บทที่ 5

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการคัดเลือกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ผลิต EPS

เชื้อจุลินทรีย์แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่นำมาทดสอบความสามารถในการผลิต EPS บนอาหารแข็งพบว่าสร้างได้ 25 เชื้อ แต่เมื่อนำไปทดสอบการสร้าง EPS ในอาหารเหลวพบว่าเชื้อที่สามารถผลิต EPS ได้มากกว่า 0.1 กรัมต่อลิตร มีเพียง 4 เชื้อคือ AP-1 , AP-3 , LE 13.1 และ LE 13.2 นอกจากนี้เมื่อแปรชนิดของคาร์บอน ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแลคโตส น้ำตาลฟรุคโตส และน้ำตาลซูโครส พบว่าเชื้อสามารถผลิต EPS ได้ในน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็น Specific substrates ในการสังเคราะห์ EPS เช่นเดียวกับ Levan, Mulans และ Dextrans (Cerning, 1990) และเช่นเดียวกับ *Pediococcus pentosaceus* ที่แยกได้จากไวน์ (Manca de Nadra and Strasser de Sadd, 1995) ซึ่งอาจขึ้นอยู่กับเชื้อแต่ละชนิดว่ามีความต้องการแหล่งคาร์บอนชนิดใด ในขณะที่ Roberts และคณะ (1995) พบว่าการผลิต EPS ของเชื้อ *Bifidobacterium longum* พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลแลคโตสจะให้ปริมาณ EPS สูงกว่าการใช้น้ำตาลซูโครส น้ำตาลฟรุคโตส หรือน้ำตาลกลูโคส ถึง 200-300 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งการที่น้ำตาลแลคโตสเหมาะสมต่อการผลิต EPS น่าจะเป็นเพราะเชื้อ *Bifidobacterim longum* สามารถหมักแลคโตสและเป็นเชื้อที่แยกได้จากผลิตภัณฑ์นมหมัก (Fermented milk product) ส่วน *Lactobacillus delbrueckil* subsp. *bulgalicus* NCFB 2772 สามารถสร้าง EPS ได้ในอาหารที่มีน้ำตาลแลคโตสหรือน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน แต่มีการเจริญต่ำมากเมื่อเจริญในน้ำตาลฟรุคโตสหรือน้ำตาลแมนโนส (Grobben *et al*, 1995)

การผลิต EPS จากเชื้อสายพันธุ์ Pedioccocci ที่พบในอุตสาหกรรมการผลิตเบียร์และไวน์ สามารถผลิต β-glucan โดยสามารถผลิตได้ 50 - 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่ออาหารประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส และผลิตได้ 5 - 10 มิลลิกรัมต่อลิตร ในน้ำตาลชนิดอื่น (Cerning, 1990)

Manca de Nadra และ Strasser de Saad (1995) ได้คัดแยกเชื้อ *Pedioccoccus pentosaceus* ที่สามารถผลิต EPS ได้จากไวน์ที่ผลิตในอาร์เจนตินา เป็นต้น

2. ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์เชื้อ

เมื่อเปรียบเทียบผลของลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเจริญ และชีวเคมี ตามตารางแสดงการจำแนกสปีชีส์ของ *Pediococcus* sp.ในตารางที่ 24 จากการพิจารณาในข้อที่ 1a พบว่าทั้ง AP-1 และ AP-3 เมื่อเจริญในอาหารที่มีน้ำตาลไรโบส (Ribose) เป็นแหล่งคาร์บอนจะสามารถสร้างกรดได้ สร้างแอมโมเนียจากการย่อยสลายอาจีนีนได้ (Hydrolysis of arginine) จึงไปพิจารณาในข้อที่ IIb พบว่าทั้ง AP-1 และ AP-3 ไม่สามารถเจริญได้เมื่ออยู่ในภาวะที่มีปริมาณเกลือโซเดียมคลอไรด์ 10 เปอร์เซนต์ ดังนั้นเชื้อก็จึงไม่น่าจะอยู่ในพวก *Pediococcus halophilus* เมื่อไปพิจารณาในข้อที่ IIIa พบว่าทั้ง AP-1 และ AP-3 ไม่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แต่สามารถหมักน้ำตาลมอลโตส (maltose)ดังนั้นทั้งเชื้อ AP-1 และ AP-3 จึงจัดอยู่ในสกุล Pediococcus และใกล้เคียงกับ *Pediococcus pentosaceus*

