บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

Exopolysaccharides (EPSs) เป็นพอลิเมอร์ที่ถูกสร้างโดยแบคทีเรียและ สาหร่ายบางชนิด แล้วปล่อยออกมานอกเซลล์ขณะที่มีการเจริญและเกิดเป็นลักษณะที่เรียกว่าสารเมือก (slime)ซึ่งต่างจากสารกลุ่มโพลิแซคคาไรด์ที่เกาะอยู่กับผิวหน้าอย่างถาวรที่เรียกว่า capsular polysaccharides โดย EPSs ถูกสร้างมาเพื่อเป็นสารป้องกันตัวเซลล์จากความแห้งแล้ง ใช้ในการยึดตัวเซลล์กับสิ่งแวดล้อม และใช้ในการป้องกันเซลล์จากการถูกจับกิน (Sutherland, 1985) แบคทีเรียแลกติกเป็นแบคทีเรียกลุ่มหนึ่งที่มีความสามารถในสร้าง EPSs ได้ โดยในปัจจุบันได้มีการศึกษานำ EPSs ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลกติกมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเช่นเป็นสารเพิ่มความหนืด ปรับปรุงผิวสัมผัส และเพิ่มความคงตัวของอาหาร ทั้งนี้เนื่องด้วยแบคทีเรียแลกติกเป็นแบคทีเรียที่ยอมรับว่ามีความปลอดภัย จึงได้รับความสนใจในการนำมาประยุกต์ใช้มากขึ้น (Kitazawa *et al*., 1991) เป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าแบคทีเรียโปรไบโอติกโดยเฉพาะ *Lactobacillus* ละ *Bifidobacterium* มีบทบาทในการปรับสมดุลจุลินทรีย์ในทางเดินอาหารของคนซึ่งแบคทีเรียในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่สามารถผลิต EPSs ได้จึงเป็นไปได้ว่าบทบาทในการส่งเสริมสุขภาพของเจ้าบ้าน (host)โดย แบคทีเรียโปรไบโอติกจะมีความเกี่ยวข้องกับคุณสมบัติทางชีวภาพของ EPSs ที่แบคทีเรียผลิตขึ้น (De Vuyst and Degeest, 1999) ต่อมาจึงมีการศึกษาคุณสมบัติทางชีวภาพของ EPSs ที่มีความเกี่ยวข้องกับสุขภาพมากขึ้นโดยจากการศึกษาพบว่า EPSs ที่ผลิตโดย *Lactobacillus lactis* subsp. cremoris KVS20 สามารถกระตุ้นการเพิ่มจำนวนของ B-cell ในหนูได้ (Kitazawa *et al*.,1991 อ้างโดย Ruas-Madiedo *et al*., 2002) เช่นเดียวกันกับ EPSs ที่ผลิตโดย *L. lactis* subsp. cremoris SBT 0495 ที่มีบทบาทในการเพิ่มการผลิตแอนติบอดีในหนู (Forsen *et al.,* 1987 อ้างโดย Ruas-Madiedo *et al*., 2002) ดังนั้นแนวทางในการศึกษาบทบาทของ EPSs ที่มีความเกี่ยวข้องกับสุขภาพจึงเพิ่มขึ้นโดยเฉพาะอย่างยิ่งการศึกษาเพื่อพัฒนาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food) เช่นการศึกษาเพื่อนำ EPSs มาใช้เป็นพรีไบโอติก ซึ่งหมายถึงอาหารที่ไม่ถูกย่อยหรือดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนบนและมีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติกในทางเดินอาหารของเจ้าบ้าน (Gibson และ Roberfroid, 1995) จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า EPSs ที่ผลิตโดย *L. sanfranciscensis* LTH 1725 และ *L. sanfranciscensis* 2590 สามารถส่งเสริมการเจริญของ *Bifidobacterium* (Dell Bello, 2001) เช่นเดียวกันกับการศึกษา

ของ Korakli (2002) ซึ่งได้รายงานว่า EPSs ที่ผลิตโดย *L. sanfranciscensis* TMW1.392 มีบทบาทในการส่งเสริมการเจริญของโปรไบโอติกในลำไส้ได้ ดังนั้นการศึกษาถึงคุณสมบัติทางชีวภาพของ EPSs จากแบคทีเรียแลกติกจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้คัดแยกแบคทีเรียแลกติกที่ผลิต EPSs จากทางเดินอาหารสัตว์ทะเลซึ่งเป็นครั้งแรกที่มีการคัดเลือกแบคทีเรียแลกติกที่ผลิต EPSs จากทางเดินอาหารของสัตว์ทะเลเนื่องจากก่อนหน้านี้ไม่มีรายงานเกี่ยวกับ คุณสมบัติของ EPSs ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากแหล่งดังกล่าวมาก่อน

บทตรวจเอกสาร

1. พอลิเมอร์ชนิดโพลิแซคคาไรด์ (Polysaccharides polymer)

Sutherland (1990, อ้างโดย Sutherland, 1995) ได้จำแนกชนิดของโพลิแซคคาไรด์ตามองค์ประกอบภายในโมเลกุลออกเป็น 4 กลุ่มคือ

1.1 โพลิแซคคาไรด์ที่มีองค์ประกอบเป็นสารอินทรีย์ โดยสารอินทรีย์ที่พบในโครงสร้างของโพลิแซคคาไรด์ ได้แก่ อะซิเตท ไพรูเวท ซักซิเนต โพรพิโอเนต ซึ่งสารอินทรีย์เหล่านี้จะมีผลต่อประจุรวม (Overall charge) บนโมเลกุลของโพลิแซคคาไรด์และนอกจากสารดังกล่าวแล้วยังพบกรดอะมิโน ได้แก่ ซีรีน และ กรดกลูตามิก ในโครงสร้างของโพลิแซคคาไรด์ ที่ได้จากแบคทีเรียบางชนิดด้วย

1.2 โพลิแซคคาไรด์ที่มีองค์ประกอบเป็นสารอินทรีย์ฟอสเฟตซึ่งเป็นสารอินทรีย์ที่พบได้บ่อยในโครงสร้างของโพลิแซคคาไรด์ซึ่งจะเหมือนกับกรด teichoic โดยจะอยู่ในรูปของ phosphorylated exopolysaccharides พบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมบวก นอกจากพบฟอสเฟตในโครงสร้างของโพลิแซคคาไรด์แล้ว ยังพบโพลิแซคคาไรด์ชนิดซัลเฟตอยู่ในโครงสร้างของโมเลกุลด้วย

1.3 Homopolysaccharides เป็นโพลิแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเพียงชนิดเดียวในโครงสร้าง เช่น glucan ซึ่งมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบหลัก จากการที่น้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะที่ต่างกันจึงทำให้สามารถแบ่ง glucanได้หลายชนิด ได้แก่ bacterial cellulose (β-D-glucan), pullulan (α-D-glucan), curdlan ((1,3)-β-D-glucan from bacteria), scleroglucan ((1,3) (β-D glucan from fungi) (Sutherland, 1998)

1.4 Heteropolysaccharides โพลิแซคคาไรด์ที่จัดอยู่ในกลุ่มนี้จะพบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่แตกต่างกันตั้งแต่ 2 ชนิดขึ้นไป แต่ในบางชนิดอาจพบน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่ต่างกันถึง 5 ชนิดซึ่งจากองค์ประกอบที่แตกต่างกันนี้ทำให้คุณสมบัติของโพลิแซคคาไรด์แตกต่างกันออกไป เนื่องจากพันธะและโครงสร้าง ของโมเลกุลต่างกันและบางครั้งอาจมี acyl substituents อยู่ภายในโมเลกุลด้วย

จากคุณสมบัติทางด้านชีวภาพและกายภาพสามารถนำ EPSs ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์มาประยุกต์ในด้านต่างๆ เช่นทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร การใช้ในการทำเครื่องสำอาง และการประยุกต์ใช้เกี่ยวกับการแพทย์ (ตารางที่ 1)

ตารางที่ 1 การประยุกต์ใช้โพลิแซคคาไรด์จากจุลินทรีย์

Table1. Established applications of microbial exopolysaccharides.

	Use	Polymer
Biological properties:	Antitumour agents	B-D-glucan
	Eye and joint surgery	Hyaluronic acid
	Heparin analogues	*Escherichia coli*
	Wound dressings	Bacterial cellulose
Chemical properties:	Enzyme substrates	*Escherichia coli*
	Oligosaccharide preparation	Curdlan, pullulan
Physical properties:		
Emulsion stabilization	Food, thixotropic paints	Xanthan
Fiber strength	Acoustic membranes	Bacterial cellulose
Film formation	Food coatings	Pullulan
Flocculant	Water clarification. Ore extraction	Various
Foam stabilization	Beer, fire –fighting fluids	Xanthan
Gelling agents	Cell and enzyme technology	Gellan
	Food	Curdlan, Gellan
	Oil recovery (blockage of permeable zones)	Curdlan, xanthan
Hydrating agent	Cosmetics, pharmaceuticals	Hyaluronic acid
Inhibitor of crystalformation	Frozen foods, pastilles and sugar syrups	Xanthan
Sheer thinning ,viscosity Control	Oil-drilling “ muds”	Xanthan
Suspending agent	Food	Xanthan
	Paper coatings	Various
	Agrochemical pesticides and sprays	Xanthan
Viscosity control	Jet printing	Xanthan

ที่มา: Sutherland (1998)

2. Exopolysaccharides จาก แบคทีเรียแลกติก

Exopolysaccharides (EPSs) เป็นพอลิเมอร์ที่สร้างโดยแบคทีเรียและ microalage แล้วปล่อยออกมานอกเซลล์ขณะที่มีการเจริญและเกิดเป็นลักษณะที่เรียกว่าสารเมือก (slime) ซึ่งแตกต่างจากสารกลุ่มโพลิแซคคาไรด์ที่เกาะอยู่กับผิวหน้าอย่างถาวรที่เรียกว่า capsular polysaccharides (Sutherland, 1985) โดยเฉพาะ EPSs ที่ผลิตโดยแบคทีเรียในกลุ่มแลกติกที่เป็นกลุ่มพอลิเมอร์ที่มีการศึกษามากขึ้นเนื่องจากแบคทีเรียแลกติกเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในกลุ่มที่มีความปลอดภัย (Generally recognized as safe, GRAS) โดยได้นำมาประยุกต์ใช้ในด้านต่างๆ เช่นด้านอาหารเพื่อเป็นการปรับปรุงผิวสัมผัสของอาหาร เป็นสารเพิ่มความหนืด ในด้านเภสัชกรรมใช้เป็นพลาสเตอร์และเป็นสารห่อหุ้มตัวยาเพื่อควบคุมการออกฤทธิ์ของยาเฉพาะที่เป็นต้น โดย EPSs ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลกติกสามารถจัดแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มโดยอาศัยองค์ประกอบของพอลิเมอร์คือ

