

ỨNG DỤNG CHẾ PHẨM BACTERIOCIN

ĐỂ KIỂM SOÁT VI SINH VẬT GÂY BỆNH TRÊN RAU XÀ LÁCH ĂN SỐNG

Nguyễn Đăng Khoa*, Nguyễn Thị Ái Hồng, Nguyễn Thúy Hương

Bộ môn Công nghệ Sinh học – Trường Đại học Bách khoa – ĐHQG TP HCM

Ngày nhận bài: 30-3-2018; ngày nhận bài sửa: 03-5-2018; ngày duyệt đăng: 19-6-2018

TÓM TẮT

Bài báo khảo sát việc ứng dụng nisin nhằm kiểm soát vi sinh vật gây bệnh trên rau xà lách ăn sống. Kết quả cho thấy: nisin kháng các chủng vi khuẩn gây bệnh khảo sát. Nồng độ ức chế tối thiểu là 4,883 $\mu\text{g/mL}$ đối với 3 chủng: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; 9,765 $\mu\text{g/mL}$ đối với *Listeria monocytogenes* ATCC 19111 và 19,531 $\mu\text{g/mL}$ đối với *Escherichia coli* ATCC 8739. Thời gian 10 phút và nồng độ nisin 9,765 $\mu\text{g/mL}$ hiệu quả để xử lý mẫu rau thực tế. Mật độ vi khuẩn trên mẫu rau xà lách sau khi xử lý nisin giảm: *E. coli*: 97,05 - 99,74 %; *Salmonella*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* 100 %; *B. cereus* 99,37 - 100 %.

Từ khóa: nisin, rau xà lách, vi khuẩn gây bệnh.

ABSTRACT

Application of bacteriocin to control foodborn pathogens on fresh lettuce

*In this paper, the application of bacteriocin to control some foodborn pathogens on fresh lettuce was investigated. The results showed that: Nisin has ability to inhibit the growth of vegetables indicator pathogens. The minimum inhibitory concentration is 4,883 $\mu\text{g/mL}$ to 3 strains: *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Bacillus cereus* ATCC 11778, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923; 9,765 $\mu\text{g/mL}$ to *Listeria monocytogenes* ATCC 19111, and 19,531 $\mu\text{g/mL}$ to *Escherichia coli* ATCC 8739. 10 minutes and 9,765 $\mu\text{g/mL}$ of nisin concentration were effective to process vegetable samples. The level of foodborn pathogens on lettuce samples after being processed with nisin reduced: *E. coli* 97,05 - 99,74 %, *Salmonella*, *S. aureus*, *L. monocytogenes*: 100 %, *B. cereus* 99,37 - 100 %.*

Keywords: nisin, fresh lettuce, foodborn pathogens.

1. Giới thiệu

Rau thuộc nhóm thực phẩm không thể thiếu trong bữa ăn của mọi gia đình. Tuy vậy, bắt nguồn từ thói quen canh tác, sự ô nhiễm vi sinh ở rau, với các chủng vi khuẩn gây bệnh như *E. coli*, *Salmonella*, *Listeria*... [1], như vậy, chất lượng an toàn vệ sinh thực phẩm hiện nay rất đáng quan ngại.

Đặc biệt, với nhu cầu giữ lại nhiều nhất những thành phần dinh dưỡng trong rau, và phong cách ẩm thực, nhóm rau ăn sống vốn không qua chế biến xử lý nhiệt trước khi ăn,

* Email: ndangkhoa305@gmail.com

nên mối nguy vi sinh càng cao và có thể tác động trực tiếp đến sức khỏe người tiêu dùng. Trong đó, rau xà lách là loại rau ăn sống phổ biến cùng với xà lách xoong, rau muống, cải bẹ xanh, rau đắng, rau tần ô...

Bacteriocin có bản chất protein được sinh tổng hợp từ vi khuẩn, có thể ức chế sự sinh trưởng phát triển của một số vi khuẩn khác [2]. Bacteriocin trong vi khuẩn rất đa dạng, trong đó nhóm bacteriocin sinh tổng hợp từ vi khuẩn lactic (LAB_Lactic acid bacteria) có nhiều tiềm năng ứng dụng trong y học và thực phẩm.

