

ANNA ZADERNOWSKA, WIOLETA CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA, LUCYNA KŁĘBUKOWSKA,
URSZULA ZARZECKA, ŁUCJA ŁANIEWSKA-TROKENHEIM

*Katedra Mikrobiologii Przemysłowej i Żywności
Wydział Nauki o Żywności
Uniwersytet Warmińsko-Mazurski w Olsztynie
Plac Cieszyński 1, 10-719 Olsztyn
E-mail: anna.zadernowska@uwm.edu.pl*

KULTURY OCHRONNE I ICH ZASTOSOWANIE W OGRANICZENIU ROZWOJU PAŁECZEK *LISTERIA MONOCYTOGENES* W SUROWCACH I PRODUKTACH MIĘSNYCH

WSTĘP

Europejski Urząd ds Bezpieczeństwa Żywności (ang. European Food Safety Authority, EFSA) każdego roku publikuje raport dotyczący występowania chorób odzwierzęcych (zoonoz) i chorób pochodzenia pokarmowego (ang. food-born diseases) u ludzi oraz źródeł ich występowania. Od lat w tych raportach mięso i produkty mięsne są wskazywane jako istotne źródło występowania drobnoustrojów chorobotwórczych dla człowieka. Głównie z uwagi na skład chemiczny mięsa i wysoką aktywność wody (a_w 0,98) jest ono doskonałym środowiskiem do rozwoju mikroorganizmów, zarówno tych, które powodują jego psucie, jak i chorobotwórczych, mogących stanowić zagrożenie zdrowia konsumentów. *Listeria monocytogenes* to bakteria chorobotwórcza, oporna na wiele niesprzyjających czynników środowiskowych. Wśród drobnoustrojów zanieczyszczających żywność, choroby wywoływane przez te pałeczki nie należą do najczęstszych, ale mają jeden z najwyższych współczynników śmiertelności, który wynosi ponad 20%. Zgodnie z Prawem Unii Europejskiej ocena stopnia zanieczyszczenia bakteriami *L. monocytogenes* zaliczana jest do tzw. kryteriów bezpieczeństwa żywności. Rozporządzenie Komisji (WE) nr 2073/2005 (z późniejszymi zmianami), dotyczące ochrony zdrowia konsumentów, nakłada limity związane z występowaniem tych bakterii w żywności

gotowej do spożycia. *Listeria monocytogenes* musi być nieobecna w 25g produktu przed opuszczeniem przedsiębiorstwa produkującego żywność, natomiast w czasie trwania okresu przydatności do spożycia liczba *Listeria monocytogenes* nie może przekroczyć 100 jtk/g. Bakterie te mają zdolność rozwoju w warunkach chłodniczych oraz w żywności pakowanej w zmodyfikowanej atmosferze i próżniowo, dlatego mięso i jego produkty są szczególnie podatne na jej rozwój. Zastosowanie odpowiednio dobranych szczepów bakterii fermentacji mlekowej (kultur ochronnych) pozwala na znaczne ograniczenie wzrostu lub całkowitą inaktywację pałeczek *L. monocytogenes*. Ponadto, zastosowanie kultur ochronnych prowadzi do zahamowania rozwoju mikroflory, która powoduje wady i psucie mięsa oraz jego przetworów. Pozwala również na znaczne ograniczenie stosowania konserwantów i innych substancji konserwujących.

LISTERIA MONOCYTOGENES

Bakterie należące do gatunku *Listeria monocytogenes* to Gram-dodatnie pałeczki, które nie mają zdolności wytwarzania przetrwalników. Są względnie beztlenowe, co oznacza, że mają zdolność wzrostu zarówno w warunkach tlenowych, jak i beztlenowych. Przejawiają zdolność adaptacji do różnych warunków środowiska. Rosną w temperaturze 1–45°C, przy optimum na poziomie

