

คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

สุภัสสร วันสุทะ¹ ลัดดาวัลย์ ยืนยาว¹

¹สาขาการแพทย์แผนไทย มหาวิทยาลัยราชภัฏอุดรธานี

ผู้นิพนธ์ที่ให้การติดต่อ E-mail: Supasson.wa@udru.ac.th

บทคัดย่อ

จุลินทรีย์โพรไบโอติกเป็นที่รู้จักกันดีว่ามีประโยชน์ต่อสุขภาพอย่างมากมาย ซึ่งโพรไบโอติกส่วนใหญ่เป็นแบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ที่มีความสำคัญต่อร่างกาย เช่น ผลิตสารต่าง ๆ และป้องกันการติดเชื้อก่อโรคในลำไส้ รายงานนี้จึงมีความสนใจที่จะทบทวนเกี่ยวกับโพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและการส่งเสริมสุขภาพ ซึ่งการบริโภคโพรไบโอติกอาจลดความเสียหายจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยภาวะความเครียดออกซิเดชันเป็นสาเหตุของโรคเรื้อรังต่าง ๆ ของมนุษย์ซึ่งเกิดจากการเพิ่มขึ้นของอนุมูลอิสระที่เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยได้มีการศึกษาทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองที่แสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติและความปลอดภัยเพื่อทดแทนสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์จึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ซึ่งในรายงานนี้ได้ทบทวนเนื้อหาที่เกี่ยวข้องกับการศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและกลไกต้านอนุมูลอิสระของโพรไบโอติกเพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของจุลินทรีย์โพรไบโอติกต่อไปในอนาคต

คำสำคัญ : โพรไบโอติก, สารต้านอนุมูลอิสระ, อนุมูลอิสระ

Antioxidant Properties of Probiotics

Supasson Wansutha¹ Laddawan Yuenyaow¹

¹ Division of Thai Traditional Medicine, Udonthani Ratchaphat University

Corresponding Author E-mail: Supasson.wa@udru.ac.th

Abstract

Probiotics have been known for many beneficial health effects. They are intestinal bacteria have numerous important functions such as produce various nutrients for their host and prevent infections caused by intestinal pathogens. In this review, there are interests to find the potential probiotic that can exhibit antioxidant properties along with health benefits. Oxidative stress is the cause of various chronic human diseases. It is caused by increased activity of free radicals through the oxidation process. The consumption of probiotics alone or foods supplemented with probiotics may reduce oxidative damage. *In vitro* and *in vivo* studies indicate that probiotics exhibit antioxidant potential. Therefore, in recent years, finding safe natural antioxidants from bio-resources to replace synthetic antioxidants has received a great deal of attention. In this paper, the literature related to known antioxidant potential and antioxidant mechanisms of probiotics and proposing future perspectives to conduct such studies has been reviewed.

Keyword: Probiotics, Antioxidant, Free radicals

บทนำ

โพรไบโอติกมีประโยชน์ในการรักษาสมดุลของจุลินทรีย์ภายในระบบทางเดินอาหาร มีการนำโพรไบโอติกมาใช้ประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพของมนุษย์ในรูปแบบผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ โพรไบโอติกบางสายพันธุ์พบว่ามีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งอาจช่วยลดความเสียหายที่เกิดจากสารอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นได้ อนุมูลอิสระทำให้เซลล์ได้รับความเสียหายเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเป็นโรคเรื้อรังหลายชนิด ได้แก่ โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว โรคกระเพาะบางชนิด โรคอัลไซเมอร์ โรคไขข้ออักเสบ โรคชรา เป็นต้น ซึ่งร่างกายได้สร้างสารต้านอนุมูลอิสระมาป้องกันและกำจัดอนุมูลอิสระอยู่แล้ว แต่อย่างไรก็ตามเมื่อมีอนุมูลอิสระมากเกินไประบบต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้อาจไม่เพียงพอที่จะป้องกันสิ่งมีชีวิตจากความเสียหายที่เกิดจากภาวะออกซิเดชันได้ สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติเพื่อทดแทนสารต้านอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นจึงได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ปัจจุบันมีรายงานคุณสมบัติที่ดีของโพรไบโอติกอย่างมากมาย พบว่าบางสายพันธุ์มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นการศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของโพรไบโอติกจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจในการพัฒนาผลิตภัณฑ์สุขภาพที่มีประโยชน์ต่อผู้บริโภคในการส่งเสริมสุขภาพต่อไปในอนาคต ซึ่งบทความนี้ได้รวบรวมแนวคิดและรายงานการศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของแบคทีเรียโพรไบโอติกเพื่อเป็นแนวทางในการศึกษาต่อไป

จุลินทรีย์โพรไบโอติก

โพรไบโอติก (probiotics) คือจุลินทรีย์ที่มีชีวิต เมื่อบริโภคในปริมาณที่เพียงพอจะช่วยส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภค¹ โพรไบโอติกจึงเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่พบในร่างกายมนุษย์อยู่แล้ว หรือเมื่อรับประทานเข้าไปแล้วช่วยให้ร่างกายผู้นั้นมีสุขภาพที่ดีขึ้น และต้องยังคงสภาพที่มีชีวิต ซึ่งทนต่อสภาวะกรดและเกลือได้ดี โดยสามารถยึดเกาะกับเนื้อเยื่อผนังลำไส้และให้ประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์ โดยไม่ก่อให้เกิดโทษต่อร่างกาย² โพรไบโอติกมีบทบาทต่อสุขภาพในการปรับสมดุลของระบบทางเดินอาหารและระบบขับถ่าย โดยมีการศึกษาพบว่า *Lactobacillus* GG และ *Saccharomyces boulardii* สามารถลดอุบัติการณ์ของโรคอุจจาระร่วงจากการติดเชื้อ *Clostridium difficile* ที่มักเกิดจากการติดเชื้อหลังคลอดได้³ และเหมาะสมสำหรับผู้ที่มีภาวะที่ไม่ทนต่อน้ำตาลแลคโตส ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกสามารถผลิตน้ำย่อยเพื่อช่วยย่อยน้ำตาลแลคโตสในนมได้ จึงทำให้มีน้ำตาลแลคโตสเหลือน้อยกว่าหรือไม่มีเลย จึงทำให้ผู้ที่ไม่มีการสร้างน้ำย่อยดังกล่าวสามารถดื่มนมวัว และผลิตภัณฑ์นมได้โดยไม่เกิดอาการดังกล่าว⁴ นอกจากนี้ยังพบว่าโพรไบโอติกสามารถต้านมะเร็ง โดยพบว่า *Bacillus polyfermenticus* สามารถยังการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ได้⁵ และมีการวิจัยพบว่า *Lactococcus lactis* NK34 ยังสามารถยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งได้อีกด้วย⁶ นอกจากนี้ยังมีการนำจุลินทรีย์โพรไบโอติกมาช่วยชะลอวัย (anti-aging) ซึ่งพบว่าโพรไบโอติกสามารถฟื้นฟูสภาพของผิวที่เป็นกรด ช่วยลดความเครียดจากสภาวะออกซิเดชัน⁷ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีบทบาทในการส่งเสริมสุขภาพร่างกายในด้านต่างๆ มากมาย คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นที่น่าสนใจในการศึกษาเพราะอนุมูลอิสระจะทำให้เกิดสภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งส่งผลต่อการทำงานของร่างกาย อาจทำให้เกิดการเจ็บป่วยได้

อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ

สภาวะเครียดออกซิเดชัน คือสภาวะที่มีอนุมูลอิสระ (free radicals) ในเซลล์ระดับสูงทำให้เกิดความเสียหายต่อไขมัน โปรตีน และสารพันธุกรรมเป็นสาเหตุของโรคเรื้อรังต่างๆ ในมนุษย์⁸ อนุมูลอิสระ (free radicals) คือสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล อนุมูลอิสระนั้นไม่เสถียรและไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับโมเลกุลข้างเคียงเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น อนุมูลอิสระสามารถเกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึม (metabolism) โดยมีการย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจน ทำให้อิเล็กตรอนของออกซิเจนไม่สมดุลกลายเป็นอนุมูลอิสระ และว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยาและดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่เพื่อให้เกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา⁹ อนุมูลอิสระนอกจากจะเกิดภายในสิ่งมีชีวิตแล้วอนุมูลอิสระสามารถเกิดจากภายนอกสิ่งมีชีวิตหรือในสิ่งแวดล้อม ซึ่งเป็นสิ่งที่เกิดขึ้นในชีวิตประจำวัน ได้แก่ การได้รับเชื้อโรค รังสี คิวบุนท์ เขม่าจากเครื่องยนต์ แก๊ส จากท่อไอเสีย และการย่างเนื้อสัตว์ไหม้ที่มีไขมันสูง เป็นต้น อนุมูลอิสระที่สำคัญและพบได้บ่อย ได้แก่ อนุมูลอิสระอนุพันธ์ออกซิเจนที่ว่องไว (reactive oxygen species; ROS) มีความสามารถในการทำปฏิกิริยาลูกโซ่อย่างรวดเร็วเพื่อทำให้ตัวเองเสถียรขึ้น สิ่งมีชีวิตจึงมีการป้องกันอนุมูลอิสระโดยการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ในรูปแบบของเอนไซม์ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส (superoxide dismutase; SOD) กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase; GPx) และกลูตาไธโอนรีดักเทส (glutathione reductase; GR) กับรูปแบบที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น กลูตาไธโอน วิตามินซี วิตามินอี เป็นต้น ซึ่งจะทำหน้าที่ซ่อมแซมระบบต่างๆ ของร่างกาย และป้องกันสภาวะเครียดออกซิเดชัน¹¹ อย่างไรก็ตามสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้อาจไม่เพียงพอที่จะป้องกันสิ่งมีชีวิตจากความเสียหายจากสภาวะเครียดออกซิเดชันได้ จึงมีการนำสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์มาใช้แต่อาจส่งผลต่อความปลอดภัยทำให้เกิดความเสียหายต่อดับและเป็นสารก่อมะเร็ง¹² ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติจึงได้รับความสนใจอย่างมากและการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีประโยชน์ต่อสุขภาพในการควบคุมสมดุลของระบบทางเดินอาหาร การยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้อีกด้วย แสดงให้เห็นว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญทั้งในร่างกายและในหลอดทดลอง¹³ ความสนใจในการบริโภคผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่เพิ่มมากขึ้น ดังนั้นเราจึงให้ความสำคัญเกี่ยวกับคุณสมบัติเป็นการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

บทบาทของจุลินทรีย์โพรไบโอติกในการต้านอนุมูลอิสระ

การศึกษาจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่ผ่านมาพบว่าสามารถส่งเสริมสุขภาพด้านต่าง ๆ มากมาย ทั้งช่วยลดภาวะท้องเสีย กระตุ้นภูมิคุ้มกันของร่างกายและป้องกันเซลล์มะเร็ง¹¹ ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการนำมาพัฒนาเป็นโพรไบโอติก ได้แก่ แบคทีเรียกรดแลคติก (lactic acid bacteria; LAB) โดยได้มีการนำมาพัฒนาส่งเสริมสุขภาพทั้งในด้านอาหารและยา¹⁴ โดยมีการศึกษาพบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกที่มีอยู่ในปลา ได้แก่ *L. rhamnosus* และ *L. lactis* มีบทบาทสำคัญในการเจริญเติบโต การปรับระบบภูมิคุ้มกัน และการป้องกันสภาวะเครียดออกซิเดชันของปลาได้¹⁵ บีฟิโดแบคทีเรีย (*Bifidobacterium*) เป็นแบคทีเรียโพรไบโอติกที่มีการศึกษาและนำมาใช้ในปัจจุบันอย่างมากมาย พบว่าสามารถส่งเสริมภูมิคุ้มกันและต้านมะเร็งได้¹⁶ จากคุณสมบัติดังกล่าวของโพรไบโอติกที่กล่าวข้างต้นแสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกมีบทบาทเกี่ยวกับระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายซึ่งมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของโพรไบโอติก โดยได้มีการศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระที่ผ่านมาดังนี้

