

ANNA SIP, WŁODZIMIERZ GRAJEK

AKTYWNOŚĆ ANTYLISTERYJNA DIWERCYNY I TRADYCYJNYCH KONSERWANTÓW ŻYWNOŚCI

Streszczenie

W pracy zbadano skuteczność antylisteryjnego działania diwercyny stosowanej w połączeniu z NaCl, kwasem mlekowym, kwasem cytrynowym, azotanem(V) sodu i benzoesanem sodu. Przeprowadzone badania wykazały, że 1–2% NaCl obniża aktywność bakteriocydu w stosunku do bakterii *Listeria monocytogenes*, natomiast 5–10% NaCl zwiększa ją. Ustalono również, że kwas mlekowy i cytrynowy, stosowane w stężeniu powodującym obniżenie pH do poziomu ok. 4,5, ograniczają zdolność diwercyny do oddziaływania na *L. monocytogenes*. Stwierdzono również, że mieszanina złożona z 200 AU/ml diwercyny i 1000–2000 mg/l benzoesanu sodu silniej ogranicza rozwój badanych bakterii niż pojedyncze jej składniki. Stosowanie NaCl w stężeniu powyżej 5% oraz 1000–2000 mg/l benzoesanu sodu w połączeniu z diwercyną powinno pozwolić na lepsze zabezpieczenie żywności przed rozwojem patogennych bakterii z rodzaju *Listeria*.

Słowa kluczowe: bakteriocydu, diwercyna, *Listeria monocytogenes*, bioutrwalenie.

Wprowadzenie

W ostatnich latach coraz częściej dochodzi do zakażeń żywności bakteriami chorobotwórczymi. W ich zapobieganiu zasadniczą rolę odgrywa wczesne wykrywanie źródeł zagrożenia poprzez dokładną kontrolę sanitarną surowców, a następnie zabezpieczenie gotowych produktów przed ich wtórnym zakażeniem. Do zakażeń żywności dochodzi najczęściej poza zakładem przetwórczym. Dlatego też bardzo ważna jest aktywna ochrona gotowych produktów. Funkcję tę dobrze spełniają zdolne do syntezy bakteriocyn bakterie fermentacji mlekowej (LAB), powszechnie uznawane za bezpieczne (GRAS) [1, 4].

Wiele bakteriocyn wytwarzanych przez LAB wykazuje antagonistyczną aktywność w stosunku do patogennych bakterii z rodzaju *Listeria* [16]. Bakterie te często

rozwijają się w mało kwaśnych produktach mlecznych, mięsnych, rybnych oraz owocowo-warzywnych [10, 11, 12, 13, 22]. W ostatnich latach przeprowadzono wiele badań mających na celu opracowanie efektywnej metody inaktywacji *Listeria* sp. Badania te jak dotąd nie przyniosły spodziewanych rezultatów. W związku z tym, że liczne bakteriocyny syntezowane przez LAB są zdolne do bakteriobójczego działania na bakterie *Listeria* sp., istnieje możliwość wykorzystania ich aktywności do ograniczenia rozwoju tych niepożądanych bakterii.

Jedną z bakteriocyn wytwarzanych przez bakterie fermentacji mlekowej jest diwercyna. Bakteriocyna ta charakteryzuje się wartościami z technologicznego punktu widzenia właściwościami fizykochemicznymi oraz istotnym spektrum aktywności antybakteryjnej. Jest termostabilnym białkiem o masie cząsteczkowej 4223 Da, całkowicie bezpiecznym dla organizmu człowieka. Działa bakteriobójczo na *Listeria monocytogenes*, *Listeria innocua*, *Enterococcus faecalis* oraz niektóre szczepy bakterii *Clostridium tyrobutiricum* i *Carnobacterium piscicola*. Diwercyna nie jest aktywna w stosunku do bakterii fermentacji mlekowej stosowanych jako kultury starterowe w wielu branżach przemysłu spożywczego, stąd też istnieje możliwość wprowadzania jej do wielu fermentowanych produktów żywnościowych [19, 23]. Aktywność diwercyny w stosunku do bakterii z rodzaju *Listeria* zasługuje na szczególną uwagę, zwłaszcza w świetle alarmujących raportów donoszących o licznych zakażeniach żywności tymi bakteriami. Właściwości diwercyny czynią ją ważnym związkiem poprawiającym bezpieczeństwo mikrobiologiczne żywności. Korzyści płynące z możliwości praktycznego wykorzystania aktywności biologicznej diwercyny w przemyśle mleczarskim, mięsnym, rybnym oraz owocowo-warzywnym stały się bodźcem do podjęcia badań o charakterze aplikacyjnym.

Celem badań opisanych w niniejszej pracy było określenie skuteczności antylisteryjnego działania mieszanin diwercyny z tradycyjnymi konserwantami żywności.

