

DOROTA GRABEK-LEJKO, MACIEJ KLUZ

Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii  
Uniwersytet Rzeszowski

## **BAKTERIE FERMENTACJI MLEKOWEJ I ICH METABOLITY – MOŻLIWOŚĆ ZASTOSOWANIA W BIOKONSERWACJI RYB I OWOCÓW MORZA**

LACTIC ACID BACTERIA AND THEIR METABOLITES –  
POTENTIAL BIOPRESERVATIVES IN FISH AND SEAFOOD

### **Abstrakt**

Wraz ze wzrostem świadomości żywieniowej konsumentów rozwijają się nowe zwyczaje żywieniowe i trendy kulinarne. Rośnie zainteresowanie produktami żywnościowymi nieprzetworzonymi lub jak najmniej przetworzonymi, bez stosowania chemicznych środków konserwujących. Dotyczy to również ryb i owoców morza. Z tego względu tradycyjne metody konserwacji są zastępowane przez nowoczesne, np. przez biokonserwację. Biokonserwacja to metoda wykorzystania niepatogennych mikroorganizmów i/lub ich metabolitów w celu poprawy bezpieczeństwa mikrobiologicznego oraz wydłużenia okresu trwałości produktów spożywczych. Bakterie fermentacji mlekowej (LAB) oraz produkty ich metabolizmu, takie jak bakteriocyny, kwasy organiczne, diacetyl, nadtlenek wodoru, dwutlenek węgla, mogą być z powodzeniem wykorzystywane jako biokonserwanty. LAB hamują wzrost patogenów i bakterii powodujących psucie się żywności, utrzymując jej świeżość i wydłużając okres przydatności do spożycia. Prace nad wykorzystaniem bakterii w produktach niefermentowanych, takich jak ryby i owoce morza, w których nie mogą zachodzić zmiany sensoryczne i modyfikacje składników odżywczych, rozpoczęto około 20 lat temu. W niniejszej pracy przedstawiono najnowsze doniesienia zastosowania LAB i ich metabolitów w konserwacji ryb i owoców morza, związane szczególnie z hamowaniem wzrostu bakterii patogennej *Listeria monocytogenes*, metody ich dozowania do żywności oraz możliwości synergistycznego łączenia z innymi metodami konserwacji żywności.

**Słowa kluczowe:** biokonserwacja, kultury ochronne, bakteriocyny, bakterie fermentacji mlekowej (LAB), produkty rybne, owoce morza

## Wstęp

Wraz ze wzrostem świadomości żywieniowej konsumentów rozwijają się nowe zwyczaje żywieniowe i trendy kulinarne. W dużej mierze dotyczą one zwiększenia udziału produktów rybnych w diecie: spożywanych na surowo (sushi, carpaccio, tatar), minimalnie przetworzonych (solone, piklowane, wędzone), gotowych do spożycia (obrane, ugotowane skorupiaki, parówki rybne), pakowanych próżniowo – VP (ang. *vacuum packed*) lub w modyfikowanej atmosferze – MAP (ang. *modified atmosphere packed*) (Domingo, 2016). Światowe spożycie ryb stopniowo rośnie i w 2016 roku wynosiło 20 kg na osobę (FAO, 2016).

Nawyki żywieniowe oraz styl życia są ściśle związane z co najmniej pięcioma spośród dziesięciu głównych przyczyn zgonów, włączając w to choroby serca, niektóre nowotwory, cukrzycę insulinozależną i insulinoniezależną, miażdżycę. W ciągu ostatnich 30 lat zintensyfikowano badania dotyczące dobroczynnych skutków spożywania ryb i owoców morza. Ich prozdrowotne działanie jest związane z obecnością kwasów tłuszczowych omega-3, białek, witamin i innych składników odżywczych. W wielu rejonach świata ryby i owoce morza są głównym źródłem białka w diecie (Bakkal i in., 2012). Według Amerykańskiego Towarzystwa Kardiologicznego ryby należy spożywać przynajmniej dwa razy w tygodniu (Domingo, 2016).

Ryby i produkty rybne ulegają szybkiemu psuciu. Wzrastająca tendencja do spożywania ryb w formie nieprzetworzonej lub minimalnie przetworzonej stwarza większe zagrożenie zatruciami pokarmowymi. Wykazano, że każdego roku 30% ludności w krajach uprzemysłowionych cierpi na choroby związane z konsumpcją nieświeżej żywności. W 2000 roku około 2 mln ludzi na świecie zmarło z powodu zatruc pokarmowych (Ghanbari i Jami, 2013). Za część tych przypadków są odpowiedzialne ryby i owoce morza. Psucie się ryb i owoców morza następuje wskutek zachodzących w nich reakcji chemicznych i enzymatycznych oraz aktywności mikroorganizmów (Gui i in., 2014). Wykazano, że 20% ryb i owoców morza jest wyrzucanych z powodu mikrobiologicznego rozkładu (FAO, 2011; Ghały i in., 2010; Leroi i in., 2015).

Zarówno konsumenci, jak i przemysł są zainteresowani wysoką jakością i długotrwałą świeżością produktów rybnych. W celu uzyskania ich odpowiedniej jakości i zapewnienia bezpieczeństwa mikrobiologicznego są stosowane różne metody mające na celu eliminację mikroorganizmów lub zahamowanie ich rozwoju podczas przechowywania. Konwencjonalne metody konserwacji żywności, takie jak: solenie, wędzenie, marynowanie, często nie mogą być stosowane w przypadku owoców morza, gdyż powodują zmiany sensoryczne tych delikatnych produktów, ponadto nie zawsze są w pełni akceptowalne przez konsumentów, którzy poszukują produktów konserwowanych mniejszą ilością soli czy też niższą temperaturą (Nagarajarao, 2016). Alternatywą dla standardowych metod konserwacji żywności jest biokonserwacja polegająca na wykorzystaniu naturalnych substancji przeciwdrobnoustrojowych.

## Mikroflora ryb

Patogeny ryb i owoców morza można podzielić na dwie grupy. Pierwsza z nich to bakterie naturalnie występujące w środowisku wodnym, jak np. *Vibrio vulnificus*, *V. parahaemolyticus*, *V. cholerae*, *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* czy *Aeromonas hydrophila*. W naturalnych warunkach organizmy te nie stanowią zagrożenia, gdyż występują w zbyt małej ilości, żeby powodować choroby. Ponadto odpowiednia obróbka termiczna zabija je, a także niszczy ich toksyczne metabolity. Niebezpieczeństwo wzrostu liczby mikroorganizmów pojawia się w momencie przechowywania żywności, spożywania jej w stanie surowym lub niewłaściwego przetwarzania. Do drugiej grupy mikroorganizmów zaliczamy te, które mogą się pojawić podczas przetwarzania, przechowywania czy przygotowywania do spożycia ryb i owoców morza. Te bakterie są również obecne podczas przetwarzania innych produktów spożywczych. Należą do nich: *Staphylococcus aureus*, *Salmonella* spp., *Shigella* spp., *Clostridium perfringens*, *C. botulinum*, *L. monocytogenes*, *Bacillus cereus*, *Yersinia enterocolitica* czy *Escherichia coli* (Ghanbari i Jami, 2013; Pilet i Leroi, 2010).