โดยได้มีการศึกษา *Bifidobacterium animalis* 01 พบว่าสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระไฮดรอกซิล (hydroxyl radicals) และอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ (superoxide anion) ในหลอดทดลองและสัตว์ทดลอง¹⁷ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเกี่ยวกับแบคทีเรียกรดแลคติกอย่างมากมายพบว่าสามารถต้านอนุมูลอิสระได้¹⁸ และมีการศึกษาในหนูทดลองที่ได้รับอาหารที่มีไขมันสูงร่วมกับ *L. plantarum* P-8 พบว่าโพรไบโอติกมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้เนื่องจากการสะสมของไขมันในตับลดลง¹⁹ และในการศึกษาในมนุษย์พบว่า *L. rhamnosus* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะนักกีฬาที่เกิดภาวะเครียดจากออกซิเดชันได้ง่าย โดยโพรไบโอติกอาจมีบทบาทในการเพิ่มระดับสารต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งอนุมูลอิสระได้²⁰ นอกจากนี้ยังพบว่า *L. paracasei* Fn 032 และ *L. plantarum* Fn 001 สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ โดยการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์ และมีการขับสารนั้นมากขึ้นเมื่อแบคทีเรียสัมผัสกับน้ำย่อยในกระเพาะอาหารและตับอ่อน²¹ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระใน *Caenorhabditis elegans* พบว่า *L. rhamnosus* สามารถเพิ่มอัตราการรอดชีวิตของ *C. elegans* ได้ แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียโพรไบโอติกมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระในการยืดอายุหรือชะลอวัยได้²² และแบคทีเรียโพรไบโอติกบางสายพันธุ์ยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในรูปแบบของกลูตาไทโอน (glutathione) ได้แก่ *L. fermentum* ME-3 ซึ่งมีในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรคและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอีกด้วย²³ และยังพบว่า *L. casei* KCTC 3260 มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (lipid peroxidation)²⁴ จากการศึกษาที่ผ่านมาทำให้ทราบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งมีกลไกแตกต่างกันออกไปในแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งจะแสดงกลไกการออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในรูปแบบต่าง ๆ

กลไกการต้านอนุมูลอิสระของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

โพรไบโอติกมีความสามารถในการกำจัดโลหะไอออนที่มีคุณสมบัติเป็นสารคีเลต (chelating agent) ซึ่งสารคีเลตเป็นสารอินทรีย์ซึ่งสามารถจับกับแร่ธาตุประจุบวก ได้แก่ เหล็ก สังกะสี ทองแดงโคบอลต์ แมงกานีส โดยสารคีเลตจะล้อมประจุบวกของธาตุที่เป็นโลหะไว้ เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีโลหะถูกจับอยู่ในโมเลกุลไม่เปิดโอกาสให้ประจุบวกจากที่อื่นเข้าทำปฏิกิริยาได้ ปฏิกิริยาการรวมกันนี้เรียกว่าคีเลชัน (chelation) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระจะป้องกันไม่ให้โลหะไอออนเร่งปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันได้²⁵ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าแบคทีเรียกรดแลคติก 19 สายพันธุ์ สามารถกำจัดโลหะไอออนได้²⁶ และมีการศึกษาพบว่า *Streptococcus thermophilus* 821 และ *L. casei* KCTC 3260 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงโดยการจับกับ Fe^{2+} และ Cu^{2+} ได้ดี²⁷ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเซลล์ของ *L. helveticus* CD6 มีการเกิดปฏิกิริยาคีเลชันของ Fe^{2+} สูงด้วยเหมือนกัน²⁸ ซึ่งโพรไบโอติกอาจสร้างสารออกมาในการเป็นสารคีเลตในการต้านอนุมูลอิสระแต่อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษากลไกที่เกี่ยวข้องในการสร้างสารต่อไป

โพรไบโอติกมีเอนไซม์ที่ใช้ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับสัตว์ โดยเอนไซม์ที่รู้จักกันดีที่สุดคือซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส ซึ่งอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ผลิตจากไมโทคอนเดรีย (mitochondria) ภายในเซลล์ โดยเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสจะเร่งการสลายอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์ให้กลายเป็นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์และน้ำ ดังนั้นเอนไซม์นี้จึงเป็นตัวควบคุมอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น²⁹ การศึกษาที่ผ่านมาพบว่า *L. fermentum* E-3 และ *L. fermentum* E-18 สามารถสร้างเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสเพื่อต้านทานต่อสภาวะเครียดออกซิเดชันได้³⁰ เอนไซม์คะตะเลส (catalase) เป็นเอนไซม์ที่มีส่วนในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระโดยการย่อยสลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระไฮดรอกซิลปฏิกิริยาเฟนตัน (fenton reaction)³¹ ซึ่ง

แบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่จะไม่สร้างเอนไซม์อะไมเลส อย่างไรก็ตามมีการศึกษาพบว่า *Lactococcus lactis* สามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสได้ โดยใช้ในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ที่เกิดจากสารเหนียวที่ทำให้เกิดมะเร็งในหนูทดลอง นอกจากนี้ยังพบว่า *L. casei* BL23 สามารถป้องกันหรือลดความรุนแรงของพยาธิสภาพของลำไส้ที่เกิดจากอนุมูลอิสระได้³² และยังพบว่าโพรไบโอติกสามารถกระตุ้นระบบต้านอนุมูลอิสระของร่างกายได้อีกด้วย จากการศึกษาในสัตว์ทดลองแสดงให้เห็นว่าการให้แบคทีเรีย *L. fermentum* เป็นอาหารเสริมสามารถเพิ่มเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสและเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสในเลือดได้ เสริมประสิทธิภาพเอนไซม์อะไมเลสในตับ และเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสในกล้ามเนื้อ เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก³³ นอกจากนี้การบริโภคจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่เป็นยีสต์พบว่าสามารถเพิ่มน้ำหนักตัวและเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสของลูกไก่ทดลอง³⁴ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาในมนุษย์แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นของเอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทสและเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสในเลือดในเม็ดเลือดแดงในผู้ป่วยเบาหวานที่ได้รับโยเกิร์ตที่มี *L. acidophilus* La5 และ *B. lactis* Bb12³⁵ นอกจากนี้จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 มีการแสดงออกของยีนกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสและอะไมเลส และสามารถสร้างเอนไซม์อะไมเลสในเซลล์เยื่อบุผิวลำไส้³⁶

