

La **bioconservació** en productes carnis

RESUM: Els bacteris làctics formen part de la microbiota natural de diversos aliments, són considerats segurs i tenen una llarga història d'ús, casual o intencionat. Les bacteriocines produïdes per aquests bacteris poden representar un paper important, com a obstacles addicionals, en la conservació i seguretat dels productes carnis, principalment contra *Listeria monocytogenes*.

SUMMARY: Lactic acid bacteria have a long history of safe use in foods as indigenous natural microflora in several food products. Bacteriocinogenic starter cultures and/or their bacteriocins can act as extra hurdles to food pathogens, thus enhancing preservation and wholesomeness of meat products against *Listeria monocytogenes*.

El consumidor actual tendeix, cada cop més, cap a aliments menys processats, amb menys conservadors químics i que ahora tinguin un aspecte fresc i es conservin durant molt temps. Això implica, indirectament, una pèrdua de protecció intrínseca lligada a la utilització de processos tecnològics més suaus. El consumidor també ha perdut un cert grau de confiança a causa de les crisis alimentàries recents i, tot i la implantació de conceptes de seguretat com ara l'anàlisi de perills i control de punts crítics (HACCP), el nombre d'intoxicacions alimentàries continua augmentant en una Unió Europea que, tal com consta en el *Llibre blanc de seguretat alimentària*, té com a objectiu prioritari la mateixa seguretat. El nombre de brots notificats també segueix augmentant, en part també perquè cada vegada hi ha nous sistemes més eficaços per a la detecció de patògens.

Tot això fa que el teixit industrial hagi de desenvolupar noves estratègies per tal de minimitzar el risc, i

ahora s'innova amb el disseny de nous productes alimentaris, mínimament processats, al gust del consumidor.

Els bacteris làctics formen part de la microbiota natural de diversos aliments, tant d'origen animal com vegetal, són considerats segurs (GRASS) i tenen una llarga història d'ús, casual (fermentacions espontànies) o intencionat (addició de cultius iniciadors en fermentacions làctiques, en olives, en embotits, etc). Poden produir diversos compostos antimicrobians, com ara àcids orgànics, diòxid de carboni, peròxid d'hidrogen, diacetil i bacteriocines, que poden desenvolupar un paper important en la conservació d'aliments i ser una alternativa als conservadors químics.

Les bacteriocines són pèptids o proteïnes de baix pes molecular, que tenen una activitat antibacteriana contra espècies molt relacionades amb la soca que les produeix i també contra certs patògens, com ara *Listeria monocytogenes*.

L. monocytogenes, *Salmonella*, *Campylobacter*, *E. coli* enterohe-

morràgica i *S. aureus* poden ser considerats els riscos o perills principals en productes carnis. Segons dades dels Centers for Disease Control and Prevention i la *FoodNet surveillance database*, els percentatges globals d'intoxicacions alimentàries registrats del 1983 al 1997 van ser del 31 % en salmonel·losi i del 28 % en listeriosi (Mead *et al.*, 1999). La listeriosi és una malaltia que afecta, principalment, l'anomenada *població de risc*, és a dir, les dones embarassades, els nadons, les persones grans i les persones immunodeprimides. Tot i que la dosi infectiva no és del tot coneguda, perquè pot variar depenent tant de la soca, com de la susceptibilitat individual, la Comissió Internacional d'Especificacions Microbiològiques dels Aliments (ICMSF) ha conclòs que 100 ufc/g (unitats formadores de colònia per gram d'aliment) no haurien de representar un problema per a la població sense risc (ICMSF, 1996). La salmonel·losi no és una malaltia tan severa com la listeriosi, tot i que *Salmonella* és més freqüent que *Listeria*.

Durant els últims deu, quinze anys, s'ha dedicat bastant atenció al concepte de la bioconservació, és a dir, a l'aplicació dels bacteris làctics (BAL) en la conservació d'aliments, com a obstacles addicionals o definitius per tal de millorar la conservació i la seguretat de la carn i els productes carnis. Stiles (1996) defineix el concepte de la bioconservació com l'increment de la vida útil i la seguretat dels aliments utilitzant la seva pròpia microbiota. Això pot aconseguir-se bàsicament: a) mitjançant l'addició de soques competitives que creixen ràpid i/o que produeixen substàncies antagonistes, i d'aquesta manera, indirectament, s'afegeixen bacteriocines al producte. Cal tenir en compte, però, la influència de la composició (ingredients, pH...) i les condicions tecnològiques, tant durant el procés com durant la conservació del producte (temperatura, atmosfera...), i/o b) mitjançant l'addició de les substàncies purificades, regulat legalment, o afegint

Les bacteriocines són pèptids o proteïnes de baix pes molecular, que tenen una activitat antibacteriana contra espècies molt relacionades amb la soca que les produeix

el brou de cultiu on ha crescut el bacteri productor de la bacteriocina.

Les bacteriocines produïdes per BAL són, en general, molècules catióniques, hidrofòbiques o ambifíliques, compostes per residus de vint a seixanta aminoàcids, que es classifiquen en tres grups (Klaenhammer, 1993; Nes *et al.*, 1996). Les bacteriocines d'interès per a productes carnis pertanyen, principalment, a la classe IIa, excepte la nisina, que pertany a la classe Ia. La bacteriocina de referència de la classe IIa és la pediocina PA-1, produïda per *Pediococcus acidilactici*; són bacteriocines petites, d'un pes molecular <10 KDa, termoestables, catióniques, caracteritzades perquè tenen activitat contra *Listeria*, bàsicament a través de la formació de porus a la membrana cel·lular. La classe Ia també indueix porus a la membrana de la cèl·lula susceptible, tot i que segueix un procés una mica diferent. Aquesta classe té un espectre d'inhibició més ampli que el que demostren les bacteriocines de la classe II.

