

# ẢNH HƯỞNG CỦA NGUỒN CACBON, NITƠ VÀ NaCl ĐỐI VỚI SINH TRƯỞNG VÀ SINH TỔNG HỢP BACTERIOGIN CỦA CÁC CHỦNG LACTOCOCCUS PĐ14, PĐ2.9 VÀ BV20

Nguyễn Thị Đà\*, Hoa Thị Minh Tú, Lê Thanh Bình

*Viện Công nghệ sinh học, Viện Khoa học và Công nghệ Việt Nam*

\*Liên hệ với tác giả: [danguyenthi@gmail.com](mailto:danguyenthi@gmail.com)

Đến Tòa soạn ngày: 12/2/2011; Nhận đăng ngày: 20/4/2011

## 1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Vi khuẩn lactic được biết đến là một tác nhân tạo ra nhiều loại thực phẩm lên men nổi tiếng. Những năm gần đây, nhóm vi khuẩn này còn được đánh giá là nguồn tiềm năng to lớn sản sinh chất kháng khuẩn bacteriocin. Bacteriocin là những peptide hay protein, được tổng hợp ở ribosome, có khả năng ức chế các vi sinh vật có quan hệ chủng loài gần với chủng sản sinh bacteriocin. Bacteriocin của vi khuẩn lactic được xem là một giải pháp mới hữu hiệu trong phòng, chống vi khuẩn gây bệnh và gây thối thực phẩm [2]. Vi khuẩn lactic là vi khuẩn thực phẩm (food grade) và được xem là an toàn (Generally recognized as safe-GRAS). Vì vậy, bacteriocin do vi khuẩn lactic tổng hợp được coi là chất ức chế “tự nhiên” [3]. Quá trình sinh tổng hợp bacteriocin chịu ảnh hưởng của một số yếu tố như nguồn cacbon (C), nitơ (N), muối NaCl và các điều kiện lên men... Cacbon là nguồn cung cấp năng lượng chính cho quá trình sinh trưởng cũng như sinh tổng hợp bacteriocin. Do đó, nguồn C của môi trường có ảnh hưởng trực tiếp đến năng suất sinh tổng hợp bacteriocin. Trong phân tử bacteriocin bao giờ cũng có phần protein hoạt tính, quá trình sinh tổng hợp bacteriocin luôn cần nguồn nguyên liệu nitơ hữu cơ hoặc nitơ vô cơ. Các axit amin khác nhau cũng có ảnh hưởng khác nhau đến quá trình sinh tổng hợp [4]. Sự thiếu hụt các thành phần này ảnh hưởng xấu đến quá trình sinh tổng hợp bacteriocin [17]. Giống như hầu hết các vi sinh vật khác, sự sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của các vi khuẩn lactic còn phụ thuộc nhiều vào nhiệt độ, pH [14], và thời gian nuôi cấy [10].

Các chủng vi khuẩn lactic PĐ14, BV20 và PĐ2.9 đã được xác định thuộc chi *Lactococcus* và được chứng minh có khả năng sinh tổng hợp bacteriocin, là đối tượng trong nghiên cứu này, nhằm mục đích nâng cao năng suất sinh tổng hợp cũng hướng phát triển công nghệ sau này.

## 2. NGUYÊN VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP

### 2.1. Chủng giống và môi trường

#### 2.1.1. Chủng vi sinh vật

Các chủng *Lactococcus* PD14, BV20 và PD2.9 có khả năng sinh bacteriocin được lưu giữ trong bộ sưu tập giống của phòng Công nghệ vật liệu sinh học, Viện Công nghệ sinh học [5, 6, 12]. Chủng *Lactobacillus plantarum* JCM 1149 do bảo tàng giống Vi sinh vật của Nhật bản cung cấp (JCM – Japanese collection of microorganism) được dùng làm vi sinh vật kiểm định. Các chủng được bảo quản trong môi trường MRS với 40% glycerol ở -20 °C. Trước khi sử dụng, các chủng đều được hoạt hóa.

