



Bakterie fermentacji mlekowej — klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie

II Szkoła Letnia
— Ciechocinek,
18-22 maj 1998 r.

Bakterie fermentacji mlekowej stanowią heterogenną diagnostycznie grupę gramdodatnich, katalazoujemnych, nieprzetrwalnikujących bakterii, których wspólną cechą jest beztlenowa fermentacja mlekowa. Substratami dla fermentacji mlekowej są cukry proste, disacharydy oraz niektóre tri- i polisacharydy.

Do podstawowej grupy bakterii fermentacji mlekowej zalicza się ziarniaki i pałeczki należące do rodzajów *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus* oraz niektóre gatunki z rodzaju *Enterococcus* i *Carnobacterium*. Bakterie należące do rodzajów *Bifidobacterium*, *Corynebacterium* i *Propionibacterium* są pokrewne wymienionym w zakresie procesów metabolicznych i kierunku wykorzystania w przemyśle spożywczym.

Człowiek od bardzo dawna wykorzystywał bakterie mlekowe w takich procesach jak: fermentacja zakwasów chlebowych, produkcja serów, mlecznych napojów fermentowanych, wytwarzanie kiszonek roślinnych, dojrzewanie niektórych gatunków win, fermentacja mięsa, wędlin, ryb, nasion roślin strączkowych, oliwek, kawy i in. Działania te miały zwykle na celu utrwalenie żywności i przechowanie jej w formie nadającej się do spożycia przez długi czas.

Również obecnie lista zastosowań bakterii mlekowych jest bardzo długa i nie można wyobrazić sobie współczesnego przemysłu spożywczego bez ich obecności. W przemyśle tym, poza rolą w biologicznej stabilizacji żywności, ich ogromne zróżnicowanie metaboliczne pozwala na produkcję wielu wyrobów spożywczych o specyficznych i odmiennych walorach organoleptycznych. Również rolnictwo wykorzystuje te bakterie do konserwowania biomasy roślinnej na paszę dla zwierząt. Rosnące znaczenie tych mikroorganizmów obserwuje się w przemyśle farmaceutycznym, który przygotowuje z wykorzystaniem specyficznych szczepów bakterii mlekowych preparaty probiotyczne korzystnie wpływające na organizm człowieka.

Doprowadziło to do świadomego stosowania selekcionowanych kultur bakterii mlekowych i komponowania z nich zestawów szczepowych, czyli tzw. szczepionek czy starterów przeznaczonych do fermentacji określonego surowca.

Rosnące znaczenie tych drobnoustrojów w przemyśle spożywczym oraz to, że posiadają one status bakterii bezpiecznych dla zdrowia ludzi i zwierząt (status GRAS — ang. *Generally Regarded As Safe*), zwróciło uwagę badaczy również na możliwość ich wykorzystania jako bioproducentów różnych biologicznie czynnych substancji.

Zorganizowana przez Instytut Technologii Fermentacji i Mikrobiologii Politechniki Łódzkiej przy współpracy Zakładu Biolacta-Textel (Olsztyn) II Szkoła Letnia „Bakterie fermentacji mlekowej”, która odbyła się 18-22 maja 1998 r. w Ciechocinku miała na celu przedstawienie nowych osiągnięć, zarówno badań podstawowych jak i aplikacyjnych dotyczących tej grupy bakterii.

W skład Komitetu naukowego i organizacyjnego Szkoły wchodził przedstawiciel Instytutu Biotechnologii Przemysłu Rolno-Spożywczego, Instytutu Biochemii i Biofizyki PAN w Warszawie, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego, Biolacta-Textel oraz Politechniki Łódzkiej. Przewodniczącą Komitetu Organizacyjnego była prof. dr hab. Zdzisława Libudysz.

