

Abstract

Project Code : TRG5880096**Project Title :** The influence of microbes isolated from Thai fermented foods and beverages on the metabolic fate of glucosinolates**Investigator :** Asst. Prof. Dr. Vijitra Luang-In Faculty of Technology, Mahasarakham University**E-mail Address :** vijitra.luangin@gmail.com**Project Period :** 2 years

Cancer has become the main cause of death in Thailand. Consumption of Cruciferous vegetables containing glucosinolate has been shown to reduce the cancer risks due to chemopreventive products namely isothiocyanate (ITC) generated by myrosinase-positive microbes in fermented foods. The aims of this work were to isolate and identify bacteria from eight Thai local fermented foods and beverages in Thailand with the capacity to metabolize glucosinolate using HPLC analysis and determine ITC using GC-MS analysis. The majority of ITC producers were *Enterobacter* and *Enterococcus* and the two highest ITC producers included *Enterobacter xiangfangensis* 4A2 (EX) from fermented fish and *Enterococcus casseliflavus* SB2 (EC) from fermented cabbage from 100% sinigrin degradation within 24 h. EC and EX were used to ferment Thai cabbage (*Brassica oleracea* L. var. capitata) containing glucoraphanin, glucoiberin and 4-hydroxy glucobrassicin for 3 days at 25°C. Sulforaphane and iberin produced by EX peaked at 294.1 and 117.4 µmol/100 g DW, respectively at day 1. Those produced by EC peaked at 242.6 and 51.7 µmol/100 g DW, respectively at day 2. These induced cabbage fermentations produced statistically higher chemopreventive ITCs than spontaneous cabbage fermentation over 3 days ($p<0.01$). Sulforaphane detected in induced cabbage fermentation with liquid portion were significantly ($p<0.01$) higher than fermented solid cabbage portion by almost three folds. However, extract of fermented cabbage (50 µg/mL) by EX at day 1 showed no antibacterial activity against *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1), *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. Interestingly, the same extract showed 20.86% cytotoxicity towards lung cancer cell line NCI-H187. In addition, the same extract at 25 mg/mL exhibited 62% DPPH scavenging activity (DPPH assay), 6.51 mg FeSO₄/g dry weight (FRAP assay) and 5.21 mg VEAC/g dry weight (ABTS assay) which were higher than those in the extracts of cabbage by spontaneous fermentation. To conclude, Thai cabbage fermented by the selected bacterial culture for 1-2 days showed the potential as a functional food on the same par as kimchi and sauerkraut. One should consume a liquid portion of the fermented cabbage due to higher ITC level along with a solid portion to obtain the best health-promoting benefits from this functional food.

Keywords : Bacteria, Chemoprevention, Glucosinolate, Isothiocyanate, Myrosinase

บทคัดย่อ

Project Code : TRG5880096

Project Title : อิทธิพลของจุลินทรีย์ที่แยกได้จากอาหารและเครื่องดื่มหมักดองของไทยต่อการเมทาบอลิซึมของสารกลูโคซิโนเลต

Investigator : ผศ.ดร.วิจิตรา หลวงอินทร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