37°C. Należą do tzw. psychrotrofów, czyli mikroorganizmów mających zdolność rozwoju w temperaturach chłodniczych. W związku z tym, że większość drobnoustrojów nie rozwija się w takich warunkach, pałeczki te mogą stać się mikroflorą dominującą w żywności przechowywanej w temperaturach chłodniczych. Bakterie te charakteryzują się także szerokim zakresem tolerowanego pH (4,4–9,6). Wykazano, że pałeczki *L. monocytogenes* mogą rosnąć przy 10–20% stężeniu chlorku sodu, więc nawet słone produkty są narażone na jej rozwój (WING i GREGORY 2002, GANDHI i CHIKINDAS 2007, KRAMARENKO i współaut. 2013). Obok *Listeria monocytogenes*, do rodzaju tego należą: *L. ivanovii*, *L. innocua*, *L. seeligeri*, *L. grayi* i *L. welshimeri* (KOŁAKOWSKA i MADAJCZAK 2011). Chorobotwórcze dla człowieka są głównie *Listeria monocytogenes*. Znacznie rzadziej infekcje wywoływane są przez *Listeria ivanovii*, natomiast pozostałe gatunki nie są chorobotwórcze (GLIŃSKI i KOSTRO 2012). W obrębie szczepów należących do gatunku *L. monocytogenes* wyróżnia się kilkanaście serotypów, z których za najgroźniejsze uważa się serotypy 1/2a, 1/2b i 4b. Odpowiedzialne są one za 95% zakażeń, z czego z żywności izoluje się głównie serotypy 1/2a i 1/2b (SWAMINATHAN i GERNER-SMIDT 2007). Ze względu na niewysokie wymagania pokarmowe i środowiskowe *L. monocytogenes* jest szeroko rozpowszechniona w środowisku naturalnym. Można wyizolować ją z wód powierzchniowych, gleby, szczątków roślinnych i ścieków oczyszczanych biologicznie, osadów dennych, a także z przewodu pokarmowego wielu gatunków zwierząt (FARBER i PETERKIN 1991). Pałeczki *L. monocytogenes* wywołują różnopostaciowe listeriozy. Przyjmuje się że około 95% zatruć tymi bakteriami jest spowodowane spożyciem zanieczyszczonej żywności. Bakterie te izolowano z niemal wszystkich produktów i surowców, w tym z mięsa surowego, głównie wieprzowego, wołowego i drobiu, oraz produktów mięsnych takich jak: kiełbasy fermentowane, wędliny półsurowe i plasterkowane oraz pasztety (AURELI i współaut. 2000). Mimo że bakterie te nie są ciepłooporne i giną podczas obróbki termicznej żywności, często są izolowane z produktów poddanych takim zabiegom. Prawdopodobnie jest to związane z ich właściwościami adhezji do różnych powierzchni i zdolnością do tworzenia biofilmu, co w konsekwencji prowadzi do zanieczyszczeń wtórnych. Najczęściej objawy infekcji pałeczkami *L. monocytogenes* pojawiają się po spożyciu żywności zawierającej 10^2 – 10^4 jtk/g, chociaż czasami potrzeba znacznie większej liczby komórek, nawet 10^9 w 1 g żywności (MCLAUCHLIN i współaut. 2004, SIP i współ-

aut. 2009). W łagodnym przebiegu listeriozy pierwsze objawy pojawiają się po około 20 godzinach po spożyciu zakażonej żywności (DALTON i współaut. 1997). Są to najczęściej szybko ustępujące objawy grypopodobne. W przypadku pozostałych form klinicznych (zakażenia ośrodkowego układu nerwowego, posocznica, zakażenie wątroby, zapalenie otrzewnej, zakażenie wsierdza, zapalenie spojówek, zapalenie stawów oraz zapalenie skóry i opon mózgowych) objawy mogą się pojawić nawet 20–30 dni po spożyciu zakażonej żywności (ROBBINS i współaut. 1999). Bardzo niebezpieczne są także zakażenia kobiet w ciąży. Zdarzają się one często, bo w około 27% wszystkich zakażeń *L. monocytogenes*. U matki choroba charakteryzuje się przebiegiem grypopodobnym, jednak na skutek przeniknięcia komórek bakteryjnych przez barierę krew-łożysko dochodzi w I i II trymestrze do poronienia lub uszkodzenia płodu, natomiast w III trymestrze do wrodzonej listeriozy, która u noworodków charakteryzuje się ostrym przebiegiem i wysoką śmiertelnością (JANAKIRAMAN 2008).

