

นางสาวสกุติ เต็งแสงทอง : คุณสมบัติการยับยั้งมะเร็งของแลคโตบาซิลลัสซัพสปีชีร์ซึ่ง
แยกได้จากกากมันสำปะหลัง (ANTI- CANCER PROPERTIES OF *LACTOBACILLUS* SP.
ISOLATED FROM CASSAVA PULP) อาจารย์ที่ปรึกษา :
ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. รัชฎาพร อุ่นศิริไทย์, 133 หน้า.

วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้ เพื่อศึกษาคุณสมบัติการยึดเกาะผนังลำไส้ใหญ่และการยับยั้ง
มะเร็งลำไส้ใหญ่ Caco-2 ของ *Lactobacillus* sp. 21C2-10 ซึ่งแยกได้จากกากมันสำปะหลัง และศึกษา
ผลของการห่อหุ้ม *Lactobacillus* sp. 21C2-10 ต่อคุณสมบัติทางเคมีกายภาพ จุลินทรีย์ ประสาท
สัมผัสและความคงตัวของกระบวนการย่อยของไอศกรีม จากผลการศึกษาพบว่า *Lactobacillus* sp.
21C2-10 แสดงความสามารถในการเกาะติดผนังลำไส้ใหญ่ได้ดี อยู่ที่ $14.44 \pm 0.58\%$ ยิ่งไปกว่านั้นสาร
เมทาบอลิท์ที่ *Lactobacillus* sp. 21C2-10 สร้างขึ้นเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Caco-2 จากการทดสอบ
ด้วยวิธี MTT assay โดยพบว่าความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Caco-2 ที่ก่อให้เกิดการตายนั้น เป็นผลมา
จากการเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส โดยยืนยันจากผลการทดสอบด้วยวิธี Tali
imaged base cytometry และการย้อมสีเซลล์ด้วยวิธี DAPI staining ยิ่งไปกว่านั้นจากการตรวจสอบ
การแสดงออกของยีนด้วยวิธี RT-PCR พบว่าการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส เกิดจาก
การเพิ่มการแสดงออกของยีน *BAX*, *P53*, *Caspase-3*, *Caspase-8* และ *Caspase-9* และยับยั้งการ
แสดงออกของยีน *BCL-2* ของเซลล์ไลน์ Caco-2 แสดงให้เห็นว่า *Lactobacillus* sp. 21C2-10 มี
คุณสมบัติในการยึดเกาะเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ และผลิตสารเมตา-โบไลต์ที่สามารถยับยั้งการเจริญ
ของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ผ่านกลไกการเหนี่ยวนำให้เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส จึงเหมาะสม
เป็นอย่างยิ่งที่จะนำมาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ

จากผลการศึกษาลักษณะของไอศกรีมที่ประกอบด้วย *Lactobacillus* sp. 21C2-10 ในรูป
เซลล์อิสระ และเซลล์ที่ได้รับการห่อหุ้มระหว่างการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็งที่อุณหภูมิ -20 องศา
เซลเซียส เป็นเวลา 180 วัน โดยทำการห่อหุ้ม *Lactobacillus* sp. 21C-10 ด้วยเทคนิคอิมัลชัน
ใช้มอลโตเดกซ์ตรินและเจลาตินเป็นวัสดุที่ใช้ในการห่อหุ้มเซลล์ อัตราการรอดชีวิต (%) ของ
Lactobacillus sp. 21C2-10 หลังผ่านระบบทางเดินอาหารจำลองของไอศกรีมที่ประกอบด้วย
Lactobacillus sp. 21C2-10 ในรูปเซลล์อิสระ และเซลล์ที่ได้รับการห่อหุ้มทำการตรวจสอบในวันที่
180 ของการเก็บรักษา การประเมินทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมทำการตรวจสอบวันที่ 1 และ
180 ของการเก็บรักษา จากผลการศึกษาพบว่าไอศกรีมที่ประกอบด้วยเซลล์ที่ได้รับการห่อหุ้ม แสดง
อัตราการรอดชีวิต (%) และค่าพีเอชสูงกว่าไอศกรีมที่ประกอบด้วยเซลล์อิสระอย่างมีนัยสำคัญทาง
สถิติ ($p < 0.05$) หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 180 วัน และไอศกรีมที่ประกอบด้วยเซลล์ที่ได้รับการ
ห่อหุ้มมีปริมาณกรดที่ไทเทรตได้ (%) ต่ำกว่าไอศกรีมที่ประกอบด้วยเซลล์อิสระอย่างมีนัยสำคัญทาง

