

## บทที่ 4

### ผลการทดลอง

#### 1. ผลการคัดเลือกเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ผลิต EPS

นำเชื้อจุลินทรีย์แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกจากอาหารหมักดองจำนวน 104 เชื้อ และจากน้ำอ้อย 23 เชื้อ ดังแสดงในตารางที่ 10 และ 11 มาตรวจสอบความสามารถในการผลิต EPS โดย streak บนอาหารรุ้น และในอาหารเหลว MRS (De Man *et al.*, 1969) ที่แปรชนิดของแหล่งคาร์บอนเป็น 4 ชนิดคือ ซูโครส กลูโคส แลคโตส และฟรุคโตส พบว่าเชื้อสามารถสร้างสารเมือก EPS บนอาหารรุ้นที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนโดยเป็นเชื้อที่แยกได้จากอาหารหมักดอง 9 เชื้อ ได้แก่ *Lactobacillus pentosus* F11-1, *Lactobacillus plantarum* F7-1 , *Lactobacillus* sp.F20, F51-1 , *Pediococcus* spp. AP-1, AP-2, AP-3, AP-4 และ AP-5 พบว่าเชื้อที่แยกได้จากน้ำอ้อย 16 เชื้อ มีลักษณะรูปร่างกลมรีเรียงตัวเป็นคู่หรือสายโซ่ เป็น *Leconostoc* sp. ดังแสดงในตารางที่ 12 และ 13

ตารางที่ 10 แสดงแหล่งที่มาของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกจากอาหารหมักดอง

No.	สายพันธุ์	รหัส	แหล่งที่มา
1.	<i>Lactobacillus brevis</i>	A314	ไข่ปลาดอง
2.		P46-1	ผักเสี้ยนดอง
3.		P28-3	หน่อไม้ดอง
4.	<i>Lactobacillus fermentum</i>	P10-2	ถั่วงอกดอง
5.		FN12-1	ปลาเจ่า
6.		KM1-2	ผักเสี้ยนดอง
7.	<i>Lactobacillus pentosus</i>	A1	ไบเมี่ยงหมัก
8.		A4	ไบเมี่ยงหมัก
9.		A24	ปลาต้ม
10.		A27-2	แหนมหมู
11.		A35	ไส้กรอกเปรี้ยว
12.		A83	ปลาต้ม
13.		A330	ทุเรียนเปรี้ยว
14.		F11-1	ผักเสี้ยนดอง
15.		F18-1	ผักเสี้ยนดอง
16.		F18-2	ผักเสี้ยนดอง
17.		F19-1	ผักเสี้ยนดอง
18.		F21-1	หน่อไม้ดอง
19.		F28-1	ปลาต้ม
20.		F31-5	ส้มพิก
21.		F32-1	หน่อไม้ดอง
22.		F36-1	ปลาต้ม
23.		F36-2	ปลาต้ม
24.		F37-1	ปลาต้ม
25.		865	หอมดอง

ตารางที่ 10 (ต่อ) แสดงแหล่งที่มาของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกจากอาหารหมักดอง

No.	สายพันธุ์	รหัส	แหล่งที่มา	
26.	<i>Lactobacillus pentosus</i>	F37-2	ปลาต้ม	
27.		FN1-3	แหนมหมู	
28.		FN2	ปลาต้ม	
29.		FN3s	แหนมหมู	
30.		FN3r	แหนมหมู	
31.		FN4	แหนมหมู	
32.		FN4Sr	มิม	
33.		FN8	แหนมหมู	
34.		F11-1	ไบเมี่ยงหมัก	
35.		FP18	ไบเมี่ยงหมัก	
36.		FP38.1	เมือง	
37.		FP41-1	ไบเมี่ยงหมัก	
38.		FP46.2	ไบเมี่ยงหมัก	
39.		P2-4	หอมดอง	
40.		P7-1	ผักกาดดอง	
41.		P305	หน่อไม้ดอง	
42.		P319	หน่อไม้ดอง	
43.		P322-1	หน่อไม้ดอง	
44.		F2-1	หอมดอง	
45.		F3-9	ส้มพริก	
46.		F7-1	ไส้กรอกเปรี้ยว	
47.		415	ผักเสี้ยนดอง	
48.		420	แหนมหมู	
49.		<i>Lactobacillus plantarum</i>	F10-1	ถั่วงอกดอง
50.			F33-1	มิม

ตารางที่ 10 (ต่อ) แสดงแหล่งที่มาของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกจากอาหารหมักดอง

No.	สายพันธุ์	รหัส	แหล่งที่มา
75.	<i>Lactobacillus</i> sp.	RS27	หน่อไม้ดอง
76.		RS31	"
77.		RS32	"
78.		RS43	แหนมหมู
79.		RS55	แหนมหมู
80.	<i>Leuconostoc</i> spp.	RS95	แหนมหมู
81.		RS96	"
82.		RS97	"
83.		RS98	"
84.	<i>Pediococcus acidilactici</i>	N53	"
85.	<i>Pediococcus pentosaceus</i>	N31	ปลาต้ม
86.		N38	แหนมหมู
87.		N78	"
88.		N278	ไส้กรอกเปรี้ยว
89.		N295	ส้มพริก
90.		415	ผักเสี้ยนดอง
91.		420	แหนมหมู
92.	<i>Pediococcus</i> spp.	AP-1	แหนมหมู
93.		AP-2	"
94.		AP-3	"
95.		N01	"
96.		N35	ผักเสี้ยนดอง
97.		N63	แหนมหมู
98.		N148	"
99.		N299	"

ตารางที่ 10 (ต่อ) แสดงแหล่งที่มาของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกจากอาหารหมักดอง

No.	สายพันธุ์	รหัส	แหล่งที่มา	
51.	<i>Lactobacillus plantarum</i>	F35-1	ส้มพริก	
52.		FP48-1	มัม	
53.		KM1-1	ข้าวหมาก	
54.		KM4-2	แหนมหมู	
55.		KM10	ผักกุ่มดอง	
56.		KM13	ข้าวหมาก	
57.		KM20	ไส้กรอกเปรี้ยว	
58.		P16	ผักหนามแดง	
59.		P30-1	ผักกุ่มดอง	
60.		1067	pickled cabbage	
61.		<i>Lactobacillus sake</i>	F3-1	แหนมหมู
62.			FN1-4	แหนมหมู
63.		<i>Lactobacillus spp.</i>	F20	หอมดอง
64.	FP37-1		ไบเมี่ยงหมัก	
65.	FP51-1		ผักกุ่มดอง	
66.	RS28		หน่อไม้ดอง	
67.	RS44		แหนมหมู	
68.	RS46		"	
69.	RS56		"	
70.	RS62		"	
71.	RS74		"	
72.	RS77		"	
73.	RS93		"	
74.	RS94		"	

ตารางที่ 10 (ต่อ) แสดงแหล่งที่มาของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกจากอาหารหมักดอง

No.	สายพันธุ์	รหัส	แหล่งที่มา
100.	<i>Pediococcus</i> spp.	RS90	แทนเหมมู
101.		RS91	"
102.		RS92	"
103.		AP-4	"
104.		AP-5	"

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 แสดงแหล่งที่มาของเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกจากน้ำอ้อย

No.	สายพันธุ์	รหัส	แหล่งที่มา
108.	<i>Leuconostoc</i> sp.	LE 11-1	น้ำอ้อยจากลูกหีบ
109.		LE 11-2	"
110.		LE 11.3	"
111.		LE 12.1	"
112.		LE 12.2	"
113.		LE 13.1.	"
114.		LE 13.2	"
115.		LE 14.2	"
116.		LE 15.4	"
117.		LE 16.1	"
118.		LE 16.2	"
119.		LE 16.4	"
120.		LE 21.1	น้ำอ้อยรวม
121.		LE 21.2	"
122.		LE 21.3	"
123.		LE 22.1	"
124.		LE 22.2	"
125.		LE 22.3	"
126.		LE 22.4	"
127.		LE 23.1	"
128.		LE 23.2	"
129.		LE 26.1	"
130.		LE 26.3	"

แหล่งที่มา : น้ำอ้อยจาก บริษัทอุตสาหกรรมมิตรเกษตร จำกัด อ.ท่ามะกา จ.กาญจนบุรี

ตารางที่ 12 แสดงผลการสร้าง EPS บนอาหารรุ่น MRS ที่แปรชนิดของน้ำตาลของเชื้อแลคติก แอซิดแบคทีเรียที่แยกจากอาหารหมักดอง

รหัสเชื้อ	ชนิดน้ำตาล			
	Sucrose	Lactose	Fructose	Glucose
AP-1	+	-	-	-
AP-2	+	-	-	-
AP-3	+	-	-	-
AP-4	+	-	-	-
AP-5	+	-	-	-
FP51-1	+	-	-	-
F7-1	+	-	-	-
F20	+	-	-	-
F11-1	+	-	-	-

+ = เชื้อมีการสร้างเมือก (slime) บนอาหารแข็ง

- = เชื้อไม่มีการสร้างเมือก (slime) บนอาหารแข็ง



ตารางที่ 13 แสดงผลการสร้าง EPS บนอาหารฐาน MRS ที่แปรชนิดน้ำตาลของเชื้อแลคติกแอซิด  
แบบที่เรียที่แยกจากน้ำอ้อย

รหัสเชื้อ	ชนิดน้ำตาล			
	Sucrose	Lactose	Fructose	Glucose
LE11-1	+	-	-	-
LE11-2	+	-	-	-
LE11-3	+	-	-	-
LE12-1	+	-	-	-
LE12-2	+	-	-	-
LE13-1	+	-	-	-
LE13-2	+	-	-	-
LE14-2	+	-	-	-
LE15-4	+	-	-	-
LE16-1	+	-	-	-
LE16-2	+	-	-	-
LE16-4	+	-	-	-
LE21-1	+	-	-	-
LE21-2	+	-	-	-
LE21-3	+	-	-	-
LE22.1	+	-	-	-

+ = เชื้อมีการสร้างเมือก (slime) บนอาหารแข็ง

- = เชื้อไม่มีการสร้างเมือก (slime) บนอาหารแข็ง

เนื่องจากในการผลิต Microbial polysaccharides ทางการค้ามักจะทำการผลิตในอาหารเหลว เช่น Xanthan gum เป็นต้น ดังนั้นจึงนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียมาทดสอบการสร้าง EPS ในอาหารเหลว พบว่าเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่นำมาทดสอบส่วนใหญ่ไม่สามารถสร้าง EPS ได้ในอาหารเหลวหรือสร้างได้น้อยมาก มีเพียง AP-1 , AP-3 , LE13.1 และ LE13.2 ที่สามารถสร้าง EPS ได้ในอาหารเหลวสูงกว่า 0.1 กรัมต่อลิตร ในอาหารเหลวที่มีแหล่งของคาร์บอนเป็นน้ำตาลซูโครส โดยผลิตได้ 6 กรัมต่อลิตร 2.5 กรัมต่อลิตร 2.1 กรัมต่อลิตร และ 1.96 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แสดงผลการสร้าง EPS ในอาหารเหลว MRS ที่มีน้ำตาลซูโครส 2 % เป็นองค์ประกอบ

รหัสเชื้อ	ปริมาณ EPS (g/L) ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
AP-1	6.0 <sup>a</sup> ± 0.42
AP-3	2.5 <sup>b</sup> ± 0.13
LE 13.1	2.1 <sup>c</sup> ± 0.05
LE13.2	1.96 <sup>d</sup> ± 0.17

a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน

แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

หมายเหตุ แสดงผลเฉพาะเชื้อที่ผลิตได้มากกว่า 0.1 g/L

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

## 2. ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์เชื้อ

สายพันธุ์ AP-1 และ AP-3 ที่นำมาศึกษานั้นเมื่อเจริญบนอาหาร MRS ที่มีซูโครส เป็นองค์ประกอบจะสร้างสารเมือกเอ็ม ดังแสดงในรูปที่ 4 และ 5 โดยลักษณะโคโลนีของ AP-1 จะไม่เรียบจะมีหลุม ๆ คล้ายกับมีการสร้างก๊าซขณะเจริญ โดยจะมีเมือกใส ใส เอ็มอยู่รอบ ๆ โคโลนีเดี่ยว ในขณะที่ลักษณะโคโลนีของ AP-3 จะเรียบและชุ่มเอ็มเท่า ๆ กัน แต่จะไม่มีเมือกใส ใส เอ็มแยกออกมา เมื่อนำ AP-1 และ AP-3 ไปย้อมแกรมพบว่า ทั้ง AP-1 และ AP-3 ย้อมติดสีแกรมบวก เซลล์มีรูปร่างกลม (cocci) ดังแสดงในรูปที่ 6 มีการจัดเรียงตัวเป็นแบบ tetrad มีขนาดเซลล์ 0.8-1.2 ไมโครเมตร และ 1.0-1.4 ไมโครเมตรตามลำดับ สามารถสร้าง เอนไซม์ Pseudocatalase ได้ไม่รีดิวซ์ไนเตรท (nitrate reduction) สามารถย่อยสลายอาร์จินีน และเอสคูลินได้ (hydrolysis of arginine and esculin) สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 50 องศาเซลเซียส สามารถเจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี pH 4.0, 6.0 และ 8.0 แต่ไม่เจริญเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมี pH 8.5 . โดยมีความสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 4.0 6.0 และ 8.0 เปอร์เซ็นต์ แต่เชื้อทั้งสองสายพันธุ์ไม่เจริญ เมื่อความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 10 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 15