2.1 Homopolysaccharides (HoPSs)

Homopolysaccharides เป็น พอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเพียงชนิดเดียว โดยถ้าประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสจะเรียกว่า glucan ในขณะที่หากมีน้ำตาลฟรุคโตสเป็นองค์ประกอบจะเรียกว่า fructan โดยเอนไซม์ที่มีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ glucan และ fructan ได้แก่ glucosyltransferase (GTFs) และ fructosyltransferase (FTFs) ตามลำดับ การทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวไม่เพียงแต่มีความเกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์ EPSs เท่านั้นแต่ยังมีความสำคัญกับกระบวนการเมทาบอลิซึมภายในเซลล์อีกด้วยโดยประมาณของ HoPSs ที่ผลิตได้นั้นจะขึ้นอยู่กับการทำงานของเอนไซม์ สายพันธุ์ของแบคทีเรีย สภาวะในการเจริญ และความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสซึ่งเป็นสารตั้งต้นที่มีความจำเพาะในการผลิต HoPSs (Korakli *et al*., 2006)

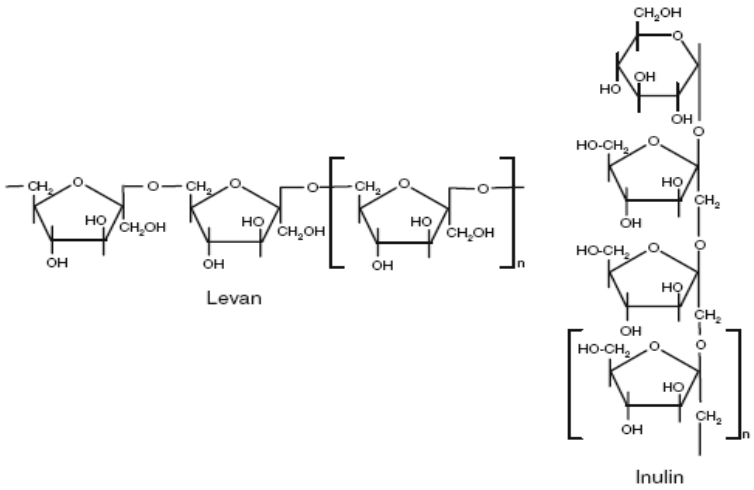
2.1.1 Fructan เป็น EPSs ที่ภายในสายพอลิเมอร์ประกอบด้วยน้ำตาล ฟรุคโตส เพียงชนิดเดียวและมีเอนไซม์ Fructosyltransferase (FTFs) ในการสังเคราะห์โดยมีน้ำตาลซูโครสเป็นสารตั้งต้นโดยปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณการผลิต fructan น้ำหนักโมเลกุล และชนิดของพันธะที่เชื่อมภายในพอลิเมอร์ ได้แก่ การทำงานของเอนไซม์ที่มีความเกี่ยวข้องกับกระบวนการในการสังเคราะห์ ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส และ สายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิต โดยแบคทีเรียที่มีรายงานว่าสามารถผลิต EPSs ชนิดนี้ได้คือ *Leuconostoc*, *Lactobacillus* และ *Weissella* (Monsan *et al*., 2001) ซึ่งสายพันธุ์ที่มีการผลิต fructan ได้แสดงตามตารางที่ 2 โดยในปัจจุบัน fructan ที่ได้รับความสนใจในการศึกษานั้นเป็น inulin ซึ่งต่อกันด้วยพันธะ β-(2-1) และ levan ซึ่งต่อกันด้วยพันธะ β-(2-6) ดังแสดงใน ภาพที่ 1

ตารางที่ 2 Fructan ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลกติก

Table 2. Fructan produced by lactic acid bacteria.

Organism	EPSs
Lactobacillus reuteri	Inulin, levan
Lactobacillus sanfranciscensis	Levan
Lactobacillus acidophilus	Fructan
Lactobacillus crispatus	Fructan
Lactobacillus mucosae	Fructan
Lactobacillus pontis	Fructan
Lactobacillus frumenti	Fructan
Lactobacillus panis	Fructan
Streptococcus salivarius	Levan
Streptococcus mutans	Levan
Weissella confusa	Fructan

ที่มา: ดัดแปลงจาก Korakli (2006)



ภาพที่ 1 โครงสร้างของ levan และ inulin

Figure 1. Structure of levan and inulin

ที่มา: Korakli (2006)

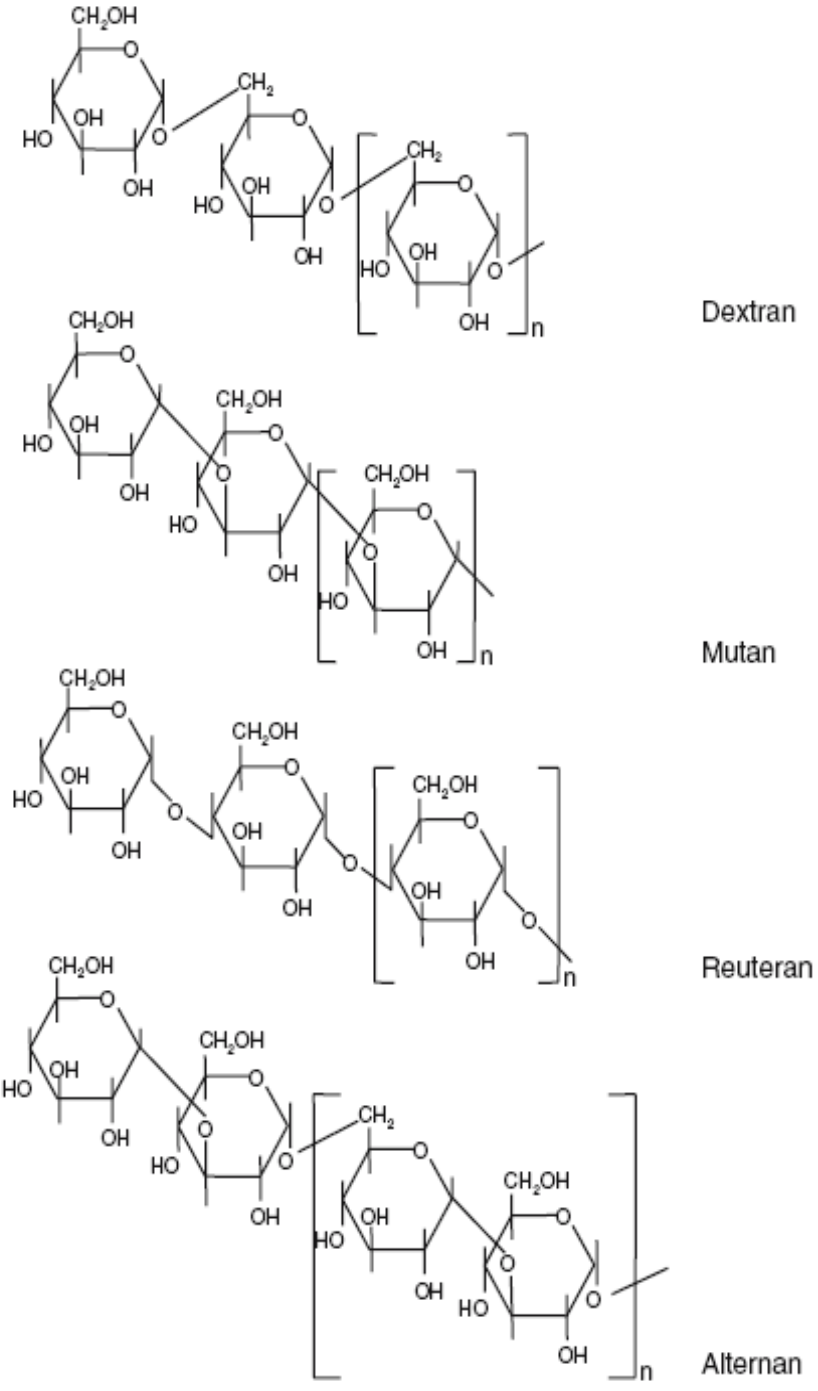
2.1.2 Glucan เป็นพอลิเมอร์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงซึ่งประกอบด้วยหน่อยย่อยที่เป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งผลิตโดยเอนไซม์ GTFs โดยใช้น้ำตาลซูโครสเป็นสารตั้งต้น เช่นเดียวกันกับ fructan ที่น้ำหนักโมเลกุล พันธะที่เชื่อมกันภายในโมเลกุล และปริมาณที่ผลิตได้นั้นจะขึ้นอยู่กับการทำงานของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการในการสังเคราะห์ และความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เป็นสารตั้งต้น โดยที่จุลินทรีย์ที่มีการรายงานว่าสามารถผลิต EPSs ในกลุ่ม glucan ได้แก่ *Leuconostoc*, *Streptococcus*, *Weissella* และ *Lactobacillus* (Monsan *et al*., 2001 อ้างโดย Korakli, 2006) Glucan ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์สามารถแบ่งได้เป็น α และ β-glucan ดังแสดงในตารางที่ 3 และโครงสร้างของ glucan แต่ละชนิดได้แสดงในภาพที่ 2

ตารางที่ 3 glucan ชนิดต่างๆ ที่ผลิตโดย แบคทีเรียแลกติก

Table 3. Difference glucan types produced by Lactic acid bacteria.

