

สารยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลคติก

(Antimicrobial Compounds Produced by Lactic Acid Bacteria)

วรรณช ภัคดีเดชาเกียรติ*

สารยับยั้งการเจริญเติบโตจุลินทรีย์มีหลากหลายชนิด มีการเลือกนำมาใช้ในด้านต่างๆ เช่น สารปฏิชีวนะ (Antibiotic) ที่นำมาใช้ในการต่อต้าน ทำลายจุลินทรีย์ก่อโรคทางการแพทย์ สารสกัดจากธรรมชาติที่สามารถยับยั้ง หรือทำลายจุลินทรีย์ก่อโรค และสารกันเสียในอาหาร เป็นต้น ความสนใจด้านผลิตภัณฑ์ที่มีความปลอดภัยจากธรรมชาติ ทำให้มีการนำสารที่มีความปลอดภัยมาใช้มากขึ้น แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถพบได้ในอาหารหมักดอง เมื่อมีการเจริญเติบโตและเมตาบอลิซึม จะมีผลให้จุลินทรีย์อื่นไม่สามารถเจริญเติบโตซึ่งมีสารหลายชนิดที่แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถผลิตออกมายับยั้ง หรือทำลายจุลินทรีย์อื่น

แบคทีเรียกรดแลคติก(Lactic acid bacteria)

แบคทีเรียกรดแลคติก(Lactic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ รูปร่างกลม หรืออาจเป็นท่อน เมื่อหมักน้ำตาลแล้วได้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักที่สุดท้ายปัจจุบันมีการจำแนกแบคทีเรียกรดแลคติกและแบ่งออกเป็นสกุลต่างๆ ได้แก่ *Aerococcus*, *Carnobacterium*, *Enterococcus*, *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Streptococcus*, *Tetragenococcus*, *Vagococcus* และ *Weissella* มีการแบ่งแบคทีเรียกรดแลคติกออกได้เป็น 2 กลุ่ม ตามผลิตภัณฑ์จากการหมักกลูโคส ได้แก่

(1) Homofermentative lactic acid bacteria เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่เปลี่ยนน้ำตาลที่ใช้ได้ โดยเฉพาะกลูโคสเป็นกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลัก หรือเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายชนิดเดียว Homofermentative pathway โดยช่วงแรกของปฏิกิริยาไกลโคไลซิสเปลี่ยนกลูโคสเป็นไพรูเวต แล้วมีตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในวิถีคือไพรูเวตซึ่งถูกรีดิวซ์ไปเป็นกรดแลคติก ดังนั้น Homofermentative lactic acid bacteria จึงเป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่ใช้น้ำตาลแล้วเกิดกรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์เท่านั้น (Khalid, 2011 และ Ratanachaikunsopon and Phumkhachorn, 2010)

*อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

(2) Heterofermentative lactic acid bacteria เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่หมักกลูโคสแล้วสร้างกรดแลคติก คาร์บอนไดออกไซด์ และเอทานอลเป็นผลิตภัณฑ์โดยผ่าน Phosphoketolase pathway (Bamforth C.W., 2005)

ในกระบวนการเมแทบอลิซึมของแบคทีเรียกรดแลคติกบางสายพันธุ์ยังสามารถผลิต Antimicrobial compounds ซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้

สารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จากแบคทีเรียกรดแลคติก

การพัฒนาของอาหารหมักดองที่มากขึ้น ทำให้มีการศึกษาการผลิตและสารประกอบที่ได้จากกระบวนการหมักด้วย ช่วงปี 1099 มีผลิตภัณฑ์ทางการค้าด้านการผลิตชีส และนมหมักเพิ่มขึ้น (Feferet *et al.*, 1995 อ้างถึงใน Khalid, 2011) หัวเชื้อที่ใช้ในการหมักอาหารและเครื่องดื่ม สามารถแสดงกิจกรรมในการเป็นสารกันเสีย ซึ่งสารถูกผลิตมาในช่วงเซลล์เกิดกระบวนการเมแทบอลิซึม มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ ซึ่งกระบวนการเหล่านี้เกิดขึ้นในช่วงการหมัก (Caplice and Fitzgerald, 1999) สารยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (Antimicrobial compounds) ที่ผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลคติก ได้แก่

1. กรดอินทรีย์ (Organic acid)

สารอินทรีย์ที่แบคทีเรียกรดแลคติกผลิตขึ้นมีผลต่อการเป็น Antimicrobial ได้แก่ กรดแลคติก กรดอะซิติก และกรดโพรพิโอนิก ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ถูกสร้างขึ้น ทำให้สภาพมีความเป็นกรด สภาพแวดล้อมจึงไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อก่อโรค และจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุต่อการเน่าเสียของอาหาร

