

Vliv bakteriocinového preparátu na mikrobiologickou stabilitu masného polotovaru

EVA LUKÁŠKOVÁ - HELENA VELICHOVÁ - PAVEL BŘEZINA - TOMÁŠ BÉZA

SOUHRN. Byla ověřována schopnost přídatné látky na bázi bakteriocinů inhibovat růst a množení mikroorganismů. Jako experimentální materiál byly použity vzorky játrové zavářky. Vzorky byly podrobeny mikrobiologickému rozboru podle platných norem. Skladování vzorků při teplotě 6 °C prokázalo minimální rozdíly mezi kontrolou a vzorky s bakteriocinem u koliformních bakterií. Výsledky mikrobiologického rozboru vzorků skladovaných při zvýšené teplotě (10 °C) prokázaly schopnost přípravku inhibovat růst a množení koliformních bakterií.

KLÍČOVÁ SLOVA: bakteriocin; maso; játra; polotovar; koliformní bakterie

Aktivními látkami zkoumaného preparátu na bázi bakteriocinů jsou metabolity vznikající během procesu fermentace pomocí bakterií *Streptococcus diacetylactis* a *Propionibacterium*. Preparát má inhibovat růst a množení *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* spp., *Staphylococcus aureus*, většinu heterofermentativních laktobacilů, některé kmeny plísní a kvasinek. Účinek se má projevit zejména při nestandardních podmínkách skladování a v letních měsících. Je definován jako oddálení mikrobiálních a senzorických změn v průběhu skladování. Bakteriociny jsou distributorem doporučeny pro tepelně neopracované výrobky [1]. Výrobek je povolen rozhodnutím Ministerstva zdravotnictví ČR ze dne 3.12.1999 pod značkou HEM-350-12.3.99-10129 [2].

Bakteriociny jsou sloučeniny produkované bakteriemi a mají antimikrobní účinky. Většinou mají úzké inhibiční spektrum baktericidní aktivity soustředěné na příbuzné druhy mikroorganismů [3]. Produkce bakteriocinů je většinou kódovaná geneticky v plazmidech [4].

Ing. Eva LUKÁŠKOVÁ, Ing. Helena VELICHOVÁ, Prof. Ing. Pavel BŘEZINA, CSc., Ing. Tomáš BÉZA, Katedra ekonomiky a hygieny výživy, Vysoká vojenská škola pozemního vojska, Sídliště Víta Nejedlého, 682 03 Vyškov, Česká republika.

Korešpondující autor: Ing. Eva LUKÁŠKOVÁ, e-mail: lukaseva@email.cz

K bakteriocinům se řadí velká skupina bakteriálních látek, které se liší v molekulové hmotnosti, biochemických vlastnostech a způsobu působení [5].

Bakteriociny působí baktericidně, i když u některých se popisuje jen účinek bakteriostatický [6, 7].

Bakteriocin se váže ireversibilně na bakteriální buňky. Inhibice přitom probíhá ve dvou fázích. Bakteriocin se nejprve absorbuje na nespecifické receptory na buňce, pravděpodobně na kyselinu lipoteichoovou. Po nasycení nespecifických receptorů se bakteriocin spojí s receptory specifickými, což způsobí letální změny buněčné membrány. V důsledku toho ztrácí buňka intracelulární draselné ionty, složky absorbující UV záření a jiné důležité složky a tím i schopnost se rozmnožovat [8]. První fáze je reverzibilní (bakteriocin se může inaktivovat proteázami a buňka zůstane aktivní), druhá fáze je ireverzibilní. Podle účinnosti lze bakteriociny rozdělit na dvě skupiny [6]:

- bakteriociny se širokým spektrem účinnosti na grampozitivní bakterie,
- bakteriociny s úzkým spektrem účinnosti, většinou jen k blízké příbuzným kmenům.

Cílem práce bylo prověřit deklarované vlastnosti bakteriocinu mikrobiologickou analýzou.

Materiál a metody

Jako experimentální materiál byly použity vzorky játrové zavářky vyrobené v podniku Global Chropyně, ČR.