Materiał i metody badań

Mikroorganizmy

Do produkcji diwercyny stosowano bakterie *Carnobacterium divergens* AS7, wyizolowane w Katedrze Biotechnologii i Mikrobiologii Akademii Rolniczej w Poznaniu. Bakterie te namnażano w warunkach względnie beztlenowych w temp. 30°C, na pożywce MRS, którą zmodyfikowano poprzez usunięcie Tweenu 80. Składniki organiczne pożywki pochodziły z BTL Łódź, natomiast sole mineralne z POCh Gliwice.

Jako mikroorganizm wskaźnikowy do oznaczania aktywności diwercyny stosowano bakterie *Listeria monocytogenes* Scott A. Bateria te hodowano w bulionie TS (Trypcase Soy broth, bioMerieux) z dodatkiem 0,6% ekstraktu drożdżowego (TSBYE), w warunkach względnie beztlenowych, w temp. 30°C.

Oba szczepy bakteryjne przechowywano w postaci zawiesiny z dodatkiem 50% (v/v) glicerolu w temp. -70°C .

Diwercyna

Diwercyna została otrzymana według technologii opracowanej przez autorów [22, 23, 24]. W badaniach stosowano jej wodne roztwory o aktywności 819 200 AU/ml. Roztwory te przechowywano w temp. -20°C i łagodnie rozmrażano w temp. pokojowej.

Wpływ diwercyny i tradycyjnych konserwantów na rozwój bakterii L. monocytogenes

Do pożywki TS o pH 6,5 zaszczipionej 10^4 jtk/ml 24-godzinnych kultur *L. monocytogenes* wprowadzono 1, 2, 5, 7 i 10% (m/v) NaCl, 30% roztwór kwasu mlekowego i cytrynowego w ilości pozwalającej na obniżenie pH pożywki do poziomu w zakresie od 4,5 do 6,0 ($\Delta = 0,5$), 20, 40, 60 i 400 mg/l azotan(V) sodu, 100, 500, 1000 i 2000 mg/l benzoesanu sodu, 200 AU/ml diwercyny oraz mieszaniny złożone z wymienionych konserwantów oraz diwercyny. Próby poddane działaniu badanych czynników antybakteryjnych inkubowano przez 96 h w optymalnej temperaturze działania diwercyny, tj. w 10°C . Podczas inkubacji oznaczano liczebność żywych komórek *L. monocytogenes*. Kontrole stanowiły próby pozbawione dodatków.

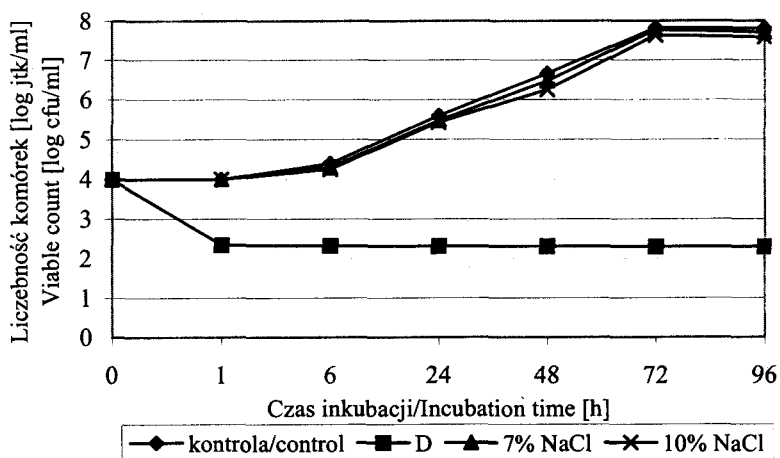
Oznaczanie liczby żywych komórek

Liczebność żywych komórek bakterii *L. monocytogenes* oznaczano klasyczną zalewową metodą płytkową na pożywce Listeria Selective Agar (Oxford formation, Oxoid). Wyniki pomiarów podawano w jtk w przeliczeniu na ml pożywki.

Wyniki i dyskusja

W pracy przedstawiono wyniki badań nad jednoczesnym stosowaniem diwercyny i tradycyjnych konserwantów żywności. Oceniono w jaki sposób ich obecność w środowisku wpływa na aktywność diwercyny względem bakterii *L. monocytogenes*. Tradycyjne konserwanty żywności stosowano w ilościach zgodnych z normami, natomiast diwercynę w stężeniu 200 AU/ml.

Stwierdzono, że 200 AU/ml diwercyny w warunkach chłodniczych wykazywało wyraźną aktywność względem bakterii *L. monocytogenes* (rys. 1). W ciągu 1 h inkubacji nastąpiła redukcja liczebności ich komórek z poziomu 10^4 do $2,2 \cdot 10^2$ jtk/ml, a następnie przez 95 h powstrzymanie ich namnażania. Na wzrost bakterii *L. monocytogenes* nie wpłynęła natomiast obecność NaCl w stężeniu od 1 do 5%. Rozwój tych bakterii został nieznacznie ograniczony dopiero w środowisku zawierającym 7-10% NaCl (rys. 1).



Objaśnienia:

kontrola – próba bez dodatku czynników antybakteryjnych, D – próba z dodatkiem 200 AU/ml diwercyny,

NaCl – próba z dodatkiem NaCl

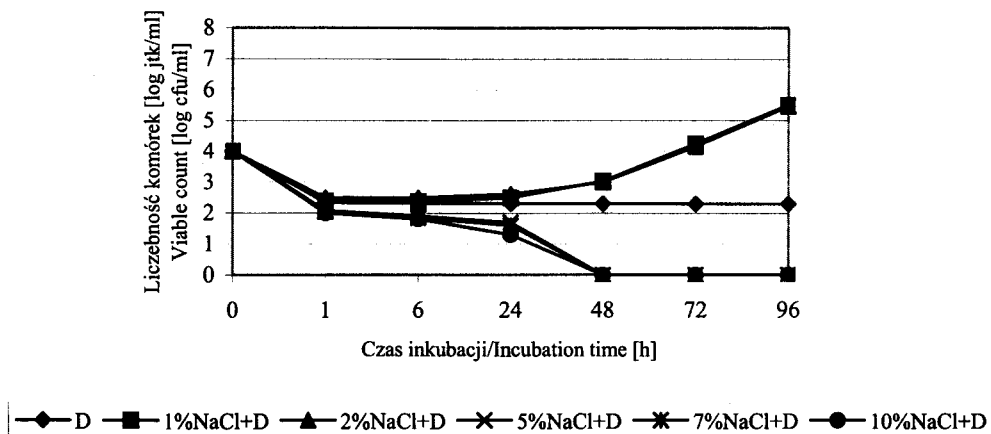
control – sample without antibacterial substances addition, D – sample contained 200 AU/ml divercin,

NaCl – sample contained NaCl

Rys. 1. Wpływ diwercyny i NaCl na wzrost *L. monocytogenes*.

Fig. 1. Effect of divercin and NaCl on the *L. monocytogenes* growth.

Ustalono jednak, że NaCl wywarł silny wpływ na efektywność działania diwercyny. Stężenie 1–2% NaCl wyraźnie obniżyło aktywność badanej bakteriocy. Stwierdzono, że w środowisku zawierającym 1–2% NaCl diwercyna po 48 h inkubacji traciła swoje antylisteryjne właściwości, w konsekwencji czego liczebność komórek *L. monocytogenes* zaczynała się zwiększać i po 98 h inkubacji osiągnęła poziom $3,2 \cdot 10^5$ (rys. 2). Z danych opublikowanych przez innych autorów wynika, że obecność NaCl może mieć negatywny wpływ również na skuteczność działania innych bakteriocyn. Przykładowo, nizyna stosowana w połączeniu z 1–5% NaCl jest mniej aktywna w stosunku do spor bakterii *Bacillus licheniformis* [2]. NaCl działa również ochronnie na niektóre wegetatywne formy bakterii. De Martinis i wsp. [6] zaobserwowali, że *Listeria monocytogenes* w środowisku o pH 5,5–6,5, w którym koncentracja NaCl wynosi od 2 do 3,5%, jest bardziej odporna na działanie podwyższonej temperatury. Na podstawie przeprowadzonych badań autorzy sugerują, że NaCl redukuje aktywność bakteriocyn lub adsorbuje się na powierzchni komórek, utrudniając tym samym bakteriocynom wniknięcie do ich wnętrza.



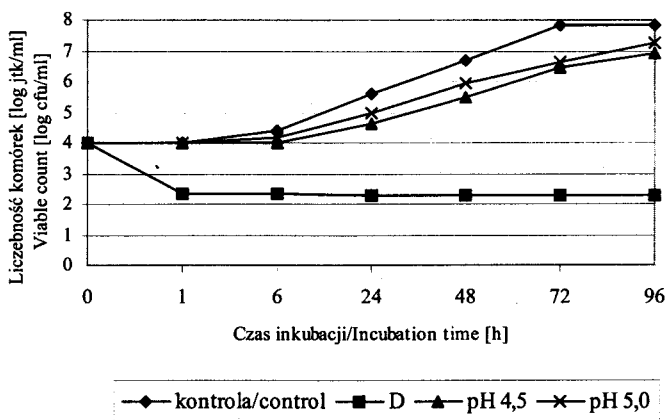
Objaśnienia:

D - próba z dodatkiem 200 AU/ml diwercyny, NaCl+ D - próba z dodatkiem NaCl i diwercyny

D - sample contained 200AU/ml divercin, NaCl+D - sample contained both NaCl and divercin addition

Rys. 2. Wpływ diwercyny i mieszaniny złożonej z NaCl i diwercyny na wzrost *L. monocytogenes*.

Fig. 2. Effect of divercin and combination of NaCl and divercin on the *L. monocytogenes* growth.