กรดออกฤทธิ์ในการเป็น Antimicrobial โดยมีผลต่อความสามารถในการซ่อมแซมเยื่อหุ้มเซลล์ รวมถึงยับยั้งการขนส่งสาร การลดลงของพีเอชนอกเซลล์ และยับยั้งเมแทบอลิซึม ซึ่งการแสดงผลเหล่านี้มีผลต่อแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ ยีสต์ และรา ปัจจุบันมีการใช้กรดโพรพิโอนิกที่ผลิตจาก Propionic acid bacteria เป็นผลิตภัณฑ์กันเสียจากสิ่งมีชีวิต (Biopreservative product) ที่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้หลายชนิดรวมถึงยีสต์ และรา โดย Propionic acid ที่ผลิตในเชิงการค้าปัจจุบัน ผลิตโดย *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* ที่นำมาใช้มากประมาณ 30 % ของอุตสาหกรรมชีสในสหรัฐอเมริกา (Caplice and Fitzgerald, 1999) กรดอะซิติกและกรดโพรพิโอนิกที่ผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลคติก มีผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ และทำให้ภายนอกเซลล์เป็นกรดและการเสียสภาพโปรตีน (Huang *et al.*, 1986) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์มากกว่ากรดแลคติก เนื่องจากมีค่า pKa มากกว่า (lactic acid 3.08, acetic acid 4.75 และ propionic acid 4.87) กรดอะซิติกสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตได้ดีกว่ากรดแลคติก และกรดซิตริก เช่น การยับยั้งการเจริญเติบโต *Listeria monocytogenes* (Ahamad

and Marth 1989) การยับยั้งการเจริญเติบโตและการเกิดสปอร์ของ *Bacillus cereus* (Wong and Chen, 1988)

2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide)

แบคทีเรียกรดแลคติกสามารถผลิตไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ได้ ในสภาวะที่มีออกซิเจนจากการทำงานของ Flavoprotein oxidases หรือ Nicotinamide adenine hydroxy dinucleotide (NADH) peroxidase ผลจากคุณสมบัติการยับยั้งการเจริญเติบโตของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Sulfhydryl groups ทำให้เกิดการเสียหายของเอนไซม์ และจากการเกิดเปอร์ออกซิเดชันโครงสร้างเยื่อหุ้มเซลล์ส่วนที่เป็นไขมัน (Lipid peroxidation) จึงมีผลให้การผ่านของสารของเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่มขึ้น (Kong and Davison, 1980) และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ยังเป็นสารตั้งต้นในการสร้างอนุมูลอิสระของการทำลายแบคทีเรีย (Bactericidal free radicals) อย่างเช่น Superoxide (O_2^-) และไฮดรอกซิล (OH) อนุมูลอิสระสามารถทำลาย DNA ได้ (Byczkowski and Gessner, 1988) มีการรายงานว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จาก *Lactobacillus* และ *Lactococcus* สามารถยับยั้ง *Staphylococcus aureus* และ *Pseudomonas* sp. และ psychotrophic microorganisms ในอาหารได้หลายชนิด (Davidson *et al.* 1983, Cords and Dychdala 1993)

3. คาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2)

การเกิด Heterofermentation ของแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถพบ CO_2 ได้ด้วย CO_2 มีบทบาทในการสร้างสภาวะไร้อากาศซึ่งมีผลต่อการยับยั้งเอนไซม์ในการเกิดปฏิกิริยา Decarboxylation และการสะสม CO_2 ในเยื่อหุ้มเซลล์ที่เป็น Lipid bilayer อาจเป็นสาเหตุให้คุณสมบัติการผ่านของสารที่เยื่อหุ้มเซลล์ผิดปกติด้วย (Eklund, 1984) โดย CO_2 มีประสิทธิภาพต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการเน่าเสียของอาหาร โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมลบที่อยู่ในอุณหภูมิปานกลาง แต่ทนต่ออุณหภูมิต่ำได้ (Psychrotrophic bacteria) (Farber 1991)

4. สารกลุ่มอะโรมาติก (Aroma components)

สารกลุ่มอะโรมาติกที่สร้างจากแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น ไดอะซีทิล (Diacetyl) และอะซีตัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) ซึ่งไดอะซีทิลผลิตจากแบคทีเรียกรดแลคติก เมื่อมีการหมักซิเตรต (Citrate fermentation) ผลของไดอะซีทิลในการเป็น Antimicrobial มีการยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแกรมลบได้ดีกว่าแบคทีเรียแกรมบวก (Jay, 1982) ไดอะซีทิลยังอาจจะแสดงการทำงานร่วมกับสารยับยั้งการเจริญเติบโตอื่น และร่วมกับระบบสารกันเสียในอาหารหมัก Acetaldehyde สร้างจาก *Lb. delbrueckii* sp. *Bulgaricus* โดยการทำงานของเอนไซม์ Threonine aldolase สลายพันธะใน Threonine ได้ Acetaldehyde และ Glycine เป็นผลิตภัณฑ์