Výrobek je charakterizován jako polojemná pasta z hovězích jater, strouhanky, mouky a koření. Je určen k dalšímu tepelnému zpracování. Játrová zavářka obsahuje dále vaječnou melanž (pasterované slepičí vejce, cukr, kyselina citrónová, stabilizátory guar guma a xanthanová guma), Leberfit - přípravek na odhořčení jater (maltodextrin, sůl, kyselina askorbová, kyselina citrónová) [9], cibuli, česnek v prášku, majoránku, pepř mletý, sůl jedlou, pitnou vodu a aditivum. Hotový výrobek je balen na vakuovém stroji do sáčků PA/PE 20/60 (polyamid/polyethylen v poměru 1:3) [10], je skladován při teplotě max. 6 °C. Doba jeho použitelnosti je 5 dní a byla stanovena výsledky mikrobiologického vyšetření [11]. Preparát byl aplikován do výrobku pro zajištění mikrobiální stability výrobku.

Bylo testováno aditivum na bázi bakteriocinů, výrobek firmy Quest USA, který je dodáván na trh firmou Amerex, s.r.o., Praha.

Vzorky byly do laboratoře dodávány v následující úpravě:

- játrová zavářka - kontrolní vzorek, bez přídatku aditiva;
- játrová zavářka - vzorek s přídatkem bakteriocinu, 0,3 % hm.

Účinek aditivní látky se posuzoval na základě rozborů, které probíhaly na Okresní hygienické stanici v Kroměříži. Výsledky byly vyhodnoceny podle vyhlášky Ministerstva zdravotnictví č. 294/1997 Sb., ve znění vyhlášky č. 91/1999 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení. Byla použita část 2 přílohy, bod 20.2., která stanovuje normy pro masové a kombinované polotovary čerstvé, chlazené nebo mražené [12].

Mikrobiologický rozbor zahrnoval stanovení:

- počtu koliformních bakterií (ČSN ISO 4832) [13],
- počtu sulfitredukujících klostridií (ČSN ISO 7937) [14],
- počtu bakterií druhu *Staphylococcus aureus* (ČSN ISO 6888) [15],
- počtu bakterií druhu *Salmonella* sp. (ČSN EN 12824) [16].

Výsledky a diskuse

U zkoumaného přídatku se uvádí schopnost inhibovat růst a množení mikrorganismů při nestandardních skladovacích podmínkách a při dlouhodobějším působení [1]. Z tohoto důvodu probíhala analýza vzorků déle, než by odpovídalo době použitelnosti výrobku.

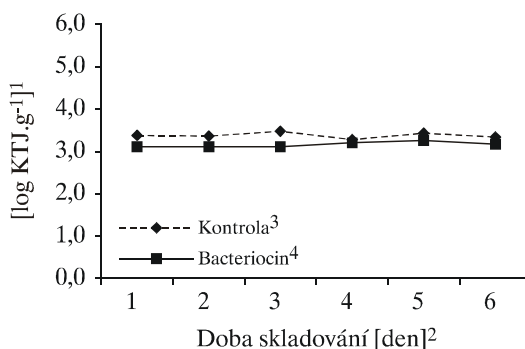
Mikrobiologický rozbor vzorků probíhal ve dvou etapách. I. etapa pokusů probíhala po dobu 6 dnů při skladovací teplotě 6 °C. Všechny vyšetřované vzorky vyhovovaly dané mikrobiologické normě, mezi vzorky s přídatkem bakteriocinu a mezi vzorky kontrolními byly zjištěny minimální rozdíly v počtu koliformních bakterií ve prospěch bakteriocinu (tab. 1, obr. 1). Přítomnost sulfitredukujících klostridií, bakterií *Staphylococcus aureus* a *Salmonella* sp. nebyla prokázána.

TAB. 1. Vliv přídatku bakteriocinu na růst koliformních bakterií u vzorků játrové zavařky během skladování (I. etapa - teplota 6 °C).

TAB. 1. Effect of the bacteriocin addition on the growth of coliform bacteria in the samples of semi-finished liver mix during their storage (stage I. - temperature 6 °C).

