การจัดประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช ครั้งที่ 5

The 5th STOU Graduate Research Conference

ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสของแบคทีเรียกรดแลคติก

Bile Salt Hydrolase Activity of Lactic Acid Bacteria

ณัฐชา ศิริโชตินันท์ (Nutcha Sirichotinun) [1] มาลัย ทวีโชติภัทร์ (Malai Taweechotipatr) [2]
สิรินันท์ นิลวรางกูล (Sirinun Nilwarangkoon) [3] ขวัญนันท์ นันทวิสัย (Kwannan Nantavisai) [3]

บทคัดย่อ

ภาวะโคเลสเตอรอลสูงถือได้ว่าเป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ โดยเฉพาะ โรคหัวใจ โรคกล้ามเนื้อหัวใจขาดเลือด และโรคหลอดเลือดสมองตีบ แบคทีเรียกรดแลคติก บางชนิดมีคุณสมบัติช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลได้ โดยอาศัยกลไกที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเกลือน้ำดี โดยเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส ซึ่งจะไปเปลี่ยนเกลือน้ำดีให้อยู่ในรูปอิสระและถูกขับออกจากร่างกายส่งผลให้ระดับโคเลสเตอรอลลดลง การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อหาสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่ได้จากอุจจาระของเด็กแรกเกิดที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส จึงได้คัดเลือกแบคทีเรียกรดแลคติก 25 สายพันธุ์ มาศึกษาการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส โดยใช้วิธีอาการ์เพลทที่เติม 0.5% โซเดียมทอโรดีออกซีโคลิกแอซิดซึ่งหลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จะปรากฏเป็นโซนของการตกตะกอนเกิดเป็นวงรัศมีรอบรอยสปอตของเชื้อ จากการทดสอบพบว่าจากแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด 25 สายพันธุ์ มีอยู่ 3 สายพันธุ์ ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสได้ ซึ่งเอนไซม์นี้จะส่งผลให้ระดับโคเลสเตอรอลลดลงและยังช่วยลดปัจจัยเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจได้อีกด้วย

คำสำคัญ: แบคทีเรียกรดแลคติก เอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส โคเลสเตอรอล

Abstract

Hypercholesterolemia is well known as the cause of heart disease, heart attack, and stroke. Some lactic acid bacteria are beneficial bacteria as can reduce cholesterol level by forming the bile salt hydrolase enzyme. Deconjugation of bile salt hydrolase has been related to the reduction of serum cholesterol levels in human. The objective of this study was to screen the production of bile salt hydrolase enzyme of lactic acid bacteria obtained from healthy Thai newborn feces. 25 strains of lactic acid bacteria were selected and screened for their bile salt hydrolase activity using agar plate assay containing 0.5% sodium taurodeoxy cholic acid. After 72 h incubation, it showed the formation of precipitate halos around colonies. The result of this study indicated 3 of 25 strains has capability to produce bile salt hydrolase enzyme. Thus, the specific strains of lactic acid bacteria which can produce bile salt hydrolase enzyme can be used as probiotics in order to reduce cholesterol and risk of cardiovascular disease.

Keywords: Lactic acid bacteria, Bile salt hydrolase, Cholesterol

1 นิสิตหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีวภาพการแพทย์ คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ nutcha.sn@gmail.com

2 ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ malai@g.swu.ac.th

3 อาจารย์ ภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ sirinunkk@gmail.com