Zanieczyszczenia mikrobiologiczne na poziomie  $10^7$ – $10^9$  jtk/g powodują psucie się żywności oraz utratę jej przydatności do spożycia (Schelegueda i in., 2016).

Wśród niebezpiecznych dla człowieka patogenów, które mogą się pojawić na etapie przetwarzania czy przechowywania produktów rybnych, należy wymienić *L. monocytogenes*. To Gram-dodatni, fakultatywny beztlenowiec, mogący przetrwać w niekorzystnych warunkach, takich jak: niska temperatura, mała wartość pH czy też duże stężenie HCl. Cechy te utrudniają jego inaktywację i dlatego bakteria ta wielokrotnie była izolowana z produktów rybnych. Ponadto *L. monocytogenes* jest zdolna do tworzenia biofilmu, co zwiększa jej oporność na niekorzystne warunki środowiskowe. Po przedostaniu się do organizmu zwierzęcego lub ludzkiego powoduje niebezpieczne listeriozy (Schelegueda i in., 2016). W wielu pracach naukowych są opisywane możliwości wykorzystania procesów biokonserwacji do inaktywacji *L. monocytogenes* w rybach i owocach morza (tab. 1).

Tabela 1. Przykłady wykorzystania bakterii kwasu mlekowego i bakteriocyn w biokonserwacji ryb i owoców morza

Producent	Bakteriocyna	Utrwalany produkt	Efekt działania	Literatura
1	2	3	4	5
<i>Lactobacillus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	Nizyna	Świeży łosoś atlantycki pakowany próżniowo	Wydłużenie trwałości o 3 dni	Ibrahim i Vesterlund (2014)
<i>Lactobacillus pentosus</i>	Niezidentyfikowana	Filet łososia	Zmniejszenie liczebności bakterii <i>Aeromonas hydrophila</i> i <i>L.m.</i>	Anacarso i in. (2014)
<i>Pediococcus acidilactis</i>	Niezidentyfikowana	Wędzony łosoś	Całkowita eliminacja <i>L.m.</i>	Montiel i in. (2013)

Tabela 1 – cd.

1	2	3	4	5
Przemysłowo dostępne kultury probiotyczne	Niezidentyfikowana	Wędzony łosoś	Zmniejszenie liczebności <i>L.m.</i> w porównaniu z próbą kontrolną	Montiel i in. (2013)
<i>Carnobacterium piscicola</i> VI	Piscikolina VIa i VIb	Łosoś wędzony na zimno pakowany próżniowo	Zmniejszenie liczebności <i>L.m.</i> mniej więcej o jeden cykl logarytmiczny	Duffes i in. (1999)
<i>Lactobacillus sakei</i>	Sakacyna P	Łosoś wędzony na zimno	Zmniejszenie liczebności <i>L.m.</i> z $3 \times 10^3 - 5 \times 10^3$ jtk/g do 50 jtk/g po 28 dniach przechowywania w temp. 10°C	Katla i in. (2001)
<i>Lactobacillus curvatus</i> CWBI-B28	Niezidentyfikowana	Łosoś wędzony na zimno	Zmniejszenie liczebności <i>L.m.</i> poniżej limitu wykrywalności: 0,7 log jtk/cm <sup>2</sup> w ciągu tygodnia przechowywania w temp. 4°C	Ghalfi i in. (2006)
<i>Carnobacterium divergens</i> V41	Diwercyna V41	Łosoś wędzony na zimno	Hamowanie wzrostu <i>L.m.</i> w warunkach chłodniczych	Richard i in. (2003)
<i>Lactobacillus bavaricus</i> MI401	Bawarycyna A	Krewetki	Wydłużenie trwałości	Einarsson i Lauzon (1995)
<i>Carnobacterium piscicola</i> UI49	Karnobakteriocyna UI49			
<i>Lactobacillus sakei</i> MI401	Bawarycyna A	Solone krewetki	Wydłużenie trwałości z 10 do 16 dni	Messens i De Vuyst (2002)
<i>Lactobacillus paraplantarum</i> L-ZB1	Paraplantarycyna L-ZB1	Filet pstrąga tęczowego	Zahamowanie wzrostu Enterobacteriaceae, Pseudomonas spp. i bakterii tworzących spory oraz wydłużenie trwałości o 4–6 dni	Gui i in. (2014)
<i>Leuconostoc gelidum</i> EU2247	Niezidentyfikowana	Gotowane krewetki	Redukcja liczebności <i>Staphylococcus aureus</i> o 1,5 cyklu logarytmicznego jtk/g po 21 dniach przechowywania	Matamoros i in. (2009)

*L.m.* – *Listeria monocytogenes*.

## Biokonserwacja

Biokonserwacja to metoda polegająca na wykorzystaniu niepatogennych mikroorganizmów i/lub ich metabolitów w celu zwiększenia bezpieczeństwa microbiologicznego i wydłużenia trwałości żywności (Nath i in., 2013). Technologia ta opiera się na zaszczepieniu żywności niepatogennymi mikroorganizmami lub ich metabolitami, wyselekcjonowanymi do hamowania rozwoju niepożądanych mikroorganizmów (Ghanbari i Jami,

2013; Ghanbari i in., 2013; Pilet i Leroi, 2010). Biokonserwacja dotyczy głównie wykorzystania szczepów bakterii fermentacji mlekowej, które charakteryzują się zdolnością syntezy związków o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, ponadto nadają również żywności specyficzne walory smakowe (Ananou i in., 2007; Nath i in., 2013). Prace nad wykorzystaniem bakterii w produktach niefermentowanych, takich jak ryby i owoce morza, w których nie mogą zachodzić zmiany sensoryczne i modyfikacje składników odżywczych, rozpoczęto około 20 lat temu (Leroi i in., 2015).

W biokonserwacji mogą być wykorzystywane zarówno kultury ochronne, takie jak bakterie fermentacji mlekowej, jak i produkty ich metabolizmu – specyficzne bakteriocyny (Mikołajczuk-Szczyrba i in., 2015).

### **Bakterie fermentacji mlekowej jako kultury ochronne**

Kultury ochronne to wyselekcjonowane grupy mikroorganizmów, które dodawane do żywności chronią ją przed zepsuciem. Mogą one być również z powodzeniem wykorzystywane w ochronie ryb i owoców morza (Varsha i Nampoothiri, 2016).

