

## Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society

Vol 54, No 1 (2003)



### Bacteriocins of lactic acid bacteria and their application on food as biopreservatives. (II)

J. METAXOPOULOS (Ι. ΜΕΤΑΞΟΠΟΥΛΟΣ), M. MATARAGAS (Μ. ΜΑΤΑΡΑΓΚΑΣ), E. H. DROSINOS (Ε.Χ. ΔΡΟΣΙΝΟΣ)

doi: [10.12681/jhvms.15221](https://doi.org/10.12681/jhvms.15221)

#### To cite this article:

METAXOPOULOS (Ι. ΜΕΤΑΞΟΠΟΥΛΟΣ) J., MATARAGAS (Μ. ΜΑΤΑΡΑΓΚΑΣ) Μ., & DROSINOS (Ε.Χ. ΔΡΟΣΙΝΟΣ) E. H. (2017). Bacteriocins of lactic acid bacteria and their application on food as biopreservatives. (II). *Journal of the Hellenic Veterinary Medical Society*, 54(1), 69–77. <https://doi.org/10.12681/jhvms.15221>

## Βακτηριοσίνες των οξυγαλακτικών βακτηρίων και εφαρμογή τους στα τρόφιμα ως βιοσυντηρητικών. (II)

I. Μεταξόπουλος, Μ. Μатарάγκας,  
Ε.Χ. Δροσινός

**ΠΕΡΙΛΗΨΗ.** Τα οξυγαλακτικά βακτήρια παράγουν μια ποικιλία από μικρού μοριακού βάρους ουσίες, οι οποίες παρουσιάζουν αντιμικροβιακές ιδιότητες. Τέτοιες ουσίες είναι τα οργανικά οξέα, οι αλκοόλες, το διοξείδιο του άνθρακα, το διακετύλιο, το υπεροξείδιο του υδρογόνου και οι βακτηριοσίνες. Πολλές από αυτές τις αντιμικροβιακές ουσίες διαθέτουν μεγάλο αντιμικροβιακό φάσμα δράσης, αλλά οι βακτηριοσίνες έχουν στενό αντιμικροβιακό φάσμα αναστέλλοντας συγγενικά προς το παραγωγό στέλεχος είδη. Τα τελευταία χρόνια μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζουν οι βακτηριοσίνες των οξυγαλακτικών βακτηρίων, οι οποίες έχουν την ικανότητα να αναστέλλουν την ανάπτυξη παθογόνων βακτηρίων, όπως της *Listeria monocytogenes*. Ο όρος βιοσυντήρηση των τροφίμων αναφέρεται στην αύξηση του χρόνου συντήρησης των τροφίμων, καθώς και στην καλύτερη υγιεινή των τροφίμων από μικροβιολογική άποψη, χρησιμοποιώντας είτε τα οξυγαλακτικά βακτήρια τα οποία είναι ικανά να παράγουν βακτηριοσίνες ή άλλες αντιμικροβιακές ουσίες είτε τα μεταβολικά τους προϊόντα. Στην ανασκόπηση αυτή θα αναφερθούν οι διάφορες βακτηριοσίνες, οι οποίες έχουν απομονωθεί από τα οξυγαλακτικά βακτήρια, και θα συζητηθεί η πιθανή εφαρμογή των μικροοργανισμών που παράγουν βακτηριοσίνες ή των βακτηριοσινών τους στις διάφορες κατηγορίες των τροφίμων, ως προστατευτικών καλλιεργειών ή ως προστατευτικών ουσιών, αντίστοιχα.

**Λέξεις ευρετηρίασης:** Βακτηριοσίνες, οξυγαλακτικά βακτήρια, βιοσυντήρηση, προστατευτικές καλλιεργείες, ασφάλεια τροφίμων

### ΕΙΣΑΓΩΓΗ

Οι βακτηριοσίνες που παράγονται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια είναι πρωτεϊνικής φύσης ουσίες, οι οποίες κατατάσσονται σε κατηγορίες (κλάσεις) ανάλογα με: τη δομή τους, το μοριακό τους βάρος και τη θερμοανθεκτικότητά τους. Οι περισσότερες μελετημένες βακτηριοσίνες είναι αυτές που ανήκουν στην κλάση II, οι οποίες πα-

## Bacteriocins of lactic acid bacteria and their application on food as biopreservatives. (II)

Metaxopoulos J., Mataragas M., Drosinos E.H.

**ABSTRACT.** Lactic acid bacteria produce a variety of small molecular weight compounds, which have antimicrobial properties. Such substances are: organic acids, alcohols, carbon dioxide, diacetyl, hydrogen peroxide and bacteriocins. Many of these compounds have a wide inhibitory spectrum but the bacteriocins are able to inhibit species, namely, related with the bacteriocin-producing strain. In the last years bacteriocins have gained a lot of concern because some of them are able to inhibit the growth of pathogenic bacteria, like *Listeria monocytogenes*. The term "biopreservation" refers to the extension of storage life, as well as to the enhancement of the food safety, using the bacteriocin-producing lactic acid strains or their metabolic antibacterial products. In this review will be reported bacteriocins, which are produced by the lactic acid bacteria and will be discussed the potential application of the bacteriocinogenic strains or their bacteriocins on the foods, as protective cultures or as protective compounds, respectively.

**Key words:** Bacteriocins, lactic acid bacteria, biopreservation, protective cultures, food safety.

ρουσιάζουν αντιμικροβιακή δράση έναντι του γένους *Listeria*. Η παραγωγή των βακτηριοσινών σχετίζεται με τη μικροβιακή ανάπτυξη και εξαρτάται από τις συνθήκες του περιβάλλοντος ανάπτυξης, όπως pH, θερμοκρασία, αερισμός, θρεπτικά συστατικά. Η ιδιότητα των βακτηριοσινών αυτών να αναστέλλουν την ανάπτυξη παθογόνων μικροοργανισμών, είχε ως αποτέλεσμα οι επιστήμονες να επι-

Γεωπονικό Πανεπιστήμιο Αθηνών, Τμήμα Επιστήμης και Τεχνολογίας Τροφίμων, Εργαστήριο Ποιοτικού Ελέγχου και Υγιεινής Τροφίμων και Ποτών, Ιερά Οδός 75, 118 55 Αθήνα, Ελλάδα

Ημερομηνία υποβολής: 16.10.2001  
Ημερομηνία εγκρίσεως: 17.01.2002

Agricultural University of Athens, Department of Food Science and Technology, Laboratory of Food Quality Control and Hygiene, 75, Iera Odos, 118 55 Athens, Greece

Submission date: 16.10.2001  
Approval date: 17.01.2002



κεντρώσουν το ενδιαφέρον τους στην αναζήτηση εναλλακτικών μορφών συντήρησης των τροφίμων με πιο φυσικό τρόπο, χωρίς τη χρήση χημικών συντηρητικών. Αυτό σημαίνει την εφαρμογή των οξυγαλακτικών βακτηρίων, ως προστατευτικών καλλιέργειών (protective cultures) ή των μεταβολικών τους προϊόντων, κυρίως ενζύμων και βακτηριοσινών. Σήμερα τα οξυγαλακτικά βακτήρια χρησιμοποιούνται ως εκκινητές (starters) σε διάφορα προϊόντα ζυμώσεως, επειδή διαμορφώνουν τα επιθυμητά οργανοληπτικά χαρακτηριστικά και παράλληλα παρεμποδίζουν την αύξηση των παθογόνων μικροβίων. Ορισμένες φορές γίνεται ένας διαχωρισμός μεταξύ των εκκινητών και των προστατευτικών καλλιεργειών. Στην πραγματικότητα όμως μπορεί να είναι η ίδια καλλιέργεια, η οποία χρησιμοποιείται για διαφορετικούς σκοπούς και κάτω από διαφορετικές συνθήκες. Για τους εκκινητές η παραγωγή οξέων έχει μεγάλο τεχνολογικό ενδιαφέρον, ενώ η αντιμικροβιακή δράση τους μπορεί να αποτελεί ένα δευτερεύον χαρακτηριστικό, αλλά για τις προστατευτικές καλλιεργειές αυτό αποτελεί τον πρώτο και κύριο στόχο της εφαρμογής τους, δηλαδή να έχουν την ικανότητα παραγωγής αντιμικροβιακών ουσιών.