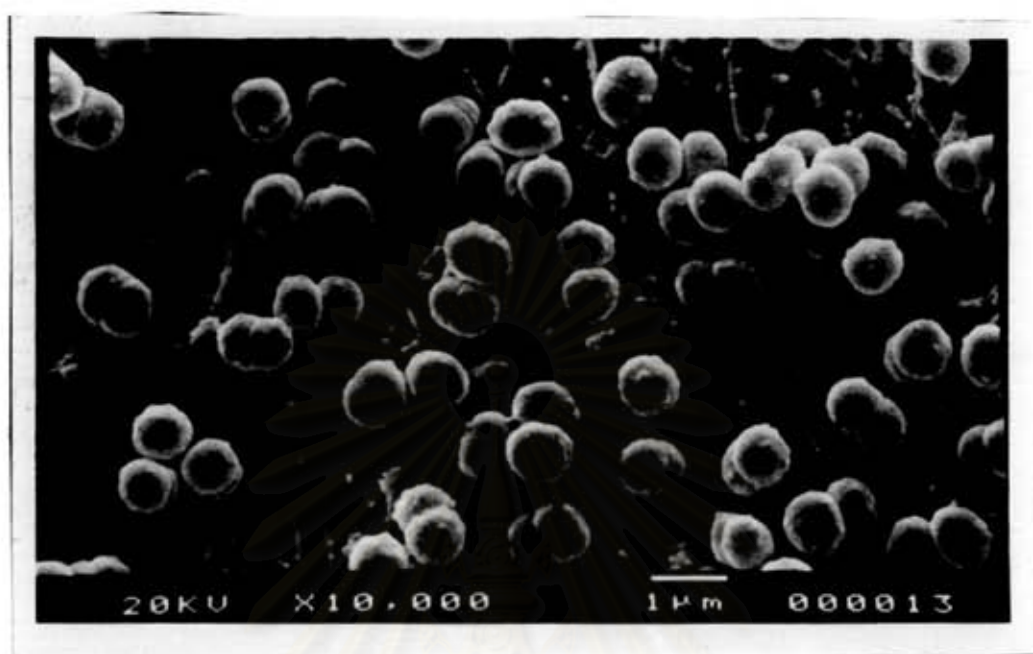
เมื่อทดสอบความสามารถในการสร้างกรดจากแหล่งคาร์บอนต่างๆ พบว่าทั้ง AP-1 และ AP-3 สามารถสร้างกรดได้ เมื่อเจริญในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็น ไรโบส (ribose) แลคโตส (lactose) มอลโตส (maltose) ซูโครส (sucrose) เมลิซิโทส (melizitose) เมลิไบโอส (melibiose) ซาลิซิน(salicin) ราฟฟิโนส (raffinose) ฟรุคโตส (fructose) แมนโนส (mannose) แต่ไม่สามารถสร้างกรดได้เมื่อเจริญในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็น อะราบิโนส (arabinose) ไซโลส (xylose) แมนนิทอล (mannitol) แรมโนส (Rhamnose) เซลโลไบโอส (Cellulose) ซอบิทอล (sorbitol) ซอโบส (sorbosose) ทรีฮาโลส (trehalose) ดังแสดงในตารางที่ 16



รูปที่ 4 แสดงโคโลนีของเชื้อ AP-1 ที่เจริญบนอาหารแข็ง MRS ที่มีน้ำตาลซูโครส 2 % เป็นองค์ประกอบ



รูปที่ 5 แสดงโคโลนีของเชื้อ AP-3 ที่เจริญบนอาหารแข็ง MRS ที่มีน้ำตาลซูโครส 2 % เป็นองค์ประกอบ



รูปที่ 6 แสดงรูปร่างเซลล์ของเชื้อ AP-3 เมื่อถ่ายด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 15 แสดงลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเจริญและทางชีวเคมีของเชื้อ AP-1 และ AP-3

ลักษณะ	เชื้อ	
	AP-1	AP-3
Gram reaction	+	+
Cell form	cocci	cocci
Cell arrangement	tetrad	tetrad
Cell size ( $\mu\text{m}$ )	0.8-1.2	1.0-1.4
Pseudocatalase	+	+
Nitrate reduction (aerobic)	-	-
Hydrolysis of arginine	+	+
Hydrolysis of esculin	+	+
Growth at 45°C	+	+
50°C	-	-
Growth at pH 4.0	+	+
pH 4.5	+	+
pH 8.0	+	+
pH 8.5	-	-
Growth at NaCl 4.0 %	+	+
NaCl 6.0 %	+	+
NaCl 8.0 %	+	+
NaCl 10.0 %	-	-

หมายเหตุ

+ = ให้ปฏิกิริยา - = ไม่ให้ปฏิกิริยา

ตารางที่ 16 แสดงลักษณะการสังเคราะห์ของเชื้อ AP-1 และ AP-3 ในอาหารที่แปรชนิดของ แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ

ชนิดน้ำตาล	เชื้อ	
	AP-1	AP-3
Ribose	+	+
Arabinose	-	-
Xylose	-	-
Mannitol	-	-
Lactose	+	+
Maltose	+	+
Sucrose	+	+
Rhamnose	-	-
Melzitose	+	+
Melibiose	+	+
Cellobiose	-	-
Sorbitol	-	-
Salicin	+	+
Sorbose	-	-
Mannose	+	+
Fructose	-	-
Trehalose	+	+
Raffinose	+	+

หมายเหตุ + = สามารถสังเคราะห์ได้ - = ไม่สามารถสังเคราะห์ได้



### 3. ผลการศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตและการผลิต EPS

จากการเลี้ยงเชื้อ AP-1 และ AP-3 ในอาหาร MRS ที่มีน้ำตาลซูโครส 2 เปอร์เซ็นต์ เป็นองค์ประกอบมี pH เริ่มต้น 6.5 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้ศึกษาลักษณะการเจริญเติบโตและการผลิตโดยสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของ pH ปริมาณเซลล์ และปริมาณ EPS ดังแสดงในรูปที่ 7 และรูปที่ 8

### 4. ผลการศึกษากวาระที่เหมาะสมในการสร้าง EPS

#### 4.1 ผลการศึกษางองค์ประกอบของอาหาร

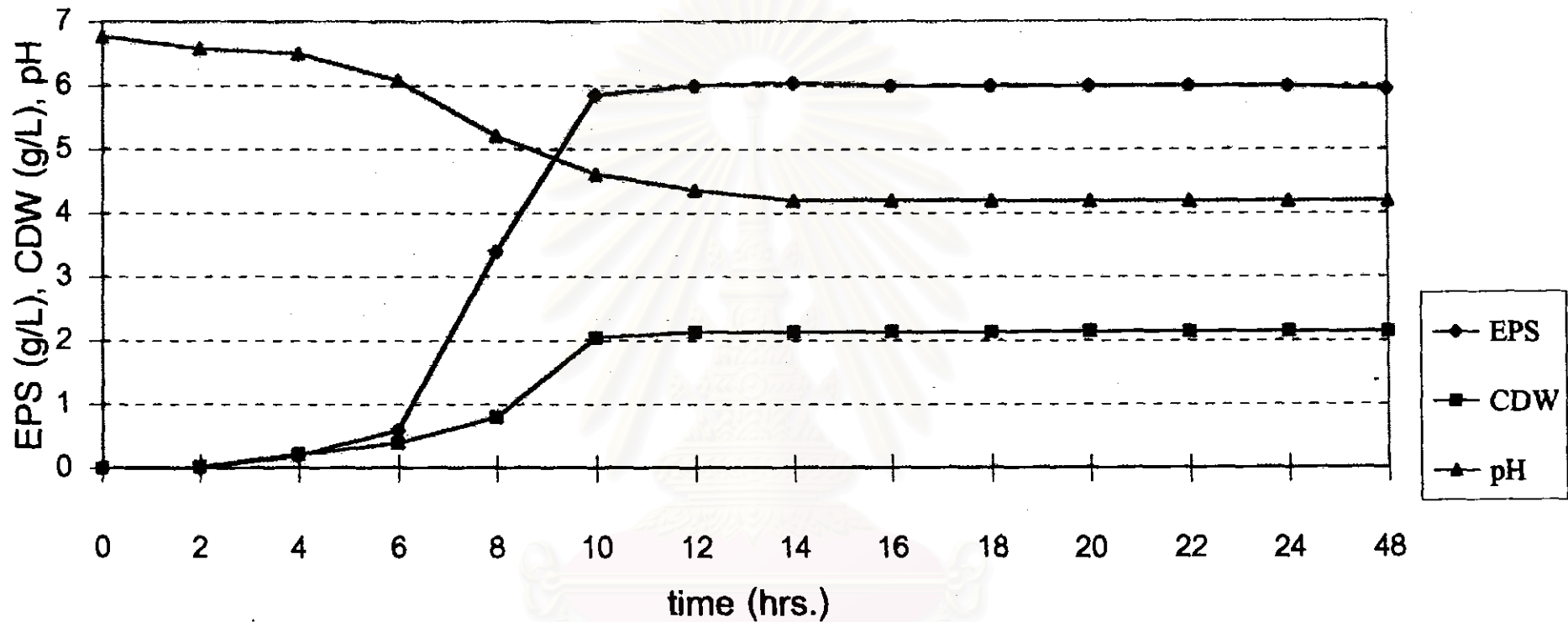
##### 4.1.1 ผลการแปรปริมาณน้ำตาล

เมื่อทดสอบการสร้าง EPS พบว่า เชื้อ AP-1 และ AP-3 สามารถสร้าง EPS ได้สูงเมื่อเจริญบนอาหารที่มีน้ำตาลซูโครส ดังนั้นจึงแปรปริมาณ คือ น้ำตาลซูโครส เป็น 11 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0, 2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10.0, 15.0, 20.0 และ 30.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเมื่อปริมาณน้ำตาลสูงขึ้นก็จะมีผลทำให้การผลิต EPS สูงขึ้นด้วย โดยพบว่าที่ปริมาณน้ำตาลซูโครส 30 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เชื้อ AP-1 และ AP-3 ผลิต EPS สูงสุด คือ 25.06 กรัมต่อลิตร และ 19.69 กรัมต่อลิตร