Największy potencjał mają już wykorzystywane na szeroką skalę bakterie fermentacji mlekowej – LAB (ang. *lactic acid bacteria*), które produkują różne substancje przeciwbakteryjne, w tym bakteriocyny. Jak wskazują dane literaturowe, substancje te mogą hamować wzrost patogenów i mikroorganizmów odpowiadających za psucie się żywności. Bakterie fermentacji mlekowej to Gram-dodatnie ziarniaki lub pałeczki, względnie beztlenowe, które są zdolne do fermentacji węglowodanów i produkcji kwasu mlekowego. Bakterie te występują w wielu produktach spożywczych: w mleku, mięsie, fermentowanych warzywach i napojach. W przemyśle spożywczym bakterie te są znane jako organizmy hamujące wzrost patogenów i bakterii powodujących psucie się żywności, utrzymując właściwości odżywcze i wydłużając okres przydatności żywności do spożycia. Wytwarzają one związki hamujące wzrost bakterii, takie jak: kwasy organiczne (mlekowy i octowy), diacetyl, nadtlenuk wodoru czy bakteriocyny. Ponadto wpływają na aromat i właściwości organoleptyczne produktów (Ghanbari i Jami, 2013; Ghanbari i in., 2013; Jeevaratnam i in., 2005; Nath i in., 2013). Bakterie te nie stanowią zagrożenia dla człowieka, wręcz przeciwnie, niektóre z nich są zaliczane do probiotyków, pożądaných dla zdrowia (Cifuentes Bachmann i Leroy, 2015; Leroi i in., 2015). W tabelach 1 i 2 szczegółowo przedstawiono możliwości zastosowania bakterii fermentacji mlekowej i ich bakteriocyn do ochrony ryb i owoców morza.

### **Bakteriocyny**

Bakteriocyny to peptydy lub białka o małej masie cząsteczkowej, rzadko przekraczającej 10 kDa, wytwarzane przez wiele bakterii, zarówno Gram-dodatnich, jak i Gram-ujemnych, wykazujące właściwości przeciwbakteryjne. Ze względu na swoje zalety mogą być wykorzystywane jako alternatywa dla antybiotyków (Bali i in., 2016; Galvez i in., 2008). Wykazano, że bakteriocyny są nietoksyczne dla komórek eukariotycznych, posiadają tzw. status GRAS (ang. *Generally Regarded As Safe*). Mogą być łatwo degradowane przez enzymy proteolityczne, zwłaszcza proteazy przewodu pokarmowego ssaków. Dzięki temu ich spożywanie jest całkowicie bezpieczne dla człowieka (Galvez i in., 2008; Yang i in., 2014; Zacharof i Lovitt, 2012). Bakteriocyny są odporne na wysoką

Tabela 2. Przykłady wykorzystania bakterii kwasu mlekowego i bakteriocyn w połączeniu z pakowaniem próżniowym w biokonserwacji ryb i owoców morza

Producent	Bakteriocyna	Utrwalany produkt	Efekt działania	Literatura
<i>Carnobacterium divergens</i> V41	Diwercyna V41	Łosoś wędzony na zimno pakowany próżniowo 32 dni w temp. 5°C	Inhibicja 57 szczepów <i>L.m.</i> wyizolowanych z wędzonego łosia przez wszystkie szczepy <i>Carnobacterium divergens</i> .	Brillet i in. (2004)
<i>Carnobacterium piscicola</i> VI	Piscikolina VIa i VIb		<i>Carnobacterium divergens</i> V41 wykazywał najsilniejsze właściwości przeciwbakteryjne – utrzymywał poziom <i>L.m.</i> < 50 jtk/g podczas 4 tygodni przechowywania w próżni w temp. 4 i 8°C	
<i>Carnobacterium piscicola</i> SF668	Niezidentyfikowana			
<i>Carnobacterium divergens</i> M35 (10 <sup>6</sup> jtk/g)	Diwercyna M35	Łosoś wędzony na zimno pakowany próżniowo 21 dni w temp. 4°C	Redukcja <i>L.m.</i> o trzy cykle logarytmiczne jtk/g po 21 dniach przechowywania	Tahiri i in. (2009)
<i>Lactobacillus sakei</i> Lb790	Sakacyna P	Łosoś wędzony na zimno pakowany próżniowo	Zahamowanie wzrostu <i>L.m.</i> przez 3 tygodnie przy dawce 3,5 µg/g w temp. 10°C	Aasen i in. (2003)
<i>Lactococcus lactis</i>	Nizyna	Łosoś wędzony na zimno pakowany próżniowo	Nizyna (2000 IU/cm <sup>2</sup> powierzchni opakowania) redukowała ilość <i>L.m.</i> o 3,9 cyklu logarytmicznego jtk/cm <sup>2</sup> opakowania po 56 (4°C) i 49 (10°C) dniach przechowywania	Neetoo i in. (2008)
<i>Lactobacillus sakei</i> Lb706	Sakacyna A	Filety pstrąga tęczowego pakowane próżniowo	Zahamowanie wzrostu <i>L.m.</i> podczas przechowywania w temp. 4°C przez 10 dni i w temp. 10°C przez 3 dni	Aras Hisar i in. (2005)

*L.m.* – *Listeria monocytogenes*.

temperaturę, stabilne w szerokim zakresie pH, przy silnym zasoleniu (10%). Ponadto oczyszczone bakteriocyny nie zmieniają właściwości sensorycznych żywności, są bezbarwne, bezzapachowe i bez smaku (Perez i in., 2014). Bakteriocyny wykazują też dość wąskie w porównaniu z antybiotykami spektrum działania wobec bakterii, dzięki czemu nie dochodzi do rozwoju szerokiej oporności bakterii na bakteriocyny, co często obserwuje się w przypadku antybiotyków (Bakkal i in., 2012; Zacharof i Lovitt, 2012).

W ciągu ostatnich 30 lat klasyfikacja bakteriocyn podlegała wielu zmianom. Część naukowców dzieli je na cztery klasy (Gwiazdowska i Trojanowska, 2005; Klaenhammer, 1993; Sip i in., 2009; Tomaszewska i in., 2014), część na trzy (Nagao, 2009; Ołdak i Zielińska, 2017; Zacharof i Lovitt, 2012), a część nawet na dwie (Cotter i in., 2005). Poniżej przedstawiono podział bakteriocyn na cztery klasy według Klaenhammera (1993).

**Klasa I.** Lantybiotyki to niewielkie peptydy (< 5 kDa) charakteryzujące się dużą opornością termiczną i zawierające rzadko spotykane, specyficzne policykliczne aminokwasy tioeterowe, takie jak: lantionina,  $\alpha$ -metylolantionina oraz nienasycone aminokwasy: dehydroalaninę czy kwas dehydroaminomasłowy. Ze względu na różnice w budowie i aktywności dzieli się je na dwie podgrupy. Podgrupa A obejmuje fibrylarne peptydy, dodatkowo naładowane, których aktywność przejawia się poprzez tworzenie porów w błonie cytoplazmatycznej docelowych bakterii oraz depolaryzację błony cytoplazmatycznej. Do podgrupy B zalicza się globularne peptydy, o ładunku ujemnym, bądź w ogóle nie posiadające ładunku, których aktywność antybiotyczna polega na inhibicji specyficznych enzymów komórkowych. Do klasy tej należą m.in.: nizyna, nukacyna ISK-1, laktocyna 3147.