3 อาจารย์ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ kwannan@yahoo.com

บทนำ

โคเลสเตอรอลเป็นไขมันจำเป็นชนิดหนึ่งที่อยู่ภายในร่างกายมนุษย์ โดยปกติแล้วร่างกายได้รับโคเลสเตอรอลทั้งจากการรับประทานอาหารที่มีโคเลสเตอรอล เช่น อาหารประเภทไขมันสัตว์ และจากการที่ร่างกายสามารถสังเคราะห์โคเลสเตอรอลได้เองซึ่งร่างกายจะนำเอาโคเลสเตอรอลไปใช้ประโยชน์โดยจะถูกนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของเซลล์ และใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสเตียรอยด์ฮอร์โมนหลายชนิด รวมไปถึงใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำดีและเกลือน้ำดีซึ่งจะไปมีบทบาทในการย่อยอาหารจำพวกไขมันในทางเดินอาหาร ในกรณีที่เกิดภาวะโคเลสเตอรอลในเลือดสูง จากการที่ร่างกายเก็บสะสมโคเลสเตอรอลไว้จนอยู่ในสภาวะที่มากเกินไป โคเลสเตอรอลเหล่านี้จะไปสะสมอยู่ตามผนังหลอดเลือด ทำให้เลือดไหลเวียนไปเลี้ยงอวัยวะต่างๆ ไม่สะดวก (Hongbao, 2006, pp. 432-0623; Tabas, 2002, pp. 583-90) เป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคหลอดเลือดหัวใจส่งผลต่อระบบหัวใจและหลอดเลือดซึ่งอาจเป็นอันตรายต่อชีวิตได้ ในการรักษานั้นสามารถรักษาได้โดยการควบคุมอาหาร หรือในกรณีที่ร้ายแรงอาจจะมีการรับประทานยาร่วมด้วย แต่อาจเสี่ยงในการเกิดผลข้างเคียง ดังนั้นจึงได้มีการศึกษานำจุลินทรีย์มาช่วยลดระดับโคเลสเตอรอล เพื่อเพิ่มทางเลือกให้สามารถนำไปใช้ในการควบคุมระดับโคเลสเตอรอลในเลือดได้

แบคทีเรียกรดแลคติกบางชนิด เป็นเชื้อประจำถิ่นที่พบในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ นอกจากนี้ยังพบได้ในอาหารประเภท อาหารหมักดอง ผลิตภัณฑ์นมเปรี้ยว ผัก เป็นต้น แบคทีเรียกลุ่มนี้เช่น แลคโตบาซิลลัส บิฟิโดแบคทีเรียม เอนเทอโรคอคคัส ได้ถูกนำไปศึกษาและนำไปใช้เป็นโพรไบโอติกซึ่งเป็นกลุ่มแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค แบคทีเรียกรดแลคติกถือได้ว่าเป็นจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่มีประโยชน์ในหลายด้านและเป็นแหล่งของโพรไบโอติกที่สำคัญ โดยในปัจจุบันแบคทีเรียกลุ่มนี้ได้เข้ามามีบทบาทต่อสุขภาพของมนุษย์มากขึ้น รวมไปถึงการศึกษาคุณสมบัติของแบคทีเรียกรดแลคติกในการลดโคเลสเตอรอล (Mann, 2006, pp. 464–469; Pan, 2011, pp. 512-518; Wang, 2012, pp. 1645–1654)

กลไกในการลดโคเลสเตอรอลโดยแบคทีเรียกรดแลคติกถูกสันนิษฐานว่าเกี่ยวข้องกับเอนไซม์ที่เชื้อแบคทีเรียสร้างขึ้นมาคือ เอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ส่วนใหญ่จะถูกสร้างโดยเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉพาะพวกกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติกที่อาศัยอยู่ในลำไส้ (Ahn, 2003, pp. 303–311; Chikai, 1987, pp. 669-671; Smet, 1998. pp. 315-329; Toit, 1998, pp. 93-104; Walker, 1993, pp. 956-961) มีคุณสมบัติช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลได้ โดยอาศัยกลไกที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายเกลือน้ำดี (bile salt) ส่งผลต่อเกลือน้ำดีที่อยู่ในรูปเกลือน้ำดีชนิดคอนจูเกต (conjugated bile salt) ที่มีกรดอะมิโนไกลซีนหรือทอรีนเป็นองค์ประกอบ (Begley, 2006, pp. 1729-1738; Tanaka, 2000, pp. 2502-2512) เอนไซม์ชนิดนี้จะไปไฮโดรไลซ์ที่ส่วนกรดอะมิโนที่พันธะเอไมด์ เปลี่ยนรูปเกลือน้ำดีชนิดคอนจูเกตเป็นเกลือน้ำดีชนิดดีคอนจูเกต (deconjugated bile salt)ได้กรดอะมิโนไกลซีน หรือ ทอรีน รวมไปถึงเกลือน้ำดีอิสระ (free bile salt) แยกออกมา มีคุณสมบัติละลายน้ำได้น้อยทำให้เกลือน้ำดีบางส่วนตกตะกอนและถูกขับออกทางอุจจาระ ร่างกายจึงต้องสร้างเกลือน้ำดีขึ้นมาทดแทน ทำให้มีการดึงโคเลสเตอรอลมาใช้มากขึ้น ระดับของโคเลสเตอรอลที่ถูกเก็บสะสมไว้ลดลง ส่งผลให้ระดับโคเลสเตอรอลในเลือดลดลงด้วย (Kim, 2004, pp. 258-266; Taranto, 1999, pp. 935-938)