โพรไบโอติกสามารถสร้างสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ได้ เช่น กลูตาไธโอน และโฟเลต ซึ่งโฟเลต (folate) เป็นวิตามินชนิดที่ละลายได้ในน้ำ มีความสำคัญในปฏิกิริยาการขนส่งคาร์บอนหนึ่งหน่วยไปยังเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย ที่มีการสังเคราะห์ดีเอ็นเอและโปรตีน มีการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าบีฟิโดแบคทีเรียสามารถสร้างโฟเลตได้ โดยแสดงปริมาณโฟเลตที่เพิ่มขึ้นทั้งในหนูทดลองและมนุษย์³⁷ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากเซลล์แบคทีเรีย *L. helveticus* CD6 พบโฟเลตซึ่งแสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระภายในเซลล์²⁸ กลูตาไธโอนเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งช่วยในการสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ โดยทำหน้าที่ร่วมกับวิตามินซีเป็นตัวรีดิวซ์ (reducing agent) ที่สำคัญในการป้องกันการเกิดภาวะเครียดออกซิเดชันที่จะทำให้เซลล์ให้เสียไป ร่วมกันซ่อมแซมสารพันธุกรรมที่อาจเปลี่ยนแปลงการเป็นมะเร็งได้ และยังช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย³⁹ มีการศึกษารายงานว่า *L. fermentum* E-3 และ *L. fermentum* E-8 เป็นสายพันธุ์ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งพบว่ามีระดับของกลูตาไธโอนที่มาก³⁰ เด็กบริโภคโยเกิร์ตที่มี *L. acidophilus* La1 ทุกวัน จะช่วยปรับปรุงระดับของโฟเลตในเลือดและวิตามินบีสิบสอง เมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลพื้นฐานที่เกี่ยวข้อง⁴⁰ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเกี่ยวกับลำดับเหตุการณ์ทางเคมีชีวภาพตามวิถีการส่งสัญญาณ (signaling pathway) ของเซลล์ และการทำงานของจุลินทรีย์ในลำไส้ (intestinal microbiota)⁵² ดังนั้นโพรไบโอติกอาจสร้างสารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระออกมาได้ ซึ่งอาจเกิดจากกลไกที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไป

วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในการคัดเลือกจุลินทรีย์โพรไบโอติก

คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบธรรมชาติมีวิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหลากหลายวิธีซึ่งแต่ละวิธีการทดสอบมีทั้งข้อดีและข้อเสียที่แตกต่างกัน ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระมีหลากหลายชนิดที่อาจทำหน้าที่หรือกลไกในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันได้ ดังนั้นการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีเดียวอาจไม่เพียงพอที่จะสามารถประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้อย่างแม่นยำ ซึ่งวิธีการฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีวิธีการที่นิยมนำมาใช้ทดสอบดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดีพีพีเอซ (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl: DPPH assay) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ คืออนุมูลอิสระดีพีพีเอซ (DPPH[•]) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียร (stable free radical) และมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เมื่อ อนุมูลอิสระดีพีพีเอซทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเมทานอล คือ สารที่ให้อิเล็กตรอน ตั้งทิ้งไว้ที่มีดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง เมื่อมีสารต้านออกซิเดชันจะทำให้สีม่วงกลายเป็นสีเหลือง ข้อดีของวิธีนี้ คือ ง่าย สะดวก และรวดเร็ว ส่วนข้อเสีย คือ อนุมูลอิสระดีพีพีเอซค่อนข้างเสถียรไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายจริง จึงทำให้เกิดปฏิกิริยาได้ช้า ทำให้ค่าการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่วัดได้น้อยกว่าความเป็นจริง และต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งจะทำให้โปรตีนตกตะกอนจึงไม่สามารถวิเคราะห์ในตัวอย่างที่เป็นเลือดได้อีกทั้งสารปนเปื้อนและโลหะจะรบกวน ซึ่งสามารถเป็นตัวรบกวนแล้วทำให้สีของอนุมูลอิสระดีพีพีเอซจางลงได้เช่นกัน⁴¹ การศึกษาก่อนหน้านี้พบว่า *L. plantarum* มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอซ (%DPPH scavenging activity) ได้ถึง 51 ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าแบคทีเรียสายพันธุ์มาตรฐาน คือ *L. plantarum* ATCC8014⁴² นอกจากนี้ยังพบว่า *L. acidophilus*, *L. rhamnosus* และ *L. casei* มีร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอซเท่ากับ 78 - 86, 46 - 86 และ 37 - 46⁴³ และยังมีการศึกษาโดยสามารถแยกแบคทีเรีย *L. plantarum* LAB1 จากอาหารหมักดองในท้องถิ่นพบว่ามีร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอซเท่ากับ 57⁴⁴

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (2,2'-azinobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid): ABTS assay) เอบีทีเอสเป็นสารสังเคราะห์ที่มีสีเขียวน้ำเงินสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เนื่องจากสีของ ABTS^{•+} ปกติจะมีค่าการดูดกลืนแสงสูง จึงต้องทำการเจือจาง ABTS^{•+} ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำ ABTS^{•+} ทำปฏิกิริยากับสารตัวอย่าง ตั้งทิ้งไว้เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ข้อดีของวิธีการนี้ คือ ABTS^{•+} สามารถละลายได้ดีในน้ำ และตัวทำละลายอินทรีย์ทำให้เกิดปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็ว และทำปฏิกิริยาได้ดีในช่วงพีเอชกว้าง ส่วนข้อเสีย คือ ABTS^{•+} ไม่เป็นสารธรรมชาติที่สามารถพบในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต และต้องมีการทำปฏิกิริยากับโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตก่อนประมาณ 4-16 ชั่วโมง ถึงจะเกิดเป็นอนุมูลอิสระขึ้น⁴⁵ จากการศึกษาของ Pieniza และคณะ พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกมีร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (%ABTS scavenging activity) มีค่าอยู่ระหว่าง 59 - 93⁴⁶ และจากการศึกษาของ Simone และคณะ พบว่า *Enterococcus durans* LAB18s มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระโดยมีร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอสเท่ากับ 72 [47] นอกจากนี้ยังพบว่า *L. rhamnosus* GG, *L. reuteri* ATCC 20016, *B. breve* ATCC 15700 และ *Probiobacterium freudenreichii* ATCC 1907 มีร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระเอบีทีเอสอยู่ระหว่าง 79 - 85⁴⁸

การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (Ferric ion reducing antioxidant power: FRAP assay) วิธีการนี้อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน $[\text{Fe(III)(TPTZ)}_2]^{3+}$ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ ซึ่งมีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร และปริมาณของ $[\text{Fe(II)(TPTZ)}_2]^{2+}$ ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูป FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต (FeSO_4) วิธีการนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่แพง และสามารถทำซ้ำแล้วให้ผลเหมือนเดิม แต่ข้อเสียคือ ปฏิกิริยา

ที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาเคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกาย⁴⁹ การศึกษาของ Ibrahim และคณะ ในปี ค.ศ. 2014 ได้ศึกษาเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของแบคทีเรียกรดแลคติกที่หมักในพืชสมุนไพรพบว่า FRAP values อยู่ระหว่าง 0.6 ถึง 1.0 mM FeSO₄⁵⁰ จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า *L. rhamnosus* 4B15 และ *L. gasseri* 4M13 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยพบว่ามีค่า FRAP เท่ากับ 1.734.3 μ M FeSO₄⁵¹ สารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกันอาจทำหน้าที่แตกต่างกันในแต่ละกลไกการต่อต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้นในการทดสอบใช้วิธีการเดียวอาจไม่สามารถประเมินความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระได้อย่างถูกต้องได้ ดังนั้นจึงต้องมีการทดสอบเพื่อยืนยันฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระหลายวิธีการทดสอบ นอกจากนี้ยังมีการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการอื่น ๆ เช่น เอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ การทดสอบในเซลล์เพาะเลี้ยง (cell culture) และการศึกษาในสัตว์ทดลอง (*in vivo*) เป็นต้น ซึ่งได้รวบรวมในตารางการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของจุลินทรีย์โพรไบโอติก (ตารางที่ 1)

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก

นมวัว นมแพะและนมอูฐที่หมักด้วยด้วยแบคทีเรียโพรไบโอติกสายพันธุ์ *Pediococcus pentosus* มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระโดยพบว่านมแพะหมักมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมีร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอ มากที่สุดรองลงมาคือ นมอูฐและนมวัวและการเปลี่ยนแปลงของโปรตีนภายในนมจะช่วยเพิ่มความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระได้⁵³ และมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ซินไบโอติก (synbiotic) ซึ่งเป็นการผสมระหว่างโพรไบโอติกสายพันธุ์ *L. helveticus* MTCC 5463 และพรีไบโอติก (prebiotic) ซึ่งประกอบด้วยอินูลิน เดมในน้ำส้ม⁵⁴ และมีรายงานการศึกษาฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันของหางนมถั่วเหลืองหมักด้วยแบคทีเรีย *L. plantarum* B1-6 ผลการศึกษาพบว่าหางนมถั่วเหลืองที่ได้รับการหมักด้วยแบคทีเรียกรดแลคติกมีปริมาณฟีนอลิก และมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS assay และ FRAP assay สูงกว่าหางนมถั่วเหลืองที่ไม่ได้รับการหมัก⁵⁵ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของนมถั่วเหลืองและนมวัวที่หมักด้วยแบคทีเรีย *S. thermophilus* ATCC 4356 และ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* IM 025⁵⁶ การหมักนมอัลมอนด์ด้วยโพรไบโอติก *L. reuter* และ *S. thermophilus* จะเป็นทางเลือกหนึ่งของสุขภาพและสำหรับผู้แพ้นมวัวและเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกจากนมอัลมอนด์⁵⁷ ปัจจุบันมีผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระอย่างมากมาหลายส่วนใหญ่อยู่ในรูปแบบอาหารเสริม (dietary supplement) เช่น แคปซูล เยลลี่ เป็นต้น (ตารางที่ 2) ซึ่งแสดงให้เห็นถึงความสนใจในการบริโภคผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระเหล่านั้นเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของจุลินทรีย์โพรไบโอติกจึงเป็นที่น่าสนใจในการพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกในรูปแบบอื่น ๆ ต่อไป

บทสรุป

โพรไบโอติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตมีประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพของมนุษย์ซึ่งปัจจุบันมีการนำโพรไบโอติกมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์หลากหลาย เช่น นมเปรี้ยว โยเกิร์ต น้ำผลไม้ และนมผงเด็ก เป็นต้น และมีการศึกษาพบว่าจุลินทรีย์โพรไบโอติกจะช่วยเพิ่มคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกได้ ซึ่งอนุมูลอิสระทำให้เซลล์ได้รับความเสียหายและเพิ่มอัตราเสี่ยงต่อการเป็นโรคเรื้อรังหลายชนิด ดังนั้นร่างกายจึงต้องการสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อป้องกันความเสียหายที่เกิดขึ้น ซึ่งจุลินทรีย์โพรไบโอติกมีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน

ในแต่สายพันธุ์และมีวิธีการทดสอบหลากหลายวิธี เพื่อยืนยันฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น ดังนั้นการนำจุลินทรีย์โพรไบโอติกมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระจึงเป็นแนวทางที่น่าสนใจในการส่งเสริมสุขภาพ แต่อย่างไรก็ตามต้องมีการศึกษาจุลินทรีย์โพรไบโอติกในด้านความปลอดภัยทั้งในหลอดทดลองและสัตว์ทดลองก่อนนำไปใช้ในมนุษย์ต่อไป

ตารางที่ 1 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของจุลินทรีย์โพรไบโอติก

โพรไบโอติก	วิธีการทดลอง	ส่วนที่ใช้ทดสอบ	อ้างอิง
<i>L. delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i> CICC11842,	Scavenging of hydroxyl radical, Reducing power assay,	intracellular cell-free extracts,	10
<i>L. plantarum</i> CICC23108, <i>E. durans</i> CICC20431,	DPPH assay		
<i>L. helveticus</i> CICC22171, <i>L. paracasei</i> CICC22166,			
<i>S. thermophilus</i> CICC6247, <i>Leu. mesenteroides</i>			
CICC20714, <i>E. faecium</i> CICC20420, <i>L. lactis</i>			
subsp. <i>lactis</i> CICC22259			
<i>L. brevis</i> P68	Resistance to Hydrogen Peroxide, Glutathione Peroxidase Assay,	cell	38
	Hydroxyl Radical Scavenging Activity, DPPH assay,		
	Superoxide Dismutase (SOD) Assay		
<i>L. plantarum</i> Ln4	DPPH assay, β -Carotene-bleaching assay	cell-free supernatant	58
<i>L. acidophilus</i> , <i>L. rhamnosus</i> , <i>L. casei</i>	DPPH assay	freeze-dried bacterial cell	59
<i>L. acidophilus</i> PTCC 1643	FRAP assay	whole cells, intracellular cell-free extracts	60
<i>L. brevis</i> LSe	DPPH assay, Reducing power assay	freeze-dried bacterial cell	61
<i>L. plantarum</i> MA2	Reducing activity assay, DPPH assay, Fe^{2+} -chelating assay,	supernatant, intact cell, cell-free extract	62