**Klasa II.** To największa klasa, do której należą bakteriocyny nielantybiotykowe. Są to niewielkie (< 10 kDa) termostabilne peptydy nieposiadające lantioniny (charakterystycznej dla klasy I). Niszczą komórki docelowe głównie przez permeabilizację błon komórkowych. Są podzielone na cztery główne podklasy. Podklasa IIa obejmuje bakteriocyny pediocynopodobne, które są bardzo skuteczne przeciwko bakteriom z rodzaju *Listeria*. Podklasa IIb składa się z bakteriocyn dwuskładnikowych. Ich pełna aktywność wymaga obecności dwóch oddzielnych peptydów, które działają synergistycznie, wzmacniając swe właściwości przeciwbakteryjne. Do podklasy IIc zalicza się cząsteczki o strukturze kołowej, szczególnie odporne na działanie proteaz i wykazujące aktywność antylisterijną. Podklasa IID zawiera wszystkie inne liniowe bakteriocyny, niemodyfikowane potranslacyjnie. Do II klasy należą m.in.: pediocyna AcH, leukocyna A, diwercyna V41, laktokocyna M, G, 972, diwergicyna A, munditicyna, entorocyna B, A, P, NKR-5-3C, X, diacetyna B.

**Klasa III.** To najmniej poznana grupa bakteriocyn. Należą do niej wrażliwe na temperaturę białka o dużej masie cząsteczkowej 30 kDa, np. helwetycyna czy kaseicyna. Obecnie część badaczy wyklucza tę grupę z bakteriocyn, określając cząsteczki bakteriolizynami (Cotter i in., 2005).

**Klasa IV.** Należą do niej bakteriocyny, które do swej pełnej aktywności wymagają obecności reszty lipidowej lub węglowodanowej. Przykładem są glikoproteiny: leukocyna S i laktocyna 27 oraz lipoproteiny: mesenterocyna 52 (Ghanbari i Jami, 2013; Gwiazdowska i Trojanowska, 2005; Ołdak i Zielińska, 2017; Perez i in., 2014; Sip i in., 2009; Tomaszewska i in., 2014; Vesković Moračanin i in., 2014; Zacharof i Lovitt, 2012). Ta grupa jest również wykluczana z bakteriocyn przez niektórych naukowców (Nagao, 2009; Ołdak i Zielińska, 2017; Zacharof i Lovitt, 2012).

Zastosowanie bakteriocyn w przemyśle mleczarskim i mięsnym ma długą historię. W ostatnich latach również wzrasta liczba publikacji opisujących pozytywne efekty ich przeciwdrobnoustrojowego działania w przemyśle rybnym i owoców morza (tab. 1, 2). Najczęstsze przykłady przeciwbakteryjnego działania bakterii kwasu mlekowego i bakteriocyn opisano głównie wobec bakterii *L. monocytogenes* w mięsie łososia i pstrąga, a także krewetek. Ponadto wiele artykułów dotyczy badań nad hamowaniem wzrostu *L. monocytogenes* w wędzonych rybach pakowanych próżniowo (Tocmo i in., 2014).

Najbardziej znana bakteriocyna wykorzystywana w przemyśle spożywczym to nizyna – produkowana przez *Lactococcus lactis* subsp. *lactis*. Nizyna jest aktywna przeciwko

bakteriom Gram-dodatnim, włączając w to bakteryjne spory. Ponadto, w połączeniu z chelatorami, wzrasta aktywność niszcząca wobec bakterii Gram-ujemnych, gdyż wzrasta przepuszczalność zewnętrznej ściany komórkowej bakterii (Calo-Mata i in., 2008). Jest to jedyna bakteriocyna wdrożona do przemysłu spożywczego (Zacharof i Lovitt, 2012). Została zarejestrowana w 1948 roku i dopuszczona jako dodatek do żywności (E-234) przez FAO i WHO i obecnie jest stosowana w ponad 48 krajach świata pod nazwą handlową Nisaplin®, Novasin™ (Gillco) czy Chrisin C® (Barbosa i in., 2017; Tomaszewska i in., 2014; Vesković Moračanin i in., 2014).

### Inne substancje przeciwbakteryjne wytwarzane przez LAB

Bakterie fermentacji mlekowej wydzielają również inne produkty o właściwościach przeciwbakteryjnych. Spośród nich można wymienić: nadtlenek wodoru, dwutlenek węgla, diacetyl oraz kwasy organiczne (Kang i in., 2014).

**Nadtlenek wodoru** jest wytwarzany przez bakterie fermentacji mlekowej w obecności tlenu, jako efekt działania oksydaz flawoproteinowych lub peroksydazy nukleotydu diaminoadeninowego (NADH). Przeciwbakteryjny efekt H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wynika z utleniania grup sulfydrylowych, co powoduje denaturację wielu enzymów, oraz z peroksydacji lipidów budujących osłonę komórkową, co zwiększa przepuszczalność osłon bakterii (Ghanbari i Jami, 2013).

**Dwutlenek węgla** odgrywa istotną rolę w powstawaniu środowiska beztlenowego, jest wytwarzany głównie przez bakterie heterofermentatywne. Środowisko beztlenowe hamuje enzymatyczną dekarboksylację i akumulację CO<sub>2</sub> w dwuwarstwie lipidowej błony, powodując zaburzenia w jej przepuszczalności. CO<sub>2</sub> efektywnie hamuje wzrost wielu mikroorganizmów powodujących psucie się żywności, szczególnie psychrotrofofowych bakterii Gram-ujemnych.

**Diacetyl** jest wytwarzany w procesie fermentacji cytrynowej przez bakterie heterofermentatywne. Działa on silnie bakteriobójczo w stosunku do Gram-ujemnych bakterii, a także wobec drożdży i pleśni, natomiast słabsze działanie wykazuje wobec bakterii Gram-dodatnich (Ghanbari i Jami, 2013).

Istotna rola bakterii fermentacji mlekowych jest związana również z ich zdolnością produkcji **kwasów organicznych**, które hamują niepożądaną florę bakteryjną, zwiększając bezpieczeństwo żywności i przedłużając jej trwałość. Fermentacja węglowodanów, glukozy, glikogenu, glukozy-6-fosforanu i niewielkich ilości rybozy zawartej w mięsie powoduje powstawanie kwasów w szlaku Embdena-Meyerhofa-Parnasa (glikoliza) lub w szlaku HMP (heksozomonofosforanowym). Przeciwbakteryjny efekt działania kwasów organicznych jest związany ze zmniejszeniem wartości pH środowiska. LAB zmniejszają wartość pH do takiego poziomu, który hamuje lub zabija bakterie gnilne (np. z rodzajów *Clostridium*, *Pseudomonas*), patogenne (np. *Salmonella* spp., *Listeria* spp.) i toksynotwórcze (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Clostridium botulinum*). Również niezdysonansowany kwas, ze względu na rozpuszczalność w tłuszczach, może przeniknąć do wnętrza komórki bakteryjnej, zmniejszając wartość jej pH, co wpływa na hamowanie metabolizmu w przypadku Enterobacteriaceae (np. wzrost *E. coli* jest hamowany przy wartości pH około 5,1) (Ghanbari i Jami, 2013).



