**ชื่อเรื่อง** การคัดเลือกและศึกษาคุณสมบัติของโปรไบโอติกแบคทีเรียที่มี

ประสิทธิภาพยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำไส้

ชื่อผู้เขียน นางสาวผ่องพรรณ บุญประสม

ชื่อปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

ประธานกรรมการที่ปรึกษา อาจารย์ คร.มงคล ถิรบุญยานนท์

## บทคัดย่อ

การศึกษานี้ได้ทำการคัดเลือกแบคทีเรียกรดแลกติกจากมูลเด็กทารกและน้ำนมหมัก เพื่อทคสอบคุณสมบัติของการเป็นโปรไบโอติกแบคทีเรีย ได้แก่ ความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อ โรค ความสามารถในการทนต่อสภาพความเป็นกรค pH 2.5 ความสามารถในการทนต่อเกลือน้ำคื 0.3 เปอร์เซ็นต์ กิจกรรมการข่อยสลายเม็คเลือดแคง คุณสมบัติการต้านยาปฏิชีวนะ ผลจากการศึกษา พบว่ามีแบคทีเรีย 20 ใอโซเลต มีคุณสมบัติเป็นโปรใบโอติก เมื่อนำแบคทีเรียดังกล่าวมา ทำการศึกษาประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำใส้โคยวิธี MTT และเลือกแบคทีเรีย ที่มีประสิทธิภาพที่ดีที่สุด 7 ใอโซเลตคือ MC31, MC52, MC53, MC101, RM11, RM12 และ RM28 มาทำการศึกษาประสิทธิภาพของการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำใส้โดยวิธี Trypan Blue exclusion พบว่าเมื่อบ่ม cultured medium ของแบคทีเรียร่วมกับเซลล์มะเร็งลำไส้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบคทีเรียทั้ง 7 ใอโซเลต มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำใส้อยู่ระหว่าง 23-39 เปอร์เซ็นต์ โดยแบคทีเรียไอโซเลต MC53 มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็ง สูงสุด และเมื่อบ่มตัวเซลล์ของแบคทีเรียร่วมกับเซลล์มะเร็งลำใส้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า แบคทีเรียทั้ง 7 ใอโซเลต มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งลำใส้อยู่ระหว่าง 21-34 เปอร์เซ็นต์ โดยแบคทีเรียไอโซเลต MC31 มีประสิทธิภาพการยับยั้งเซลล์มะเร็งสูงสุด และเมื่อบ่ม ต่อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบว่าแบคทีเรียทั้ง 7 ใอโซเลต มีประสิทธิภาพการยับยั้งการเจริญของ เซลล์มะเร็งลำใส้อยู่ระหว่าง 24-45 เปอร์เซ็นต์ โดยแบคทีเรียไอโซเลต MC31 มีประสิทธิภาพการ ยับยั้งเซลล์มะเร็งสูงสุด นอกจากนั้นยังพบว่าแบคทีเรียทั้ง 7 ใอโซเลตนี้ยังมีประสิทธิภาพการยึด เกาะกับเซลล์ Caco-2 ใค้คีอีกค้วย จากการจัดจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียโดยวิธีการหาลำดับเบส ดีเอ็นเอส่วน 16S rRNA พบว่า MC31 คือ Pediococcus pentosaceus MC52 คือ Lactobacillus salivarius MC53 คือ Lactobacillus salivarius MC101 คือ Enterococcus faecium RM11 คือ Enterococcus faecium RM12 คือ Lactobacillus fermentum และ RM28 คือ Lactobacillus fermentum

โปรไบโอติกแบคทีเรียที่คัดเลือกได้ทั้ง 7 ไอโซเลตนี้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการ ป้องกันหรือรักษาโรคมะเร็งลำไส้ได้ ซึ่งอาจนำไปใช้ในรูปแบบของตัวเซลล์แบคทีเรียหรือใน กระบวนการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารหมักชนิดต่าง ๆ Title Selection and Study the Activities of Probiotic Bacteria

on Inhibiting Proliferation of Colon Cancer Cells

Author Miss Pongphun Boonprasom

Degree of Master of Science in Biotechnology

Advisory Committee Chairperson Dr. Mongkol Thirabunyanon

## **ABSTRACT**

This research on the isolation of lactic acid bacteria from infant faeces and fermented milks was conducted in order to test their probiotic properties such as the ability to inhibit foodborne pathogens, tolerance to low pH 2.5 and 0.3% bile salt, haemolytic activity and antibiotic resistance. Results of the study showed that 20 bacterial isolates were found to exhibit probiotic properties and when these bacterial isolates were later tested for their ability to inhibit the growth of colon cancer cells through MTT assay, 7 isolates consisting of MC31, MC52, MC53, MC101, RM11, RM12 and RM28 showed the highest inhibiting ability. These bacterial isolates were then again tested for their inhibiting property by using the Trypan Blue exclusion method. Results indicated that when the cultured medium of these bacterial isolates was incubated with colon cancer cells for 24 hours, these bacterial isolates were found to have an efficiency rates of 23-39% of inhibiting the growth of colon cancer cells. In addition, bacterial isolate MC53 was found to show the highest inhibiting efficiency. When these cells of 7 bacterial isolates were incubated with colon cancer cells for 24 hours, these bacterial isolates had an efficiency rates of 21-34% to inhibit the growth of colon cancer cells with bacterial isolate MC31 having the highest efficiency. And when incubated for 48 hours, it was found that these that 7 bacterial isolates had an efficiency rates of 24-45% to inhibit the growth of colon cancer cells with bacterial isolate MC31 had the highest efficiency. Further results showed that these 7 bacterial isolates were also able to attach themselves to Caco-2 cells. The identification and classification of these bacterial isolates using the DNA base 16S rRNA indicated that MC31 was Pediococcus pentosaceus,

MC52 and MC53 were *Lactobacillus salivarius*, MC101 and RM11 were *Enterococcus faecium* while RM12 and RM 28 were *Lactobacillus fermentum*.

From this study, it can be recommended that these 7 bacterial isolates could be used to prevent or treat colon cancer as applied in the form of bacterial cells or may be further developed into many types of fermented food products.