	Organisms
α-Glucan	
Glucan α-(1⟶2)	*L. mesenteroides*
Mutan α-(1⟶3)	*S. mutans*, *S. salivarius*, *L.mesenteroides*, *L. reuteri*
Reuteran α-(1⟶4)	*L. reuteri*
Dextran α-(1⟶6)	*L. mesenteroides*, *L. reuteri*, *L. sakei*, *L. fermentum*, *L. parabuchneri*, *L. curvatus*
Alternan α-(1⟶6) + α-(1⟶3)	*L. mesenteroides*
β-Glucan	
β-Glucan	*P. damnosus, P. parvulus, L. spec*

ที่มา ดัดแปลงจาก Korakli (2006)



ภาพที่ 2โครงสร้างของ dextran, mutan, reuteran และ alternan

Figure 2. Structure of dextran, mutan, reuteran and alternan

ที่มา: Korakli (2006)

นอกจากนี้มีรายงานพบว่า *L. mesenteroides* NRRL B-1355 ผลิต glucan ที่ต่อกันด้วยพันธะ α-(1-2) ในขณะที่ mutan ซึ่งเป็น glucan สายตรงที่ประกอบด้วย พันธะ α-(1-3) มากกว่าร้อยละ 50 และแบคทีเรียที่สามารถผลิตพอลิเมอร์กลุ่มนี้ได้แก่ *S. mutans* เช่นเดียวกันกับ *L. reuteri* ML1 ในขณะที่ reuteran ซึ่งเป็น glucan ที่ประกอบด้วย พันธะ α-(1-4) มีแบคทีเรียที่ได้รับรายงานว่าสามารถผลิต reuteran ได้แก่ *L. reuteri* 121 และ *L. reuteri* ATCC 5570 ส่วน dextran ซึ่งประกอบด้วยพันธะ α-(1-6) เป็นหลักนั้น พบว่าแบคทีเรียที่สามารถผลิตได้แก่ *L. mesenteroides* และ *Lactobacillus* ในขณะที่ alternan ซึ่งโครงสร้างภายในสายพอลิเมอร์นั้นมีการสลับพันธะระหว่าง α-(1-6) และ α-(1-3) ถูกผลิตโดย *L. mesenteroides* ส่วน β-glucan มีรายงานว่า มีการผลิตโดยแบคทีเรียแลกติกนั้นยังน้อยอยู่ โดยแบคทีเรียที่พบการผลิตได้แก่ *P. damnosus*, *P. parvalus* และ *Lactobacillus* sp. (Werning *et al*., 2006)

2.2. Heteropolysaccharides (HePSs)

Heteropolysaccharidesเป็นพอลิเมอร์ที่มีองค์ประกอบของน้ำตาลที่ต่างชนิดกันโดยแบคทีเรียแลกติกส่วนใหญ่สามารถผลิต EPSs ชนิดนี้ได้ โดยน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบย่อยภายในสายพอลิเมอร์ส่วนใหญ่จะพบน้ำตาลกาแลคโตส และกลูโคส แต่ในบางครั้งอาจจะตรวจพบน้ำตาลแรมโนส ฟรุคโตส แมนโนส และกาแลคโตส แต่พบในปริมาณน้อย (Van den Berg *et al.,* 1995) โดยที่แบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์มีความสามารถในการผลิต EPSs ที่มีโครงสร้างและองค์ประกอบที่เป็นน้ำตาลหน่วยย่อยที่ต่างกันดังได้แสดงในตารางที่4

3. ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต Exopolysaccharides โดย แบคทีเรียแลกติก

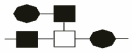
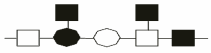
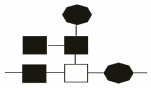
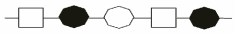
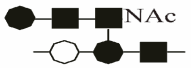
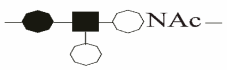
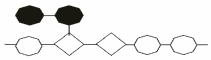
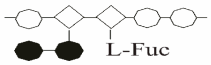
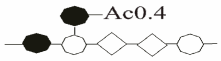
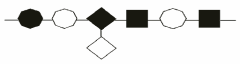
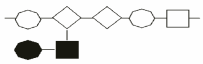
การผลิต EPSs ของ แบคทีเรียแลกติกนั้น ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบในอาหาร (แหล่งคาร์บอนและ ไนโตรเจน) และสภาวะที่ใช้ในการเลี้ยง เช่น อุณหภูมิ พีเอช ปริมาณออกซิเจนและเวลาที่ใช้ในการเจริญ (Cerning, 1990)

3.1 ชนิดของแหล่งไนโตรเจน

จากการศึกษาพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างปริมาณแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนมีความสำคัญเป็นอย่างยิ่งต่อการเพิ่มการผลิต EPSs สำหรับแบคทีเรียแลกติก (Degeest and De Vuyst, 1999) ซึ่ง Macedo และคณะ (2002) ได้ทดลองนำหางนมมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อผลิต EPSs พบว่าการใช้หางนมเป็นแหล่งไนโตรเจนจะไม่มีความเหมาะสมต่อทั้งการเจริญและการผลิต EPSs โดย *L. rhamnosus* RW-9595M ทั้งนี้เนื่องจากมีปริมาณของแหล่งไนโตรเจนน้อยเกินไป

ตารางที่ 4 หน่วยย่อยของ เฮทเทอโรโพลิแซคคาไรด์ที่ผลิตโดย แบคทีเรียแลกติก

Table 4. Momomer of Heteropolysaccharides produced by lactic acid bacteria.

	Repeating units
Lactobacillus	
Lb. delbrueckii subsp. *bulgaricus* 291	
Lb. helveticus Lb161	
Lb. helveticus K16	
Lb. rhamnosus C83	
Streptococcus	
S. macedonius Sc136	
S. thermophilus SFi 20	
S. thermophilus Rs *S. thermophilus* Sts	
S. thermophilus MR-1C	
S. thermophilus S3	
S. thermophilus 8S[b]	
S. thermophilus EU20	
Lactococcus	
L. lactis subsp. *cremoris* NIZO B39	
L. lactis subsp. *cremoris* NIZO B891	

(▪) β-D-Glucose; (●) β-D-Galactose; (O) α-D-galactose; (□) α-D-glucose

(♦) β-L- rhamnose; (◇) α-L-rhamnose (Rib) D-ribose; (Fuc) fructose; (Nac) *N*- acetyl; (Ac) acetyl (G) glycerol

ที่มา : ดัดแปลงจาก Ruas-Madiedo และคณะ (2002)

แต่จากการใช้แบคทีเรียแลกติกในการผลิต EPSs พบว่า Yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญและการผลิต EPSs ของแบคทีเรียแลกติก (Cerning, 1990)

3.2 ชนิดของแหล่งคาร์บอน

ความสามารถของแบคทีเรียแลกติกในการใช้น้ำตาลแต่ละชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต EPSs จะมีความแตกต่างกันทั้งนี้เนื่องมาจากความแตกต่างของสายพันธุ์แบคทีเรียและชนิดของ EPSs ที่แบคทีเรียสังเคราะห์ได้เพราะแบคทีเรียแต่ละชนิดจะมีกลไกในการเปลี่ยนน้ำตาลซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิต EPSs ได้แตกต่างกันและมีความเหมาะสมกับน้ำตาลแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป โดย Smitinont และคณะ(1999) ได้ศึกษาการผลิต EPSs จากแบคทีเรียแลกติก 7 สายพันธุ์ซึ่งแยกได้จากอาหารหมักพื้นบ้านพบว่าแบคทีเรียสามารถผลิต EPSs ได้ในอาหารที่ใช้น้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนเท่านั้น แต่จากการศึกษาการผลิต EPSs ใน *Lactobacillus lactis* sp. *cremonis* NIZO B40 โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลว M-17 ที่มีการเติมน้ำตาลชนิดต่างๆปริมาณ 20 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอน และบ่มที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส พบว่ากลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีความเหมาะสมที่สุดในการผลิต EPSs โดยสามารถผลิต EPSs ได้ 94 มิลลิกรัมต่อลิตร (Looijesteijn, 1999) เช่นเดียวกันกับการศึกษาการผลิต EPSs โดย *Lactobacillus sakei* 0-1 ที่สามารถผลิต EPSs ได้มากที่สุดในอาหาร SDM ที่เติมน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน นอกจากนี้ Tallon และคณะ (2003) ได้ศึกษาการผลิต EPSs ของ *L. plantarum* EP56 ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆคือ น้ำตาลแลคโตส กาแลคโตส ฟรุคโตส และ ซูโครส พบว่า *L. plantarum* EP56 ผลิต EPSs ได้มากที่สุดในอาหารที่มีน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนในขณะที่เลี้ยงในอาหารที่ใช้ น้ำตาลฟรุคโตสให้ผลการผลิต EPSs ต่ำสุดนอกจากนี้ยังมีการรายงานว่า*Streptococcus thermophilus* บางสายพันธุ์สามารถสร้าง EPSs ได้ในอาหารที่มีน้ำตาลกาแลคโตส เท่านั้นและสามารถผลิต EPSs ได้สูงขึ้นเมื่อเลี้ยงในน้ำตาลแลคโตส หรือกาแลคโตสโดยที่ผลิตได้ปริมาณสูงกว่าในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส (Hassan, 2001) ส่วน *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* จะไม่มีการสร้าง EPSs เมื่อเลี้ยงในอาหารที่ใช้น้ำตาลกลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอนแต่จะผลิต EPSs ได้ในอาหารที่มีน้ำตาลแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอน (Garcia and Marshall, 1991) ในขณะที่การผลิต EPSs จาก *L. rhamnosus* 9595M, *L. rhamnosus* R และ *L. paracasei* Type V ในอาหารสังเคราะห์ (chemical define medium) ที่ใช้แหล่งคาร์บอนเป็นน้ำตาล กลูโคส และ แลคโตส พบว่าปริมาณ EPSs ที่ผลิตได้โดยเชื้อทั้งสองชนิดคือ *L. rhamnosus* 9595M และ *L. rhamnosus* R ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยกเว้นแบคทีเรีย *L. paracasei* Type V จะให้ ผลผลิตที่สูงกว่าเชื้อสายพันธุ์อื่นๆเมื่อใช้ น้ำตาลแลคโตส เป็นแหล่งคาร์บอน (Dupont *et al*., 2000)