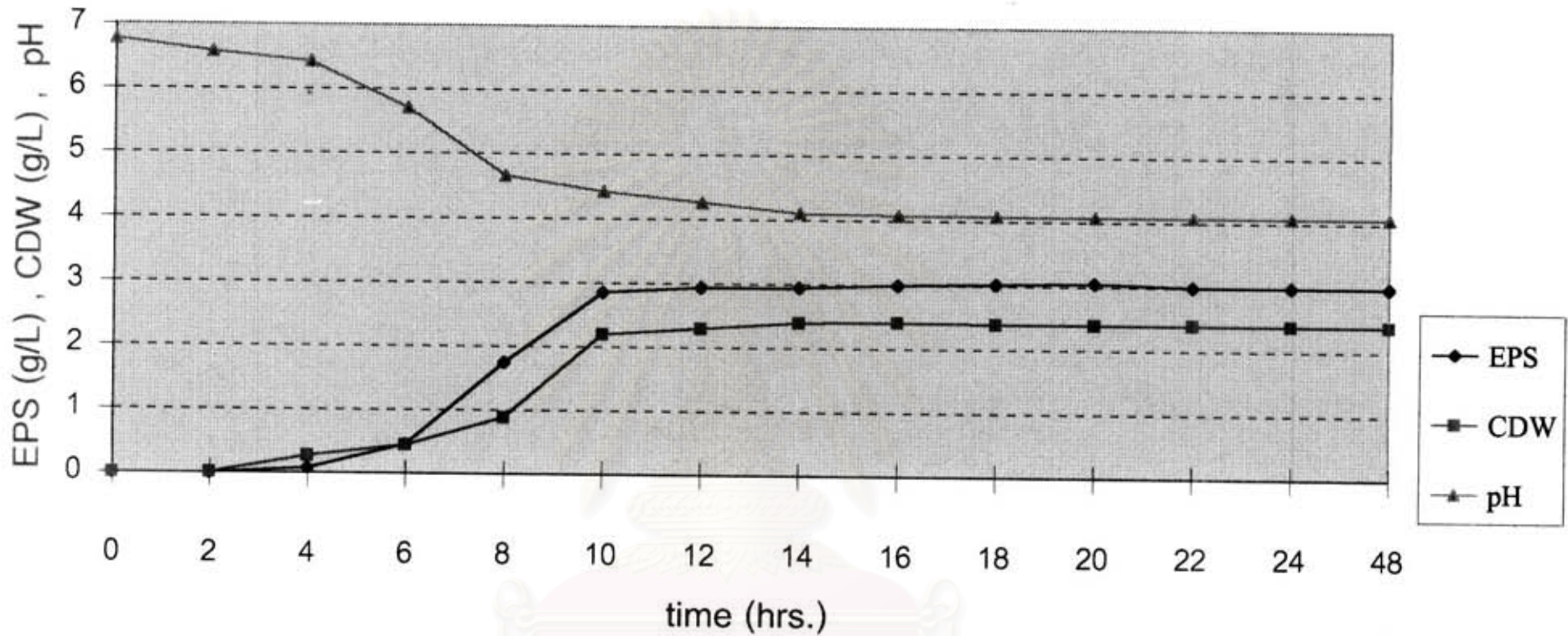
ในเชื้อ AP-1 พบว่าปริมาณน้ำตาล 1.0 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้ปริมาณ EPS ต่อปริมาณน้ำตาลซูโครสตั้งต้นสูงที่สุด คือ 4.52 แต่เนื่องจากปริมาณ EPS ที่ผลิตได้ค่อนข้างต่ำ คือ 2.26 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณน้ำตาลซูโครส 4.0 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองต่อไป เนื่องจากให้ปริมาณ EPS ต่อปริมาณน้ำตาลซูโครสตั้งต้นสูงถัดมา คือ 3.9 กรัมต่อลิตร และสามารถผลิต EPS ได้สูงถึง 15.78 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 17

ส่วนในเชื้อ AP-3 พบว่าปริมาณน้ำตาล 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลทำให้ปริมาณ EPS ต่อปริมาณน้ำตาลซูโครสตั้งต้นสูง คือ 4.5 และ 1.43 ตามลำดับ แต่เนื่องจากปริมาณ EPS ที่ผลิตได้จะค่อนข้างต่ำ คือ 0.835 กรัมต่อลิตร และ 1.34 กรัมต่อลิตร ดังนั้นจึงพิจารณาที่จะเลือกใช้ปริมาณน้ำตาลซูโครส 10.0 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองต่อไป ซึ่งจะทำให้ปริมาณ EPS ต่อปริมาณน้ำตาลซูโครสตั้งต้นสูงถัดมาคือ 1.34 กรัมต่อลิตร และสามารถผลิต EPS ได้สูงถึง 13.36 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในตารางที่ 18





รูปที่ 7 กราฟแสดงการเจริญของสายพันธุ์ AP-1 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ปริมาณการสร้าง EPS และน้ำหนักเซลล์ในอาหาร MRS ที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนปมที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส



รูปที่ 8 กราฟแสดงการเจริญของสายพันธุ์ AP-3 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอช ปริมาณการสร้าง EPS และน้ำหนักเซลล์ในอาหาร MRS ที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 แสดงผลของการแปรปริมาณน้ำตาลซูโครสในอาหาร MRS ต่อการสร้าง EPS ของเชื้อ AP-1 เมื่อทำการบ่มครบ 72 ชั่วโมง

ปริมาณน้ำตาล (%)	ค่าเฉลี่ย			
	pH	CDW (g/l)	EPS (g/l)	EPS/Sugar (g/g)
0	6.46 <sup>a</sup> ± 0.05	0.77 <sup>f</sup> ± 0.06	0.00 <sup>i</sup> ± 0.00	0.00 <sup>k</sup> ± 0.00
0.5	5.21 <sup>b</sup> ± 0.10	1.79 <sup>c</sup> ± 0.16	2.26 <sup>l</sup> ± 0.20	4.52 <sup>m</sup> ± 0.45
1.0	4.73 <sup>c</sup> ± 0.02	2.17 <sup>b</sup> ± 0.25	3.48 <sup>n</sup> ± 0.35	3.48 <sup>c</sup> ± 0.30
2.0	4.20 <sup>d</sup> ± 0.05	2.21 <sup>a</sup> ± 0.15	6.00 <sup>o</sup> ± 0.45	3.00 <sup>d</sup> ± 0.20
4.0	3.94 <sup>e</sup> ± 0.05	1.73 <sup>e</sup> ± 0.15	15.78 <sup>p</sup> ± 0.70	3.90 <sup>b</sup> ± 0.25
6.0	3.94 <sup>e</sup> ± 0.05	1.73 <sup>c</sup> ± 0.20	16.12 <sup>q</sup> ± 0.58	2.69 <sup>e</sup> ± 0.10
8.0	3.91 <sup>f</sup> ± 0.10	1.69 <sup>d</sup> ± 0.05	17.23 <sup>d</sup> ± 0.75	2.15 <sup>f</sup> ± 0.22
10.0	3.91 <sup>f</sup> ± 0.05	1.65 <sup>d</sup> ± 0.10	19.60 <sup>c</sup> ± 0.50	1.96 <sup>g</sup> ± 0.15
15.0	3.90 <sup>f</sup> ± 0.05	1.55 <sup>e</sup> ± 0.12	19.97 <sup>c</sup> ± 0.95	1.33 <sup>h</sup> ± 0.18
20.0	3.91 <sup>f</sup> ± 0.05	1.50 <sup>e</sup> ± 0.10	20.28 <sup>b</sup> ± 1.12	1.02 <sup>i</sup> ± 0.10
30.0	3.97 <sup>g</sup> ± 0.20	0.79 <sup>f</sup> ± 0.05	25.06 <sup>a</sup> ± 1.52	0.84 <sup>j</sup> ± 0.05

a,b,c,d,.....ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวเดียวกัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05)

สถาบันวิทยบริการ  
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 แสดงผลของการแปรปริมาณน้ำตาลซูโครสในอาหาร MRS ต่อการสร้าง EPS ของเชื้อ AP-3 เมื่อทำการบ่มครบ 72 ชั่วโมง

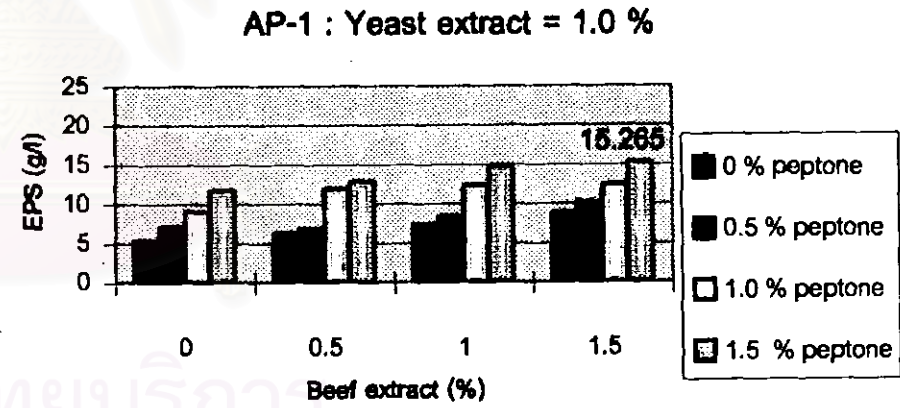
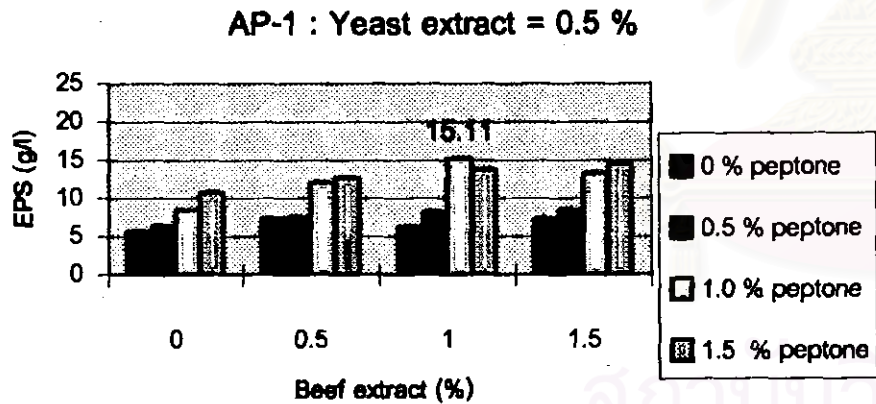
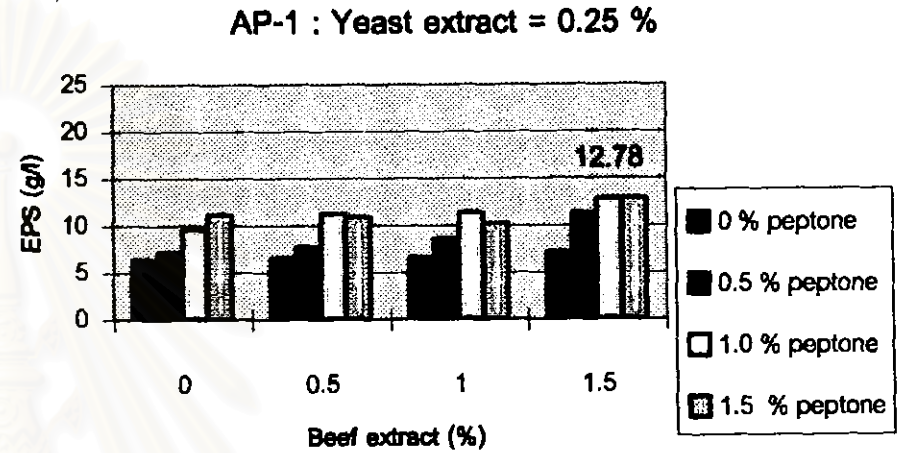
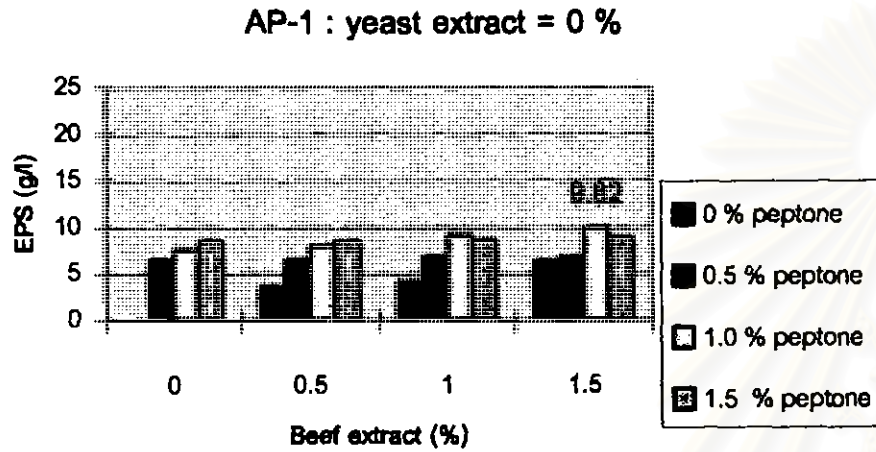
ปริมาณน้ำตาล (%)	ค่าเฉลี่ย			
	pH	CDW (g/l)	EPS (g/l)	EPS/sugar (g/g)
0	6.44 <sup>a</sup> ± 0.05	1.06 <sup>g</sup> ± 0.10	0.00 <sup>h</sup> ± 0.00	0.00 <sup>i</sup> ± 0.00
0.5	5.15 <sup>b</sup> ± 0.10	1.89 <sup>d</sup> ± 0.15	0.84 <sup>i</sup> ± 0.05	4.5 <sup>a</sup> ± 0.35
1.0	4.69 <sup>c</sup> ± 0.05	2.28 <sup>b</sup> ± 0.20	1.34 <sup>j</sup> ± 0.12	1.43 <sup>b</sup> ± 1.25
2.0	4.26 <sup>d</sup> ± 0.05	2.415 <sup>a</sup> ± 0.22	2.59 <sup>h</sup> ± 0.24	1.25 <sup>d</sup> ± 0.10
4.0	3.96 <sup>e</sup> ± 0.02	2.31 <sup>b</sup> ± 0.18	4.67 <sup>g</sup> ± 0.44	1.17 <sup>e</sup> ± 0.85
6.0	4.02 <sup>e</sup> ± 0.01	2.18 <sup>c</sup> ± 0.21	6.99 <sup>f</sup> ± 0.52	1.17 <sup>e</sup> ± 0.70
8.0	4.05 <sup>e</sup> ± 0.05	1.93 <sup>d</sup> ± 0.15	10.01 <sup>e</sup> ± 0.85	1.25 <sup>d</sup> ± 0.85
10.0	4.07 <sup>e</sup> ± 0.01	1.64 <sup>e</sup> ± 0.10	13.36 <sup>d</sup> ± 1.12	1.34 <sup>e</sup> ± 0.11
15.0	4.06 <sup>e</sup> ± 0.05	1.55 <sup>f</sup> ± 0.12	15.78 <sup>c</sup> ± 1.23	1.05 <sup>f</sup> ± 0.10
20.0	4.04 <sup>e</sup> ± 0.10	1.50 <sup>f</sup> ± 0.10	17.295 <sup>b</sup> ± 0.78	0.86 <sup>g</sup> ± 0.05
30.0	4.11 <sup>e</sup> ± 0.05	0.79 <sup>h</sup> ± 0.05	19.69 <sup>a</sup> ± 1.45	0.66 <sup>h</sup> ± 0.65

a,b,c,d,.....ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกันแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

