แบคเทอริโอซิน (Bacteriocins)

วรนุช ภักดีเดชาเกียรติ*

การใช้สารปฏิชีวนะ (Antibiotic) เป็น therapeutic and prophylactic treatments เพื่อควบคุมการติดเชื้อแบคทีเรียมานานกว่า 50 ปีแล้ว สารปฏิชีวนะต่างๆ ถูกป้อน sub-therapeutic levels ในฟาร์มปศุสัตว์ สัตว์ปีก และสุกรเพื่อเพิ่มผลิตภัณฑ์และประสิทธิภาพการกินของสัตว์เลี้ยง (McDermott *et al.,* 2002) ปรากฏการณ์ความต้านทานสารปฏิชีวนะในแบคทีเรียหลายชนิดมีผลโดยตรงกับสัตว์และสาธารณสุขทำให้มีการลดการใช้สารปฏิชีวนะในการผลิตสัตว์ การลดการใช้สารปฏิชีวนะในฟาร์มปศุสัตว์เกิดขึ้นได้ถ้ามีสารต่อต้านจุลินทรีย์อื่นเป็นทางเลือก ในระหว่างนี้มีการค้นพบและมีการใช้ภูมิคุ้มกันชนิดต่างๆ (Immunization) การปรับสูตรในมื้ออาหาร (Diet modification) การสุขาภิบาล (Sanitation), อาหารเสริม (Feed additives) และ แบคทีเรียโปร-ไบโอติก (Probiotic bacteria) (Callaway *et al.*, 2004 และ Gillor *et al.*, 2004)

ความหลากหลายของแบคทีเรียโปรไบโอติกถูกนำมาศึกษาตลอดในฟาร์มปศุสัตว์เกี่ยวกับการควบคุมสัตว์ และแบคทีเรียที่เป็นเชื้อก่อโรคที่มากับอาหาร แต่ประโยชน์ที่หลากหลายนั้นยังไม่เป็นที่เข้าใจอย่างแน่ชัด (Fuller, 1999) กลไกการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคของโปรไบโอติกด้วยการผลิตแบคเทอริโอซิน (Bacteriocins) การใช้แบคเทอริโอซินอย่างเช่นโคลิซิน (Colicins) ในฟาร์มปศุสัตว์ ต่อมามีรายงานการใช้แบคเทอริโอซินในมนุษย์เพื่อควบคุมโรคท้องร่วงในช่วงปี 1999

แบคเทอริโอซิน (Bacteriocins) เป็นเพปไทด์ หรือสารประกอบโปรตีนที่สังเคราะห์จากไรโบโซม มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่น แบคเทอริโอซินผลิตโดยแบคทีเรียและมีคุณสมบัติของสารปฏิชีวนะ แต่แบคเทอริโอซินไม่ได้อยู่ในกลุ่มสารปฏิชีวนะ (Cleveland *et al.*, 2001) การค้นพบครั้งแรกโดย Gratia ในปี 1925 principe V สร้างขึ้นโดย *Escherichia coli* ชนิดหนึ่งที่มีฤทธิ์ต่อต้านกับ *E. coli* อีกชนิดหนึ่ง โดย Gratia and Fredericq (1946) เรียกว่าโคลิซิน (Colicins) ส่วนคำว่าแบคเทอริโอซินถูกใช้โดย Jacob *et al.* (1953) เป็นความจำเพาะมากขึ้นเกี่ยวกับโปรตีนที่ยับยั้งแบคทีเรีย

ชนิดของแบคเทอริโอซิน (Classification of Bacteriocins)

แบคเทอริโอซินเป็นโปรตีนที่มีคุณสมบัติทำลายแบคทีเรียอื่นโดยการสังเคราะห์ทาง

---

*อาจารย์ประจำสาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

ชีวภาพ การทำงานที่จำกัดและการดูดซับต่อหน่วยรับบนส่วนห่อหุ้มเซลล์ที่จำเพาะ (Jacob *et al.*, 1953) เพปไทด์ที่ทำลายแบคทีเรีย (Bacteriocidal peptides) หรือโปรตีนที่ผลิตโดยแบคทีเรียมักจะหมายถึงแบคเทอริโอซิน โดยปกติการศึกษาลักษณะ proteinaceous เพื่อจำแนกชนิดแบคเทอริโอซิน ด้วยการศึกษาความไวต่อเอนไซม์โปรติโอไลติก เช่น ทริปซิน (Trypsin), อัลฟ่าไคโมทริปซิน (α-chymotrypsin) และเพปซิน (Pepsin)