โพรไบโอติก	วิธีการทดลอง	ส่วนที่ใช้ทดสอบ	อ้างอิง
	Hydroxyl radical scavenging, Superoxide anion radical scavenging, Assay of lipid peroxidation inhibition capacity, Assay of mercapto content, SOD, and GSH-Px activity, Detection of genes involved in antioxidation		
<i>E. faecium</i> BDU7	DPPH assay	extrapolysaccharide	63
<i>L. plantarum</i> K46	Resistance to hydrogen peroxide, DPPH assay, Hydroxyl radical scavenging activity,	intact cell	64
<i>Saccharomyces cerevisiae</i> IFST062013	reducing power, Hydroxyl radical scavenging activity, chelate ferrous ion, cytotoxicity assay, DPPH assay, The scavenging activity of nitric oxide, phosphomolybdenum method,	yeast extracts	65
<i>L. pentosus</i>	β -carotene-linoleate model system, ABTS assay	intact and cell lysates	66

ตารางที่ 2 ผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติด้านอนุมูลอิสระ

เครื่องหมายทางการค้า	ชื่อผลิตภัณฑ์	บริษัท	รูปแบบผลิตภัณฑ์	โพรไบโอติก	อ้างอิง
	-Probiotic Antioxidant Blend -Probiotic and Antioxidant	BioVi LLC. , USA	capsules, soft chews, tablets	<i>Kluyveromyces marxianus</i> B0399	67
	-Airborne® Plus Probiotic Gummies	Reckitt Benckiser LLC., USA	gummies, tablets	<i>Bacillus coagulans</i>	68
	-Just Thrive Probiotic & Antioxidant	DMS Natural Health LLC., USA	capsules	<i>Bacillus Indicus</i> HU36®, <i>Bacillus coagulans</i> (SC 208), <i>Bacillus clausii</i> (SC 109), <i>Bacillus subtilis</i> HU58	69
	-Antioxidant Probiotic	Modus3 LLC., USA	capsules	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacteria</i>	70
	-Antioxidant Intense Chocolate + Probiotic Sampler	Smart Life Chocolate LLC., USA	chocolate	<i>Lactobacillus helveticus</i> R0052, <i>Bifidobacteria</i> <i>longgum</i> R0175	71
	-Rochway Lychee Iced Tea with Antioxidant Green Tea Probiotic Formula	Rochway Laboratories Ltd, Australia	beverage	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. planetarium</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>L. bulgaris</i> , <i>L. lactis</i> , <i>L. fermenti</i> , <i>Saccharomyces</i> <i>boulardii</i> , <i>S. cerevisiae</i>	72

เครื่องหมายทางการค้า	ชื่อผลิตภัณฑ์	บริษัท	รูปแบบผลิตภัณฑ์	โพรไบโอติก	อ้างอิง
	- Antioxidant Inner Beauty Boost	The Beauty Chef, Australia	beverage	<i>L. acidophilus</i> , <i>L. casei</i> , <i>L. plantarum</i> , <i>L. bulgaricus</i> , <i>L. fermenti</i> , <i>B. lactis</i> , <i>B. bifidum</i> , <i>S. cerevisiae</i>	73
	-Youth Catalyst: Age Resist Antioxidant + Probiotic Bio-Essential Concentrate	Skinn Cosmetics, USA	cosmetics	<i>Lactobacillus</i> , <i>Bifidobacteria</i>	74
	-Dark Chocolate Probiotic with 2 Billion with Antioxidant Vitamin E	The Nature's Bounty Co., USA	chocolate	<i>Bacillus coagulans</i> GBI-30 6086	75

เอกสารอ้างอิง

1. FAO/WHO. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotics in food report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotics in food London, Ontario, Canada 2002: April 30 and May 1. **Guidelines for the Evaluation of Probiotics in Food**, July 12th 2018. http://www.who.int/foodsafety/fs_management/en/probiotic_guidelines.htm.
2. Amara, A.A and et al. (2015). Role of Probiotics in health improvement, infection control and disease treatment and management. **Saudi Pharmaceutical Journal**. 23(2), 107-114.
3. Guandalini, S and et al. (2015). Probiotics for prevention and treatment of diarrhea. **Journal of Clinical Gastroenterology**. 49(1), 149-153.
4. de Vrese, M and et al. (2001). Probiotics-compensation for lactase insufficiency. **The American Journal of Clinical Nutrition**. 73(2), 421-429.
5. Ma, E.L and et al. (2010). The anticancer effect of probiotic *Bacillus polyfermenticus* on human colon cancer cells is mediated through ErbB2 and ErbB3 inhibition. **International Journal of Cancer**. 127(4), 780-790.
6. Han, K.J and et al. (2015). Anticancer and anti-inflammatory activity of probiotic *Lactococcus lactis* NK34. **Journal of Microbiology and Biotechnology**. 25(10), 1697-1701.
7. Sharma, D and et al. (2016). Anti-aging effects of probiotics. **Journal of Drugs in Dermatology**. 15(1), 9-12.
8. Schieber, M and et al. (2014). ROS function in redox signaling and oxidative stress. **Current Biology**. 24, 453-462.
9. Halliwell, B. (1999). Antioxidant defense mechanisms: from the beginning to the end (of the beginning). **Free Radical Research**. 31(4), 261-272.
10. Wurong, D and et al. (2017). Characterization of antioxidant properties of lactic acid bacteria isolated from spontaneously fermented yak milk in the Tibetan Plateau. **Journal of Functional Foods**. 35, 481-488.
11. Mishra, V and et al. (2015). Probiotics as potential antioxidants: A systematic review. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 63, 3615-3626.
12. Luo, D and et al. (2008). Structural identification of ginseng polysaccharides and testing of their antioxidant activities. **Carbohydrate Polymers**. 72, 376-381.