#### 4.1.2 ผลการแปรปริมาณไนโตรเจน

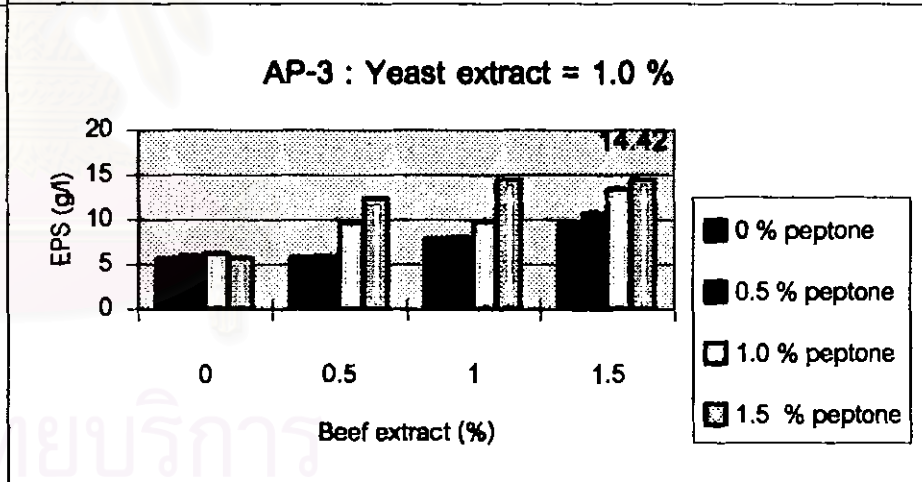
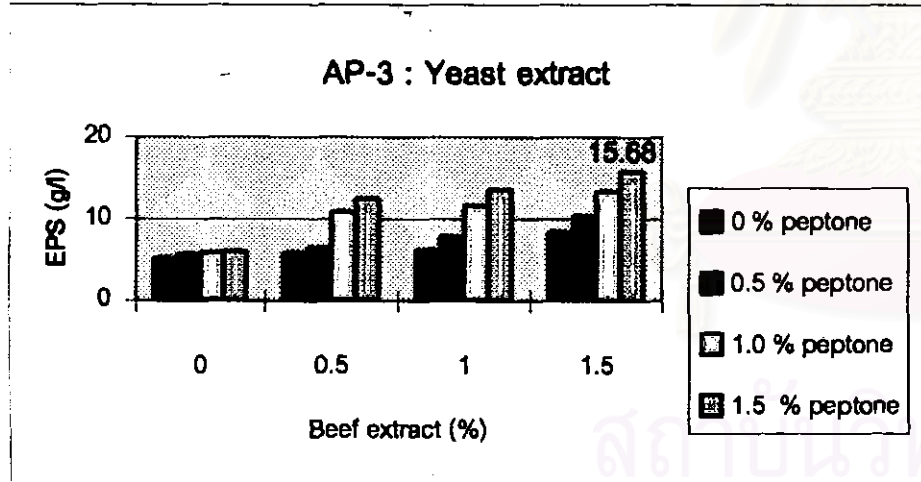
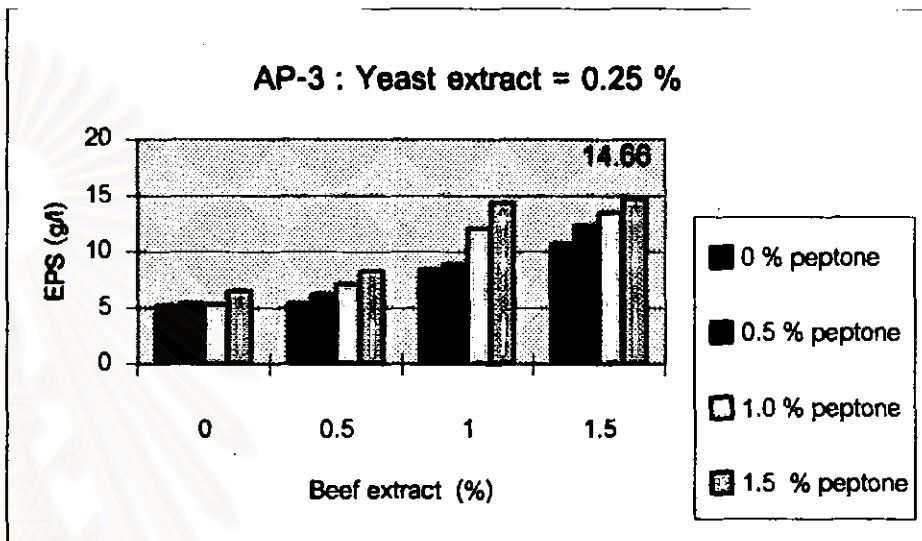
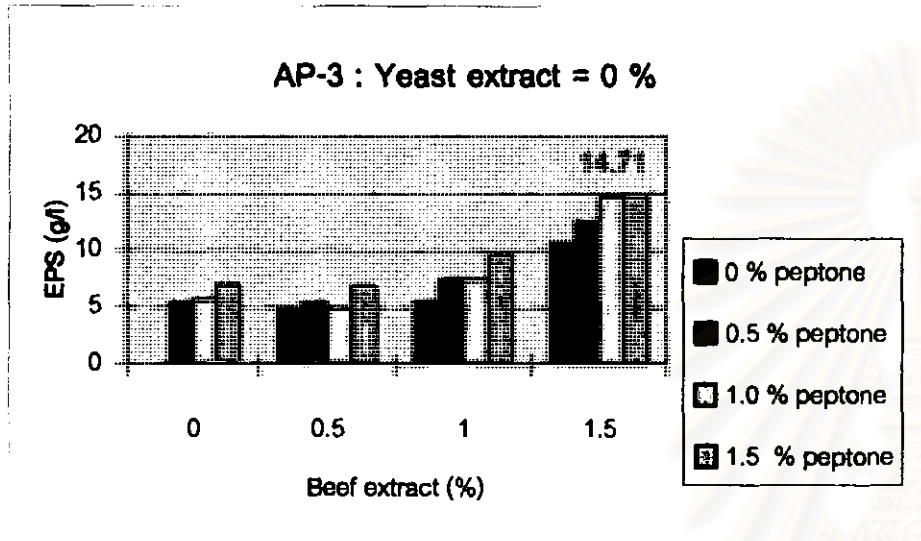
จากการแปรชนิดของไนโตรเจน คือ Yeast extract , Peptone และ Beef extract พบว่าไนโตรเจนทั้ง 3 ชนิดมีผลต่อการผลิต EPS อย่างมีนัยสำคัญ โดยแปรปริมาณ Yeast extract เป็น 4 ระดับ คือ 0, 0.25, 0.5 และ 1.0 กรัมต่อลิตร ส่วน Peptone และ Beef extract แปรเป็น 4 ระดับ คือ 0, 0.5, 1.0 และ 1.5 กรัมต่อลิตร ดังแสดงในรูปที่ 9 และ 10

พบว่าปริมาณไนโตรเจนที่ทำให้ AP-1 ผลิต EPS ได้สูงที่สุด คือ ปริมาณ Yeast extract : Peptone : Beef extract เท่ากับ 1.0 : 1.5 : 1.5 เปอร์เซ็นต์ โดยผลิตได้ 15.265 กรัมต่อลิตร แต่เนื่องจากแหล่งไนโตรเจนทั้ง 3 ชนิด มีราคาค่อนข้างสูง ดังนั้นจึงเลือกใช้ระดับที่ต่ำลงมาแต่ให้ปริมาณ EPS สูงเช่นเดียวกัน คือ Yeast extract : Peptone : Beef extract เท่ากับ 0.5 : 1.0 : 1.0 โดยผลิตได้ 15.11 กรัมต่อลิตร



รูปที่ 9 กราฟแสดงผลปริมาณไนโตรเจน ได้แก่ Yeast extract, Peptone และ Beef extract ต่อปริมาณการผลิต EPS ของเชื้อ AP-1





รูปที่ 10 กราฟแสดงผลปริมาณไนโตรเจน ได้แก่ Yeast extract, Peptone และ Beef extract ต่อปริมาณการผลิต EPS ของเชื้อ AP-3

ส่วนปริมาณไนโตรเจนที่ทำให้ AP-3 ผลิต EPS ได้สูงที่สุด คือ Yeast extract : Peptone : Beef extract เท่ากับ 0.5 : 1.5 : 1.5 โดยผลิตได้ 15.68 กรัมต่อลิตร

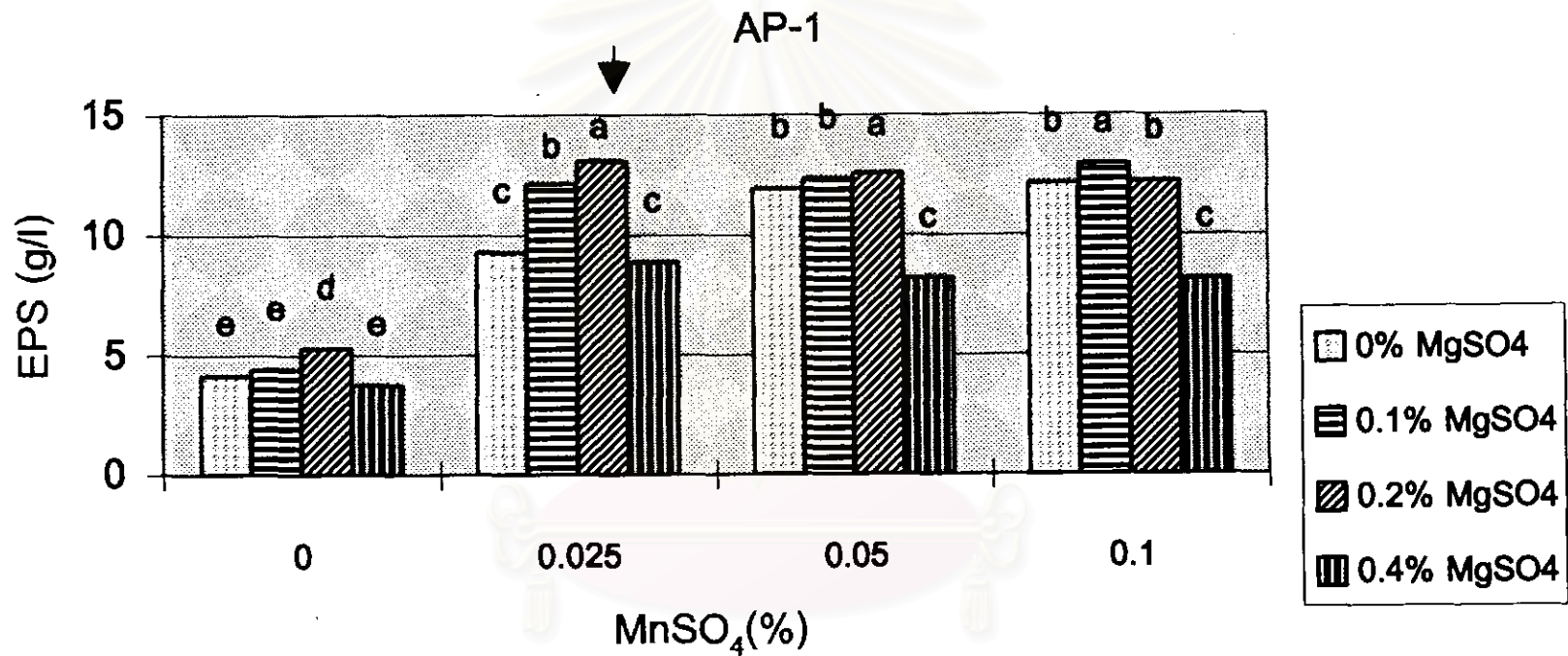
#### 4.1.3 ผลการแปรปริมาณแร่ธาตุ

เมื่อแปรปริมาณคาร์บอนและไนโตรเจนแล้ว จึงแปรปริมาณแร่ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของอาหาร MRS คือ  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  เป็น 4 ระดับคือ 0, 0.1, 0.2, 0.4 กรัมต่อลิตร และ  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  เป็น 4 ระดับ คือ 0, 0.025, 0.05, 0.1 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณ  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$  :  $MnSO_4 \cdot 4H_2O$  ที่เหมาะสมต่อการผลิต EPS ของเชื้อ AP-1 และ AP-3 คือ 0.2 : 0.025 และ 0.4:0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 11 และ 12

#### 4.2 ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสร้าง EPS

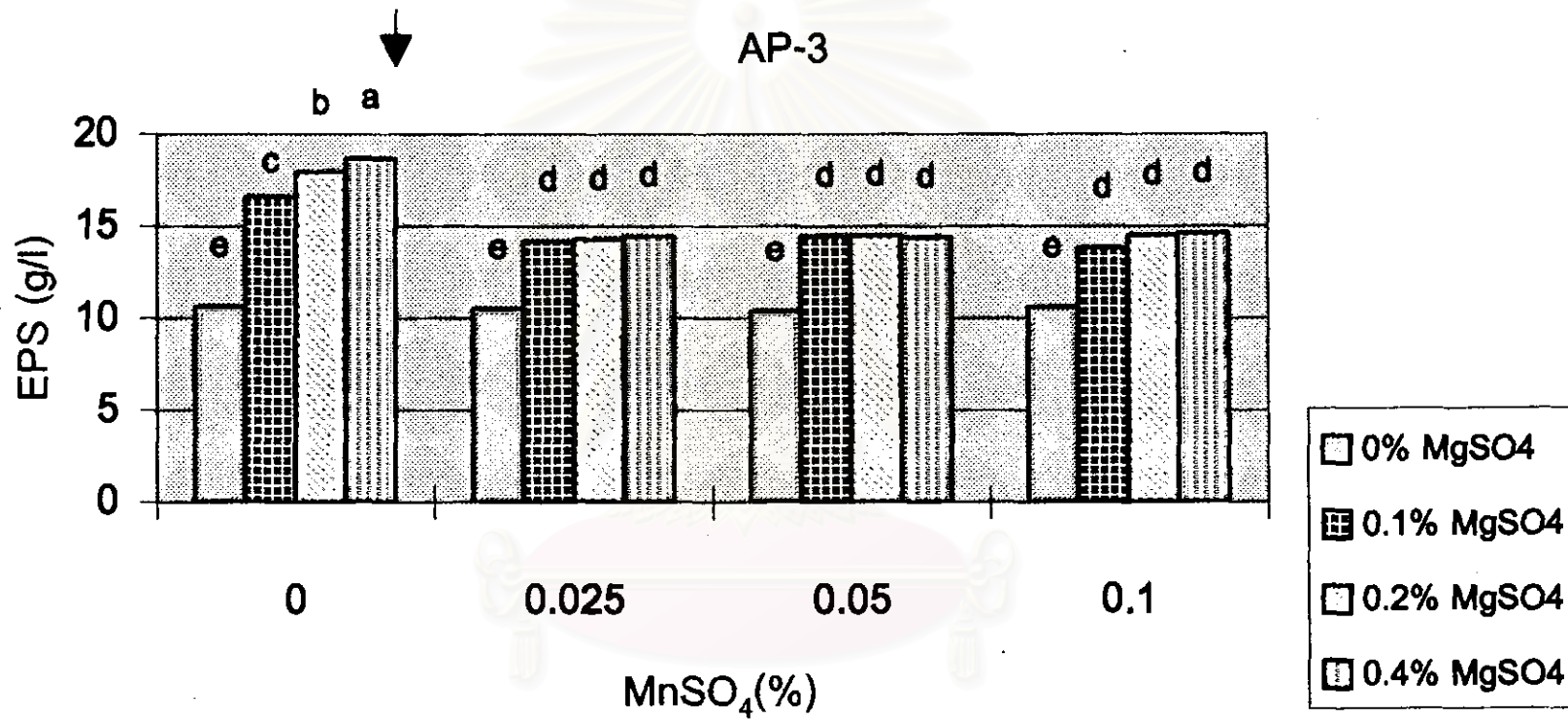
##### 4.2.1 ผลการศึกษาผลของอัตราส่วนของอากาศต่ออาหารและกาวเขย่า

พบว่าอัตราส่วนของอากาศต่ออาหารไม่มีผลต่อการผลิต EPS ของทั้ง 2 เชื้อ คือ AP-1 และ AP-3 โดยพบว่าการไม่เขย่าจะทำให้การผลิต EPS สูงกว่าเล็กน้อยซึ่งแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญ ดังแสดงในตารางที่ 19 และตารางที่ 20 ตามลำดับ



รูปที่ 11 กราฟแสดงผลของปริมาณ MgSO<sub>4</sub> และ MnSO<sub>4</sub> ต่อปริมาณการผลิต EPS ของเชื้อ AP-1





รูปที่ 12 กราฟแสดงผลของปริมาณ MgSO<sub>4</sub> และ MnSO<sub>4</sub> ต่อปริมาณการผลิต EPS ของเชื้อ AP-3

ตารางที่ 19 แสดงผลของอัตราส่วนของอากาศต่ออาหารและการเขย่าต่อปริมาณการผลิต EPS ของเชื้อ AP-1

ภาวะ	ระดับอาหาร	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
เขย่า (150 rpm)	25	15.11 <sup>b</sup> $\pm$ 0.50
	50	15.61 <sup>b</sup> $\pm$ 0.77
	75	15.68 <sup>b</sup> $\pm$ 1.21
	100	15.72 <sup>b</sup> $\pm$ 0.18
	125	15.82 <sup>b</sup> $\pm$ 0.150
	150	15.79 <sup>b</sup> $\pm$ 0.21
ไม่เขย่า	25	16.55 <sup>a</sup> $\pm$ 0.15
	50	16.62 <sup>a</sup> $\pm$ 0.37
	75	16.72 <sup>a</sup> $\pm$ 0.12
	100	16.67 <sup>a</sup> $\pm$ 0.28
	125	16.65 <sup>a</sup> $\pm$ 0.50
	150	16.71 <sup>a</sup> $\pm$ 0.27

a,b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

ตารางที่ 20 แสดงผลของอัตราส่วนของอากาศต่ออาหารและการเขย่าต่อปริมาณการผลิต EPS ของเชื้อ AP-3

ภาวะ	ระดับอาหาร	ค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน
เขย่า (150 rpm)	25	18.07 <sup>b</sup> $\pm$ 0.05
	50	18.15 <sup>b</sup> $\pm$ 0.17
	75	18.16 <sup>b</sup> $\pm$ 0.21
	100	18.25 <sup>b</sup> $\pm$ 0.16
	125	18.31 <sup>b</sup> $\pm$ 0.08
	150	18.30 <sup>b</sup> $\pm$ 0.10
ไม่เขย่า	25	18.71 <sup>a</sup> $\pm$ 0.08
	50	18.63 <sup>a</sup> $\pm$ 0.37
	75	18.77 <sup>a</sup> $\pm$ 0.11
	100	18.75 <sup>a</sup> $\pm$ 0.05
	125	18.69 <sup>a</sup> $\pm$ 0.18
	150	18.71 <sup>a</sup> $\pm$ 0.27

a,b ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแต่ละแถวเดียวกัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P \leq 0.05$ )

#### 4.2.2 ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิ

พบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อการผลิต EPS ของทั้ง AP-1 และ AP-3 โดยผลิตได้ 16.32 กรัมต่อลิตร และ 18.56 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และพบว่าที่อุณหภูมิสูงจะทำให้สูญเสียความสามารถในการผลิต EPS เช่นเดียวกับที่อุณหภูมิต่ำ คือ ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส ทั้ง AP-1 และ AP-3 ผลิต EPS ได้ต่ำลงเช่นกัน ดังแสดงในตารางที่ 21 และ ตารางที่ 22

ตารางที่ 21 แสดงผลของอุณหภูมิต่อปริมาณการผลิต EPS ของเชื้อ AP-1

อุณหภูมิ (°C)	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	pH	CDW (g/L)	EPS (g/L)
20	4.21 <sup>a</sup> ± 0.02	1.881 <sup>b</sup> ± 0.102	10.18 <sup>c</sup> ± 0.52
30	3.95 <sup>b</sup> ± 0.05	2.102 <sup>a</sup> ± 0.025	16.32 <sup>a</sup> ± 0.48
37	4.05 <sup>b</sup> ± 0.01	1.918 <sup>b</sup> ± 0.056	13.15 <sup>b</sup> ± 0.23
40	5.26 <sup>c</sup> ± 0.025	1.014 <sup>c</sup> ± 0.095	5.11 <sup>d</sup> ± 0.21

a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05)

ตารางที่ 22 แสดงผลของอุณหภูมิต่อปริมาณการผลิต EPS ของเชื้อ AP-3

อุณหภูมิ (°C)	ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน		
	pH	CDW (g/L)	EPS (g/L)
20	4.56 <sup>b</sup> ± 0.02	1.512 <sup>c</sup> ± 0.005	12.64 <sup>c</sup> ± 0.20
30	4.05 <sup>a</sup> ± 0.01	1.928 <sup>a</sup> ± 0.010	18.56 <sup>a</sup> ± 0.16
37	4.11 <sup>c</sup> ± 0.04	1.886 <sup>b</sup> ± 0.015	14.28 <sup>b</sup> ± 0.30
40	5.66 <sup>a</sup> ± 0.05	0.891 <sup>b</sup> ± 0.035	3.78 <sup>d</sup> ± 0.12

a,b,c,d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับต่างกันในแถวตั้งเดียวกัน แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P≤0.05)

##### 5. การทำให้ EPS บริสุทธิ์บางส่วน (EPS Partial purification)

เมื่อคัดเลือกเชื้อและศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต EPS ได้แล้ว นำมาทำการผลิตเพื่อให้ได้ปริมาณมาก พบว่า EPS ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์บางส่วน และนำไปทำแห้งโดยใช้เครื่อง freeze dryer พบว่า มีลักษณะผงละเอียด จะมีสีขาว ดังแสดงในรูปที่ 13 และรูปที่ 14 แล้วจึงนำ EPS ที่ผลิตได้ไปศึกษาคุณสมบัติด้านความหนืดและคุณสมบัติเบื้องต้นต่อไป



รูปที่ 13 แสดงลักษณะ EPS ของ AP-1 ที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้เครื่อง freeze dryer