ส่วนมากแบคเทอริโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติก (Lactic acid bacteria) เป็นประจุบวก (Cationic) ไฮโดรโฟบิก (Hydrophobic) หรือ แอมฟิฟิลิค (Amphiphilic) ประกอบด้วยกรดอะมิโน 20 ถึง 60 ต่อกัน (Nes และ Holo, 2000)

1. การแบ่งชนิดแบคเทอริโอซิน ตามความสามารถในการยับยั้ง ได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ (Klaenhammer ;1988)

1.1 แบคเทอริโอซินที่ยับยั้งเชื้อได้น้อยชนิด (Narrow inhibition spectrum) เป็นแบคเทอริโอซินที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้เฉพาะในจีนัสเดียวกัน เช่นแบคเทอริโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติดซึ่งมักจะแสดงคุณสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ได้ในช่วงแคบหรือน้อยชนิด (Jack *et al*., 1995) แบคเทอริโอซินจาก *Lactobacillus helveticus* ที่สามารถยับยั้งการเจริญของ *Lactobacillus helveticus* ในสายพันธุ์เดียวกันได้

1.2 แบคเทอริโอซินที่มีผลยับยั้งในช่วงกว้าง (Broad inhibition spectrum) เป็นแบคเทอริโอซินที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อได้กว้าง หรือหลายชนิด *Bacillus subtilis* LFB112 ซึ่งแยกได้จากสมุนไพรจีน มีผลต่อการยับยั้งทั้งแบคทีเรียแกรมบวกและแกรมลบ รวมถึงแบคทีเรียที่พบการก่อโรคในสัตว์ ได้แก่ *Escherichia coli*, *Salmonella pullorum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pasteurella multocida*, *Clostridium perfringens*, *Micrococcus luteus*, *Streptococcus bovis* และ *Staphylococcus aureus* (Xie Jianhua *et al*., 2009)

2. การแบ่งชนิดแบคเทอริโอซิน ตามโครงสร้าง มวลโมเลกุล และการทนความร้อน ได้เป็น 3 กลุ่ม (Klaenhammer ;1993) ได้แก่

2.1 Lantibiotic

แบคเทอริโอซินกลุ่มนี้เป็นเพปไทด์ที่มีมวลโมเลกุลขนาดเล็ก (มวลโมเลกุลน้อยกว่า 5 kDa) มักประกอบด้วยกรดอะมิโน Lanthionine (Lan), α-methyllanthionine (MeLan), Dehydroalanine และ Dehydrobutyrine แบคเทอริโอซินชนิดนี้ถูกแบ่งเป็น Class I ซึ่งจำแนกเป็น Type A และ Type B ตามโครงสร้าง และกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ (Moll *et al.* 1999; van Kraaij *et al.,* 1999; Guder *et al.,* 2000)

2.1.1 Type A เป็นเพปไทด์สายยาว เป็นประจุบวก การทำงานโดยสร้างรูบนเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย ส่วน

2.1.2 Type B เป็นโปรตีนก้อนกลมขนาดเล็ก และประจุลบ การต่อต้านจุลินทรีย์ด้วยการยับยั้งอย่างเอนไซม์จำเพาะ

2.2 Non-Lantibiotic ขนาดเล็ก

แบคเทอริโอซินกลุ่มนี้ไม่มี Lanthionine ในสายเพปไทด์ มีขนาดน้อยกว่า 10 kDa ทนความร้อน เช่น Lactacin F จากเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* 1108 ทนอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ได้นาน 15 นาที หรือ Lactacin B จาก *Lactobacillus acidophilus* N2 ที่ทนสามารถทนอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ได้นาน 15 นาที

2.3 Non-Lactibiotic ขนาดใหญ่

แบคเทอริโอซินกลุ่มนี้ไม่มี Lanthionine ในสายเพปไทด์ มีขนาดโมเลกุลใหญ่กว่า 30 kDa ไม่มีอุณหภูมิที่ทนได้แน่นอน จึงมักได้รับความสนใจในการใช้ในอาหารน้อย

2.4 Complex bacteriocin

แบคเทอริโอซินกลุ่มนี้มีสารประกอบอื่น อาจเป็นคาร์โบไฮเดรต หรือไขมัน เช่น Lantacin 27 ที่ผลิตจาก Lactobacilus helveticus LP27 ที่เป็นแบคเทอริโอซินประเภทไกลโคโปรตีน (Glacoprotein)