W Szkole Letniej uczestniczyło 76 osób, w tym 21 pracowników z przemysłu i 55 z wyższych uczelni, instytutów PAN i instytutów naukowo-badawczych. Uczestnicy Szkoły Letniej reprezentowali Szkołę Główną Gospodarstwa Wiejskiego (Warszawa), Akademię Rolniczo-Techniczną (Olsztyn), Akademię Rolniczą (Poznań), Akademię Rolniczą (Lublin), Akademię Rolniczą (Wrocław), Akademię Rolniczą (Szczecin), Wyższą Szkołę Rolniczo-Pedagogiczną (Siedlce), Wyższą Szkołę Morską (Gdynia), Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego (Kraków), Politechnikę Łódzką (Łódź), Instytut Biochemii i Biofizyki PAN (Warszawa), Oddział Nauki o Żywności PAN (Olsztyn), Instytut Żywności i Żywienia (Warszawa), Instytut Biotechnologii Przemysłu Rol-

no-Spożywcze (Warszawa), Instytut Mleczarstwa (Warszawa) i oddział (Olsztyn), Centrum Zdrowia Dziecka (Warszawa), Zakład Higieny Weterynaryjnej (Łomża), Wojewódzki Inspektorat Weterynarii (Siedlce), Biolacta-Textel (Olsztyn), CHR Hansen Poland, Kutnowskie Zakłady Farmaceutyczne, Łódzka Spółdzielnia Mleczarska (Łódź), Medyczne Studium Zawodowe (Kraków), PPF „AKWAWIT” (Leszno), Gist-Brocades Poland (Gdańsk), Przedsiębiorstwo Rolno-Spożywcze „FROMAKO” (Jelenia Góra).

W Szkole Letniej brało ponadto udział 8 firm; prezentujących najnowsze osiągnięcia w zakresie analityki mikrobiologicznej (bioMerieux, MERCK, Oxoid, BTL-Łódź) oraz aparaturę i drobny sprzęt do badań mikrobiologicznych (Panalytica, Medlab, De Ville Biotechnology). Pracownicy firmy Iodex (Poznań) prezentowali techniki mycia oraz dezynfekcji w przemyśle spożywczym.

Program Szkoły Letniej koncentrował się na dwóch kierunkach badań uznawanych obecnie jako najistotniejsze, a mianowicie na probiotycznym znaczeniu bakterii mlekowych dla ludzi i zwierząt oraz wykorzystaniu ich do bioutrwalania żywności. Program w dużej mierze uwzględniał postulaty uczestników I Szkoły, która odbyła się w 1996 r.

Łącznie uczestnicy Szkoły wysłuchali 14 godzin wykładów, 14 referatów sesyjnych oraz zapoznali się z wynikami badań przedstawionymi w 15 komunikatach.

W wykładzie inauguracyjnym wygłoszonym przez prof. dr hab. Helenę Oberman pt. „Bakterie fermentacji mlekowej — wczoraj i dziś” prelegentka omówiła historię produktów fermentowanych, teorię Miecznikowa i jej wpływ na rozwój badań nad zdrowotnym znaczeniem bakterii mlekowych, a także przedstawiła udział polskich naukowców w badaniach nad fizjologią i metabolizmem oraz stosowaniem w różnych działach przemysłu fermentacyjnego.

Sesja I „Probiotyki” prowadzona była przez prof. dr hab. Zdzisławę Libudziś (Politechnika Łódzka), rozpoczęła się ona wykładem prof. dra hab. Piotra Heczki (Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego), który omówił ekosystem flory jelitowej człowieka i udział w nim bakterii fermentacji mlekowej. Przedstawione zostały również fazy zasiedlania organizmu człowieka przez mikroorganizmy oraz konsekwencje zależności ekologicznej dla zdrowia człowieka. Następny wykład prof. dra hab. Stefana Ziajki (współautor dr Waldemar Dzwolak, ART, Olsztyn) poświęcony był bifidobakteriom. Omówiona została ich charakterystyka morfologiczna, historia taksonomii oraz metabolizm i wymagania wzrostowe. W kolejnym wykładzie prof. dr hab. Piotr Heczko („Czynniki warunkujące probiotyczne właściwości bakterii mlekowych”) koncentrował się na zdolności tych bakterii do adhezji i kolonizacji powierzchni śluzówki przewodu pokarmowego oraz stymulacji systemu immunologicznego człowieka. Autor zwrócił ponadto uwagę na zalecenia Unii Europejskiej dotyczące oceny i rejestracji żywności o deklarowanych właściwościach probiotycznych. W sesji popołudniowej prezentowane były wyniki badań z różnych ośrodków naukowych. Za szczególnie interesujący można uznać referat „Napoje mleczne fermentowane w świetle prawa międzynarodowego” (M. Wielgosz, M. Kosikowska, E. Jakubczyk, Instytut Mleczarstwa, Warszawa), a także referaty omawiające metody oznaczania bifidobakterii w produktach fer-

mentowanych nowych generacji (M. Kosikowska oraz M. Bielecka i wsp., Oddział Nauki o Żywności PAN, Olsztyn).