ตารางที่ 24 แสดงการจัดจำแนกเชื้อสกุล Pediococcus

I a) ribose fermented, NH_3 from arginine	II
I. b) ribose not fermented, no NH_3 from arginine	IV
II a) growth in 15% NaCl, L(+)-lactate produced	*P.halophilus*
II b) no growth in 15% NaCl, DL-lactate produced	III
III a) growth at 50°C, maltose not fermented	*P.acidilactici*
III b) no growth at 50°C, maltose fermented	*P.pentosaceus*
IV. a) starch fermented, L(+)-lactate produced	*P.dextrinicus*
IV. b) starch not fermented, DL-lactate produced	V
V. a) growth at 35°C	VI
V. b) no growth at 35°C	*P.damnosus*
VI. a) lactose fermented	*P.inopinatus*
VI. b) lactose not fermented	*P.parvulus.*

ที่มา : Weiss (1992)

3. ผลการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตและการผลิต EPS

การเจริญและการผลิต EPS ขึ้นอยู่กับเชื้อแต่ละสายพันธุ์ว่ามีความสามารถในว่ามีการผลิตได้ในช่วงใด จากการทดลองพบว่า ทั้ง AP-1 และ AP-3 มีลักษณะการสร้าง EPS เกิดขึ้นไปพร้อม ๆ กับการเจริญของเชื้อ และหยุดผลิตเมื่อเชื้อเข้าสู่ Stationary phase มีแนวโน้มว่า EPS เป็น Growth-associated แต่การผลิต EPS ยังไม่ทราบว่าจะดำเนินต่อไปในช่วง Stationary phase หรือไม่ ถ้าได้ทำการควบคุม pH เพราะเชื้อส่วนใหญ่ เมื่อ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อเข้าใกล้ 4.0 จะไม่สามารถเจริญได้ เพราะเชื้อจะตายทำให้ activity ทุกอย่างหยุด จึงพิสูจน์ไม่ได้ว่าเชื้อจะหยุดการผลิตเมื่อเข้าสู่ Stationary phase แต่จากการทดสอบทางชีวเคมีพบว่าเชื้อสามารถโตได้ที่ pH 4.0 ก็อาจจะสรุปได้ว่า การผลิต EPS เกิดขึ้นพร้อมการเจริญ เรียกว่า Growth-associated จึงอาจถือได้ว่า EPS เป็นสารเมทาบอไลท์ (Metabolite substance) แบบปฐมภูมิ (Primary metabolite) โดยพบว่า *Pediococcus cereviseae* ที่แยกได้จากไวน์จะเริ่มผลิต EPS ในช่วงปลายของ Logarithmic phase (Lonvaud-Funel and Jojeux, 1988) ส่วน *Pediococcus pentosaceus* ซึ่งแยกได้จากไวน์เช่นเดียวกันเริ่มผลิต EPS หลังจากชั่วโมงที่ 12 ซึ่งเป็นช่วง Stationary phase และหยุดผลิตหลังจากชั่วโมงที่ 22 ซึ่งลักษณะการผลิตขึ้นอยู่กับเชื้อแต่ละสายพันธุ์ และภาวะที่ใช้ในการผลิต (Sutherland, 1982) ซึ่งได้แก่ ชนิดของจุลินทรีย์ แหล่งคาร์บอน ปริมาณโปรตีน และแร่ธาตุต่าง ๆ ส่วน *L.sake* 0-1 สร้าง EPS ในช่วง Early growth phase และหยุดเมื่อเข้าสู่ Stationary phase (van den Berg *et al.*, 1995) นอกจากนี้ *Lactobacillus casei* และ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* CRL 420 สามารถสร้าง EPS ได้เมื่ออยู่ในช่วง Stationary growth phase (Manca de Nadra *et al.*,1985 ; Kojic *et al.*, 1992)

4. ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสร้าง EPS

เนื่องจากปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต EPS ขึ้นอยู่กับแหล่งคาร์บอน ปริมาณไนโตรเจน และปริมาณแร่ธาตุ รวมไปถึงสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการผลิต EPS จึงได้แปรปริมาณสารอาหาร ได้แก่ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณไนโตรเจน ปริมาณแร่ธาตุ อุณหภูมิ การให้อากาศ