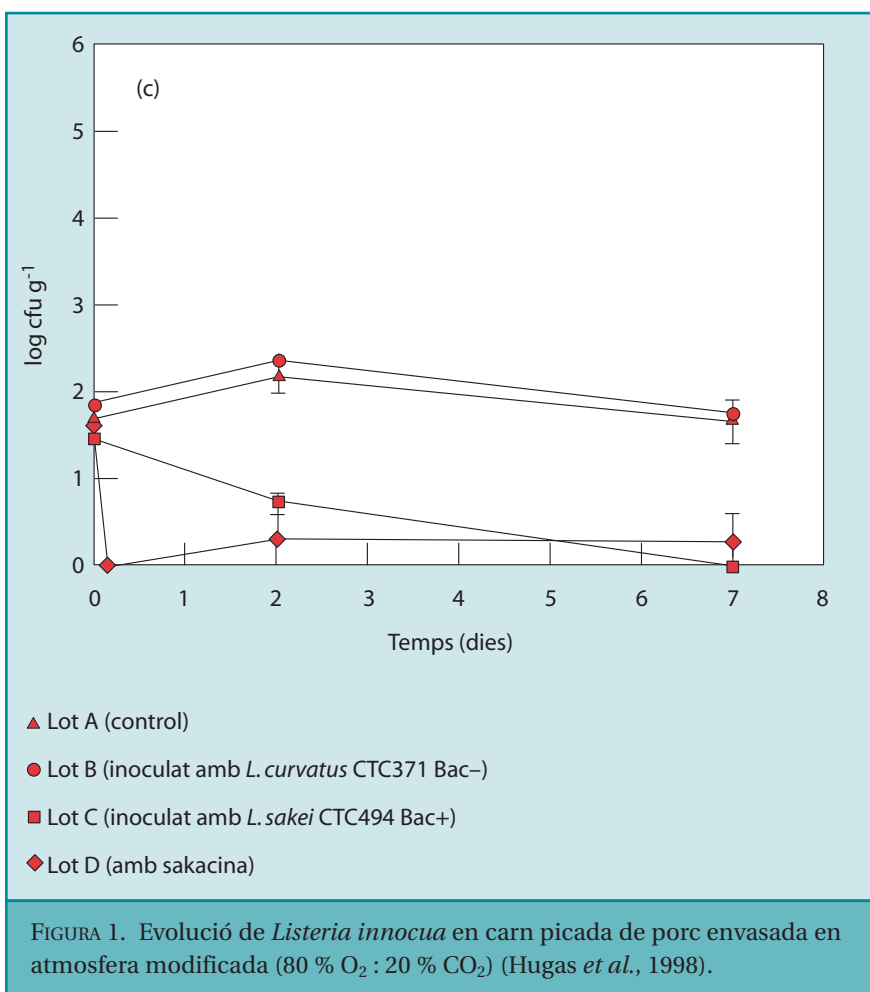
Diversos estudis han demostrat la utilització dels bacteris lactis i/o les seves bacteriocines per augmentar la conservació i la seguretat dels productes carnis. Els BAL poden ser incorporats directament a la massa càrnia, disseminats a la superfície del producte, en envasats actius..., depenent del producte on hagin de ser aplicats. Quan s'apliquen com a cultius iniciadors, coadjuvants de la fermentació o bioconservadors, l'èxit dependrà

del fet que el cultiu bacterià afegit sigui capaç de créixer i de produir la bacteriocina en l'aliment en qüestió, en les condicions de procés emprades, i alhora que no afecti les característiques sensorials pròpies d'aquest aliment.

Les bacteriocines nisina, pediocina, plantaricina, sakacina, enterocines i leucosines, així com les soques productores respectives han sigut emprades, soles o en combinació amb altres obstacles, per al control de *Listeria* en diversos productes carnis.

PRODUCTES CARNIS CRUS

La carn fresca és molt susceptible al deteriorament microbià, per això l'envasat al buit o en atmosfera modificada és sovint emprat per tal d'allargar la vida útil i augmentar la seguretat dels productes carnis crus. La conservació en refrigeració dels productes envasats exerceix un efecte sobre la microbiota més comuna en carn fresca, els bacteris gramnegatius, els desplaça i afavoreix el desenvolupament dels bacteris lactis, BAL (grampositius). Això fa que les soques de BAL puguin ser potencials candidates per ser emprades com a bioprotectors (Holzapfel *et al.*, 1995). Schillinger, Kaya i Lücke (1991) van observar un logaritme de reducció de *L. monocytogenes* quan inoculaven *Lactobacillus sakei* Lb706 (productor de sakacina A) en carn picada (pasteuritzada prèviament). En assajos fets al nostre institut hem pogut posar de



dels productes cuits envasats afavoreix el desenvolupament dels bacteris lactis; per tant, aquests bacteris són, també en aquest cas, candidats potencials com a bioconservadors, que minimitzen el risc del creixement i la supervivència de patògens i/o deteriorants, i contribueixen d'aquesta manera tant a l'extensió de la vida útil del producte com a la seva seguretat.