Objaśnienia:

kwasy mlekowy i cytrynowy przy pH 5,5 i 6,0 nie wpływały na wzrost *L. monocytogenes*

lactic and citric acid at pH 5,5 i 6,0 hadn't any effect on the *L. monocytogenes* growth

kontrola - próba bez dodatku czynników antybakteryjnych, D - próba z dodatkiem 200 AU/ml diwercyny,

pH - próba z dodatkiem kwasu mlekowego lub cytrynowego

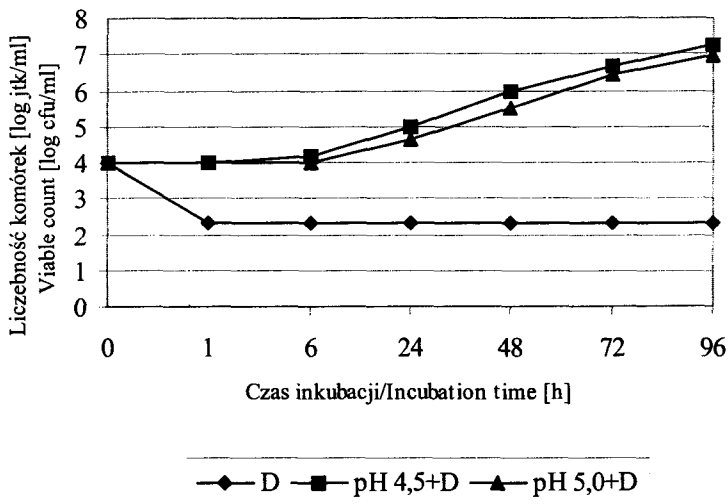
control - sample without antibacterial substances addition, D - sample contained 200AU/ml divercin, pH -

sample contained lactic or citric acid

Rys. 3. Wpływ diwercyny i kwasu mlekowego lub cytrynowego na wzrost *L. monocytogenes*.

Fig. 3. Effect of divercin and lactic or citric acid on the *L. monocytogenes* growth.

Wyniki przeprowadzonych badań wskazują również na to, że układ złożony z diwercyny i 5–10% NaCl posiadał silniejsze właściwości antylisteryjne niż każdy z jego składników stosowany oddzielnie (rys. 2). Wykazano, że mieszanina 200 AU/ml diwercyny i 5–10% NaCl, w ciągu 48 h inkubacji powodowała całkowitą inaktywację bakterii *L. monocytogenes*. Z danych literaturowych wynika, że obecność NaCl w środowisku niektórych bakteriocyn może zwiększyć skuteczność ich antybakteryjnego działania [5]. Harris i wsp. [9] stwierdzili, że NaCl w stężeniu 2 i 3,5% poprawia efektywność antylisteryjnego działania nizyny. Związek ten w stężeniu 3 i 4% wpływa w podobny sposób także na efektywność działania bakteriocyn wytwarzanych przez *Lactobacillus lactis* 11454, *Pediococcus pentosaceus* 43200, 43201 oraz *Lactobacillus plantarum* BN w stosunku do spor *Clostridium botulinum* [17]. Dodatek 3% NaCl zwiększa również skuteczność działania sakacyny P względem *L. ivanovii* [8].



Objaśnienia:

kwasy mlekowy i cytrynowy przy pH 5,5 i 6,0 nie wpływały na aktywność diwercyny względem *L. monocytogenes*

lactic and citric acid at pH 5,5 i 6,0 hadn't any effect on the diwercin activity against *L. monocytogenes*.

D - próba z dodatkiem 200 AU/ml diwercyny, pH+D - próba z dodatkiem kwasu mlekowego lub cytrynowego i diwercyny

D - sample contained 200 AU/ml diwercin, pH+D - sample contained both lactic or citric acid and diwercin addition.

Rys. 4. Wpływ diwercyny i mieszaniny złożonej z kwasu mlekowego lub cytrynowego i diwercyny na wzrost *L. monocytogenes*.

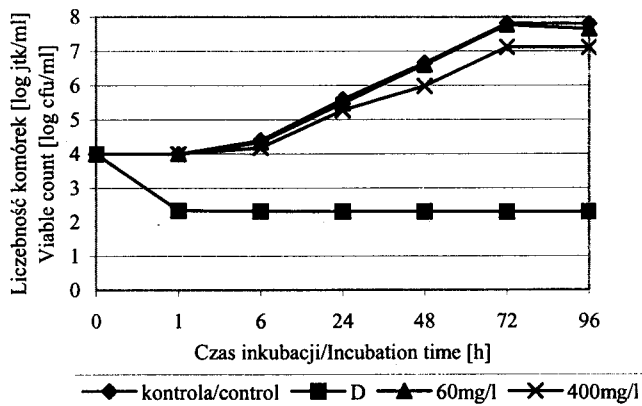
Fig. 4. Effect of diwercin and combination of lactic or citric acid and diwercin on the *L. monocytogenes* growth.

Przyczyny korzystnego wpływu NaCl na efektywność anybakteryjnego działania bakteriocyn nie są w pełni znane. Można więc jedynie przypuszczać, że NaCl redukuje aktywność wody pożywki i wpływa na strukturę białek cytoplazmatycznych powodując częściową permeabilizację błon.

