บทความวิชาการ

แบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก (Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria)

อรอนงค์ พริ้งศุลกะ*
Onanong Pringsulaka

บทนำ

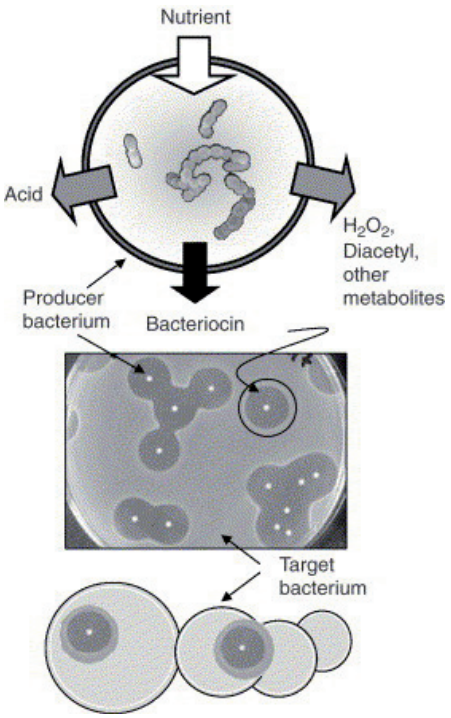
แบคทีริโอซินหมายถึงเปปไทด์หรือโปรตีนที่สังเคราะห์จากไรโบโซม และมีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรีย แบคทีริโอซินแตกต่างจากสารปฏิชีวนะ (antibiotics) คือแบคทีริโอซินมีฤทธิ์การยับยั้งแคบและเป็นพิษกับแบคทีเรียที่มีความสัมพันธ์ใกล้เคียงกัน [1, 2] แบคทีริโอซินสามารถสร้างได้จากแบคทีเรียกลุ่มแกรมลบและแกรมบวกหลายสปีชีส์ แต่แบคทีริโอซินที่สร้างจากกลุ่มแบคทีเรียแลคติก (lactic acid bacteria) กลับเป็นที่ได้รับความสนใจมากที่สุด [3]

แบคทีเรียแลคติก เป็นแบคทีเรียแกรมบวก มีรูปร่างกลม (cocci) หรือท่อน (rods) ไม่สร้างสปอร์ เป็นพวก microaerophilic หรือ facultative anaerobe ไม่มีไซโตโครม (cytochrome) ไม่สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) และมีค่า G + C content น้อยกว่า 55 โมลเปอร์เซ็นต์ ประกอบด้วยจีนัสต่างๆ ได้แก่ *Streptococcus, Lactococcus, Enterococcus, Pediococcus, Leuconostoc, Lactobacillus, Carnobacterium, Aerococcus, Tetragenococcus, Vagococcus, Oenococcus* และ *Weissella* [4] แบคทีเรียแลคติกจะเปลี่ยนอาหารที่มีน้ำตาลให้เป็นกรดแลคติกประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และผลิตภัณฑ์อื่น เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะเซทิล อะเซโทอิน (acetoin) และกรดอินทรีย์ [5] แบคทีเรียแลคติกได้รับการยอมรับว่าเป็นแบคทีเรียที่ปลอดภัย (generally recognized as safe bacteria; GRAS status) และมักใช้ในการหมักอาหารและถนอมอาหาร ซึ่งอาจหมักตามธรรมชาติโดยใช้แบคทีเรียแลคติกที่มีอยู่ในวัตถุดิบหรืออาจเติมแบคทีเรียแลคติกในรูปเชื้อตั้งต้น (starter culture) เติมลงในอาหารภายใต้ภาวะควบคุม ตัวอย่างของจีนัสที่ใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในกระบวนการหมักผลิตภัณฑ์นม เนื้อ และผัก ได้แก่ *Lactococcus, Streptococcus, Pediococcus, Leuconostoc, Lactobacillus* และ *Carnobacterium* [6, 7]

กลุ่มแบคทีเรียแลคติกที่สร้างแบคทีริโอซินได้มักแยกมาจากอาหาร ดังนั้นจึงเหมาะที่จะนำมาใช้ในการประยุกต์ทางด้านอาหาร การสร้างแบคทีริโอซินนี้มีข้อดีแก่แบคทีเรียแลคติกเองคือแบคทีริโอซิน

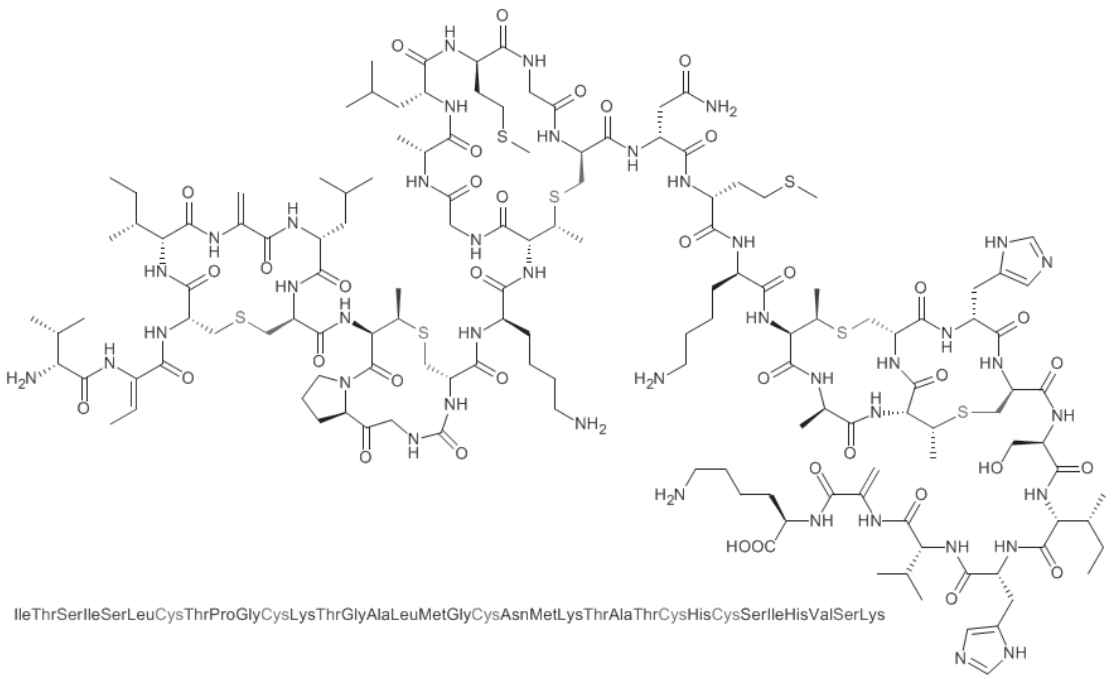
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ
* ผู้นิพนธ์ประสานงาน, e-mail: onanong@swu.ac.th

สามารถฆ่าหรือยับยั้งแบคทีเรียอื่นที่อยู่ในแหล่งอาหารนั้นๆ [8] (รูปที่ 1) แบคทีริโอซินที่สร้างขึ้นโดยแบคทีเรียแลคติกบางชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งค่อนข้างกว้าง การนำแบคทีริโอซินไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจะช่วยลดการใช้สารกันเสียที่เป็นสารเคมี รวมทั้งลดการใช้ความร้อน ทำให้อาหารยังคงอุดมไปด้วยคุณค่าของสารอาหาร ซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งที่ผู้บริโภคต้องการ เนื่องจากมีความปลอดภัย มีรสชาติสดใหม่ และพร้อมรับประทาน [9]



รูปที่ 1 แบคทีเรียแลคติกสามารถสร้างสารยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้หลายชนิด รวมทั้งแบคทีรีโอซิน ซึ่งจะให้ผลยับยั้งแบคทีเรียที่เกี่ยวข้อง เชื้อที่ผลิตแบคทีริโอซิน (รูปบน) จะทำให้เกิดบริเวณยับยั้งกับแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบ (รูปล่าง) [9]