Doba skladování [den] ¹	Kontrola [KTJ.g ⁻¹] ²	Bakteriocin [KTJ.g ⁻¹] ³
1	2,4.10 ³	1,3.10 ³
2	2,3.10 ³	1,3.10 ³
3	3,0.10 ³	1,3.10 ³
4	1,9.10 ³	1,6.10 ³
5	2,7.10 ³	1,8.10 ³
6	2,2.10 ³	1,5.10 ³

1 - time of storage [day], 2 - control [CFU.g⁻¹], 3 - bacteriocin [CFU.g⁻¹].



OBR. 1. Vliv přidavku bakteriocinu na růst koliformních bakterií u vzorků játrové zavařky během skladování (I. etapa - teplota 6 °C).

FIG. 1. Effect of the bacteriocin addition on the growth of coliform bacteria in the samples of semi-finished liver mix during their storage (stage I. - temperature 6 °C).

1 - [log CFU.g⁻¹], 2 - time of storage [day], 3 - control, 4 - bacteriocin.

TAB. 2. Vliv přidavku bakteriocinu na růst koliformních bakterií u vzorků játrové zavařky během skladování (II. etapa - teplota 6 °C).

TAB. 2. Effect of the bacteriocin addition on the growth of coliform bacteria in the samples of semi-finished liver mix during their storage (stage II. - temperature 6 °C).

Doba skladování [den] ¹	Kontrola [KTJ.g ⁻¹] ²	Bakteriocin [KTJ.g ⁻¹] ³
1	4,8.10 ⁴	4,0.10 ⁴
3	1,6.10 ⁵	1,4.10 ⁵
5	3,3.10 ⁴	5,6.10 ⁴
7	1,7.10 ⁵	1,4.10 ⁵

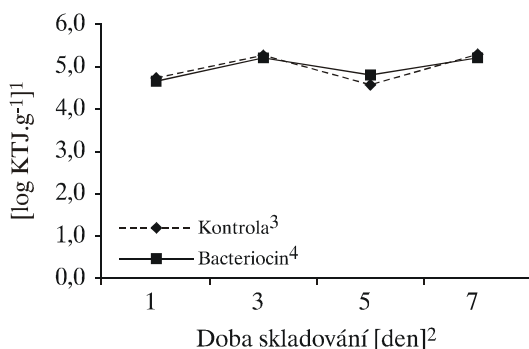
1 - time of storage [day], 2 - control [CFU.g⁻¹], 3 - bacteriocin [CFU.g⁻¹].

TAB. 3. Vliv přidavku bakteriocinu na růst koliformních bakterií u vzorků játrové zavařky během skladování (II. etapa - teplota 10 °C).

TAB. 3. Effect of the bacteriocin addition on the growth of coliform bacteria in the samples of semi-finished liver mix during their storage (stage II. - temperature 10 °C).

Doba skladování [den] ¹	Kontrola [KTJ.g ⁻¹] ²	Bakteriocin [KTJ.g ⁻¹] ³
1	4,8.10 ⁴	4,0.10 ⁴
3	1,7.10 ⁵	1,2.10 ⁵
5	8,2.10 ⁴	4,1.10 ⁴
7	1,4.10 ⁴	7,0.10 ¹

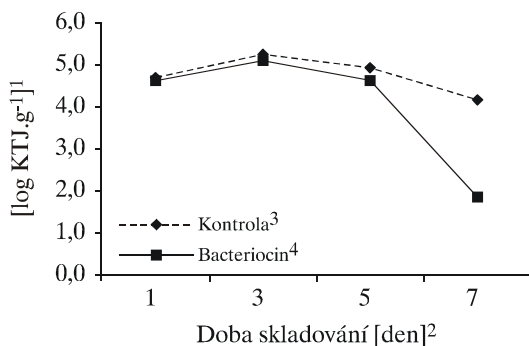
1 - time of storage [day], 2 - control [CFU.g⁻¹], 3 - bacteriocin [CFU.g⁻¹].



OBR. 2 Vliv přidavku bakteriocinu na růst koliformních bakterií u vzorků játrové zavařky během skladování (II. etapa - teplota 6 °C).

FIG. 2 Effect of the bacteriocin addition on the growth of coliform bacteria in the samples of semi-finished liver mix during their storage (stage II. - temperature 6 °C).

