

MỘT SỐ TÍNH CHẤT CỦA BACTERIOCIN ĐƯỢC TỔNG HỢP BỞI VI KHUẨN LACTIC PHÂN LẬP TỪ SỮA BÒ TƯƠI

NGUYỄN THỊ ĐÀ, HOA THỊ MINH TÚ, LÊ THANH BÌNH

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Bacteriocin là peptide được tổng hợp ở ribosome, tích điện dương, có khối lượng phân tử thấp, bền nhiệt, nhạy cảm với enzym phân hủy protein và có khả năng ức chế các chủng có quan hệ họ hàng gần gũi với chủng sinh bacteriocin đó [11, 6, 12, 5, 13]. Khả năng sinh tổng hợp bacteriocin của vi khuẩn lactic (VKLT) được biết đến nhiều ở một số chủng thuộc chi *Lactococcus*, *Pediococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*... [3, 13]. Trong đó, bacteriocin của các lactococci đã thu hút sự quan tâm nghiên cứu đặc biệt trong nhiều thập kỉ qua. Hầu hết các bacteriocin của vi khuẩn lactic bền nhiệt và có khối lượng phân tử thấp [7]. Một số bacteriocin đã và đang được nghiên cứu ứng dụng trong bảo quản các sản phẩm thực phẩm để chống lại các vi khuẩn tạp nhiễm như listeria, clostridia, bacilli... Hiện nay, nisin - một bacteriocin tổng hợp bởi *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* được ứng dụng rộng rãi nhất trong bảo quản thực phẩm [2]. Nội dung bài báo này là một số kết quả nghiên cứu về tính chất của các bacteriocin được tổng hợp bởi các chủng vi khuẩn lactic PĐ14, BV20 và PĐ2.9.

2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

2.1. Chủng vi sinh vật và môi trường

Các chủng sinh bacteriocin PĐ14, BV20, PĐ2.9 được nuôi cấy trên môi trường MRS đã được tối ưu. Các chủng kiểm định là vi khuẩn lactic được nuôi trên môi MRS thông thường. Sự sinh trưởng và phát triển được đánh giá bằng phương pháp đo OD ở bước sóng 600 nm. Các chủng vi sinh vật kiểm định được sử dụng trong nghiên cứu này là *Lactobacillus plantarum* JCM 1149, *Lactobacillus algilis* JCM 1048, *Enterococcus faecium* JCM 5804, *Lactobacillus salivarius* JCM 1230, *Lc. lactis* subsp *lactis* 145, *Escheria coli* LCB. Chủng kiểm định *E.coli* LCB được nuôi cấy trên môi trường LB.

2.2. Xác định hoạt tính bacteriocin

Hoạt tính bacteriocin được xác định theo phương pháp khuếch tán thạch. Trong phương pháp này các chủng sản được nuôi ở 30°C trong môi trường MRS lỏng khoảng 14 giờ đến 16 giờ, sau đó li tâm với tốc độ 10000 v/p, 10 phút để thu dịch nổi. Chủng kiểm định được bổ sung vào môi trường MRS bán lỏng với tỉ lệ giống sử dụng là 0,5%. Để mẫu trong tủ lạnh 4°C, sau 4 giờ đến 8 giờ đem nuôi ở tủ âm 30° đối với chủng kiểm định là VKLT và 37°C cho *E. coli*. Sau 16 giờ nuôi cấy, quan sát vòng ức chế chủng kiểm định tạo thành xung quanh lỗ thạch. Đơn vị hoạt tính AU/ml được xác định bằng phương pháp pha loãng liên tục gấp đôi bằng MRS lỏng theo Fowler (1975) và đã được cải tiến [9].

2.3. Thu hồi bacteriocin

Sản phẩm bacteriocin được thu hồi bằng hai phương pháp thông thường là kết tủa bằng dung môi và phương pháp kết tủa $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ [4].