ปัจจุบันแบคทีริโอซินบางชนิดมีขายในรูปผงแห้ง ที่รู้จักกันดี เช่น ไนซิน (nisin) โดยใช้ชื่อทางการค้าว่า Nisaplin™ (บริษัท Aplin and Barrett Ltd., UK) ซึ่งสร้างจาก *Lactoccocus lactis* และเพดดิโอซิน PA-1/AcH (pediocin PA-1/AcH) โดยใช้ชื่อทางการค้าว่า ALTA™ 2431 (บริษัท Quest International, Australia) ซึ่งสร้างจาก *Pediococcus acidilactici* ไนซินถูกค้นพบเป็นครั้งแรกโดย Rogers และ Whittier ในปี 1928 [10] ประกอบด้วยเปปไทด์ที่มีกรดอะมิโน 34 ตัว (รูปที่ 2) ให้ผลในการยับยั้งได้ในอาหารหลายประเภท โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์นมหมักที่มีค่า pH ต่ำ [11] ไนซินมีการใช้แพร่หลายมากกว่า 48 ประเทศ โดยเฉพาะในผลิตภัณฑ์ชีส นม และอาหารกระป๋อง [12] โดยองค์การทางอาหารและยา (Food and Drug Administration) ได้ยอมรับว่า Nisaplin™ สามารถใช้ในรูปของสารป้องกันการเน่าเสียที่มาจากธรรมชาติ [11]



รูปที่ 2 โครงสร้างของไนซิน [13]

แบคทีริโอซินบางชนิดที่มีฤทธิ์กว้าง เช่น ไนซิน จะมีประสิทธิภาพในการใช้มากกว่า โดยพบว่า ไนซินมีผลในการยับยั้งแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกได้หลายชนิด รวมถึงกลุ่มที่ก่อโรคด้วย [1] ซึ่งมักจะก่อโรคในอาหารกระป๋องและผลิตภัณฑ์นม โดยเฉพาะผลิตภัณฑ์นมที่นำมาแปรรูปเป็นเนย ซึ่งความร้อนที่ใช้ในการฆ่าเชื้อจะแพร่ผ่านได้ลำบาก ในขณะที่แบคทีริโอซินที่มีฤทธิ์แคบก็สามารถยับยั้งเชื้อเฉพาะกลุ่ม โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคในอาหาร เช่น *Listeria monocytogenes* โดยไม่ก่อให้เกิดอันตรายกับเชื้อประจำถิ่นชนิดอื่น [14]

แบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติกนั้นมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำมาใช้เป็นสารกันเสียในอาหาร กล่าวคือ

1. เป็นที่ยอมรับว่าเป็นสารที่ปลอดภัย
2. ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ยูคาริโอต
3. สามารถถูกยับยั้งได้ด้วยน้ำย่อยประเภทโปรติเอส จึงมีผลน้อยมากกับแบคทีเรียที่อยู่ในระบบทางเดินอาหาร
4. มักจะทนต่อ pH และความร้อน
5. บางชนิดมีฤทธิ์ในการยับยั้งกว้าง สามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียก่อโรคและแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเน่าเสียในอาหาร เช่น *Listeria monocytogenes* และ *Clostridium botulinum*
6. มักถูกควบคุมการสร้างโดยพลาสมิด จึงง่ายต่อการทำ genetic manipulation
7. ช่วยให้ผลิตภัณฑ์อาหารมีคุณภาพดีขึ้น เช่น เพิ่มความปลอดภัย และรสชาติดีขึ้น
8. มีแอคติวิตีจำเพาะ (specific activity) สูง [5, 11]

การประยุกต์ใช้แบคทีริโอซินเป็นสารกันเสียในอาหาร มีข้อดีหลายประการ คือ

1. ช่วยยืดอายุการเก็บของอาหาร
2. ช่วยในการรักษาอาหารที่อุณหภูมิต่างๆ
3. ลดความเสี่ยงจากการแพร่กระจายของเชื้อก่อโรคในอาหาร
4. ลดค่าใช้จ่ายจากการเน่าเสียของอาหาร
5. ลดการใช้สารเคมีในการถนอมอาหาร
6. ช่วยลดการใช้ความร้อนในการทำลายเชื้อในอาหาร ทำให้รักษาคุณค่าของสารอาหารและวิตามินในอาหาร
7. เป็นที่ต้องการของโรงงานและผู้บริโภค โดยแนวที่โรงงานอุตสาหกรรมอาหารในยุโรปนิยมในปัจจุบัน คือ ไม่ใช้สารปรุงแต่ง ลดกระบวนการแปรรูปอาหาร เพื่อให้อาหารสดใหม่ [14]

การจัดจำแนกแบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก

แบคทีริโอซินแตกต่างจากสารปฏิชีวนะจำพวกเปปไทด์อื่น คือสร้างมาจากไรโบโซม (ribosomally synthesized) และจัดเป็นเมแทบอไลต์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) [15] รวมทั้งยีนที่เกี่ยวข้องกับการสร้างจะพบเป็นคลัสเตอร์ (cluster) ในโอเปอรอน [16] ในปัจจุบันมีการจัดจำแนกแบคทีริโอซินออกเป็น 4 class ซึ่งส่วนใหญ่แบคทีริโอซินที่พบมักจัดอยู่ใน class I และ class II

1. class I

class I มีโครงสร้างเป็นเปปไทด์ ที่ทนความร้อนและมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (น้อยกว่า 5 กิโลดาลตัน) [17] ซึ่งหลังจากผ่านกระบวนการแปลรหัสแล้ว จะเข้ารวมตัวกับกรดอะมิโนแลนไธโอนีน (lanthionine; Lan) ซึ่งเป็นกรดอะมิโนที่มีไธโออีเทอร์ (thioether) อยู่ในโมเลกุล และเมธิลแลนไธโอนีน (methyllanthionine; MeLan) [15] ในบางครั้งจึงเรียก class I นี้ว่าแลนติไบโอติก (lantibiotics)

แลนติไบโอติกมักแบ่งออกเป็น 2 type หรือ 2 subclass โดยอาศัยความคล้ายคลึงกันทางโครงสร้างเป็นหลักคือ type A หรือ subclass Ia ซึ่งเป็นสารที่มีโครงสร้างเป็นเปปไทด์ที่มีประจุเป็นบวก มีสายยาว ไม่คงรูป และออกฤทธิ์โดยทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียบางสปีชีส์ ตัวอย่างของกลุ่มนี้คือไนซิน อีกกลุ่มหนึ่งคือ type B หรือ subclass Ib มีโครงสร้างเป็นเปปไทด์ที่เป็นก้อน (globular) ซึ่งคงรูป และมีประจุลบหรือไม่มีประจุ [12, 18] มีฤทธิ์ในการรบกวนการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นต่อเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียบางชนิด ตัวอย่างของกลุ่มนี้คือ เมอซาซิดิน (mersacidin) ซึ่งออกฤทธิ์รบกวนการสร้างผนังเซลล์โดยการเข้าเชื่อมต่อกับสารตั้งต้นในการสร้างเปปติโดไกลแคน (peptidoglycan) ทำให้แบคทีเรียไม่สามารถสร้างผนังเซลล์ได้ [19] อย่างไรก็ตามเมื่อเร็วๆ นี้ได้มีการจำแนก subclass ของแลนติไบโอติกเพิ่มขึ้นโดยอาศัยกลไกการออกฤทธิ์ ซึ่งมักจะเกิดความสับสนเนื่องจากสารบางชนิดสามารถออกฤทธิ์ได้หลายแบบ เช่น สามารถทำให้เกิดรู และยับยั้งการสร้างผนังเซลล์ [20] ในบางครั้งจึงแบ่งแลนติไบโอติกออกเป็น 11 subclass โดยอาศัยความคล้ายคลึงกันของโครงสร้างทางเปปไทด์ [21] ซึ่งแต่ละกลุ่มมีชื่อดังนี้ คือ ไนซิน (nisin)