Nisin được sinh tổng hợp từ chủng *Lactococcus lactis* thuộc phân lớp lantibiotic, có phổ kháng khuẩn rộng, tính an toàn cao, và đã được ứng dụng lâu dài, rộng rãi trên thế giới như một chất phụ gia thực phẩm có nguồn gốc sinh học [3].

Bài báo khai thác một hướng ứng dụng mới của nisin: Kiểm soát vi sinh vật gây bệnh trên rau ăn sống, rau xà lách là đại diện cho nhóm rau sống được sử dụng trong nghiên cứu này.

2. Vật liệu và phương pháp

2.1. Vật liệu

- Chế phẩm nisin PRO, nồng độ 2500 µg/mL, được sản xuất bởi DUNISCO – FOODING.

- Thí nghiệm *in vitro* sử dụng chủng vi sinh vật gây bệnh chuẩn, chỉ thị trên nhóm rau ăn sống: *Escherichia coli* ATCC 8739; *Salmonella typhimurium* ATCC 14028; *Bacillus cereus* ATCC 11778; *Staphylococcus* ATCC 25923; *Listeria monocytogenes* ATCC 19111. Các chủng giống được bảo quản trên thạch nghiêng, nhiệt độ 4 -5 °C.

2.2. Phương pháp

2.2.1. Khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh

Sử dụng phương pháp khuếch tán giếng thạch (Agar well diffusion assay) [4]. Nuôi cấy các chủng vi khuẩn gây bệnh trên môi trường LB lỏng qua đêm, pha loãng dịch nuôi cấy đến mật độ 10^6 (CFU/mL). 0,1 mL dịch vi khuẩn được trang đều lên bề mặt thạch NA. Tạo giếng trên đĩa thạch bằng dụng cụ vô trùng, đường kính 5 mm, bổ sung 50 µL nisin nồng độ 2500 µg/mL vào mỗi giếng thạch và cho dịch khuếch tán. Ủ đĩa ở 37 °C khoảng 24 h. Xác định kích thước đường kính kháng khuẩn (ΔD).

$$\Delta D = D - d \text{ (mm)}$$

Trong đó: D đường kính vòng vô khuẩn; d đường kính giếng thạch.

2.2.2. Nồng độ ức chế tối thiểu

Nồng độ ức chế tối thiểu (Minimum inhibitory concentration_MIC) được xác định bằng phương pháp pha loãng dung môi (broth dilution) [5]:

- Chế phẩm nisin thương mại được pha loãng liên tục 2 lần bằng môi trường NB.
- Huyền phù hóa vi khuẩn gây bệnh, so sánh độ đục với ống chuẩn 0,5 Mcfarland. Bổ sung 0,1 mL huyền phù vi khuẩn vào ống nghiệm chứa khoảng nồng độ nisin khảo sát.
- Đối chứng dương (+) chỉ chứa nisin và môi trường NB; đối chứng âm (-) chứa dịch vi khuẩn và môi trường NB. Ống nghiệm được ủ trong 24 h, 37 °C.

Giá trị MIC là nồng độ nisin thấp nhất ($\mu\text{g/mL}$) ức chế sự phát triển vi khuẩn. Sự phát triển của vi khuẩn được xác định bằng cách so độ đục với ống đối chứng âm.

2.2.3. Ứng dụng trên mô hình giá đỗ

- Trồng giá đỗ trong dụng cụ và thiết bị tiệt trùng. Chuẩn bị các mẫu giá sạch, mỗi mẫu có khối lượng 25 g, được lấy ngẫu nhiên tại 5 vị trí khác nhau theo nguyên tắc đường chéo.

- Gây nhiễm bằng cách ngâm giá đỗ ngập trong dung dịch huyền phù của vi khuẩn gây bệnh qua đêm ở nhiệt độ 4 – 6 °C, nồng độ:

- 10^6 CFU/mL khi gây nhiễm đơn từng loại vi khuẩn
- 10^4 CFU/mL khi gây nhiễm hỗn hợp 5 vi khuẩn *Bacillus cereus*, *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium*, *L. monocytogenes*, tỉ lệ 1:1:1:1:1.

- Rửa giá đỗ sau khi gây nhiễm, để ráo. Xử lý giá đỗ trong dịch bacteriocin ở nồng độ khảo sát trong thời gian 3; 5; 7; 10 phút, rửa lại bằng nước sạch, để ráo.

- Kiểm tra mật độ các vi khuẩn gây bệnh trên giá đỗ trước và sau khi xử lý bacteriocin bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường phù hợp.