## Metody wprowadzania bakteriocyn do żywności

Bakteriocyny mogą być aplikowane do żywności poprzez: (i) zaszczepianie produktów spożywczych bakteriami fermentacji mlekowej (LAB), które następnie wytwarzają bakteriocyny, (ii) wprowadzenie oczyszczonej lub częściowo oczyszczonej bakteriocyny, (iii) wprowadzenie do żywności produktu poddanego wcześniej fermentacji z wykorzystaniem bakterii mających zdolność produkcji bakteriocyn (Tomaszewska i in., 2014).

Bakteriocyny syntetyzowane *ex situ* mogą być rozpylane na powierzchni produktu spożywczego, jak również produkt może być moczony w roztworze zawierającym bakteriocyny. Możliwe jest również dozowanie *in situ*: w postaci koncentratu bakterii, które wytwarzają bakteriocyny w produkcie spożywczym. Sukcesywne uwalnianie się bakteriocyn z opakowania podczas przechowywania produktu spożywczego może być bardziej skuteczne niż moczenie czy rozpylanie bakteriocyn na powierzchni produktu spożywczego. Bezpośredni kontakt bakteriocyn z żywnością może skutkować jej inaktywacją przez składniki żywności lub zmniejszać jej stężenie do poziomu poniżej wymaganego, wskutek migracji do wnętrza produktu spożywczego (Vesković Moračanin i in., 2014; Zacharof i Lovitt, 2012). Bakteriocyny mogą również wiązać się do cząstek żywności, tym samym zmieniając stopień rozpuszczalności, lub ograniczać ich dyfuzję (Ghanbari i Jami, 2013; Tocmo i in., 2014).

Bakteriocyny mogą być immobilizowane na odpowiednich nośnikach, które sukcesywnie dozują i rozprowadzają stężony roztwór bakteriocyn do żywności. Ponadto nośniki te chronią bakteriocyny przed potencjalną inaktywacją enzymatyczną przez enzymy obecne w żywności (Vesković Moračanin i in., 2014; Zacharof i Lovitt, 2012).

Bakteriocyny mogą być oplatane lub adsorbowane do powierzchni polimerów wykorzystywanych do pakowania żywności. Mogą też być bezpośrednio wbudowywane do polimeru, z którego są produkowane opakowania. Istnieje wiele opisanych metod immobilizacji bakteriocyn. Możliwa jest adsorpcja na komórkach mikroorganizmów wytwarzających bakteriocyny (Yang i in., 1992), na cząsteczkach krzemu, sproszkowanej skrobi kukurydzianej (Coventry i in., 1996) czy też mogą być one kapsułkowane w liposomach (Degan i Luchansky, 1992). Mogą być również wbudowywane w żele i filmy wykonane z różnych materiałów, np. z alginianu wapnia, żelatyny, celulozy, kolagenu, celofanu, nylonu czy innych polimerów (Daeschel i in., 1992).

Należy jednak pamiętać, że rodzaj bakterii fermentacji mlekowej, czy też bakteriocyn, musi być odpowiednio dobrany do rodzaju żywności i musi się opierać na bardzo dokładnej selekcji szczepów. Wzrost tych szczepów nie może być hamowany przez składniki żywności, którą mają chronić, nie mogą one zmieniać struktury i smaku żywności, muszą przetrwać i rosnąć podczas przetwarzania i przechowywania żywności, ponadto przez cały ten czas muszą wytwarzać wystarczające ilości bakteriocyn, aby całkowicie hamować wzrost mikroorganizmów patogennych i powodujących psucie się żywności (Vesković Moračanin i in., 2014; Zacharof i Lovitt, 2012).

## Przykłady synergistycznego zastosowania różnych metod konserwacji

Połączenie bakteriocyn z obecnie stosowanymi w przemyśle rybnym metodami konserwacji ma bardzo duży potencjał gwarantujący świeżość i wydłużenie okresu przydatności do spożycia poprzez hamowanie procesów rozkładu mikrobiologicznego żywności (Bakkal i in., 2012). Skuteczność działania bakterii fermentacji mlekowej i bakteriocyn można zwiększyć poprzez stosowanie ich w kombinacji z chemicznymi konserwantami żywności (chlorkiem sodu, sacharozą i innymi cukrami, azotanami, kwasami organicznymi i ich solami) (Sip i in., 2009).

Dodanie nizinny do wędzonego na zimno łosia powoduje bakteriobójczy efekt wobec *L. monocytogenes*, ale o wiele lepszy efekt jest uzyskiwany w synergistycznym działaniu nizinny z solami kwasów organicznych (Kang i in., 2014). Ponadto zwiększenie efektywności bakteriocyn można uzyskać, stosując je w połączeniu z nietermicznymi metodami konserwowania żywności (wysokie ciśnienie UHP, zmienne pole elektryczne PEF, pakowanie w modyfikowanej atmosferze MAP czy też pakowanie próżniowe VP). Przykłady zastosowania LAB i bakteriocyn oraz pakowania próżniowego opisano w tabeli 2. Zastosowanie nizinny w połączeniu z NaCl w stężeniu 5% oraz pakowaniem w modyfikowanej atmosferze powodowało wydłużenie przydatności do spożycia filetów z dorady przechowywanych w temperaturze 0°C do 48 dni, w porównaniu z 10 dniami w przypadku próby kontrolnej (Tsironi i Taoukis, 2010). Równie efektywnie był hamowany wzrost *Listeria innocua*, *Shewanella putrefaciens* i bakterii psychrofilnych z zastosowaniem synergistycznego działania nizinny, chitozanu i mleczanu sodu (Schelegueda i in., 2016). Bakteriocynty mogą być wykorzystywane do konstruowania aktywnych opakowań (Calo-Mata i in., 2008; Gálvez i in., 2008; Neetoo i in., 2008; Pilet i Leroi, 2010).

Aktywność bakteriocyn można również zwiększyć poprzez stosowanie układów złożonych z kilku bakteriocyn (o podobnym lub odmiennym zakresie działania). Badano wpływ prokariotycznych bakteriocyn wytwarzanych przez LAB: pediocyny PA-1, sakacyny P i kurwacyny A z eukariotyczną plerocydyną (wyizolowaną z ryb) na wzrost *Listeria ivanovii* oraz *E. coli*. Wykazano, że wszystkie bakteriocyny prokariotyczne hamują *L. ivanovii* w stężeniu nanomolarnym, natomiast nie hamują wzrostu *E. coli*. Sama plerocydyna hamowała wzrost obu bakterii, ale w stężeniu mikromolarnym. Nie zaobserwowano synergistycznego działania wszystkich bakteriocyn wobec *L. ivanovii*, natomiast działanie to było widoczne w stosunku do *E. coli*. Dodanie bakteryjnych bakteriocyn w nanomolarnych stężeniach zwiększało czterokrotnie przeciwbakteryjne działanie pleurocydyny, natomiast w stężeniach mikromolarnych całkowicie hamowało wzrost *E. coli*. Badania te wyraźnie pokazują, że istnieje synergistyczne działanie bakteriocyn pochodzenia prokariotycznego i eukariotycznego wobec bakterii (Lüders i in., 2003).