3.3 ระยะการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์

แบคทีเรียส่วนใหญ่ผลิต EPSs ไปพร้อมกับการเจริญเช่น การผลิต EPSs ของ *L. platanum* EP56 ที่ 25 องศาเซลเซียส ใน Chemical define medium (CDM) ทั้งในส่วนของของเหลวซึ่งเป็นอาหารและจากตะกอนเซลล์พบว่าปริมาณ EPSs ทั้งหมดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตามจำนวนเซลล์ที่เพิ่มขึ้นและเพิ่มขึ้นสูงสุดในระยะ stationary phase และจะคงที่ตลอดจนสิ้นสุดการเจริญโดยปริมาณของ EPSs ชนิดที่เกาะติดกับเซลล์ (EPS-b) จะสูงสุดในช่วงเริ่มต้น 25 ชั่วโมงแรกของการเจริญและหลังจากนั้น EPS-b จะลดลง ซึ่งตรงข้ามกับ EPSs ที่ถูกปล่อยออกมาข้างนอกเซลล์ (EPS-r) ที่จะเพิ่มขึ้นเมื่อ เวลาในการหมักนานขึ้นโดยในช่วง 25 ชั่วโมงแรก EPS-r จะต่ำกว่า EPS-b แล้วเพิ่มขึ้นจาก 36.8 มิลลิกรัมต่อลิตร จนถึง 79.3 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อผ่านไป 97 ชั่วโมง (Tallon *et al*., 2003) เช่นเดียวกับการผลิต EPSs โดย *L. rhamnosus* 9595M, *L. rhamnosus* R และ *L. paracasei* Type V ในอาหาร CDM ที่พบว่า *L. rhamnosus* 9595M *L. rhamnosus* R และ *L. paracasei* Type V จะผลิต EPSs ได้สูงเมื่อเจริญในระยะ stationary phase หลังจาก 48, 27 และ 60 ชั่วโมงของการเจริญตามลำดับ (Dupont *et al*., 2000) นอกจากนี้ Walling และคณะ (2005) ได้ศึกษาระยะเวลาในการผลิต EPSs ของ *Pediococcus damnosus* IOEB8801 พบว่าการผลิต EPSs จะควบคู่ไปกับการเจริญเช่นเดียวกันกับ *L. lactis* subsp. *cremoris* NIZO B40 ที่การเจริญและการผลิต EPSs จะมีแนวโน้มเหมือนกัน (Looijesteijn และ Hugenholtz, 1999) และจากการศึกษารูปแบบในการผลิต EPSs ของ *P. damnosus* 2.6 พบว่า แบคทีเรียสายพันธุ์นี้ผลิต EPSs ได้สูงสุดในระยะ log phase และคงที่ในระยะ stationary phase เช่นเดียวกันกับการผลิต EPSs ของ *L. delbrukii* subsp. *bulgaricus* B3 และ G12 และ *S. thermophilus* W22 ที่สามารถผลิต EPSs ได้สูงที่สุดที่เวลา 18 ชั่วโมง โดยผลิตได้ 220, 152 และ 120 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับโดยเมื่อเพิ่มเวลาในการเจริญเป็น 24 ชั่วโมงพบว่าปริมาณของ EPSs ลดลง (Aslim *et. al*., 2005) จะเห็นได้ว่าการผลิต EPSs โดยแบคทีเรียแลกติกจะมีการสร้าง EPSs ควบคู่ไปกับการเจริญและมีการผลิตสูงสุดในระยะ log phase ทั้งนี้จะมีความแตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ (Duenas *et al.,* 2003)

3.4 ระดับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

จากการศึกษาพบว่า พีเอชที่เหมาะสมในการผลิต EPSs ของแบคทีเรียแลกติกจะมีค่าใกล้เคียงกับ 6.0 (Degeest *et al*., 1997) ทั้งนี้เนื่องจากกระบวนการในการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็น EPSs จะมีประสิทธิภาพสูงเมื่อพีเอชของอาหารเลี้ยงเป็น 5.8 ในขณะที่น้ำตาลจะสามารถเปลี่ยนไปเป็นมวลเซลล์ที่พีเอช 6.2 มากกว่านอกจากนี้การผลิต EPSs ในสภาวะที่มีการควบคุมพีเอชอย่างต่อเนื่องไม่ให้ลดต่ำลงพบว่าสามารถเพิ่มการผลิต EPSs ได้ (Ven den Berg *et al*., 1995) จากการศึกษาผลของพีเอช ต่อการผลิต EPSs โดย *L. rhamnosus* C83 ซึ่งเลี้ยงใน optimized synthetic growth

medium (OSM) ที่มีน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสที่ระดับพีเอชต่างๆ คือ 5.2, 5.5, 6.2 และ 7.2 พบว่าการผลิต EPSs ในช่วงพีเอช 5.5, 6.2 และ 7.2 ไม่แตกต่างกันและมีการผลิตควบคู่ไปกับการเจริญ ซึ่งโดยสรุปแล้วพีเอชที่เหมาะสมในการผลิต EPSs คือ 6.2-7.2 โดยมีความเหมาะสมต่อทั้งการเจริญและการผลิต EPSs ของแบคทีเรีย (Gamar-Nourani *et al*., 1998) ทำนองเดียวกันกับการศึกษาการผลิต EPSs โดย *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* RR พบว่าที่พีเอช 6.5 จะมีการผลิต EPSs ได้มากที่สุดโดยผลิตได้ 0.075-0.11 กรัมต่อลิตร (Gassem *et al*., 1997) ในขณะที่ *L. delbrukii* subsp. *bulgaricus* B3 และ G12 ผลิต EPSs ได้สูงเมื่อเจริญในอาหาร MRS ที่พีเอช 6.2 โดยผลิตได้ 211 และ 175 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ ส่วน *S. thermophilus* ผลิต EPSs ได้ดีที่สุดที่พีเอช 6.8 โดยผลิตได้ 114 มิลลิกรัมต่อลิตร (Aslim *et. al*., 2005) นอกจากนี้ De Vuyst และคณะ(1998) ได้ศึกษาการผลิต EPSs โดย *S. themophilus* LY03 พบว่าระดับพีเอช ที่เหมาะในการผลิต EPSs คือ 6.2 นอกจากนี้จากการศึกษาการผลิต EPSs โดย *L. helveticus* ATCC 15807 โดยเลี้ยงในอาหาร MRS ที่ระดับพีเอช 4.5, 5.0 และ6.2 พบว่าระดับพีเอช ที่เหมาะสมทั้งการเจริญและการผลิต EPSs อยู่ที่ 5.0 (Torino *et al*., 2001) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกันกับ *P. parvulus* 2.6 ซึ่งพบว่าสามารถผลิต EPSs ได้ดีที่สุดที่พีเอช 5.2 (Velasco *et. al*., 2006)

3.5 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่มีความเหมาะสมในการผลิต EPSs ของแบคทีเรียแต่ละสายพันธุ์จะมีความแตกต่างกันทั้งนี้เนื่องจากความเหมาะสมของการทำงานของเอนไซม์ที่มีบทบาทในการสังเคราะห์ EPSs ของแต่ละสายพันธุ์ที่แตกต่างกัน เช่น จากการผลิต EPSs โดย *L. plantarum* EP56 โดยการทดลองเลี้ยงที่อุณหภูมิ 18, 25, 30 และ 37 องศาเซลเซียส พบว่ามีการสร้าง EPSs ได้สูงสุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส โดยมีการผลิต EPSsได้สูงสุดคือ 135.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียสปริมาณ EPSs ที่ผลิตได้จะน้อยกว่าที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส ร้อยละ 16 และ 24 ตามลำดับโดยเมื่อเพิ่มอุณหภูมิไปจนถึง 37 องศาเซลเซียส ปริมาณ EPSs ที่ได้จะลดลงและน้อยกว่าเมื่อเลี้ยงที่ 18 องศาเซลเซียส ถึง 4 เท่า (Tallon *et al.*, 2003) ในขณะที่การศึกษาการผลิต EPSs จาก *L. rhamnosus* 9595M, *L. rhamnosus* R และ *L. paracasei* Type V ในอาหาร Basal minimal medium (BMM) ที่อุณหภูมิ 37 และ 32 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณของ EPSs ที่ผลิตได้ไม่มีความแตกต่างกัน โดยเชื้อที่มีการผลิต EPSs สูงสุดคือ *L. rhamnosus* 9595M ผลิตได้ 1138 และ1275 มิลลิกรัมต่อลิตรที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เมื่อมีน้ำตาลกลูโคสและแลคโตสเป็นแหล่งคาร์บอนตามลำดับ (Dupont *et al*., 2000) ในขณะที่การผลิต EPSs โดย *S. thermophilus* LY03 พบว่าอุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่มีการผลิต EPSs และมีอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุด ในขณะที่เมื่อศึกษาการผลิต EPSs โดย *L. delbrukii* subsp. *bulgaricus* B3, G12 และ *S. thermophilus*

ที่อุณหภูมิ 30, 37, 42 และ45 พบว่าสามารถผลิต EPSs ได้สูงสุดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสโดยสามารถผลิตได้ 263, 238 และ 127 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับโดยการผลิต EPSs มีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเจริญ (Aslim *et. al*., 2005)

3.6 ปริมาณออกซิเจน

แบคทีเรียแลกติกสามารถผลิต EPSs ได้ดีในสภาวะที่มีความเข้มข้นของออกซิเจนน้อย เช่น การศึกษาการผลิต EPSs โดย *S. thermophilus* พบว่าเมื่อปริมาณของออกซิเจนลดลงการผลิต EPSs จะสูงขึ้น (De Vuyst *et al*., 1998) นอกจากนี้จากการศึกษาการผลิต EPSs โดย *L. rhamnosus* C83 ซึ่งเลี้ยงแบบ Batch culture ใน OSM medium ที่เติม น้ำตาลกลูโคสในปริมาณ 20 กรัมต่อลิตร เลี้ยงที่ 25 องศาเซลเซียสพีเอช 6.2 ที่มีปริมาณของออกซิเจนที่ละลายในอาหาร (pO_2) ปริมาณร้อยละ 0, 10, 20, 40 และ60 พบว่าที่ความเข้มข้นของ ออกซิเจนร้อยละ 10 จะส่งเสริมทั้งการเจริญและการผลิต EPSs โดยสามารถผลิต EPSs ได้ปริมาณ 131 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยที่จะมีการผลิต EPSs ได้น้อยลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของออกซิเจน โดยพบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของออกซิเจนเป็นร้อยละ 40 จะผลิต EPSs ได้ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งลดลงร้อยละ 39 เมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะที่มีความเข้มข้นออกซิเจนร้อยละ 10 ซึ่งจากการศึกษาดังกล่าวสรุปได้ว่าออกซิเจนปริมาณน้อยๆ สามารถกระตุ้นทั้งการเจริญและการผลิต EPSs ของ *L. rhamnosus* C83 ทั้งนี้เนื่องจากแบคทีเรียมีระบบ superoxides dismutase และ flavoprotein oxidase แทนการใช้เอนไซม์แคทาเลต อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของออกซิเจนที่มีผลต่อการผลิต EPSs นั้นมีความแตกต่างกันไปตามสายพันธุ์ของแบคทีเรีย (Gamar-Nourani *et al*., 1998)