Wyniki badań nad wpływem NaCl na aktywność diwercyny sugerują, że dzięki jednoczesnemu stosowaniu diwercyny i 5–10% NaCl możliwe będzie lepsze zabezpieczenie produktów żywnościowych przed rozwojem bakterii z rodzaju *Listeria*. Biorąc jednocześnie pod uwagę fakt, że kombinacja 1–2% NaCl i 200 AU/ml diwercyny słabiej redukowała liczebność badanych bakterii niż pojedyncze składniki tego układu, stwierdzono, że diwercyna nie powinna być stosowana do utrwalania produktów o niskiej zawartości NaCl.

Zaobserwowano również, że zakwaszenie środowiska do pH od 4,5 do 5,0 za pomocą kwasu mlekowego lub cytrynowego ograniczało intensywność wzrostu *L. monocytogenes*. Antagonistyczny wpływ badanych kwasów na wzrost *L. monocytogenes* był jednak znacznie mniejszy niż diwercyny (rys. 3).

W środowisku o pH 4,5–5,0, diwercyna działała jednak słabiej niż w środowisku o odczynie neutralnym (kontrola, rys. 4).



Objaśnienia:

mniejsze stężenia azotanu(V) sodu nie wpływały na wzrost *L. monocytogenes*

lower sodium nitrate concentrations hadn't any effect on the *L. monocytogenes* growth

kontrola – próba bez dodatku czynników antybakteryjnych, D – próba z dodatkiem 200 AU/ml diwercyny,

60 i 400 mg/l – próba z dodatkiem 60 i 400 mg/l azotanu(V) sodu

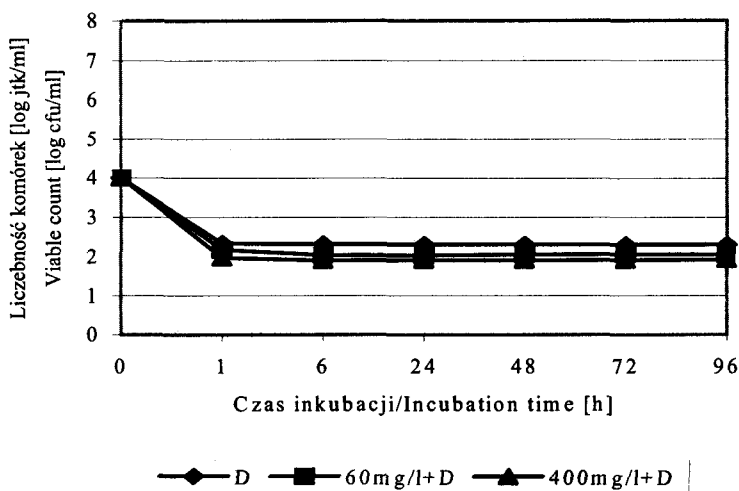
control – sample without antibacterial substances addition, D – sample contained 200 AU/ml divercin, 60

and 400 mg/l – sample contained 60 and 400 mg/l sodium nitrate

Rys. 5. Wpływ diwercyny i azotanu(V) sodu na wzrost *L. monocytogenes*.

Fig. 5. Effect of divercin and sodium nitrate on the *L. monocytogenes* growth.

Wyniki te różnią się od opublikowanych przez innych autorów. Wielu z nich stwierdziło, że kwas mlekowy, octowy, cytrynowy, sorbowy oraz ich sole sodowe mogą poprawić skuteczność działania bakteriocyn. Przykładowo, antylisteryjną aktywność pediocyny w kiełbasach wzmacnia kwas mlekowy wytwarzany podczas fermentacji [7]. Ocroft i wsp. [18] stwierdzili, że kombinacja nizyny i kwasów organicznych znacznie silniej hamuje kiełkowanie spor bakterii *Clostridium sporogenes* uszkodzonych przez obróbkę termiczną niż sama bakteriocyna. Bawarycyna MN jest bardziej aktywna w stosunku do *Listeria monocytogenes* w obecności kwasu mlekowego [15]. Pucci i wsp. [20] stwierdzili, że także pediocyna PA-1 i kwas mlekowy działają synergistycznie na *L. monocytogenes*. W podobny sposób działa mieszanina nizyny z sorbinianem sodu. W bulionie THI zaszczerpionym *Listeria*, inkubowanym w temp. 4°C, redukcja liczebności tych bakterii wynosi 4,5 cyklu logarytmicznego, podczas gdy sama nizyna ogranicza ich liczebność tylko o 2,5 cyklu logarytmicznego, a sorbinian jedynie o 0,5 cyklu logarytmicznego [3].