Bakteriocyny mogą być również wykorzystywane bezpośrednio w celach higienicznych. W Japonii zastosowano nizinę A do produkcji żelu do mycia rąk. Stabilność i bioaktywność żelu do rąk z niziną była większa niż standardowego żelu (Pilet i Leroi, 2010).

Wykazano również, że *Lactobacillus sakei* i produkowana przez ten szczep sakacyna I mogą skutecznie hamować początkowe fazy adhezji bakterii *L. monocytogenes* na abiotycznych powierzchniach, takich jak stal (Winkelströter i in., 2011).

Poza zastosowaniem w konserwacji żywności bakterie wyizolowane z ryb produkujące bakteriocyny mogą być wykorzystywane jako probiotyki, kultury starterowe do fermentowanych produktów rybnych (Cifuentes Bachmann i Leroy, 2015).

## Podsumowanie

Bakterie fermentacji mlekowej oraz ich metabolity, głównie bakteriocyny, mogą być idealnym biokonserwantem wykorzystywanym w konserwacji żywności, w tym ryb i owoców morza. Mogą być wykorzystywane oddzielnie lub, co się coraz częściej zdarza, w połączeniu z innymi metodami konserwacji, zwiększając ich właściwości bakteriobójcze. Ponadto w ostatnich badaniach podkreśla się możliwość ich zastosowania w coraz bardziej popularnych opakowaniach aktywnych. LAB i ich produkty mają ogromny potencjał w metodach biokonserwacji żywności, jednakże taki sposób ich wykorzystania w produktach rybnych jest stosunkowo nowy i wymaga pełnej akceptacji przez producentów i konsumentów ryb i owoców morza. Pierwsze wdrożenia do przemysłu można zaobserwować we Francji, gdzie kultury ochronne w postaci startera LLO zastosowano do przedłużenia trwałości gotowanych krewetek pakowanych w MAP, jak również do ograniczenia wydzielania histaminy w tuńczyku przechowywanym w temperaturze 5°C (Pilet i Leroi, 2010).

## Literatura

- Aasen, I. M., Markussen, S., Møretro, T., Katla, T., Axelsson, L., Naterstad, K. (2003). Interactions of the bacteriocins sakacin P and nisin with food constituents. *Int. J. Food Microbiol.*, 87, 1–2, 35–43. [http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605\(03\)00047-3](http://dx.doi.org/10.1016/S0168-1605(03)00047-3)
- Anacarso, I., Messi, P., Condò, C., Iseppi, R., Bondi, M., Sabia, C., de Niederhäusern, S. (2014). A bacteriocin-like substance produced from *Lactobacillus pentosus* 39 is a natural antagonist for the control of *Aeromonas hydrophila* and *Listeria monocytogenes* in fresh salmon fillets. *LWT – Food Sci. Technol.*, 55, 2, 604–611. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.10.012>
- Ananou, S., Maqueda, M., Martínez-Bueno, M., Valdivia, E. (2007). Biopreservation, an ecological approach to improve the safety and shelf-life of foods. W: A. Méndez-Vilas (red.), *Communicating current research and educational topics and trends in applied microbiology* (s. 475–486). Badajoz, Spain: Formatex.
- Aras Hisar, Ş., Kaban, G., Hisar, O., Yanik, T., Kaya, M. (2005). Effect of *Lactobacillus sakei* Lb706 on behavior of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed rainbow trout fillets. *Turk. J. Vet. Anim. Sci.*, 29, 4, 1039–1044.
- Bakkal, S., Robinson, S. M., Riley, M. A. (2012). Bacteriocins of aquatic microorganisms and their potential applications in the seafood industry. W: E. D. Carvalho, G. S. David, R. J. Silva (red.), *Health and environment in aquaculture* (s. 303–328). Rijeka: InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/28302>
- Bali, V., Panesar, P. S., Bera, M. B., Kennedy, J. F. (2016). Bacteriocins: recent trends and potential applications. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 56, 5, 817–834. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2012.729231>

- Barbosa, A. A. T., Mantovani, H. C., Jain, S. (2017). Bacteriocins from lactic acid bacteria and their potential in the preservation of fruit products. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 3, 1–13. <http://dx.doi.org/10.1080/07388551.2016.1262323>
- Brillet, A., Pilet, M. F., Prevost, H., Bouttefroy, A., Leroi, F. (2004). Biodiversity of *Listeria monocytogenes* sensitivity to bacteriocin-producing *Carnobacterium* strains and application in sterile cold-smoked salmon. *J. Appl. Microbiol.*, 97, 5, 1029–1037. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1365-2672.2004.02383.x>
- Calo-Mata, P., Arlindo, S., Boehme, K., de Miguel, T., Pascoal, A., Barros-Velazquez, J. (2008). Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. *Food Bioprocess Technol.*, 1, 1, 43–63. <http://dx.doi.org/10.1007/s11947-007-0021-2>
- Cifuentes Bachmann, D. E., Leroy, F. (2015). Use of bioprotective cultures in fish products. *Curr. Opin. Food Sci.*, 6, 19–23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cofs.2015.11.009>
- Cotter, P. D., Hill, C., Ross, R. P. (2005). Bacteriocins: developing innate immunity for food. *Nat. Rev. Microbiol.*, 3, 10, 777–788. <http://dx.doi.org/10.1038/nrmicro1273>
- Coventry, M. J., Gordon, J. B., Alexander, M., Hickey, M. W., Wan, J. (1996). A food-grade process for isolation and partial purification of bacteriocins of lactic acid bacteria that uses diatomite calcium silicate. *Appl. Environ. Microbiol.*, 62, 5, 1764–1769.
- Daeschel, M. A., McGuire, J., Al-Makhlafi, H. (1992). Antimicrobial activity of nisin adsorbed to hydrophilic and hydrophobic silicon surfaces. *J. Food Prot.*, 55, 9, 731–735. <https://dx.doi.org/10.4315/0362-028X-55.9.731>
- Degnan, A. J., Luchansky, J. B. (1992). Influence of beef tallow and muscle on the antilisterial activity of pediocin AcH and liposome-encapsulated pediocin AcH. *J. Food Prot.*, 55, 7, 552–554. <https://dx.doi.org/10.4315/0362-028X-55.7.552>
- Domingo, J. L. (2016). Nutrients and chemical pollutants in fish and shellfish. Balancing health benefits and risks of regular fish consumption. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, 56, 6, 979–988. <http://dx.doi.org/10.1080/10408398.2012.742985>
- Duffès, F., Corre, Ch., Leroi, F., Dousset, X., Boyaval, P. (1999). Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *in situ* produced and semipurified bacteriocins of *Carnobacterium* spp. on vacuum-packed, refrigerated cold-smoked salmon. *J. Food Prot.*, 62, 12, 1394–1403. <https://dx.doi.org/10.4315/0362-028X-62.12.1394>
- Einarsson, H., Lauzon, H. L. (1995). Biopreservation of brined shrimp (*Pandalus borealis*) by bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 61, 2, 669–676.
- FAO. (2011). Global food losses and food waste. Extent, causes and prevention. Study conducted for the International Congress SAVE FOOD! at Interpack2011, Düsseldorf, Germany. Rome: FAO. <http://www.fao.org/docrep/014/mb060e/mb060e.pdf>
- FAO. (2016). The state of world fisheries and aquaculture 2016. Contributing to food security and nutrition for all. Rome: FAO. <http://www.fao.org/3/a-i5555e.pdf>
- Gálvez, A., López, R. L., Abriouel, H., Valdivia, E., Omar, N. B. (2008). Application of bacteriocins in the control of foodborne pathogenic and spoilage bacteria. *Crit. Rev. Biotechnol.*, 28, 2, 125–152. <http://dx.doi.org/10.1080/07388550802107202>
- Ghali, H., Allaoui, A., Destain, J., Benkerroum, N., Thonart, P. (2006). Bacteriocin activity by *Lactobacillus curvatus* CWBI-B28 to inactivate *Listeria monocytogenes* in cold-smoked salmon during 4 degrees C storage. *J. Food Prot.*, 69, 5, 1066–1071. <http://hdl.handle.net/2268/3824>
- Ghaly, A. E., Dave, D., Budge, S., Brooks, M. S. (2010). Fish spoilage mechanisms and preservation techniques: review. *Am. J. Appl. Sci.*, 7, 7, 859–877. <http://dx.doi.org/10.3844/ajassp.2010.859.877>
- Ghanbari, M., Jami, M. (2013). Lactic acid bacteria and their bacteriocins: a promising approach to seafood biopreservation. W: M. Kongo (red.), *Lactic acid bacteria – R & D for food, health and livestock purposes* (s. 381–404). Rijeka: InTech. <http://dx.doi.org/10.5772/50705>