## Βακτηριοσίνες των οξυγαλακτικών βακτηρίων

### 1.1 Γενικά

Ένας μεγάλος αριθμός βακτηριοσινών παράγεται από τα οξυγαλακτικά βακτήρια μεταξύ των οποίων συμπεριλαμβάνονται τα γένη *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Enterococcus* και *Carnobacterium*. Οι περισσότερες από αυτές παρουσιάζουν στενό φάσμα δράσης και μόνο μερικές έχουν δράση εναντίον και παθογόνων βακτηρίων, όπως η νισίνη, η πεδιοσίνη, η σακακίνη Α, η μεσεντεροσίνη κ.ά.

Εξαιτίας του μεγάλου αριθμού των βακτηριοσινών που έχουν βρεθεί, θα αναφερθούν παρακάτω μόνο κάποιες από τις ιδιότητες των διάφορων βακτηριοσινών (Πίνακες 1-5) και ορισμένα γενικά στοιχεία για την κάθε κατηγορία μικροοργανισμών που τις παράγουν.

#### 1.1.1 Βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος *Lactococcus* spp.

Αυτή η κατηγορία είναι γνωστή και ως στρεπτόκοκκοι των γαλακτοκομικών προϊόντων. Είναι μεσόφιλοι μικροοργανισμοί με άριστη θερμοκρασία ανάπτυξης 20-45 °C<sup>7</sup>. Παραδείγματα βακτηριοσινών που παράγονται από αυτούς τους μικροοργανισμούς δίνονται στον Πίνακα 1. Η βακτηριοσίνη που μελετήθηκε περισσότερο από αυτή την κατηγορία είναι η νισίνη, η οποία παράγεται από τον *Lactococcus lactis* spp. *lactis*, επειδή παρεμποδίζει την πλειονότητα των Gram (+) βακτηρίων, μεταξύ των οποίων περιλαμβάνονται και τα γένη *Bacillus* και *Clostridium*<sup>1,3,7</sup>. Η νισίνη ανήκει στα λαντιβιοτικά και είναι ένα πολυκυκλικό πεπτίδιο με υψηλή περιεκτικότητα σε ακόρεστα αμινοξέα (δεϋδροαλανίνη και δεϋδροβουτυρίνη) και θειοαιθερικά αμινοξέα [λανθειονίνη (Ala-S-Ala) και β-μεθυλολανθειονίνη (Aba-S-Ala; Aba: αμινοβουτυρικό οξύ)]<sup>2,4,5,6</sup>. Τα μειονεκτήματα της νισίνης είναι η αντίδρασή της με τα

φωσφολιπίδια του τροφίμου με αποτέλεσμα την απενεργοποίησή της και η χαμηλή της διαλυτότητα σε pH γύρω στο 6,0, γι' αυτό και η εφαρμογή της στο κρέας είναι περιορισμένη<sup>2,7</sup>. Άλλοι παράγοντες που περιορίζουν την εφαρμογή της στο κρέας είναι οι εξής: δεν επιδρά εναντίον όλων των μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοιώσεις ή εναντίον των παθογόνων μικροοργανισμών, που απαντούν στο κρέας, καθώς επίσης ότι ο μικροοργανισμός που παράγει τη νισίνη, ο *Lactococcus lactis*, δεν αναπτύσσεται στα κατεψυγμένα κρέατα<sup>7</sup>.

#### 1.1.2 Βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος *Lactobacillus* spp.

Οι λακτοβάκιλλοι είναι μικροοργανισμοί που έχουν απομονωθεί από αρκετά τρόφιμα όπως γαλακτοκομικά προϊόντα και κρέας και εμφανίζουν περιορισμένο φάσμα δράσης<sup>1,3,4,6,7</sup>. Οι μικροοργανισμοί που έχουν απομονωθεί από το κρέας και τα προϊόντα του και έχουν αντιβακτηριακή δράση είναι κυρίως στελέχη του *Lactobacillus sakei* (Πίνακας 2)<sup>1,2,4,6,7</sup>. Η σακακίνη Α που παράγεται από τον *Lactobacillus sakei* Lb706 παρουσιάζει δράση εναντίον άλλων οξυγαλακτικών βακτηρίων αλλά και εναντίον της *Listeria monocytogenes*<sup>7</sup>. Η χρήση του βακτηρίου *L. sakei* ή της σακακίνης Α στο κρέας περιορίζεται επειδή: 1) η αντιμικροβιακή δράση είναι πολύ μικρότερη σε σύγκριση με αυτή που παρατηρείται όταν ο μικροοργανισμός αναπτύσσεται σε συνθετικό θρεπτικό υπόστρωμα, 2) η βακτηριοσίνη παρουσιάζει σταδιακή απώλεια της δραστητικότητάς της με το χρόνο και 3) το αντιμικροβιακό φάσμα της βακτηριοσίνης δεν περιλαμβάνει όλους τους Gram (+) παθογόνους μικροοργανισμούς ή τους μικροοργανισμούς που προκαλούν αλλοιώσεις στο κρέας<sup>1,3,4,7</sup>. Επιπλέον, η χρήση του βακτηρίου *Lactobacillus sakei* στο κρέας περιορίζεται και από το γεγονός της σημαντικής μείωσης του pH, σε περίπτωση παρουσίας επαρκών ποσοτήτων ζυμώμενων υδατανθράκων. Η μείωση όμως αυτή του pH είναι ανεπιθύμητη για προϊόντα κρέατος που δεν υφίσταται ζύμωση<sup>7</sup>.

#### 1.1.3 Βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος *Carnobacterium* spp.

Το γένος αυτό είχε αρχικά περιγραφεί ως *Lactobacillus*, αλλά διακρίνεται από τους λακτοβακύλλους, από την ικανότητά του να αναπτύσσεται σε υψηλό pH (8,5-9,5), να παράγει L-(+)-γαλακτικό οξύ και από την αδυναμία του να αναπτυχθεί σε στερεά θρεπτικά υποστρώματα παρουσία οξικού οξέος (pH 5,6)<sup>7</sup>. Οι βακτηριοσίνες που έχουν μελετηθεί αρκετά είναι αυτή που παράγεται από το *Carnobacterium divergens* L66 και από το *Carnobacterium piscicola*, οι οποίοι έχουν απομονωθεί από το κρέας (Πίνακας 3)<sup>6,7</sup>. Η βακτηριοσίνη που παράγεται από το *Carnobacterium piscicola* UAL26 οφείλεται σε χρωμόσωμα και παρατηρείται η παραγωγή της στα τελευταία στάδια της λογαριθμικής φάσης αύξησης του μικροοργανισμού. Το στέλεχος είναι δραστικό εναντίον μεγάλου αριθμού Gram (+) βακτηρίων συμπεριλαμβανομένων των γενών *Bacillus* και *Clostridium*<sup>7</sup>. Οι βακτηριοσίνες που παράγονται όμως από το *Carnobacterium piscicola* LV17 ο-



**Πίνακας 1.** Βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος *Lactococcus* spp.\***Table 1.** Bacteriocins produced by *Lactococcus* spp.