4.1 ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหาร

4.1.2 ผลการแปรปริมาณน้ำตาล พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสจากปริมาณเดิมที่ใช้ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS คือ น้ำตาลซูโครส 2 % พบว่าปริมาณ EPS สูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับที่ Cerning (1990) ได้กล่าวว่าการผลิต EPS จะสูงเมื่อปริมาณน้ำตาลมีมากเกินพอ สำหรับเกณฑ์ที่ใช้ในการเลือกความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมนั้นน่าจะพิจารณาจากระดับของปริมาณซูโครสที่ให้ปริมาณ EPS ต่อปริมาณน้ำตาลซูโครสตั้งต้นสูง แต่เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลสูงจะมีผลทำให้ปริมาณเซลล์ค่อนข้างต่ำลง เนื่องจากเชื้ออาจถูกยับยั้งการเจริญเติบโต

4.1.2 ผลของการแปรปริมาณไนโตรเจน เนื่องจาก *Pediococcus* sp. เป็นเชื้อที่ไม่สามารถเจริญได้ ถ้าหากขาดคาร์โบไฮเดรตและมีความต้องการใช้สารประกอบบางชนิด ได้แก่ Biotin, Folic acid, Pentothenic acid , Pyridoxin ฯลฯ (Moshe, 1987) ทำให้อาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญของ Pediococcus จะมีสารที่อุดมไปด้วยโปรตีนหลาย ๆ ชนิด เช่น Yeast extract , Peptone , Beef extract แต่เนื่องจากสารดังกล่าวมีราคาค่อนข้างสูงจึงน่าที่จะแปรปริมาณและชนิดเพื่อให้ได้สูตรที่เหมาะสมที่สุด พบว่าสูตรที่เหมาะสมก็ยังคงจำเป็นต้องมีสารทั้ง 3 โดยใน AP-1 ใช้ Yeast extract : Peptone : Beef extract ในอัตราส่วน 0.5 : 1.0 : 1.0 กรัมต่อลิตร ส่วนใน AP-3 ต้องใช้สารดังกล่าว 0.5 : 1.5 : 1.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เนื่องจาก AP-1 และ AP-3 มีลักษณะการเจริญเป็นแบบ Growth-associate โดยมีการเจริญไปพร้อมกับการผลิต EPS ดังนั้นจึงทำให้จำเป็นต้องใช้โปรตีนในสูตรอาหารสูง เช่นเดียวกับการผลิต EPS ของเชื้อ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณ Hydrolysed casien จะมีผลทำให้การผลิต EPS เพิ่มขึ้นในช่วงเริ่มต้น (Garcia-Garibay and Marshall, 1991) และในเชื้อ *Bifidobacterium longum* พบว่าการใช้แหล่งไนโตรเจนเป็น Peptone และ Yeast extract จะให้ปริมาณ EPS สูงกว่าการใช้ Skim milk (Abbed *et al.*, 1995) แสดงว่าปริมาณโปรตีนและวิตามินจาก Beef extract , Yeast extract และ Peptone มีความสำคัญต่อการเจริญและการผลิต EPS ของเชื้อ *Pediococcus pentosaceus*

4.1.3 ผลการแปรปริมาณแร่ธาตุ Moshe (1990) ได้กล่าวว่า *P. pentosaceus* มีความต้องการใช้แร่ธาตุ (trace element) ในการเจริญและการผลิตกรด คือ $Mn^{2+} > Ca^{2+} > Fe^{2+} > Zn^{2+} = Fe^{3+} > Mg^{2+}$ ตามลำดับ สำหรับในสูตรอาหาร MRS มีแร่ธาตุที่สำคัญ 2 ชนิด คือ $MgSO_4.7\ H_2O$ และ $MnSO_4\ .\ 4\ H_2O$ พบว่าแร่ธาตุทั้งสองมีผลต่อการสร้าง EPS ของเชื้อสายพันธุ์ AP-1 ในขณะที่ พบว่าปริมาณ $MgSO_4$ เท่านั้นที่มีผลต่อการผลิต EPS ของเชื้อ AP-3