L. sakei CTC494 és capaç de disminuir el nombre de *Listeria* inoculada en pernil cuit, des de 2×10^2 ufc/g fins a 2 NMP/g (nombre més probable per gram) després de 7 dies a 7 °C (Hugas *et al.*, 1998). Altres autors han demostrat també un efecte antilisteriosi amb l'addició de sakacina P en salsitxes de tipus *bologna* (Kröckel, 1997) o en derivats de pollastre (Katla *et al.*, 2002).

Les enterocines, produïdes per *Enterococcus faecium* CTC492, han demostrat una gran eficàcia contra *Listeria* en el paté i el pernil cuit, amb reduccions de gairebé 8 log comparats amb el lot control, després de 37 dies de conservació en refrigeració (Aymerich *et al.*, 2000a). En el paté s'aconsegueix inhibir totalment el creixement del microorganisme, i es mantenen valors <3 NMP/g durant tot el temps estudiat de conservació del producte (figura 3).

L'alteració coneguda com a *llim o viscositat* en productes cuits llescats i envasats és un problema de repercussions econòmiques importants a molts països. El defecte apareix abans de la data de caducitat del producte i, tot i que no es detecten olors desagradables, l'aparença és molt ofensiva per al consumidor. La viscositat és el resultat de la secreció de polisacàrids de cadena llarga i elevat pes molecular, per soques de BAL (*Lactobacillus* i *Leuconostoc*, principalment), que recontaminen el producte durant la manipulació posterior a la cocció, principalment durant el llescat.

Quan es reproduceix el defecte inoculant la soca *L. sakei* CTC746 (productora de llim) en pernil llescat i s'estudia l'efecte dels cultius protectors i les bacteriocines, s'observa que l'addició d'*E. faecium*

manifest que l'addició de *L. sakei* CTC494 (productor de sakacina K) o de 400 UA/g de sakacina K (idèntica a la sakacina A) aconseguix inhibir el creixement de *Listeria* en carn picada de porc i en pits de pollastre inoculats de manera controlada amb el microorganisme esmentat (Hugas *et al.*, 1998). Els millors resultats s'aconsegueixen en atmosfera modificada i al buit, respectivament (figures 1 i 2).

La nisina ha sigut emprada en diverses aplicacions, en esprai per sanejar la superfície de canals (Cutter, Siragusa, 1994), per descontaminar peces de carn contaminades artificialment (Murray, Richard, 1997) i també combinada amb altres antimicrobians, com ara lactat sòdic en salsitxes de porc (Schlyter *et al.*, 1993) o amb clorur sòdic, en carn picada de búfal. En aquest cas, amb l'addició de 800 UI/g de nisina, observaren 2,4 log de reducció, en comparació amb el lot control, i un efecte

sinèrgic de la bacteriocina en presència del 2 % de sal (Pawar *et al.*, 2000).

PRODUCTES CARNIS CUITS

Els productes cuits són molt susceptibles a la recontaminació durant els processos posteriors a la cocció, com per exemple durant el llescat i envasat. Si això es produeix, els bacteris contaminants, patògens i/o deteriorants, creixeran de manera exponencial, fins i tot a temperatures de refrigeració, i arribaran a xifres molt elevades en pocs dies. De fet, s'ha descrit que els productes carnis cuits llescats, envasats al buit o en atmosfera modificada, tenen una estabilitat gairebé nul·la enfront del creixement de *L. monocytogenes*, fins i tot en condicions adequades de refrigeració (Buchanan *et al.*, 1989; Blom *et al.*, 1997).

Igualment com en productes crus, la conservació en refrigeració

CTC492 (productor d'enterocines) i *L. sakei* CTC494 (productor de sakacina K) aconseguix prevenir l'aparició de llim durant set i quinze dies, respectivament. Quan a més a més dels cultius bioconservadors s'addicionaven les bacteriocines respectives, no va aparèixer el defecte durant el temps de conservació estudiat (Garriga *et al.*, 2001). Les mostres addicionades solament amb enterocines tampoc van presentar el defecte. En presència de *L. carnosum* CTC747 (productora de llim), solament l'addició de nisina aconseguí prevenir l'aparició de viscositat fins al final del mostreig (vint-i-un dies).

PRODUCTES CRUS-ADOBATS

Els objectius principals de la fermentació i la maduració de la carn són la formació del color típic de la carn adobada, el desenvolupament de l'aroma característica, la cohesió i la facilitat per al llescat, la inhibició de bacteris patògens i alterants, i l'estabilitat. Aquests objectius són assolits mitjançant unes complexes interaccions físiques, químiques i microbiològiques. La fermentació espontània en els embotits es caracteritza per la participació dels BAL, dels cocs grampositius catalasopositius i dels fongs i els llevats.

Històricament, les fermentacions d'aliments s'havien basat en processos empírics que involucraven l'activitat de la microbiota natural present en la matèria prima, combinada amb les manipulacions tècniques i els additius. Des dels temps de Pasteur, se sap que el principi natural de la fermentació rau en una multitud de diferents organismes, i sobre la base d'aquesta idea va néixer la investigació sobre microorganismes especialment adequats per a cada tipus d'aliment fermentat, els cultius iniciadors. En embotits crus adobats, els BAL són molt competitius i predominen sobre altres comunitats microbianes. Aquests productes, com ara la llonganissa, el xoriço, etc., tenen una llarga tradició com a productes «segurs», però s'ha demostrat que tot i que *L. monocy-*

