

## สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(8)
รายการตาราง	(9)
รายการภาพ	(12)
บทที่	
1. บทนำและวัตถุประสงค์การวิจัย	1
บทนำตั้งเรื่อง	1
บทตรวจเอกสาร	3
วัตถุประสงค์การวิจัย	29
2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการ	30
3. ผลและวิจารณ์	40
4. สรุปผลการทดลอง	77
เอกสารอ้างอิง	79
ภาคผนวก ก	89
ภาคผนวก ข	93
ภาคผนวก ค	99
ประวัติผู้เขียน	115

## รายการตาราง

ตารางที่		หน้า
1	การประยุกต์ใช้พอลิเมอร์พอลิแซคคาไรด์จากจุลินทรีย์	4
2	Fructan ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลคติก	6
3	glucan ชนิดต่างๆ ที่ผลิตโดย แบคทีเรียแลคติก	7
4	หน่วยย่อยของ เฮทเทอโรพอลิแซคคาไรด์ที่ผลิตโดย แบคทีเรียแลคติก	10
5	กลไกในการป้องกันมะเร็งของแบคทีเรียโปรไบโอติกและพรีไบโอติก	20
6	องค์ประกอบทางเคมีของพรีไบโอติก	21
7	การศึกษาคุณสมบัติของความเป็นพรีไบโอติกของ Oligosaccharides แต่ละชนิด	22
8	ปัจจัยที่มีผลต่อจำนวนโปรไบโอติกในทางเดินอาหารของมนุษย์	28
9	จำนวนสายพันธุ์แบคทีเรียแลคติกที่สร้าง EPSs ที่แยกได้จากตัวอย่างชนิดต่างๆ	41
10	จำนวนแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากสภาวะสองสภาวะ	42
11	เปรียบเทียบจำนวนสายพันธุ์แบคทีเรียที่ผลิต EPSs ที่แยกได้จากการคัดเลือก โดยใช้ การสังเกตลักษณะทางกายภาพ กับการใช้อาหาร MRS ที่เติมสี ruthenium red	44
12	ผลการจัดจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่คัดเลือกได้และปริมาณ EPSs ที่ผลิตได้ใน อาหารเหลว MRS ที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน	46
13	น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยของ EPSs ที่ผลิตโดยแบคทีเรียแลคติก	54
14	ค่า Minimal inhibition concentration (MIC) ของ EPSs ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2, <i>W. confusa</i> A9, <i>L. plantarum</i> A3 และ <i>P. pentosaceus</i> 5S4 กับจุลินทรีย์ก่อโรค	55
15	ร้อยละของการย่อย EPSs โดยเอนไซม์ 6 ชั่วโมง	59
16	ปริมาณกรดไขมันสายสั้นที่เกิดขึ้นในการหมักแบบไร้ออกซิเจนโดย <i>B. bifidum</i> ใน อาหาร minimal medium ที่มีการเติม EPSs เป็นแหล่งคาร์บอน ที่ 37 องศาเซลเซียส เวลา 48 ชั่วโมง	68
17	การย่อยสลายด้วยกรดของ EPSs ชนิดต่างๆที่พีเอช 1 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง	99
18	การย่อยสลายด้วยกรดของ EPSs ชนิดต่างๆที่พีเอช 2 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง	99
19	การย่อยสลายด้วยกรดของ EPSs ชนิดต่างๆที่พีเอช 3 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง	100
20	การเจริญของ <i>L. plantarum</i> (OD <sub>660</sub> ) ในอาหาร minimal medium ที่ใช้ EPSs ชนิด ต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอนเป็นเวลา 72 ชั่วโมง	101

รายการตาราง(ต่อ)