คุณสมบัติการเป็นโพรไบโอติกของแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีความสามารถในด้านการลดโคเลสเตอรอลนั้น จะมีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ โดยมีกลไกการทำงานที่จำเพาะและขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของแบคทีเรีย รวมไปถึงการสร้างเอนไซม์หรือการสร้างสารเมตาบอไลท์ต่างๆ ที่มีผลในการลดโคเลสเตอรอล ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงมีจุดประสงค์เพื่อหาแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ดีที่แยกได้จากคนไทย ที่มีกลไกสามารถลดโคเลสเตอรอลได้จากการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส เนื่องจากประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพของแบคทีเรียกรดแลคติกนั้นเป็นคุณสมบัติเฉพาะ ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องศึกษาเพื่อคัดเลือกและพิสูจน์สายพันธุ์แบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสได้ เพื่อนำแบคทีเรียกรดแลคติกมาใช้ให้เกิดประโยชน์ทั้งทางด้านอุตสาหกรรมและในการส่งเสริมสุขภาพเพื่อเป็นการพัฒนาคุณภาพชีวิตให้ดียิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์การวิจัย/กรอบแนวคิด

เพื่อทดสอบหาสายพันธุ์แบคทีเรียกรดแลคติกที่สามารถสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส โดยในการหาสายพันธุ์ที่สร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสนี้ เพื่อนำไปใช้ในการลดโคเลสเตอรอล

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสายพันธุ์แบคทีเรียกรดแลคติก

นำแบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 25 สายพันธุ์ ที่เก็บรักษาไว้ที่ -80 องศาเซลเซียส ที่แยกได้จากอุจจาระของเด็กแรกเกิด มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง de Man Rogosa and Sharpe agar (MRS; Himedia, India) ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จากนั้นเลือกโคโลนีเดี่ยวๆ มาเพาะเลี้ยงเพิ่มจำนวนในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว MRS บ่มตามสภาวะเดิมแล้วนำมาปรับปริมาณให้ได้ 10^9 CFU/ml และนำมาทดสอบ โดยในการคัดเลือกสายพันธุ์ที่นำมาใช้ จะดูจากการทดสอบคุณสมบัติเบื้องต้นด้วยวิธีย้อมสีแกรม ศึกษารูปร่างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

2. การทดสอบไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสแอคทิวิตี้โดยวิธีอาการ์เพลท (agar plate)

2.1 การเตรียมอาการ์เพลท

เตรียมโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS มาผสมกับ 0.5% (w/v) โซเดียมทอโรดีออกซีโคลิกแอซิด (TDCA; Sigma) กับ 0.37% g/l แคลเซียมคลอไรด์ (Pereira, 2003, pp. 4743–4752) นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ ที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้มาเทลงในเพลท จากนั้นตั้งทิ้งไว้จนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว

2.2 การทดสอบเชื้อด้วยอาการ์เพลท

ดูดเชื้อที่ปรับปริมาณเป็น 10^9 CFU/ml แล้ว มา 10 ไมโครลิตรสปอตลงบนอาการ์เพลทที่เตรียมไว้จากข้อ 2.1 แล้วนำไปบ่มในสภาวะไร้ออกซิเจน ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบบริเวณที่เกิดโซนของการตะกอนรอบๆ สปอต ซึ่งเป็นบริเวณที่แบคทีเรียกรดแลคติกมีการสร้างเอนไซม์ไบล์