1 - [log CFU.g⁻¹], 2 - time of storage [day], 3 - control, 4 - bacteriocin.



OBR. 3. Vliv přidavku bakteriocinu na růst koliformních bakterií u vzorků játrové zavařky během skladování (II. etapa - teplota 10 °C).

FIG. 3. Effect of the bacteriocin addition on the growth of coliform bacteria in the samples of semi-finished liver mix during their storage (stage II. - temperature 10 °C).

1 - [log CFU.g⁻¹], 2 - time of storage [day], 3 - control, 4 - bacteriocin.

II. etapa pokusů probíhala po dobu 7 dní při skladovací teplotě 6 °C a 10 °C. Teplota 10 °C byla zvolena pro ověření schopnosti preparátu zabránit mikrobiálnímu znehodnocení výrobku za nestandardních skladovacích podmínek. Počet koliformních bakterií překročil danou normu již první den vyšetření a situace se již nezměnila. Při skladovací teplotě 6 °C nebyl patrný

rozdíl mezi vzorky kontrolními a s přidavkem bakteriocinu (tab. 2, obr. 2). Při teplotě 10 °C se rozdíl mezi vzorky projevil sedmý den vyšetření, kdy preparát na bázi bakteriocinu snížil výskyt koliformních bakterií (tab. 3, obr. 3).

Při stanovení sulfitredukujících klostridií byla norma překročena již třetí den vyšetření u vzorků obsahujících bakteriocin (tab. 4, obr. 4). Kontrolní vyhovovaly po dobu 5 dní. Skladovací teplota byla 6 °C. Při teplotě 10 °C byl počet sulfitredukujících klostridií u kontrolních vzorků nižší než u vzorků s přidavkem bakteriocinu (tab. 5, obr. 5).

Přítomnost bakterií *Staphylococcus aureus* a *Salmonella* sp. nebyla prokázána.

Podobných výsledků bylo dosaženo i při předchozím sledování účinků bakteriocinu u lahůdkářských výrobků (pařížský salát a tatarská pomazánka) [17]. Mikrobiologické rozbory neprokázaly jednoznačně schopnost preparátu inhibovat růst a množení celkového počtu mikroorganismů, koliformních bakterií a kvasinek. Přítomnost *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* sp. a *Bacillus cereus* nebyla zjištěna [18].

TAB. 4. Vliv přidavku bakteriocinu na růst sulfitredukujících klostridií u vzorků játrové zavářky během skladování (II. etapa - teplota 6 °C).

TAB. 4. Effect of the bacteriocin addition on the growth of sulphite-reducing clostridia in the samples of semi-finished liver mix during their storage (stage II. - temperature 6 °C).

Doba skladování [den] ¹	Kontrola [KTJ.g ⁻¹] ²	Bakteriocin [KTJ.g ⁻¹] ³
1	1,0.10 ²	4,0.10 ¹
3	0	1,4.10 ²
5	0	4,3.10 ²
7	1,0.10 ²	5,6.10 ²

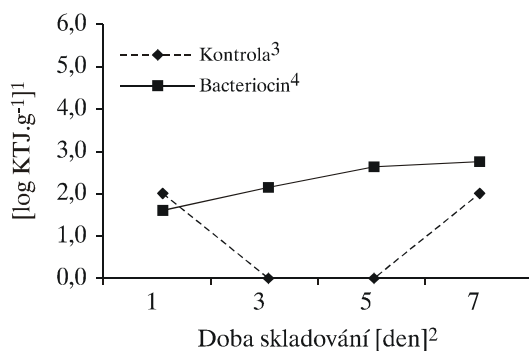
1 - time of storage [day], 2 - control [CFU.g⁻¹], 3 - bacteriocin [CFU.g⁻¹].

TAB. 5. Vliv přidavku bakteriocinu na růst sulfitredukujících klostridií u vzorků játrové zavářky během skladování (II. etapa - teplota 10 °C).

TAB. 5. Effect of the bacteriocin addition on the growth of sulphite-reducing clostridia in the samples of semi-finished liver mix during their storage (stage II. - temperature 10 °C).