4. การประยุกต์ใช้ EPSs จากแบคทีเรียแลกติก

การนำ EPSs ไปประยุกต์ใช้ในด้านใดด้านหนึ่งนั้นจำเป็นต้องพิจารณาถึงสมบัติทั้งทางด้านกายภาพ และ ชีวภาพเพื่อจะได้นำEPSs มาประยุกต์ได้เหมาะสมและเกิดประโยชน์สูงสุด

4.1 คุณสมบัติทางกายภาพของ EPSs

จากการที่ EPSs เป็นพอลิเมอร์ที่มีความหนืดจึงได้นำคุณสมบัติดังกล่าวมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารโดย ใช้เป็นสารปรับปรุงผิวสัมผัสอาหาร รูปลักษณ์ภายนอก รสสัมผัส รสชาติ และความคงตัวของผลิตภัณฑ์ (Broadbent *et al*., 2003) โดยในปัจจุบัน EPSs จากแบคทีเรียแลกติกที่มีการนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้แก่ dextran และ levan และแบคทีเรียที่ได้รับความสนใจนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้แก่ *S. thermophilus* และ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* (Diitonen *et. al*., 1990 อ้างโดย Aslim *et al*., 2005) ซึ่งอุตสาหกรรมที่มีการนำ EPSs มาใช้มากคืออุตสาหกรรมนมหมัก เช่น นมหมักของชาวสแกนดิเนเวีย เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัวสูงทั้งนี้

เนื่องจากมีการใช้กล้าเชื้อเป็น *L. lactis* subsp. *lactis* และ *L. lactis* subsp. *cremoris* ซึ่งเป็นแบคทีเรียสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิต EPSs โดย EPSs สามารถป้องกันการเกิด synergistic จึงช่วยในความคงตัวของผลิตภัณฑ์ นอกจากการผลิตโยเกร์ตแล้ว EPSs ยังมีความสำคัญกับการผลิตนมเปรี้ยว ชีสส์ ครีมหมัก และขนมหวานที่ทำมาจากนม (Jolly *et. al*., 2002)

4.2 คุณสมบัติทางชีวภาพ

4.2.1 การป้องกันการเกิดมะเร็ง

Kitazawa และคณะ(1991) พบว่า EPSs ที่ผลิตโดย *L. lactis* subsp. *cremoris* KVS20 สามารถยับยั้งมะเร็งชนิด Sacoma-180 ได้เมื่อทดสอบโดยการฉีดเข้าช่องท้องของสัตว์ทดลองโดยการยับยั้งนั้นมีความสัมพันธ์กับระบบภูมคุ้มกันในร่างกายเนื่องจากการยับยั้งจะได้ผลเมื่อทดสอบในหนูทดลองเท่านั้นโดยที่ไม่พบการยับยั้งเมื่อทดสอบในหลอดทดลอง

4.2.2 การกระตุ้นภูมิคุ้มกัน

EPSs ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลกติก มีบทบาทในการกระตุ้นภูมิคุ้มกัน (adjuvant) เช่น EPSs ที่ผลิตโดย *L. lactis* subsp. *cromoris* KVS 20 มีบทบาทในการเพิ่มการทำงานของ B-cell และเพิ่มการทำงานของ cytoxic macrophage ได้ (Kitazawa *et. al.,* 1993) เช่นเดียวกันกับ EPSs ที่ผลิตจาก *L. lactis* subsp. *crimoris* SBT 0495 ที่สามารถกระตุ้นการผลิต antibody ในหนู นอกจากนี้ EPSs ยังสามารถกระตุ้นการการทำงานของ T-lymphocyte macrophage และ cytokine ได้อีกด้วย (Law *et. al*., 2001)

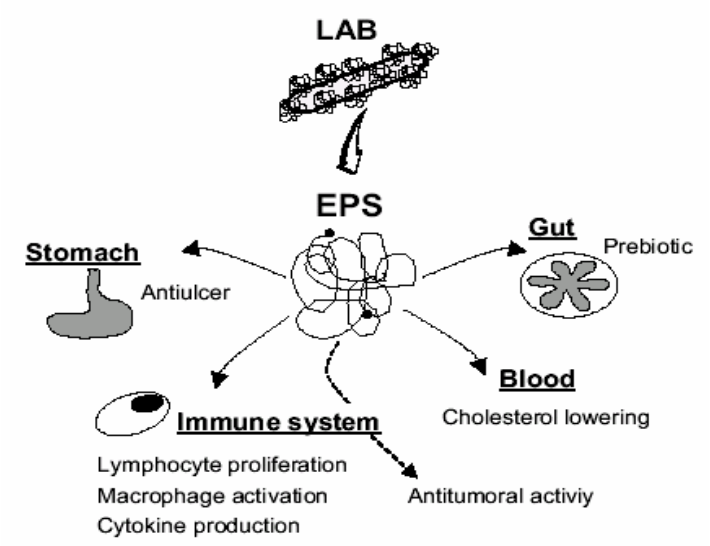
4.2.3 ฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์

EPSs จากแบคทีเรียแลกติกที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์คือ kefiran ซึ่งผลิตโดยกลุ่มของแบคทีเรียได้แก่ *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Leuconostoc*, *Acetobacter* และ*Streptococcus* spp. และกลุ่มของยีสต์ได้แก่ *Kluyveromysis*, *Torula*, *Candida* และ *Saccharomysis* sp. ซึ่ง EPSs ชนิดนี้มีฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ ได้แก่ *Salmonella*, *Helicobacter, Shigella*, *Streptococcus* และ *E. coli* จากการทดลองของ Rodrigues และคณะ(2005) พบว่าเมื่อนำ EPSs ชนิด kefiran ที่ระดับความเข้มข้นเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาทดสอบการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคโดยวิธี agar well diffusion โดยพบว่า *Stap. pyogenes* มีความไวต่อ kefiran มากที่สุดโดยรองลงมาเป็น *Stap. aureus*, *Stap. salivarius*, *Sal.* Typhimurium*, C. albicans* และ *L. monocytogenase* ตามลำดับในขณะที่ *P. aeroginosa* และ *E. coli* มีความไวน้อยที่สุด โดยกิจกรรมการยับยั้งดังกล่าวมีค่า MIC และ MBC เป็น 462 และ 492 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ โดยพบว่า การรอดชีวิตของแบคทีเรียที่นำมาทดสอบจะลดลงอย่างรวดเร็วเมื่อใช้สารที่มีความเข้มข้นระหว่าง 450 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร นอกจากนี้

ยังได้มีการทดสอบนำ kefiran มาทำเป็นพลาสเตอร์พบว่าสามารถลดขนาดของแผลในหนูทดลองได้มากกว่าชุดควบคุมซึ่งใช้ neomycin-clostol emultion

4.2.4 การเป็นพรีไบโอติก

EPSs ที่ผลิตโดย *L. sanfranciscensis* LTH 1729 และ *L. sanfranciscensis* 2590 เป็น EPSs ที่ได้รับการยอมรับแล้วว่ามีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก เนื่องจาก EPSs ดังกล่าวสามารถส่งเสริมการเจริญของ *Bifidobacterium* ได้ (Dell Bello, 2001) เช่นเดียวกันกับการศึกษาของ Korakli (2002) ซึ่งได้รายงานว่า EPSs ที่ผลิตโดย *L. sanfranciscensis* TMW1.392 สามารถส่งเสริมการเจริญของ*Bifidobacterium* นอกจากนี้ Marx และ คณะ (2002) พบว่า levan ที่ถูกย่อยบางส่วนสามารถส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติกได้



ภาพที่ 3 ประโยชน์ต่อสุขภาพของ EPSs จาก แบคทีเรียแลกติก

Figure 3. Health benefits of EPSs produced by lactic acid bacteria.

ที่มา : Ruas-Madeido และคณะ (2002)

5. ความหมายและคุณสมบัติของพรีไบโอติก

พรีไบโอติกหมายถึง อาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ถูกย่อยและดูดซึมในทางเดินอาหารส่วนบนโดยสามารถทนต่อการย่อยโดยกรดในกระเพาะอาหารและเอนไซม์ในลำไส้เล็กและมีผลในการส่งเสริมสุขภาพของผู้บริโภคโดยเป็นอาหารสำหรับการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์หรือ โปรไบโอติก ที่อาศัยอยู่ในลำไส้โดยที่ไม่ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค (Gibson and Roberfroid, 1995)

6. ประโยชน์ของพรีไบโอติก

ประโยชน์ของพรีไบโอติกนั้นจะมีความเกี่ยวข้องกันกับประโยชน์ของโปรไบโอติกซึ่งเมื่อมีการเพิ่มการเจริญของแบคทีเรียในกลุ่มนี้แล้วทั้งแบคทีเรียเองและสารที่เกิดจากกระบวนการในการใช้พรีไบโอติกเป็นแหล่งคาร์บอนก็จะมีบทบาทต่อผู้บริโภคโดยประโยชน์ของพรีไบโอติกที่มีต่อร่างกายได้แก่