### 2.1.2. Môi trường

Môi trường sử dụng trong các thí nghiệm lên men để thu nhận bacteriocin là MRS dịch thể gồm (g/l): Cao thịt (10), cao men (5), peptone (10), glucoza (20), CH<sub>3</sub>COONa (5), K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (2), amonixitrat (2), MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O (0.2), MnSO<sub>4</sub> (0.04), Tween 80 (1ml), agar (20), pH = 6.8, bổ sung nước cất cho đủ 1lit. Môi trường MRS có agar dùng để hoạt hoá, cấy truyền, bảo quản trong thời gian ngắn và để xác định hoạt tính bacteriocin.

## 2.2. Phương pháp

### 2.2.1. Xác định hoạt tính bacteriocin

Hoạt tính bacteriocin được xác định bằng phương pháp khuếch tán trên thạch theo miêu tả của các tác giả Bromberg R; Nguyễn Thị Đà [1, 12, 13]. Hoạt tính bacteriocin của chủng được xác định tại thời điểm nuôi cấy nhất định. Dịch nuôi cấy sau khi thu hồi bằng li tâm, điều chỉnh về pH trung tính bằng dung dịch NaOH. Nhỏ 35µl dịch vào mỗi lỗ trên môi trường MRS có agar hay 100 µl vào 10 ml MRS dịch thể đã cấy chủng kiểm định JCM1149. Xác định hoạt tính bacteriocin thông qua vòng vô khuẩn hay xác định đơn vị hoạt tính AU/ml (phương pháp xác định đơn vị hoạt tính) sau khi các mẫu này được nuôi ở nhiệt độ 30 °C trong khoảng 18 giờ.

### 2.2.2. Xác định đơn vị hoạt tính bacteriocin (AU/ml)

Hoạt tính bacteriocin được thể hiện thông qua nhiều đơn vị khác nhau như: AU/ml (arbitrary unit, activity unit), BU (bacteriocin unit)... Mỗi loại đơn vị lại có một cách xác định khác nhau. Thông thường, hoạt tính bacteriocin được thể hiện bằng AU/ml (activity unit) là nghịch đảo của nồng độ pha loãng lớn nhất trong dãy pha loãng liên tục 1/2 mà tại đó vẫn ức chế chủng kiểm định. AU/ml được tính bằng công thức:

$$AU/ml = \frac{1}{V} \times 2^n \times 1000$$

trong đó: V: là lượng thể tích dịch pha loãng hút vào mỗi giếng để thử hoạt tính (µl); 2<sup>n</sup>: là độ pha loãng thứ n mà có thể hiện hoạt tính bacteriocin.

Ngoài ra, người ta còn sử dụng đơn vị hoạt tính là BU để thử hoạt tính bacteriocin. Một đơn vị hoạt tính bacteriocin (BU) là lượng bacteriocin có khả năng ức chế 50% sự sinh trưởng của vi sinh vật kiểm định so với dịch nuôi cấy không có bacteriocin [9, 13]

## 2.3. Xác định một số yếu tố ảnh hưởng

### 2.3.1. Ảnh hưởng của nguồn cacbon

Cả ba chủng PD14, BV20 và PD2.9 được nuôi cấy trong bình tam giác 250 ml chứa 50 ml môi trường MRS lỏng có nguồn glucose được thay thế bằng các nguồn đường khác nhau, bổ

sung 5% dịch nhân giống. Sau khi nuôi qua đêm ở 30 °C, xác định OD, pH và hoạt tính bacteriocin. Hoạt tính bacteriocin được xác định theo phương pháp khuếch tán trên thạch.

### 2.3.2. Ảnh hưởng của nguồn N

Bố trí thí nghiệm cơ bản giống như các trường hợp trên, trong đó môi trường có thành phần cơ bản của MRS bổ sung 0,1% các muối N khác nhau. Các muối N vô cơ gồm NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, và NH<sub>4</sub>Cl, được bổ sung riêng biệt và dạng hỗn hợp. Xác định OD, pH, hoạt tính tổng hợp bacteriocin của các chủng sau thời gian nuôi cấy nhất định. Đối chứng là mẫu các chủng nuôi cấy trong môi trường MRS không bổ sung các muối N này.