Βακτηριοσίνη	Παραγωγό στέλεχος	MB (Da) Σταθερότητα Ευαισθησία	Τρόπος δράσης	Αντιμικροβιακό φάσμα δράσης	Παραγωγή	Γονίδιο
Diplococcin Διπλοκοκκίνη	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 346	5300, ευαίσθητη στη χυμοτρυψίνη τρυψίνη, προνάση, πεψίνη και θερμοκρασία > 4 °C	αναστολή σύνθεσης DNA, RNA, μείωση της πρωτεϊνικής σύνθεσης	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> και <i>cremoris</i>	Στα αρχικά στάδια της στατικής φάσης αύξησης	Πλασμίδιο 83 kb
Lactostrepcins Λακτοστρεπτοκίνες	Στελέχη του <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> , <i>cremoris</i> , <i>diacetylactis</i> που δεν παράγουν νισίνη	>10000, ανθεκτικές στους 121 °C για 10 min, σε pH < 5,0, ευαίσθητες στην τρυψίνη, προνάση, χυμοτρυψίνη, λιπάσες και pH > 7,0	Δεν έχει καθοριστεί	Lactococci, Group A, C, G των streptococci, <i>Bacillus cereus</i> , <i>Lactobacillus helveticus</i> , <i>Lb. citrovorum</i> , <i>Lb. paracitrovorum</i>	Στα αρχικά στάδια της λογαριθμικής φάσης αύξησης	Δεν έχει καθοριστεί
Lactostrepcin 5 Λακτοστρεπτοκίνη 5	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 202	> 20000, ανθεκτική στους 121 °C για 10 min, σε pH < 5,0, ευαίσθητες στην τρυψίνη, προνάση, λιπάση A	απάλεια ιόντων, διακοπή της μεταφοράς ουριδίνης, αναστολή σύνθεσης DNA, RNA και πρωτεϊνικής σύνθεσης	Lactococci	Στα αρχικά στάδια της λογαριθμικής φάσης αύξησης	Δεν έχει καθοριστεί
Lactococcin I Λακτοκοκκίνη I	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> AC1	6000, ανθεκτική στους 100 °C για 30 min, σε pH 4,5-7,0, ευαίσθητη στα πρωτεολυτικά ένζυμα	Δεν έχει καθοριστεί	Lactococci, κλωστηρίδια	Στη λογαριθμική φάση αύξησης	Πλασμίδιο 60 kb
Lactococcin A Λακτοκοκκίνη A	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> LMG2130, 9B4 <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>diacetylactis</i> WM4	3400, ανθεκτική στους 20 °C σε 60 % αιθανόλη, σε pH 7,3 σε 2,5 mM φωσφορικό νάτριο, στους 100 °C για 30 min, στην χυμοτρυψίνη, ευαίσθητη στην πρωτεάση και τρυψίνη	απάλεια των ενδοκυτταρικών συστατικών	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> και <i>diacetylactis</i> , κλωστηρίδια	Στο τέλος της λογαριθμικής φάσης αυξήσεως και στα αρχικά στάδια της στατικής φάσης αύξησης	Πλασμίδιο 55 kb, 60 kb, και 131,1 kb
Lactococcins M και N Λακτοκοκκίνες M και N	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 9B4	αποτελείται από 69 αμινοξέα	Δεν έχει καθοριστεί	Δεν έχει καθοριστεί	Δεν έχει καθοριστεί	Πλασμίδιο 60 kb
Lactococcin B Λακτοκοκκίνη B	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>cremoris</i> 9B4	5300	Δεν έχει καθοριστεί	Δεν έχει καθοριστεί	Δεν έχει καθοριστεί	Πλασμίδιο 60 kb
Nisin Νισίνη	Διάφορα στελέχη <i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i>	3500, ανθεκτική στους 100 °C για 10 min, στην προνάση, στην τρυψίνη, στην πεψίνη κάτω από όξινες συνθήκες, ευαίσθητη στη χυμοτρυψίνη	εκροή των αμινοξέων και των κατιόντων, διαταραχή του δυναμικού της μεμβράνης	Lactococci, bacilli, micrococci, <i>S. aureus</i> και κλωστηρίδια	Στη λογαριθμική φάση αύξησης	Πλασμίδιο
Lacticin 481 Λακτισίνη 481	<i>Lactococcus lactis</i> subsp. <i>lactis</i> CNRZ 481	1300-2700, ανθεκτική στους 100 °C για 1 ώρα, ευαίσθητη στα πρωτεολυτικά ένζυμα	Δεν έχει καθοριστεί	Lactococci, lactobacilli, leuconostocs, <i>Cl. tyrobutyricum</i>	Στα αρχικά στάδια της στατικής φάσης αύξησης	Πλασμίδιο

\*: Βασισμένος σε στοιχεία από τη βιβλιογραφική παραπομπή 6.

φeyλονται σε πλασμίδιο. Ο μικροοργανισμός παράγει δύο βακτηριοσίνες, η μία παράγεται στα τελευταία στάδια της ανάπτυξης, ενώ η άλλη στα αρχικά στάδια<sup>6,7</sup>. Το πλεονέκτημα της χρήσης του γένους αυτού στο κρέας είναι η ικανότητα μερικών στελεχών να παράγουν βακτηριοσίνη στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης. Βέβαια το αντιμικροβιακό φάσμα δράσης και εδώ είναι περιορισμένο, καθώς δεν περιλαμβάνει όλους τους μικροοργανισμούς που προκαλούν αλλοιώσεις και τους παθογόνους μικροοργανισμούς του κρέατος<sup>7</sup>.

#### 1.1.4 Βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος *Leuconostoc* spp.

Έχουν αναφερθεί αρκετές βακτηριοσίνες οι οποίες παράγονται από το γένος αυτό (Πίνακας 4). Η πιο πρόσφατη που έχει περιγραφεί είναι αυτή του *Leuconostoc gelidum*, η οποία είναι δραστική εναντίον των οξυγαλακτικών βακτηρίων και τριών στελεχών της *Listeria monocytogenes*, αλλά δεν παρεμποδίζει την ανάπτυξη σπορογόνων Gram (-) και Gram (+) βακτηρίων. Η βακτηριοσίνη είναι θερμοανθεκτική (100 °C για 60 min) και παρά-

**Πίνακας 2.** Βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος *Lactobacillus* spp.\***Table 2.** Bacteriocins produced by *Lactobacillus* spp.

Βακτηριοσίνη	Παραγωγό στέλεχος	MB (Da) Σταθερότητα Ευαισθησία	Τρόπος δράσης	Αντιμικροβιακό φάσμα δράσης	Παραγωγή	Γονίδιο
Fermenticin Φερμεντισίνη	<i>Lactobacillus fermenti</i>	Ανθεκτική στους 96 °C για 30 min, ουρία, λυσοζύμη, ευαίσθητη στην τρυψίνη, πεψίνη	Δεν έχει καθοριστεί	<i>Lactobacilli</i>		Δεν έχει καθοριστεί
Plantaricin A ΠλανταρισίνηΑ	<i>L.plantarum</i> C-11	>8000, ανθεκτική στους 100 °C για 30 min, σε pH 4-6,5, ευαίσθητη στην πρωτεάση	Δεν έχει καθοριστεί	<i>Lactobacilli</i> , <i>pediococci</i> , <i>leuconostocs</i> , <i>lactococci</i>	Στη λογαριθμική φάση αύξησης	Δεν έχει καθοριστεί
Plantaricin B ΠλανταρισίνηB	<i>L.plamtarum</i> NCDO1103	ευαίσθητη στην λιπάση, αμυλάση, προνάση, πεψίνη, τρυψίνη, χυμοτρυψίνη	Δεν έχει καθοριστεί	<i>Lb.plantarum</i> , <i>Leuconostoc mesenteroides</i> , <i>P.damnus</i>		Δεν έχει καθοριστεί
Sakacin A Σακακίνη Α	<i>L.sakei</i> 706	ανθεκτική στους 100 °C για 20 min, ευαίσθητη στην τρυψίνη, πεψίνη	Δεν έχει καθοριστεί	<i>Leuconostocs</i> , <i>lactobacilli</i> , <i>enterococci</i> , <i>L.monocytogenes</i>	Στη λογαριθμική φάση αύξησης	Πλασμίδιο 27,7 kb
Sakacin M Σακακίνη Μ	<i>L.sakei</i> 148	4640, ανθεκτική στους 80 °C για 60 min, σε pH 4-6,5, ευαίσθητη στην τρυψίνη, πεψίνη, παπαίνη, πρωτεάσες	Βακτηριοστατική	<i>Lactobacilli</i> , <i>leuconostocs</i> , <i>carnobacteria</i> , <i>L.monocytogenes</i> , <i>S.aureus</i>		Δεν έχει καθοριστεί
Sakacin P Σακακίνη Ρ	<i>L.sakei</i> LTH673	3000-5000, ανθεκτική στους 100 °C για 7 min, στην πεψίνη, ευαίσθητη στην πρωτεϊνάση K, τρυψίνη	Δεν έχει καθοριστεί	<i>Lactobacilli</i> , <i>leuconostocs</i> , <i>carnobacteria</i> , <i>enterococci</i> , <i>Brochothrix thermosphacta</i>		Δεν έχει καθοριστεί
Lactocin S Λακτοσίνη S	<i>L.sakei</i> L45	>13700, ανθεκτική στους 100 °C για 60 min, ευαίσθητη στην πρωτεάση, τρυψίνη	Δεν έχει καθοριστεί	<i>Pediococci</i> , <i>leuconostocs</i> , <i>lactobacilli</i>	Στο τέλος της λογαριθμικής φάσης αύξησης	Πλασμίδιο 50 kb
Curvacin A Κουρβασίνη Α	<i>L.curvatus</i> LTH1174	3000-5000, ανθεκτική στους 100 °C για 3 min, στην πεψίνη, ευαίσθητη στην πρωτεϊνάση K και τρυψίνη	Δεν έχει καθοριστεί	<i>Lactobacilli</i> , <i>leuconostocs</i> , <i>carnobacteria</i> , <i>micrococci</i> , <i>staphylococci</i> , <i>L.monocytogenes</i>		Δεν έχει καθοριστεί
Brevicin Μπρεβισίνη	<i>L.brevis</i> 37	>10000, ανθεκτική στους 121 °C για 60 min, σε pH 1-11, ευαίσθητη στην προνάση E, τρυψίνη, χλωροφόρμιο και σε pH > 12	Δεν έχει καθοριστεί	<i>Pediococci</i> , <i>leuconostocs</i> , <i>lactobacilli</i>		Δεν έχει καθοριστεί
Caseicin 80 Κασεΐσίνη 80	<i>L.casei</i> B80	40000-42000, ανθεκτική σε pH < 5,0, ευαίσθητη στην προνάση E, τρυψίνη, σε θ > 60 °C και σε pH > 5,0	Δεν έχει καθοριστεί	<i>Lb.casei</i>		Δεν έχει καθοριστεί
Plantaricin BN Πλανταρισίνη BN	<i>L.plantarum</i> BN	10000, ανθεκτική στους 100 °C για 5 min	Βακτηριοκτόνος	<i>Lb.sakei</i>		Δεν έχει καθοριστεί
Bavaracin MN Μπαβαρισίνη MN	<i>L.bavaricus</i> MN	22600, ανθεκτική στους 100 °C για 5 min	Βακτηριοκτόνος	<i>Lb. sakei</i>		Δεν έχει καθοριστεί