13. Persichetti, E and et al. (2014). Antioxidative capacity of *Lactobacillus fermentum* LF31 evaluated *in vitro* by oxygen radical absorbance capacity assay. **Nutrition**. 30, 936–938.
14. Holzapfel, W.H. and et al. (2002). Introduction to pre-and probiotics. **Food Research International**. 35, 109-116.
15. Dawood, M.A. and et al. (2016). Probiotics as an environment-friendly approach to enhance red sea bream, *Pagrus major* growth, immune response and oxidative status. **Fish and Shellfish Immunology**. 57, 170-178.
16. Sivan, A. and et al. (2015). Commensal *Bifidobacterium* promotes antitumor immunity and facilitates anti-PD-L1 efficacy. **Science**. 350, 1084–1089.
17. Shen, Q and et al. (2011). *In vitro* and *in vivo* antioxidant activity of *Bifidobacterium animalis* 01 isolated from centenarians. **Current Microbiology**. 62, 1097–1103.
18. Stecchini, M.L. and et al. (2001). Determination of peroxy radical-scavenging of lactic acid bacteria. **International Journal of Food Microbiology**. 64, 183-188.
19. Bao, Y and et al. (2012). Effect of *Lactobacillus plantarum* P-8 on lipid metabolism in hyperlipidemic rat model. **European Journal of Lipid Science and Technology**. 114, 123-1236.
20. Martarelli, D and et al. (2011). Effect of a probiotic intake on oxidant and antioxidant parameters in plasma of athletes during intense exercise training. **Current Microbiology**. 62, 1689-1696.
21. Sun, J and et al. (2013). Inhibition of Fe-induced colon oxidative stress by lactobacilli in mice. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 29(2), 209-216.
22. Grompone, G and et al. (2012). Anti-inflammatory *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-3690 strain protects against oxidative stress and increases lifespan in *Caenorhabditis elegans*. **PLoS One**. 7(12), 52493.
23. Mikelsaar, M and Zilmer M. (2009). *Lactobacillus fermentum* ME-3 - an antimicrobial and antioxidative probiotic. **Microbial Ecology in Health and Disease**. 21(1), 1-27.
24. Lee, J et al. (2006). Resistance of *Lactobacillus casei* KCTC 3260 to reactive oxygen species (ROS): role for a metal ion chelating effect. **Journal of Food Science**. 70(8), 388-391.
25. Gutteridge, J.M.C. and et al. (1979). Inhibition of the iron-catalyzed formation of hydroxyl radicals from superoxide of lipid peroxidation by desferrioxamine. **Biochemical Journal**. 184, 469-472.

26. Lin, M.Y. and et al. (1999). Antioxidative ability of lactic acid bacteria. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 47, 1460-1466.
27. Lee, J and et al. (2005). Resistance of *Lactobacillus casei* KCTC 3260 to reactive oxygen species (ROS): Role for a metal ion chelating effect. **Journal of Food Science**. 70, 388-391.
28. Ahire, J.J. and et al. (2013). Antioxidative potential of folate producing probiotic *Lactobacillus helveticus* CD6. **Journal of Food Science and Technology**. 50, 26-34.
29. Landis, G.N. and et al. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. **Mechanisms of Ageing and Development**. 126, 365-379.
30. Kullisaar, T and et al. (2002). Two antioxidative lactobacilli strains as promising probiotics. **International Journal of Food Microbiology**. 72, 215-224.
31. Ho, Y.S. and et al. (2004). Mice lacking catalase develop normally but show differential sensitivity to oxidant tissue injury. **Journal of Biological Chemistry**. 279, 32804-32812.
32. De LeBlanc, A.M. and et al. (2008). Oral administration of a catalase-producing *Lactococcus lactis* can prevent a chemically induced colon cancer in mice. **Journal of Medical Microbiology**. 57, 100-105.
33. Wang, A.N. and et al. (2009). Free radical scavenging activity of *Lactobacillus fermentum* in vitro and its antioxidative effect on growing-finishing pigs. **Journal of Applied Microbiology**. 107, 1140-1148.
34. Aluwong, T and et al. (2013). Effect of yeast probiotic on growth, antioxidant enzyme activities and malondialdehyde concentration of broiler chickens. **Antioxidants**. 2, 326-339.
35. Ejtahed, H.S. and et al. (2012). Probiotic yogurt improves antioxidant status in type 2 diabetic patients. **Nutrition**. 28, 539-543.
36. Wang, Y and et al. (2016). *Bacillus amyloliquefaciens* SC06 alleviates the oxidative stress of IPEC-1 via modulating Nrf2/Keap1 signaling pathway and decreasing ROS production. **Applied Microbiology and Biotechnology**. 101, 1-12.
37. Pompei, A and et al. (2007). Folate production by bifidobacteria as a potential probiotic property. **Applied and Environmental Microbiology**. 73, 179-185.
38. Mariadhas, V.A. and et al. (2015). Identification and Characterization of *Lactobacillus brevis* P68 with Antifungal, Antioxidant and Probiotic Functional Properties. **Indian Journal Microbiology**. 55(1), 19-28.

39. Zilmer, M and et al. (2005). The glutathione system as an attractive therapeutic target. **Drug Design Development and Therapy**. 2, 121-127.
40. Mohammad, M.A. and et al. (2006). Plasma cobalamin and folate and their metabolic markers methylmalonic acid and total homocysteine among Egyptian children before and after nutritional supplementation with the probiotic bacteria *Lactobacillus acidophilus* in yoghurt matrix. **International Journal of Food Sciences and Nutrition**. 57, 470-480.
41. Lee, V.S and et al. (2008). Structural determination and DPPH radical-scavenging activity of two acylated flavonoid tetraglycosides in oolong tea (*Camellia sinensis*). **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. 56(6), 851-853.
42. Abubakr, M and et al. (2012). Antioxidant activity of lactic acid bacteria (LAB) fermented skim milk as determined by 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and ferrous chelating activity (FCA). **African Journal of Microbiology Research**. 6(34), 6358-6364.
43. Xing, J and et al. (2015). Determining antioxidant activities of Lactobacilli cell-free supernatants by cellular antioxidant assay: a comparison with traditional methods. **PLoS One**. 10(1371), 1-16.
44. Kachouri, F and et al. (2015). Involvement of antioxidant activity of *Lactobacillus plantarum* on functional properties of olive phenolic compounds”, **Journal of Food Science and Technology**. 52(12), 7924-7933.
45. Javanmardi, J and et al. (2003). Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. **Food Chemistry**. 83(4), 547-550.
46. Pieniza, S and et al. (2015). Antimicrobial and antioxidant activities of *Enterococcus* species isolated from meat and dairy products. **Brazilian Journal of Biology**. 75(4), 923-931.
47. Simone, P and et al. (2014). Probiotic potential, antimicrobial and antioxidant activities of *Enterococcus durans* strain LAB18s. **Food Control**. 37, 251-256.
48. Abd El-Moneim, M.R. and et al. (2012). Antioxidant activity and biological evaluations of probiotic bacteria strains. **International Journal of Academic Research**. 4(6), 1-9.
49. Payne, A.C and et al. (2013). Antioxidant assays-consistent findings from FRAP and ORAC reveal a negative impact of organic cultivation on antioxidant potential in spinach but not watercress or rocket leaves. **Food Science & Nutrition**. 1(6), 439-444.
50. Ibrahim, N.A and et al. (2014). Effect of lactic fermentation on the antioxidant capacity of Malaysian herbal teas. **International Food Research Journal**. 21(4), 1483-1488.