- Kiểm tra mật độ các vi khuẩn gây bệnh trên giá đỗ trước và sau khi xử lý bacteriocin bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường phù hợp.

2.2.4. Ứng dụng trên mẫu rau thực tế

- Rau xà lách được thu nhận tại một số địa điểm chợ, siêu thị. Sau đó, rửa với nước máy, và để ráo. Chọn 5 lá ngẫu nhiên bao gồm lá ở bên trong lõi và bên ngoài.

- Xử lý mẫu xà lách trong dịch bacteriocin ở nồng độ và thời gian đã xác định ở thí nghiệm trên, rửa lại bằng nước sạch để ráo.

- Kiểm tra nồng độ các vi khuẩn gây bệnh hiện diện trong rau xà lách trước và sau xử lý bacteriocin bằng phương pháp đếm khuẩn lạc trên môi trường phù hợp.

2.2.5. Xử lý số liệu

Các thí nghiệm được lập lại 3 lần, số liệu được phân tích theo phương pháp ANOVA bằng phần mềm SPSS 20, excel 2016 [6].

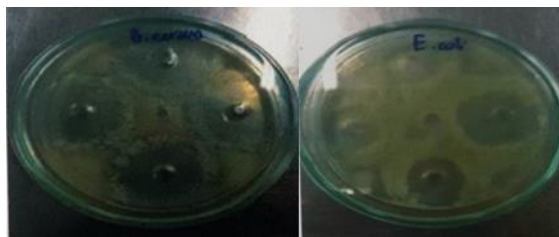
3. Kết quả và biện luận

3.1. Khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh

Khi nisin khuếch tán vào môi trường thạch, các chủng vi khuẩn nhạy cảm sẽ bị ức chế và tạo thành vòng tròn kháng khuẩn trong phạm vi thạch có dịch bacteriocin.

Bảng 1. Khả năng kháng vi khuẩn gây bệnh của nisin

Chủng vi sinh vật chỉ thị	Đường kính (mm)
<i>E. coli</i> ATCC 8739	29 ± 0,47
<i>Salmonella</i> ATCC 14028	36 ± 0,15
<i>B. cereus</i> ATCC 11778	35 ± 0,28
<i>S. aureus</i> ATCC 25923	33 ± 0,21
<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19111	34 ± 0,47



Hình 1. Vòng tròn kháng khuẩn đối với *B. cereus* và *E. coli*

Theo kết quả Bảng 1 và Hình 1, nisin thể hiện tính kháng đối với cả vi khuẩn gây bệnh Gram âm và Gram dương khảo sát. Đường kính kháng khuẩn dao động từ 33 ± 36 mm, riêng đối với *E. coli* khoảng 29 mm. Sự ức chế các chủng vi sinh vật khác nhau, do cấu tạo màng của từng chủng, mà đặc trưng là các thành phần polysaccharide trên thành màng, dẫn đến sự xâm nhập và gây tan màng tế bào của nisin sẽ khác nhau [2]. Khả năng ức chế của nisin đối với các chủng vi khuẩn khảo sát, tương đồng với những công bố trước đó [7] - [11].

3.2. Nồng độ ức chế tối thiểu

Yêu cầu chung cho chế phẩm bacteriocin để sử dụng như một phụ gia thực phẩm: phổ kháng khuẩn rộng và tác động ức chế ở nồng độ thấp [3]. Trong đó, giá trị MIC của nisin trên các chủng khảo sát được thể hiện trên Bảng 2.

Bảng 2. Nồng độ ức chế tối thiểu của nisin với từng vi sinh vật gây bệnh

Nồng độ của bacteriocin ($\mu\text{g/mL}$)	Chủng vi khuẩn				
	<i>E. coli</i> ATCC 8739	<i>L. monocytogenes</i> ATCC 19111	<i>B. cereus</i> ATCC 11778	<i>S. aureus</i> ATCC 25923	<i>Salmonella</i> ATCC 14028
652	-	-	-	-	-
312,5	-	-	-	-	-
156,25	-	-	-	-	-
78,125	-	-	-	-	-
39,062	-	-	-	-	-
19,531	-	-	-	-	-
9,765	+	-	-	-	-
4,883	+	+	-	-	-
2,441	+	+	+	+	+
1,221	+	+	+	+	+
Đối chứng (+)	+	+	+	+	+
Đối chứng (-)	-	-	-	-	-