### 2.3.3. Ảnh hưởng của nồng độ muối

Môi trường được sử dụng cho nghiên cứu này là MRS có bổ sung các nồng độ NaCl khác nhau 1, 2, 3, 4, 5, 6.5%. Mẫu đối chứng là dịch nuôi cấy của các chủng trên môi trường MRS không bổ sung NaCl. Tất cả các mẫu đều được nuôi ở bình tam giác 250 ml, chứa 50 ml môi trường được bổ sung 5% dịch nhân giống, nuôi tĩnh ở 30 °C trong 24 giờ. Khả năng sinh trưởng được xác định thông qua phương pháp đo OD<sub>600</sub>, hoạt tính bacteriocin được kiểm tra theo phương pháp khuếch tán trên thạch.

## 3. KẾT QUẢ VÀ THẢO LUẬN

### 3.1. Lựa chọn môi trường nghiên cứu

Các môi trường MRS, CM và nước chiết cải bắp được sử dụng để nghiên cứu khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của các chủng PĐ14, BV20 và PĐ2.9. Sau 18 giờ, dịch nuôi cấy được li tâm loại bỏ sinh khối, điều chỉnh pH trung tính. Kết quả xác định hoạt tính bằng phương pháp khuếch tán thạch được thể hiện trên bảng 1.

*Bảng 1.* Sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của các chủng PĐ 14, BV20 và PĐ2.9

Môi trường	Kí hiệu chủng								
	PĐ14			BV20			PĐ2.9		
	OD	pH	AU/ml	OD	pH	AU/ml	OD	pH	AU/ml
MRS	1,94	4.33	<b>415</b>	2.18	4.38	<b>540</b>	<b>2.14</b>	4.29	<b>415</b>
CM	<b>2.03</b>	4.36	281	<b>2.57</b>	4.34	228	1.87	4.35	378
Nước chiết rau cải bắp	0.53	4.31	137	0.54	4.48	106	0.67	4.22	126

Kết quả trên bảng 1 cho thấy, môi trường MRS là tốt hơn cho sinh tổng hợp bacteriocin. Mặc dù, đối với chủng PĐ14 và BV20 khi nuôi cấy trên môi trường CM có OD = 2.03 và OD = 2.57 cao hơn giá trị OD của hai chủng này khi nuôi trong MRS có OD = 1.94 và OD = 2.18. Tuy nhiên, khi môi trường nuôi cấy là MRS, cả ba chủng đều có hoạt tính sinh tổng hợp bacteriocin tốt nhất. Vì vậy, môi trường MRS được sử dụng cho các nghiên cứu tiếp theo.

### 3.2. Ảnh hưởng của nguồn C và hàm lượng của nó lên sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin

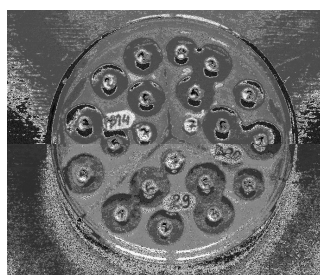
Hầu hết vi khuẩn lactic cần một nguồn dinh dưỡng phức tạp để có thể sinh trưởng và phát triển được. Không một đại diện nào của chúng có thể sống trên môi trường chỉ có muối khoáng thuần khiết [11, 17]. Nguồn C là một trong số yếu tố ảnh hưởng mạnh mẽ nhất đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của chúng.

#### 3.1.1. Ảnh hưởng của nguồn C

Môi trường sử dụng trong nghiên cứu này là MRS, trong đó thay thế glucose bằng lactose, sacharose, tinh bột, ri đường. Kết quả nghiên cứu ảnh hưởng này được thể hiện trên bảng 2.