ซอลท์ไฮโดรเลส โดยจะอ่านผลเป็นบวกและวัดเส้นผ่านศูนย์กลางของโซนของการตะกอน ซึ่งจะทำการทดสอบสองซ้ำ 3 การทดลอง

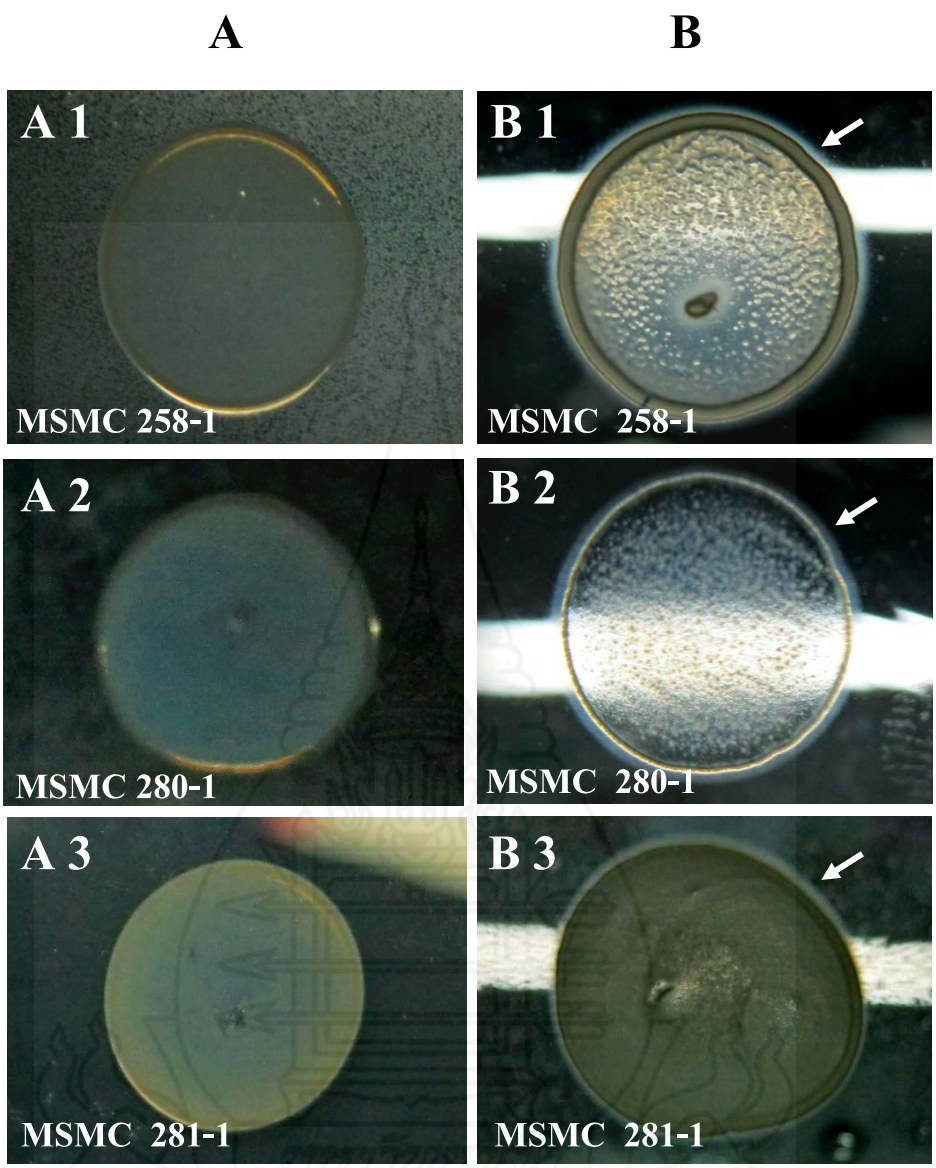
ผลการวิจัย

ผลการทดสอบไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสแอคทิวิตี้โดยวิธีอาการ์เพลท