สถิติ ($p < 0.05$) หลังจากเก็บรักษาเป็นเวลา 180 วัน ยิ่งไปกว่านั้นเซลล์ที่ได้รับการห่อหุ้มไม่มีผลต่อคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และหลังจากผ่านสถานะเลียนแบบกระเพาะอาหารเป็นเวลา 1 ชั่วโมง และลำไส้เล็กเป็นเวลา 4 ชั่วโมง พบว่าไอศกรีมที่ประกอบด้วยเซลล์ที่ได้รับการห่อหุ้ม มีอัตราการรอดชีวิต (%) ของ *Lactobacillus* sp. 21C2-10 สูงกว่าไอศกรีมที่ประกอบด้วยเซลล์อิสระอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า *Lactobacillus* sp. 21C2-10 มีคุณสมบัติในการยึดเกาะเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ผ่านกลไกการเหนี่ยวนำให้เซลล์เกิดการตายแบบอะพอพโทซิส ยิ่งไปกว่านั้นเมื่อทำการห่อหุ้ม *Lactobacillus* sp. 21C2-10 สามารถปกป้องเซลล์โพรไบโอติกในผลิตภัณฑ์ไอศกรีม ระหว่างการเก็บรักษาด้วยการแช่แข็ง, หลังผ่านระบบทางเดินอาหารจำลอง ส่งผลให้ *Lactobacillus* sp. 21C2-10 มีอัตราการรอดชีวิตในปริมาณสูงที่สามารถเพิ่มโอกาสในการแสดงคุณสมบัติการยึดเกาะ และการเหนี่ยวนำให้เกิดการยับยั้งเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ได้เพิ่มขึ้น



สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร

ปีการศึกษา 2560

ลายมือชื่อนักศึกษา สจตต์ เล็งแสงทอง

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อ. อ. อ.

SADUDEE SENGAENGTHONG : ANTI-CANCER PROPERTIES OF
LACTOBACILLUS SP. ISOLATED FROM CASSAVA PULP.

THESIS ADVISOR : ASST. PROF. RATCHADAPORN OONSIVILAI,
Ph. D, 138 PP.

PROBIOTIC/CASSAVA PULP/ANTI-CANCER PROPERTIES

The objectives of this study were to investigate the cell adhesion and anti-cancer properties of *Lactobacillus* sp. 21C2-10 isolated from cassava pulp on Caco-2 cells. In addition, the effects of microencapsulation of *Lactobacillus* sp. 21C2-10 on the physicochemical, microbial, sensory and digestive stability properties of ice cream were studied. The results showed that *Lactobacillus* sp. 21C2-10 strengthened adherence to Caco-2 cells of $14.44 \pm 0.58\%$. Moreover, the secreted metabolites from *Lactobacillus* sp. 21C2-10 (SML) toxic to Caco-2 cells were analyzed through an MTT assay. The results revealed that cytotoxicity caused Caco-2 cells to die as a result of the induction of apoptosis which was confirmed by the Tali image based on the cytometry and DAPI staining tests. Moreover, the results of gene expression from RT-PCR assay showed significant effects on apoptosis by modulating an increased expression of *BAX*, *P53*, *Caspase-3*, *Caspase-8* and *Caspase-9*, and by inhibiting the expression of *BCL-2* on Caco-2 cell lines. These results confirmed that *Lactobacillus* sp. 21C2-10 had strengthened cell adhesion properties and that SML were able to show anti-cancer properties through the induction of the apoptosis pathway, indicating that this is an appropriate ingredient to use for functional food products.

The characteristics of ice cream containing free and microencapsulated *Lactobacillus* sp. 21C2-10 during frozen storage (-20⁰C) was evaluated for 180 days. *Lactobacillus* sp. 21C2-10 was microencapsulated by an emulsion technique using maltodextrin and gelatin as wall materials. The survival rate (%) of *Lactobacillus* sp. 21C2-10 after exposure to the simulated gastro-intestinal condition of ice cream containing microencapsulated cells and free cells were evaluated after 180 days of frozen storage. Sensory evaluation of the ice cream was conducted after 1 day and 180 days of frozen storage. Ice cream containing microencapsulated cells showed a significantly ($p<0.05$) higher survival rate, lower acidity, and higher pH value compared to ice cream containing free cells after being stored for 180 days. The addition of microencapsulated cells had no significant ($p>0.05$) effect on the sensory properties of the ice cream. After exposure to simulated gastro-intestinal juices for 5 hours, the ice cream containing microencapsulated cells showed a significantly ($p<0.05$) higher survival rate compared to the ice cream containing free cells. These results indicate that *Lactobacillus* sp. 21C2-10 shows adhesion properties and an increase in anti-cancer properties as a result of apoptosis induction. Moreover, microencapsulation of *Lactobacillus* sp. 21C2-10 protected the microorganisms during frozen storage and after passage through simulated gastro-intestinal conditions delivered a high number of *Lactobacillus* sp.21C2-10 there was an increase in opportunities for adhesion properties and anti-cancer properties via the induction of the apoptosis pathway of the Caco-2 cells.

School of Food Technology

Academic Year 2017

Student's Signature Sadudee Sengsengthong

Advisor's Signature Ratchadaporn O.