Bảng 2. Sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của 3 chủng trên môi trường có các nguồn cacbon khác nhau

STT	Kí hiệu	Chủng	Nguồn C				
			Glucose	Sacharose	Lactose	Tinh bột	Ri đường
1	PD14	OD	1,94	<b>2,23</b>	0,72	1,17	1,26
		pH	4,33	4,46	5,90	5,80	4,52
		AU/ml	415	<b>496</b>	167	454	343
2	BV20	OD	<b>2,18</b>	1,95	1,94	0,71	0,98
		pH	4,38	4,49	4,71	6,17	4,50
		AU/ml	496	<b>540</b>	454	254	454
3	PD2.9	OD	2,14	<b>2,20</b>	1,91	0,76	0,98
		pH	4,29	4,48	4,64	6,14	4,50
		AU/ml	415	<b>496</b>	378	228	378



- 1: MRS (Đối chứng)
- 2: môi trường CM
- 3: MRS – glucose + Sucrose
- 4: MRS – glucose + tinh bột
- 5: MRS – glucose + lactose
- 6: MRS – glucose + Ri đường
- 7: Môi trường nước chiết rau cải bắp

Hình 1. Hoạt tính bacteriocin trên các môi trường và trên môi trường MRS có bổ sung các nguồn C khác nhau

Từ những kết quả ở bảng 2, hình 1 cho thấy, các chủng PĐ14, BV20 và PĐ2.9 đều sinh trưởng trên các môi trường bổ sung nguồn cacbon khác nhau như ri đường, tinh bột, sacharose, lactose... Kết quả còn chỉ ra, với các nguồn cacbon khác nhau hoạt tính sinh tổng hợp bacteriocin của mỗi chủng, ở mỗi môi trường có nguồn cacbon khác nhau lại khác nhau. Đặc biệt là, cả 3 chủng đều sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin tốt trong môi trường mà nguồn C là ri đường - một nguồn nguyên liệu rẻ, dễ kiếm và có nhiều lợi ích về mặt kinh tế và môi trường.

Mặc dù chủng PĐ14 và BV20 sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin yếu nhất trong môi trường MRS có nguồn C thay thế bằng lactose và tinh bột. Tuy nhiên, cả ba chủng đều sinh trưởng và đặc biệt là sinh tổng hợp bacteriocin đạt cực đại trong MRS mà nguồn C thay thế bằng sacharose. Trong môi trường này, hoạt tính tổng hợp bacteriocin của 3 chủng PĐ14, BV20 và PĐ2.9 tương ứng đạt 496, 540 và 496 AU/ml.

Từ các kết quả nêu trên, sacharose được lựa chọn làm nguồn C phù hợp cho sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của tất cả 3 chủng PĐ14, BV20 và PĐ2.9. Những kết quả nghiên cứu ảnh hưởng của các nồng độ sacharose khác nhau lên sự sinh tổng hợp bacteriocin của cả ba chủng được trình bày dưới đây.

### 3.1.2. Ảnh hưởng của hàm lượng sacharose

Hàm lượng sacharose có ảnh hưởng mạnh đến khả năng sinh tổng hợp nisin ở *Lactococcus lactis* đã được De Vuyst L và Vandamme E.J chứng minh [4]. Hàm lượng sacharose được sử dụng cho thí nghiệm này dao động từ 1; 5; 10; 15; 20; 25; 30; 35 đến 40 (g/l). Kết quả thu được từ nghiên cứu này được trình bày trong bảng 3.

**Bảng 3.** Ảnh hưởng của hàm lượng sacharose lên sự sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của các chủng PĐ 14, BV20 và PĐ2.9

STT	Hàm lượng C (g/l)	PĐ14			BV20			PĐ2.9		
		OD	pH	AU/ml	OD	pH	AU/ml	OD	pH	AU/ml
1	1	1,82	5,36	496	1,91	5,01	185	1,86	5,12	281
yy2	5	2,16	4,54	586	3,4	4,62	685	3,10	4,61	635
3	10	2,67	4,42	739	2,80	4,64	635	2,89	4,58	658
4	15	2,78	4,48	635	3,14	4,59	685	3,22	4,54	<b>795</b>
5	20	2,76	4,44	685	3,44	4,60	<b>795</b>	3,12	4,52	739
6	25	3,48	4,46	<b>795</b>	3,34	4,54	685	2,74	4,51	685
7	30	2,84	4,42	685	3,46	4,55	635	2,99	4,50	739
8	35	2,86	4,38	635	3,50	4,54	540	3,10	4,48	635
9	40	2,98	4,39	496	3,40	4,60	454	2,96	4,46	496