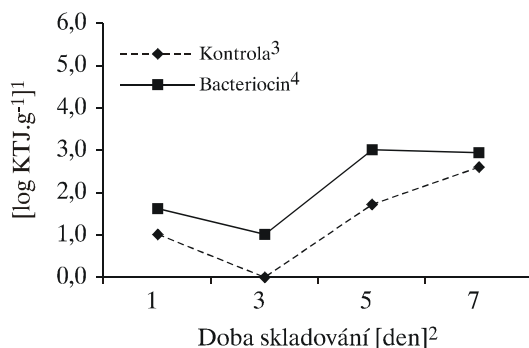
Doba skladování [den] ¹	Kontrola [KTJ.g ⁻¹] ²	Bakteriocin [KTJ.g ⁻¹] ³
1	1,0.10 ¹	4,0.10 ¹
3	0	1,0.10 ¹
5	5,0.10 ¹	9,4.10 ²
7	3,7.10 ²	8,0.10 ²

1 - time of storage [day], 2 - control [CFU.g⁻¹], 3 - bacteriocin [CFU.g⁻¹].



OBR. 4. Vliv přidavku bakteriocinu na růst sulfitredukcujících klostridií u vzorků játrové zavářky během skladování (II. etapa - teplota 6 °C).

FIG. 4. Effect of the bacteriocin addition on the growth of sulphite-reducing clostridia in the samples of semi-finished liver mix during their storage (stage II. - temperature 6 °C).
1 - [log CFU.g⁻¹], 2 - time of storage [day], 3 - control, 4 - bacteriocin.



OBR. 5. Vliv přidavku bakteriocinu na růst sulfitredukcujících klostridií u vzorků játrové zavářky během skladování (II. etapa - teplota 10 °C).

FIG. 5. Effect of the bacteriocin addition on the growth of sulphite-reducing clostridia in the samples of semi-finished liver mix during their storage (stage II. - temperature 10 °C).
1 - [log CFU.g⁻¹], 2 - time of storage [day], 3 - control, 4 - bacteriocin.

Závěr

Vyšetření játrové zavářky, skladované při teplotě 6 °C, ukázalo minimální rozdíly mezi kontrolou a vzorky s bakteriocinem u koliformních bakterií. Schopnost inhibovat růst sulfitredukcujících klostridií, *Staphylococcus*

aureus a *Salmonella* sp. nelze posoudit z toho důvodu, že přítomnost daných mikroorganismů nebyla zjištěna.

Výsledky mikrobiologického rozboru vzorků skladovaných při zvýšené teplotě (10 °C) prokázaly schopnost přípravku inhibovat růst a množení koliformních bakterií. Při vyšetření na přítomnost sulfitredukujících klostridií se neprokázala schopnost bakteriocinu zlepšit mikrobiologickou kvalitu výrobku. Schopnost inhibice *Staphylococcus aureus* a *Salmonella* sp. opět nelze posoudit z důvodu nepřítomnosti těchto mikroorganismů.

Masný polotovár má dobu použitelnosti 5 dní a dovozce uvádí, že plná účinnost preparátu se projeví v delším časovém horizontu [18]. Výsledky II. etapy, případ inhibice koliformních bakterií, tuto skutečnost potvrzují. Na základě dosažených výsledků však pozitivní působení aditiva na bázi bakteriocinu nelze jednoznačně prokázat.