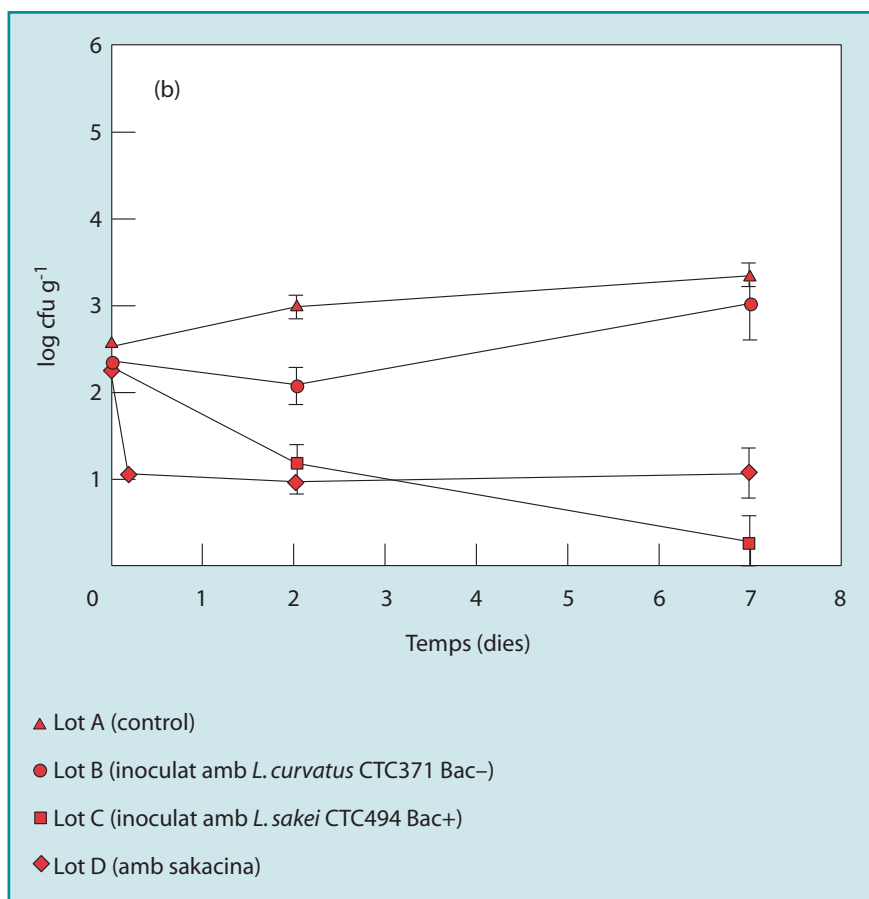


FIGURA 2. Evolució de *Listeria innocua* en pits de pollastre envasats al buit (Hugas *et al.*, 1998).