\*: Βασισμένοι σε στοιχεία από τη βιβλιογραφική παραπομπή 6.

συνέχεια ▸

γεται στα αρχικά στάδια της ανάπτυξης, αλλά η δράση της είναι κυρίως βακτηριοστατική παρά βακτηριοκτόνος<sup>3,6,7</sup>.

### 1.1.5 Βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος *Pediococcus* spp.

Οι βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος αυτό

φαίνονται στον Πίνακα 5. Η πεδιοσίνη Α που παράγεται από τον *Pediococcus pentosaceus* FBB61, ο οποίος έχει απομονωθεί από προϊόντα φυτικής προέλευσης, είναι δραστική εναντίον αρκετών παθογόνων μικροοργανισμών, όπως *Clostridium botulinum*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*<sup>2,3,4,5,6,7</sup>. Από προϊόντα κρέατος έχει

**Πίνακας 2** (Συνέχεια) **Table 2** (Continue)

Βακτηριοσίνη	Παραγωγό στέλεχος	MB (Da) Σταθερότητα Ευαισθησία	Τρόπος δράσης	Αντιμικροβιακό φάσμα δράσης	Παραγωγή	Γονίδιο
Lactocin 27 Λακτοσίνη 27	<i>L. helveticus</i> LP27	12400, ανθεκτική στους 100 °C για 60 min, φικίνη, χλωροφόρμιο, ευαίσθητη στην τρυψίνη, προνάση	Εκροή ιόντων από τα κύτταρα	<i>Lb. acidophilus</i> , <i>Lb. helveticus</i>		χρωμόσωμα
Helveticin J Ελβετισίνη J	<i>L. helveticus</i> 481	37000, ανθεκτική στη λιπάση και λυσοζύμη, ευαίσθητη στη θέρμανση, προνάση, τρυψίνη, πεψίνη, πρωτεϊνάση	Δεν έχει καθοριστεί	<i>Lb. bulgaricus</i> , <i>Lb. lactis</i> , <i>Lb. helveticus</i>	Στο τέλος της λογαριθμικής φάσης και στην αρχή της στατικής φάσης αύξησης	χρωμόσωμα
Helveticin V-1829 Ελβετισίνη V-1829	<i>L. helveticus</i> V-1829	ανθεκτική στους 45 °C για 120 min, σε pH 2,5-6,5, ευαίσθητη στην πρωτεϊνάση K, προνάση, τρυψίνη, φικίνη, σε pH > 7 και σε θ = 50 °C για 30 min	Δεν έχει καθοριστεί	Lactobacilli	Κατά τη λογαριθμική φάση αύξησης	χρωμόσωμα
Lactacin F Λακτασίνη F	<i>L. acidophilus</i> 11088	2500, ανθεκτική στους 121 °C για 15 min, ευαίσθητη στην φικίνη, τρυψίνη και πρωτεϊνάση K	Δεν έχει καθοριστεί	Lactobacilli, <i>E. faecalis</i>		χρωμόσωμα
Lactacin B Λακτασίνη B	<i>L. acidophilus</i> N2	8100, ανθεκτική στους 121 °C για 3 min, στη β-μερκαπτοαιθανόλη και στην ουρία, ευαίσθητη στην πρωτεϊνάση K και στην προνάση	Δεν έχει καθοριστεί	Lactobacilli	Στα αρχικά στάδια της στατικής φάσης ανάπτυξης	χρωμόσωμα

**Πίνακας 3.** Βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος *Carnobacterium* spp.\***Table 3.** Bacteriocins produced by *Carnobacterium* spp.

Βακτηριοσίνη	Παραγωγό Στέλεχος	MB (Da) Σταθερότητα Ευαισθησία	Τρόπος δράσης	Αντιμικροβιακό φάσμα δράσης	Παραγωγή	Γονίδιο
Carnobacteriocin A1, A2, A3 Καρνοβακτηριοσίνη A1, A2, A3	<i>Carnobacterium piscicola</i> LV17A	5100, 5123, 5127, ανθεκτικές στους 62 °C για 30 min, ευαίσθητες σε πρωτεολυτικά ένζυμα	Δεν έχει καθοριστεί	Οξυγαλακτικά βακτήρια	Στα αρχικά στάδια της αύξησης	Πλασμίδιο 75 kb
Carnobacteriocin B1, B2 Καρνοβακτηριοσίνη B1, B2	<i>Carnobacterium piscicola</i> LV17B	4541, 4969, ανθεκτικές στους 62 °C για 30 min, ευαίσθητες σε πρωτεολυτικά ένζυμα	Δεν έχει καθοριστεί	Οξυγαλακτικά βακτήρια	Στα αρχικά στάδια της αύξησης	Πλασμίδιο 61 kb
Carnocin U149 Καρνοσίνη U149	<i>Carnobacterium piscicola</i>	3610, ανθεκτική στους 121 °C για 15 min, σε pH < 8, ευαίσθητη σε πρωτεολυτικά ένζυμα	Δεν έχει καθοριστεί	Lactobacilli, pediococci, carnobacteria		Δεν έχει καθοριστεί

\*: Βασισμένος σε στοιχεία από τη βιβλιογραφική παραπομπή 6.

απομονωθεί μόνο ένα στέλεχος, ο *Pediococcus acidilactici* H και παράγει τη βακτηριοσίνη πεδιοσίνη AcH. Αυτό το στέλεχος απομονώθηκε από αλλαντικά ζυμώσεως και η βακτηριοσίνη του παρουσιάζει ενρύ φάσμα αντιμικροβιακής δράσης έναντι Gram (+) βακτηρίων, συμπεριλαμβανομένων των *Clostridium perfringens*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*. Επίσης είναι δραστική και εναντίον δύο ειδών Gram (-) βακτηρίων της *Aeromonas hydrophila* και της *Pseudomonas putida*. Τέλος εί-

ναι δραστική σε μεγάλο εύρος pH (2,0-9,0) και είναι θερμοανθεκτική (95 °C για 15 min) <sup>6,7</sup>.