อีพิเดอมิน (epidermin) สเตรปติน (streptin) เปป 5 (pep 5) แลคติซิน 481 (lacticin 481) เมอซาซิดิน (mersacidin) แอลทีเอ็นเอ 2 (LtnA 2) ไซโตไลซิน (cytolysin) แลคโตซิน S (lactocin S) ซินนามัยซิน (cinnamycin) และ ซับแลนซิน (sublancin)

2. class II

class II มีโครงสร้างเป็นเปปไทด์ที่ทนความร้อนและมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ (น้อยกว่า 10 กิโลดาลตัน) แต่ไม่มีอนุพันธ์ของกรดอะมิโนแลนไธโอนีน ปัจจุบันที่พบมากมี 2 subclass คือ subclass IIa มีชื่อว่า pediocin -like (หรือเรียกว่า *Listeria*-active) และ subclass IIb หรือ แบคทีริโอซินที่มี 2 องค์ประกอบ (two-component bacteriocins) ใน class IIa ตัวที่มีการศึกษามากที่สุด คือ เพดดิโอซิน AcH/PA-1 สารที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้มีความคล้ายคลึงกันทางลำดับของกรดอะมิโน 40-60 เปอร์เซ็นต์ โดยบริเวณ N-terminal ของโครงสร้าง จะมีลำดับของกรดอะมิโนเป็น YGNGVXCXXXXCXV หรือเรียกว่า pediocin box ต่อกับกรดอะมิโนซีสเตอีน 2 ตัว ด้วยพันธะไดซัลไฟด์ (disulphide bridge) [22] subclass IIa ปัจจุบันได้รับความสนใจมาก เนื่องจากฤทธิ์ในการยับยั้งไม่กว้างเหมือนไนซิน โดยจะยับยั้งเฉพาะเชื้อ *Listeria* เท่านั้น จึงไม่ยับยั้งเชื้อตั้งต้นที่ใช้ในหมักอาหาร แต่อย่างไรก็ตามข้อจำกัดก็คือไม่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคชนิดนี้ได้อย่างสมบูรณ์ในอาหาร [23] subclass IIb หมายถึงแบคทีริโอซินที่มีโครงสร้างประกอบด้วยองค์ประกอบ 2 ส่วน ประกอบด้วยเปปไทด์ 2 ชนิดที่ทำงานเสริมฤทธิ์กัน [24] ถ้าเหลือตัวใดตัวหนึ่งมักจะไม่มีแอคติวิตีหรือมีแอคติวิตีเหลือเล็กน้อยเท่านั้น ตัวอย่างของกลุ่มนี้ คือ แลคตาซินเอฟ (lactacin F) และแลคโตคอกซินจี (lactococcin G) นอกจากนี้ยังมี subclass IIc (*sec*-dependent bacteriocins) ตัวอย่างเช่น อะซิโดซิน B (aidocin B) ไดเวอจิซิน A (divergicin A) แบคทีริโอซิน 31 และเอนเทอโรซิน P (enterocin P) และ subclass IId ซึ่งมีลำดับกรดอะมิโนที่แตกต่างจาก subclass อื่น ตัวอย่างเช่น แลคโตคอกซิน A และ B ไดอะเซติน B (diacetin B) อะซิโดซิน 8912 (acidocin 8912) เป็นต้น [2]

3. class III

class III ประกอบด้วยแบคทีริโอซินขนาดใหญ่ ไม่ทนความร้อน จึงแตกต่างจาก class I และ II ตัวอย่างของกลุ่มนี้ คือ เฮลเวติซิน J (helveticin J) และเอนเทอโรไลซิน A (enterolysin A) [12]

4. class IV

Klaenhammer (1993) ได้เสนอให้มีการแบ่งกลุ่มแบคทีริโอซินเพิ่มขึ้นอีก 1 class คือ class IV ซึ่งแบคทีริโอซินในกลุ่มนี้จะมีหมู่กลูซิดิค (glucidic) และ/หรือลิปิดในโครงสร้างด้วยนอกเหนือจากส่วนที่เป็นโปรตีน ตัวอย่างของแบคทีริโอซินกลุ่มนี้ เช่น ลิวโคซิน S (leucocin S) และแลคโตซิน 27 ซึ่งจะมีส่วนของไกลโคโปรตีนในโครงสร้าง หรือมีเซ็นเทอริซิน 52 (mesenterocin 52) ซึ่งจะพบส่วนของลิโพโปรตีนในโครงสร้าง เป็นต้น [12, 18]

กลไกการออกฤทธิ์

แบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก มีกลไกในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน โดยทั่วไปมักออกฤทธิ์ต่อเยื่อหุ้มเซลล์ ไนซินเป็นสารที่มีแอคติวิตีต่อเชื้อในกลุ่มแกรมบวกเป็นส่วนใหญ่โดยการยับยั้งการงอกของสปอร์ของ *Bacillus* spp. และ *Clostridium* spp. [25] ในทางกลับกันแลคโตคอกซิน A (lactococcin A) มีฤทธิ์ค่อนข้างแคบ สามารถยับยั้งเฉพาะกลุ่มแลคโตคอกคัส [26] แบคทีริโอซินจะเข้าสู่เยื่อหุ้มเซลล์เป้าหมายโดยอาศัยแรง electrostatic และแบคทีริโอซินส่วนใหญ่จะเหนี่ยวนำให้เกิดรูบนเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์เป้าหมาย โดยกลไกการออกฤทธิ์ของแบคทีริโอซินที่มีการศึกษามากที่สุดคือ ไนซิน ซึ่งไนซินจะทำให้เกิดรู และขัดขวางกระบวนการ proton motive force รวมทั้งรบกวนสมดุลของ pH เป็นผลให้เกิดการรั่วไหลของไอออน และการสลายตัวของ ATP ทำให้เซลล์เกิดการตายที่สุด [9] นอกจากนี้ยังมีแลนติไบโอติกอื่นที่ทำให้เกิดรูบนเยื่อหุ้มเซลล์ ได้แก่ แลคติซิน 3147 เปป 5 ซับทิลิน และอีพิเดอมิน อย่างไรก็ตามไนซินยังช่วยรบกวนการสร้างผนังเซลล์ด้วย [9] ซึ่งกลไกการทำงานของไนซินทั้งสองนี้ สามารถออกฤทธิ์ได้ที่ความเข้มข้นในระดับนาโนโมลาร์ (nM) เท่านั้น [20]

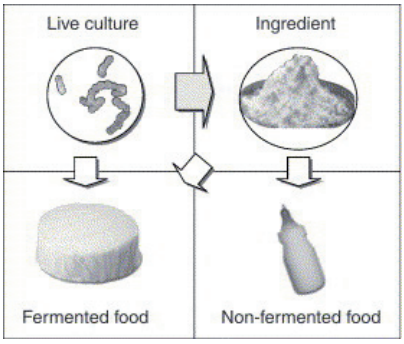
แบคทีริโอซิน class II จะออกฤทธิ์โดยการสร้างรูบนเยื่อหุ้มเซลล์เช่นกัน เป็นผลให้เกิดการแยกตัวของเยื่อหุ้มเซลล์ เกิดการรั่วไหลของกรดอะมิโนและไอออน รวมทั้ง ATP ภายในเซลล์ [9]