ในงานวิจัยได้ทดสอบแบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 25 สายพันธุ์ ที่คัดแยกจากอุจจาระของทารก มาทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีผลในการลดระดับโคเลสเตอรอล โดยการสปอตลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่เติม TDCA ซึ่งเป็นซับสเตรตของเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส เมื่อเอนไซม์ชนิดนี้ไปไฮโดรไลซ์ซับสเตรต TDCA จะทำให้เห็นเป็นโซนของการตะกอนขึ้นมารอบๆ สปอต โดยเชื้อที่สร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสจะเห็นโซนของการตกตะกอนรอบๆ สปอตของแบคทีเรียกรดแลคติก ผลการทดสอบพบสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดแลคติกจำนวน 3 สายพันธุ์ ที่สร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส เมื่อเปรียบเทียบสปอตที่ปรากฏบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่ไม่มี 0.5% TDCA กับบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่มี 0.5% TDCA โดยผลที่เกิดขึ้นบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่มี 0.5% TDCA เกิดเป็นโซนของการตะกอนรอบสปอตของแบคทีเรียกรดแลคติก มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 11, 9.5 และ 12 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตาราง 1) ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์ได้ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ โดยสายพันธุ์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสได้ ประกอบไปด้วย MSMC 258-1, MSMC 280-1, MSMC 281-1 ดังแสดงให้เห็นในภาพที่ 1

ตารางที่ 1 ผลโซนของการตะกอน ของแบคทีเรียกรดแลคติกที่นำมาทดสอบหาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส

สายพันธุ์	แอคทิวิตี้	ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสแอคทิวิตี้ เส้นผ่านศูนย์กลางโซนของการตะกอน (มม.)	
		อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS (control)	อาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS (0.5% TDCA)
MSMC 258-1	+	10 ±0.68	11 ±0.68
MSMC 280-1	+	8.5 ±0.68	9.5 ±0.68
MSMC 281-1	+	11 ±0.68	12 ±0.68



ภาพที่ 1 ผลการทดสอบความสามารถของแบคทีเรียกรดแลคติกในการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสโดยวิธีอาการ์เพลท กรอบ A แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่ไม่มี 0.5% TDCA ที่เป็นเพลทควบคุม (control) กรอบ B แสดงอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง MRS ที่มี 0.5% TDCA โดย A1 และ B1 แสดงผลของสายพันธุ์ MSMC 258-1, A2 และ B2 แสดงผลของสายพันธุ์ MSMC 280-1, A3 และ B3 แสดงผลของ สายพันธุ์ MSMC 281-1

อภิปรายผลการวิจัย

ในการศึกษาการลดระดับโคเลสเตอรอลโดยแบคทีเรียกรดแลคติก ซึ่งผ่านกลไกในการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสแล้วไปมีผลในการลดระดับโคเลสเตอรอล โดยเกลือน้ำดีชนิดดีคอนจูเกตจะมีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้น้อยกว่าเกลือน้ำดีชนิดคอนจูเกต ทำให้เกลือน้ำดีบางส่วนตกตะกอนและถูกขับออกทางอุจจาระ จึงเป็นการชักนำให้มีการดึงโคเลสเตอรอลมาใช้และมีการสลายโคเลสเตอรอลมาสร้างเกลือน้ำดีมากขึ้น (*de novo* synthesis) ส่งผลให้ระดับของโคเลสเตอรอลที่เก็บสะสมไว้ลดลง

จากการศึกษาในครั้งนี้โดยใช้แบคทีเรียกรดแลคติกเพื่อศึกษาความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกที่นำมาทดสอบนั้นมี 3 สายพันธุ์ ที่สามารถสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส จากทั้งหมด 25 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ MSMC 258-1, MSMC 280-1, MSMC 281-1 มีความยาวเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 11, 9.5 และ 12 มิลลิเมตร ตามลำดับ จะสังเกตได้ว่าทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสได้ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่ผ่านมา ที่พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกสามารถสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสได้ (Lundeen, 1990, pp. 4171–4177; Nguyen, 2007, pp. 358–361) นอกจากนี้ได้มีการศึกษาในแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งหมด 800 สายพันธุ์ พบว่ามี 22 สายพันธุ์มีคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสในปริมาณที่แตกต่างกันไปในแต่ละสายพันธุ์ (Tsai, 2014) ซึ่งจะเห็นได้ว่าคุณสมบัตินี้จะมีในเฉพาะแบคทีเรียกรดแลคติกบางสายพันธุ์เท่านั้น โดยจะไม่ปรากฏในทุกสายพันธุ์ของเชื้อแบคทีเรียกรดแลคติก