## Εφαρμογές των βακτηριοσινών

### 2.1 Βιοσυντήρηση των τροφίμων

Η χρήση μικροοργανισμών, όπως των οξυγαλακτικών βακτηρίων αποτελεί βασική μέθοδο, για την παραγωγή διαφόρων προϊόντων ζυμώσεως. Επιπλέον, η χρήση των



**Πίνακας 4.** Βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος *Leuconostoc* spp.\***Table 4.** Bacteriocins produced by *Leuconostoc* spp.

Βακτηριοσίνη	Παραγωγό Στέλεχος	MB (Da) Σταθερότητα Ευαισθησία	Τρόπος δράσης	Αντιμικροβιακό φάσμα δράσης	Παραγωγή	Γονίδιο
Carnobacteriocin A1, A2, A3 Καρνοβακτηριοσίνη A1, A2, A3	<i>Carnobacterium piscicola</i> LV17A	5100, 5123, 5127, ανθεκτικές στους 62 °C για 30 min, ευαίσθητες σε πρωτεολυτικά ένζυμα	Δεν έχει καθοριστεί	Οξυγαλακτικά βακτήρια	Στα αρχικά στάδια της αύξησης	Πλασμίδιο 75 kb
Carnobacteriocin B1, B2 Καρνοβακτηριοσίνη B1, B2	<i>Carnobacterium piscicola</i> LV17B	4541, 4969, ανθεκτικές στους 62 °C για 30 min, ευαίσθητες σε πρωτεολυτικά ένζυμα	Δεν έχει καθοριστεί	Οξυγαλακτικά βακτήρια	Στα αρχικά στάδια της αύξησης	Πλασμίδιο 61 kb
Carnocin U149 Καρνοσίνη U149	<i>Carnobacterium piscicola</i>	3610, ανθεκτική στους 121 °C για 15 min, σε pH < 8, ευαίσθητη σε πρωτεολυτικά ένζυμα	Δεν έχει καθοριστεί	Lactobacilli, pediococci, carnobacteria		Δεν έχει καθοριστεί

\*: Βασισμένος σε στοιχεία από τη βιβλιογραφική παραπομπή 6.

**Πίνακας 5.** Βακτηριοσίνες που παράγονται από το γένος *Pediococcus* spp.\***Table 5.** Bacteriocins produced by *Pediococcus* spp.

Βακτηριοσίνη	Παραγωγό στέλεχος	MB (Da) Σταθερότητα Ευαισθησία	Τρόπος δράσης	Αντιμικροβιακό φάσμα δράσης	Παραγωγή	Γονίδιο
Pediocin AcH Πεδιοσίνη AcH	<i>Pediococcus acidilactici</i> H	2700, ανθεκτική στους 121 °C για 15 min, στην ουρία, σε pH 2,5-9,0, ευαίσθητες στην τρυσίνη, φικίνη, παπαΐνη, πρωτεΐνάση K, χυμοτρυσίνη 4600, ανθεκτική στους 80 °C για 10 min, σε pH 4-7, στη λιπάση, φωσφολιπάση, λυσοςύμη, ευαίσθητη στην πεψίνη, παπαΐνη, χυμοτρυσίνη, πρωτεάση	Αναστολή της σύνθεσης ATP, διακοπή του συστήματος μεταφοράς	Lactobacilli, leuconostocs, <i>S. aureus</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>L. monocytogenes</i> <i>P. putida</i>	Κατά την στατική φάση αύξησης	Πλασμίδιο 11,4 kb
Pediocin PA-1 Πεδιοσίνη PA-1	<i>Pediococcus acidilactici</i> PA 1.0	4600, ανθεκτική στους 80 °C για 10 min, σε pH 4-7, στη λιπάση, φωσφολιπάση, λυσοςύμη, ευαίσθητη στην πεψίνη, παπαΐνη, χυμοτρυσίνη, πρωτεάση	Δεν έχει καθοριστεί	Pediococci, lactobacilli, <i>L. mesenteroides</i> , <i>L. monocytogenes</i>	Κατά την στατική φάση αύξησης	Πλασμίδιο 9,4 kb
Pediocin A Πεδιοσίνη A	<i>Pediococcus pentosaceus</i> FBB61	ανθεκτική στους 100 °C για 60 min, ευαίσθητη στη προνάση	Δεν έχει καθοριστεί	Pediococci, lactobacilli, <i>S. aureus</i> , <i>C. perfringens</i> , <i>C. botulinum</i>		Πλασμίδιο 21 kb

\*: Βασισμένος σε στοιχεία από τη βιβλιογραφική παραπομπή 6.

οξυγαλακτικών βακτηρίων αποτελεί και μια από τις μεθόδους συντήρησης των τροφίμων, γιατί παρεμποδίζουν την ανάπτυξη διαφόρων παθογόνων μικροοργανισμών και μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοιώσεις, κυρίως με την ελάττωση του pH κατά τη διάρκεια της ζύμωσης και της παραγωγής αντιμικροβιακών ουσιών.

Στις αντιμικροβιακές ουσίες ανήκουν και οι βακτηριοσίνες, οι οποίες εφαρμόζονται ως συντηρητικά σε προϊόντα γάλακτος, κρέατος, ιχθυηρών, αρτοποιίας, λαχανικών που έχουν υποστεί γαλακτική ζύμωση, καθώς και στην παραγωγή ξύθου και οίνου για τον έλεγχο των μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοιώσεις. Δύο μέθοδοι υπάρχουν

για τη χρήση των βακτηριοσινών ως βιοσυντηρητικών, η χρήση των οξυγαλακτικών βακτηρίων ως εκκινητών και η ενσωμάτωση των βακτηριοσινών σε ημικαθαρή, καθαρή ή χημικά συντηθέμενη μορφή, μέσα στο τρόφιμο<sup>5,8</sup>.

Η συντήρηση των τροφίμων με τη χρήση προστατευτικών καλλιέργειών που παράγουν βακτηριοσίνες ονομάζεται βιοσυντήρηση και αναφέρεται στην επιμήκυνση του χρόνου συντήρησης των τροφίμων, χρησιμοποιώντας τη φυσική αυτόχθονη μικροχλωρίδα του προϊόντος ή κάποια καθαρή καλλιέργεια, ως εκκινητή ή/και χρησιμοποιώντας τους μικροβιακούς μεταβολίτες των μικροοργανισμών<sup>9,10,11</sup>.



## 2.2 Εφαρμογή των βακτηριοσινών ως βιοσυντηρητικών

Σε αυτή την ενότητα θα αναφερθούν οι κυριότερες εφαρμογές των βακτηριοσινών στη βιομηχανία των τροφίμων<sup>9,11,12</sup>.

**1. Γαλακτοκομικά προϊόντα:** τα νιτρικά άλατα χρησιμοποιούνται συχνά κατά την τυροκόμηση για να αναστείλουν την ανάπτυξη του *Clostridium tyrobutyricum*, όπως επίσης και άλλων κλωστηριδίων, που προκαλούν σοβαρές αλλοιώσεις στα προϊόντα. Η χρήση της νισίνης για την παρεμπόδιση της εκβλάστησης των σπορίων του *Clostridium tyrobutyricum* αποτελεί μια εναλλακτική λύση της χρήσης των νιτρικών αλάτων. Σε πειράματα που πραγματοποιήθηκαν κατά την τυροκόμηση του τυριού Gouda, με συνεννοφθάμιση καλλιέργειών που παράγουν νισίνη, σε ποσοστό 10 % του εκκινητού, δεν παρατηρήθηκε εκβλάστηση των σπορίων του κλωστηριδίου<sup>13</sup>. Προβλήματα στην τυροκομία επίσης παρουσιάζει το βακτήριο *Listeria monocytogenes*. Τα προβλήματα αυτά συνδέονται ιδιαίτερα με προϊόντα στα οποία κατά την ωρίμανσή τους παρατηρείται αύξηση της τιμής του pH, όπως για παράδειγμα στα ιταλικά τυριά Taleggio, Gorgonzola και Mozzarella. Κατά την τυροκόμηση του ιταλικού τυριού Taleggio με συνεννοφθάμιση του βακτηρίου *Enterococcus faecium* και εκκινητή, δεν παρατηρήθηκε επίδραση της βακτηριοσίνης του πρώτου έναντι των θερμοφίλων στελεχών του εκκινητή. Επιπλέον, η δράση της βακτηριοσίνης ήταν σταθερή κατά την ωρίμανση του τυριού και παρεμπόδισε σημαντικά την αύξηση του πληθυσμού της *Listeria monocytogenes*<sup>14</sup>. Τέλος η προσθήκη εκκινητού *Lactococcus lactis* ύστερα από θερμική επεξεργασία του (heat-treated) κατά την παραγωγή του τυριού Mozzarella, ενοφθαλμισμένου με το βακτήριο *Listeria monocytogenes* και συντήρηση σε θερμοκρασία 5 °C για 2 έως 3 εβδομάδες, είχε ως αποτέλεσμα τη διατήρηση του πληθυσμού του παθογόνου σημαντικά μειωμένου από τον αντίστοιχο πληθυσμό του μάρτυρα (παραγωγή τυριού ενοφθαλμισμένου με το βακτήριο *Listeria monocytogenes*, χωρίς όμως την προσθήκη του εκκινητού)<sup>15</sup>.