Kết tủa bằng dung môi: Dịch nổi sau khi li tâm loại sinh khối tế bào được bổ sung dung môi với các tỉ lệ khác nhau. Hỗn hợp dịch nuôi cấy và dung môi được đặt trong tủ -20°C , qua đêm. Sau đó, hỗn hợp này sẽ được li tâm thu kết tủa với tốc độ li tâm 13.000 v/p trong 20 phút. Hai dung môi được sử dụng trong nghiên cứu này là acetone và ethanol. Sau khi kết tủa, bacteriocin được thu hồi bằng cách li tâm loại dịch nổi. Sản phẩm kết tủa được tái hòa tan trong đệm HCl 0,02 N và xác định hàm lượng protein của sản phẩm thu được. Dịch hòa tan bacteriocin kết tủa được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

Phương pháp kết tủa sunphat amon: trong phương pháp này, dịch nuôi cấy sau khi li tâm để loại bỏ tế bào được bổ sung muối $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ vào từ từ ở các nồng độ 40, 70 và 90% có kết hợp khuấy từ. Dịch nuôi cấy được để lạnh ở 4°C trước khi bổ sung muối để kết tủa. Sau khi kết tủa tiến hành quá trình loại muối bằng phương pháp thẩm tích.

2.4. Nghiên cứu tính chất của bacteriocin

Để xác định ảnh hưởng của nhiệt độ đối với độ bền hoạt tính bacteriocin, sản phẩm bacteriocin thu được từ phương pháp kết tủa ethanol được hòa trong dịch đệm HCl 0,02 N và được xác định độ bền hoạt tính bacteriocin ở 80, 90, 100, 121°C .

Ảnh hưởng của pH được xác định bằng cách chỉnh pH của dịch bacteriocin về các giá trị pH nghiên cứu bằng NaOH 10 N và HCl 1 N. Dịch bacteriocin đã chỉnh pH được ủ ở 30°C trong 2 giờ trước khi đem xác định hoạt tính.

Ảnh hưởng kết hợp giữa hai yếu tố pH và nhiệt độ đối với độ bền hoạt tính bacteriocin được xác định bằng cách sử dụng dịch bacteriocin sau khi chỉnh pH đến các giá trị cần nghiên cứu và được ủ ở 30°C trong 2 giờ, sau đó đặt mẫu nghiên cứu ở các giá trị nhiệt độ đã lựa chọn.

Đánh giá tác động của enzym phân hủy protein như: trypsin, α -chymotrypsin, papain, bromelin, proteinase K với các bacteriocin thu được tiến hành như sau. Các enzym này được bổ sung vào dịch bacteriocin nghiên cứu tới nồng độ enzym cuối cùng là 0,2 mg/ml. Enzym trypsin được hòa trong đệm Tris – HCl 40 mM (pH = 8,2). α -chymotrypsin được hòa tan trong đệm Tris – HCl 20 mM (pH = 8,0). Proteinase K được hòa tan trong đệm Tris – HCl 20 mM (pH = 7,8). Papain, bromelin được hòa trong đệm Natri phosphate 10 mM, pH = 6,8. Các mẫu xử lý với các enzym được ủ trong bể ổn nhiệt ở 37°C trong 2 giờ. Sau đó làm ngừng phản ứng enzym bằng cách xử lý ở 100°C trong 5 phút. Hoạt tính bacteriocin được xác định bằng phương pháp khuếch tán thạch [10, 3, 7, 11, 12].

2.5. Xác định khối lượng phân tử bằng phương pháp điện di trên gel polyacrylamid SDS – PAGE

Sản phẩm bacteriocin thu được từ phương pháp kết tủa ethanol sử dụng để phân tích SDS – PAGE. Marker sử dụng có kích thước 14,4 – 116 kDa. Mẫu điện di thu được nhuộm với Comasie brilliant blue R- 250 [9].

3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

3.1. Xác định phổ kháng khuẩn của các bacteriocin

Bacteriocin của vi khuẩn lactic được biết đến với khả năng ức chế sự sinh trưởng của một số chủng thuộc chi *Lactobacillus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*.... Kết quả thử hoạt tính của các chủng nghiên cứu với các chủng kiểm định được trình bày trong bảng 1.