6.1 การป้องกันการเกิดมะเร็งในลำไส้ใหญ่

การเกิดมะเร็งในลำไส้ใหญ่มีโอกาสเกิดขึ้นสูงและมากกว่าที่ลำไส้เล็กถึง10เท่า(Morotomi *et al*., 1990) แต่มีการพิสูจน์แล้วว่า พรีไบโอติกสามารถในการป้องกันมะเร็งได้ (Hylla *et al*., 1998) นอกจากนี้สารที่เกิดจากกระบวนการเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ที่อยู่ในลำไส้ใหญ่ยังเป็นสารก่อมะเร็งได้ ดังนั้นแนวทางในการป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่จึงเจาะจงไปที่พรีไบโอติกซึ่งเป็นอาหารของแบคทีเรียโดยบทบาทของพรีไบโอติกในการป้องกันมะเร็งมีดังนี้

ก. เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารที่มีบทบาทในการป้องกันการเกิดมะเร็ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งบิวทาเรต ซึ่งมีบทบาทในการกระตุ้นให้เกิดกระบวนการ apoptosis ของเซลล์ในลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้ยังถูกใช้ในการเจริญของเซลล์ได้อีกด้วยโดยบทบาทของบิวทาเรตและกรดไขมันสายสั้นชนิดอื่นๆ คือ โพรพิออนิก และ อะซิติก จะส่งผลโดยตรงต่อเซลล์ลำไส้ใหญ่ในการป้องกันมะเร็ง (Scheppach *et al*., 1995)

ข. เปลี่ยนแปลงกระบวนการเมทาบอลิซึมของจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ให้เป็นไปในแนวทางที่จะลดการเกิดสารที่ส่งผลเสียต่อร่างกาย เช่น เมทาบอลิซึมของไขมัน และโปรตีนจะทำให้เกิดสารก่อมะเร็งขึ้นโดยอาจจะเปลี่ยนเมทาบอลิซึมของแบคทีเรีย *Clostridia* และ *Bacteroides* จากการเกิด Proteotysis ไปเป็น Saccharolysis นอกจากนี้พรีไบโอติกยังมีบทบาทในการส่งเสริมให้แบคทีเรียแลกติกผลิตสารที่สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่จะผลิตสารก่อมะเร็งในลำไส้ใหญ่ได้และยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่าพรีไบโอติกยังมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการเกิดมะเร็ง เช่น azoreductase, nitroreductase และβ-glucuronidase เป็นต้น (Reddy, 1998) จากกระบวนการหมักแบบไร้อากาศของคาร์โบไฮเดรตในลำไส้ใหญ่ จะมีการสร้างสารต่างๆออกมาซึ่งมีบทบาท ต่อการป้องกันการเกิดมะเร็งได้โดยมีกลไกในการออกฤทธิ์ที่แตกต่างกันออกไป (ภาพที่ 4) นอกจากนี้กลไกต่างๆในการป้องกันการเกิดมะเร็งในลำไส้ใหญ่นั้นยังมีกลไปต่างๆที่เกิดร่วมกันทั้งจากแบคทีเรียโปรไบโอติกและพรีไบโอติกซึ่งได้แสดงดังในตารางที่ 5

6.2 การยับยั้งแบคทีเรียก่อโรค

ภายในลำไส้ใหญ่มีจุลินทรีย์อยู่หลายกลุ่มทั้งก่อโรคและกลุ่มที่มีประโยชน์คือเป็นแบคทีเรียโปรไบโอติก ซึ่งสามารถสร้างสารมายับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้ดังนั้นอาหารพรีไบโอติกซึ่งเลือก

ส่งเสริมการเจริญของแบคทีเรียดังกล่าวจึงเป็นการส่งเสริมการผลิตสารยับยั้งด้วย นอกจากนี้จากกระบวนการเมทาบอลิซึมของพรีไบโอติกยังส่งผลให้ค่าพีเอชภายในลำไส้ต่ำลงจึงทำให้มีการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้อีกทางหนึ่ง (Fuller, 1997 อ้างโดย Ziemer and Gibson, 1998)

6.3 เพิ่มการดูดซึมของแคลเซียม

พรีไบโอติกสามารถเพิ่มการดูดซึมของสารอาหารโดยเฉพาะการดูดซึมของแคลเซียม ถึงแม้ว่าการดูดซึมของแคลเซียมจะเกิดขึ้นเป็นหลักในลำไส้เล็กแต่ยังคงมีการดูดซึมภายในลำไส้ใหญ่อยู่และยังคงได้รับความสนใจอยู่ซึ่งกลไกในการเพิ่มการดูดซึมของแคลเซียมในลำไส้ใหญ่มีดังนี้

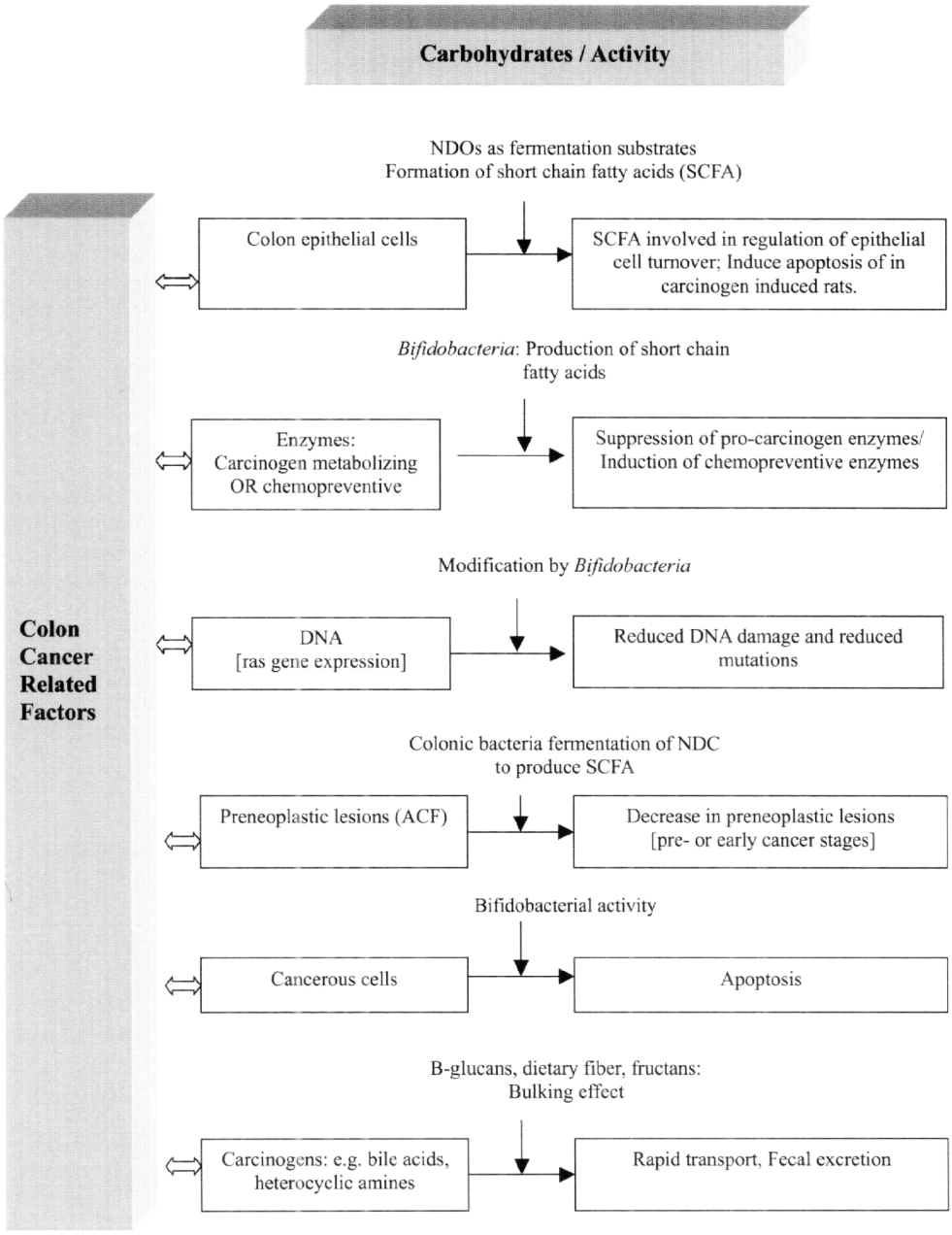
ก. จากกระบวนการหมักของพรีไบโอติกจะทำให้เกิดกรดไขมันสายสั้น(Short chain fatty acid) ซึ่งทำให้พีเอชในลำไส้ใหญ่ลดลง จึงทำให้แคลเซียมละลายได้ดีทำให้มีการดูดซึมที่ดีขึ้นด้วย

ข. สารที่อยู่ในกลุ่ม Phytate (myoinositol hexaphosphate) ซึ่งเป็นองค์ประกอบในพืช โดยสารดังกล่าวเป็นสารที่มีความเสถียรสูงและไม่ละลายน้ำทำให้เมื่อไปจับกับแคลเซียมทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมแคลเซียมได้และจากกระบวนการหมักของ phytate โดยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ทำให้ แคลเซียมถูกปล่อยออกมาเป็นอิสระและมีการดูดซึมเข้าร่างกายได้

ค. เกิดกลไกในการแลกเปลี่ยนแคลเซียมภายในลำไส้โดยที่เกิดจากการแลกเปลี่ยนโปรตอนระหว่างแคลเซียมและไขมันสายสั้นๆ (SCFA) ที่มีอยู่ในลำไส้

7. ชนิดของพรีไบโอติก

พรีไบโอติกที่มีการใช้อยู่ในขณะนี้อยู่ในกลุ่ม oligosaccharides ซึ่งประกอบไปด้วยน้ำตาลหลายชนิดมาต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิคิก (Glycosidic linkage) โดยที่พันธะที่เชื่อมกันของน้ำตาลจะมีความสัมพันธ์กับเอ็นไซม์ที่สร้างโดยแบคทีเรียโปรไบโอติกว่าสามารถสร้างเอนไซม์มาย่อยพันธะดังกล่าวได้หรือไม่ เช่นความสามารถของแบคทีเรียในกลุ่ม *Bifidobacteria* ที่สามารถสร้างเอนไซม์ β-fructofuranosidase ในมาย่อยพันธะในภายใน fructooligosaccharide ได้เป็นต้นในขณะที่พรีไบโอติกที่มีขนาดใหญ่และน้ำหนักโมเลกุลสูงจะสามารถถูกนำไปใช้โดยแบคทีเรียได้น้อยลง หรืออาจกล่าวได้ว่าพรีไบโอติกที่ดีควรที่จะมีขนาดเล็ก (degree of polymerization น้อย) (Manning and Gibson, 2004) ซึ่งพรีไบโอติกดังกล่าวสามารถพบได้ในผักและผลไม้หรืออาจจะได้จากการสังเคราะห์โดยการย่อยสารในกลุ่มโพลิแซคคาไรด์หรือการสังเคราะห์โดยการใช้เอนไซม์ซึ่งชนิดและโครงสร้างของของพรีไบโอติกที่มีการให้ในปัจจุบันได้แสดงไว้ในตารางที่ 6 โดยในปัจจุบันได้มีการศึกษาถึงคุณสมบัติของพรีไบโอติกทั้งในระดับ *in vitro* และ *in vivo* ดังแสดงในตารางที่ 7



ภาพที่ 4 ประโยชน์ของพรีไบโอติกในการป้องกันการเกิดมะเร็งในลำไส้

Figure 4. Activity of non- digestible carbohydrates in colon cancer protection.