KULTURY OCHRONNE

Kultury ochronne są to wyselekcjonowane szczepy drobnoustrojów o zdolnościach do hamowania rozwoju patogenów i/lub drobnoustrojów powodujących wady i psucie produktów, przy jednoczesnym, jak najmniejszym wpływie na cechy organoleptyczne produktu, do którego je dodano. Najczęściej są to szczepy bakterii fermentacji mlekowej głównie z rodzajów: *Lactobacillus*, *Carnobacterium*, *Pediococcus*, *Lactococcus* i *Enterococcus*. Bakterie te są uznawane za zupełnie bezpieczne dla ludzi, posiadają status GRAS (ang. generally recognized as safe) (CASTELLANO i współaut. 2008). Mikroorganizmy stosowane w przemysłowych kulturach ochronnych to szczepy wyizolowane z naturalnych źródeł (jeśli mają zastosowanie do produktów mięsnych, to najczęściej są wyizolowane z mięsa lub jego przetworów). Zgodnie z obowiązującym prawem nie mogą one być modyfikowane genetycznie (GMO). Najczęstszą formą kultur jest postać liofilizatu. Liofilizację przeprowadza się pod znacznie obniżonym ciśnieniem w liofilizatorach. W wyniku tego procesu otrzymuje się proszek, który po zapakowaniu w opakowania jednostkowe (wodoszczelne i nieprzepuszczalne dla powietrza saszetki aluminiowe) trafia do zakładu spożywczego. W zależności od zastosowania danej kultury (mięso mielone, wędliny itd.) i zaleceń producenta liofilizatu, jest on dodawany bezpośrednio do produktu, bądź po uprzedniej rehydratacji. Najczęściej, jeśli kultury są przeznaczone do mięsa

mielonego, są do niego dodawane bezpośrednio (ewentualnie po sporządzeniu roztworu z wodą) i mieszane z nim przed etapem pakowania. Natomiast, jeśli aplikuje się je do wyrobów mięsnych gotowych (parówek, plasterkowanych wędlin), sporządza się roztwór wodny, który jest natryskiwany na produkt (mgielka) bezpośrednio przed pakowaniem. Przyjmuje się, że minimalny dodatek kultur ochronnych do produktu to 10^5 - 10^6 jtk/g. Kultury ochronne dobiera się tak, aby wykazywały aktywność (m. in. tworzenia bakteriocyn) w temperaturach chłodniczych i w warunkach, jakie panują w opakowaniach żywności. W przemyśle mięsnym najczęściej stosuje się pakowanie próżniowe lub MAP (ang. modified atmosphere packaging), czyli pakowanie w atmosferze modyfikowanej. Polega ono na wykorzystaniu w odpowiednich proporcjach gazów takich jak: ditlenek węgla (inhibitor wzrostu mikroorganizmów, w szczególności tlenowych), azot (pełniący rolę wypełniacza) i tlen (niepożądanego w produktach przetworzonych). Obie metody przedłużają trwałość produktów, ale niestety nie eliminują wzrostu *L. monocytogenes*, która ma zdolność rozwoju bez względu na rodzaj pakowania. W zależności od przeznaczenia kultur są one komponowane ze szczepów jednego lub kilku gatunków drobnoustrojów. Możemy je podzielić na trzy główne rodzaje/typy:

- jednoszczepowe - w ich skład wchodzi tylko jeden szczep danego gatunku;
- wieloszczepowe - mieszanina kilku szczepów należących do jednego gatunku;
- wielogatunkowe - składające się ze szczepów należących do różnych gatunków drobnoustrojów.

Natomiast skuteczność działania kultur ochronnych opiera się na dwóch głównych zasadach:

- produkcja substancji bakteriobójczych (najczęściej bakteriocyn) przez mikroorganizmy wchodzące w skład kultury;
- wykluczenie konkurencyjne, które polega na tym, że mikroorganizmy wchodzące w skład kultury ochronnej charakteryzują się lepszą adaptacją do warunków fizykochemicznych produktu, do którego zostały dodane. Poprzez efektywniejsze wykorzystanie składników odżywczych niż inne drobnoustroje, powodują dość szybkie ich zużycie i hamują w ten sposób rozwój innej mikroflory.

Działanie bakteriobójcze kultur ochronnych związane jest głównie ze zdolnością do wytwarzania substancji o działaniu bakteriobójczym. Kultury ochronne należą do tych samych rodzajów, gatunków, które znaleźć można w kulturach starterowych (szczepionkach) do produkcji fermentowanych produk-

tów spożywczych (np. salami, jogurt, sery). Główna różnica w doborze szczepów do kultur ochronnych polega na tym, że w przeciwieństwie do kultur starterowych, nie powinny one wpływać na cechy organoleptyczne produktu (barwa, smak, zapach itd). W związku z tym, mikroorganizmy wchodzące w skład kultury ochronnej są dobierane w taki sposób, aby nie powodowały niepożądanych zmian biochemicznych produktu, a jedynie hamowały rozwój mikroorganizmów niepożądanych. Kultury ochronne produkowane są przez wyspecjalizowane firmy biotechnologiczne.