ตารางที่	หน้า	
21	การเจริญของ <i>L. acidophilus</i> ในอาหาร minimal medium ที่ใช้ EPSs ชนิดต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอนเป็นเวลา 72 ชั่วโมง	101
22	การเจริญของ <i>B. bifidum</i> ในอาหาร minimal medium ที่ใช้ EPSs ชนิดต่างๆเป็นแหล่งคาร์บอนเป็นเวลา 72 ชั่วโมง	102
23	การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยง <i>B. bifidum</i> ในอาหาร minimal medium ที่เติม EPSs เป็นแหล่งคาร์บอนเป็นเวลา 72 ชั่วโมง	103
24	ร้อยละของการนำ EPSs ใช้ในการเจริญของ <i>B. bifidum</i>	103
25	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>E. coli</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>P. pentosaceus</i> 5S4 เป็นแหล่งคาร์บอน	104
26	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>Stap. aureus</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>P. pentosaceus</i> 5S4 เป็นแหล่งคาร์บอน	104
27	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>S. Typhi</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>P. pentosaceus</i> 5S4 เป็นแหล่งคาร์บอน	105
28	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>E. coli</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>L. plantarum</i> A3 เป็นแหล่งคาร์บอน	105
29	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>Stap. aureus</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>L. plantarum</i> A3 เป็นแหล่งคาร์บอน	106
30	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>S. Typhi</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>L. plantarum</i> A3 เป็นแหล่งคาร์บอน	106
31	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>E. coli</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>W. confusa</i> A9 เป็นแหล่งคาร์บอน	107
32	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>Stap. aureus</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>W. confusa</i> A9 เป็นแหล่งคาร์บอน	107
33	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>Sal. Typhi</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>W. confusa</i> A9 เป็นแหล่งคาร์บอน	108

รายการตาราง(ต่อ)

ตารางที่		หน้า
34	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>E. coli</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2 เป็นแหล่งคาร์บอน	108
35	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>Stap. aureus</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2 เป็นแหล่งคาร์บอน	109
36	การเลี้ยงร่วมกันระหว่าง <i>Sal. Typhi</i> และ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ EPss ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2 เป็นแหล่งคาร์บอน	109

## รายการภาพ

ภาพที่		หน้า
1	โครงสร้างของ levan และ inulin	6
2	โครงสร้างของ dextran, mutan, reuteran และ alternan	8
3	ประโยชน์ต่อสุขภาพของ EPSs จาก แบคทีเรียแลคติก	16
4	ประโยชน์ของพรีไบโอติกในการป้องกันการเกิดมะเร็งในลำไส้	19
5	กระบวนการหมักโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ของคนในบริเวณต่างๆ	25
6	ลักษณะเมือกของโคโลนีที่มีการสร้าง EPSs บนอาหาร MRS	45
7	ลักษณะโคโลนีของแบคทีเรียแลคติกที่สร้าง EPSs บนอาหาร MRS ที่เติม RR โดยที่โคโลนีสีขาว (ลูกศรชี้) ป็นโคโลนีที่มีการสร้าง EPSs ในขณะที่โคโลนีสีแดงหรือชมพูเป็นโคโลนีที่ไม่สร้าง EPSs	45
8	เปรียบเทียบลำดับเบสของ 16s rDNA ของแบคทีเรียสายพันธุ์ A2 กับ <i>Weissella cibaria</i> Uga49-1	47
9	เปรียบเทียบลำดับเบสของ 16s rDNA ของแบคทีเรียสายพันธุ์ A9 กับ <i>Weissella confusa</i> Inje LMS-338	49
10	เปรียบเทียบลำดับเบสของ 16s rDNA ของแบคทีเรียสายพันธุ์ A3 กับ <i>Lactobacillus plantarum</i> CM 8348	51
11	เปรียบเทียบลำดับเบสของ 16s rDNA ของแบคทีเรียสายพันธุ์ 5S4 กับ <i>Pediococcus pentosaceus</i> SL4	52
12	การวิเคราะห์ชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของ EPSs ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2 (A), <i>W. confusa</i> A9(B), <i>L. plantarum</i> A3 (C), <i>P. pentosaceus</i> 5S4 (D) โดยใช้ น้ำตาลกลูโคส (G), กาแลคโตส (Ga) และไซโลส (Xy) ในการเปรียบเทียบ	54
13	การย่อยของ EPSs ที่ผลิตโดย (Δ) <i>W. confusa</i> A9 (□) <i>L. plantarum</i> A3 (◇) <i>W. cibaria</i> A2 และ (×) <i>P. pentosaceus</i> A3 ด้วยบัฟเฟอร์ของกรดเกลือ ที่พีเอช 1 (A), 2 (B) และ 3 (C)	57

รายการภาพ(ต่อ)