Bảng 1. Hoạt tính bacteriocin PĐ14, BV20, PĐ2.9 với các chủng kiểm định

STT	Chủng kiểm định	Chủng nghiên cứu		
		PĐ14	BV20	PĐ2.9
1	<i>Lc. lactis</i> ¹	-	-	-
2	<i>Lc. lactis</i> ²	-	-	-
3	<i>Lb. plantarum</i> JCM 1149	+	+	+
4	<i>Lb. plantarum</i> JCM 1048	+	+	+
5	<i>Lb. algilis</i> JCM 1230	+	+	+
6	<i>Lb. salivarius</i> JCM 5804	+	+	+
7	<i>Escheria coli</i> LCB	-	-	-
8	PĐ14	-	±	±
9	BV20	-	-	±
10	PĐ2.9	-	-	-

^{1,2}: Tách từ *Lc. lactis* subsp. *lactis* 145.

Kết quả trình bày trên bảng 1 cho thấy cả ba chủng PĐ14, BV20, PĐ2.9 thể hiện hoạt tính ức chế đối với các chủng kiểm định như: *Lb. plantarum* JCM 1149, *Lb. algilis* JCM 1048, *E. faecium* JCM 5804, *Lb. salivarius* JCM 1230 và không có hoạt tính với *Lc. lactis* subsp *lactis* 145 sinh nisin và chủng *E. coli* LCB. Trong nghiên cứu trước đây, bacteriocin của các chủng vi khuẩn lactic được biết đến không có khả năng ức chế sự sinh trưởng của *E. coli* ở điều kiện thông thường [2].

3.2. Thu hồi bacteriocin

Bảng 2. Kết quả thu hồi sản phẩm bacteriocin bằng phương pháp kết tủa ethanol*

Chủng	Thể tích dịch hoà tan kết tủa (ml)	Khối lượng kết tủa (g/l)	Protein (mg/ml)	Hoạt tính (AU/ml)	Hoạt tính tổng (AU/ml)
PĐ14	10	0,9974	10,126	6400	64000
BV20	10	0,9744	7,2406	6400	64000
PĐ2.9	10	0,7459	8,1547	3200	32000

*: Các kết quả được tính theo 10 ml dịch hoà tan bacteriocin sản phẩm trong HCl 0,02 N.

Trong các phương pháp kết tủa thì kết tủa bằng ethanol thu được **bacteriocin cao hơn** so với phương pháp kết tủa acetone và amoni sulfat (kết quả về bacteriocin thu được trong quy trình thu hồi bằng tủa acetone và amoni sulfat không trình bày trong bài báo này).

Sản phẩm bacteriocin được thu hồi bằng phương pháp kết tủa **phân đoạn với nồng độ ethanol sử dụng cho chủng PD14 là 50 và 70%**, với chủng BV20 là 40 và 60% và đối với chủng PD2.9 là 60 và 70%. Sản phẩm kết tủa được thu lại bằng phương pháp ly tâm (13.000 vòng/phút trong 15 phút), sau đó được hoà trong 10 ml dung dịch HCl 0,02 N.

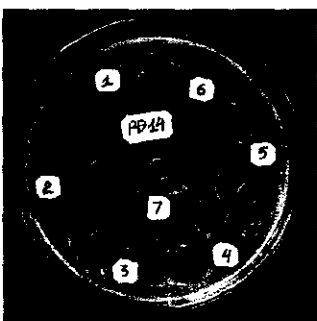
3.3. Ảnh hưởng của nhiệt độ đối với độ bền bacteriocin

Nhiệt độ là một trong những yếu tố có ảnh hưởng đến các bacteriocin. Bacteriocin của lactococci được biết đến với đặc tính rất bền nhiệt độ. Nisin giữ được 95% hoạt tính khi được ủ ở 116°C trong 20 phút [2], Lactostrepcin có khả năng giữ được hoạt tính khi xử lí ở 121°C trong 10 phút [8]. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của nhiệt độ đến độ bền của các bacteriocin được thể hiện trên bảng 3.