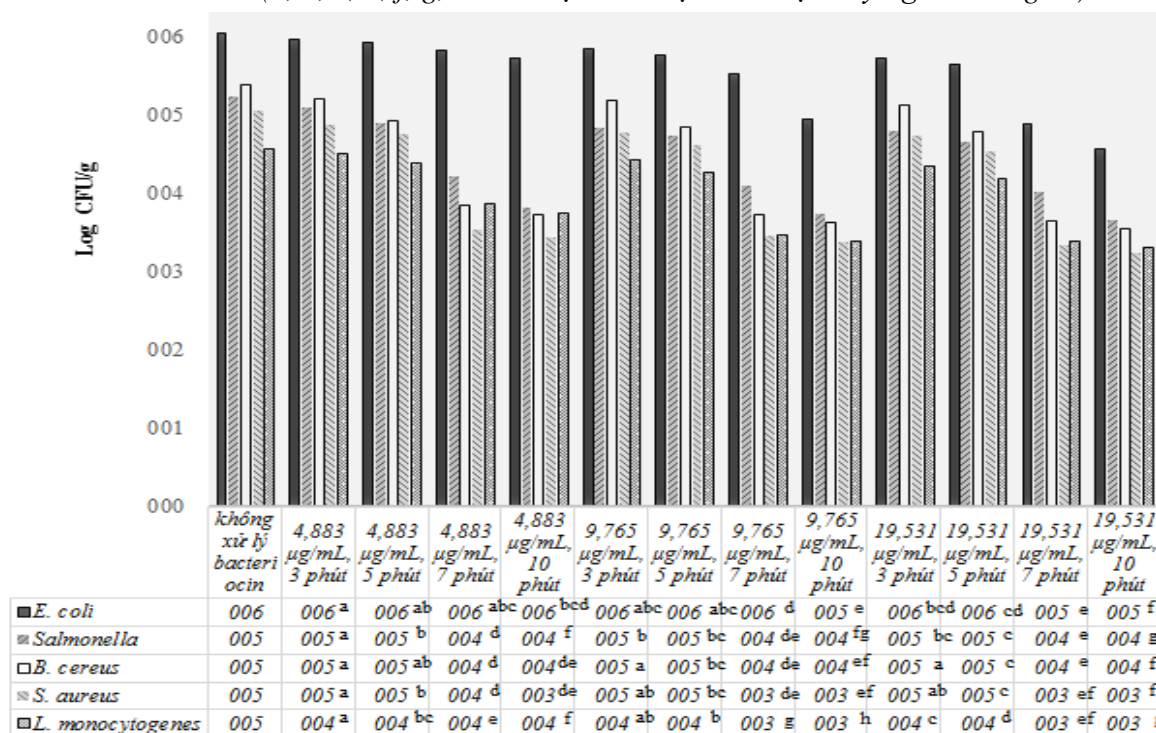
Nồng độ kháng khuẩn tối thiểu dao động từ 4,883 ÷ 19,531 µg/mL. Cụ thể, 4,883µg/mL là giá trị MIC đối với 3 chủng: *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*; 9,765 µg/mL đối với *Listeria monocytogenes* và 19,531 µg/mL đối với *Escherichia coli*. Giá trị MIC trên *E. coli*, cao hơn so với các chủng còn lại (4,883 ÷ 9,765 µg/mL), thể hiện khả năng ức chế *E. coli* thấp hơn, tương ứng với kết quả ghi nhận ở thí nghiệm trên.

Từ kết quả phân tích: 3 giá trị nồng độ của nisin là: 4,883; 9,765 và 19,531 µg/mL được sử dụng cho các thí nghiệm ứng dụng chế phẩm trên mô hình giá đỗ.

3.3. Ứng dụng chế phẩm nisin ức chế vi sinh vật gây bệnh trên mô hình giá đỗ

Thử nghiệm khả năng ức chế vi sinh vật gây bệnh trên mô hình giá đỗ là bước khảo sát trung gian, tạo cơ sở để ứng dụng nisin trên mẫu rau thực tế. Mục đích: Tìm được nồng độ kháng khuẩn và thời gian xử lý có hiệu quả ức chế cao.