Kết quả bảng 3 cho thấy, khi môi trường MRS có bổ sung hàm lượng sacharose khác nhau tác động lên sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của các chủng cũng khác nhau. Chủng PĐ14 sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin tốt nhất, đạt OD = 3,48 và 795AU/ml trên môi trường MRS bổ sung 25 g/l. Trong khi đó, chủng BV20 sinh trưởng tốt nhất (OD = 3,54) trên môi trường có bổ sung hàm lượng đường là 35 g/l và sinh tổng hợp bacteriocin tốt nhất (795 AU/ml) trên môi trường có bổ sung sacharose 20 g/l. Chủng PĐ2.9 sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin tốt nhất tương ứng đạt OD = 3,22 và 795A U/ml trên môi trường bổ sung sacharose 15 g/l. Rõ ràng rằng, hàm lượng sacharose đã tác động khác nhau lên sinh trưởng và

sinh tổng hợp bacteriocin của ba chủng. Các kết quả này là cơ sở để lựa chọn hàm lượng sacharose thích hợp, bổ sung vào môi trường lên men tổng hợp bacteriocin của từng chủng.

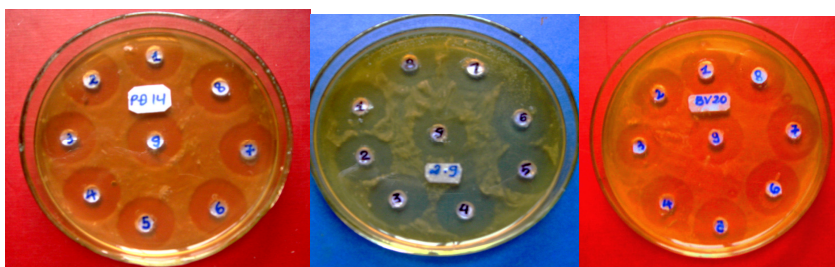
### 3.2. Ảnh hưởng của một số nguồn N vô cơ lên khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin

Hầu hết các loại vi sinh vật đều có khả năng đồng hóa muối amon. Nguồn N vô cơ dễ hấp thụ nhất đối với vi sinh vật là  $\text{NH}_4^+$  và  $\text{NH}_3$ . Tuy nhiên, muối  $\text{NO}_3^-$  là nguồn thức ăn không thích hợp với nhiều loại nấm men và vi khuẩn. Đối với vi khuẩn lactic có khả năng sinh bacteriocin rất cần nguồn N cho sinh trưởng và đặc biệt là để sinh tổng hợp bacteriocin [16, 19]. Kết quả thu được từ nghiên cứu này được thể hiện ở bảng 4.

Bảng 4. Ảnh hưởng của nguồn N đến sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của các chủng chủng PD 14, BV20 và PD2.9

STT	Nguồn N	PD14			BV20			PD2.9		
		OD	pH	AU/ml	OD	pH	AU/ml	OD	pH	AU/ml
1	1	3,47	4,63	685	3,71	4,53	739	3,27	4,49	586
2	2	3,65	4,65	<b>795</b>	3,45	4,58	685	3,62	4,47	540
3	3	2,91	4,55	586	3,279	4,46	496	3,04	4,46	635
4	4	2,85	4,50	635	3,275	4,47	635	3,28	4,42	685
5	1+2	2,90	4,48	586	2,77	4,45	635	3,59	4,36	540
6	2+3	2,02	4,45	739	3,51	4,46	685	3,93	4,39	<b>685</b>
7	1+2+4	2,85	4,45	685	3,53	4,45	739	3,37	4,34	586
8	1+2+3+4	2,52	4,39	685	3,72	4,48	<b>795</b>	3,87	4,39	415
9	ĐC	1,94	4,33	496	2,18	4,38	739	2,14	4,29	496

Trong đó: 1:  $\text{NH}_4\text{NO}_3$ , 2:  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ , 3:  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ , 4:  $\text{NH}_4\text{Cl}$ .