จากการศึกษาก่อนหน้านี้ มีผู้สนใจศึกษาการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสของแบคทีเรียกรดแลคติกมากมาย มีการวิเคราะห์ถึงคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส โดยศึกษาถึงคุณสมบัติในการแคทตาไลท์ (catalyze) ของเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส (Begley, 2006, pp. 1729-1738) มีหลายงานวิจัยพบว่าในแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์มีคุณสมบัติและสร้างเอนไซม์ในปริมาณที่แตกต่างกัน และเป็นไปได้ว่าจะส่งผลต่อการลดระดับโคเลสเตอรอลแตกต่างกันไปด้วย (Klaver, 1993, pp. 1120-1124; Tahri, 1996, pp. 187-193; Usman, 1999, pp. 243-248) นอกจากนี้มีการศึกษาพบว่า แลคโตบาซิลลัส แอซิโดฟิลัส (*Lactobacillus acidophilus*) สามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในเลือดได้ กลไกที่เกิดขึ้นนั้นเกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนเกลือน้ำดีเป็นเกลือน้ำดีชนิดดีคอนจูเกต ซึ่งพบในบางสายพันธุ์ที่ทดสอบ (Walker,1993, pp. 956-961) โดยสรุปแล้วการหลั่งเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลส จะส่งผลต่อเกลือน้ำดีชนิดคอนจูเกตเปลี่ยนเป็นเกลือน้ำดีชนิดดีคอนจูเกต ทำให้สามารถลดระดับโคเลสเตอรอล โดยไปเพิ่มการสร้างเกลือน้ำดีใหม่เพื่อทดแทนเกลือน้ำดีที่ไม่สามารถดูดซึมกลับมาใช้ใหม่ได้ (Reynier, 1981, pp.467-473) นอกจากการศึกษาแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกมาจากมนุษย์แล้วยังมีการศึกษาเปรียบเทียบกับแบคทีเรียกลุ่มต่างๆ ที่แยกจากอุจจาระ นม รวมไปถึงลำไส้ไก่ พบว่ากลุ่มแลคโตบาซิลัสและบิฟิโดแบคทีเรียมสามารถสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสได้มากกว่าแบคทีเรียกรดแลคติกชนิดอื่น แบคทีเรียที่เคยมีการศึกษาพบว่าสามารถสร้างเอนไซม์ได้ คือ แลคโตบาซิลลัส แรมโนซัส (*Lactobacillus rhamnosus*), แลคโตบาซิลลัส แอซิโดฟิลัส (*Lactobacillus acidophilus*), แลคโตบาซิลลัส เบรวิส (*Lactobacillus brevis*), บิฟิโดแบคทีเรียม ลองกัม (*Bifidobacterium longum*), บิฟิโดแบคทีเรียม บิฟิดุม (*Bifidobacterium bifidum*), บิฟิโดแบคทีเรียม อะนิมาลิส (*Bifidobacterium animalis*), บิฟิโดแบคทีเรียม เบรเว

(*Bifidobacterium breve*), บิฟีโดแบคทีเรียม ซูโดแคทีนูลาทัม (*Bifidobacterium pseudocatenulatum*) ซึ่งล้วนแต่เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกทั้งสิ้น (Alessandra, 2013, pp. 8273-8281; Mathara, 2008, pp. 57-64; Miremadi, 2014, pp. 295-305; Ramasamy, 2010, 65-69)