BAKTERIE FERMENTACJI MLEKOWEJ

Bakterie fermentacji mlekowej (ang. lactic acid bacteria, LAB), najczęściej stosowane jako kultury ochronne, są grupą nieprze-trwalnikujących pałeczek i ziarniaków Gram-dodatnich. Do bakterii fermentacji mlekowej zalicza się pałeczki należące do rodzajów *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, *Carnobacterium* i ziarniaki *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* i *Enterococcus*. Naturalnym miejscem ich występowania są rośliny zielone, mleko, przewód pokarmowy ludzi i zwierząt. Na podstawie produktów fermentacji (której substratami są cukry proste, dwucukry oraz niektóre wielocukry), bakterie fermentacji mlekowej można podzielić na homofermentatywne i heterofermentatywne. Produktem końcowym fermentacji homofermentatywnej jest niemal wyłącznie kwas mlekowy, stanowiący co najmniej 85% metabolitów oraz niewielka ilość produktów ubocznych w postaci kwasu octowego, etanolu, ditlenku węgla i czasem acetoiny. W procesie heterofermentacji mlekowej oprócz kwasu mlekowego, który stanowi około 50% produktów metabolizmu cukrów, występują również: etanol, kwas octowy, glicerol, manitol, ditlenek węgla, diacetyl i inne. Kwas mlekowy wytworzony podczas fermentacji może mieć konfigurację L(+), D(-) lub DL (racemiczny). Do głównych metabolitów bakterii fermentacji mlekowej, o charakterze antagonistycznym w stosunku do patogenów człowieka i/lub drobnoustrojów powodujących wady mikrobiologiczne produktów, należą:

- kwas mlekowy i kwas octowy - kwasy te w płynnych środowiskach są tylko częściowo zdysocjowane. Jako związki lipofilne, w formie niezdisocjowanej mogą przenikać przez lipidową błonę komórkową. We wnętrzu komórki, przy wyższym pH cytoplazmy, dysocjują, zakwaszają treść komórki i zaburzą gradient protonowy w błonach komórkowych. Zakwaszanie cytoplazmy jest najważniejszym czynnikiem ograniczającym

rozwój niepożądaną mikroflory (SAVARD i współaut. 2002);

diacetyl – przypuszcza się, że diacetyl inaktywuje niektóre ważne enzymy, za pośrednictwem grupy dikarbonylowej reaguje z arginina obecną w tych enzymach i modyfikuje ich centra katalityczne. Diacetyl wykazuje działanie hamujące na drożdże i bakterie Gram-ujemne, już przy stężeniu kilku ppm. Bakterie Gram-dodatnie są na ten związek mniej wrażliwe (LANCIOTTI 2003);

nadtlenek wodoru – działanie nadtlenku wodoru wynika z jego silnych właściwości utleniających, unieczynnia on procesy życiowe komórki bakteryjnej przez uszkodzenie DNA i blokadę grup sulfhydrylowych w białkach (KAROVICOVA i KOHAJDOWA 2003);

ditlenek węgla – mechanizm działania ditlenku węgla nie jest jeszcze dobrze poznany. Przypuszcza się, że hamuje on procesy enzymatycznej dekarboksylacji i akumuluje się w błonie cytoplazmatycznej mikroorganizmów zaburzając jej przepuszczalność (KAROVICOVA i KOHAJDOWA 2003);

bakteriocyny – są związkami białkowymi, silnie zróżnicowanymi pod względem aktywności biologicznej, właściwości fizycznych i biochemicznych. Działają zarówno bakteriobójczo, jak i bakteriostatycznie. Bakteriocyny przenikają przez ścianę wrażliwych komórek roślinnych i oddziałują z błoną cytoplazmatyczną, prowadząc w efekcie do gwałtownego obniżenia jej siły protonomotorycznej i śmierci komórki. Badania na poziomie molekularnym wykazały, że synteza bakteriocyn zachodzi pod kontrolą genów zlokalizowanych w DNA plazmidowym lub chromosomalnym. Mikroorganizmy posiadają jednocześnie geny determinujące oporność na bakteriocyny, które same wytwarzają (KLAENHAMMER 1998). Bakteriocyny produkowane przez bakterie fermentacji mlekowej zostały podzielone na cztery główne klasy.