Hình 2. Hoạt tính bacteriocin trên môi trường MRS bổ sung các nguồn N khác nhau

Kết quả trình bày ở bảng 4, hình 2 trên cho thấy, khi bổ sung các muối nitơ vào trong môi trường có tác dụng tăng cường sinh trưởng cũng như sinh tổng hợp bacteriocin của các chủng. Chủng PD14 sinh trưởng tốt và sinh tổng hợp bacteriocin cao nhất (795 AU/ml) khi môi trường bổ sung 0,1%  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ . Chủng PD2.9 sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin tốt nhất khi trong môi trường nuôi cấy có mặt 2 muối là  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  và  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ . Trong khi đó, chủng BV20 sinh trưởng tốt và sinh tổng hợp bacteriocin mạnh nhất (795AU/ml) trong môi trường được bổ sung cả 4 loại muối.

### 3.3. Ảnh hưởng của nồng độ NaCl lên sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin

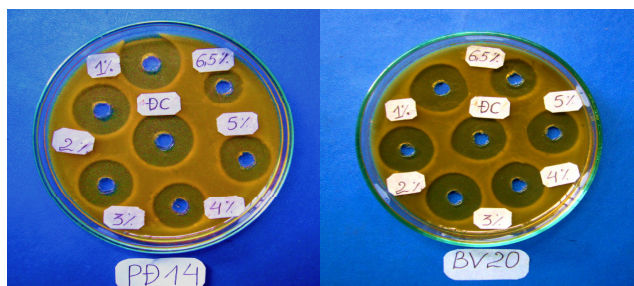
Vi khuẩn lactic có khả năng chịu được một số nồng độ NaCl khác nhau. Đặc tính chịu muối (NaCl 6,5%) cũng được sử dụng trong việc phân biệt giữa enterococci, lactococci, vagococci và streptococci. Theo Salminen S và cs, các chủng thuộc chi *Tetragenococcus* có khả năng sinh trưởng ở nồng độ muối rất cao, tới 18% [17].

Để nghiên cứu ảnh hưởng của các nồng độ muối khác nhau đến sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin, các chủng được nuôi cấy trong môi trường MRS bổ sung các nồng độ NaCl khác nhau: 1, 2, 3, 4, 5, 6.5%. Kết quả thu được thể hiện ở bảng 5.

**Bảng 5.** Ảnh hưởng của NaCl đến khả năng sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của các chủng PĐ 14, BV20 và PĐ2.9

STT	Kí hiệu chủng		Nồng độ muối (%)						
			0	1	2	3	4	5	6.5
1	PĐ14	OD	3,35	2,37	2,39	1,86	1,57	1,18	0,72
		pH	4,69	4,42	4,41	4,38	4,37	4,41	4,76
		AU/ml	<b>685</b>	<b>685</b>	540	496	415	343	<b>151</b>
2	BV20	OD	3,46	2,02	2,25	2,11	2,03	1,97	0,95
		pH	4,80	4,48	4,46	4,43	4,52	4,55	4,74
		AU/ml	<b>635</b>	<b>635</b>	<b>635</b>	<b>635</b>	586	496	<b>311</b>
3	PĐ2.9	OD	2,89	2,23	2,18	1,96	1,66	1,51	1,09
		pH	4,80	4,54	4,55	4,48	4,45	4,56	4,83
		AU/ml	<b>685</b>	<b>685</b>	<b>685</b>	<b>685</b>	540	415	<b>343</b>