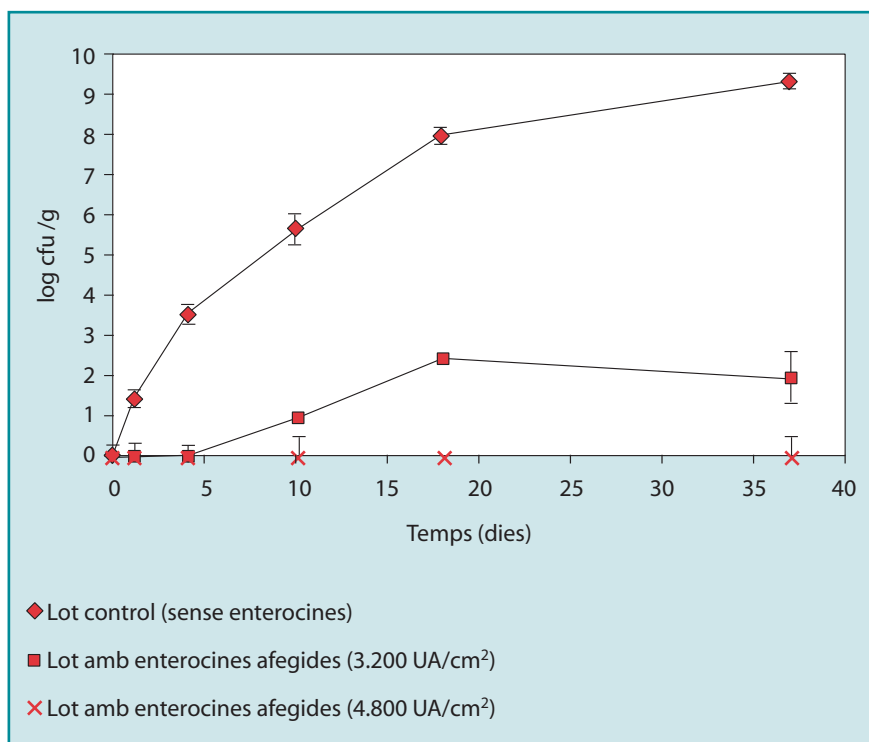
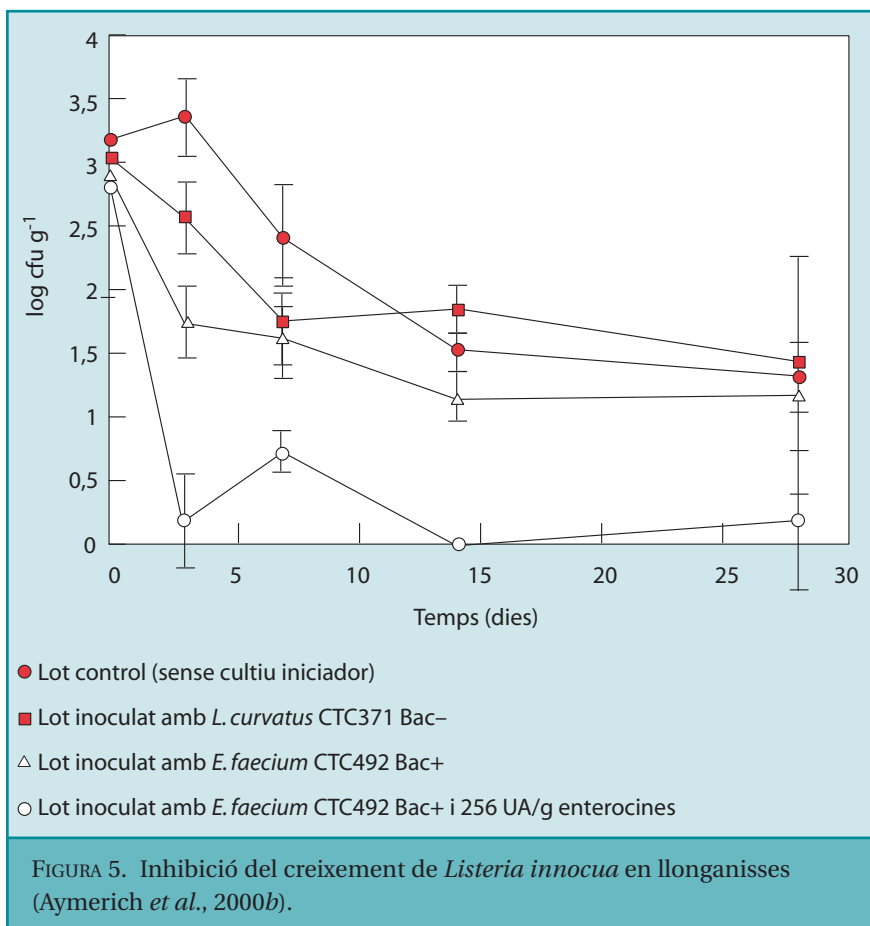
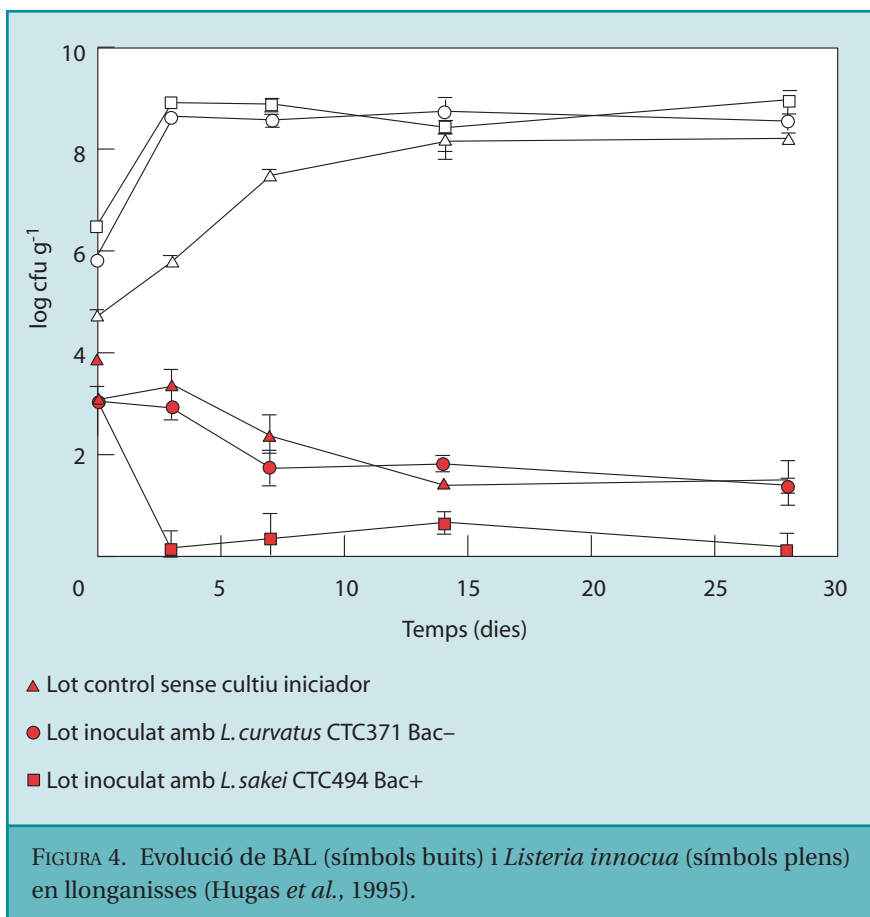


FIGURA 3. Efecte de l'addició d'enterocines en paté inoculat amb *Listeria innocua* durant la conservació a 7 °C (Aymerich *et al.*, 2000a).



togenes no creix en aquest tipus de producte, la contaminació potencial de la carn fresca amb aquest patògen no resulta fàcil d'eliminar durant el procés de maduració. Això vol dir que si la carn de la barreja inicial està contaminada, encara que sigui en baixa quantitat, el patògen hi serà present al final, tot i que generalment en un nombre baix (<100 ufc/g). *L. monocytogenes* és un microorganisme ubic i s'aïlla de manera freqüent en les plantes de processat. Les embotidores estan molt sovint contaminades. En un estudi fet al nostre institut, en el marc del projecte europeu TRADISAUSAGE, s'ha trobat que el 20 % de les embotidores d'obradors tradicionals petits-mitjans catalans estan contaminades amb el patògen, després de les operacions habituals de neteja desinfecció (Fadda *et al.*, 2005). Les anàlisis dels embotits, un cop acabat el procés de maduració, demostren que el 10 % de les mostres són positives per a *L. monocytogenes*. Altres estudis han posat de manifest valors entre el 12-16 % de mostres que donen positiu per *Listeria* en el producte final (AFSSA, 2000).

Els resultats obtinguts a l'Institut de Recerca i Tecnologia Agroalimentàries (IRTA), al Centre de Tecnologia de la Carn, han posat de manifest que en llonganisses inoculades amb *L. sakei* CTC494, productora de sakacina K, com a cultiu iniciador, el recompte de *Listeria*, inoculada expressament a la massa, es redueix en 2,64 log, en comparació amb els lots control no inoculats amb un cultiu iniciador bac⁺, i la reducció també és significativa quan es compara un altre cultiu iniciador, però que no produeix bacteriocina (Hugas *et al.*, 1995) (figura 4). És també molt important considerar que la tecnologia de fabricació (és a dir, ingredients i procés) influeix en l'efectivitat dels cultius iniciadors productors de bacteriocina (Hugas *et al.*, 1996).

Altres autors han observat resultats positius pel que fa a inhibició de *Listeria* quan s'utilitza *P. acidilactici*, productora de pediocina, en diferents

tipus de productes adobats, com ara *chicken summer sausages* i *turkey summer sausages* (Luchansky *et al.*, 1992; Baccus-Taylor *et al.*, 1993).

Assajos fets amb enterocines adicionades a la massa càrnia, inoculada amb *Listeria* de prop de 10^3 ufc/g, posen de manifest una reducció dels recomptes del microorganisme, que disminueix fins a 6 NMP/g al cap dels 3 dies de fermentació i es manté fins al final de l'adobament (Aymerich *et al.*, 2000b) (figura 5). En aquest cas, s'observa que és molt més eficaç la bacteriocina que la utilització del cultiu iniciador bac+, perquè la producció de la bacteriocina es veu inhibida per la sal, el pebre i el pH àcid d'aquest tipus de llonganissa.

En resum, les bacteriocines poden ser considerades com a obstacles addicionals en la inhibició de *Listeria* dins la seqüència d'obstacles (acidificació i assecat) que es produeix en un procés d'aquest tipus.

En resum, les bacteriocines poden ser considerades com a obstacles addicionals en la inhibició de *Listeria* dins la seqüència d'obstacles (acidificació i assecat) que es produeix en un procés d'aquest tipus.

LIMITACIONS I APLICACIONS COMERCIALS

L'ús de bacteriocines en aliments té una sèrie de limitacions quant a la seva aplicació. Les bacteriocines no tenen un ampli espectre d'hoste, solament són actives contra soques d'espècies molt relacionades amb la soca productora i, en general, no són actives enfront de bacteris deteriorants i/o patògens gramnegatius. Per tant, des del punt de vista de la seguretat alimentària, cal combinar la tecnologia dels obstacles. Diversos estudis han demostrat efectes sinèrgics o additius amb la utilització de les bacteriocines, alguns antimicrobians i les tecnologies emergents, com ara les altes pressions, els polsos elèctrics, els camps magnètics, la irradiació... Aquest tipus de tecnologies de conservació augmenten l'activitat antibacteriana de les bacteriocines enfront de bacteris gramnegatius, i els fan sensibles. L'alta pressió (APH), aplicada generalment entre 400 i 900 MPa, és capaç de destruir les cèl·lules vegetatives mit-

Les bacteriocines poden ser considerades com a obstacles addicionals en la inhibició de *Listeria* dins la seqüència d'obstacles (acidificació i assecat)

jançant la desestabilització estructural i funcional de la membrana citoplasmàtica, induint la desnaturalització proteica i inhibint els mecanismes genètics (Hoover *et al.*, 1989). Tot i que hi ha bastants estudis fets en sistemes model, també hi ha certa experiència demostrada en producte. Així, en pernil cuit llescat, per exemple, vam observar un efecte additiu entre el tractament de pressió aplicat (400 MPa 10 min a 17 °C) i la utilització de nisina (44,85 ppm) (Aymerich *et al.*, 2005). Tot i que el tractament més eficient per disminuir els recomptes de *Salmonella* va ser la pressió, l'absència del patogen en el 50 % de les mostres de pernil sols s'aconseguí quan es combinaren APH i nisina. Igualment també es va observar que quan s'inoculava *L. monocytogenes* en el pernil llescat, al final del període de conservació (3 mesos a 6 °C) els lots tractats per alta pressió i amb nisina tenien recomptes significativament més baixos (reducció de 2 log).

Tot i que en aquests últims deu anys el coneixement en cultius bioconservadors, especialment en cultius bacteriocinogènics i bacteriocines, s'ha vist incrementat de manera notable, la utilització de BAL que produeixen bacteriocines no és un fet comú avui per avui a la indústria alimentària. Són pocs els cultius disponibles al mercat: Bactoferm F-LC (Christian Hansen) és una barreja de *P. acidilactici* (productor de pediocina) i *L. curvatus* (productor de sakacina A) i està comercialitzat com a cultiu capaç de prevenir el creixement de *Listeria* en embotits fermentats. Chris-

tian Hansen també ofereix un cultiu bioprotector per a productes carnis envasats al buit o en atmosfera modificada que conté *L. sakei* (B-2) o *L. carnosum* 4010 (B-SF-43). Danisco Cultor comercialitza un cultiu antilisteriosi de *L. plantarum* i *S. carnosus* en embotits fermentats i per a pernil cuit (ALCMix1) i COX1 i XPA1 per aplicar a carn picada i salsitxes crues, com a bioprotectors. Els productes Alta 2352 i Fargo 23 de Quest International són productes comercialitzats com a ingredients naturals alimentaris, resultants de processos fermentatius emprant *P. Acidilactici*, productor de bacteriocina activa contra *Listeria*. Aquest producte està aprovat als Estats Units com a ingredient alimentari i es comercialitza per allargar la vida útil de productes carnis, com ara salsitxes crues, frankfurts, hamburgueses i pernil cuit en atmosfera modificada.

Nisaplin i Chrisin són les formes comercials de la nisina, produïdes per Cultor i Christian Hansen, respectivament. La soca productora és *L. lactis ssp. lactis*.

Quant a aspectes legals, Dinamarca i França són els únics països europeus que tenen regulada, explícitament, l'addició de cultius microbians als aliments. Ara per ara, l'aplicació *in situ* de cultius de grau alimentari ha sigut més habitual que l'aplicació de les bacteriocines purificades, perquè no és necessari un etiquetatge especial si es consideren com a coadjuvants de procés, per exemple, com a acidificants o compostos d'aroma (Holzapfel *et al.*,

Les noves bacteriocines purificades han de complir els criteris (EC, 1997) sobre novel food ingredients i s'ha d'aportar informació de seguretat segons directrius específiques

1995). Les noves bacteriocines purificades han de complir els criteris (EC, 1997) sobre novel food ingredients i s'ha d'aportar informació de seguretat segons directrius específiques.

El comitè d'experts en additius alimentaris de la Joint Food and Agricultural Organisations / Organització Mundial de la Salut va recomanar, el 1969, l'acceptació de la utilització de la nisina com a conservant en aliments (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives [JECFA]). El 1988 se li va reconèixer l'estatus de GRASS i actualment el seu ús està permès a més de cinquanta països. A Europa està regulada la seva utilització com a conservant en alguns productes lactis, en tapioca i púdings de sèmola, però no està autoritzada en productes carnis (EC, 1995).

BIBLIOGRAFIA

AGENCE FRANÇAISE DE SÉCURITÉ ALIMENTAIRE DES ALIMENTS [AFSSA] (2000). *Rapport de la commission d'études des risques liés à Listeria monocytogenes*. Agence Française de Sécurité Alimentaire des Aliments.

AYMERICH, M. T.; GARRIGA, M.; YLLA, J.; VALLIER, J.; MONFORT, J. M.; HUGAS, M. (2000a). «Application of enterocins as biopreservatives against *Listeria innocua* in meat products». *J. Food Protec.*, 63 (6), p. 721-726.

AYMERICH, M. T.; ARTIGAS, M. G.; GARRIGA, M.; MONFORT, J. M.; HUGAS, M. (2000b). «Effect of sausage ingredients and additives on the production of enterocin A and B by *Enterococcus faecium* CTC492. Optimization on in vitro pro-

duction and anti-listerial effect in dry fermented sausages». *J. Appl. Microbiol.*, 88, p. 686-694.

AYMERICH, M. T.; JOFRÉ, A.; GARRIGA, M.; HUGAS, M. (2005). «Inhibition of *Listeria monocytogenes* and *Salmonella* by natural antimicrobials and high hydrostatic pressure in sliced cooked ham». *J. Food Protec.*, 68 (1), p. 173-177.

BACCUS-TAYLOR, G.; GLASS, K. A.; LUCHANSKY, J. B.; MAURER, J. A. (1993). «Fate of *Listeria monocytogenes* and pediococcal starter cultures during the manufacture of chicken summer sausages». *Poultry Science*, 72 (9), p. 1772-1778.

BLOM, H.; NERBRINK, E.; DAINTY, R.; HAGTVEDT, T.; BORCH, E.; NISSEN, H.; NESBAKKEN, T. (1997). «Addition of 2,5 % lactate and 0,25 % acetate controls growth of *Listeria monocytogenes* in vacuum-packed, sensory-acceptable cervelat sausage and cooked ham stored at 4 °C». *Int. J. Food Microbiol.*, 38, p. 71-76.

BUCHANAN, R. L.; STAHL, H. G.; WHITING, R. C. (1989). «Effects and interactions of temperature, pH, atmosphere, sodium chloride, and sodium nitrite on the growth of *Listeria monocytogenes*». *J. Food Protec.*, 52 (12), p. 844-851.

CUTTER, C. N.; SIRAGUSA, G. R. (1994). «Decontamination of beef carcass tissue with nisin using a pilot scale model carcass washer». *Food Microbiol.*, 11, p. 481-489.

«European Parliament and Council Directive No 95/2/EC of 20 February 1995 on food additives other than colours and sweeteners». *Official Journal*, L 061 [Brussel·les: European Parliament], p. 1-40.

FADDA, S.; AYMERICH, M. T.; HUGAS, M.; GARRIGA, M. (2005). «Use of a GMP/GHP HACCP checklist to evaluate the hygienic status of traditional dry sausages workshops». *Food Protection Trends*. [En premsa]

GARRIGA, M.; AYMERICH, T.; COSTA, S.; MONFORT, J. M.; HUGAS, M. (2001). «Bacterias

lácticas para evitar la viscosidad en productos cárnicos cocidos loncheados. Un ejemplo de bioprotección». *Eurocarne*, 96, p. 67-71.