Objaśnienia:

mniejsze stężenia azotanu(V) sodu nie wpływały na aktywność diwercyny względem *L. monocytogenes*
 lower sodium nitrate concentrations hadn't any effect on the activity against *L. monocytogenes*

D – próba z dodatkiem 200 AU/ml diwercyny, 60 i 400 mg/l+D – próba z dodatkiem 60 i 400 mg/l azotanu(V) sodu i diwercyny

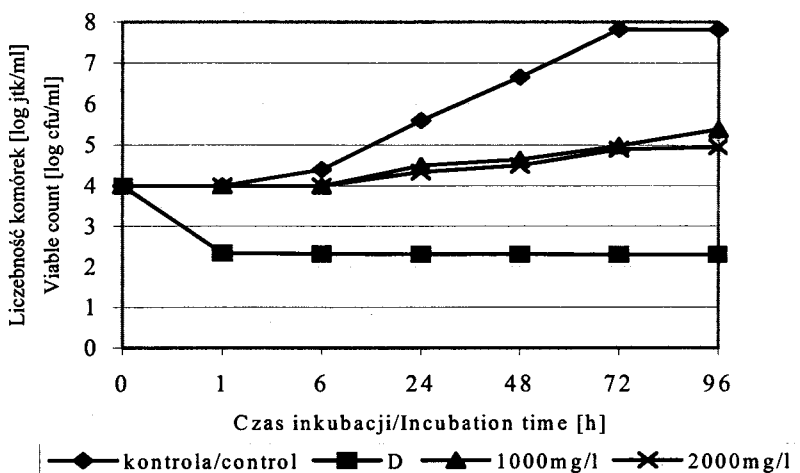
D – sample contained 200 AU/ml divercin, 60 and 400 mg/l+D – sample contained both 60 and 400 mg/l sodium nitrate and divercin addition

Rys. 6. Wpływ diwercyny i mieszaniny złożonej z azotanu(V) sodu i diwercyny na wzrost *L. monocytogenes*.

Fig. 6. Effect of divercin and combination of sodium nitrate and divercin on the *L. monocytogenes* growth.

W literaturze są również wzmianki wskazujące na to, że *Listeria* hodowana w warunkach stresowych staje się bardziej odporna na działanie czynników fizykochemicznych [14]. Wyniki przeprowadzonych badań potwierdzają to spostrzeżenie. Wykazały one bowiem jednoznacznie, że komórki *Listeria* zaadaptowane do wzrostu w środowisku o niskim pH były bardziej odporne na działanie diwercyny.

W badaniach nad wpływem azotanu(V) sodu na rozwój bakterii *Listeria* wykazano, że związek ten wywierał niewielki wpływ zarówno na rozwój *L. monocytogenes* (rys. 5), jak i na aktywność diwercyny względem tych bakterii (rys. 6). W literaturze są informacje wskazujące na to, że azotany mogą mieć korzystny wpływ na skuteczność antybakteryjnego działania bakteriocyn. Ganzle i wsp. [8] stwierdzili, że azotany(V) w synergistyczny sposób wpływają na aktywność sakacyny P w stosunku do *L. ivanovii*. W środowisku o pH 5,4 zwiększają one jej zdolność do oddziaływania na ten drobnoustrój.



Objaśnienia:

mniejsze stężenia benzoesu sodu nie wpływały na wzrost *L. monocytogenes*

lower sodium benzoate concentrations hadn't any effect on the *L. monocytogenes* growth

kontrola - próba bez dodatku czynników antybakteryjnych, D - próba z dodatkiem 200 AU/ml diwercyny,

1000 i 2000 mg/l - próba z dodatkiem 1000 i 2000 mg/l benzoesu sodu

control - sample without antibacterial substances addition, D - sample contained 200 AU/ml divercin,

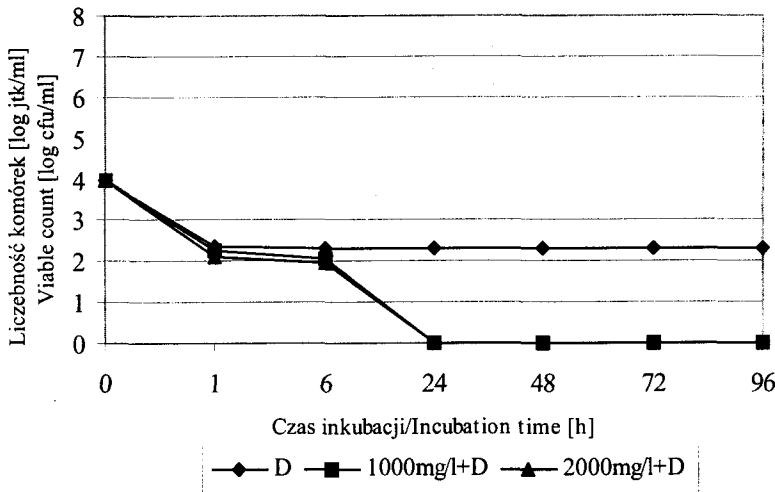
1000 and 2000 mg/l - sample contained both 1000 and 2000 mg/l sodium benzoate and divercin addition

Rys. 7. Wpływ diwercyny i benzoesu sodu na wzrost *L. monocytogenes*.

Fig. 7. Effect of divercin and sodium benzoate on the *L. monocytogenes* growth.