4.2 ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสม

4.2.1 ผลการศึกษาผลของอัตราส่วนของอากาศต่ออาหารและการเขย่า เนื่องจาก AP-1 และ AP-3 เป็นสายพันธุ์ของ *Pediococcus pentosaceus* ที่มีคุณสมบัติเป็น Facultative anaerobe ทำให้การเขย่ารวมทั้งระดับของอาหารเพื่อให้อากาศแก่จุลินทรีย์ไม่มีผลต่อการสร้าง EPS ของทั้งสองเชื้อ จึงทำให้ไม่ต้องสิ้นเปลืองพลังงานและลดต้นทุนการผลิตได้ ทำให้เป็นข้อได้เปรียบกว่าการผลิต Xanthan gum ซึ่งผลิตได้จากเชื้อ *Xanthomonas camprestis* ที่จำเป็นต้องใช้อากาศในการเจริญ และเมื่อผลิต EPS ไปได้ระดับหนึ่ง อาหารเลี้ยงเชื้อจะเกิดความหนืดมากทำให้ต้องใช้พลังงานมากในการกวนทำให้สิ้นเปลืองพลังงานซึ่งเป็นต้นทุนของการผลิต (Mc neil, 1993)

4.2.2 ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิ เนื่องจากเชื้อแต่ละสายพันธุ์นั้นจะมีภาวะที่เหมาะสมแตกต่างกันไป สำหรับ AP-1 และ AP-3 สามารถผลิต EPS ได้สูงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับ *Lactobacillus casei* CG11 ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จาก Cheese พบว่าสามารถผลิต EPS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้สูงกว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ถึง 50 เท่า โดยพบว่าการเพิ่มอุณหภูมิมีผลทำให้การผลิต EPS สูงและ *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* NCFB 2772 จะผลิต EPS ลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงถึง 45 องศาเซลเซียส (Garcia-Garibay and Marshall., 1991) ในทางตรงกันข้ามพบว่า *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *Streptococcus cremoris* และ *Streptococcus thermophilus* ที่อุณหภูมิสูงจะมีผลทำให้การผลิต EPS ต่ำ (Shallhaass., 1983)

5. การทำให้ EPS บริสุทธิ์บางส่วน

การทำให้ EPS บริสุทธิ์บางส่วนต้องมีการนำมาอาหารที่บ่มครบ 2 วัน นำไปแยกเซลล์ออกจากโดยใช้วิธีการ Centrifuge แล้วจึงนำอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนใสไปทำการตกตะกอนโดยใช้เอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ และเพื่อให้บริสุทธิ์มากขึ้นจึงทำการตกตะกอน 2 ครั้ง แล้วจึงละลาย EPS ในน้ำกลั่นจากนั้นจึงนำสารละลาย EPS ไป Dialysis ในน้ำกลั่น เป็นเวลา 3 วัน เพื่อให้สารโมเลกุลเล็ก เช่น น้ำตาล และแร่ธาตุต่างๆ ออกไป แล้วจึงนำไปทำแห้งโดยใช้ Freeze dry จะได้ EPS เป็นผงสีขาว ซึ่งในการทำแห้งอาจจะใช้วิธี Spray dry หรือการใช้อบแห้งแล้วจึงนำมาบดให้ละเอียด ซึ่งจะเป็นการควบคุมการละลายและการกระจายตัวในน้ำ ซึ่งการทำแห้งโดยวิธีการใช้ Freeze dry จะทำให้ช่วยรักษาสภาพของ EPS ได้ดี เนื่องจากความร้อนอาจมีผลทำให้โครงสร้างของ EPS เปลี่ยนแปลงจึงไม่เหมาะสมที่จะนำมาทดสอบคุณสมบัติและทำให้ EPS มีสีน้ำตาล (Pace and Righelato, 1980)

6. ผลการศึกษาคุณสมบัติด้านความหนืดของ EPS ในน้ำกลั่นความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

พอลีแซคคาไรด์ที่เป็นที่ต้องการด้านอาหารควรจะมีคุณสมบัติที่ดีคือ เมื่อ Shear rate เพิ่มขึ้น ความหนืดจะลดลง มีคุณสมบัติเป็นแบบ Psuedoplastic ทำให้มีลักษณะเป็นสารละลายที่มีความหนืด ซึ่งเราเรียกคุณสมบัตินี้ว่า Shear thinning โดยพบว่าสารละลาย AP-1 และ AP-3 มีคุณสมบัติดังกล่าวเช่นเดียวกับ Xanthan gum และพอลีแซคคาไรด์อื่น ได้แก่ Guar gum, Hydroxyethylcellulose, Locust bean gum Sodium carboxymethylcellulose และ Sodium alginate เป็นต้น (Urlacher and Dalbe,1992)

7. ผลของปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติด้านความหนืด

7.1 ผลของอุณหภูมิ

สารละลายพอลีแซคคาไรด์มีแนวโน้มที่ความหนืดลดลงเมื่ออุณหภูมิเปลี่ยนแปลงไป แสดงให้เห็นว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สารละลายพอลีแซคคาไรด์ของทั้ง 2 ตัว

จะมีความหนืดที่คงตัว ดังที่ Linton และคณะ (1991) ได้รายงานว่า อุณหภูมิหลอมเหลว (Melting temperature : Tm) ของพอลีแซคคาไรด์ หมายถึง อุณหภูมิที่ทำให้พอลีแซคคาไรด์เปลี่ยนจากที่เคยอยู่ในรูป ordered conformation ไปเป็นอยู่ในรูป disordered conformation ซึ่งจะมีผลต่อค่าความหนืดของสารละลายทำให้ค่าความหนืดของสารละลายลดลง เนื่องจากค่าความหนืดขึ้นอยู่กับอุณหภูมิ เช่น ในกรณีของ Succinoglycan สารละลายจะมีความหนืดลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงกว่า Tm โดยความหนืดจะลดลงมาเหลือ 10 เปอร์เซ็นต์ ของที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

7.2 <u>ผลของ pH</u>

เนื่องจากพอลีแซคคาไรด์แต่ละชนิดมีความหลากหลายบางชนิดสามารถทนต่ออิออนบางชนิดได้ จากการทดลองพบว่า AP-1 มีสายพอลีแซคคาไรด์ที่ไม่ทนต่อกรดโดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดไฮโดรคลอริกอาจจะมีผลไปตัดสายพันธะของ EPS ทำให้การความหนืดลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนในสารละลายบัฟเฟอร์มีลักษณะความหนืดเหมือนกับ AP-3 ซึ่งพบว่ายังมีความคงตัวในด้านความหนืดในช่วง pH 4.0 -10.0 ซึ่ง AP-3 คงตัวที่อุณหภูมินี้ทั้งในสารละลายที่ปรับ pH ด้วยกรด และบัฟเฟอร์ ซึ่งคุณสมบัติในการทนต่อความร้อนเป็นคุณสมบัติเฉพาะของสารละลายพอลีแซคคาไรด์แต่ละตัว เช่น Xanthan gum ที่ผลิตทางการค้ามีความสามารถทน pH ได้ระหว่าง 1 ถึง 12 เป็นต้น (Kang and Pettitt., 1993)

7.3 <u>ผลของเกลือต่อความหนืด</u>

EPS เมื่อละลายอยู่ในสารละลาย NaCl และ KCl ซึ่งเป็นสารประเภท Electrolite จะมีผลทำให้ความหนืดของสารละลายสูงขึ้น เช่นเดียวกับ Xanthan gum เมื่อละลายในสารละลายที่มี NaCl ความเข้มข้น 1.0 % ความหนืดของสารละลายจะเพิ่มขึ้น (Kang and Pettitt, 1993) ซึ่งแตกต่างจากพอลีแซคคาไรด์ที่ผลิตโดย *Lactobacillus sake* 0-1 พบว่าถ้ามีพอลีแซคคาไรด์ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-0.5 % NaCl มีผลทำให้ความหนืดลดลง (Van den Berg *et al.*, 1995) แต่เมื่อความเข้มข้นของ NaCl และ KCl สูงขึ้นมาก ๆ จะมีผลทำให้พอลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากเชื้อ AP-1 และ AP-3 จะไม่ละลาย เนื่องจากสารจำพวก Electrolyte นี้จะแย่งการจับกับน้ำทำให้พอลีแซคคาไรด์แยกตัวออกจากน้ำ เป็นผลทำให้ค่าความหนืดลดลง