Literatura

1. AMEREX, S. R. O., Praha. Prezentační materiály firmy Amerex, s. r. o. 1999. 30 s.
2. Dovož a použití preparátů na bázi bakteriocinu. HEM-350-12.3.99-10129. Praha : Ministerstvo zdravotnictví ČR, 1999. 2 s.
3. JUVEN, B. J. - MEINERSMANN, R. J. - STERN, N. J.: Antagonistic effects of lactobacilli and pediococci to control intestinal colonization by human enteropathogens in live poultry. *Journal of Applied Bacteriology*, 70, 1991, č. 2, s. 95-103.
4. SCHILLINGER, U. - LÜCKE, F. K.: Einsatz von Milchsäurebakterien als Schutzkulturen bei Fleischerzeugnissen. *Fleischwirtschaft*, 69, 1989, č. 10, s. 1581-1585.
5. KLANHAMMER, T. R.: Bacteriocins in lactic acid bacteria. *Biochemie*, 70, 1988, s. 337-349.
6. MEDINA, M. - GAYA, P - NUÑEZ, M.: Bacteriocins produced by lactic acid bacteria. *Española de Lecheria*, 34, 1992, s. 28, 30-32.
7. NETTLES, C. G. - BAREFOOT, S. F.: Biochemical and genetic characteristics of bacteriocins of food-associated lactic acid bacteria. *Journal of Food Protection*, 56, 1993, č. 4, s. 338-356.
8. BHUNIA, A. K. - JOHNSON, M. C. - RAY, B. - KALCHAYANAND, N.: Mode of action of pediocin AcH from *Pediococcus acidilactici* H on sensitive bacterial strains. *Journal of Applied Bacteriology*, 70, 1990, č. 1, s. 25-33.
9. PROGAST S. R. O., Hustopeče u Brna. Prezentační materiály firmy Progast, s. r. o. 1999. 10 s.
10. VEPAK S. R. O., Brno. Prezentační materiály firmy Vepak, s. r. o. 1999. 15 s.
11. LUKÁŠKOVÁ, E. - VELICHOVÁ, H. - BŘEZINA, P. - KREUZIGER, J.: Účinek bakteriocinového preparátu na mikrobiologickou stabilitu a organoleptické vlastnosti lahůdkářských výrobků. In: Sborník semináře: Výživa a potraviny pro třetí tisíciletí. Nitra : Slovenská poľnohospodárska univerzita, 2002, s. 89-92. ISBN 80-8069-015-4.
12. Vyhláška MZ č. 294/1997 Sb., ve znění vyhlášky č. 91/1999 Sb., o mikrobiologických požadavcích na potraviny, způsobu jejich kontroly a hodnocení. Sbírka zákonů ČR, částka 34, 1999, s. 2440-2452.

13. ČSN ISO 4832 Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu koliformních bakterií. Technika počítání kolonií. Praha : Český normalizační institut, 1995.
14. ČSN ISO 7937 Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu *Clostridium perfringens*. Technika počítání kolonií. Praha : Český normalizační institut, 1999.
15. ČSN ISO 6888 Mikrobiologie. Všeobecné pokyny pro stanovení počtu *Staphylococcus aureus*. Technika počítání kolonií. Praha : Český normalizační institut, 1995.
16. ČSN EN 12824 Mikrobiologie potravin a krmiv. Horizontální metoda průkazu bakterií rodu *Salmonella*. Praha : Český normalizační institut, 1999.
17. VELICHOVÁ, H. - BŘEZINA, P.: Informační studie k možnostem prodloužení údržnosti potravin pro AČR. In: Sborník semináře: Teoretické a praktické ekonomické aspekty zabezpečení obrany. Vyškov : Vysoká vojenská škola pozemního vojska, 2000, s. 195-197. ISBN 80-7231-075.
18. MIKULÁŠKOVÁ, E.: Účinek přípravku ALTA na vybrané mikroorganismy. [Diplomová práce.] Vyškov : Vysoká vojenská škola pozemního vojska, 2000. 99 s.

Do redakcie došlo 4.4.2002.

Effect of a bacteriocin on the microbiological stability of a semi-finished meat product

LUKÁŠKOVÁ, E. - VELICHOVÁ, H. - BŘEZINA, P. - BÉZA, T.:
Bull. potrav. Výsk., 41, 2002, p. 113-121.

SUMMARY. A bacteriocin-based additive was evaluated with regard to its ability to inhibit the growth and proliferation of microorganisms. Samples of a semi-finished liver mix were used as the experimental material. Samples were microbiologically analysed according to valid standards. With coliform bacteria, minimum differences between the control and the bacteriocin-containing sample were observed at the sample storage at 6 °C. The bacteriocin-based additive inhibited the proliferation of coliform bacteria in samples stored at 10 °C.

KEYWORDS: bacteriocin; meat; liver; semi-finished product; coliform bacteria