Từ những kết quả trình bày ở bảng 5 cho thấy, đối với chủng PĐ14, ở nồng độ NaCl 1%, hoạt tính bacteriocin của chủng chỉ đạt tương đương với đối chứng 685AU/ml. Sinh tổng hợp bacteriocin của chủng tỉ lệ nghịch với sự tăng nồng độ muối. Khi nồng độ muối tăng dần từ 1 – 6,5%, hoạt tính bacteriocin thu được giảm từ 685 AU/ml xuống còn 151 AU/ml. Đối với chủng BV20 và PĐ2.9, sinh tổng hợp bacteriocin của chúng trong môi trường MRS bổ sung nồng độ muối 1, 2 và 3% vẫn đạt giá trị như đối chứng (635 AU/ml ở chủng BV20 và 685 AU/ml ở chủng PĐ2.9). Khi NaCl tăng quá 3% thì sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin của cả hai chủng lại giảm (hình 3). Tại môi trường có nồng độ NaCl 6,5%, cả ba chủng đều sinh trưởng và sinh tổng hợp bacteriocin nhưng đạt mức thấp nhất (chủng PĐ14 là 151 AU/ml, chủng BV20 là 311 và chủng PĐ2.9 đạt 343 AU/ml).



**Hình 3.** Hoạt tính bacteriocin của chủng PĐ14 trên môi trường có bổ sung nồng độ NaCl khác nhau

#### 4. KẾT LUẬN

Các chủng *Lactococcus* PD14, BV20, PD2.9 có khả năng sinh bacteriocin. Khi nuôi cấy trong môi trường MRS, cả ba chủng này đều tổng hợp bacteriocin đạt mức cao. Mức độ ảnh hưởng của của nguồn C, N, NaCl và nồng độ của chúng đối với các chủng khác nhau. Hoạt tính sinh tổng hợp bacteriocin của chủng PD14 đạt cao nhất khi sử dụng môi trường MRS có bổ sung 0,1%  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$  và 25 g/l sacharose. Hàm lượng C và nguồn N thích hợp cho sinh tổng hợp bacteriocin của chủng BV20 tốt nhất trên môi trường bổ sung 20 g/l sacharose và cả 4 loại muối. Trong khi chủng PD2.9 sinh tổng hợp bacteriocin tốt nhất trong môi trường có bổ sung sacharose 15 g/l và có mặt  $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ ,  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ . NaCl cũng có tác động khác nhau. Khi nồng độ NaCl tăng dần từ 1 – 6,5%, hoạt tính tổng hợp bacteriocin chủng PD14 giảm dần, trong khi đối với hai chủng BV20 và PD2.9, khi bổ sung nồng độ NaCl 1, 2 và 3% không gây ảnh hưởng.

#### TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. Bromberg R., Moreno I., Zaganini C.L., Delboni R.R., de Oliveira J. - Isolation of bacteriocin-producing lactic acid bacteria from meat and meat products and its spectrum of inhibitory activity, *Braz. J. Microbiol.* **35** (1-2) (2004), 137-144.
2. Bruno M. E. C. and Montville T. J. - Common mechanistic action of bacteriocins from lactic acid bacteria, *Applied and Environmental Microbiology* **59** (1993) 3003–3010.
3. Davidson P. M., Sofos J. N., Branen A. L. - Antimicrobials in food, Third Edition, CRC Press Taylor & Francis Group, 2005.
4. De Vuyst L., Vandamme E. J. - Influence of the carbon source on nisin production in *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* batch fermentation, *J. General Microbiol.* **138** (1992) 571–578.
5. Hoa Thị Minh Tú, Nguyễn Thị Đà, Lê Thanh Bình - Một số đặc điểm sinh học của các chủng vi khuẩn lactic sinh tổng hợp bacteriocin, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* **47** (5) (2009) 17-25.
6. Hoa Thị Minh Tú, Nguyễn Thị Đà, Lê Thanh Bình - Screening lactic acid bacteria producing bacteriocins from cow's raw milk and fecal, *Tạp chí Khoa học và Công nghệ* **47** (3) (2009) 29-38.
7. Makarova K. S and Koonin E. V. - Evolutionary genomics of Lactic Acid Bacteria, *J. Bacteriol.* **189** (4) (2007) 1199–1208.
8. Maqueda M., Sánchez-Hidalgo M., Fernández M., Montalbán-lopez M., Valdivia E. and Martínez-Bueno M. - Review article: Genetic features of circular bacteriocins produced by Gram-positive bacteria, *FEMS Microbiol. Rev.* **32** (2007) 2-22.
9. Mareková M., A Lauková., Skaugen M., Nes I.- 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.
10. Mataragas M. , J. Metaxopoulos, M. Galiotou and E. H. Drosinos - Influence of pH and temperature on growth and bacteriocin production by *Leuconostoc mesenteroides* L124 and *Lactobacillus curvatus* L442, *Meat Science* **64** (3) (2003) 265-271.
11. Nguyễn Lâm Dũng, Nguyễn Đình Quyến, Phạm Văn Ty - Vi sinh vật học, NXB Giáo dục, 1997, tr. 176-189; tr. 224–230.