ภาพที่		หน้า
14	การเจริญของ <i>L. plantarum</i> ในอาหาร minimal medium ที่มีการเติม EPSs ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2 (◇), <i>W. confusa</i> A9 (□), <i>L. plantarum</i> A3 (Δ), <i>P. pentosaceus</i> (×) Glucose (*) และ ไม่เติมแหล่งคาร์บอน (○) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 72 ชั่วโมง	60
15	การเจริญของ <i>L. acidophilus</i> ในอาหาร minimal medium ที่มีการเติม EPSs ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2 (◇), <i>W. confusa</i> A9 (□), <i>L. plantarum</i> A3 (Δ), <i>P. pentosaceus</i> (*) Glucose (×) และ ไม่เติมแหล่งคาร์บอน (○) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 72 ชั่วโมง	61
16	การเจริญของ <i>B. bifidum</i> ในอาหาร minimal medium ที่มีการเติม EPSs ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2 (×), <i>W. confusa</i> A9 (Δ), <i>L. plantarum</i> A3 (□), <i>P. pentosaceus</i> (◇) และ Glucose (●) เป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เวลา 72 ชั่วโมง	62
17	ร้อยละของการนำ EPSs ไปใช้โดย <i>B. bifidum</i> เมื่อเลี้ยงในอาหาร minimal medium ที่เติม EPSs ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2 (◇), <i>W. confusa</i> A9 (□), <i>L. plantarum</i> A3(Δ), <i>P. pentosaceus</i> 5S4 (×) และ Glucose (*) เป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	63
18	การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชระหว่างการหมัก ของ <i>B. bifidum</i> ในอาหาร minimal medium ที่มีการใช้ EPSs ที่ผลิตโดย EPSs ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2 (◇), <i>W. confusa</i> A9 (□), <i>L. plantarum</i> A3 (Δ), <i>P. pentosaceus</i> (×) และ Glucose (*) เป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง	64
19	การเจริญของ <i>E. coli</i> (A), <i>Stap. aureus</i> (B), <i>Sal. Typhi</i> (C) ใน minimal medium ซึ่งมี EPSs ที่ ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2 เป็นแหล่งคาร์บอน	71
20	การเจริญของ <i>E. coli</i> (A), <i>Stap. aureus</i> (B), <i>Sal. Typhi</i> (C) ใน minimal medium ซึ่งมี EPSs ที่ผลิตโดย <i>W. confusa</i> A9 เป็นแหล่งคาร์บอน	72
21	การเจริญของ <i>E. coli</i> (A), <i>Stap. aureus</i> (B), <i>Sal. Typhi</i> (C) ใน minimal medium ซึ่งมี EPSs ที่ผลิตโดย <i>P. pentasaceus</i> 5S4 เป็นแหล่งคาร์บอน	74
22	การเจริญของ <i>E. coli</i> (A), <i>Stap. aureus</i> (B), <i>Sal. Typhi</i> (C) ใน minimal medium ซึ่งมี EPSs ที่ ผลิตโดย <i>L. plantarum</i> A3 เป็นแหล่งคาร์บอน	75

รายการภาพ(ต่อ)

ภาพที่		หน้า
23	กราฟมาตรฐานกลูโคส การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Copper-bicinchoninate	93
24	กราฟมาตรฐาน การหาปริมาณน้ำตาลทั้งหมดโดยวิธี phenol-sulfuric acid	94
25	การหาการรอดชีวิตของ <i>B. bifidum</i> โดยใช้ชุดทดสอบ LIVE/DEAD BacLight <sup>TH</sup> โดยกล้อง Confocal scanning laser microscopy	96
26	กราฟมาตรฐานของ ปริมาณ (A) กรดอะซิติก (B) โพรพิออนิก และ (C) บิวทาริก วิเคราะห์โดย GC-FID	97
27	กราฟมาตรฐานน้ำหนักโมเลกุลของ pullulan วิเคราะห์ โดย GPC	98
28	โครมาโทแกรมของ GPC แสดงน้ำหนักโมเลกุลของ ของ EPSs ที่ผลิตโดย <i>P. pentosaceus</i> 5S4	110
29	โครมาโทแกรมของ GPC แสดงน้ำหนักโมเลกุลของ ของ EPSs ที่ผลิตโดย <i>L. plantarum</i> A3	111
30	โครมาโทแกรมของ GPC แสดงน้ำหนักโมเลกุลของ ของ EPSs ที่ผลิตโดย <i>W. cibaria</i> A2	112
31	โครมาโทแกรมของ GPC แสดงน้ำหนักโมเลกุลของ ของ EPSs ที่ผลิตโดย <i>W. confusa</i> A9	113