5. กรดไขมัน (Fatty acid)

ภายใต้สภาวะที่กำหนด *Lactobacilli* และ *Lactococcus* บางสายพันธุ์แสดงคุณสมบัติในการสลายไขมัน (Lipolytic activities) อาจจะสามารถสร้างกรดไขมันได้ เช่น dry fermented sausage (Sanzet al., 1988) และ นมหมัก (Rao and Reddy 1984) กรดไขมันไม่อิ่มตัวมีอิทธิพลกับแบคทีเรียแกรมบวกและยับยั้งการเจริญเติบโตเชื้อรา (Antifungal activity) ได้ขึ้นอยู่กับความยาวของสายไฮโดรคาร์บอน ความเข้มข้น และพีเอชของอาหาร (Gould, 1991)

6. รูเทริน และสารโมเลกุลมวลต่ำ (Reuterin and other low-molecular-mass compounds)

Lb. reuteri ซึ่งเป็นกลุ่ม Heterofermentative สามารถสร้าง Reuterin อาศัยอยู่ในทางเดินกระเพาะอาหารของคนและสัตว์ การสร้าง Reuterin พบในระหว่างการเจริญในสภาวะไร้ออกซิเจน โดยมีเอนไซม์ Glycerol dehydratase เร่งการเปลี่ยน Glycerol เป็น Reuterin (Talarico et al., 1988) Reuterin มีกิจกรรมในการยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ได้หลายชนิดในกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวก แกรมลบ ยีสต์ รา และ โปรโตซัว จุลินทรีย์ที่มีผลให้อาหารเน่าเสียที่มีความอ่อนไหวต่อ Reuterin ได้แก่ *Salmonella*, *Shigella*, *Clostridium*, *Staphylococcus*, *Listeria*, *Candida*, และ *Trypanosom* (Axelsson et al., 1989)

กระบวนการเมตาบอลิซึม และภายใต้สภาวะควบคุมในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียกรดแลคติก มีการสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตจุลินทรีย์อื่น (Antimicrobial activity) ได้ โดยพบการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคทางเดินอาหาร และจุลินทรีย์สาเหตุการเน่าเสียของอาหารด้วย จึงเป็นประโยชน์ต่อการนำมาใช้เป็นสารกันเสียในผลิตภัณฑ์อาหาร และการใช้ประโยชน์ในด้านอื่นๆ เช่น การแพทย์ ผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าอื่นๆ ได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

- Ahmad N., and Marth E.H. (1989). Behaviour of *Listeria monocytogenes* at 7, 13, 21 and 35 degree in tryptose broth acidified with acetic, citric or lactic acid. ***Journal of Food Protection***.52, 688-695.
- Axelsson L., Chung T.C., Dobrogosz W.J., and Lindgren S.E. (1989). Production of a broad spectrum antimicrobial substance by *Lactobacillus reuteri*. ***Microbial Ecology in Health Disease***.2, 131-136.
- Bamforth W.C., (2005). ***Food, Fermentation and Micro-organism***. Blackwell Science Ltd. Blackwell Publishing company. UK.
- Byczkowski J. and Gessner T. (1988). Biological role of superoxide ion-radical. ***International Journal of Biochemistry***. 20, 569-580.
- Caplice E. and Fitzgerald. (1999). Food fermentation: Role of microorganisms in food production and preservation. ***International Journal of Food Microbiology***. 50. 131-149.
- Cords, B.R., and Dychdala, G.R. 1993. ***Sanitizers: Halogens, surface-active agents, and peroxides***. In: ***Antimicrobials in Foods***, 2nd edition. eds. Davidson, P.M. and Branen, A.L. pp.469-537. Marcel Dekker Inc., New York. อ้างอิงใน YANGZ. (2000). Antimicrobial Compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: structures and properties. ***Academic Dissertation***. Department of Food Technology, University of Helsinki, Finland.
- Davidson P.M., Post L.S., Braner A.L., and McCurdy A.R. (1983). ***Naturally occurring and miscellaneous food antimicrobials***. In: ***Antimicrobials in Foods***. eds. Davidson, P.M. and Branen, A.L. pp. 385-392. Marcel Dekker Inc., New York. อ้างอิงใน YANGZ. (2000). Antimicrobial Compounds and extracellular polysaccharides produced by lactic acid bacteria: structures and properties. ***Academic Dissertation***. Department of Food Technology, University of Helsinki, Finland.
- Eklund T. (1984). The effect of carbon dioxide on bacterial growth and on uptake processes in the bacterial membrane vesicles. ***International Journal of Food Microbiology***. 1, 179-185.