รูปที่ 14 แสดงลักษณะ EPS ของ AP-3 ที่ผ่านการทำแห้งโดยใช้เครื่อง freeze dryer

## 6. ผลการศึกษาคุณสมบัติด้านความหนืดของ EPS ในน้ำกลั่นความเข้มข้นต่าง ๆ กัน

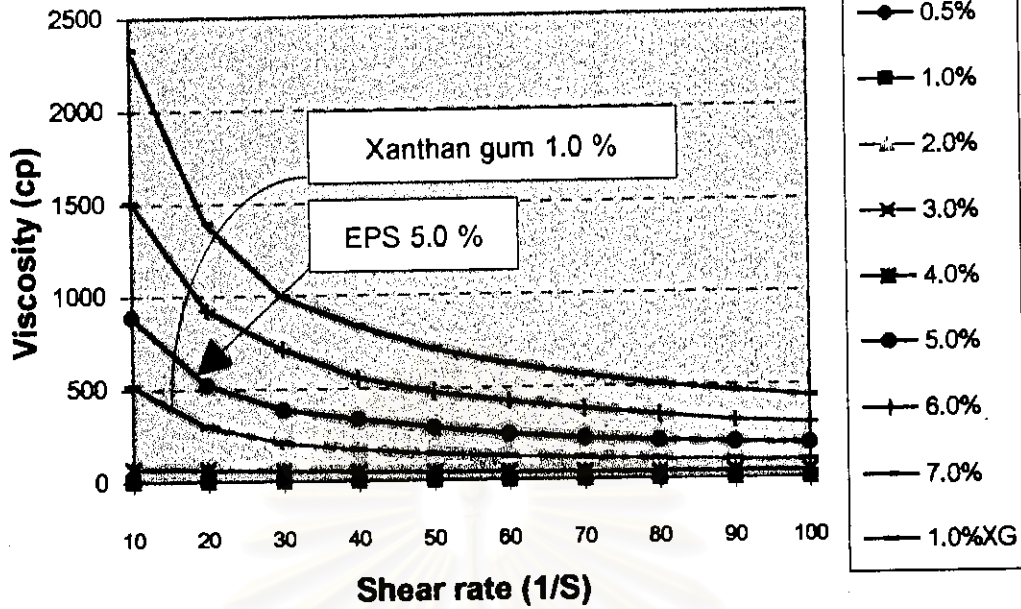
พบว่า EPS ที่ผลิตได้จากทั้งเชื้อ AP-1 และ AP-3 มีลักษณะความหนืดจะลดลงเมื่อ Shear rate เพิ่มขึ้น เนื่องจากว่าต้องเพื่อศึกษาถึงผลของภาวะต่าง ๆ ที่จะมีอิทธิพลต่อความหนืดของสารละลาย EPS จึงแปรความเข้มข้นของสารละลาย EPS ที่ผลิตได้ เพื่อที่จะหาความเข้มข้นที่เหมาะสม ซึ่งก็ได้พิจารณาแล้วว่าน่าจะเปรียบเทียบกับ Xanthan gum ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เพราะเป็นพอลิแซ็กคาไรด์จากจุลินทรีย์ที่มีการใช้งานกันอย่างแพร่หลาย และเป็นความหนืดที่ไม่สูงมากจนเกินไป โดยพบว่าความหนืดของสารละลาย AP-1 ที่ใกล้เคียงกับ Xanthan gum ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ คือ สารละลาย AP-1 ความเข้มข้น 5 % เมื่อวัดที่ความเร็วรอบ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 รอบต่อนาที มีความหนืดเท่ากับ 397.4, 264.5, 218.4, 170.3, 153.5, 143.7, 130.8, 120.9, 107.5 และ 103.2 cp. ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 15 ส่วนความหนืดของสารละลาย AP-3 ที่ใกล้เคียงกับ Xanthan gum ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ คือ สารละลาย AP-3 ความเข้มข้น 4 % เมื่อวัดที่ความเร็วรอบ 0, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 และ 100 รอบต่อนาที มีความหนืดเท่ากับ 697.3, 429, 339.5, 278.8, 246.2, 216.7, 195.6, 180.2, 169.1 และ 156.5 cp. ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 16 โดยจากกราฟจะเห็นว่าความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตจากเชื้อ AP-1 และ AP-3 ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และ 4 เปอร์เซ็นต์ จะมีความหนืดใกล้เคียงกับ Xanthan ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ จึงเลือกความเข้มข้นของ EPS นี้ มาทำการทดลองต่อไป

## 7. ผลการศึกษาน้ำจืดที่มีผลต่อคุณสมบัติด้านความหนืด

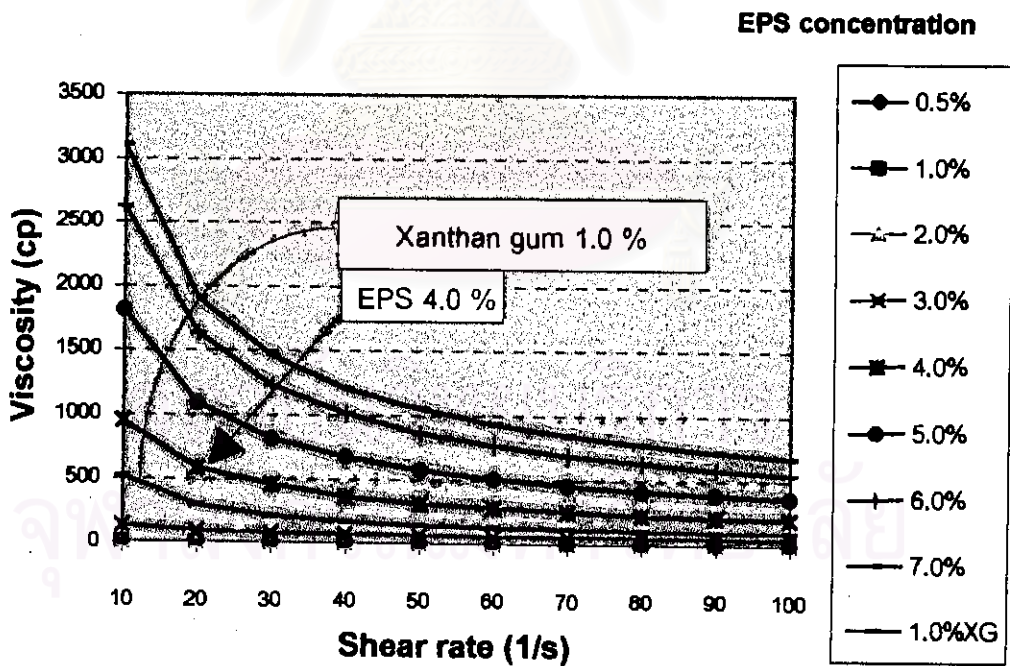
### 7.1 ผลของอุณหภูมิ

จากการแปรอุณหภูมิพบว่าสารละลาย EPS ของเชื้อ AP-1 และ AP-3 ไม่สามารถทนความร้อนได้โดยความหนืดจะลดลง เมื่อนำไปผ่านการให้ความร้อนอีกระดับ 50 70 100 องศาเซลเซียส และการนึ่ง autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ นอกจากนี้ยังพบว่าความหนืดของสารละลายก็มีการลดลง เมื่อนำสารละลาย EPS ไปไว้ที่อุณหภูมิต่ำคือ ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ดังแสดงในรูปที่ 17 และ รูปที่ 18

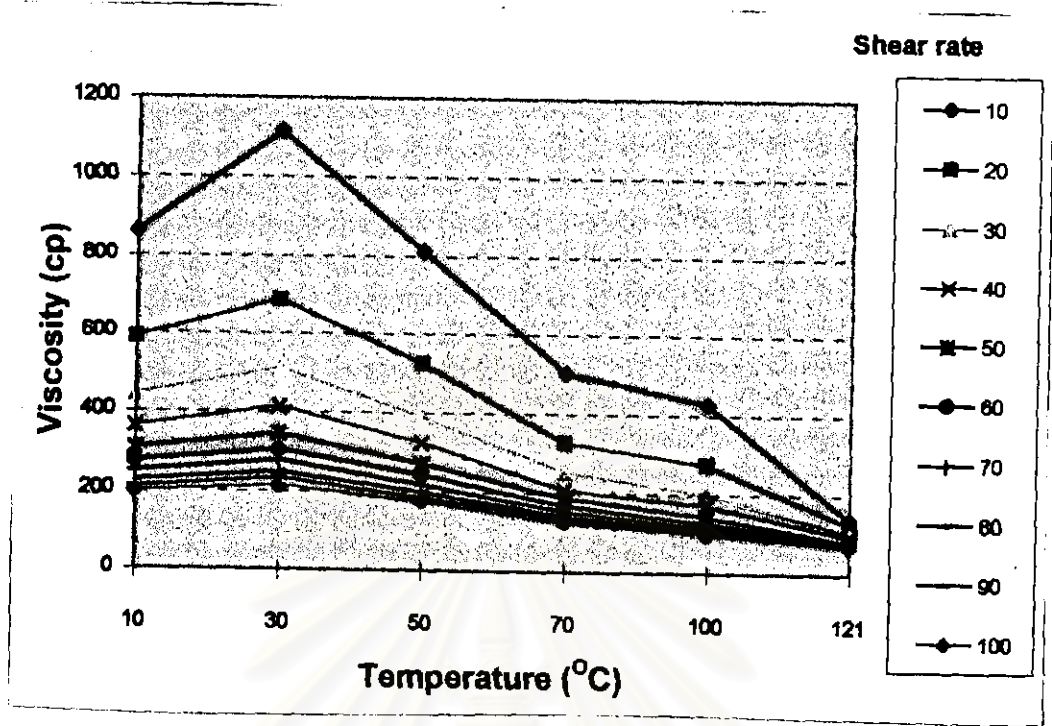




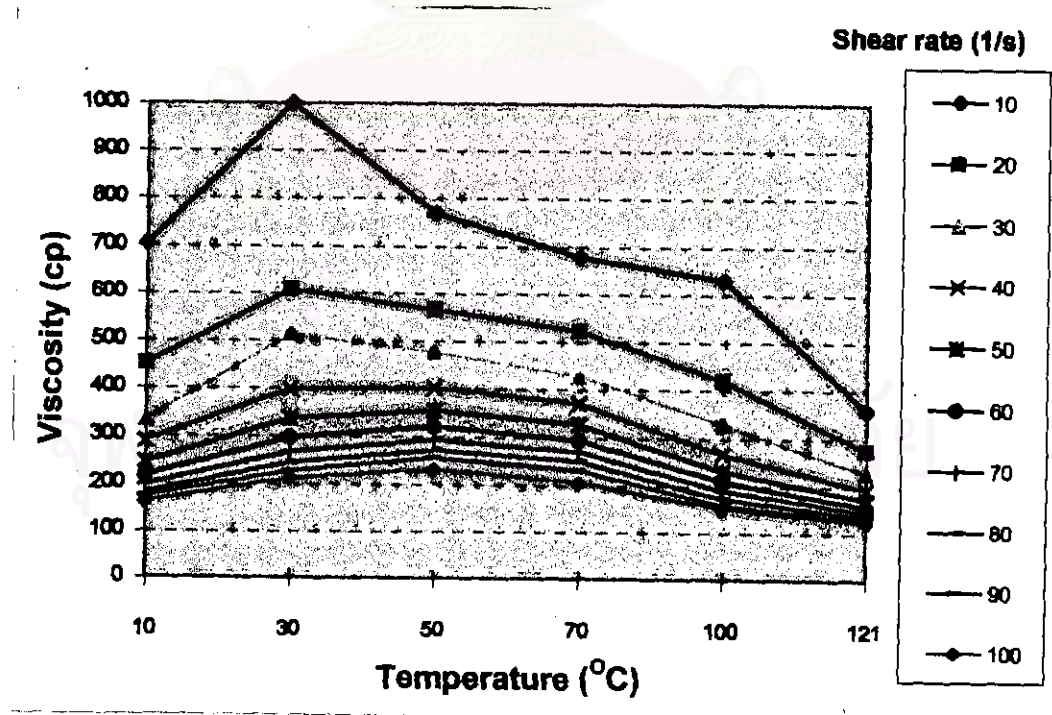
รูปที่ 15 แสดงลักษณะความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-1 ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5-7.0 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 16 แสดงลักษณะความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-3 ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5-7.0 เปอร์เซ็นต์