Đồ thị 1. Mật độ vi khuẩn trên mô hình giá đỗ gây nhiễm đơn từng vi khuẩn gây bệnh khi xử lý nisin (a, b, c, d, f, g, h: thể hiện mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê)



Nồng độ và thời gian xử lý bacteriocin

Đồ thị 1 thể hiện, mật độ vi khuẩn gây nhiễm dao động từ 4,56 ÷ 6,03 log CFU/g. Sau khi xử lý nisin, mật độ vi khuẩn giảm tỉ lệ thuận với nồng độ nisin và thời gian xử lý:

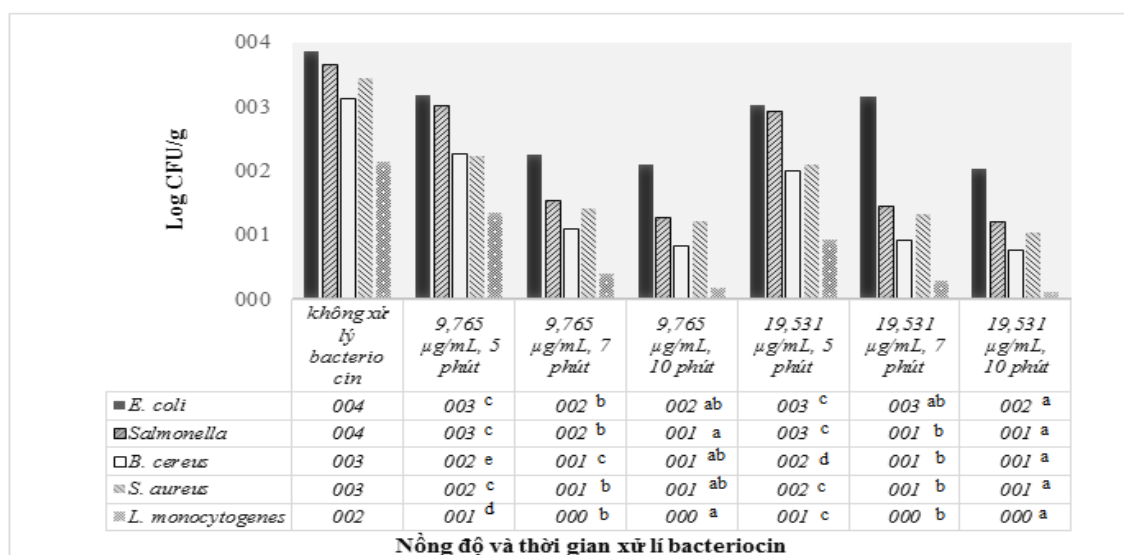
- Ở 4,883 µg/mL, xử lý 3 phút, mật độ *E. coli* chỉ giảm 14,89 %, xử lý 10 phút, mật độ *E. coli* giảm 51,02 %. Tại nồng độ 9,765 µg/mL trong 3 phút có thể ức chế 35,43 % mật độ *E. coli*. Tỉ lệ này tăng lên 52,14 % khi nồng độ nisin là 19,531 µg/mL.

- Trường hợp tương tự đối với *Salmonella*, *B. cereus*, *S. aureus* và *L. monocytogenes*. Tuy nhiên, nồng độ 4,883 $\mu\text{g/mL}$ chỉ hiệu quả khi xử lý *Salmonella*, *B. cereus* và *S. aureus*. Cụ thể, trong thời gian 10 phút, nồng độ này ức chế 96 – 98 % 3 chủng vi sinh vật trên, trong khi đối với *E. coli* chỉ là 51 % và *L. monocytogenes* là 85 %.

Từ kết quả phân tích, nồng độ xử lý 9,765 và 19,531 $\mu\text{g/mL}$ và thời gian xử lý: 5;7 và 10 phút được tiếp tục sử dụng cho thí nghiệm gây nhiễm hỗn hợp vi khuẩn lên mô hình giá đỗ.

Mẫu rau trong thực tế có thể nhiễm nhiều vi sinh vật gây bệnh khác nhau. Thí nghiệm, nhằm xác định khả năng ức chế của nisin trên hỗn hợp các vi sinh vật gây bệnh trên mô hình giá đỗ. Kết quả được thể hiện ở Đồ thị 2.

