บทที่ 1
บทนำ

กล้าเชื้อ (starter culture) เป็นจุลินทรีย์ที่เติมในผลิตภัณฑ์อาหารหมัก กล้าเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารหมักที่ดีควรมีคุณสมบัติหลายประการเช่น ความเป็นโพรไบโอติก มีกิจกรรมสลายโปรตีนและไขมัน การไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์กรดอะมิโนดีคาร์บอกซิเลส มีกิจกรรมของเอนไซม์คะตะเลส ไนเตรทรีดักเทส และไนไตรท์รีดักเทส โดยเฉพาะแบคทีเรียกรดแลคติกที่นิยมนำมาใช้เป็นกล้าเชื้อมีกลไกในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นด้วยการผลิตกรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไลโซไซม์ ไดอะซิติล และแบคเทอริโอซิน (Holzapfel. 1994)

แบคเทอริโอซินเป็นสารประกอบโปรตีนหรือเปปไทด์ที่สร้างจากแบคทีเรีย แบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลคติกมีคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการใช้ในการถนอมอาหารหลายประการเช่นเป็นสารที่มีความปลอดภัย (generally recognized as safe substances) ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ของสัตว์และพืชชั้นสูง (eukaryotic cells) ถูกทำให้เสียสภาพโดยเอนไซม์โพรติเอสในทางเดินอาหาร (digestive proteases) มีผลเล็กน้อยต่อจุลินทรีย์ประจำถิ่นในทางเดินอาหาร มักจะทนต่อพีเอชและความร้อน มีผลยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นซึ่งเจริญแข่งขันได้กว้างเช่น ยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกที่ก่อให้เกิดโรค เช่น *Listeria monocytogenese*, *Staphylococcus aureus*, *Clostridium perfringens* และ *Bacillus cereus* รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสีย สารแบคเทอริโอซินสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นโดยการทำให้เกิดรูที่เยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ที่ไวต่อแบคเทอริโอซิน เซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบมีเยื่อหุ้มชั้นนอก (outer membrane) ซึ่งจะช่วยป้องกันสารแบคเทอริโอซินและสารประกอบชนิดอื่นที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 600 ดาลตัน (Da) ไม่ให้เข้าถึงเยื่อหุ้มเซลล์ได้ (Ammor และ Mayo. 2007; Gálvez และคณะ, 2007) ดังนั้นจึงน่าสนใจที่จะผลิตแบคเทอริโอซินจากแบคทีเรียเหล่านี้เพื่อใช้เป็นสารถนอมอาหารชีวภาพทดแทนการใช้สารเคมีในการถนอมอาหารเพื่อการผลิตอาหารที่ปลอดภัย

แบคเทอริโอซินบางชนิดมีศักยภาพในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค ได้แก่ *Clostridium botulinum*, *Bacillus* spp., *Enterococcus faecalis*, *Listeria monocytogenes* และ *Staphylococcus aureus*. (Carolissen-Maclay และคณะ. 1996) มีการทดลองของนักวิจัยหลายท่านที่ทดลองเติมแบคเทอริโอซินลงไปในอาหารเพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคเช่น Vignolo และคณะ (1996) ที่เติม Lactocin 705 ซึ่งเป็นแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากเชื้อ *Lactobacillus casei* CRL 705 เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในเนื้อวัวที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ -30

องศาเซลเซียส โดยเติมสารแบคเทอริโอซินที่มีกิจกรรม 2 ระดับคือ 8,400 และ 16,800 AU ต่อมิลลิลิตร พบว่าแบคเทอริโอซินที่ทั้งสองระดับสามารถลดการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ได้อย่างน้อย 1 log cycle หรือการใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกร่วมกับแบคเทอริโอซินเช่นการทดลองของ Kingcha และคณะ (2012) ที่เติมแบคเทอริโอซินที่ผลิตจากเชื้อ *Pediococcus pentosaceus* BCC 772 ร่วมกับกล้าเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกในแหนมเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Listeria monocytogenes* ในผลิตภัณฑ์แหนมพบว่าจำนวนเชื้อ *List. monocytogenes* ในแหนมลดลงจาก 5.9-6.1 log CFUต่อกรัม เหลือ 2.5 log CFUต่อกรัมเมื่อหมักไปแล้ว 96 ชั่วโมง

ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะนำแบคเทอริโอซินมาใช้ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในเนื้อสัตว์ หรือการเติมกล้าเชื้อแบคทีเรียร่วมกับการเติมแบคเทอริโอซินเพื่อใช้ในการลดจำนวนหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ก่อโรคในแหนม พร้อมทั้งเปรียบเทียบคุณภาพทางจุลินทรีย์ เคมี และกายภาพกับแหนมที่ไม่เติมกล้าและไม่เติมแบคเทอริโอซิน

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. เพื่อศึกษากิจกรรมของแบคเทอริโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกและความคงตัวของแบคเทอริโอซินต่อพีเอช อุณหภูมิและเอนไซม์
2. เพื่อเปรียบเทียบวิธีการทำแบคเทอริโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกให้บริสุทธิ์
3. เพื่อศึกษาการผลิตแบคเทอริโอซินและการประยุกต์ใช้ในอาหาร