กลไกการทำงานของแบคเทอริโอซิน

1. ผลต่อเยื่อหุ้มเซลล์ โดยเยื่อหุ้มเซลล์ที่เป็นประจุลบไขมันเป็น Primary receptor สำหรับแบคเทอริโอซินของแบคทีเรียกรดแลคติคในการเริ่มสร้างรูบนเยื่อหุ้มเซลล์ (Abee 1995; Moll *et al* .,1999) การเหนี่ยวนำ และความคงตัวของรูถูกเหนี่ยวนำโดยแลนติไบติก (Lantibiotic) อาจมากขึ้นโดยการโมเลกุลที่มาจับ ในกรณีแบคเทอริโอซิน ClassII ตัวรับ (Receptors) มีเป้าหมายจำเพาะบนเยื่อหุ้มเซลล์ (Venema *et al.,* 1995b; 1995c) แบคเทอริโอซินอาจเข้าไปยับยั้งการสร้าง Peptidoglycan ที่เป็นโครงสร้างบนผนังเซลล์

2. ยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิก แบคเทอริโอซินบางชนิดยับยั้งการสร้างกรดนิวคลีอิกที่เป็นส่วนประกอบในสารพันธุกรรม ใน DNA และ RNA ซึ่งสำคัญในการแบ่งเซลล์ การสังเคราะห์ DNA ที่เป็นสารพันธุกรรม ส่วน RNA จะถูกนำไปสร้างกรดอะมิโนที่เป็นส่วนประกอบในโครงสร้างโปรตีน

3. รบกวนกระบวนการเมทาบอลิซึม (Metabolism) โดยแบคเทอริโอซินบางชนิดสามารถยับยั้งการเมทาบอลิซึมได้ แต่อัตราเมทาบอลิซึมสามารถกลับเข้าปกติได้อีก เมื่อปริมาณแบคเทอริโอซินลดลง

การนำแบคเทอริโอซินมาใช้เป็นสารถนอมอาหาร

แบคเทอริโอซินที่ผลิตโดยแบคทีเรียกรดแลคติคแสดงคุณสมบัติที่ดีหลายประการที่เหมาะกับการถนอมอาหาร ได้แก่ (1) ได้รับการยอมรับในการเป็นสารรักษาสภาพอาหาร (2) ไม่ทำงานและไม่เป็นพิษต่อเซลล์ที่เป็นยูคาริโอต (3) มีสภาพการไม่ทำงานโดยเอนไซม์โพรติเอส (Protease) คือมีประสิทธิภาพเล็กน้อยต่อจุลินทรีย์ในลำไส้ (4) ทนต่อค่าพีเอช และความร้อน (5) ออกฤทธิ์สัมพันธ์กับการยับยั้งเชื้อได้หลายชนิด จึงช่วยต่อต้านเชื้อการก่อโรคในอาหาร และแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียได้หลายชนิด (6) แสดงกิจกรรมของการทำลายแบคทีเรีย โดยส่วนใหญ่จะออกฤทธิ์บนเยื่อหุ้มเซลล์ของแบคทีเรีย และ(7) ลักษณะเฉพาะทางพันธุกรรมปกติจะอยู่บนพลาสมิด (Plasmid) ทำให้ง่ายในการจัดการทางพันธุกรรม การตัดแต่งสารพันธุกรรม

อาหารสามารถเสริมด้วยแบคเทอริโอซินที่เตรียมไว้จากภายนอกได้ หรือโดยการใส่เชื้อที่ผลิตแบคเทอริโอซินภายใต้สภาวะที่เชื้อนั้นสามารถผลิตแบคเทอริโอซินได้ (Schillinger *et al*., 1996; Stiles, 1996) สำหรับกรณีแรกสามารถเตรียมแบคเทอริโอซินโดยการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผลิตแบคเทอริซินด้วยการหมักในถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Fermenter) ซึ่งสามารถติดตาม เก็บเกี่ยว ทำผลิตภัณฑ์ให้บริสุทธิ์ หรือการทำให้เข้มข้นขึ้น

สำหรับการผลิตแบคเทอริโอซินภายในระบบ (In situ) มีข้อได้เปรียบหลายประการเมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตภายนอกระบบ (Ex situ)ได้แก่ด้านต้นทุนการใช้สารถนอมอาหารที่เป็นสารชีวภาพ โดยเฉพาะการพัฒนาอาหารท้องถิ่นให้เป็นที่ยอมรับในด้านความปลอดภัยทางอาหาร (Holzapfel, 2002).