Benzoesan sodu wykazywał natomiast silną aktywność antylisteryjną. Obecność 1000–2000 mg/l tego związku w środowisku wyraźnie ograniczała intensywność wzrostu *L. monocytogenes*. Wpływ benzoesu sodu na rozwój badanych bakterii był

jednak znacznie mniejszy od stwierdzonego w próbach poddanych jedynie działaniu diwercyny (rys. 7).



Objaśnienia:

mniejsze stężenia benzoesu sodu nie wpływały na aktywność diwercyny względem *L. monocytogenes*.
lower sodium benzoate concentrations hadn't any effect on the activity against *L. monocytogenes*.

D – próba z dodatkiem 200 AU/ml diwercyny, 1000 i 2000 mg/l+D – próba z dodatkiem 1000 i 2000 mg/l benzoesu sodu i diwercyny

D – sample contained 200 AU/ml divercin, 1000 and 2000 mg/l+D – sample contained both 1000 and 2000 mg/l sodium benzoate and divercin addition

Rys. 8. Wpływ diwercyny i mieszaniny złożonej z benzoesu sodu i diwercyny na wzrost *L. monocytogenes*.

Fig. 8. Effect of divercin and combination of sodium benzoate and divercin on the *L. monocytogenes* growth.

Ustalono również, że skuteczność antylisteryjnego działania benzoesu sodu można zwiększyć poprzez zastosowanie go w połączeniu z diwercyną. Jak wynika z danych zamieszczonych na rys. 8. mieszanina złożona z 1000–2000 mg/l benzoesu sodu i 200 AU/ml diwercyny w ciągu 24 h inkubacji niszczyła wszystkie komórki *Listeria* występujące w pożywce hodowlanej. Tak dużej bakteriobójczej aktywności względem *L. monocytogenes* nie miała żadna przebadana mieszanina czynników antibakteryjnych.

Wnioski

W badaniach nad jednoczesnym stosowaniem diwercyny i tradycyjnych konserwantów żywności wykazano, że:

- 1) mieszaniny złożone z 200 AU/ml diwercyny i 5–10% NaCl, 200 AU/ml diwercyny i 1000–2000 mg/l benzoianu sodu silnie ograniczają rozwój *L. monocytogenes* niż każdy z tych składników stosowany oddzielnie.
- 2) obecność 1–2% NaCl oraz kwasu mlekowego i cytrynowego w stężeniu, które pozwala na obniżenie pH do poziomu 4,5–5,0 wpływa negatywnie na antylisteryjną aktywność diwercyny.
- 3) mieszanina złożona z 200 AU/ml diwercyny oraz 1000–2000 mg/l benzoianu sodu jest najbardziej aktywna względem *L. monocytogenes*. W ciągu 24 h powoduje całkowitą inaktywację tych bakterii.

Dr Anna Sip jest stypendystką FNP 01/02

Literatura

- [1] Adams M.R.: Safety of industrial lactic acid bacteria. *J. Biotechnol.*, 1999, **68**, 171-178.
- [2] Bell R.G., De Lancy K.M.: The effect of nisin sodium chloride interactions on the outgrowth of *Bacillus licheniformis* spores. *J. Appl. Bacteriol.*, 1985, **59**, 127-132.
- [3] Buncic S., Fitzgerald C.M., Bell R.G., Hudson J.A.: Individual and combined listerial effects of sodium lactate, potassium sorbate, nisin and curing salts at refrigeration temperature. *J. Food Safety*, 1995, **15**, 247-264.
- [4] Chich J.F., Champomier-Verges M.Ch., Maguin E., Mistou M.Y., Anglade P.: Lactic acid bacteria and proteomics: current knowledge and perspectives. *J. Chromat.*, 2002, **771**, 329-342.
- [5] Daeschel M. A : Applications and interaction of bacteriocins from lactic acid bacteria in food and beverages. In: *Bacteriocins of lactic acid bacteria* (Hoover D.H., Steenson L.R.) Academic Press, INC, San Diego, California 1993, pp. 63-91.
- [6] De Martinis E.C.P., Crandall A.D., Mazzotta A.S., Montville T.: Influence of pH, salt, and temperature on nisin resistance in *Listeria monocytogenes*. *J. Food Protect.*, 1997, **60**, 420-423.
- [7] Foegeding P.M., Thomas A.B., Pilkington D.H., Klaenhammer T.R.: Enhanced control of *Listeria monocytogenes* by in situ-produced pediocin during dry fermented sausage production. *Appl. Environ. Microbiol.*, 1992, **58**, 889-890.
- [8] Ganzle M.G., Hertel C., Hammes W.P.: Antimicrobial activity of bacteriocin-producing cultures in meat products-modeling of the effect pH, NaCl and nitrate concentration on the antimicrobial activity of sakacin P against *Listeria ivanovii* DS 20750. *Fleischwirtschaft*, 1996, **76**, 409-412.
- [9] Harris L.J., Fleming H.P., Klaenhammer T.R.: Sensivity and resistance of *Listeria monocytogenes* ATCC 19115. Scott A. and UAI. 500 to nisin. *J. Food Prot.*, 1991, **54**, 836-840.
- [10] Harvey J., Glimour A.: Characterization of recurrent and sporadic *Listeria monocytogenes* isolates from raw milk and nondairy foods by pulsed-field gel electrophoresis, monoclonal typing, plasmid profiling, and cadmium and antibiotic resistance determination. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2001, **67**, 840-847.
- [11] Hassan Z., Purwati E., Radu S., Rahim R.A., Rusul G.: Prevalence of *Listeria* sp. and *Listeria monocytogenes* in meat and fermented fish in Malaysia. *Southeast. Asian J. Trop. Med.*, 2001, **32**, 402-407.
- [12] Jorgensen L.V., Huss H.H.: Prevalence and growth of *Listeria monocytogenes* in naturally contaminated seafood. *Int. J. Food Microbiol.*, 1998, **30**, 127-131.
- [13] Lin Ch.-M., Fernando S.Y., Wie Ch.: Occurrence of *Listeria monocytogenes*, *Salmonella* sp., *Es-*