Grabek-Lejko, D., Kluz, M. (2017). Bakterie fermentacji mlekowej i ich metabolity – możliwość zastosowania w biokonserwacji ryb i owoców morza. *Nauka Przyr. Technol.*, 11, 2, 207–221. <http://dx.doi.org/10.17306/J.NPT.00194>

- Ghanbari, M., Jami, M., Domig, K. J., Kneifel, W. (2013). Seafood biopreservation by lactic acid bacteria – a review. *LWT – Food Sci. Technol.*, 54, 2, 315–324. <http://dx.doi.org/10.1016/j.lwt.2013.05.039>
- Gui, M., Zhao, B., Song, J., Zhang, Z., Peng, Z., Li, P. (2014). Paraplantaricin L-ZB<sub>1</sub>, a novel bacteriocin and its application as a biopreservative agent on quality and shelf life of rainbow trout fillets stored at 4°C. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, 174, 6, 2295–2306. <http://dx.doi.org/10.1007/s12010-014-1160-3>
- Gwiazdowska, D., Trojanowska, K. (2005). Bakteriocyny – właściwości i aktywność przeciwdrobnoustrojowa. *Biotechnologia*, 1, 114–130.
- Ibrahim, F., Vesterlund, S. (2014). *Lactococcus lactis* ssp. *lactis* as protective culture in vacuum-packed raw salmon (*Salmo salar*). *J. Aquat. Food Prod. Technol.*, 23, 6, 601–607. <http://dx.doi.org/10.1080/10498850.2012.747579>
- Jeevaratnam, K., Jamuna, M., Bawa, A. S. (2005). Biological preservation of foods–Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Indian J. Biotechnol.*, 4, 4, 446–454. <http://hdl.handle.net/123456789/5759>
- Kang, J., Stasiewicz, M. J., Murray, D., Boor, K. J., Wiedmann, M., Bergholz, T. M. (2014). Optimization of combinations of bactericidal and bacteriostatic treatments to control *Listeria monocytogenes* on cold-smoked salmon. *Int. J. Food Microbiol.*, 179, 1–9. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2014.03.017>
- Katla, T., Møretro, T., Aasen, I. M., Holck, A., Axelsson, L., Naterstad, K. (2001). Inhibition of *Listeria monocytogenes* in cold smoked salmon by addition of sakacin P and/or live *Lactobacillus sakei* cultures. *Food Microbiol.*, 18, 4, 431–439. <http://dx.doi.org/10.1006/fmic.2001.0420>
- Klaenhammer, T. R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *FEMS Microbiol. Rev.*, 12, 1–3, 39–85. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1574-6976.1993.tb00012.x>
- Leroi, F., Cornet, J., Chevalier, F., Cardinal, M., Coeuret, G., Chaillou, S., Joffraud, J.-J. (2015). Selection of bioprotective cultures for preventing cold-smoked salmon spoilage. *Int. J. Food Microbiol.*, 213, 79–87. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2015.05.005>
- Lüders, T., Birkemo, G. A., Fimland, G., Nissen-Meyer, J., Nes, I. F. (2003). Strong synergy between a eukaryotic antimicrobial peptide and bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 69, 3, 1797–1799. <http://dx.doi.org/10.1128/AEM.69.3.1797-1799.2003>
- Matamoros, S., Leroi, F., Cardinal, M., Gigout, F., Kasbi Chadli, F., Cornet, J., Prévost, H., Pilet, M. F. (2009). Psychrotrophic lactic acid bacteria used to improve the safety and quality of vacuum-packaged cooked and peeled tropical shrimp and cold-smoked salmon. *J. Food Prot.*, 72, 2, 365–374.
- Messens, W., De Vuyst, L. (2002). Inhibitory substances produced by *Lactobacilli* isolated from sourdoughs – a review. *Int. J. Food Microbiol.*, 72, 1–2, 31–43.
- Mikołajczuk-Szczyrba, A., Młynarczyk, I., Goncerzewicz, A., Misiewicz, A. (2015). Bakterie fermentacji mlekowej w przemyśle spożywczym. *Przem. Spoż.*, 69, 10, 32–35. <http://dx.doi.org/10.15199/65.2015.10.5>
- Montiel, R., Bravo, D., Medina, M. (2013). Commercial biopreservatives combined with salt and sugar to control *Listeria monocytogenes* during smoked salmon processing. *J. Food Prot.*, 76, 8, 1463–1465. <http://dx.doi.org/10.4315/0362-028X.JFP-12-560>
- Nagao, J.-i. (2009). Properties and applications of lantibiotics, a class of bacteriocins produced by Gram-positive bacteria. *J. Oral Biosci.*, 51, 3, 158–164.
- Nagarajarao, R. Ch. (2016). Recent advances in processing and packaging of fishery products. *Aquat. Proced.*, 7, 201–213. <http://dx.doi.org/10.1016/j.aqpro.2016.07.028>
- Nath, S., Chowdhury, S., Sarkar, S., Dora, K. C. (2013). Lactic acid bacteria – a potential biopreservative in sea food industry. *Int. J. Adv. Res.*, 1, 6, 471–475.
- Neetoo, H., Ye, M., Chen, H., Joerger, R. D., Hicks, D. T., Hoover, D. G. (2008). Use of nisin-coated plastic films to control *Listeria monocytogenes* on vacuum-packaged cold-smoked