Sesja II „Mleczne napoje fermentowane nowych generacji” prowadzona była przez prof. dra hab. Piotra Heczko miała ona na celu przedstawienie trudności technologicznych w produkcji mlecznych napojów fermentowanych z udziałem bakterii jelitowych, nowych generacji szczepionek do produkcji jogurtu oraz technologii produkcji kefiru i systemów współzależności mikroflory ziaren kefirowych. W swoim wykładzie prof. dr hab. Zdzisława Libudzisz omówiła mikroorganizmy jelitowe, ich wykorzystanie jako startery do produkcji napojów fermentowanych oraz możliwe do zastosowania technologie produkcji mlecznych napojów fermentowanych z ich użyciem. Doc. dr hab. Maria Bielecka w wykładzie nt. „Jogurt — nowa generacja szczepionek” omówiła system współzależności bakterii jogurtowych, uwarunkowania technologiczne ich stosowania oraz możliwe modyfikacje starterów do produkcji jogurtu, w tym również z udziałem szczepów jelitowych. Dr Piotr Walczak (Poi-technika Łódzka) w wykładzie „Mikroorganizmy ziaren kefirowych” przedstawił charakterystykę ilościową i diagnostyczną mikroorganizmów stanowiących ekosystem tzw. grzybków kefirowych, w tym również omówił badania własne dotyczące identyfikacji i uzdolnień biochemicznych mikroorganizmów ziaren i zakwasów kefirowych rozprowadzanych przez Biolacta-Textel.

Sesja III „Biokonserwacja żywności” prowadzona była przez prof. dra hab. Romana Grzybowskiego (IBPR-S, Warszawa) i miała na celu przedstawienie możliwości wykorzystania bakterii mlekowych jako bezpiecznych biokonserwantów żywności. Dr Elżbieta Klewicka (współautor Z. Libudzisz), szeroko omówiła metabolity bakterii mlekowych o aktywności przeciwdrobnoustrojowej, wrażliwość na nie mikroorganizmów patogennych i zanieczyszczających produkty spożywcze. Zwróciła szczególną uwagę na mało poznany produkt antagonistyczny, tj. kwas 2-pirolidono-5-karboksylowy, zwany potocznie kwasem piroglutaminowym (PCA). Aktywność antagonistyczna tego związku w stosunku do niektórych bakterii gramujemnych jest większa niż kwasu mlekowego. Stężenia PCA 0,075 — 0,3% efektywnie hamowały rozwój bakterii z rodzaju *Pseudomonas* i *Enterobacter*. Dr Piotr Walczak w wykładzie „Bakteriocyny” scharakteryzował podstawowe bakteriocyny produkowane przez bakterie mlekowe, szczególnie wiele uwagi poświęcając lantyny (nizyna A i nizyna Z). Omówił także strukturę i geny operonu nizynowego odpowiedzialnego za biosyntezę bakteriocyny. Przedstawił funkcje biochemiczne enzymów będących produktami genów nisABTCIPRK i nisFEG, a szczególnie zwrócił uwagę na posttranslacyjną modyfikację cząsteczki prepronizyny, jej transport przez membranę cytoplazmatyczną i ścianę komórkową, odcinanie peptydu sygnałowego oraz mechanizm oporności bakterii producenta na własną bakteriocynę. Zaprezentował organizację genów operonu laktokokcynowego bakterii *Lactococcus lactis* ssp. *cremoris* odpowiedzialnego za biosyntezę laktokokcyn A, B i M. Omówił przy tym system transportu bakteriocyn z komórki, ich aktywację poprzez odcinanie peptydu sygnałowego za pomocą miejscowo specyficznej proteazy związanej ze ścianą komórkową oraz mechanizm działania tych bakteriocyn na komórki bakterii wrażliwych. Z uwagi

na wzrastające znaczenie pediocyny PA1 wytwarzanej przez *Pediococcus acidilactici* ze względu na jej hamujący wpływ na wzrost *Listeria monocytogenes*, znanego patogena żywności, przedstawił również system biosyntezy tej bakteriocyyny. Prof. dr hab. Włodzimierz Grajek (współautorka A. Sip, AR, Poznań) omówił możliwości bioutrwalaania żywności z wykorzystaniem metabolitów bakterii mlekowych. Bioutrwalaanie żywności nabiera coraz większego znaczenia, składa się na to możliwość przedłużenia trwałości przy zachowaniu świeżości produktu i jego naturalnej postaci, relatywna prostota i taniaść stosowanych technologii, ograniczenie strat wartościowych i wrażliwych składników oraz nadanie produktowi atrakcyjnych cech sensorycznych. Prelegent przedstawił biologiczne metody utrwalaania różnych surowców, a szczególnie szeroko omówił surowce roślinne.