**2. Προϊόντα κρέατος:** τις τρεις τελευταίες δεκαετίες αναπτύχθηκε ένα έντονο ενδιαφέρον για την παραγωγή προϊόντων κρέατος χωρίς τη χρήση νιτρικών-νιτρώδων αλάτων, λόγω του πιθανού σχηματισμού καρκινογόνων ουσιών, όπως οι νιτροζαμίνες. Οι πρώτες προσπάθειες ξεκίνησαν με τη χρήση της νισίνης, λόγω της καλής ανταπόκρισης που παρουσίαζε στη συντήρηση των γαλακτοκομικών προϊόντων<sup>9,11,12</sup>. Όμως τα αποτελέσματα της εφαρμογής της στο κρέας δεν ήταν τόσο ικανοποιητικά και καλύτερη δράση υπήρχε κατά τη συνδυασμένη χρήση νισίνης-νιτρικών ή νιτρώδων αλάτων. Έτσι η νισίνη δεν αποτελεί την καλύτερη λύση για τη συντήρηση των προϊόντων του κρέατος σε αντίθεση με τα γαλακτοκομικά προϊόντα<sup>9,11,12</sup>. Μεγαλύτερες πιθανότητες ως βιοσυντηρητικά του κρέατος και των προϊόντων του, έχουν τα οξυγαλακτικά βακτήρια, τα οποία παράγουν βακτηριοσίνες και έχουν απομονωθεί από τέτοιου είδους προϊόντα, όπως είναι για παράδειγμα μικροοργανισμοί που ανήκουν στα γένη *Pediococcus*, *Leuconostoc*, *Carnobacterium* και *Lactobacillus* spp.<sup>9,11,12</sup>. Η *Listeria monocytogenes* είναι ένας πα-

θογόνος μικροοργανισμός, που μπορεί να αναπτυχθεί και στο κρέας. Η παρουσία του στους διάφορους χώρους αποστέωσης και τεμαχισμού του κρέατος έχει ως αποτέλεσμα τη μόλυνση των προϊόντων θερμικής επεξεργασίας μετάξυ της αποστέωσης και της τελικής συσκευασίας. Πρόσφατα, ορισμένες από τις τεχνικές βιοσυντήρησης που έχουν εφαρμοστεί στη βιομηχανία κρέατος είναι η χρήση ανταγωνιστικής μικροχλωρίδας οξυγαλακτικών βακτηρίων ως προστατευτικής καλλιέργειας και η ενσωμάτωση καθαρών βακτηριοσινών με αντιλειτουργική δράση μέσα στα τρόφιμα<sup>9,11,12</sup>. Ο *Lactobacillus sakei* Lb674 είναι ένα βακτήριο που απομονώθηκε από το κρέας και βρέθηκε να παράγει μια βακτηριοσίνη, τη σακακίνη 674, που παρουσιάζει αντιλειτουργική δράση, όπως συμβαίνει και με τις βακτηριοσίνες σακακίνη P και πεδιοσίνη PA-1<sup>16,17</sup>. Η ενοφθάμιση του βακτηρίου *Lactobacillus sakei* Lb674 σε επίπεδο 10<sup>5</sup>-10<sup>6</sup> μικρ./γρ. παρεμπόδισε την αύξηση του πληθυσμού της λιστέριας σε αλλαντικά τύπου Bologna, συσκευασμένα υπό κενό και συντηρούμενα σε θερμοκρασία 7 °C<sup>12</sup>. Επίσης η προσθήκη στελεχών του μικροοργανισμού *Pediococcus acidilactici* JDI-23 σε αλλαντικά τύπου Φρανκφούρτης (με υψηλό αρχικό ενοφθάμισμα, 10<sup>7</sup> μικρ./γρ.), συντηρούμενα σε θερμοκρασία 4 °C, παρεμπόδισε πλήρως την αύξηση της *Listeria monocytogenes* για περισσότερες από 60 ημέρες, ενώ στο μάρτυρα, χωρίς την προσθήκη των στελεχών του γένους *Pediococcus* spp., ο πληθυσμός του παθογόνου αυξήθηκε από 10<sup>4</sup> μικρ./γρ. στην αρχή του πειράματος, σε 10<sup>6</sup> μικρ./γρ. στο τέλος της περιόδου επώασης. Όταν ο *Pediococcus acidilactici* JDI-23 ενοφθαλμίστηκε σε επίπεδο 10<sup>3</sup>-10<sup>4</sup> μικρ./γρ., η αύξηση του πληθυσμού της *Listeria monocytogenes* δεν παρεμποδίστηκε πλήρως<sup>18</sup>.

**3. Ιχθύες και προϊόντα τους:** μια άλλη ενδιαφέρουσα εφαρμογή των βακτηριοσινών είναι η βιοσυντήρηση γαριδών σε άλμη (3-6% NaCl). Η συντήρηση αυτών συνήθως γίνεται με προσθήκη σορβικού ή βενζοϊκού οξέος (σορβικό και βενζοϊκό οξύ σε συγκέντρωση 0,05-1,0%, pH 5-6, συντήρηση σε θερμοκρασία 0-6 °C). Τα αποτελέσματα της χρησιμοποίησης τριών διαφορετικών βακτηριοσινών (της νισίνης Z, της καρνοσίνης U149 του *Carnobacterium piscicola* U149 και της μπαβαρισίνης A του *Lactobacillus bavaricus* MI 401) έδειξαν ότι στην περίπτωση της νισίνης Z υπήρξε καθυστέρηση στην αύξηση διαφόρων παθογόνων μικροοργανισμών και μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοιώσεις. Ο χρόνος συντήρησης του προϊόντος επιμηκύνθηκε από 10 ημέρες (που ήταν ο χρόνος συντήρησης του μάρτυρα) σε 31 ημέρες. Οι άλλες δύο βακτηριοσίνες ήταν λιγότερο δραστικές. Πάντως τη μεγαλύτερη αντιμικροβιακή δράση παρουσίασαν το βενζοϊκό νάτριο και το σορβικό άλαιο. Η προσθήκη αυτών των δύο χημικών συντηρητικών (σε συγκέντρωση 0,05-0,1% w/w) παρεμπόδισε πλήρως τη μικροβιακή αύξηση για περίοδο συντήρησης 59 ημερών<sup>19</sup>.