12. Nguyễn Thị Đà, Hoa Thị Minh Tú, Lê Thanh Bình - Một số tính chất của bacteriocin được tổng hợp bởi vi khuẩn lactic phân lập từ sữa bò tươi, Tạp chí Khoa học và Công nghệ **46** (6) (2008) 33-41.
13. Nguyễn Thị Đà - Nghiên cứu đặc điểm sinh học và khả năng sinh tổng hợp bacteriocin của một số chủng *Lactococcus* phân lập từ sữa, Luận văn Thạc sĩ Công nghệ sinh học, Đại học Bách Khoa Hà Nội, 2008.
14. Nguyễn Thị Đà, Hoa Thị Minh Tú, Lê Thanh Bình - Nâng cao hoạt tính sinh tổng hợp bacteriocin của các chủng *Lactococcus* bằng cách chọn tế bào kháng nisin, Hội nghị Công nghệ sinh học toàn quốc, Thái Nguyên, năm 2009. Tr. 532-536.
15. Parente E., Hill C. - A comparison of factors affecting the production of two bacteriocins from lactic acid bacteria, J. Appl. Bacteriol. **73** (1992) 290-298.
16. Phan Thị Khánh Hoa - Nghiên cứu sinh tổng hợp nisin từ vi khuẩn *Lc. lactis* subsp. *lactis* 11, Luận án Tiến sĩ Kỹ thuật, Viện Công nghệ thực phẩm, 2003.
17. Salminen S., Wright A.V., Ouwehand A.- Lactic acid Bacteria, Marcel Dekker, Inc. 2004.
18. Tagg J. R., Dajani A. S., Wannamaker L. W. - Bacteriocin of Gram positive bacteria, Bacteriol. Rev. **40** (1976) 722-756.
19. Todorov S. D., Van Reenen C. A., Dicks L. M. T.- Optimization of bacteriocin production by *Lactobacillus plantarum* ST13BR, a strain isolated from barley beer, J. Gen. Appl. Microbiol. **50** (2004) 149-157.

## SUMMARY

### THE EFFECT OF CARBON, NITROGEN SOURCES AND NaCl ON THE GROWTH AND BIOSYNTHESIS BACTERIOCINS OF LACTOCOCCUS STRAINS PD14, PD2.9 AND BV20

Bacteriocin production has been affected by a number of factors including media composition, such as carbon, nitrogen sources, NaCl and fermentation conditions. Bacteriocins synthesized by *Lactococcus* strains PD14, BV20, PD2.9 inhibit the growth of some lactic acid bacteria and especially *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*. Optimal production of bacteriocin PD14 (795 AU/ml) was recorded in MRS broth with an initial sucrose of 25 g/l, 0.1% (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> as sole nitrogen source. Bacteriocin PD2.9 was produced in MRS broth with 15 g/l sucrose and was supplemented with (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>. Bacteriocin BV20 produced in MRS broth when glucose was replaced with 20 g/l sucrose. Bacteriocin BV20 production, on the other hand, was more influenced by nitrogen content, but increased to 795 AU/ml when glucose was replaced with sucrose, or when MRS broth was supplemented four salts as NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>, (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>H<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, NH<sub>4</sub>Cl.

*Keywords.* Bacteriocin PD14, PD2.9, BV20, carbon, nitrogen source.