Đồ thị 2. Mật độ vi khuẩn gây bệnh trên mô hình giá đỗ gây nhiễm hỗn hợp khi xử lý nisin (a, b, c, d, e: thể hiện mức độ khác biệt có ý nghĩa thống kê)



Hỗn hợp vi khuẩn sau gây nhiễm có mật độ $2,16 \div 3,87 \log(\text{CFU/g})$. Tương tự thí nghiệm trên, khi tăng nồng độ và thời gian xử lý, sẽ tăng khả năng ức chế các chủng vi khuẩn gây bệnh. Tuy nhiên, mức độ giảm không khác biệt có ý nghĩa, đặc biệt ở khoảng thời gian xử lý 10 phút, khi mà tỉ lệ ức chế ở 2 nồng độ khảo sát đều đạt tỉ lệ 98 - 100 %.

Dựa trên hiệu quả kháng khuẩn, và yêu cầu sử dụng chất phụ gia trong thực phẩm, nồng độ 9,765 $\mu\text{g/mL}$ và thời gian xử lý 10 phút, được lựa chọn ứng dụng trên mẫu rau thực tế.

3.4. Ứng dụng nisin trên mẫu rau xà lách

Mẫu rau được thu nhận trên cả hai kênh phân phối: chợ và siêu thị, nguồn gốc của rau rất có thể ảnh hưởng đến mức độ nhiễm khuẩn, do đó có thể đánh giá khả năng sử dụng chế phẩm trên những đại diện mẫu khác nhau.

Bảng 3. Mật độ vi khuẩn gây bệnh trên mẫu rau xà lách trước và sau xử lý nisin

Lần khảo sát	Nguồn gốc mẫu	Mật độ vi sinh vật gây bệnh (log CFU/g)					
		<i>E. coli</i>	<i>Salmonella</i> sp.	<i>B. cereus</i>	<i>S. aureus</i>	<i>L. monocytogenes</i>	
Lần 1	Chợ Lữ Gia – phường 15, Quận 11	Ban đầu	3,85	KPH	2,91	1,52	KPH
		Sau xử lý	1,25	KPH	1,05	KPH	KPH
		% giảm	99,74	-	98,62	100	-
Lần 2	Chợ Bắc Hải, phường 15, Quận 10	Ban đầu	3,49	1,20	3,18	1,28	KPH
		Sau xử lý	1,08	KPH	1,14	KPH	KPH
		% giảm	99,61	100	99,09	100	-
Lần 3	Chợ Nguyễn Tri Phương, phường 12, Quận 10	Ban đầu	3,15	1,98	2,69	KPH	1,21
		Sau xử lý	1,05	KPH	1,11	KPH	KPH
		% giảm	99,2	100	97,37	-	100
Lần 4	Big C, Miền Đông, Quận 10	Ban đầu	2,38	KPH	1,65	KPH	KPH
		Sau xử lý	0,85	KPH	KPH	KPH	KPH
		% giảm	97,05	-	100	-	-
Lần 5	Coopmart Phú Thọ, Quận 11	Ban đầu	2,15	KPH	1,44	1,05	KPH
		Sau xử lý	0,59	KPH	KPH	KPH	KPH
		% giảm	97,24	-	100	100	-

Bảng 3 cho thấy, 5 mẫu rau thu thập đều có sự có mặt của *E. coli* và *B. cereus*, 2-3 mẫu xuất hiện *Salmonella* và *S. aureus*, 1 mẫu rau được thu nhận tại chợ Nguyễn Tri Phương có sự xuất hiện *L. monocytogenes*. Nisin thể hiện mức độ ức chế vượt trội, và khá tương đồng với kết quả thu nhận trên mô hình giá đỗ:

- *E. coli*, một trong những mối nguy phổ biến nhất trên rau sống, đã giảm mật độ 97,05 – 99,74 % sau khi xử lý với nisin.
- Mật độ nhiễm các chủng khác tiếp tục giảm: đối với *B. cereus* 97,37 – 100 %. Riêng các chủng *Salmonella*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* ghi nhận sự ức chế hoàn toàn trên mẫu.

Với kết quả phân tích, dịch nisin nồng độ 9,765 µg/mL có thể ức chế hiệu quả vi sinh vật gây bệnh khảo sát trên mẫu rau xà lách. Nisin dạng bột có thể được chuẩn bị thành dung dịch ở nồng độ pha loãng thuận tiện là 10 µg/mL để tạo thành chế phẩm nước rửa rau. Rau sống sẽ được xử lý theo 3 bước: rửa qua nước, ngâm trong nisin 10 phút, và sau đó rửa lại bằng nước sạch.

