

บทที่ 1

บทนำ

โนซิน (nisin) เป็นแบคทีเรียโอสินชนิดหนึ่ง สร้างจาก *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* มีฤทธิ์ยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ เช่น จุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียของอาหาร (food-spoilage microorganisms) และจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหาร (food pathogen) แม้ว่าแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (lactic acid bacteria; LAB) ชนิดอื่นก็สามารถสร้างแบคทีเรียโอสินได้ และแบคทีเรียโอสินแต่ละชนิดก็มีคุณสมบัติทางชีวเคมี และความสามารถในการยับยั้งหรือทำลายเชื้อจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน แต่ปัจจุบันมีเพียงโนซินเท่านั้นที่ได้รับการยอมรับจากทั้งยุโรป และอเมริกาว่าสามารถนำไปใช้เป็นสารถนอมอาหาร (food preservative) และถือว่าปลอดภัยในการบริโภค (generally recognized as safe; GRAS) โนซินสามารถทำลายเชื้อก่อโรคที่สำคัญได้หลายชนิด เช่น *Listeria monocytogenes*, *Clostridium botulinum* และ *Bacillus cereus* เป็นต้น โนซินนอกจากจะช่วยลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ก่อโรคในอาหารแล้ว ยังช่วยยืดอายุของอาหาร (shelf-life) ทำให้สามารถเก็บไว้ได้นานขึ้นด้วย ด้วยเหตุนี้ *Lactococcus lactis* RP359 ซึ่งแยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้านของทางภาคอีสานคือเค็มบักนัด และเป็นสายพันธุ์ที่สามารถสร้างโนซินได้ จึงมีศักยภาพที่จะนำไปใช้เป็นหัวเชื้อ (starter culture) ในการหมัก เพื่อให้ได้อาหารหมักที่มีคุณภาพดี ปลอดภัยและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น

การหมักอาหารสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ คือ (1) spontaneous fermentation คือการหมักที่เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติ การหมักแบบนี้ถือว่าเป็นวิธีการหมักแบบดั้งเดิมและยังคงใช้อยู่จนกระทั่งทุกวันนี้ โดยเฉพาะอย่างยิ่งการหมักที่ทำในครัวเรือนหรือระดับชุมชน ปัญหาของการหมักแบบ spontaneous fermentation คือความไม่แน่นอนของผลผลิต เช่น อาจเกิดความล้มเหลวของการหมัก ความไม่คงที่หรือไม่สม่ำเสมอของรสชาติ (taste) กลิ่น (smell) และเนื้อสัมผัส (texture) ของอาหาร และต้องอาศัยประสบการณ์และความชำนาญในการหมัก อีกทั้งยังไม่สามารถเพิ่มคุณค่าของผลผลิตได้ตามต้องการ ซึ่งเหล่านี้อาจมีผลต่อความนิยมของผู้บริโภคด้วย โดยเฉพาะกลุ่มผู้บริโภคที่ไม่คุ้นเคยกับอาหารหมักมักเกรงว่าจะไม่ถูกสุขลักษณะ (2) starter fermentation คือการหมักที่มีการเติมจุลินทรีย์บางชนิดลงไปเป็นเชื้อเริ่มต้นของการหมัก และเรียกเชื้อที่เติมลงไปนั้นว่า หัวเชื้อ (starter culture) ซึ่งไปทำหน้าที่ควบคุมกระบวนการหมักและผลผลิตให้มีคุณสมบัติเป็นไปตามที่ต้องการ คุณสมบัติหรือลักษณะของจุลินทรีย์ที่เป็นหัวเชื้อที่ดี ได้แก่ ช่วยลดระยะเวลาการหมักให้สั้นลง สามารถผลิตสารที่ให้กลิ่นหรือรสชาติที่ดี สามารถผลิตวิตามินบางชนิด หรือสามารถสร้างแบคทีเรียโอสินได้ เป็นต้น การหมักแบบนี้เป็นที่นิยมมากในการผลิตระดับอุตสาหกรรมหรือเพื่อการส่งออกโดยเฉพาะในประเทศที่พัฒนาแล้ว เพราะสามารถแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นจากการหมักแบบ spontaneous fermentation ได้ จึงช่วยลดการสูญเสียที่อาจเกิดจากความล้มเหลวของการหมัก ช่วยเพิ่มมูลค่าให้ผลผลิต และเพิ่มความปลอดภัยในการบริโภค อีกทั้งยังสามารถควบคุมผลผลิตแต่ละครั้งให้มีคุณภาพหรือมาตรฐานใกล้เคียงกันด้วย ดังนั้นการหมักแบบ starter fermentation จึงนับว่ามีบทบาทสำคัญที่จะช่วยพัฒนาอุตสาหกรรมหมักเพื่อให้ได้อาหารหมักที่มีคุณภาพดียิ่งขึ้น