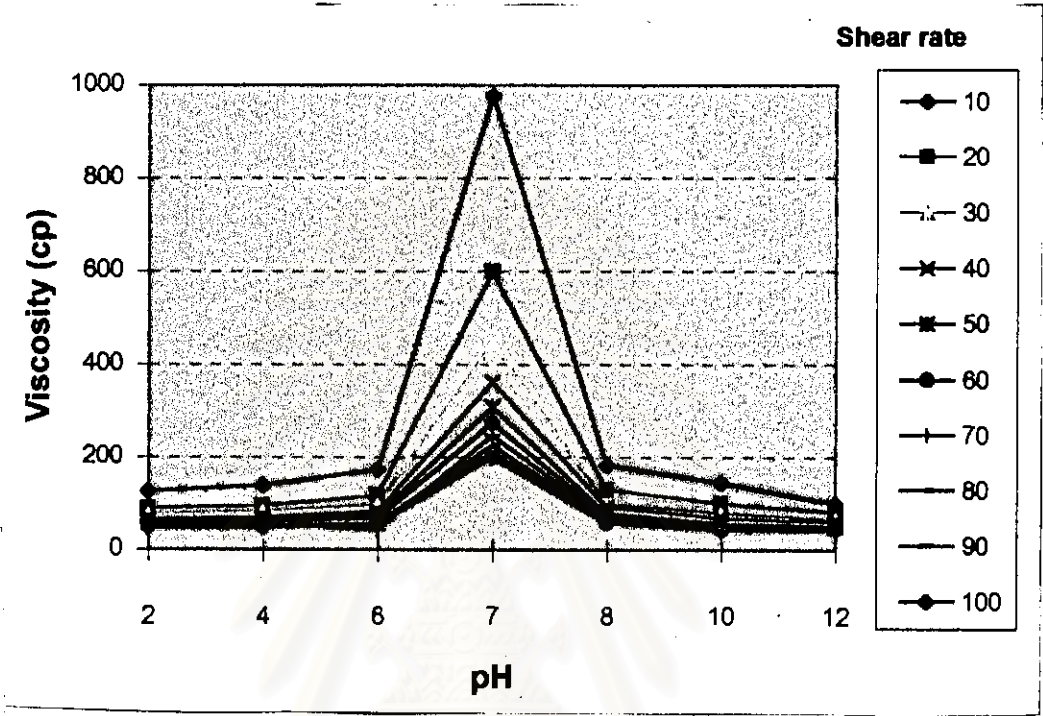
รูปที่ 17 แสดงค่าความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-1 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน



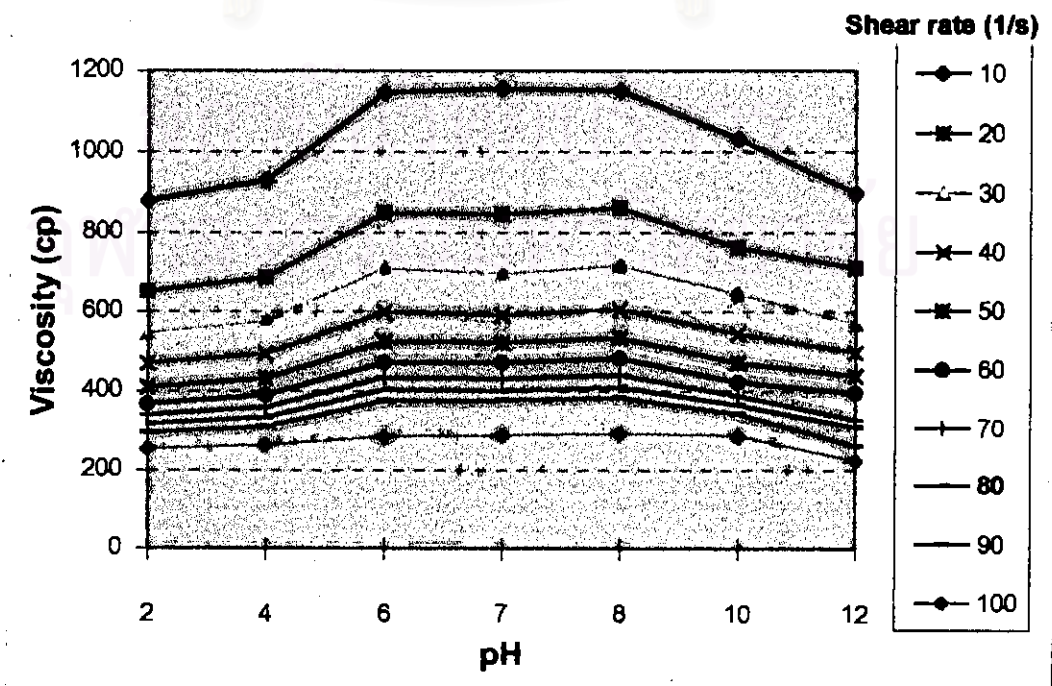
รูปที่ 18 แสดงค่าความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-3 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิต่างๆ กัน

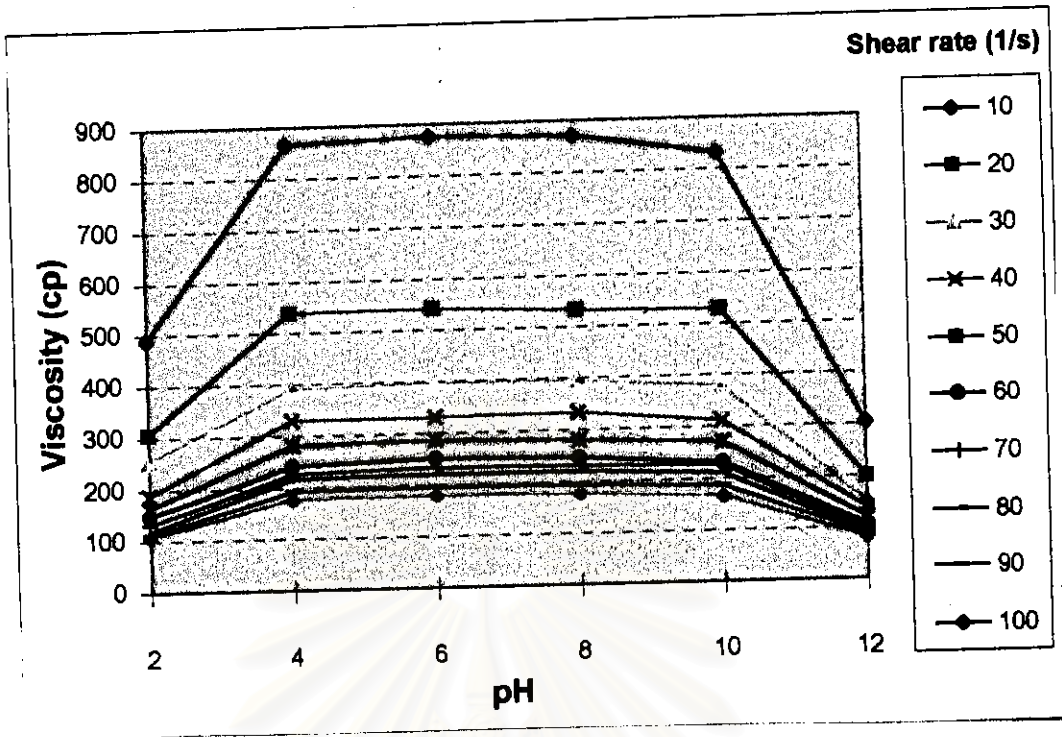


รูปที่ 19 แสดงลักษณะความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-1 เมื่อละลายในสารละลายที่ปรับ pH โดยใช้ NaOH และ HCl

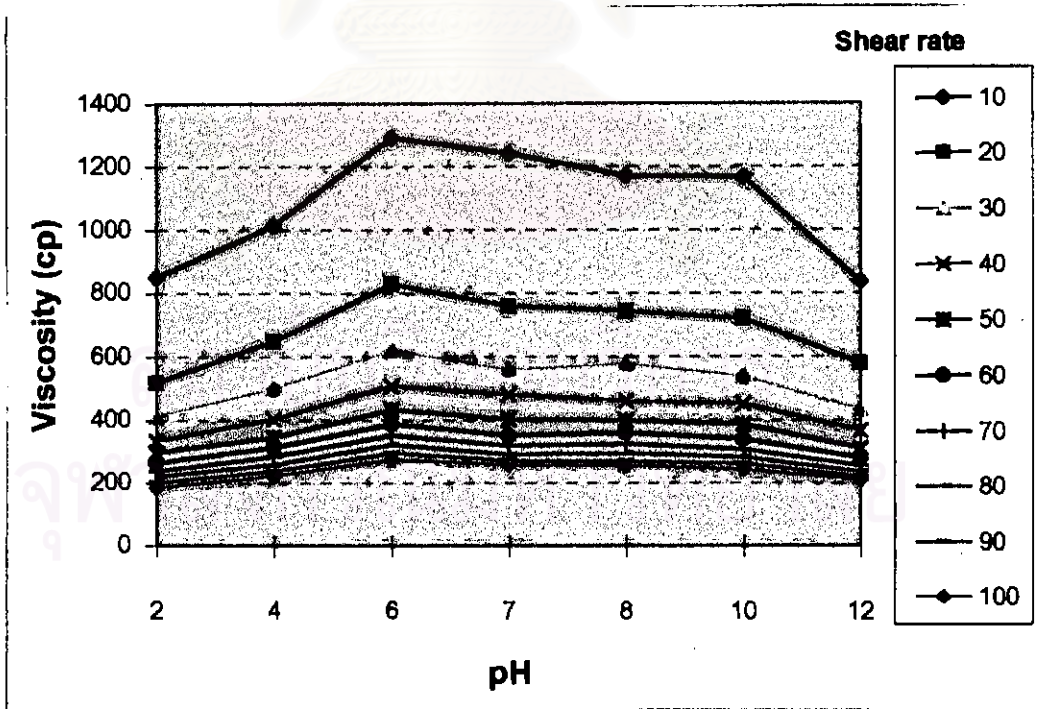


รูปที่ 20 แสดงลักษณะความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-3 เมื่อละลายในสารละลายที่ปรับ pH โดยใช้ NaOH และ HCl





รูปที่ 21 แสดงลักษณะความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-1 เมื่อละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ



รูปที่ 22 แสดงลักษณะความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-3 เมื่อละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ pH ต่าง ๆ

### 7.2 ผลของ pH

เมื่อละลาย EPS สารละลายที่มีการปรับ pH ให้ได้ pH ระหว่าง 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 โดยใช้ NaOH และ HCl พบว่าสารละลาย EPS ที่ผลิตได้จากเชื้อ AP-1 จะไม่มีความสามารถคงตัวต่อ pH ได้เลยแต่จะคงตัวเฉพาะที่ pH 7.0 ดังแสดงในรูปที่ 19 ส่วนความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-3 จะมีความสามารถคงตัวต่อ pH ได้ดี ในช่วง pH ระหว่าง 6 - 10 โดยความหนืดจะลดลงในที่ pH 2, 4 และ 12 ดังแสดงในรูปที่ 20

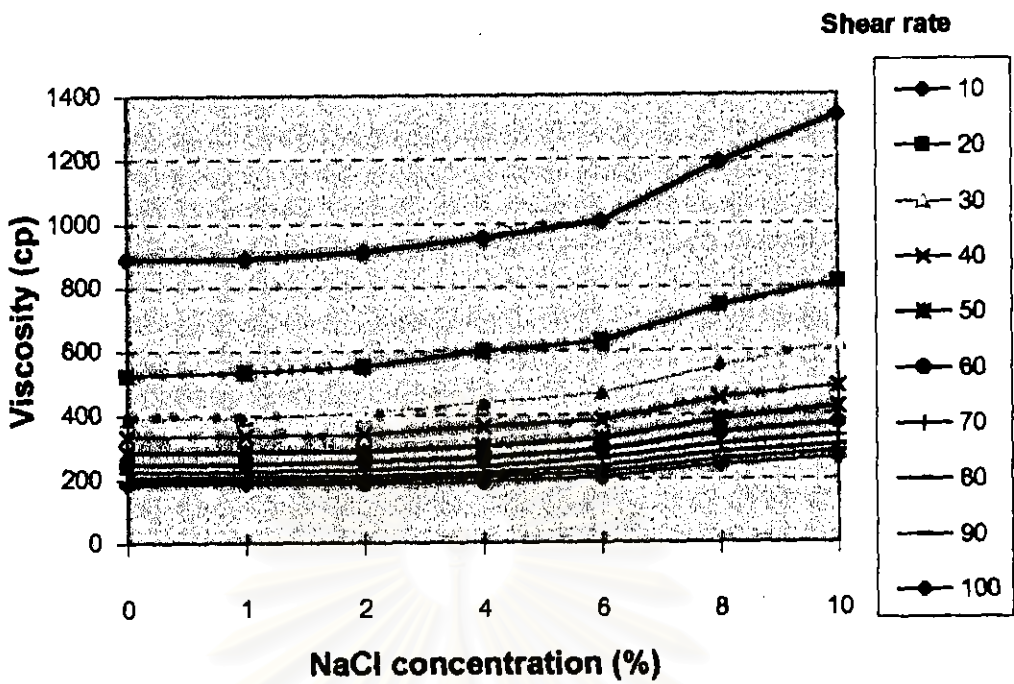
สำหรับการละลาย EPS ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีการแปร pH ระหว่าง 2, 4, 6, 8, 10 และ 12 พบว่าสารละลาย EPS ที่ผลิตได้จากเชื้อ AP-1 จะมีความสามารถคงตัวต่อ pH ได้ดี ในช่วง pH ระหว่าง 4 - 10 โดยความหนืดจะลดลงที่ pH 2 และ pH 12 ดังแสดงในรูปที่ 21 ส่วนความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-3 จะมีความสามารถคงตัวต่อ pH ได้ดี ในช่วง pH ระหว่าง 6 - 10 โดยความหนืดจะลดลงในที่ pH 2, 4 และ 12 ดังแสดงในรูปที่ 22