**4. Λαχανικά που έχουν υποστεί γαλακτική ζύμωση:** τα οξυγαλακτικά στελέχη που παράγουν βακτηριοσίνες μπορούν να εφαρμοστούν και σε διάφορα τρόφιμα φυτικής προέλευσης, όπως είναι οι σαλάτες και γενικά τα λαχανικά που έχουν υποστεί ζύμωση (π.χ. κράμβη). Για την παρεμπόδιση της αύξησης των ανεπιθύμητων μικροοργα-



νισμών στα λαχανικά ζυμώσεως χρησιμοποιούνται το αλάτι, το οξικό οξύ και η ζάχαρη. Στην αρχή της ζύμωσης έχει αποδειχθεί ότι οι μικροοργανισμοί που κυριαρχούν είναι τα ετεροζυμωτικά οξυγαλακτικά βακτήρια όπως ο *Leuconostoc mesenteroides*. Κατά τη διάρκεια της ζύμωσης ο πληθυσμός των ετεροζυμωτικών μικροοργανισμών μειώνεται και τελικά αυτά που επικρατούν στο τέλος της ζύμωσης είναι τα ομοζυμωτικά βακτήρια και ιδιαίτερα ο *Lactobacillus plantarum*<sup>9</sup>. Ο Vescovo et al. (1995)<sup>20</sup> παρατήρησαν μείωση του σχετικά υψηλού αρχικού μικροβιακού φορτίου, σε έτοιμες προς κατανάλωση σαλάτες, όταν προστέθηκαν σε αυτές οξυγαλακτικά στελέχη που παράγουν βακτηριοσίνες. Κατά τη ζύμωση των πράσινων ελιών (τύπου Ισπανίας), ένα στέλεχος του *Lactobacillus plantarum*, το οποίο παράγει βακτηριοσίνη, κυριαρχεί ανάμεσα στους λακτοβακίλλους της μικροχλωρίδας του τροφίμου, χωρίς να επηρεάζει αρνητικά τα οργανοληπτικά χαρακτηριστικά του προϊόντος. Αντίθετα, πειράματα με στέλεχος του ίδιου μικροοργανισμού, το οποίο όμως δεν παράγει βακτηριοσίνη, δεν κατάφερε να επικρατήσει της μικροχλωρίδας του προϊόντος<sup>21</sup>. Η χρήση βακτηριοσινών δραστικών έναντι του παθογόνου βακτηρίου *Listeria monocytogenes*, έχει επίσης μελετηθεί για την παραγωγή του Kimchi, ενός παραδοσιακού πυκνίτικου κορεάτικου προϊόντος (λαχανικό που έχει υποστεί ζύμωση)<sup>22</sup>. Η χρησιμοποίηση δύο διαφορετικών βακτηριοσινών παρουσίασε αντίθετα αποτελέσματα όσον αφορά την παρεμπόδιση του βακτηρίου *Listeria monocytogenes*. Η προσθήκη της σακακίνης Α που παράγεται από το βακτήριο *Lactobacillus sakei* Lb706 δεν παρεμπόδισε την αύξηση του πληθυσμού της *Listeria monocytogenes* σε θερμοκρασία ζύμωσης, 14 °C, του Kimchi, ενώ η βακτηριοσίνη του *Pediococcus acidilactici* Μ προκάλεσε γρήγορη μείωση του πληθυσμού του παθογόνου βακτηρίου και ήταν ικανή να ελέγξει την αύξηση του πληθυσμού της *Listeria monocytogenes* μέχρι και τη 16η ημέρα της ζύμωσης.

### 2.3 Παράγοντες που περιορίζουν την αποτελεσματικότητα των βακτηριοσινών στα τρόφιμα

Μελέτες έχουν δείξει ότι αρκετές βακτηριοσίνες είναι λιγότερο αποτελεσματικές στα τρόφιμα από ό,τι στα διάφορα συνθετικά θρεπτικά υποστρώματα που χρησιμοποιούνται στα πειράματα κατά τη μελέτη των βακτηριοσινών. Αυτό συμβαίνει γιατί το τρόφιμο είναι ένα πολυσύνθετο σύστημα που αποτελείται από διάφορα μικροπεριβάλλοντα τα οποία επηρεάζουν το ένα το άλλο. Οι αλληλεπιδράσεις μεταξύ των παραγωγών στελεχών καθώς και των μορίων των βακτηριοσινών με συστατικά των τροφίμων έχουν ως αποτέλεσμα τη μείωση της αποτελεσματικότητας των βακτηριοσινών. Οι παράγοντες οι οποίοι μπορούν να επιδράσουν αρνητικά διακρίνονται σε αυτούς που επιδρούν άμεσα στο μόριο της βακτηριοσίνης και σε εκείνους που επιδρούν στην ανάπτυξη των παραγωγών στελεχών με αποτέλεσμα έμμεσα να επηρεάζουν την παραγωγή και την αποτελεσματικότητά τους<sup>11</sup>. Οι παράγοντες που επιδρούν άμεσα στο μόριο της βακτηριοσίνης είναι<sup>11</sup>:

- Η εμφάνιση ανθεκτικών στελεχών παθογόνων μικροοργανισμών ή μικροοργανισμών που προκαλούν αλ-

λοιώσεις στις βακτηριοσίνες.

- Η ύπαρξη διαφόρων παραγόντων, όπως ενζύμων (πρωτεάσες), αλλά και φυσιολογικών μηχανισμών, όπως η οξειδωση των λιπών, που αποσταθεροποιούν τη βιολογική δραστηριότητα των βακτηριοσινών.

- Η δέσμευση των βακτηριοσινών από διάφορα συστατικά του τροφίμου, όπως είναι τα σωματίδια του λίπους.

- Η απενεργοποίηση των βακτηριοσινών από διάφορα άλλα πρόσθετα των τροφίμων.

- Η χαμηλή διαλυτότητα, η ανεπαρκής και άνιση διάχυση των βακτηριοσινών μέσα στη μάζα του τροφίμου.

- Η επίδραση του pH στη σταθερότητα και δραστηριότητα των βακτηριοσινών.

Οι παράγοντες που επιδρούν στην ανάπτυξη των οξυγαλακτικών βακτηρίων που παράγουν βακτηριοσίνες είναι<sup>11</sup>:

- Οι ανεπαρκείς συνθήκες περιβάλλοντος, όπως η θερμοκρασία, το pH και τα θρεπτικά συστατικά, για την παραγωγή των βακτηριοσινών.

- Η ξαφνική απώλεια της ικανότητας παραγωγής των βακτηριοσινών.

- Η μόλυνση από βακτηριοφάγους.

- Ο ανταγωνισμός από άλλους μικροοργανισμούς που βρίσκονται στα τρόφιμα.

### 2.4 Προοπτικές χρήσης των βακτηριοσινών ως βιοσυντηρητικών

Με την εφαρμογή των βακτηριοσινών των οξυγαλακτικών βακτηρίων, σε συνδυασμό με τις παραδοσιακές μεθόδους συντήρησης και με την εφαρμογή της ορθής υγιεινής, είναι δυνατός ο αποτελεσματικός έλεγχος των παθογόνων βακτηρίων, ιδιαίτερα της *Listeria monocytogenes*, καθώς και των μικροοργανισμών που προκαλούν αλλοιώσεις σε διάφορα προϊόντα.

Ορισμένα στελέχη που παράγουν βακτηριοσίνες μπορούν να χρησιμοποιηθούν ως προστατευτικές καλλιεργειές σε ποικιλία προϊόντων. Όμως πριν από τη χρησιμοποίηση των βακτηριοσινών στα τρόφιμα θα πρέπει να μελετηθεί ένας αριθμός προβλημάτων που υπάρχουν, όπως είναι η χαμηλή παραγωγή τους από τους μικροοργανισμούς και η αστάθεια των ουσιών αυτών<sup>12</sup>. Για να ξεπεραστούν τα προβλήματα της αποτελεσματικότητας των βακτηριοσινών, καθώς και για τον καλύτερο έλεγχο της βιοσυντήρησης, περισσότερο αποτελεσματική μέθοδο αποτελεί η απευθείας προσθήκη των βακτηριοσινών σε καθαρή μορφή, την οποία όμως δεν χρησιμοποιεί η βιομηχανία τροφίμων λόγω του υψηλού κόστους της<sup>12</sup>.