การนำแบคทีริโอซินไปใช้ในการปรับปรุงความปลอดภัยในอาหาร

แบคทีริโอซินจะช่วยในการปรับปรุงความปลอดภัยในอาหารและลดการป่วยอันเนื่องมาจากอาหารเป็นพิษ การใช้แบคทีริโอซินมักใช้เป็นตัวเสริมในภายหลังเพื่อป้องกันโรคอาหารเป็นพิษเท่านั้น โดยทั่วไปการควบคุมการผลิตอาหารในโรงงานอุตสาหกรรมควรจะมีระบบที่ป้องกันหรือลดจำนวนการปนเปื้อนของแบคทีเรีย ทั้งนี้รวมถึงการมีระบบสุขาภิบาล สุขอนามัย และการจัดการที่ดี (good manufacturing practices) ซึ่งครอบคลุมถึงกระบวนการตั้งแต่การคัดเลือกวัตถุดิบ บริเวณโรงงานผลิต ควบคุมผลิตภัณฑ์อาหาร รวมทั้งอนามัยส่วนบุคคล นอกจากนี้การควบคุมความปลอดภัยของอาหารโดยอาศัยหลักการพื้นฐานของ Hazard Analysis Critical Control Point (HACCP) นั้น จะวัดจากการที่โรงงานสามารถจำแนก ประเมิน และควบคุมระบบอันตรายที่ส่งผลถึงความปลอดภัยในอาหาร [27] อย่างไรก็ตาม ถึงแม้ว่าจะมีระบบควบคุมที่เคร่งครัด แต่การระบาดของโรคอาหารเป็นพิษก็ยังคงพบได้ทั่วไป จากรายงานของ Council for Agricultural Science and Technology พบว่ามีผู้ป่วยจากโรคติดเชื้อที่มากับอาหาร 6.5-33 ล้านคน และมีการตายถึง 9,000 รายต่อปี [11] ในจำนวนนี้โรคติดเชื้อที่เกิดจาก *Listeria monocytogenes* นับว่ามีความสำคัญมาก เชื้อชนิดนี้จะปนเปื้อนในโรงงานผลิตภัณฑ์อาหารและส่งผลร้ายต่อผู้บริโภค โดยเฉพาะหญิงมีครรภ์ทารก ผู้ป่วยที่มีภูมิคุ้มกันอ่อนแอ *L. monocytogenes* นี้พบทั่วไปในสิ่งแวดล้อม สามารถรอดชีวิตได้ในอุณหภูมิตู้เย็นและที่ความเข้มข้นของเกลือสูง รายงานในประเทศเวลส์และอังกฤษพบผู้ป่วยที่เป็นโรคจากเชื้อนี้ 194 คนในปี 2000 และตาย 68 คน [28] นอกจากนี้ในประเทศสหรัฐอเมริกายังพบผู้ป่วยประมาณ 2,500 คน และทำให้เกิดการตาย 500 คนต่อปี [29] จึงจำเป็นต้องมีการควบคุมเชื้อ ซึ่งแบคทีริโอซินจะเข้ามามีบทบาท นอกจาก *L. monocytogenes* แล้วยังมีเชื้อก่อโรคในกลุ่ม

แกรมลบที่ทำให้เกิดโรคอาหารเป็นพิษ เช่น *Escherichia coli* VTEC 0157, *Campylobacter* และ *Salmonella* [30] ถึงแม้ว่าฤทธิ์ของแบคทีริโอซินจะไม่สามารถทำลายผนังเซลล์ของกลุ่มแกรมลบได้อย่างสมบูรณ์ แต่สามารถใช้ร่วมกับกรรมวิธีอื่น เช่น การใช้ความดันสูง (High Hydrostatic Pressure; HHP) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อ [9] หรือใช้ร่วมกับกรดแลคติกที่ความเข้มข้นสูง จะส่งผลให้มีประสิทธิภาพในการทำลายเชื้อในกลุ่มแกรมลบ เช่น *Salmonella* Anatum ที่พบมากในแหนม ถูกทำลายได้เร็วขึ้น [31] ดังนั้นแบคทีริโอซินสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและพวกที่ก่อให้เกิดการเน่าเสียในอาหาร โดยเฉพาะจะเข้าไปมีบทบาทในการควบคุมการปนเปื้อนภายหลังกระบวนการผลิต

แบคทีริโอซินได้เข้ามามีบทบาทอย่างน้อย 3 ทางในการควบคุมความปลอดภัยในอาหาร คือ การใช้แบคทีริโอซินที่บริสุทธิ์หรือบริสุทธิ์บางส่วนในการเติมเป็นส่วนประกอบหนึ่งในอาหาร การใช้สายพันธุ์ของเชื้อที่สร้างแบคทีริโอซิน ผสมกับองค์ประกอบที่ใช้เตรียมอาหาร หรือการใช้สายพันธุ์ที่สร้างแบคทีริโอซินแทนสายพันธุ์เดิมที่ใช้เป็นเชื้อตั้งต้นในอาหารหมัก (รูปที่ 2)



รูปที่ 2 บทบาทของแบคทีริโอซินในการควบคุมความปลอดภัยในอาหาร โดยอาจใช้ในรูปการเติมเชื้อตั้งต้นที่สามารถสร้างแบคทีริโอซินลงไปในอาหาร ให้เป็นอาหารหมัก (ซ้าย) หรือใช้ในรูปส่วนผสมที่เป็นผงเติมลงไปในอาหาร ซึ่งใช้เติมได้ทั้งในอาหารหมักและอาหารทั่วไป (ขวา) [9]

การเติมแบคทีริโอซินในรูปของส่วนผสมในอาหาร

แบคทีริโอซินสามารถใช้เติมลงในอาหาร อาจใช้ในรูปที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ก็ได้ นอกจากนี้ยังสามารถเตรียมได้เอง เช่น ไนซินสามารถเตรียมได้เองจากการหมักน้ำนมที่ไม่มีไขมันโดยใช้เชื้อ *Lactococcus lactis* ซึ่งสร้างไนซินได้ โดยการเติมไนซินลงในอาหารนอกจากจะช่วยป้องกันการเน่าเสียของอาหารแล้วยังช่วยเพิ่มอายุการเก็บของอาหารให้ยาวนานขึ้น [32, 33] อย่างไรก็ตามการใช้ไนซินในอาหารมีข้อจำกัดหลายด้าน เช่น การให้ความร้อนในกระบวนการผลิตอาหาร ทำให้ฤทธิ์ในการเป็นสารยับยั้งเชื้อลดลง นอกจากนี้สมบัติทางกายภาพและเคมีของอาหาร เช่น pH และปริมาณไขมัน ก็เป็นปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการนำแบคทีริโอซินไปใช้เช่นกัน โดยพบว่าไนซินจะมีแอคติวิตีที่ดีในช่วง pH ที่เป็นกรด แต่จะสูญเสียแอคติวิตีที่ pH มากกว่า 7 [34] ในขณะที่แลนติไบโอติกอื่น

เช่น แลคติซิน 3147 สามารถรักษาแอคติวิตีได้ในช่วง pH ที่เป็นกลางและทนต่อความร้อนได้ที่ pH เป็นกรด นอกจากนี้ไนซินยังไม่เหมาะที่จะนำไปใช้ในการถนอมอาหารประเภทเนื้อ เนื่องจากสารที่เป็นองค์ประกอบในเนื้อ เช่น ฟอสโฟไลปิด หรือส่วนที่มีไขมันสูง จะจำกัดแอคติวิตีของไนซิน [35]

แบคทีริโอซิน subclass IIa เช่น เพดดิโอซิน PA-1/AcH ได้รับความสนใจมากขึ้น เนื่องจากสามารถยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* โดยการนำไปใช้มักร่วมกับวิธี Modified Atmosphere Packaging (MAP) ซึ่งวิธี MAP จะใช้ในการบรรจุผลิตภัณฑ์จำพวกเนื้อภายใต้ภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ในระดับสูง เพื่อลดการเน่าเสียอันเนื่องมาจากแบคทีเรียแกรมลบ และภาวะดังกล่าวยังช่วยให้แบคทีเรียแลคติกเพิ่มจำนวนและสร้างแบคทีริโอซินได้ ทำให้ยืดอายุการเก็บของอาหารที่แช่เย็น แบคทีเรียแลคติกที่พบทั่วไปในเนื้อแช่เย็นได้แก่กลุ่มแลคโตบาซิลไล (lactobacilli) กลุ่มเพดดิโอคอกไค (pediococci) และสายพันธุ์ที่สร้างเพดดิโอซิน PA-1/AcH ได้ก็สามารถแยกได้จากเนื้อเช่นกัน เพดดิโอซิน PA-1/AcH เป็นแบคทีริโอซินที่ถูกนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์นมหลายชนิด โดยพบว่าสามารถรักษาแอคติวิตีได้ในช่วง pH กว้าง และในที่มีไขมัน แลคติซิน 3147 สร้างได้จากเชื้อ *Lc. lactis* DPC 3147 เป็นแบคทีริโอซินอีกชนิดหนึ่งที่นำมาใช้เป็นสารกันเสียอย่างแพร่หลาย โดยพบว่าสามารถยับยั้ง *L. monocytogenes* Scott A และ *Bacillus cereus* ในโยเกิร์ตธรรมชาติ และในชีส เป็นต้น [9] ตัวอย่างของแบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติกที่ใช้เป็นสารกันเสียในอาหาร แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างของแบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติกที่ใช้เป็นสารกันเสียในอาหาร [11]

แบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก	ฤทธิ์ในการยับยั้ง (inhibition spectrum)
Lactococcus sp.	
Nisin	Broad spectrum
Lacticin 3147	Broad spectrum
Lacticin 481	Medium spectrum
Lactococcin A, B และ M	Narrow spectrum
Lactobacillus sp.	
Lactocin 27	Narrow spectrum
Sakacin A	Narrow spectrum
Sakacin B	Narrow spectrum
Plantaricin C	Broad spectrum
Pediococcus sp.	
Pediocin A	Broad spectrum
Pediocin PA-1/AcH	Broad spectrum
Leuconostoc sp.	
Leucocin A-UAL 187	Broad spectrum

ตารางที่ 1 (ต่อ)

แบคทีริโอซินที่สร้างจากแบคทีเรียแลคติก	ฤทธิ์ในการยับยั้ง (inhibition spectrum)
Enterocccus sp.	
Enterocin A	Narrow spectrum
Carnobacterium sp.	
Carnocin U149	Broad spectrum
Piscicolin 126	Broad spectrum
Divercin V41	Broad spectrum

การเติมสายพันธุ์ที่สร้างแบคทีริโอซินลงไปในอาหาร

การนำแบคทีเรียแลคติกที่มีชีวิตที่สร้างแบคทีริโอซินได้ไปใช้ในอาหารจะช่วยเป็นสารกันเสียทางชีวภาพในอาหาร ดังนั้นจะช่วยในการยืดอายุของอาหารและเพิ่มความปลอดภัยในอาหาร [11] อย่างไรก็ตามปัญหาที่พบในการใช้แบคทีเรียแลคติกที่สร้างแบคทีริโอซินไปใช้ในการผลิตอาหารหมัก คือ สายพันธุ์ที่สร้างแบคทีริโอซินอาจมีผลยับยั้งสายพันธุ์อื่นที่ใช้ในการหมัก เช่น ในการผลิตชีส พบว่าสายพันธุ์ที่สร้างไนซินมักจะยับยั้งสายพันธุ์ที่เป็นเชื้อตั้งต้นที่ใช้ การแก้ไขปัญหาดังกล่าวโดยใช้สายพันธุ์ที่สร้างไนซินเป็นเชื้อตั้งต้นแทนเชื้อตั้งต้นเดิม พบว่าเชื้อสร้างกรดได้เพียงเล็กน้อย และมีแอคติวิตีในการย่อยโปรตีน (proteolytic activity) ไม่เพียงพอ นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อจะถูกทำลายด้วยแบคเทอริโอเฟจเพิ่มขึ้น ดังนั้นสายพันธุ์ที่สร้างไนซินจึงไม่เหมาะในการผลิตชีส อย่างไรก็ตามได้มีรายงานการใช้เชื้อตั้งต้นหลายๆ สายพันธุ์ (multi-strain starters) ร่วมกับสายพันธุ์ที่สร้างแบคทีริโอซินในการผลิตชีส พบว่าช่วยให้เกิดลักษณะที่ต้องการได้เช่นกัน เช่น ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสร้างกรด [36]

การใช้สายพันธุ์ที่สร้างแบคทีริโอซินในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อใช้เป็นสารกันเสียทางชีวภาพได้รับความสนใจมากในปัจจุบัน เช่น การใช้ *Lb. curvatus* และ *Lc. lactis* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่สร้างแบคทีริโอซิน เมื่อใช้ในรูปแบบระเหิดแห้ง (lyophilised bacteriocin-producing cultures) สามารถลดจำนวน *L. monocytogenes* ที่ปนเปื้อนในไส้กรอกหมักได้ โดยพบว่าเชื้อ *Lb. curvatus* สามารถยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ให้ลดลงเหลือน้อยกว่า 10 cfu/ g ภายใน 4 ชั่วโมงของการหมัก [37] อีกตัวอย่างหนึ่งคือการใช้สายพันธุ์ที่สร้างแลคติซิน 3147 ในการผลิตชีส โดยแลคติซิน 3147 ถูกควบคุมการสร้างโดยพลาสมิด pMRC01 ซึ่งสามารถถ่ายทอดพลาสมิดไปยังสายพันธุ์ตั้งต้นในการผลิตอาหารอื่น [38] นอกจากนี้ pMRC01 ยังประกอบด้วยยีนที่ควบคุมการสร้างความต้านทานต่อแบคเทอริโอเฟจ และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* Scott A ที่ใช้ในการทดลอง ถึง 99.9 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจาก 5 วันของการทดลอง [39] ตัวอย่างอื่น เช่น การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ *Pseudomonas fluorescens*, *Staphylococcus aureus* และ *Clostridium perfringens* โดยการเพาะเชื้อร่วมกับเชื้อตั้งต้นคือ *Streptococcus diacetylactis* พบว่าสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ทุกชนิด และสามารถยับยั้งเชื้อ *S. aureus* ได้มากกว่า 99 เปอร์เซ็นต์ในอาหารประเภทเนื้อวัวบด [40]

แต่เมื่อใช้สายพันธุ์ที่สร้างไนซินเป็นเชื้อตั้งต้นในการผลิตชีสที่บ่มด้วยรา (mould-ripened cheese) พบว่าให้ประสิทธิภาพไม่ดีนักอาจเนื่องมาจากค่า pH ที่ไม่คงที่ระหว่างกระบวนการหมัก ซึ่งจะเห็นได้ว่าควรมีการเลือกใช้สายพันธุ์ที่สร้างแบคทีริโอซินให้เหมาะสมในการผลิตอาหารแต่ละชนิด [9]

เมื่อเร็วๆ นี้ได้มีการใช้สายพันธุ์ที่ใช้ในอาหาร (food-grade strain) ที่สามารถสร้างแลคติซิน 3147 ร่วมกับสายพันธุ์ที่สร้างแลคติซิน 481 ซึ่งนอกจากจะช่วยยับยั้งเชื้ออันเนื่องมาจากแบคทีริโอซินที่สร้างขึ้นแล้ว ยังช่วยเพิ่มความปลอดภัยในอาหาร โดยพบว่าสามารถยับยั้งเชื้อ *L. monocytogenes* ได้มากกว่าการใช้เพียงสายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่ง [11] การใช้สายพันธุ์ร่วมในการผลิตอาหารนั้นมีข้อได้เปรียบคือช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคที่ดื้อต่อแบคทีริโอซินชนิดใดชนิดหนึ่ง การดื้อต่อแบคทีริโอซินเกิดขึ้นตามธรรมชาติ โดยเชื้อมักจะดื้อต่อแบคทีริโอซินใน subclass IIa เช่น เพดดิโอซิน PA-1 และมีเซ็นทีริซิน Y105 มากกว่าชนิดอื่น [9]