- salmon. *Int. J. Food Microbiol.*, 122, 1–2, 8–15. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2007.11.043>
- Ołdak, A., Zielińska, D. (2017). Bakteriocyny bakterii fermentacji mlekowej jako alternatywa antybiotyków. *Post. Hig. Med. Dośw.*, 71, 328–338.
- Perez, R. H., Zendo, T., Sonomoto, K. (2014). Novel bacteriocins from lactic acid bacteria (LAB): various structures and applications. *Microb. Cell Fact.*, 13, Suppl. 1, S3. <http://dx.doi.org/10.1186/1475-2859-13-S1-S3>
- Pilet, M.-F., Leroi, F. (2010). Applications of protective cultures, bacteriocins and bacteriophages in fresh seafood and seafood products. W: Ch. Lacroix (red.), *Protective cultures, antimicrobial metabolites and bacteriophages for food and beverage biopreservation* (s. 324–347). Zurich: Woodhead Publishing. Woodhead Publ. Ser. Food Sci. Technol. Nutr., 201.
- Richard, C., Brillet, A., Pilet, M. F., Prévost, H., Drider, D. (2003). Evidence on inhibition of *Listeria monocytogenes* by divercin V41 action. *Lett. Appl. Microbiol.*, 36, 5, 288–292. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1472-765X.2003.01310.x>
- Schelegueda, L. I., Zalazar, A. L., Gliemmo, M. F., Campos, C. A. (2016). Inhibitory effect and cell damage on bacterial flora of fish caused by chitosan, nisin and sodium lactate. *Int. J. Biol. Macromol.*, 83, 396–402. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2015.11.033>
- Sip, A., Krasowska, M., Więckowicz, M. (2009). Zastosowanie bakteriocyn klasy IIa bakterii fermentacji mlekowej. *Biotechnologia*, 86, 3, 129–147.
- Tahiri, I., Desbiens, M., Kheadr, E., Lacroix, Ch., Fliss, I. (2009). Comparison of different application strategies of divergicin M35 for inactivation of *Listeria monocytogenes* in cold-smoked wild salmon. *Food Microbiol.*, 26, 8, 783–793. <http://dx.doi.org/10.1016/j.fm.2009.05.003>
- Tocmo, R., Krizman, K., Khoo, W. J., Phua, L. K., Kim, M., Yuk, H.-G. (2014). *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed smoked fish products: occurrence, routes of contamination, and potential intervention measures. *Compr. Rev. Food Sci. Food Saf.*, 13, 2, 172–189. <http://dx.doi.org/10.1111/1541-4337.12052>
- Tomaszewska, M., Grzesińska, W., Bilska, B., Trafiałek, J. (2014). Charakterystyka bakteriocyn jako naturalnych konserwantów żywności. *Post. Tech. Przetw. Spoż.*, 1, 84–89.
- Tsironi, T. N., Taoukis, P. S. (2010). Modeling microbial spoilage and quality of gilthead seabream fillets: combined effect of osmotic pretreatment, modified atmosphere packaging, and nisin on shelf life. *J. Food Sci.*, 75, 4, M243–M251. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1750-3841.2010.01574.x>
- Varsha, K. K., Nampoothiri, K. M. (2016). Appraisal of lactic acid bacteria as protective cultures. *Food Control*, 69, 61–64. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2016.04.032>
- Vesković Moračanin, S. M., Đukić, D. A., Memiši, N. R. (2014). Bacteriocins produced by lactic acid bacteria – a review. *Acta Period. Technol.*, 45, 271–283. <http://dx.doi.org/10.2298/APT1445271V>
- Winkelströter, L. K., Gomes, B. C., Thomaz, M. R. S., Souza, V. M., De Martinis, E. C. P. (2011). *Lactobacillus sakei* 1 and its bacteriocin influence adhesion of *Listeria monocytogenes* on stainless steel surface. *Food Control*, 22, 8, 1404–1407. <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodcont.2011.02.021>
- Yang, R., Johnson, M. C., Ray, B. (1992). Novel method to extract large amounts of bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl. Environ. Microbiol.*, 58, 10, 3355–3359.
- Yang, Sh.-Ch., Lin, Ch.-H., Sung, C. T., Fang, J.-Y. (2014). Antibacterial activities of bacteriocins: application in foods and pharmaceuticals. *Front. Microbiol.*, 5, art. 241, 1–10. <https://dx.doi.org/10.3389/fmicb.2014.00241>
- Zacharof, M. P., Lovitt, R. W. (2012). Bacteriocins produced by lactic acid bacteria – a review article. *APCBEE Proc.*, 2, 50–56. <http://dx.doi.org/10.1016/j.apcbee.2012.06.010>

## LACTIC ACID BACTERIA AND THEIR METABOLITES – POTENTIAL BIOPRESERVATIVES IN FISH AND SEAFOOD

### Abstract

There is growing demand for unprocessed or minimally processed food products without chemical preservatives. This tendency can also be observed in seafood. Therefore, traditional methods of preservation are being replaced by modern ones, e.g. biopreservation. Biopreservation is the use of non-pathogenic microorganisms and/or their metabolites to improve microbiological safety and extend the shelf life of foods. Lactic acid bacteria (LAB) and products of their metabolism, such as bacteriocins, organic acids, hydrogen peroxide, diacetyl and carbon dioxide can be successfully used as biopreservatives. LAB inhibit the growth of pathogenic and food-spoiling bacteria, keep food fresh and extend its shelf life. About 20 years ago research began on the use of bacteria in non-fermented products such as fish and seafood, where sensory changes and nutrient modifications cannot occur. This article describes the latest reports on the use of these substances to preserve fish and fishery products, especially to provide protection from pathogenic bacteria *Listeria monocytogenes*. Moreover, the article presents methods of dosage into foods and synergistic combinations with other methods of food preservation.

**Keywords:** biopreservation, protective cultures, bacteriocins, lactic acid bacteria (LAB), fish products, seafood

*Adres do korespondencji – Corresponding address:*

*Dorota Grabek-Lejko, Katedra Biotechnologii i Mikrobiologii, Uniwersytet Rzeszowski, ul. Zelwerowicza 4, 35-959 Rzeszów, Poland, e-mail: dorobek@o2.pl*

*Zaakceptowano do opublikowania – Accepted for publication:*

*30.06.2017*

*Do cytowania – For citation:*

*Grabek-Lejko, D., Kluz, M. (2017). Bakterie fermentacji mlekowej i ich metabolity – możliwość zastosowania w biokonserwacji ryb i owoców morza. *Nauka Przyn. Technol.*, 11, 2, 207–221. <http://dx.doi.org/10.17306/J.NPT.00194>*