- cherichia coli* and *E. coli* O157:H7 in vegetables salads. Food Control, 1996, 3, 135-140.
- [14] Lou Y., Yousef A.E.: Resistance of *Listeria monocytogenes* to heat after adaptation to environmental stresses. J. Food Protect., 1996, 59, 465-471.
- [15] Montville T., Winkowski K., Crandall A.D.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* by *Lactobacillus bavaricus* MN in beef system at refrigeration temperatures. Appl. Environ. Microbiol., 1993, 59, 2552-2557.
- [16] Muriana P.M.: Bacteriocins for control of *Listeria* sp. in food. J. Food Protect., 1996, Supl., 54-63.
- [17] Okereke A., Montville T.J.: Bacteriocin mediated inhibition of *Clostridium botulinum* spores by lactic acid bacteria at refrigeration and abuse temperatures. Appl. Environ. Microbiol., 1996, 57, 3423-3428.
- [18] Ocroft C.A., Banks J.G., McPhee S.: Inhibition thermally-stressed *Bacillus* spores by combination nisin, pH and organic acid. Lebensm. Wissen. Technol., 1990, 23, 538-544.
- [19] Pilet M.F., Dusset X., Barre R., Novel G., Desmazaeud M., Piard J.Ch.: Evidence for two bacteriocins produced by *Carnobacterium piscicola* and *Carnobacterium divergens* isolated from fish and active against *Listeria monocytogenes*. J. Food Protect., 1995, 58, 256-262.
- [20] Pucci M.J., Vedamuthu E.R., Kunka B.S., Vandenberg P.A.: Inhibition of *Listeria monocytogenes* by using bacteriocin PA-1 produced by *Pediococcus acidilactici* PAC-1.0. Appl. Environ. Microbiol., 1988, 54, 2349.
- [21] Rodgers S.: Preserving non-fermented refrigerated foods with microbial cultures – a review. Trends Food Sci., 2001, 12, 276-284.
- [22] Rudol M., Scherer S.: High incidence of *Listeria monocytogenes* in European red smear cheese. Int. J. Food Microbiol., 2001, 63, 91-98.
- [23] Sip A.: Produkcja bakteriocyny przez bakterie *Carnobacterium divergens* AS7. Praca doktorska, Akademia Rolnicza w Poznaniu, Poznań 1999.
- [24] Sip A., Grajek W.: Biosynteza diwercyny przez kulturę bakterii *Carnobacterium divergens* o wysokiej koncentracji komórek. I Krajowy Kongres Biotechnologii, Wrocław 20-25 września 1999, s. 259-262.
- [25] Sip A., Grajek W.: Technologia produkcji diwercyny. Szkoła Letnia. "Bakterie fermentacji mlekowej - klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie", Kazimierz Dolny 29.05 - 2.06. 2000.

COMBINED EFFECT OF DIVERCIN AND TRADITIONAL PRESERVATIVES ON *LISTERIA MONOCYTOGENES* GROWTH

Summary

Efficacy of divercin in combination with traditional preservatives against *Listeria monocytogenes* Scott A. was examined. The results of investigation show that 1–2% NaCl addition decreased divercin activity, whereas 5–10% NaCl addition had synergistic effect on its activity. It was also found that the decrease of pH value to 4.5 using lactic acid or citric acid limited divercin bactericidal activity. The activity of divercin is also influenced by other substances. Thus, the presence of 200 AU/ml of divercin combined with 1,000–2,000 mg/l sodium benzoate inhibited *Listeria* growth greater than these individual substances. The combination of divercin and sodium benzoate showed the best antilisterial activity. After 24 h of incubation a complete inactivation of *L. monocytogenes* was achieved. It was proved that using divercin in combination with 5–10% NaCl and 1,000–2,000 mg/l sodium benzoate may be better method for food protection against *Listeria* contaminations.

Key words: bacteriocins, divercin, *Listeria monocytogenes*, biopreservation. ✻