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพของแบคเทอริโอซินในอาหาร

แบคเทอริโอซินในอาหารมีประสิทธิภาพในการทำงานมักจะต่ำลงเมื่อเวลาผ่านไป ในบางกรณีต้องใช้ความเข้มข้นอย่างน้อย 10 เท่า เติมลงในอาหารจึงมีฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้ออื่น ซึ่งประสิทธิภาพของแบคเทอริโอซินในอาหารจะดีหรือไม่ขึ้นกับปัจจัยในอาหาร ที่มีปฏิสัมพันธ์เกี่ยวกับส่วนประกอบในอาหาร การยับยั้งการทำงานของแบคเทอริโอซิน การกระจายตัวโมเลกุลแบคเทอริโอซินในอาหาร ตัวอย่างเช่นการใช้ไนซิน (Nisin) ในผลิตภัณฑ์เนื้อ มีข้อจำกัดจากส่วนประกอบอิมัลซิฟายเออร์ที่เป็นฟอสโฟลิพิด (Phospholipids emulsifiers) และส่วนประกอบ

อื่นๆ ในอาหาร รวมถึงการละลายได้น้อยที่ pH มากกว่า 6 และเมื่ออยู่ในรูป Nisinglutathione จะทำงานได้น้อยลง

ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการทำงานของแบคเทอริโอซิน ที่เกี่ยวเนื่องจากอาหาร มีดังนี้

– กระบวนการผลิตอาหาร
– อุณหภูมิที่เก็บอาหาร
– พีเอชอาหาร และแบคเทอริโอซินยังมีผลกับการเปลี่ยนแปลงพีเอช
– การไม่ทำงานของแบคเทอริโอซินเนื่องจากเอนไซม์ในอาหาร
– ส่วนผสมในอาหาร
– ส่วนประกอบในอาหารกับการดูดซับแบคเทอริโอซิน
– การละลายต่ำ และการกระจายของแบคเทอริโอซินไม่ทั่วถึงในอาหาร
– ความจำกัดในความคตัวของแบคเทอริโอซินระหว่างวางอาหารจำหน่าย

แบคเทอริโอซินเป็นสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น โดยส่วนใหญ่แบคทีเรียในอาหารหมักดองสามารถผลิตแบคเทอริโอซินได้ ซึ่งการเติมแบคเทอริโอซินในอาหารเพื่อเป็นสารถนอมอาหาร หรืออาหารหมักสามารถเติมแบคทีเรียที่ผลิตแบคเทอริโอซินได้ เพื่อพัฒนาอาหารในด้านความปลอดภัยอาหาร

เอกสารอ้างอิง

Callaway T.R., Anderson R.C., Edrington T.S., Genovese K.J., Harvey R.B., Poole T.L., and Nisbet D.J. (2004). Recent pre-harvest supplementation strategies to reduce carriage and shedding of zoonotic enteric bacterial pathogens in food animals. ***Anim. Health Res. Rev***. 5, 35–47.

Cleveland J., Montville T.J., Nes I.F., Chikindas M.L. (2001). Bacteriocins: Safe, natural antimicrobials for food preservation. ***Int J Food Microbiol.*** 71:1-20.

Fuller, R. (1999). Probiotics for farm animals. In Probiotics: A Critical Review, G.W. Tannock, ed. (Wymondham, UK, Horizon Scientific Press).

Gillor O., Kirkup B.C., and Riley M.A. (2004). Colicins and microcins: the next generation of antimicrobials. ***Adv. Appl. Microbiol***. 54, 129–146.

Jack R.W., Tagg J.R., Ray B. (1995). Bacteriocins of gram-positive bacteria. ***Microbiol. Rev***. 59: 171-200

Jacob F., Lwoff A., Siminovitch L., and Wallman E. (1953). Definition de quelques termes relatifs a la Pysogenie. ***Ann Inst Pasteur Paris.*** 84:222-4.

Xie J, Zhang R., Shang C., and Guo Y. (2009). Isolation and characterization of a bacteriocin produced by an isolated *Bacillus subtilis* LFB112 that exhibits antimicrobial activity against domestic animal pathogens. ***African Journal of Biotechnology***. 8 (20).

Klaenhammer T.R. (1993). Genetics of bacteriocins produced by lactic acid bacteria. ***FEMS Microbiol Rev***. 12:39-85.

McDermott P.F., Zhao S., Wagner D.D., Simjee S., Walker R. D., and White D.G. (2002). The food safety perspective of antibiotic resistance. ***Anim. Biotechnol***. 13, 71–84.

Nes I.F., Diep D.B., Havarstein L.S., Brurberg M.B., Eijsink V., and Holo H. (1996). Biosynthesis of bacteriocins in lactic acid bacteria. ***Antonie van Leeuwenhoek***. 70:113-28.

Nes I.F., and Holo H. (2000). Class II antimicrobial peptides from lactic acid bacteria. ***Biopolymers***. 55:50-61.