ที่มา: Niba (2003)

ตารางที่ 5 กลไกในการป้องกันมะเร็งของแบคทีเรียโปรไบโอติกและพรีไบโอติก

Table 5. Postulated protective mechanism of probiotic and prebiotic in the development of colon tumors.

Ingestion or investigation of	Protective mechanisms
Lactobacillus casei, omniflora or yogurt	Mutation in the Ames test decreased
Various strains of *Lactobacillus* and *Bifidobacterium*, cellular components and methbolites of LAB	DNA damage in colon cells decreased (antigenotoxicity)
Bifidobacterium fermented milk; fermented milk with *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum Streptococcus lactis* and *Streptococcus cremoris*; lactulose	Procarcinogenic enzyme activity decreased: β-glucuronidase, nitroreductase, azoreductase and detoxifying enzyme activity increase; GST
L. acidophilus, *S. cremoris*, cell wall of LAB	Binding of mutagens
Milk fermented with *L. acidophilus*	Excretion of mutagens decreased
Milk fermented with *L. acidophilus* La1 and *Bifidobacteria*	Immune stimulation increased, probiotic increased
Fermentation of prebiotics	SCFA increased, pH decreased, probiotic increased
Butyrate	Proliferation of transformed cells decreased, apoptosis of transformed cell increased

ที่มา: ดัดแปลงจาก Wollowski และคณะ (2001)

ตารางที่ 6 องค์ประกอบทางเคมีของพรีไบโอติก

Table 6. Chemical composition and characteristics of candidate prebiotic carbohydrates.

Oligosaccharide (example)	Chemical composition
Fructo-oligosaccharides (Raftilose P95)	95% oligosaccharides β (2-1) fructan; 60% glucose, $fructose_{(n)}$, 40% $fructose_{(n)}$ dp 2-8, average 4-5
Inulin	>99% oligosaccharides β (2-1) fructan; average dp 10-12
Pyrodextrins	Complex mixture of glucose-containing oligosaccharides
Transgalactosylated oligosaccharides (Oligomate 55)	Mainly 6' galactosyllactose, dp of oligosaccharide fraction 2-5 (primarily dp 3); 55% pure
Galacto-oligosaccharides	Oligogalactose (85%), small amounts of glucose, galactose, and lactose
Soya oligosaccharides	Stachyose (fructose, galactose, galactose, glucose) and raffinose (fructose, galactose, glucose), dp 3-4
Xylo-oligosaccharides	β (1-4) linked xylose; 70% pure, dp of oligosaccharide fraction 2-4
Isomalto-oligosaccharides	Mixture of α (1-6) linked glucose oligomers (isomaltose, panose, isomaltotriose)
Lactulose	Galactose and fructose-containing disaccharide

ที่มา : George และคณะ(1999)

ตารางที่ 7 การศึกษาคุณสมบัติของความเป็นพรีไบโอติกของ Oligosaccharides แต่ละชนิด

Table 7. Summary of studies designed to determine the prebiotic effect of various oligosaccharides.

Oligosaccharide	structure	Mode of study	Evidence of prebiotic effect	References
Fructooligosaccharide (FOS)	Transfrucsylation: α-D-Glu-(1,2)-[β-D-Fru-(1-2)-]n where n=2-4	*In vitro* gut model	Bifidogenic effect demonstrated	Gibson & Wang (1994)
	Inulin hydrolysis: β-D-Fru-(1-2)-[β-D-Fru-(1-2)-]n where n= 1-9	*In vitro* 7 *Bifidobacterium* isolates	FOS inflicted higher increase in *Bifidobacterium* levels as compared to 15 different carbohydrates.	Hopkin *et al.* (1998)
	α -D-Glu-(1,2)-[β-D-Fru-(1-2)-]n where n=2-9	*In vivo* 40 healthy humans	Dose–dependent increase in *Bifidobacteria*.	Bouhnik *et al.* (1999)
		In vivo placebo controlled 4 males	Significant increase in *Bifidobacterium* number, decrease in Bacteriodes, *Clostridium*, *Fusobacterium*.	Gibson *et al.* (1995)
		In vitro continuous culture of human faeces	Selective fermentation of FOS by *Bifidobacbacterium* spp. And *Lactobacillus* spp. Using dot blot hybridization	Sghi *et al.* (1998)

ตารางที่ 7 (ต่อ)

Table 7. (Cont.)

Oligosaccharide	structure	Mode of study	Evidence of prebiotic effect	References
Isomaltoologosaccharides	[α-D-Glu-(1-6)-]n wheren=2-5	*In vivo* six healthy men and 18 senile persons	Significant increase in *Bifidobacterium* levels.	Kohmoto *et al.* (1988)
		In vivo 14 healthy men	Proportional increase of growth activity of *Bifidobacterium* with the degree of polymerisation of different isomaolto-oligosaccharide components	Kaneko *et al.* (1994)
Xylo-ologosccharides (XOS)	[β-Xyl-(1-4)-]n where n=2-9	*In vivo* rats	Selective fermentation of XOS by *Bifidobacterium* using microbial culture and SCFA analysis.	Campbel *et al*. (1997)
Lactulose	β-D-Gal-(1-4)-β-D-Fru	*In vivo* humans and rats	Significant increase in *Bifidobacterium* spp. using microbial culture. No effect was reported on rats.	Howard *et al.* (1995)
		In vivo human double-blind placebo controlled ten healthy volunteers	Significant increase in *Bifidobacterium* levels using FISH	Touhy *et al*. (2000)

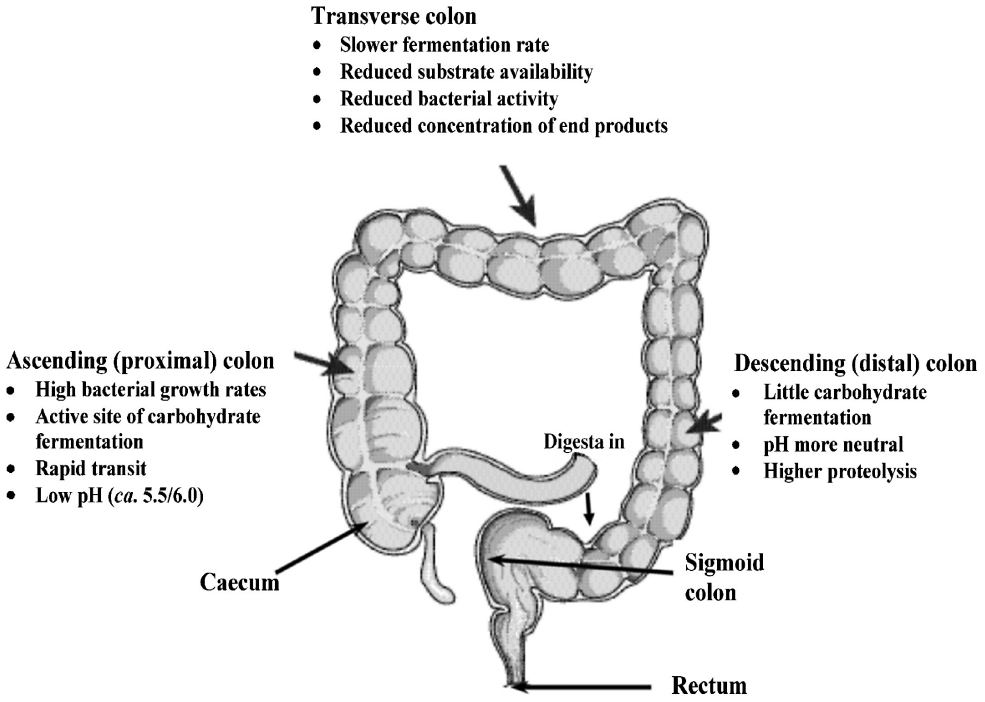
ตารางที่ 7 (ต่อ)

Table 7. (Cont.)

Oligosaccharide	Structure	Mode of study	Evidence of prebiotic effect	Reference
Galacto-oligosaccharides	α -D-Glu-(1-4)-[β-D-Gal-(1-6)-]n where n=2-5	*In vivo* human (8 healthy volunteers)	Significant increase in *Bifidobacterium* spp.	Terada *et al*. (1992)
		In vivo human single blind 12 healthy humans	Significant effect on *Bifidobacterium* levels, lower but significant effect on *Lactobacillus* spp.	Ito *et al*. (1990)
Soybean-oligosaccharides (SOS)	[α-D-Gal-(1-6)]n-α-D-Glu-(1-2)-β-D-Fru where n=1or2	*In vivo* human 7 healthy adults	Significant increase of *Bifidobacterium* spp. total bacterial counts remained stable, Bacteroides and *Clostridium* significantly decreased.	Ito *et al*. (1993)
		In vitro 125 human faecal bacterial strains and *in vivo* human 6 healthy adults	Preferential fermentation by 28 species of *bifidobacteria* except *B. bifidum*	Hayakawa *et al*. (1990)
		In vitro two stage continuous culture system with human faeces	Significant increase of *Bifidobacterium* spp. compared to other bacterial species	Saito *et al.* (1992)

8. กระบวนการหมักของสารพรีไบโอติกภายในลำไส้ใหญ่

ในลำไส้ใหญ่ของคนจะประกอบไปด้วย caeum ascending colon transverse colon descending colon sigmoid colon และ rectum โดยที่ในแต่ละส่วนของลำไส้ใหญ่จะเกิดกระบวนการในการย่อยที่แตกต่างกันออกไป ดังแสดงในภาพที่ 5



ภาพที่ 5 กระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ของมนุษย์ในบริเวณต่างๆ

Figure5. Regions of the human large intestine with corresponding bacterial activities and physiological difference.