ในผลิตภัณฑ์อาหารที่วางขายในท้องตลาด เช่น ผลิตภัณฑ์เนื้อที่บรรจุแบบสุญญากาศ (vacuum-packed meat product) พบว่าจากการสุ่มตัวอย่าง 48 แหล่ง สามารถแยกสายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกที่สร้างแบคทีริโอซินได้ในอาหารดังกล่าวถึง 46 เปอร์เซ็นต์ [41] นอกจากนี้ Swetwiwathana (2005) ได้คัดแยกแบคทีเรียแลคติกจากแหนมจำนวน 309 ไอโซเลท พบว่ามี 14 ไอโซเลทที่มีแนวโน้มในการสร้างแบคทีริโอซิน ในจำนวนนี้มี 3 ไอโซเลทที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้ออื่นๆ ได้สูง เมื่อทำการจัดจำแนกชนิดของ ไอโซเลททั้งสามพบว่าไอโซเลท N 100 และ N 190 เป็น *Lc. lactis* subsp. *lactis* ซึ่งสามารถผลิตไนซิน Z และอีกไอโซเลทหนึ่งเป็น *P. pentosaceus* TISTR 536 ซึ่งสามารถผลิตเพดดิโอซิน PA-1 [42] และมีรายงานของสมใจ ศิริโภคและคณะ ที่แยกแบคทีเรียแลคติกที่สร้างแบคทีริโอซินได้จากอาหารหมักประเภทเนื้อในประเทศไทยทั้งหมด 50 ตัวอย่าง พบ 8 ไอโซเลทที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการยับยั้ง *S. aureus* โดยไอโซเลท FFL17-2 มีความคงตัวในการยับยั้ง *S. aureus* ได้ดีที่สุด เมื่อทำการจัดจำแนกพบว่าเป็น *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* โดยแบคทีเริโอซินที่สร้างขึ้นมีสมบัติที่ดีกล่าวคือทนความร้อน 100 องศาเซลเซียส ได้นาน 10 นาที มีความคงตัวดีในช่วง pH 4-7 และมี antibacterial spectrum ค่อนข้างกว้าง [43]

การใช้แบคทีริโอซินร่วมกับ Hurdle technology

Hurdle technology หมายถึงการใช้ปัจจัยร่วมทั้งภายในและภายนอก (intrinsic and extrinsic) ในการป้องกันการปนเปื้อนแบคทีเรีย หรือควบคุมการเจริญและการรอดชีวิตของเชื้อในอาหาร การใช้การถนอมอาหารหลายวิธีร่วมกันจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากกว่าการใช้เพียงวิธีเดียว รวมทั้งช่วยเพิ่มความปลอดภัยและคุณภาพของอาหาร โดยแบคทีริโอซินสามารถใช้ร่วมกับวิธีอื่นเช่นกัน การใช้แบคทีริโอซินเพียงอย่างเดียวไม่ได้ประกันว่าอาหารนั้นจะปลอดภัย เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบที่ก่อโรคมักป้องกันการเข้าทำลายได้จากการมีชั้นของผนังเซลล์ด้านนอก (outer membrane) แต่เมื่อใช้ร่วมกับ chelating agent ที่ยอมรับให้ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น food-grade ethylene diamine tetraacetate (EDTA) ซึ่งจะไปจับกับแมกนีเซียมไอออนในชั้นลิโพพอลิแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ที่ผนังเซลล์ด้านนอก จะทำให้เชื้อเหล่านี้ไวต่อการเข้าทำลายของแบคทีริโอซิน [44]

การถนอมอาหารโดยไม่ใช้ความร้อน เช่น วิธี HHP และ วิธีกระตุ้นด้วยสนามไฟฟ้า (Pulsed Electric Field; PEF) มักนิยมใช้ในการถนอมอาหารเนื่องจากรักษารูปลักษณ์ของอาหาร และไม่สูญเสียสารอาหารต่างๆ เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการใช้ความร้อนซึ่งมีผลต่อวิตามินที่เป็นองค์ประกอบในอาหาร กลไกในการถนอมอาหารโดยไม่ใช้ความร้อน คือจะทำให้เยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรียเกิดความผิดปกติ ไม่เสถียร (destabilized) จึงรบกวนหน้าที่การทำงานของเซลล์ อย่างไรก็ตามการถนอมอาหารโดยไม่ใช้ความร้อนเพียงวิธีเดียวมักจะไม่นิยมใช้ในทางการค้า การใช้วิธีนี้ในระดับความดันหรือกระแสไฟฟ้าที่ต่ำกว่าร่วมกับวิธีอื่น เช่น การใช้ร่วมกับแบคทีริโอซินจึงเป็นทางเลือกหนึ่ง ตัวอย่างเช่น การใช้ HHP และ PEF ร่วมกับไนซิน การใช้แลคติซิน 3147 ร่วมกับวิธี HHP การใช้สายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกที่สร้างแบคทีริโอซินจำนวน 7 สายพันธุ์ร่วมกับวิธี HHP ที่ความดัน 300 and 500 MPa ในชีสที่มีการปนเปื้อนเชื้อ *E. coli* O157: H7 พบว่าให้ประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อมากกว่าใช้วิธีใดวิธีหนึ่งเพียงอย่างเดียว [9]

แบคทีริโอซินสามารถใช้ร่วมกับกรดอินทรีย์และสารยับยั้งแบคทีเรียอื่นเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรีย เช่น การใช้เพดดิโอซิน 600 AU ร่วมกับโซเดียมไดอะซิเตทและโซเดียมแลคเตท ในเนื้อวัวที่เก็บแบบสุญญากาศที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนเชื้อ *L. monocytogenes* จำนวน 10^7 cfu/g พบว่าสามารถลดจำนวนของ *L. monocytogenes* เหลือน้อยกว่า 1 log cfu/ g ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หลังจาก 14 และ 21 วัน ในขณะที่การใช้โซเดียมไดอะซิเตทและโซเดียมแลคเตทเพียงชนิดใดชนิดหนึ่งที่ระยะเวลาเดียวกัน พบว่าสามารถลดจำนวนเชื้อลงเหลือ 1.5 และ 2.5 log cfu/ g ตามลำดับ [45] นอกจากนี้ยังมีรายงานการใช้ไนซินและเพดดิโอซินร่วมกับกรดซิตริก โพแทสเซียมซอร์เบต และกรดไฟติก (phytic acid) ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *L. monocytogenes* พบว่าการใช้ไนซินร่วมกับกรดไฟติกให้ประสิทธิภาพในการลดจำนวน *L. monocytogenes* ดีที่สุด [46]

การใช้แบคทีริโอซินในการเพิ่มคุณภาพอาหารและรสชาติ

แบคทีริโอซินสามารถใช้เพิ่มคุณภาพของอาหารและรสชาติได้ในกระบวนการผลิตชีส แบคทีเรียแลคติกที่สร้างแบคทีริโอซินจะถูกใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์ประจำถิ่น ซึ่งได้แก่ กลุ่มที่ไม่ใช่เชื้อตั้งต้นที่ใช้ในการผลิตชีส (non-starter lactic acid bacteria; NSLAB) และเหนี่ยวนำให้เซลล์แตก ซึ่งจะช่วยเพิ่มการย่อยสลายโปรตีนในชีสได้ เชื้อ NSLAB ที่พบในระหว่างกระบวนการบ่มชีสนี้ยังไม่ทราบหน้าที่แน่ชัด แต่พบว่ามักจะเกิดผลเสียต่อผลิตภัณฑ์ เช่น ทำให้เกิดการรวมตัวของผลึกแคลเซียมแลคเตท เนื่องจากสามารถเปลี่ยนรูป L-lactate ไปเป็น D-lactate ได้ ทำให้เกิดรู และอาจทำให้เกิดรสชาติที่ผิดปกติ การเติมแบคทีริโอซินในชีส จะช่วยควบคุมการปนเปื้อนของ NSLAB ได้ ตัวอย่างเช่น การใช้แลคติซิน 3147 เป็นเชื้อตั้งต้นในการผลิตชีสเช็ดดาร์ไขมันต่ำพบว่ามีประสิทธิภาพในการควบคุม NSLAB ได้เป็นอย่างดีในระหว่างการบ่ม [11]

การใช้แลคโตคอกซิน ABM (จัดอยู่ใน subclass IIa) ซึ่งมีฤทธิ์ในการยับยั้งแคบ โดยมีผลในการยับยั้งในกลุ่มแลคโตคอกไคเท่านั้น การใช้แลคโตคอกซินที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแคบนั้น ถึงแม้ว่าจะไม่สามารถยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ แต่ช่วยเพิ่มคุณภาพของชีสและรสชาติให้ดี เนื่องจาก

แลคโตคอกซิน ABM จะช่วยให้เกิดการแตกสลายของเชื้อตั้งต้นทำให้เกิดการปล่อยเอนไซม์โปรติเนสและเปปติเดสที่อยู่ภายในเซลล์ของเชื้อตั้งต้น โดยเฉพาะในกรณีที่เชื้อตั้งต้นไวต่อแบคทีริโอซินนั้นๆ แต่ก็ทำให้การสร้างกรดโดยเชื้อลดลงด้วย จึงเป็นการยากที่จะควบคุมเชื้อให้มีการสร้างกรดเหมาะสมพอดีกับการแตกสลายของเชื้อ อย่างไรก็ตามอาจแก้ไขได้โดยการใช้เชื้อตั้งต้นหลายชนิดร่วมกัน เช่น การใช้เชื้อ *Lc. lactis* HP, *Lc. lactis* DPC 3286 ร่วมกับเชื้อ *Streptococcus thermophilus* DPC 1842 ซึ่งไม่ไวต่อแลคโตคอกซิน ABM และยังคงสร้างกรด พบว่า ชีสมีคุณภาพดีขึ้น [47] ถึงแม้ว่าจะมีเอนไซม์ที่ช่วยให้เซลล์แตกขายทางการค้ามากมายแต่ก็มีราคาแพงและประสิทธิภาพไม่ดี การใช้สายพันธุ์ที่สร้างแบคทีริโอซินนอกจากจะไม่มีค่าใช้จ่ายดังกล่าวแล้ว ยังช่วยให้คุณภาพรวมและรสชาติของชีสดีขึ้น [9]

สรุป

ประโยชน์ของแบคทีริโอซินนั้นเป็นที่รู้จักกันมากว่า 1,000 ปี ความรู้เกี่ยวกับแบคทีริโอซินชนิดอื่นที่มีประสิทธิภาพใกล้เคียงกับไนซินสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอาหารชนิดอื่น รวมทั้งนำมาใช้ในการยับยั้งเชื้ออื่น การใช้แบคทีริโอซินนั้นเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เนื่องจากจะช่วยลดการใช้สารเคมี โดยอาจใช้แบคทีริโอซินร่วมกับสารที่ใช้ถนอมอาหารทางธรรมชาติอื่น

ปัญหาที่พบในการใช้แบคทีริโอซินในการใช้เป็นสารกันเสียในอาหาร คือ พบการพัฒนาการดื้อต่อแบคทีริโอซิน ซึ่งการแก้ไขปัญหานี้ทำได้โดยการใช้เชื้อตั้งต้นที่สร้างแบคทีริโอซินหลายสายพันธุ์ เช่น การใช้สายพันธุ์ที่สร้างเอนเทอโรซิน A ร่วมกับสายพันธุ์ที่สร้างเพดดิโอซิน PA-1 เป็นต้น [10]

ปัจจุบันได้มีการประยุกต์ใช้อนุพันธ์ของแบคทีริโอซินที่มีการปรับปรุงทางพันธุวิศวกรรมมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร โดยเทคนิคดังกล่าวสามารถเพิ่มความเสถียรและเพิ่มการสร้างแบคทีริโอซินให้มากขึ้น ตัวอย่างเช่น การเปลี่ยนกรดอะมิโนในโครงสร้างของไนซิน Z โดยเปลี่ยนจากเมไธโอนีนที่ตำแหน่ง 21 เป็นไลซีน พบว่าสามารถเพิ่มการละลายของเปปไทด์ที่ pH 8 ให้เพิ่มขึ้น 5 เท่า เมื่อเทียบกับไนซิน Z เดิม รวมทั้งช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำลายเชื้อแบคทีเรียแกรมลบในอาหาร ซึ่งทั้งเนื้อของอาหารและกระบวนการผลิตล้วนมีผลต่อแอคติวิตีและความเสถียรของแบคทีริโอซิน [48] การสร้างอนุพันธ์ของแบคทีริโอซินชนิดใหม่จะช่วยเพิ่มคุณสมบัติดังกล่าวให้ดีขึ้น และส่งผลดีต่อผู้บริโภคตามมา [8]

เอกสารอ้างอิง

1. Tagg, J. R., Dajani, A. S. and Wannamaker, L. W. 1976. Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria. *Microbiological Reviews* 40: 722-756.
2. Klaenhammer, T. R. 1988. Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. *Biochimie* 70: 337-349.
3. Nettles, C. G. and Barefoot, S. F. 1993. Biochemical and Genetic Characteristics of Bacteriocins of Food-Associated Lactic Acid Bacteria. *Journal of Food Protection* 56: 338-356.

4. Stiles, M. E. and Holzapfel, W. H. 1997. Lactic Acid Bacteria of Foods and Their Current Taxonomy. *International Journal of Food Microbiology* 36: 1-29.
5. Holzapfel, W. H., Geisen, R. and Schillinger, U. Biological Preservation of Foods with Reference to Protective Cultures, Bacteriocins and Food-Grade Enzymes. *International Journal of Food Microbiology* 24: 343-362.
6. Stiles, M. E. and Hastings, J. W. 1991. Bacteriocin Production by Lactic Acid Bacteria: Potential for Use in Meat Preservation. *Trends in Food Science and Technology* 2: 247-251.
7. ศศิวิมล ชื่นอิ่ม อาเหม็ด และอดิศร เสวตวิวัฒน์. 2548. การใช้ประโยชน์และการตรวจหาแบคทีเรียแลกติกในอาหาร. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า* 23(1): 88-101.
8. Jack, R. W., Tagg, J. R. and Ray, B. 1995. Bacteriocins of Gram-Positive Bacteria. *Microbiological Reviews* 59: 171-200.
9. Deegan, L. H., Cotter, P. D., Hill, C. and Ross, P. 2006. Bacteriocins: Biological Tools for Bio-Preservation and Shelf-Life Extension. *International Dairy Journal* 16(9): 1058-1071
10. Rogers, L. A. and Whittier, E. D. 1928. Limiting Factors in Lactic Fermentation. *Journal of Bacteriology* 16: 211-229.
11. O'Sullivan, L., Ross, R. P. and Hill, C. 2002. Potential of Bacteriocin-Producing Lactic Acid Bacteria for Improvements in Food Safety and Quality. *Biochimie* 84(5-6): 593-604
12. Delves-Broughton, J. 1990. Nisin and Its Use as Food Preservative. *International Journal of Dairy Technology* 43(3): 73-76.
13. Wikimedia Foundation, Inc. Available from URL: http://en.wikipedia.org/wiki/Nisin. Retrieved 16 October 2007.
14. Galvez, A., Abriouela, H., Lopeza, R. L. and Omar, N. B. Bacteriocin-Based Strategies for Food Biopreservation. *In press.*
15. Hurst, A. 1981. Nisin. *Advances in Applied Microbiology* 27: 85-123.
16. Jack, R. W., Bierbaum, G., Hiedrich, C. and Sahl, H.-G. 1995. The Genetics of Lantibiotic Biosynthesis. *Bioessays* 17: 793-802.
17. Chatterjee, C., Paul, M., Xie, L. and van der Donk, W. A. 2005. Biosynthesis and Mode of Action of Lantibiotics. *Chemistry Reviews* 105: 633-683.
18. Klaenhammer, T. R. 1993. Genetics of Bacteriocins Produced by Lactic Acid Bacteria. *FEMS Microbiology Reviews* 12: 39-86.
19. Brotz, H., Bierbaum, G., Leopold, K., Reynolds, P. E. and Sahl, H.-G. 1998. The Lantibiotic Mersacidin Inhibits Peptidoglycan Synthesis by Targeting Lipid II. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 42: 154-160.