4. Kết luận

- Nisin có hoạt tính kháng khuẩn đối với 5 chủng vi sinh vật gây bệnh điển hình trên rau sống, thể hiện qua đường kính vòng ức chế, cụ thể *E. coli*: 29 mm; *Salmonella*: 36 mm; *B. cereus*: 35 mm; *S. aureus*: 33 mm, *L. monocytogenes*: 34 mm.

- Nồng độ ức chế tối thiểu của nisin là 4,883 µg/mL đối với 3 chủng: *Salmonella typhimurium*, *Bacillus cereus*, *Staphylococcus aureus*; 9,765 µg/mL đối với *Listeria monocytogenes*, và 19,531 µg/mL đối với *Escherichia coli*.

- Nồng độ 9,765 µg/mL, thời gian xử lý 10 phút có thể ức chế 98 – 100 % hỗn hợp vi khuẩn gây nhiễm trên mô hình giá đỗ. Để thuận lợi khi áp dụng chúng tôi đề nghị chế độ xử lý là 10 µg/mL trong thời gian 10 phút.

- Trên mẫu rau thực tế, ngâm ở nồng độ nisin 9,765 µg/mL, trong 10 phút, gây giảm mật độ các vi sinh vật gây bệnh 97 - 100 %.

Như vậy nisin thể ức chế hiệu quả các vi khuẩn gây bệnh trên rau ăn sống. Chúng tôi đề nghị khả năng phát triển nisin thành chế phẩm rửa rau sống.

- ❖ **Tuyên bố về quyền lợi:** Các tác giả xác nhận hoàn toàn không có xung đột về quyền lợi.
- ❖ **Lời cảm ơn:** Nghiên cứu được tài trợ bởi Trường Đại học Bách khoa – ĐHQG TPHCM trong khuôn khổ đề tài mã số TNCS-KTHH-2017-12.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

1. M.A.De Oliveira et al., "Microbiological quality of ready-to-eat minimally processed vegetables consumed in Brazil," *Food Control*, 22, 8, pp.1400-1403, 2011.
2. R.W.Jack, J.R. Tagg, and B. Ray, "Bacteriocins of gram-positive bacteria," *Microbiological reviews*, 59, 2, pp. 171-200, 1995.
3. P.M.O'Connor, et al., "Antimicrobial antagonists against food pathogens: a bacteriocin perspective," *Current Opinion in Food Science*, 2, pp.51-57, 2015.
4. B.Ten Brink et al., "Antimicrobial activity of Lactobacilli: preliminary characterization and optimization of production of acidocin B, a novel bacteriocin produced by *Lactobacillus acidophilus* M46," *The Journal of applied bacteriology*, 77, 2, pp.140-148, 1994.
5. I. Wiegand, K. Hilpert, and R.E. Hancock, "Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances," *Nature protocols*, 3, 2, pp.163, 2008.
6. Libraries, K.S.U. (2018). SPSS Tutorials: one-way ANOVA. Available from: <https://libguides.library.kent.edu/SPSS/OneWayANOVA>.

7. A.G. Scannell et al., "Development of bioactive food packaging materials using immobilised bacteriocins Lacticin 3147 and Nisaplin®," *International journal of food microbiology*, 60, 2, pp.241-249, 2000.
8. M. Xintain et al., "Bacteriocins applied to food packaging materials to inhibit *Listeria monocytogenes* on meats," *Journal of Food Science*, 62, 2, pp.413-415, 1997.
9. E. Rodriguez et al., "Combined effect of high-pressure treatments and bacteriocin-producing Lactic acid bacteria on inactivation of *Escherichia coli* O157: H7 in raw-milk cheese," *Applied and Environmental Microbiology*, 71, 7, pp.3399-3404, 2005.
10. K.-T. Chung, J.S. Dickson, and J.D. Crouse, "Effects of nisin on growth of bacteria attached to meat", *Applied and Environmental Microbiology*, 55, 6, pp.1329-1333, 1989.
11. N. Hwanhlem et al., "Inhibition of food-spoilage and foodborne pathogenic bacteria by a nisin Z-producing *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* KT2W2L," *LWT-Food Science and Technology*, 82, pp.170-175, 2017.