และยิ่งปริมาณเกลือสูงมากขึ้นอาจทำให้ EPS ไม่สามารถละลายได้เกิดการตกตะกอนออกมา ตัวอย่างเช่น scleroglucan ซึ่งเป็นพอลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากเชื้อรามีคุณสมบัติที่จะเกิดการตกตะกอน และไม่ละลาย เมื่อมีความเข้มข้นของเกลือสูงเช่นเดียวกัน (Brigand, 1993) นอกจากนี้ยังมีการใช้ NaCl และ KCl ในเพื่อช่วยในการเกิดเจล เช่น Gellan ซึ่งเป็นพอลีแซคคาไรด์ที่ผลิตจากจุลินทรีย์เช่นเดียวกัน สามารถเกิดเจลได้เมื่อมี NaCl หรือ KCl แต่เจลที่ได้จะมีความคงทนต่อการนำไป autoclave ต่ำกว่าการใช้สารจำพวก divalent คือ Mg^{2+} หรือ Ca^{2+} (Kang and Pettitt, 1993)

8. ผลของปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติด้านความหนืด

8.1 ชนิดประจุของโพลีแซคคาไรด์

พบว่า EPS ที่ผลิตได้จาก AP-1 และ AP-3 มีลักษณะประจุเป็นแบบ Neutral polysaccharides เนื่องจากเมื่อมีการเติม Cetylpyridinium chloride แล้วไม่เกิดการตกตะกอน เช่นเดียวกับ Levan, Scleroglucan, Pullulan, Dextran และ Curdlan (Margaritis and Pace, 1985) โดยมีการเปรียบเทียบกับ Xanthan gum ซึ่งมีลักษณะเป็นแบบ Acidic polysaccharides ที่เกิดการตกตะกอน

8.2 การทดสอบหาชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบของ EPS

การใช้สภาวะที่กรดในการย่อยสายพอลีเมอร์แล้วนำไปฉีดด้วยเครื่อง HPLC พบว่า EPS ที่ได้จากทั้ง AP-1 และ AP-3 มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือ น้ำตาลกลูโคส ทำให้สามารถจัดอยู่ในพวก Homopolysaccharides ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Cerning (1990) ว่า EPS ที่ผลิตได้จากเชื้อพวกแลคติกแอซิดแบคทีเรียมักมีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบคือ น้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลกาแลคโตส เป็นต้น

8.3 ผลการทดสอบหาน้ำหนักโมเลกุล

พบว่าน้ำหนักโมเลกุลและขนาดของ Degree of polymerization ของ AP-1 ต่ำกว่าของ AP-3 ซึ่งทำให้สอดคล้องกับผลของคุณสมบัติด้านความหนืดเนื่องจาก EPS ที่ผลิตได้จาก AP-1 มีความคงตัว (Stability) ต่ำกว่า AP-3 เนื่องจากค่าความหนืดของพอลีแซคคาไรด์ขึ้นอยู่กับน้ำหนักโมเลกุล และ Degree of polymerization โดยพอลีแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนัก

โมเลกุลสูงจะมีความหนืดสูงกว่าพวกที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ส่วนพวกที่มีค่า Degree of polymerization สูงกว่าก็จะมีความหนืดสูงกว่าพวกที่มีค่านี้ต่ำ (วาทินีย์ ปรีชาจารย์, personel communication)

8.4 ผลการทดสอบหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมด

พอลีแซคคาไรด์ที่ได้เป็นพวกที่มีกลูโคสเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งกลูโคสเป็นสารประกอบจำพวกคาร์โบไฮเดรต ในการทดสอบนี้จึงเท่ากับเป็นการทำการทดลองเพื่อหาปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดพบว่า EPS มีปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงถึง 90.25 เปอร์เซ็นต์ และ 85.20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เช่นเดียวกับพอลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จาก *Lactobacillus brevis* ที่ได้มีรายงานว่า EPS ประกอบด้วยปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดสูงถึง 98 - 99 เปอร์เซ็นต์ (Pidoux *et al*,, 1988)

8.5 ผลการทดสอบหาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด

พอลีแซคคาไรด์ที่ได้มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดต่ำมาก คือ 0.001 และ 0.004 เปอร์เซ็นต์ แสดงว่าวิธีการแยกนี้เป็นวิธีที่เหมาะสมต่อพอลีแซคคาไรด์ที่ได้จาก AP-1 และ AP-3 เนื่องจากเป็นวิธีที่ทำให้การผลิตได้ EPS ที่มีความบริสุทธิ์มากซึ่ง Pidoux และคณะ (1988) ได้รายงานว่าพอลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จาก *Lactobacillus brevis* ประกอบด้วยโปรตีนทั้งหมด เพียง 0.045 - 0.065 %

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย