

บทคัดย่อ

การทำลายหัวเชื้อโดยแบคทีเรียโอเฟจ เป็นปัญหาที่สำคัญประการหนึ่งในกระบวนการหมัก เนื่องจากอาจส่งผลให้กระบวนการหมักล้มเหลวได้ ในการศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์คือ ต้องการแยกแบคทีเรียโอเฟจที่มีความสามารถในการบุกรุกทำลายหัวเชื้อ *Lactococcus lactis* RP359 ในการหมักเค็มบักนัดซึ่งเป็นอาหารหมักพื้นบ้านชนิดหนึ่งของคนไทย พร้อมทั้งศึกษาคุณสมบัติสำคัญบางประการของแบคทีเรียโอเฟจดังกล่าวนี้ ผลการศึกษาพบว่าสามารถแยกแบคทีเรียโอเฟจที่สามารถบุกรุกทำลาย *L. lactis* RP359 ได้หนึ่งชนิดจากอาหารหมักเค็มบักนัด และเรียกแบคทีเรียโอเฟจที่แยกได้นี้ว่า แบคทีเรียโอเฟจ ϕ RP359 เมื่อทำการศึกษาคูสมบัติของแบคทีเรียโอเฟจดังกล่าวพบว่า แบคทีเรียโอเฟจ ϕ RP359 จัดเป็นไลติกเฟจ เนื่องจากสามารถทำให้เกิดพลาสมาที่มีลักษณะใส และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของพลาสมาโดยเฉลี่ยเท่ากับ 1 ถึง 1.5 มิลลิเมตร ความสามารถในการทำลายแบคทีเรียของแบคทีเรียโอเฟจ ϕ RP359 มีความจำเพาะสูงมากต่อ *L. lactis* RP359 จากการศึกษารูปร่างและสารพันธุกรรมของแบคทีเรียโอเฟจ ϕ RP359 พบว่า เป็นแบคทีเรียโอเฟจที่มีหางแบบยึดหดได้ และมีสารพันธุกรรมเป็นดีเอ็นเอสายคู่ ดังนั้นจึงจัดเป็นแบคทีเรียโอเฟจในแฟมิลี *Myoviridae* การศึกษาโปรตีนโครงสร้างของแบคทีเรียโอเฟจ ϕ RP359 โดยวิธี SDS-PAGE พบว่ามีโครงสร้างหลักประกอบด้วยโปรตีน 5 ชนิด ซึ่งมีขนาดเท่ากับ 80, 57, 40, 25 และ 15 กิโลดาลตัน แบคทีเรียโอเฟจ ϕ RP359 มีความสามารถในการยึดเกาะบนผิวเซลล์ของโฮสต์ได้สูงถึง 85 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 20 นาที และสามารถทนความร้อนได้ค่อนข้างดีคือ สามารถทนความร้อนได้ในช่วงอุณหภูมิ 60-90 องศาเซลเซียส แม้ว่าจำนวนแบคทีเรียโอเฟจที่รอดชีวิตจะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นก็ตาม นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณแคลเซียมไอออนมีผลต่อการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโอเฟจ ϕ RP359 โดยปริมาณแคลเซียมไอออนที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนของแบคทีเรียโอเฟจมีค่าเท่ากับ 20 มิลลิโมลาร์ จากผลการศึกษาในครั้งนี้จึงกล่าวได้ว่าแบคทีเรียโอเฟจ ϕ RP359 เป็นแบคทีเรียโอเฟจชนิดแรกที่มีรายงานว่าตรวจพบในอาหารหมักเค็มบักนัดของไทย ดังนั้นข้อมูลที่ได้จากการศึกษาคูสมบัติของแบคทีเรียโอเฟจดังกล่าวจึงน่าจะเป็นประโยชน์และสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นแนวทางในการพัฒนากระบวนการหมักเค็มบักนัดแบบเดิมหัวเชื้อได้ในอนาคต

Abstract

Starter culture-infecting bacteriophages have become a major problem of food fermentation because of their ability to ruin fermentation. This study aims to isolate and characterize a phage having ability to infect *Lactococcus lactis* RP359, a starter culture of

kem-buk-nud, a traditional Thai fermented food. A lytic phage ϕ RP359 was isolated from a kem-buk-nud sample and produced clear plaques of 1 to 1.5 mm in diameter. It was highly specific to *L. latiss* RP359. Since phage ϕ RP359 was a tailed phage with a contractile tail and its genome was double stranded DNA, the phage was classified as a member of the family *Myoviridae*. Structural protein profile of the phage studied by SDS-PAGE consisted of 5 bands with molecular masses of 80, 57, 40, 25, and 15 kDa. The highest phage adsorption rate of 85% was observed at 20 min of infection. Although the phage was tolerant to high temperature, the temperature dependent reduction of phage titer was observed over the temperature ranging from 60 to 90°C. The influence of Ca^{2+} ion on phage propagation was also observed with the optimal concentration of Ca^{2+} ion of 20 mM. Phage ϕ RP359 is the first starter culture-infecting phage isolated from kem-buk-nud. Knowledge of its characteristics and infection mechanism might help to improve the starter culture dependent fermentation of kem-buk-nud.