ที่มา : Verna และคณะ 2006

ภายในลำไส้ใหญ่มีกระบวนการหมักของสารที่เหลือจากการย่อยโดยกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กโดยที่กระบวนการในการหมักจะแบ่งออกเป็น 2 แบบคือ saccharolytic ซึ่งเป็นการหมักสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตและ proteotytic ซึ่งเป็นการหมักสารในกลุ่มโปรตีนโดยที่ saccharolytic จะเกิดมากกว่า proteotytic ซึ่งผลผลิตหลักจากการเกิด saccharolytic จะได้กรดไขมันสายสั้น (Short Chain Fatty Acid, SCFA) ซึ่งกรดสามตัวหลักที่ได้คือ อะซิติก โพรพิออนิก และ บิวทาริก โดยมีอัตราส่วนประมาณ 60:25:10 มิลลิโมลต่อลิตร โดยที่อัตราส่วนสามารถเปลี่ยนแปลงได้โดยจะขึ้นอยู่กับสารตั้งต้นที่ใช้ในการหมักซึ่งกรดไขมันดังกล่าวจะถูกนำไปใช้ในรูปแบบต่างๆซึ่งที่สำคัญคือมีบทบาทต่อเซลล์ในลำไส้โดยตรง นอกจากบทบาทต่อเซลล์ในลำไส้ใหญ่แล้วยังมีบทบาทต่ออวัยวะส่วนอื่นเช่น อะซิเตตจะถูกนำไปใช้ในกล้ามเนื้อในขณะที่โพรพิโอเนตจะถูกส่งไปยังตับเพื่อใช้ใน

การสังเคราะห์ ATP ส่วนบิวทาเรตมีความสำคัญในการเป็นแหล่งพลังงานในการแบ่งเซลล์ในลำไส้ใหญ่ซึ่งกระบวนการในการใช้สารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตในการเป็นสารตั้งต้นในการผลิตบิวทาเรตนั้นมีความเกี่ยวข้องกับเอนไซม์หลายชนิด ที่มีอยู่ในลำไส้ใหญ่ซึ่งผลิตโดยแบคทีเรีย นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านมะเร็งซึ่งสารแต่ละตัวจะให้บิวทาเรตที่แตกต่างกันในขณะที่ผลผลิตของกระบวนการ proteotytic จะได้สารที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น amine และ แอมโมเนีย ซึ่งมีคุณสมบัติในการเป็นสารก่อมะเร็ง

8.1 จุลินทรีย์ภายในลำไส้ใหญ่

ทารกแรกเกิดจะไม่มีจุลินทรีย์อยู่ในลำไส้เลยแต่จำนวนจุลินทรีย์จะค่อยๆเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังคลอดทั้งนี้เนื่องจากความเปลี่ยนแปลงของสภาวะแวดล้อมภายในลำไส้ใหญ่เนื่องมาจากน้ำนมแม่หรืออาหารที่กินเข้าไปโดยที่ความความหลากหลายจุลินทรีย์ที่เพิ่มขึ้นนั้นจะเปลี่ยนแปลงตามส่วนต่างๆของลำไส้โดยจำนวนของจุลินทรีย์จะพบมากที่สุดที่ลำไส้ใหญ่ซึ่งภายในลำไส้ใหญ่จะมีแบคทีเรียที่ไม่ต้องการออกซิเจนมากที่สุด เช่น *Bacteroides*, *Eubacteria*, *Bifidobacterium*, *Peptostreptococcus* และ *Peptococcus* (Gibson and Roberford, 1995) ซึ่งในช่วงแรกจุลินทรีย์ที่พบจะเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม *E. coli* หรือ *Streptococcus* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่จะปรับสภาพภายในลำไส้ใหญ่ให้เป็นสภาวะที่ไร้อากาศซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียโปรไบโอติกซึ่งต่อมาจะกลายเป็นจุลินทรีย์ที่เป็นกลุ่มหลักและมีบทบาทในการป้องกันลำไส้จากจุลินทรีย์ก่อโรคที่เข้ามาในลำไส้ใหญ่โดยในทางเดินอาหารของคนเราจะมีจุลินทรีย์ประมาณ 10^{14} เซลล์ต่อมิลลิลิตรและมีความหลากหลายถึงประมาณ 500 สายพันธุ์ที่แตกต่างซึ่ง (Gibson and Roberford, 1995) โดยที่บริเวณทางเดินอาหารส่วนบนได้แก่ กระเพาะอาหาร และลำไส้เล็กจะมีจุลินทรีย์น้อยกว่า 10^{5} เซลล์ต่อมิลลิลิตร ส่วนลำไส้เล็กส่วนปลายจะมีจำนวนแบคทีเรียประมาณ 10^{7} เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Mikelsaar *et al.*1993 อ้างโดย Arunachalam, 1999) จุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่เกือบทั้งหมดเป็นกลุ่มที่ไม่ต้องการออกซิเจนในการเจริญโดยที่ภายในลำไส้ใหญ่ส่วนกลางเป็นส่วนที่มีการย่อยอาหารในกลุ่ม คาร์โบไฮเดรต ซึ่งในขณะที่มีการเจริญของแบคทีเรียอย่างเต็มที่จะมีความเข้มข้นของกรดไขมันสายสั้นประมาณ 127 มิลลิโมลต่อลิตร มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.4-5.9 และในลำไส้ใหญ่ส่วนปลายนั้นค่าพีเอชจะประมาณ 6.2 และ มีปริมาณกรดไขมันสายสั้นประมาณ 117 มิลลิโมลต่อลิตร โดยที่การหมักสารอาหารกลุ่มคาร์โบไฮเดรตจะลดลงและจะมีจุลินทรีย์กลุ่มที่สามารถย่อยสารอาหารในกลุ่มโปรตีนเป็นกลุ่มหลักแทนและจากกระบวนการดังกล่าวจะมีการสร้าง สารในกลุ่ม phenol indole และ ammonia และมีปริมาณกรดไขมันสายสั้นประมาณ 90 มิลลิโมลต่อลิตร โดยมีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.6-6.9 (Smith and Morton, 2001)

8.2 โปรไบโอติก

โปรไบโอติกหมายถึง จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารที่มีประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน (Host) โดยมีผลในการปรับดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้มีสมบัติในการทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหารและทนต่อน้ำดีในลำไส้ โดยมีบทบาทในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคได้โดยปัจจัยที่มีผลต่อแบคทีเรียโปรไบโอติกในทางเดินอาหารส่วนต่างตั้งแต่ในปากไปจนถึงบริเวณลำไส้ใหญ่ได้แสดงในตารางที่ 8 โดยที่แบคทีเรียโปรไบโอติกมีคุณสมบัติที่สำคัญคือ

1. ทนต่อสภาวะที่เป็นกรดในกระเพาะอาหารได้ซึ่งการรอดชีวิตนี้ขึ้นอยู่กับความสามารถในการทนต่อ พีเอชต่ำซึ่งพีเอชในกระเพาะอาหารมีค่าเป็น 2 แต่เมื่อรับประทานอาหารเข้าไปแล้ว พีเอชจะเพิ่มเป็น 3 ภายหลังจากการรับประทานอาหาร 2-4 ชั่วโมง

2. ทนต่อเกลือน้ำดี (bile salt) ในลำไส้เล็กซึ่งสร้างจาก ตับเก็บไว้ในถุงน้ำดีและจะปล่อยออกมาในลำไส้เล็กเมื่อมีการย่อยอาหารพวกไขมันและเกลือน้ำดีจะช่วยในการขับสารตกค้างในร่างกาย เช่น ยา หรือแร่ธาตุบางตัวโดยพบว่าโปรไบโอติกสามารถทนต่อเกลือน้ำดีได้ร้อยละ 0.30

3. สามารถแข่งขันกับเชื้อก่อโรคในการยึดเกาะผนังลำไส้ซึ่งโดยปกติเชื้อก่อโรคจะเข้าเกาะและต่อต้านการเคลื่อนที่ลำไส้ที่มีการบีบตัวให้อาหารเคลื่อนที่ในลักษณะลูกคลื่น(peristalsis) ซึ่งการเคลือบของโปรไบโอติกที่ผนังทางเดินอาหารนี้จะทำให้การย่อยอาหารและการดูดซึมเป็นไปได้อย่างปกติ (Fuller, 1997 อ้างโดย Ziemer and Gibson, 1998)

ตารางที่ 8 ปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนโปรไบโอติกในทางเดินอาหารของมนุษย์

Table 8. Host factors that may determine population level of microbiota in various of the human gastrointestinal tract

Anatomical regions	Mouth	Stomach	Duodenum	Ileum	Colon
pH	Alkaline	1.0-3.0	Acidic-Neutral	Neutral-alkaline	5.5-7.2
Stasis	Periodic	Periodic	Propulsions	Prolonged	Prolong/ retentive
Microenvironment	Teeth/tongue	Mucus	Mucus	Mucus	Mucus/food/ crypts/epithelium
Function	Mastication/ Partial digestion	Digestion	Digestion	Digestion/ absorption	Digestion/fluid and salts reabsorption
Approximate number of cells per ml or g content	10^8	10-100	10-1000	10^4-10^6	10^{12}

ที่มา: Claire และคณะ (2006)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. แยกและจำแนกแบคทีเรียแลกติกที่ผลิต Exopolysaccharides (EPSs) จากทางเดินอาหารสัตว์ทะเล
2. ศึกษาคุณสมบัติเบื้องต้นทั้งทางกายภาพได้แก่ น้ำหนักโมเลกุล ชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบ และ ทางชีวภาพคือคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค ของ EPSs ที่คัดเลือกได้
3. ศึกษาคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติก ของ EPSs ที่คัดเลือกได้