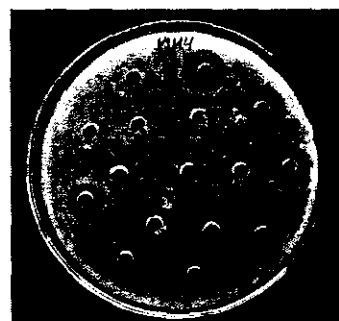
Bảng 3. Độ bền nhiệt độ các bacteriocin từ các chủng PD14, BV20, PD2.9

TT	Nhiệt độ (°C)	Thời gian xử lí (phút)	Hoạt tính còn lại (%) [*]		
			PD14	BV20	PD2.9
1	60	40	100	100	100
2	70	30	100	100	96,4
3	80	25	96,4	92,3	96,4
4	90	25	96,4	92,3	96,4
5	100	20	92,9	88,5	92,9
6	121	20	89,2	80,8	85,7

*: Hoạt tính bacteriocin trong dung dịch đệm HCl 0.02N, pH = 2 trước khi xử lí coi là 100%.



Hình 1. Ảnh hưởng của nhiệt độ đối với hoạt tính bacteriocin của chủng PD14 ở pH = 2:
1 – 60°C; 2 – 70°C; 3 – 80°C; 4 – 90°C;
5 – 100°C; 6 – 121°C; 7 – ĐC



Hình 2. Ảnh hưởng của pH và nhiệt độ đối với hoạt tính bacteriocin của chủng PD14. 1-4: pH 5, t = 80, 90, 100, 121°C; 5-8: pH 7, t = 80, 90, 100, 121°C; 9-12: pH 8; 13-16: pH 9.

Ảnh hưởng của nhiệt độ đối với độ bền bacteriocin được trình bày trên bảng 3 cho thấy cả ba sản phẩm này khá bền nhiệt. Hoạt tính bacteriocin khi bị xử lý nhiệt độ từ 60°C - 100°C hầu như không có sự thay đổi (hình 1). Sau 20 phút xử lý với nhiệt độ 121°C các bacteriocin này vẫn giữ được trên 80% hoạt tính trong dung dịch đệm ở pH = 2. Tại giá trị pH này, bacteriocin của chủng PĐ14 vẫn giữ được 89,2% hoạt tính, cao nhất trong số ba bacteriocin ở cùng điều kiện thí nghiệm.

3.4. Ảnh hưởng của pH đến độ bền bacteriocin

pH được biết đến là yếu tố có ảnh hưởng mạnh đến hoạt tính của các bacteriocin. Các bacteriocin khác nhau thì thường có dải pH hoạt động cũng rất đa dạng. Những bacteriocin có khả năng hoạt động trong dải pH từ 2 - 11 như bacteriocin S50, từ 2,5 - 9,0 như pediocin AcH, 2 - 7 như nisin [8]. Ảnh hưởng của pH đối với độ bền của các bacteriocin sản phẩm của ba chủng PĐ14; BV20, PĐ2.9 được nghiên cứu ở các giá trị pH 2, 5, 7, 8, 9. Kết quả nghiên cứu được thể hiện trên bảng 4 dưới đây.

Bảng 4. Ảnh hưởng của pH đối với độ bền bacteriocin từ các chủng PĐ14, BV20, PĐ2.9.

TT	pH	Hoạt tính còn lại (%) [*]		
		PĐ14	BV20	PĐ2.9
1	2	100	100	100
2	5	71,4	88,5	92,9
3	7	50	65,4	71,4
4	8	0	0	0
5	9	0	0	0

*: % Hoạt tính bacteriocin của các chủng khi ở pH = 2 được coi là 100%

Kết quả bảng 4 và trên hình 2 cho thấy các bacteriocin của 3 chủng này có dải pH hoạt động trong khoảng 2 - 7. Ở giá trị pH 8 và 9, chúng bị mất hoạt tính bacteriocin (hình 2). Bacteriocin của chủng PĐ2.9 ít chịu ảnh hưởng của pH hơn so với bacteriocin của hai chủng PĐ14, BV20 bởi nó vẫn giữ được 71.4% hoạt tính, trong khi đó bacteriocin của các chủng PĐ14 và BV20 chỉ giữ được 50 và 65,4% hoạt tính so với ban đầu.

3.5. Ảnh hưởng kết hợp giữa pH và nhiệt độ đối với độ bền hoạt tính bacteriocin

Kết quả khi nghiên cứu ảnh hưởng kết hợp nhiệt độ và pH đối với hoạt tính của bacteriocin của cả ba chủng này được thể hiện ở bảng 5 cho thấy, ở pH = 7 thì bacteriocin của chủng PĐ14 và PĐ2.9 bị mất hoạt tính khi xử lý ở nhiệt độ 121°C trong 20 phút (hình 2). Trong khi cũng ở pH = 7 và cũng bị xử lý nhiệt ở độ 121°C trong 20 thì bacteriocin của chủng BV20 vẫn còn hoạt tính (tuy nhiên hoạt tính bacteriocin còn lại rất nhỏ $D_{\text{tức chế}} = 0,5 \text{ cm}$).

Bảng 5. Ảnh hưởng kết hợp giữa nhiệt độ và pH đối với bacteriocin từ các chủng PĐ14; BV20; PĐ2.9

TT	Nhiệt độ (°C)	Thời gian xử lí (phút)	Hoạt tính bacteriocin còn lại của các chủng nghiên cứu (%)								
			PĐ14			BV20			PĐ2.9		
			pH = 2	pH = 5	pH = 7	pH = 2	pH = 5	pH = 7	pH = 2	pH = 5	pH = 7
1	80	25	96,4	71,4	50	92,3	84,6	61,5	96,4	78,5	57,1
2	90	25	96,4	71,4	42,9	92,3	84,6	61,5	96,4	78,5	50
3	100	20	92,9	71,4	32,1	88,5	84,6	61,5	92,9	78,5	42,9
4	121	20	89,2	71,4	0	80,8	61,5	3,85	85,7	71,4	0

*: Hoạt tính bacteriocin trong dung dịch đệm HCl 0,02 N pH = 2 trước khi xử lí được coi là 100%

3.6. Phản ứng với các enzym phân huỷ protein

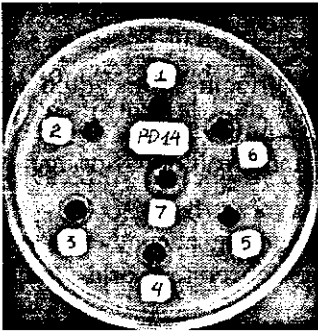
Các enzym phân huỷ protein như proteinase K, trypsin, α - chymotrypsin, papain, bromelin được bổ sung vào các mẫu bacteriocin theo như trình bày tại phần phương pháp. Kết quả được trình bày trên bảng 6.

Bảng 6. Ảnh hưởng của một số enzym phân huỷ protein lên độ bền hoạt tính bacteriocin PĐ14, BV20, PĐ2.9

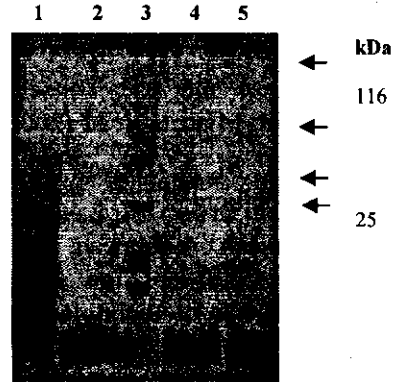
Enzim	Hoạt tính còn lại (%) [*]		
	PĐ14	BV20	PĐ2.9
Protease K	50	71.4	53.8
Trypsin	20	64.3	46.2
Papain	100	78.6	53.8
Bromelin	100	85.7	61.5
Chymotrypsin	60	64.2	76.9
ĐC	100	100	100

*: Hoạt tính bacteriocin trong dung dịch đệm HCl pH = 2 trước khi xử lí được coi là 100%

Kết quả trên bảng 6 cho thấy hoạt tính bacteriocin của các chủng nghiên cứu bị ảnh hưởng bởi các enzym này. Bacteriocin của chủng PĐ14 chịu ảnh hưởng mạnh nhất của ba enzym là trypsin, protease K và α - chymotrypsin và không cho thấy dấu hiệu chịu ảnh hưởng của hai enzym papain và bromelin (vẫn giữ được 100% hoạt tính) (hình 3). Trong khi đó, bacteriocin của chủng BV20 thì nhạy cảm nhất với hai enzym là trypsin và α - chymotrypsin, chỉ giữ được khoảng 64% hoạt tính so với hoạt tính ban đầu khi xử lí với hai enzym này. Bacteriocin của chủng PĐ2.9 lại nhạy cảm nhất với protease K, trypsin, papain. Trypsin là enzym có tác động nhiều nhất đến độ bền cả ba bacteriocin của 3 chủng PĐ14, BV20, PĐ2.9.



Hình 3. Ảnh hưởng của enzym phân hủy protein đối với các bacteriocin sản phẩm



Hình 4. Kết quả điện di SDS – PAGE: 1- nisin chuẩn; 2, 4, 5 -bacteriocin của các chủng PD14, BV20, PD2.9; 3 - M – Marker

3.7. Sản phẩm điện di SDS – PAGE

Kết quả này cho thấy sản phẩm bacteriocin thu hồi bằng phương pháp kết tủa ethanol của cả ba chủng chỉ tạo ra một vạch và có kích thước gần như nhau và tương đương với kích thước của sản phẩm nisin chuẩn [2, 8], ước tính kích thước của các sản phẩm thu được khoảng 3,3 kDa. Để có thể có kết luận chính xác, các bacteriocin này cần được nghiên cứu sâu hơn.

4. KẾT LUẬN

Bacteriocin được tổng hợp bởi các chủng PD14, BV20, PD2.9 thể hiện tính chất bền nhiệt, bền axit. Các bacteriocin này bị mất hoạt tính ức chế đối với chủng kiểm định là *Lb. plantarum* JCM1149 khi ở trong môi trường có pH 8 và 9. Ở giá trị pH 7 kết hợp với xử lý nhiệt độ 121°C, bacteriocin của hai chủng PD14 và PD2.9 bị mất hoàn toàn hoạt tính. Tuy nhiên, dù tiến hành trong cùng điều kiện thí nghiệm (pH và nhiệt độ) như hai chủng trên thì bacteriocin của chủng BV20 vẫn giữ được khoảng 3% hoạt tính. Trong điều kiện xử lý kết hợp nhiệt độ 121°C và pH 2, hoạt tính của tất cả các bacteriocin lại không bị thay đổi đáng kể. Ở pH 5, hoạt tính bacteriocin vẫn rất tốt khi bị xử lý với nhiệt độ này. Các bacteriocin đều bị ảnh hưởng bởi các enzym phân hủy protein. Tất cả bacteriocin của các chủng PD14, BV20 và PD2.9 đều rất nhạy cảm với trypsin. Kết quả phân tích điện di của các bacteriocin này cho thấy chúng có kích thước khoảng 3,3 kDa và khá tương đồng với kích thước của nisin.

Lời cảm ơn. Công trình được hỗ trợ kinh phí từ đề tài trong chương trình NCCB thuộc lĩnh vực hoa học sự sống giai đoạn 2006-2008.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. G. G. Fowler., B. Jarvis and J. Tramer - The assay of nisin in foods. Society of Applied Bacteriology Technology Ser. 8 (1975) 91-105.
2. H. Chen and D. G. Hoover - Bacteriocins and their food applications. Comprehensive reviews in food science and food safety 2 (2003) 82-100.

3. H. J. Choi, C. I. Cheigh, S. B. Kim and Y. R. Pyun - Production of a nisin- like bacteriocin by *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* A164 isolated from Kimchi, *Journal of Applied Microbiology* **88** (2000) 563-571.
4. L.L. Burianek and A.E. Yousef - Solvent extraction of bacteriocins from liquid cultures, *Let. in Appl. Microbiol.* **31** (2000) 193-197.
5. M. A. Riley, M. A. Chavan (Eds.) - *Bacteriocins Ecology and Evolution*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2007.
6. M. H. Prakash, A.Ramesh, and A. Chandrashekar - Fermenting cucumber, a potential source for the isolation of pediocin-like bacteriocin producers, *World Journal of Microbiology & Biotechnology* **21** (2005) 1351-1358.
7. M. Mareková, A. Lauková, M. Skaugen, I. Nes - Isolation and characterization of a new bacteriocin, termed enterocin M, produced by environmental isolate *Enterococcus faecium* AL41, *J. Ind. Microbiol Biotechnol* **34** (2007) 533-537.
8. M. P. Davidson, J. N. Sofos, A. L. Branen - *Antimicrobials in food*, Third Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, 2005.
9. Phan Khanh Hoa, Nguyen Viet Cuong, Le Thanh Binh - Optimization of nisin biosynthesis in *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis*, *J. Science and Technology* **40** (6) (2002) 24-31.
10. R. Bromberg, I. Moreno, C. L. Zaganini, R. R. Delboni, J. de Oliveira - Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity, *Braz. J. Microbiol.* June **35** (1-2) (2004) 137-144.
11. S. Boris , R. Jiménez - Díaz , J. L. Caso, and C. Barbe´s - Partial characterization of a bacteriocin produced by *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *lactis* UO004, an intestinal isolate with probiotic potential, *Journal of Applied Microbiology* **91** (2001) 328-333.
12. S. Mitra, P.K. Chakbartty, S. R. Biswas - Production and characterization of Nisin-like peptide produced by strain of *Lactococcus lactis* isolated from fermented milk, *Current Microbiology* **51** (2005) 183-187.
13. S. Salminen, A. von Wright, A. Ouwehand - *Lactic Acid Bacteria*, Marcel Dekker, Inc., 2004.
14. S. Tiwari & S. Srivastava - Purification and characterization of plantaricin LR14, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus plantarum* LR/14, *Appl. Microbiol. Biotechnol* **79** (2008) 759-767.
15. Y. Cai - Isolation and characterization of nisin-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* from bean sprouts, A thesis Master of Sciences, University of Ottawa, Canada, 1996.

SUMMARY

PROPERTIES OF BACTERIOCINS PRODUCED BY LACTIC ACID BACTERIA ISOLATED FROM RAW COW'S MILK

Strains PD14, BV20, PD2.9 were isolated from raw cow's milk of Bavi and Phu Dong dairy farms. Bacteriocins produced by strains PD14, BV20, PD2.9 were active against closely related lactic acid bacteria including *Lb. plantarum* JCM 1149, *Lb. plantarum* JCM 1048, *Lb. algilis* JCM 1230, *Lb. salivarius* JCM 5804. The antimicrobial spectrum of these strains was

nearly identical to that nisin. These bacteriocins are heat stable at low pH values. Antimicrobial activities of the bacteriocins were not destroyed by exposure to elevated temperatures from 60 to 121°C at pH 2 and pH 5. However, bacteriocins of these strains were lost activity at high pH values (from pH 8 and 9). Bacteriocins produced by PD14 and PD2.9 have been lost activity when were treated at high temperature (121°C) and pH as well (pH = 7) while bacteriocin synthesizes by BV20 was stable at this condition (3% activity remained). These 3 bacteriocins were affected by proteolysis enzymes as trypsin, α - chymotrypsin, papain, bromelin, proteinase K. SDS – PAGE analysis of the purified bacteriocins indicated they were the same molecular weight of 3.3 kDa as that of nisin.

Địa chỉ:

Nhận bài ngày 29 tháng 2 năm 2008

Viện Công nghệ sinh học, Viện KHCN Việt Nam.