จากการศึกษาครั้งนี้ เป็นการคัดกรองคุณสมบัติโพรไบโอติกของแบคทีเรียกรดแลคติกในเบื้องต้น ซึ่งแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกได้จากอุจจาระของทารกนับว่าเป็นแหล่งของโพรไบโอติกที่สำคัญ เหมาะสำหรับศึกษาคุณสมบัติโพรไบโอติกอีกหลายด้าน ทั้งนี้แบคทีเรียกรดแลคติกแต่ละชนิดมีคุณสมบัติเฉพาะแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ (strain specific) เนื่องจากสายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติลดโคเลสเตอรอลโดยอาศัยการสร้างเอนไซม์ไบล์ซอลท์ไฮโดรเลสได้ดี น่าจะมีคุณสมบัติอื่นๆ ที่สามารถช่วยลดระดับโคเลสเตอรอลร่วมด้วย ซึ่งน่าจะศึกษาต่อไป ตลอดจนคุณสมบัติในการยึดเกาะและดำรงอยู่ได้ในสภาวะของระบบทางเดินอาหาร เนื่องจากแบคทีเรียกรดแลคติกเหล่านี้จะสามารถออกฤทธิ์ลดระดับโคเลสเตอรอลได้อย่างมีประสิทธิภาพ ควรต้องมีการศึกษาทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองเพื่อให้เกิดประโยชน์ทางการแพทย์และเป็นแนวทางในการนำไปรักษาภาวะโคเลสเตอรอลสูงที่เป็นปัจจัยเสี่ยงที่ทำให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจ โรคหัวใจขาดเลือด และหลอดเลือดสมองตีบ เป็นต้น

เอกสารอ้างอิง

Ahn, Y.T., Kim, G.B., Lim, K.S., Baek, Y.J., & Kim H.U. (2003). Deconjugation of bile salts by *Lactobacillus acidophilus* isolates. *International Dairy Journal*, 13(4), 303–311.

Begley, M., Hill, C., & Gahan, C.G.M. (2006). Bile salt hydrolase activity in probiotics. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(3), 1729-1738.

Bordoni, A., Amaretti, A., Leonardi, A., Boschetti, E., Danesi, F., & Matteuzzi, D., et al. (2013). Cholesterol-lowering probiotics: *in vitro* selection and *in vivo* testing of bifidobacteria. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 97(18), 8273-8281.

Chikai, T., Nakao, H., & Uchida, K. (1987). Deconjugation of bile acids by human intestinal bacteria implanted in germ-free rats. *Lipids*, 22(9), 669-671.

Hongbao, Ma. (2006). Cholesterol and Human Health. *The Journal of American Science*, 517, 432-0623.

Kim, G.B., Yi, S.H., & Lee, B.H. (2004). Purification and characterization of three different types of bile salt hydrolases from *Bifidobacterium* strains. *Journal of Dairy Science*, 87(2), 258-266.

Klaver, F.A., & Vander Meer, R. (1993). The assumed assimilation of cholesterol by lactobacilli and *Bifidobacterium bifidum* is due to their bile salt-deconjugating activity. *Applied and Environmental Microbiology*, 59(4), 1120-1124.

Lundeen , S.G., & Savage, D.C. (1990). Characterization and purification of bile salt hydrolase from *Lactobacillus* sp. strain 100-100. *Journal of Bacteriology*, 172(8), 4171–4177.

Mann, G.V., & Spoerry, A. (1974). Studies of a surfactant and cholesteremia in the Maasai. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 27(5), 464–469.

Mathara, J.M., Schillinger, U., Guigas, C., Franz, C., Kutima, P.M., & Mbugua, S.K., et al. (2008). Functional characteristics of *Lactobacillus* spp. from traditional Maasai fermented milk products in Kenya. *The International Journal of Food Microbiology*, 126(1-2), 57-64.

Miremadi, F., Ayyash, M., & Sherkat, F. (2014). Cholesterol reduction mechanisms and fatty acid composition of cellular membranes of probiotic Lactobacilli and Bifidobacteria. *The Journal of Functional Foods*, 9, 295-305.

Nguyen, T.D.T., Kang, J.H., & Lee, M.S. (2007). Characterization of Lactobacillus plantarum PH04, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *International Journal of Food Microbiology*. 113(3), 358–361.