จากผลการทดลองจะเห็นว่าสารละลาย AP-1 มีความสามารถทนต่อ pH ได้ค่อนข้างต่ำกว่าสารละลายความหนืดของ AP-3 ซึ่งมีลักษณะการทนต่อ pH เหมือนกันทั้งในสารละลายบัฟเฟอร์และสารละลายที่ปรับด้วย NaOH และ HCl ในขณะที่ AP-1 ไม่ทนต่อสารละลายที่ปรับ pH ด้วยกรดและด่าง

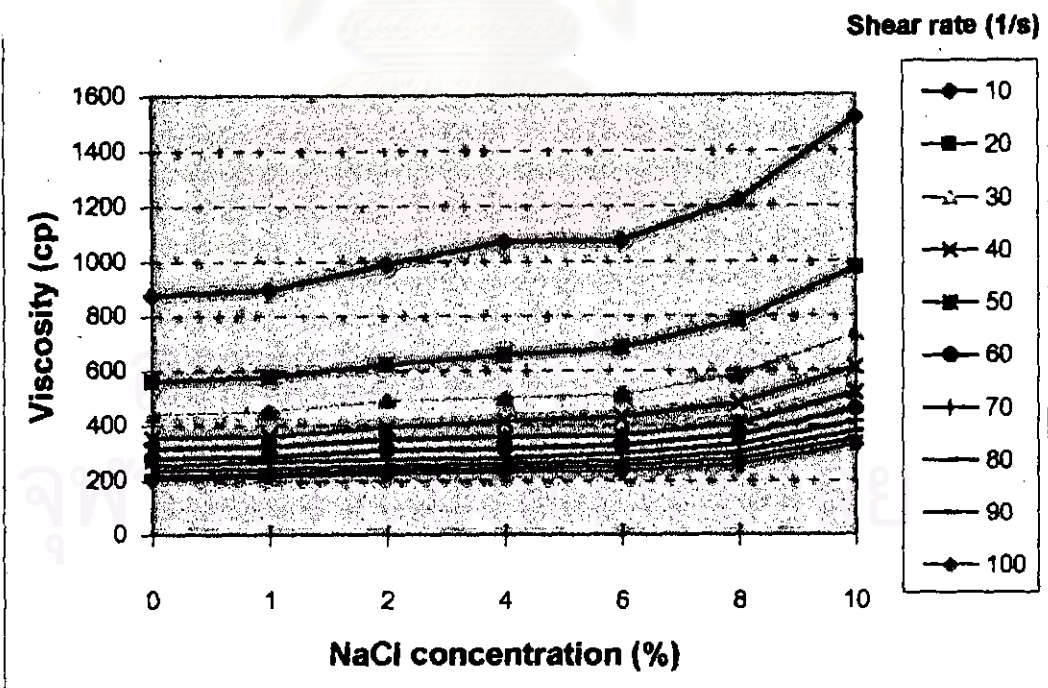
### 7.3 ผลของเกลือต่อความหนืด

เมื่อละลาย EPS ในสารละลายเกลือโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่แปรความเข้มข้น ตั้งแต่ 0, 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารละลาย EPS ที่ผลิตได้จากเชื้อ AP-1 และสารละลาย EPS ที่ผลิตได้จากเชื้อ AP-3 มีความหนืดเพิ่มขึ้นเมื่อปริมาณโซเดียมคลอไรด์เพิ่มขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 23 และรูปที่ 24

เมื่อละลาย EPS ในสารละลายเกลือโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ที่แปรความเข้มข้นตั้งแต่ 0, 1, 2, 4, 6, 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารละลาย EPS ที่ผลิตได้จากเชื้อ AP-1 มีความหนืดเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อความเข้มข้นของ KCl สูงขึ้น โดยเมื่อความเข้มข้นของ KCl สูงถึง 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ EPS ที่ผลิตได้จากเชื้อ AP-1 จะไม่ละลายในสารละลาย KCl ดังแสดงในรูปที่ 25 สำหรับสารละลาย EPS ที่ผลิตได้จากเชื้อ AP-3 จะมีความหนืดเพิ่มขึ้น เมื่อปริมาณ KCl เพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นของ KCl สูงถึง 10 เปอร์เซ็นต์ EPS ที่ผลิตได้จากเชื้อ AP-3 จะไม่ละลายในสารละลาย KCl ดังแสดงในรูปที่ 26

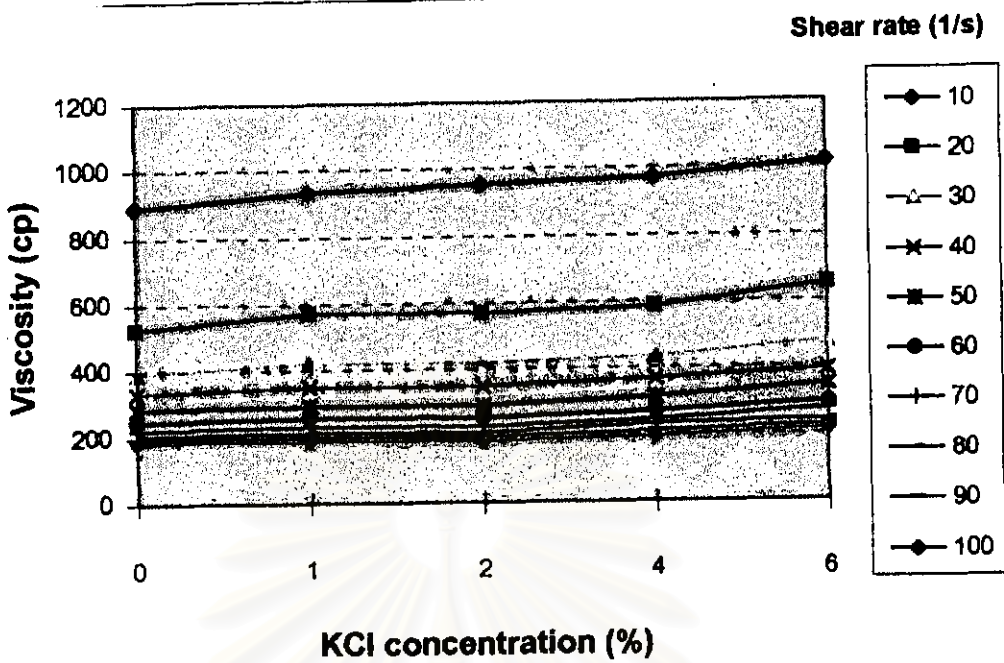


รูปที่ 23 แสดงลักษณะความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-1 เมื่อละลายในสารละลายเกลือ NaCl ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์

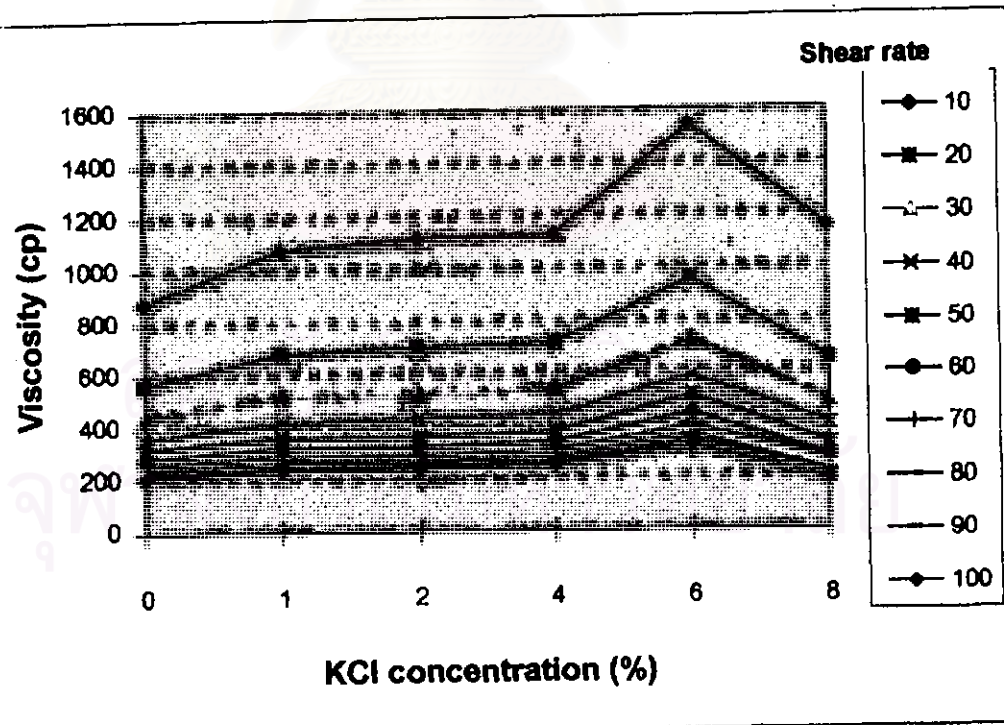


รูปที่ 24 แสดงลักษณะความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-3 เมื่อละลายในสารละลายเกลือ NaCl ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์





รูปที่ 25 แสดงลักษณะความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-1 เมื่อละลายในสารละลายเกลือ KCl ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 26 แสดงลักษณะความหนืดของสารละลาย EPS ที่ผลิตโดยเชื้อ AP-3 เมื่อละลายในสารละลายเกลือ KCl ความเข้มข้นตั้งแต่ 0-10 เปอร์เซ็นต์

### 8. ผลการศึกษาคุณสมบัติของ EPS

นำ EPS ที่ผ่านผลิตและทำให้บริสุทธิ์ในข้อ 5 มาศึกษาชนิดของประจุ (ดังแสดงในภาคผนวก ค ข้อที่ 1), ผลของปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณโปรตีน ที่เป็นองค์ประกอบของ EPS ดังแสดงในตารางที่ 23 และเมื่อนำไปย่อยสลายด้วยกรดแล้วนำไปฉีด HPLC เพื่อศึกษาองค์ประกอบของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่เป็นองค์ประกอบพบว่า AP-1 ประกอบด้วยกลูโคสถึง 98.87 เปอร์เซ็นต์ และ AP-3 ประกอบด้วยกลูโคสถึง 99.99 เปอร์เซ็นต์ (ดังแสดงในภาคผนวก ค ข้อที่ 2) โดยมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับ 90.25 และ 85.20 กรัมต่อกรัม EPS ตามลำดับ และมีปริมาณไนโตรเจนเท่ากับ 0.01 และ 0.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากนั้นจึงนำไปฉีดด้วยเครื่อง High performance size exclusion chromatography (HPSEC) เพื่อหาน้ำหนักโมเลกุลของสายพอลิแซ็กคาไรด์ พบว่า AP-1 มีน้ำหนักโมเลกุล 16747 ดาลตัน โดยมีค่า Degree of polymerization เท่ากับ 103.4 ส่วน AP-3 มีน้ำหนักโมเลกุล  $4 \times 10^7$  และ  $6 \times 10^6$  ดาลตัน โดยมีค่า Degree of polymerization เท่ากับ  $2 \times 10^5$  และ 39149 ตามลำดับ (ดังแสดงในภาคผนวก ค ข้อที่ 3)

ตารางที่ 23 แสดงคุณสมบัติและองค์ประกอบของพอลิแซ็กคาไรด์ที่ผลิตได้

คุณสมบัติของ EPS	EPS ที่ผลิตโดย AP-1	EPS ที่ผลิตโดย AP-3
คุณสมบัติประจุของ EPS	neutral	neutral
ชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบ	กลูโคส = 98.88 %	กลูโคส = 99.99 %
น้ำหนักโมเลกุลของ EPS (Da)	16747	$4 \times 10^7 - 6 \times 10^6$
ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (%)	90.25	85.20
ปริมาณโปรตีน (%)	0.001	0.004

หมายเหตุ Da หมายถึง ดาลตัน