biologicznych, 61, 3, 493-504.
- [12] KLEWICKA E., LIBUDZISZ Z. 1998. *Przeciwdrobnoustrojowa aktywność bakterii mlekowych*. Przegląd Mleczarski, 12, 411-415.
- [13] KOWALSKA K. 2011. *Bakteriocyny i ich zastosowanie*. <http://bioinfo.mol.uj.edu.pl/articles/Kowalska05> [dostęp: 06.06.2013].
- [14] LAUKOVÁ A., CZIKKOVÁ S., LACZKOVÁ S., TUREK P. 1999. *Use of enterocin CCM 4231 to control Listeria monocytogenes in experimentally contaminated dry fermented Hornád salami*. International Journal of Food Microbiology, 52, 115-119.
- [15] LEISTNER L., GORRIS L. 1995. *Food preservation by hurdle technology*. Trends in Food Science and Technology, 6, 2, 41-46.
- [16] PAWAR D.D., MALIK S. V.S., BHILEGAONKAR K. N., BARBUDDHE S. B. 2000. *Effect of nisin and its combination with sodium chloride on the survival of Listeria monocytogenes added to raw buffalo meat mince*. Meat Science, 56, 215-219.
- [17] RAWSKI M., SIP A., JÓZEFIAK D. 2011. *Bakteriocyny – nowa grupa dodatków paszowych? cz.I*. Polskie Drobniarstwo, 4, 54 – 57.
- [18] ROZPORZĄDZENIE MINISTRA ZDROWIA Z DNIA 22 LISTOPADA 2010 R. W SPRAWIE DOZWOLONYCH SUBSTANCJI DODATKOWYCH (Dz.U. 2010 r., nr 232, poz. 1525).
- [19] SIP A. 2000. *Bakteriocyny jako naturalne biokonserwanty żywności*. XXXI Sesja Naukowa Komitetu Technologii I Chemii Żywności PAN, Poznań 14-15 września, 57 – 65.
- [20] SIP A., JUSIK P. 2008. *Bakteriocyny jako składniki opakowań o działaniu przeciwdrobnoustrojowym*. Opakowanie, 10, 20-26.
- [21] SIP A., KRASOWSKA M., WIĘCKIEWICZ M. 2009a. *Zastosowanie bakteriocyn klasy IIa bakterii fermentacji mlekowej*. Biotechnologia, 86, 3, 129-147.
- [22] SIP A., KRASOWSKA M., WIĘCKOWICZ M., GRAJEK W. 2009b. *Metody skryningu bakteriocynogennych bakterii fermentacji mlekowej*. Żywność. Nauka. Technologia. Jakość, 1, 62, 5 – 26.
- [23] SIP A., WIĘCKOWICZ M., OLEJNIK-SCHMIDT A., GARDÓ A., GORLAS R., GRAJEK W. 2009c. *Występowanie bakterii fermentacji mlekowej aktywnych względem Listeria w serach regionalnych wytwarzanych w okręgu tatrzańsko-beskidzkim*. Acta Scientiarum Polonorum Biotechnologia, 8, 2, 27 – 44.
- [24] SŁOŃSKA A., KLIMUSZKO D. 2010. *Bakteriocyny probiotycznych pałeczek z rodzaju Lactobacillus*. Postępy Mikrobiologii, 40, 2, 87 – 96.
- [25] STEINKA I. 2009. *Innowacje technologiczne a bezpieczeństwo żywności*. Annales Academiae Medicae Gedanensis, 39, 123-132.
- [26] TWOMEY D., ROSS R. P., RYAN M., MEANEY B., HILL C. 2002. *Lantibiotics produced by lactic acid bacteria: structure, function and application*, w: Siezen R. J., Kok J., Abee T., Schaafsma G. (red.): Lactic Acid Bacteria: Genetics, Metabolism and Applications, Kluwer Academic Publishers, 165-184.