Pan, D.D., Zeng, X.Q., & Yan, Y.T. (2011). Characterisation of *Lactobacillus fermentum* SM-7 isolated from koumiss, a potential probiotic bacterium with cholesterol-lowering effects. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91(3), 512–518.

Pereira, D.I.A., McCartney, A.L., & Gibson G.R. (2003). An *in vitro* study of the probiotic potential of a bile salt-hydrolyzing *Lactobacillus fermentu*m strain, and determination of its cholesterol lowering properties. *Applied and Environmental Microbiology*, 69(8), 4743–4752.

Ramasamy, K., Abdullah, N., Wong, M.C., Karuthan, C., & Ho, Y.W. (2010). Bile salt deconjugation and cholesterol removal from media by *Lactobacillus* strains used as probiotics in chickens. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(1), 65-69.

Reynier, M.O., Montet, J.C., Gerolam, A., Marteau, C., Crotte, C., Montet, A.M., & Mathieu, S. (1981). Comparative effects of cholic, chenodeoxycholic and ursodeoxycholic acids on micellar solubilization and intestinal absorption of cholesterol. *The Journal of Lipid Research*, 22(3), 467-473.

Smet, I.D., Boever, P.D., & Verstraete, W. (1998). Cholesterol lowering in pigs through enhanced bacterial bile salt hydrolase activity. *British Journal of Nutrition*, 79(2), 185-194.

Smet, I.D., Hoorde, L.V., Saeyer, N.D., Woestyne, M.V., & Verstraete, W. (1994). *In vitro* study of bile salt hydrolase (BSH) activity of BSH isogenic *Lactobacillus plantarum* 80 strains and estimation of cholesterol lowering through enhanced BSH activity. *Microbial Ecology in Health and Disease*, 7(6), 315-329.

Tabas, I. (2002). Cholesterol in health and disease. *The Journal of Clinical Investigation*, 110(5), 583-90.

Tahri, K., Grill, J.P., & Schneider, F. (1996). Bifidobacteria strain behavior toward cholesterol: coprecipitation with bile salts and assimilation. *Current Microbiology*, 33(3), 187-193.

Tanaka, H., Hashiba, H., Kok, J., & Mierau, I. (2000). Bile salt hydrolase of *Bifidobacterium longum*-biochemical and genetic characterization. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(6), 2502-2512.

Lactobacillus reuteri on the prevention of hypercholesterolemia in mice. *Journal of Dairy Science*, 83(3), 401–403.

Taranto, M.P., Sesma, F., & Font de Valdez, G. (1999). Localization and primary characterization of bile salt hydrolase from *Lactobacillus reuteri*. *Biotechnology Letters*, 21(11), 935-938.

Toit, M.D., Franz, C.M., Dicks, L.M., Schillinger, U., Haberer, P., & Warlies, B., et al. (1998). Characterisation and selection of probiotic lactobacilli for a preliminary minipig feeding trial and their effect on serum cholesterol levels, faeces pH and faeces moisture content. *The International Journal of Food Microbiology*, 40(1-2), 93-104.

Tsai, C.C., Lin, P.P., Hsieh, Y.M., Zhang, Z.Y., Wu, H.C., & Huang, C.C. (2014). Cholesterol-lowering potentials of lactic acid bacteria based on bile-salt hydrolase activity and effect of potent strains on cholesterol metabolism *in vitro* and *in vivo*, *The Scientific World Journal,* 2014(3), Paper no 690752 (November). Retrieved August 7, 2015 from http://dx.doi.org/10.1155/2014/690752.

Usman, & Hosono, A. (1999). Bile tolerance, taurocholate deconjugation, and binding of cholesterol by *Lactobacillus gasseri* strains. *Journal of Dairy Science*, 82(2), 243-248.

Walker, D.K., & Gilliland, S.E. (1993). Relationship among bile tolerance, bile salt deconjugation, and assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus. Journal of Dairy Science*, 76(4), 956-961.

Wang, J., Zhang, H., Chen, X., Chen, Y., & Bao, Q. (2012). Selection of potential probiotic lactobacilli for cholesterol-lowering properties and their effect on cholesterol metabolism in rats fed a highlipid diet. *Journal of Dairy Science*, 95(4), 1645–1654.