W sesji popołudniowej poświęconej biokonserwacji żywności zaprezentowano 7 referatów. Dotyczyły one antagonistycznej aktywności bakterii mlekowych w stosunku do enteropatogenów, badań nad produkcją bakteriocyn przez *Carnobacterium divergens*, adsorpcją bakteriocyn przez *Lactococcus lactis*, wykorzystaniem bakterii mlekowych do fermentacji soków warzywnych, oznaczania kwasu mlekowego w materiale roślinnym oraz wyjaśnieniu czy istnieje wpływ soli jodowanej na przebieg fermentacji. W ostatniej kwestii autorzy stwierdzili, że sól jodowana znajdująca się na polskim rynku nie hamuje fermentacji mlekowej.

Podczas IV sesji prowadzonej przez prof. dra hab. Włodzimierza Grajka (AR, Poznań) w wykładzie nt. „Preparaty probiotyczne w żywieniu zwierząt” prof. dr hab. Roman Grzybowski (IBPR-S, Warszawa) omówił skład probiotyków przeznaczonych dla zwierząt, formy ich stosowania i efekty jakich można oczekiwać w hodowli. W kolejnym wykładzie mgr Hanna Złotkowska (IBPR-S, Warszawa) przedstawiła nowe techniki produkcji i wyodrębniania kwasu mlekowego. Scharakteryzowała mikroorganizmy stosowane w tych technologiach oraz możliwe do wykorzystania surowce. Oceniała ponadto nowe procesy technologiczne, takie jak metoda produkcji ciągłej, z zawracaniem komórek czy w podłożu stałym. Podsumowaniem sesji, a właściwie całej Szkoły Letniej był wykład dra Jacka Bardowskiego z IBB PAN (Warszawa), który przedstawił perspektywy wykorzystania bakterii mlekowych, konstrukcji nowych szczepów na drodze inżynierii genetycznej oraz trendów użycia bakterii mlekowych, np. jako gospodarzy do produkcji białek heterologicznych, niespecyficznych immunostymulatorów systemu odpornościowego czy żywych, doustnych wektorów szczepionkowych (szczepionek odpornościowych).

Szkole Letniej towarzyszyła ponadto sesja plakatowa prezentująca wyniki badań związanych z bakteriami mlekowymi i wykonanymi w IBPR-S (Warszawa) — 3 plakaty, Biolacta-TEXEL (Olsztyn) — 1 plakat, Oddziale Nauki o Żywności PAN (Olsztyn) — 3 plakaty, w ART (Olsztyn) — 2 plakaty, Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego (Kraków) — 2 plakaty i w Politechnice Łódzkiej — 3 plakaty.

Przegląd zagadnień prezentowanych zarówno w referatach jak i na plakatach wskazuje, że prowadzone w Polsce badania nad bakteriami mlekowymi koncentrują się głównie nad ich fizjologią, metabolizmem i wykorzy-

staniem praktycznym. Nie rozwijane są natomiast badania nad budową genetyczną bakterii stosowanych w szczepionkach oraz izolowanych z surowców i produktów polskich. Ta sytuacja sprawia, że Polska pozostaje dalej w tyle za przodującymi laboratoriami europejskimi i amerykańskimi w dziedzinie ulepszania i pozyskiwania szczepów dla celów przemysłowych metodami współczesnej inżynierii genetycznej. Jednocześnie informujemy, że monografia pt. *Bakterie fermentacji mlekowej — klasyfikacja, metabolizm, genetyka, wykorzystanie* zawierająca opracowania prezentowane podczas I Szkoły Letniej została wydana przez Wydawnictwo Politechniki Łódzkiej. Opracowanie jest dostępne poprzez Dział Wydawnictw Politechniki Łódzkiej, ul. Wólczańska 223, 93-005 Łódź, (tel. (0-42) 684 07 93).

oprac. Zdzisława Libudzisz, Piotr Walcza