51. Nam, S.O. and et al. (2018). Probiotic and anti-inflammatory potential of *Lactobacillus rhamnosus* 4B15 and *Lactobacillus gasseri* 4M13 isolated from infant feces. **PLoS One**. 13(2), e01920121.
52. Yang, W and et al. (2017). Antioxidant Properties of Probiotic Bacteria. **Nutrients**. 521(9), nu9050521.
53. Balakrishnan, G and Agrawal, R. (2014). Antioxidant activity and fatty acid profile of fermented milk prepared by *Pediococcus pentosaceus*. **Journal of Food Science and Technology**.10, 51(12), 4138–4142.
54. Shah, C and et al. (2016). Preparation, characterization and *in vitro* antioxidative potential of synbiotic fermented dairy products. **Journal of Food Science and Technology**. 53(4), 1984–1992.
55. Xiao, R and et al. (2005). Dietary exposure to soy or whey proteins alters colonic global gene expression profiles during rat colon tumorigenesis. **Molecular Cancer**. 4(1), 12-19.
56. Farnworth, E.R and et al. (2207). Growth of probiotic bacteria and bifidobacteria in a soy yogurt formulation, **International Journal of Food Microbiology**. 116(1), 174-181.
57. Bernata, N and et al. (2015). Almond milk fermented with different potentially probiotic bacteria improves iron uptake by intestinal epithelial (Caco-2) Cells. **International Journal of Food Studies**. 4(1), 49-61.
58. Sung-Ho, S and et al. (2017). Potential probiotic *Lactobacillus plantarum* Ln4 from kimchi: Evaluation of β -galactosidase and antioxidant activities. **Food Science and Technology**. 85, 181-186.
59. Richard, N and et al. (2015). Antibacterial and Antioxidant Activity of Extracts from Selected Probiotic Bacteria. **Journal of Food Research**. 4(5), 122-132.
60. Fermix, N and et al. (2016). Antioxidant Effect of *Lactobacillus acidophilus* as a Probiotic at Different Time Intervals. **Avicenna Journal of Clinical Microbiology and Infection**. 3(1), e34575.
61. Mojtaba, S and et al. (2017). Probiotic and antioxidant properties of selenium-enriched *Lactobacillus brevis* LSe isolated from an Iranian traditional dairy product. **Journal of Trace Elements in Medicine and Biology**. 40, 1-9.
62. Wei, T and et al. (2017). Molecular mechanisms and in vitro antioxidant effects of *Lactobacillus plantarum* MA2. **Food Chemistry**. 221, 1642-1649.

63. Kaja, A and et al. (2014). Antioxidant activity of exopolysaccharide from probiotic strain *Enterococcus faecium* (BDU7) from Ngari. **International Journal of Biological Macromolecules**. 70, 450-454.
64. Mariadhas, V.A. and et al. (2014). *In vitro* antifungal, probiotic and antioxidant properties of novel *Lactobacillus plantarum* K46 isolated from fermented sesame leaf. **Annals of Microbiology**. 64, 1333-1346.
65. Fakruddin and et al. (2017). Antimicrobial and antioxidant activities of *Saccharomyces cerevisiae* IFST062013, a potential probiotic. **BMC Complementary and Alternative Medicine**. 17(64), 1-11.
66. Menel, K and et al. (2015). Antioxidative and bioprotective effect of lactic acid bacteria on postharvest strawberry: intact and cell lysates. **Journal of Food Science and Technology**. 52(11), 7345-7352.
67. Bio Vi LLC. (2019). **A Revolutionary Probiotics**. Retrieved June 15, 2019, from <https://bioviprobiotics.com>.
68. Reckitt Benckiser LLC. (2019). **Airborne® Plus Probiotics Gummies-Assorted Fruit Flavors**. Retrieved June 15, 2019, from [http:// www.airbornehealth.com](http://www.airbornehealth.com).
69. DMS Natural Health LLC. (2019). **Just Thrive Probiotic & Antioxidant**. Retrieved June 15, 2019, from <https://thriveprobiotic.com>.
70. Modus3 LLC. (2019). **Antioxidant Probiotic**. Retrieved June 15, 2019, from <https://gobiotix.com>.
71. Smart Life Chocolate LLC. (2019). **Antioxidant Intense Chocolate + Probiotic Sampler**. Retrieved June 15, 2019, from <https://smartlifechocolate.com>.
72. Rochway Laboratories Ltd. (2019). **Rochway Lychee Iced Tea with Antioxidant Green Tea Probiotic Formula**. Retrieved June 15, 2019, from <https://www.rochway.com>.
73. The Beauty Chef. (2019). **Antioxidant Inner Beauty Boost**. Retrieved June 15, 2019, from <https://thebeautychef.com>.
74. Skinn Cosmetics. (2019). **Youth Catalyst: Age Resist Antioxidant + Probiotic Bio-Essential Concentrate**. Retrieved June 15, 2019, from <https://www.skinn.com>.
75. The Nature's Bounty Co. (2019). **Dark Chocolate Probiotic with 2 Billion with Antioxidant Vitamin E**. Retrieved June 15, 2019, from <https://www.naturesbountyco.com>