Klasa I: W skład tej grupy wchodzi lantibiotyki. Związki te to termostabilne peptydy, których maksymalna masa cząsteczkowa wynosi 5 kDa. W klasie tej wyróżnia się 2 typy związków. Bakteriocyny typu A charakteryzują się liniową budową o dodatnim ładunku. Działanie ich polega na tworzeniu porów w błonach komórkowych drobnoustrojów. Typ B charakteryzuje się natomiast budową cykliczną i ujemnym ładunkiem bądź brakiem ładunku. Najbardziej znanym i najczęściej badanym lantibiotykiem jest nizyna wytwarzana przez *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*.

Klasa II: Bakteriocyny zaliczane do tej klasy nazywane są nielantibiotykowymi. Większość z nich to małe (masa cząsteczkowa poniżej 10 kDa) i termostabilne białka. Ich działanie polega na permeabilizacji błony

komórkowej mikroorganizmów. Bakteriocyny wchodzące w skład klasy II ze względu na swoją budowę podzielono na 4 podklasy. Do podklasy IIa (tzw. bakteriocyny pediocynopodobne) zaliczane są bakteriocyny o bardzo silnym działaniu wobec bakterii z rodzaju *Listeria*. Podklasę IIb stanowią bakteriocyny dipeptydowe charakteryzujące się tym, że do pełnej aktywności niezbędne jest działanie obu peptydów wchodzących w skład związku. Podklasa IIc składa się z bakteriocyn nazywanych *sec*-zależnymi (są wydzielane przez białka *sec*). Podklasa IId obejmuje bakteriocyny odbiegające budową oraz mechanizmem sekrecji i działania od pozostałych bakteriocyn klasy II.

Klasa III: Bakteriocyny o masie cząsteczkowej powyżej 30 kDa wytwarzane przede wszystkim przez pałeczki z rodzaju *Lactobacillus*. Cechuje je termolabilność (inaktywacja w temperaturze 60–100°C w czasie 10–15 minut).

Klasa IV: bakteriocyny, które aby uzyskać pełną aktywność bakteriobójczą wymagają obecności w cząsteczce związków lipidowych bądź węglowodanowych (CINTAS i współaut. 2001, GWIAZDOWSKA i TROJANOWSKA 2005, PHUMKHACHORN i RATTANACHAIKUN-SOPON 2010, SŁOŃSKA i KLIMUSZKO 2010).

Największe znaczenie przy wyborze szczepów do zastosowania jako kultury ochronne ma wytwarzanie bakteriocyn; obok kwasu mlekowego to one mają największe zdolności hamowania rozwoju mikroflory towarzyszącej. Produkcja kwasu mlekowego w dużych ilościach jest niewskazana, ponieważ wpływa on znacząco na cechy organoleptyczne produktu. Natomiast bakteriocyny są związkami charakteryzującymi się brakiem barwy, smaku oraz zapachu i nie wpływają na cechy organoleptyczne produktu. Szczepy, które mają znaleźć zastosowanie jako kultury ochronne w przemyśle mięsnym najczęściej izoluje się z mięsa i na podstawie badań laboratoryjnych wybiera te, które w największym stopniu spełniają oczekiwania. Wadą (choć w określonych sytuacjach również zaletą) bakteriocyn jest to, że mają wąskie spektrum działania (często na jeden ewentualnie kilka gatunków drobnoustrojów), w związku z tym poszukiwanie odpowiednich szczepów jest pracochłonne, a ich dobór odbywa się pod konkretne przeznaczenie. Z tego też powodu kultury ochronne często są kilkuszczepowe bądź gatunkowe, a każdy drobnoustrój pełni ściśle określoną rolę. Należy również pamiętać, że część zabiegów technologicznych jakim jest poddawana żywność może mieć negatywny wpływ na wydajność biosyntezy bakteriocyn przez drobnoustroje i/lub destabilizować ich aktywność (GÁLVEZ i współaut. 2007).