ปัญหาหนึ่งที่พบในกระบวนการหมักแบบ starter fermentation คือ แบคทีเรียที่เป็นหัวเชื้อมักถูกทำลายโดยไวรัสหรือแบคทีเรียโอฟาจ (bacteriophage) ทำให้เกิดการตายของหัวเชื้อหรือมีจำนวนลดลงมากจนไม่สามารถควบคุมกระบวนการหมักให้ดำเนินต่อไปได้ หรือแม้ว่าการหมักจะสามารถดำเนินไปได้ แต่ก็ให้ผลผลิตที่ขาดคุณสมบัติตามต้องการเพราะหัวเชื้อได้ถูกทำลายไปหมดแล้ว ปัญหาดังกล่าวนี้นี้พบได้ใน

อาหารหมักหลายชนิด ได้แก่ การหมักแตงกวาดอง (fermented cucumber) โดยใช้ *Lactobacillus plantarum* เป็นหัวเชื้อ การหมักชีส (Swiss cheeses) โดยใช้ *Lactobacillus helveticus* เป็นหัวเชื้อ การหมักกะหล่ำปลีดอง (sauerkraut) โดยมีแลคติกแอซิดแบคทีเรียหลายชนิดร่วมกันเป็นหัวเชื้อ และการหมักยาคูลท์ (Yakult) โดยใช้ *Lactobacillus casei* strain Shirota เป็นหัวเชื้อ เป็นต้น

แนวทางหนึ่งที่จะช่วยป้องกันมิให้หัวเชื้อถูกทำลายโดยแบคทีเรียโอเฟจคือ การคัดเลือก (selection) หรือการใช้วิธีทางพันธุวิศวกรรม (genetic engineering) ในการปรับปรุงพันธุ์แบคทีเรียหัวเชื้อให้ได้สายพันธุ์ที่ต้านทานต่อแบคทีเรียโอเฟจ (bacteriophage resistance strain) ซึ่งจะช่วยให้หัวเชื้อดังกล่าวไม่ถูกทำลายโดยแบคทีเรียโอเฟจหลังจากที่เติมลงไปในถังหมักแล้ว อย่างไรก็ตามการปรับปรุงพันธุ์ของหัวเชื้อให้มีคุณสมบัติทนทานต่อแบคทีเรียโอเฟจจะต้องมีข้อมูลมากพอเกี่ยวกับแบคทีเรียโอเฟจที่จำเพาะต่อหัวเชื้อชนิดนั้น แต่เท่าที่ทราบในขณะนี้แทบจะไม่มีการศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียโอเฟจในอาหารหมักของไทยเลย ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับนิเวศวิทยาของแบคทีเรียโอเฟจ (bacteriophage ecology) เช่น แหล่งที่อยู่ (habitat) วงจรชีวิต (life-cycle) และวิธีการเพิ่มจำนวน (replication) เป็นต้น ตลอดจนการศึกษาความสามารถในการทำลายแลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดอื่น (host range) รูปร่าง (morphology) และโครงสร้างหรือส่วนประกอบของแบคทีเรียโอเฟจ และชนิดของสารพันธุกรรม (genome) ของแบคทีเรียโอเฟจ เหล่านี้ล้วนมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อการวิเคราะห์หาแนวทางในการป้องกันมิให้แบคทีเรียโอเฟจบุกรุก (infect) ทำลายหัวเชื้อ ในการศึกษาครั้งนี้จึงมุ่งเน้นที่จะตรวจหาและศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียโอเฟจจากอาหารหมักพื้นบ้านของไทยซึ่งสามารถทำลาย *L. lactis* RP359 ข้อมูลที่ได้จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการนำไปพัฒนาหัวเชื้อแบคทีเรียดังกล่าว ให้มีความต้านทานต่อแบคทีเรียโอเฟจ อีกทั้งยังน่าจะสมารถนำไปประยุกต์ใช้ได้กับหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดอื่นที่มีปัญหาในลักษณะเดียวกันนี้ได้อีกด้วย