20. Breukink, E., Weidemann, I., van Kraaij, C., Kuipers, O. P., Sahl, H.-G. and de Kruijff, B. 1999. Use of Cell Wall Precursor Lipid II by a Pore-Forming Peptide Antibiotic. *Science* 286: 2361-2364.
21. Cotter, P. D., Hill, C. and Ross, R. P. 2005. Bacterial Lantibiotics: Strategies to Improve Therapeutic Potential. *Current Protein and Peptide Science* 6: 61-75.
22. Eijsink, V. G. H., Skeie, M., Middelhoven, P. H., Brurberg, M. B. and Nes, I. F. 1998. Comparative Studies of Class IIa Bacteriocins of Lactic Acid Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 64: 3275-3281.
23. Ennahar, S., Sonomoto, K. and Ishizaki, A. 1999. Class IIa Bacteriocins from Lactic Acid Bacteria: Antibacterial Activity and Food Preservation. *Journal of Bioscience and Bioengineering* 87: 705-716.
24. Nissen-Meyer, J., Holo, H., Harvastein, L. S., Sletten, K. and Nes, I. F. 1992. A Novel Lactococcal Bacteriocin Whose Activity Depends on the Complementary Action of Two Peptides. *Journal of Bacteriology* 174: 5686-5692.
25. Gross, E. and Morell, J. L. 1971. The Structure of Nisin. *Journal of American Chemistry Society* 93: 4634-4635.
26. Stoddard, G. W., Petzel, J. P., van Belkum, M. J., Kok, J. and McKay, L. L. 1992. Molecular Analyses of the Lactococcin A Gene Cluster from *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* biovar *diacetylactis* WM4. *Applied and Environmental Microbiology* 58: 1952-1961.
27. NACMCF. 1998. Hazard Analysis and Critical Control Point Principles and Application Guidelines. National Advisory Committee on Microbiological Criteria for Foods. *Journal of Food Protection* 61(9): 1246-1259.
28. Adak, G. K., Long, S. M. and O'Brian, S. J. 2002. Trends in Indigenous Foodborne Disease and Deaths, England and Wales. *Gut* 51: 832-841.
29. Centers for Disease Control and Prevention, U.S.A. Available from URL: www.cdc.gov/ ncidod/ dbmd/diseaseinfo/listeriosis_t.htm. Retrieved 17 October 2007.
30. Chen, H. and Hoover, D. G. 2003. Bacteriocins and Their Food Applications, *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 2: 82-100.
31. Swetwiwathana, A., Lotong, N., Nakayama, J. and Sonomoto, K. 2007. Maturation of Nham- A Thai Fermented Meat Product. *Fleisch Wirtschaft International* 22(3): 46-49.
32. Choi, M. H. and Park, Y. H. 2000. Selective Control of Lactobacilli in Kimichi with Nisin. *Letters in Applied Microbiology* 30: 173-177.

33. Cutter, C. N. and Siragusa, G. R. 1995. Population Reductions of Gram-Negative Pathogens Following Treatments with Nisin and Chelators under Various Conditions. *Journal of Food Protection* 58 : 977-988.
34. Delves-Broughton, J., Blackburn, P., Evans, R. J. and Hugenholtz, J. 1996. Applications of the Bacteriocin Nisin. *Antonie van Leeuwenhoek* 69: 193-202.
35. Davies, E. A., Milne, C. F., Bevis, H. E., Potter, R. W., Harris, J. M. and Williams, G. C. 1999. Effective Use of Nisin to Control Lactic Acid Bacterial Spoilage in Vacuum Packed Bologna-Type Sausage. *Journal of Food Protection* 62: 1004-1010.
36. Lipinska, E. 1973. Use of Nisin Producing Lactic *Streptococcus* in Cheese Making. *Annual Bulletin for the International Dairy Federation* 73: 1-24.
37. Benkerroum, N., Daoudi, A., Hamraoui, T., Ghalfi, H., Thiry, C. and Duroy, M. 2005. Lyophilised Preparations of Bacteriogenic *Lactobacillus curvatus* and *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* as Potential Protective Adjuncts to Control *Listeria monocytogenes* in Dry-Fermented Sausages. *Journal of Applied Microbiology* 98: 56-63.
38. Coakley, M., Fitzgerald, G. F. and Ross, R. P. 1997. Application and Evaluation of the Phage Resistance and Bacteriocin Encoding the Plasmid pMRC01 for the Improvement of Dairy Starter Cultures. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 1434-1440.
39. McAuliffe, O., Hill, C. and Ross, R. P. 1999. Inhibition of *Listeria monocytogenes* in Cottage Cheese Manufactured with lacticin 3147 Producing Starter Culture. *Journal of Applied Microbiology* 86: 251-256.
40. Daly, C., Sandine, W. E. and Elliker, P. R. 1972. Interactions of Food Starter Cultures and Food-Borne Pathogens: *Streptococcus diacetylactis* Versus Food Pathogens. *Journal of Milk and Food Technology* 35: 349-357.
41. Budde, B. B., Hornbaek, T., Jacobsen, T., Barkholt, V., and Koch, A. G. 2003. *Leuoconostoc carnosum* 4010 has the Potential for Use as a Protective Culture for Vacuum-Packed Meats: Culture Isolation, Bacteriocin Identification, and Meat Application Experiments. *International Journal of Food Microbiology* 83: 171-184.
42. Swetwiwathana, A. 2005. Microbiological Quality Enhancement of Thai Fermented Meat Product (Nham) Using Nham-Associated Pediocin Producing Lactic Acid Bacteria (*Pediococcus pentosaceus* TISTR 536). Ph.D. Thesis. Faculty of Agriculture, Kyushu University, Japan.

43. สมใจ ศิริโภค ประวัติ อังประภาพรชัย ขจีนาฏ โพธิเวชกุล และ อรอนงค์ พริ้งศุลกะ. 2550. การคัดเลือกและการจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียแลคติกที่สร้างแบคทีริโอซินได้จากอาหารหมัก และการศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นของแบคทีริโอซินที่ผลิตได้. *วารสารวิทยาศาสตร์ มศว* (กำลังจัดพิมพ์).

44. Stevens, K. A., Sheldon, B. W., Klapes, N. A. and Klaenhammer, T.R. 1991. Nisin Treatment for Inactivation of *Salmonalla* Species and Other Gram-Negative Bacteria. *Applied and Environmental Microbiology* 57: 3613-3615.

45. Uhart, M., Ravishankar, S. and Maks, N. D. 2004. Control of *Listeria monocytogenes* with Combined Antimicrobials on Beef Franks Stored at 4 Degrees Celcius. *Journal of Food Protection* 67(10): 2296-2301.

46. Bari, M. L., Ukuku, D. O., Kawasaki, T., Inatsu, Y., Isshiki, K. and Kawamoto, S. 2005. Combined Efficacy of Nisin and Pediocin with Sodium Lactate, Citric Acid, Phytic Acid, and Potassium Sorbate and EDTA in Reducing the *Listeria monocytogenes* Population of Inoculated Fresh-Cut Produce. *Journal of Food Protection* 68: 1381-1387.

47. Morgan, S. M., O'Sullivan, L., Ross, R. P. and Hill, C. 2002. The Design of a Three Strain Starter System for Cheddar Cheese Manufacture Exploiting Bacteriocin-Induced Starter Lysis. *International Dairy Journal* 12: 985-993.

48. Yuan, J., Zhang, Z. Z., Chen, X. Z., Yang, W. and Huan, L. D. 2004. Site-Directed Mutagenesis of the Hinge Region of Nisin Z and Properties of Nisin Z Mutants. *Applied Microbiology and Biotechnology* 64: 806-815.

ได้รับบทความวันที่ 19 ตุลาคม 2550
ยอมรับตีพิมพ์วันที่ 2 พฤศจิกายน 2550