Wiele prac wskazuje na możliwość zastosowania bakterii fermentacji mlekowej i bakteriocyn do hamowania rozwoju lub inaktywacji *L. monocytogenes* oraz innych patogenów. W badaniach nad aplikacją bakteriocyn klasy IIa wykazano, że związki te w wielu produktach, zwłaszcza w kielbasach, mięsie mielonym, serach, rybach wędzonych na zimno i owocach morza, trwale lub przejściowo redukują liczebność chorobotwórczych dla człowieka bakterii *L. monocytogenes* (SIP i współaut. 2009). RAIMONDI i współaut. (2014) wykazali, że zastosowanie handlowych kultur ochronnych powoduje zahamowanie rozwoju *L. monocytogenes*. W próbach z dodatkiem bakterii fermentacji mlekowej następowało znaczne zmniejszenie liczby tego patogenu w ciągu 72 godzin. Zbliżone wyniki otrzymali również BENKERROUM i współaut. (2005) oraz LEROY i współaut. (2005), którzy potwierdzili, że zastosowanie *Lactobacillus curvatus* i *Lac. sakei*

może powodować zmniejszenie liczby *Listeria monocytogenes* i *L. innocua*. Natomiast badania CHAILLOU i współaut. (2014) wykazały możliwość zastosowania mieszaniny szczepów *Lactobacillus sakei* jako kultury ochronnej do mięsa wołowego.

W Tabeli 1 przedstawiono przykłady szczepów o zdolnościach wytwarzania bakteriocyn hamujących rozwój *L. monocytogenes*.

PODSUMOWANIE

Mimo że zastosowanie kultur ochronnych od lat było w zakresie zainteresowania naukowców, przemysł spożywczy podchodził do tych zagadnień z pewną rezerwą. Znacznie mniej kłopotliwe i bardziej skuteczne wydawało się stosowanie wszelkiego rodzaju konserwantów. Jednak w ostatnich latach można zaobserwować znaczne zmiany, głównie z powodu wzrostu świadomości konsumentów odnośnie wpływu skład-

Tabela 1. Bakteriocyny bakterii fermentacji mlekowej wykazujące aktywność hamowania rozwoju *Listeria monocytogenes* w mięsie i produktach mięsnych (CASTELLANO i współaut. 2008, SIP i współaut. 2009)

Szczep	Bakteriocyna	Klasa	Produkt
<i>Pediococcus acidilactici</i> PAC 1.0	pediocyna PA-1	IIa	kielbasy suche i drobiowe frankfurterki
<i>Lactobacillus plantarum</i> WHE 92	pediocyna AcH	IIa	plasterkowana i pakowana próżniowo kielbasa gotowana
<i>Lactobacillus plantarum</i> CTC305	plantarycyna A	II d	hiszpańskie kielbasy fermentowane
<i>Lactobacillus sake</i> MN	bawarycyna MN	IIa	wołowina
<i>Lactobacillus sakei</i> Lb790	sakacyna P	IIa	plastry kurczaka pakowane próżniowo
<i>Lactobacillus sakei</i> Lb706	sakacyna A	IIa	wołowina
<i>Lactobacillus sakei</i> Lb 06	sakacyna A	IIa	surowe kielbasy wieprzowe mielone mięso wołowe
<i>Lactococcus lactis</i> BB24	nizyna	Ia	hiszpańskie kielbasy fermentowane
<i>Lactobacillus curvatus</i> LTH1174	kurvacyna A	IIa	niemieckie produkty mięsne
<i>Carnobacterium piscicola</i> V1	piscikocyna V1a i V1b	IIa	łosoś wędzony na zimno, pakowany próżniowo
<i>Carnobacterium piscicola</i> JG126	piscikolina 126	IIa	szynka
<i>Carnobacterium piscicola</i> LV17B	karnobakteriocyna B2	IIa	mięso wołowe pakowane próżniowo
<i>Carnobacterium divergens</i> 750	diwergicyna 750	II d	mięso wołowe pakowane próżniowo
<i>Leuconostoc carnosum</i> TA11a	leukocyna A	IIa	mięso wołowe pakowane próżniowo
<i>Leuconostoc gelidum</i> UAL187	leukocyna A	IIa	mięso wołowe pakowane próżniowo
<i>Leuconostoc mesenteroides</i> UTA33a	leukocyna A	IIa	mięso wołowe pakowane próżniowo

ników żywności na ich zdrowie. Jednym z trendów obserwowanych obecnie w przemyśle spożywczym jest tzw. czyszczenie etykiet (ang. clean label), zgodnie z którym producenci żywności dążą do umieszczania na nich treści, które są jasne i zrozumiałe dla konsumentów. Ponadto, w swoich produktach ograniczają lub całkowicie eliminują stosowanie substancji dodatkowych, głównie w celu stworzenia produktów dających konsumentom gwarancję, że wyroby nie zawierają negatywnie kojarzonych dodatków, np. konserwantów. Z uwagi na małą trwałość mięsa oraz na możliwość rozwoju drobnoustrojów chorobotwórczych, wysoka higiena produkcji i dbałość o zachowanie łańcucha chłodniczego nie zawsze są wystarczające. Chociaż samo stosowanie kultur ochronnych może być niewystarczające do całkowitego zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego, coraz częściej stosowane są one w przetwórstwie mięsnym jako części technologii płótków (ang. hurdle technology), czyli jednego z wielu elementów mających zapewnić bezpieczeństwo produktu.