HOLZAPFEL, W. H.; GEISEN, R.; SCHILLINGER, U. (1995). «Biological preservation of foods with reference to protective cultures, bacteriocins and food-grade enzymes». *Int. J. Food Microbiol.*, 24, p. 343-362.

HOOVER, D. G.; METRICK, C.; PAPINEAU, A. M.; FARKAS, D. E.; KNORR, D. (1989). «Biological effects of high hydrostatic pressure on food microorganisms». *Food Technol.*, 43 (3), p. 99-107.

HUGAS, M.; GARRIGA, M.; AYMERICH, T.; MONFORT, J. M. (1995). «Inhibition of *Listeria* in dry fermented sausages by the bacteriocinogenic *Lactobacillus sake* CTC494». *J. Appl. Bacteriol.*, 79, p. 322-330.

HUGAS, M.; NEUMEYER, B.; PAGÉS, E.; GARRIGA, M.; HAMMES, W. P. (1996). «Antimicrobial activity of bacteriocin-producing cultures in meat products. Comparison of the antilisterial potential of bacteriocin-producing lactobacilli in fermented sausages». *Fleischwirtschaft*, 76 (6), p. 649-652.

HUGAS, M.; PAGÉS, E.; GARRIGA, M.; MONFORT, J. M. (1998). «Application of the bacteriocinogenic *Lactobacillus sakei* CTC494 to prevent growth of *Listeria* in fresh and cooked meat products packed with different atmospheres». *Food Microbiol.*, 15, p. 639-650.

ICMSF (1996). «Establishment of sampling plans for microbiological safety criteria for foods in international trade, including recommendations for control *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Campylobacter* and enterohemorrhagic *E. coli*», Agenda 11, CX/FH 96/91-16; Roma: Codex Committee on Food Hygiene.

JOINT FAO/WHO EXPERT COMMITTEE ON FOOD ADDITIVES [JECFA] (1969). *12th Report of the Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives. WHO Technical Report Series no. 430. FAO Nutrition meetings report series no. 45.*

KATLA, A. K.; MORETRO, T.; SVEEN, I.; AESSEN, I. M.; AXELSSON, L.; RORVIK, L. M.; NATERSTAD, K. (2002). «Inhibition of *Listeria monocytogenes* in chicken cold cuts by addition of sakacin P and sakacin P-producing *Lactobacillus sakei*». *J. Appl. Microbiol.*, 93, p. 191-196.

KLAENHAMMER, T. R. (1993). «Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria». *FEMS Microbiol. Rev.*, 12 (1-3), p. 39-85.

KRÖCKEL, L. (1997). «Use of sakacin P and *Lactobacillus sake* LB674 to suppress growth of *Listeria monocytogenes* in

- vacuum-packaged sliced bologna-type sausage». A: *Proceedings LACTIC97*, Caen (France), p. 201.
- LUCHANSKY, J. B.; GLASS, K. A.; HARSONO, K. D.; DEGNAN, A. J.; FAITH, N. G.; CAUVIN, B.; BACCUS-TAYLOR, G.; ARIHARA, K.; BATER, B.; MAURER, J. A.; CASSENS, R. G. (1992). «Genomic analysis of *Pediococcus* starter cultures used to control *Listeria monocytogenes* in turkey summer sausage». *Appl. Environ. Microbiol.*, 58 (9), p. 3053-3059.
- MEAD, P. S.; SLUTSKER, L.; DIETZ, V.; MCCAIG, L. F.; BRESEE, J. S.; SHAPIRO, C.; GRIFFIN, P. M.; TAUXE, R. V. (1999). «Food-Related Illness and Death in the United States». *Emerg. Infect. Dis.*, 5 (5), p. 607-625.
- MURRAY, M.; RICHARD, J. A. (1997). «Comparative study of the antilisterial activity of nisin and pediocin AcH in fresh ground pork stored aerobically at 5 °C». *J. Food Protec.*, 60, p. 1534-1540.
- NES, I. F.; DIEP, D. B.; HÅVARSTEIN, L. S.; BRURBERG, M. B. (1996). «Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria». A: VENEMA, G.; HUIS IN'T VELD, J. H. J.; HUGENHOLTZ, J. [ed.]. *Lactic acid bacteria: genetics, metabolism and applications*. Veldhoven (The Netherlands): Kluwer Academic Publishers, p. 113-128.
- PAWAR, D. D.; MALIK, S. V. S.; BHILEGAONKAR, K. N.; BARBUDDHE, S. B. (2000). «Effect of nisin and its combination with sodium chloride on the survival of *Listeria monocytogenes* added to raw buffalo meat mince». *Meat Sci.*, 56, p. 215-219.
- «Regulation (EC) No 258/97 of the European Parliament and of the Council of 27 January 1997 concerning novel foods and novel food ingredients». *Official Journal*, L043 [Brussels: European Parliament], p. 1-6.
- SCHILLINGER, U.; KAYA, M.; LÜCKE, F. K. (1991). «Behaviour of *Listeria monocytogenes* in meat and its control by bacteriocin-producing strain of *Lactobacillus sake*». *J. Appl. Bacteriol.*, 70, p. 473-478.
- SCHLYTER, J. H.; GLASS, K. A.; LOEFFELHOLZ, J.; DEGNAN, A. J.; LUCHANSKY, J. B. (1993). «The effects of diacetate with nitrite, lactate, or pediocin on the viability of *Listeria monocytogenes* in turkey slurries». *Int. J. Food Microbiol.*, 19, p. 271-281.
- STILES, M. E. (1996). «Biopreservation by lactic acid bacteria». *Ant. van Leeuw.*, 70, p. 331-345.