Η χρήση βακτηριοσινών σε τρόφιμα με μειωμένη περιεκτικότητα σε αλάτι, ζάχαρη, λιπαρές ουσίες και οξέα, συστατικά που βοηθούν την παρεμπόδιση της μικροβιακής αύξησης, τις καθιστά μια ελκυστική λύση για τη διασφάλιση της ποιότητας και της υγιεινής των τροφίμων. Μάλιστα σε ορισμένες περιπτώσεις η χρήση των βακτηριοσινών είναι πιο επιθυμητή από τους καταναλωτές σε



σχέση με τη χρήση των χημικών συντηρητικών, όπως είναι τα νιτρικά και τα νιτρώδη άλατα που χρησιμοποιούνται στο κρέας και τα προϊόντα του, το σορβικό και βενζοϊκό οξύ που χρησιμοποιούνται στις έτοιμες σαλάτες. Στα κονσερβοποιημένα τρόφιμα η εφαρμογή των βακτηριοσινών που είναι δραστικές έναντι των σποριογόνων βακτηρίων (π.χ. *Clostridium botulinum*) μπορεί να επιτρέψει την ηπιότερη θερμική επεξεργασία τους με αποτέλεσμα τη βελτίωση της θρεπτικής τους αξίας, καθώς και της εμφάνισής τους<sup>11,12</sup>.

Η αποτελεσματικότητα των βακτηριοσινών ή το φάσμα δράσης τους μπορεί να αυξηθεί αν χρησιμοποιηθούν σε συνδυασμό με άλλες βακτηριοσίνες ή χημικές ουσίες, όπως οι τασιενεργές ενώσεις, οι χηλικές ενώσεις κ.ά. Όμως χρειάζεται περισσότερη μελέτη πάνω στο θέμα της συνεργικής δράσης των βακτηριοσινών με άλλα φυσικά συντηρητικά ή/και σε συνδυασμό με νέες μεθόδους συντήρησης, όπως είναι η πολύ υψηλή υδροστατική πίεση (Ultra Hydrostatic Pressure-UHP) και το παλμικό ηλεκτρικό πεδίο (Pulsed Electric field-PEF), που μπορούν να οδηγήσουν στην αντικατάσταση ορισμένων χημικών συντηρητικών ή στην εφαρμογή ηπιότερων μεθόδων επεξεργασίας, όπως η θερμική επεξεργασία, αλλά με παράλληλη διατήρηση της μικροβιολογικής ποιότητας και της υγιεινής των τροφίμων<sup>12</sup>.

Μεγάλο ενδιαφέρον παρουσιάζει η δράση των βακτηριοσινών έναντι Gram (-) βακτηρίων. Διάφορα Gram (-) βακτήρια, όπως η *Salmonella* spp. και η *Shigella* spp. είναι ανθεκτικά στις βακτηριοσίνες των οξυγαλακτικών βακτηρίων, λόγω της σύστασης του κυτταρικού τους τοιχώματος. Τα τελευταία χρόνια οι έρευνες έχουν επικεντρωθεί στην επέκταση του φάσματος της δράσης των βακτηριοσινών με την τροποποίηση της δομής του μορίου της βακτηριοσίνης ή την ευαισθητοποίηση των κυτταρικών μεμβρανών των Gram (-) βακτηρίων στις διάφορες βακτηριοσίνες με τη χρήση ουσιών που αποτελούν συστατικά των τροφίμων (πρόσθετα).

Η εφαρμογή διαφόρων τεχνικών, όπως η τεχνολογία του ανασυνδυασμένου DNA, οι μεταλλάξεις των δομικών γονιδίων της βακτηριοσίνης, η μεταφορά σε άλλα στελέχη των γονιδίων που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή βακτηριοσίνης και η τεχνολογία της μηχανικής των πρωτεϊνών αποτελούν εργαλεία για το σχεδιασμό και τη δημιουργία πρωτεϊνικών μορίων με βελτιωμένη σταθερότητα και διαλυτότητα, με ευρύτερο φάσμα δράσης και με υψηλότερη βιολογική δραστικότητα, αλλά μπορούν επίσης να βοηθήσουν και στη δημιουργία στελεχών που θα έχουν την ικανότητα να παράγουν ένα ή περισσότερα από αυτά τα πρωτεϊνικά μόρια<sup>11,12</sup>.

## BIBΛΙΟΓΡΑΦΙΑ - REFERENCES

1. Tagg JR, Dajani AS and Wannamaker LW. Bacteriocins of Gram-positive bacteria. *Bacteriol Rev* 1976, 40:722-755.
2. Leadbetter SL. Antimicrobial agents from microbial sources. In: *Natural antimicrobial agents: A literature survey* – Leatherhead Food R. A., *Food Focus* 1991, 13 (May):40-64.
3. Klaenhammer TR. Bacteriocins of lactic acid bacteria. *Biochim* 1988, 70:337-349.
4. Hillier A.J. and Davidson BE. Bacteriocins as food preservatives. *Food Research Quarterly* 1991, 51:60-64.
5. Barnby-Smith FM. Bacteriocins: applications as food preservation. *Trends Food Sci Technol* 1992, 3:133-137.
6. Nettles CG and Barefoot SF. Biochemical and genetic characteristics of bacteriocins of food-associated lactic acid bacteria. *J Food Protect* 1993, 56:338-356.
7. Stiles ME and Hastings JW. Bacteriocin production by lactic acid bacteria: potential for use in meat preservation. *Trends Food Sci Technol* 1991, 2:247-251.
8. Luchansky JB. Overview on applications for bacteriocin-producing lactic acid bacteria and their bacteriocins. *Ant van Leeuwenh* 1999, 76:335.
9. Stiles ME. Biopreservation by lactic acid bacteria. *Ant van Leeuwenh* 1996, 70:331-345.
10. Holzapfel WH, Geisen R and Shillinger U. Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes. *Int J Food Microbiol* 1995, 24:343-362.
11. Schillinger U, Geisen R and Holzapfel WH. Potential of antagonistic microorganisms and bacteriocins for the biological preservations of foods. *Trends Food Sci Technol* 1996, 7:158-164.
12. Abee T, Krockel L and Hill C. Bacteriocins: modes of action and potentials in food preservation and control of food poisoning. *Int J Food Microbiol* 1995, 28:169-185.
13. Hugenholtz J and de Veer GJCM. Application of nisin A and nisin Z in dairy technology. In: G. Jung and H.G. Sahl (editors). *Nisin and novel lantibiotics*, ESCOM, Leiden, 1991: 440-448.
14. Giraffa G, Picchioni N, Neviani E and Carminati D. Production and stability of an *Enterococcus faecium* bacteriocin during Taleggio cheesemaking and ripening. *Food Microbiol* 1995, 12:301-307.
15. Stecchini ML, Aquili V and Sarais L. Behavior of *Listeria monocytogenes* in Mozzarella cheese in presence of *Lactococcus lactis*. *Int J Food Microbiol* 1995, 25:301-310.
16. Tichaczek PS, Vogenl RF and Hammes WP. Cloning and sequencing of sakP encoding sakacin P, the bacteriocin produced by *Lactobacillus sake* LTH 673. *Microbiol* 1994, 140:361-367.
17. Holck AL, Axelsson L, Huhne K and Krockel L. Purification and cloning of sakacin 674, a bacteriocin from *Lactobacillus sake* Lb674. *FEMS Microbiol Lett* 1994, 115:143-150.
18. Berry ED, Hutkins RW and Mandigo RW. The use of bacteriocin-producing *Pediococcus acidilactici* to control post-processing *Listeria monocytogenes* contamination of frankfurters. *J Food Prot* 1991, 540:681-686.
19. Einarsson H and Lauzon HL. Biopreservation of brined shrimp (*Pandalus borealis*) by bacteriocins from lactic acid bacteria. *Appl Environ Microbiol* 1995, 61:669-676.
20. Vescovo M, Orsi C, Scolari G and Torriani S. Inhibitory effect of selected lactic acid bacteria on microflora associated with ready-to-use vegetables. *Lett Appl Microbiol* 1995, 21: 121-125.
21. Ruiz-Barba JL, Cathcart DP, Warner PJ and Jimenez-Diaz R. Use of *Lactobacillus plantarum* LPC1010, a bacteriocin producer, as a starter culture in Spanish-style green olive fermentations. *Appl Environ Microbiol* 1994, 60: 2059-2064.
22. Choi SY and Beuchat LR. Growth inhibition of *Listeria monocytogenes* by a bacteriocin of *Pediococcus acidilactici* M during fermentation of Kimchi. *Food Microbiol* 1994, 11:301-307.