Na półkach sklepowych od pewnego czasu możemy znaleźć m.in. mięso mielone lub boczek surowy w plastrach, w skład którego, obok mięsa, soli i innych przypraw, wchodzi żywe kultury bakterii fermentacji mlekowej i wydaje się, że ten trend będzie się nasilał.

Streszczenie

Liczne badania dowodzą, że mięso i produkty mięsne są źródłem chorobotwórczych bakterii *Listeria monocytogenes*. Potrzebne są różne strategie do zabezpieczenia produktu finalnego, aby zapobiec zakażeniu konsumentów. W pracy scharakteryzowano pałeczki *Listeria monocytogenes* oraz kultury ochronne stosowane do hamowania ich wzrostu. Zwrócono również uwagę na możliwość praktycznego wykorzystania bakterii mlekowych i wydzielanych przez nie bakteriocyn.

LITERATURA

- AURELI P., FIORUCCI G. C., CAROLI D., MARCHIARO G., NOVARE O., LEONE L., 2000. *An outbreak of febrile gastroenteritis associated with corn contaminated by Listeria monocytogenes*. New. Eng. J. Med. 342, 1236-1241.
- BENKERROU N., DAOUDI A., HAMRAOUI T., GHALFI H., THIRY C., DUROY M., EVRART P., ROBLAIN D., THONART P., 2005. *Lyophilized preparations of Bacteriocinogenic Lactobacillus curvatus and Lactococcus lactis subsp. lactis as potential protective adjuncts to control Listeria monocytogenes in dry-fermented sausages*. J. Appl. Microbiol. 98, 56-63.
- CASTELLANO P., BELFIORE C., FADDA S., VIGNOLO, G., 2008. *A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina*. Meat Sci. 79, 483-499.
- CHAILLOU S., CHRISTIEANS S., RIVOLLIER M., LUCQUIN I., CHAMPOMIER-VERGES M. C., ZAGOREC M., 2014. *Quantification and efficiency of Lactobacillus sakei strain mixtures used as protective cultures in ground beef*. Meat Sci. 97, 332-338.
- CINTAS L. M., CASAUS M.P., HERRANZ C., NES I. F., HERNÁNDEZ P. E., 2001. *Bacteriocins of lactic acid bacteria*. Food Sci. Technol. Int. 7, 281-305.
- DALTON C. B., AUSTIN C. C., SOBEL J., HAYES P. S., BIBB W. F., GRAVES L. M., SWAMINATHAN B., PROCTOR M. E., 1997. *An outbreak of gastroenteritis and fever due to Listeria monocytogenes in milk*. New. Eng. J. Med., 336, 100-105.
- FARBER J. M., PETERKIN P. I., 1991. *Listeria monocytogenes – a foodborne pathogen*. Microbiol. Rev. 55, 476-511.
- GÁLVEZ A., ABRIQUEL H., LÓPEZ R.L., BEN OMAR N., 2007. *Bacteriocin-based strategies for food biopreservation*. Int. J. Food Microbiol. 120, 51-70.
- GANDHI M., CHIKINDAS M. L., 2007. *Listeria: a foodborne pathogen that knows how to survive*. Int. J. Food Microbiol. 113, 1-15.
- GLIŃSKI Z., KOSTRO K. 2012. *Listerioza współczesnym zagrożeniem*. Życie Weterynaryjne. 87, 55-581.
- GWIAZDOWSKA D., TROJANOWSKA K., 2005. *Bakteriocyny – właściwości i aktywność przeciwdrobnoustrojowa*. Biotechnologia. 1, 114-130.
- JANAKIRAMAN V., 2008. *Listeriosis in pregnancy: Diagnosis, Treatment and Prevention*. Rev. Obstet. Gynecol. 1, 179-185.
- KARAVIČOVÁ J., KOHAJDOWÁ Z., 2003. *Lactic acid fermented vegetable juice*. Horticult. Sci. 30, 152-158.
- KLAENHAMMER T. R., 1998. *Functional activities of Lactobacillus Probiotics: genetic mandate*. Int. Dairy J. 8, 497-505.
- KOLAKOWSKA A., MADAJCZAK G., 2011. *Pałeczki Listeria monocytogenes w zakażeniach ludzi*. Przegl. Epidemiol. 65, 57-62.
- KRAMARENKO T., ROASTO M., MEREMÄE K., KUNINGAS M., PÖLTSAMA P., ELIAS T., 2013. *Listeria monocytogenes prevalence and serotype diversity in various foods*. Food Control. 30, 24-29.
- LANCIOTTI R., PATRIGNANI F., BAGNOLINI F., GUERZONI M. E., 2003. *Evaluation of diacetyl antimicrobial activity against Escherichia coli, Listeria monocytogenes and Staphylococcus aureus*. Food Microbiol. 20, 537-543.
- LEROY F., LIEVENS K., DE VUYST L., 2005. *Interactions of meat-associated bacteriocin-producing Lactobacilli with Listeria innocua under stringent sausage fermentation conditions*. J. Food Prot. 68, 2078-2084.
- MCLAUCHLIN J., MITCHELL R. T., SMERDON W. J., JEWELL K., 2004. *Listeria monocytogenes and listeriosis: a review of hazard characterization for use in microbiological risk assessment of foods*. Int. J. Food Microbiol. 92, 15-33.
- PHUMKHACHORN P., RATTANACHAIKUNSON P., 2010. *Lactic acid bacteria: their antimicrobial compounds and their uses in food production*. Ann. Biol. Res. 1, 218-228.
- RAIMONDI S., POPOVIC M., AMATERTI A., DI GIOIA D., ROSII M., 2014. *Anti – Listeria Starters: In vitro selection and production plant evaluation*. J. Food Prot. 77, 837-842.
- ROBBINS J. R., BARTH A. I., MARQUIS H., DE HOSTOS E. L., NELSON W. J., THERIOT J. A., 1999. *Listeria monocytogenes exploits normal host cell processes to spread from cell to cell*. J. Cell Biol. 146, 1333-1350.
- SAVARD T., BEAULIEU C., GARDNER N. J., CHAMPAGNE C. P., 2002. *Characterization of spoil-*