E-mail Address : vijitra.luangin@gmail.com

Project Period : 2 ปี

มะเร็งถือเป็นสาเหตุหลักในการคร่าชีวิตของประชากรในประเทศไทย การบริโภคผักตระกูลกะหล่ำที่อุดมไปด้วยสารกลูโคซิโนเลตซึ่งมีฤทธิ์ต้านมะเร็งจากผลิตภัณฑ์เมทาบอลิท์ที่ชื่อว่า ไอโซไธโอไซยาเนต ที่ถูกสร้างขึ้นโดยจุลินทรีย์ที่มีเอนไซม์ไมโรซิเนส จุดประสงค์ของงานวิจัยนี้ คือ การคัดแยกและจำแนกจุลินทรีย์ที่มีเอนไซม์ไมโรซิเนสในอาหารและเครื่องดื่มหมักดองในประเทศไทย โดยใช้เครื่อง HPLC เพื่อจำแนกเชื้อที่ย่อยสลายกลูโคซิโนเลตได้ และใช้เครื่อง GC-MS เพื่อศึกษาไอโซไธโอไซยาเนต จากผลการทดลอง พบว่า โดยส่วนใหญ่ จุลินทรีย์ที่ผลิตไอโซไธโอไซยาเนตได้ คือ *Enterobacter* และ *Enterococcus* และเชื้อที่ผลิตไอโซไธโอไซยาเนตได้สูงที่สุด คือ *Enterobacter xiangfangensis* 4A2 (EX) จากปลาซั่ม และรองลงมา คือ *Enterococcus casseliflavus* SB2 (EC) จากผักกะหล่ำดอง หลังจากการบ่ม 24 ชั่วโมงกับซินิกริน ดังนั้น EX และ EC จึงถูกนำมาหมักผักกะหล่ำดอง (*Brassica oleracea* L. var. capitata) ซึ่งอุดมด้วยสารกลูโคโอเบอร์นิน กลูโคราฟานินและ 4-ไฮดรอกซี กลูโคบราสซิซิน ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน พบว่าซัลโฟราเฟนและไอเบอร์นินถูกผลิตขึ้นโดย EX มีค่าสูงสุดที่ 294.1 และ 117.4 ไมโครโมล ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ หลังการหมัก 1 วัน แต่ทว่าในกะหล่ำดองที่หมักด้วย EC พบผลิตภัณฑ์สองอย่างนี้ถูกผลิตขึ้นสูงที่สุดที่ 242.6 และ 51.7 ไมโครโมล ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ในวันที่ 2 การหมักผักกะหล่ำด้วยเชื้อที่คัดแยกมานี้ทำให้ได้ซัลโฟราเฟนและไอเบอร์นินที่สูงกว่าการหมักแบบธรรมชาติ ($p < 0.01$) ในเวลาหมักทั้ง 3 วัน สิ่งที่น่าสนใจ คือ ในน้ำผักดองจะมีซัลโฟราเฟนและไอเบอร์นินที่สูงกว่าในเนื้อผักดอง เกือบ 3 เท่า ($p < 0.01$) เมื่อนำสารสกัดจากผักดองที่หมักด้วย EX เป็นเวลา 1 วันไปทดสอบกิจกรรมการต้านเชื้อก่อโรค พบว่าสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่สามารถยับยั้งเชื้อ *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa* (PAO1), *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli* และ *Candida albicans* ได้ ส่วนผลการต้านเซลล์มะเร็ง พบว่าสารสกัดจากผักดองที่ความเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แสดง 20.86% cytotoxicity ต่อเซลล์มะเร็งปอด (NCI-H187) แต่ก็ยังไม่ถึง 50% จึงยังไม่ถือว่าเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งปอด และไม่แสดงความเป็นพิษต่อเซลล์มะเร็งเต้านมและเซลล์ไตของลิง (Vero) อย่างไรก็ตาม สารสกัดผักกะหล่ำดองโดย EX เป็นเวลา 1 วัน ที่ความเข้มข้น 25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่ 62% DPPH scavenging activity, 6.51 มิลลิกรัม FeSO_4 ต่อกรัม น้ำหนักแห้ง และ 5.21 มิลลิกรัม VEAC ต่อกรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งโดยรวม มีค่าสูงกว่ากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของกะหล่ำดองที่หมักโดยธรรมชาติ โดยสรุป ผักกะหล่ำดองของประเทศไทยที่ถูกหมักโดยเชื้อที่แยกมาได้นี้มีศักยภาพที่จะเป็นอาหารฟังก์ชันเทียบเท่ากิมจิของประเทศเกาหลี และชาวเออร์เคราท์ของทวีปยุโรปได้ โดยควรทำการหมักเป็นเวลา 1-2 วัน และควรบริโภคน้ำผักดองด้วย เพราะว่ามีซัลโฟราเฟนและไอเบอร์นินในปริมาณที่สูง เพื่อยังผลให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภคอย่างสูงสุด

คำสำคัญ : แบคทีเรีย, การต้านมะเร็ง, กลูโคซิโนเลต, ไอโซไธโอไซยาเนต, ไมโรซิเนส