- age yeast isolated from fermented vegetables and inhibition by lactic, acetic and propionic acids. *Food Microbiol.* 19, 363-373.
- SIP A., KRASOWSKA M., WIECKOWICZ M., 2009. Zastosowanie bakteriocyn klasy IIa bakterii fermentacji mlekowej. *Biotechnologia* 3, 129-147.
- SŁOŃSKA A., KLIMUSZKO D., 2010. Bakteriocyny probiotycznych pałeczek z rodzaju *Lactobacillus*. *Post. Mikrobiol.* 40, 87-96.
- SWAMINATHAN B., GERNER-SMIDT P., 2007. The epidemiology of human listeriosis. *Microbes Infect.* 9, 1236-1243.
- WING E. J., GREGORY S. H., 2002. *Listeria monocytogenes*: clinical and experimental update. *J. Infect. Dis.* 185, 18-24.

KOSMOS Vol. 66, 1, 59-65, 2017

ANNA ZADERNOWSKA, WIOLETA CHAJĘCKA-WIERZCHOWSKA, LUCYNA KŁEBUKOWSKA, URSZULA ZARZECKA,
ŁUCJA ŁANIEWSKA-TROKENHEIM

Chair of Industrial and Food Microbiology, Faculty of Food Science, University of Warmia and Mazury in Olsztyn, Plac Cieszyński 1,
10-719 Olsztyn, E-mail: anna.zadernowska@uwm.edu.pl

PROTECTIVE BACTERIAL CULTURES AND THEIR USE FOR INHIBITION OF GROWTH OF
LISTERIAMONOCYTOGENES IN MEAT AND MEAT PRODUCTS

Summary

Numerous investigations have provided evidence that meat and meat products are the source of pathological bacteria *Listeria monocytogenes*. Different strategies need to be applied in order to prevent consumers from contamination. In this review article, *Listeria monocytogenes* rods, and protective cultures of lactic acid bacteria able to inhibit their growth are characterized. The attention is also paid to the possibility of practical application of lactic acid bacteria and secreted by them bacteriocins.