



การใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม
Utilization of Lactic Acid Bacteria as Probiotic in Freshwater Prawn
(Macrobrachium rosenbergii de Man) Culture

ปวเรศวร์ อินทุเศรษฐ์

Pawared Inthuserdha

ศศิวิมล ปิติพรชัย

Sasivimon Pitipornchai

พรรณทิพย์ สุวรรณสาครกุล

Pantip Suwansakornkul

บดินทร์ อธิธิพงษ์

Bordin Ittipong

สิริรัตน์ จงฤทธิพร

Sirirat Jongrittiporn

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

Fishery Technological Development Division

กรมประมง

Department of Fisheries

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Ministry of Agriculture and Cooperatives

เอกสารวิชาการฉบับที่ ๑๓ /๒๕๕๑



Technical Paper No. 13 /2008

การใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นโพรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม
Utilization of Lactic Acid Bacteria as Probiotic in Freshwater Prawn
(*Macrobrachium rosenbergii* de Man) Culture

ปวเรศวร์ อินทุเศรษฐ์

Pawared Inthuserdha

ศศิวิมล ปิติพรชัย

Sasivimon Pitipornchai

พรรณทิพย์ สุวรรณสาครกุล

Pantip Suwansakornkul

บดินทร์ อธิธิพงษ์

Bordin Ittipong

สิริรัตน์ จงฤทธิพร

Sirirat Jongrittiporn

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

Fishery Technological Development Division

กรมประมง

Department of Fisheries

กระทรวงเกษตรและสหกรณ์

Ministry of Agriculture and Cooperatives

๒๕๕๑

2008

รหัสทะเบียนวิจัยเลขที่ 47-0805-47007-003

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	1
ABSTRACT	2
คำนำ	3
วัตถุประสงค์	4
อุปกรณ์และวิธีดำเนินการ	4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผล	7
สรุปผลการทดลอง	14
เอกสารอ้างอิง	15
ภาคผนวก	
- ภาคผนวก ก	17

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ผลการยับยั้งของแบคทีเรียแลคติกต่อ <i>A. sobria</i> และ <i>V. alginolyticus</i>	7
2 ความยาวเฉลี่ยของลูกกุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงในระยะเวลา 6 สัปดาห์	10
3 น้ำหนักเฉลี่ยของลูกกุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงในระยะเวลา 6 สัปดาห์	10
4 อัตราการรอดของลูกกุ้งก้ามกรามเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	11
5 ผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง	12
6 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติก	13

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

การใช้แบคทีเรียแลคติกเป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม

ปวเรศวร์ อินทุเศรษฐ์* ศศิวิมล ปิติพรชัย^๒ พรรณทิพย์ สุวรรณสาครกุล^๑

บดินทร์ อธิพิงษ์^๑ และ สิริรัตน์ จงฤทธิพร^๑

^๑ กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง

^๒ ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดชลบุรี กรมประมง

บทคัดย่อ

ทดสอบความสามารถของแบคทีเรียแลคติกจำนวน 54 สายพันธุ์ ต่อการยับยั้งเชื้อโรคของกุ้งก้ามกราม คือ *Aeromonas sobria* และ *Vibrio alginolyticus* พบว่ามีแบคทีเรียแลคติก 22 สายพันธุ์ ที่สามารถยับยั้งเชื้อโรสดังกล่าวได้ โดยแบคทีเรียแลคติกทั้ง 22 สายพันธุ์นี้เป็น *Lactobacillus plantarum* และเมื่อทดสอบความเหมาะสมในการใช้เป็นโปรไบโอติก พบว่ามี 6 สายพันธุ์ที่มีความเหมาะสมในการใช้เป็นโปรไบโอติกจึงได้คัดเลือกแบคทีเรียดังกล่าวจำนวน 2 สายพันธุ์ คือ TISTR 541 และ TISTR 543 เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกสำหรับเลี้ยงกุ้งก้ามกราม โดยผสมเชืวดังกล่าวในอาหารสูตรที่ 1 (T₁) และ 2 (T₂) ตามลำดับสำหรับสูตรที่ 3 (T₃) ใช้อาหารกุ้งปกติเพื่อเป็นกลุ่มควบคุม โดยเลี้ยงลูกกุ้งก้ามกรามอายุ 27 วัน ซึ่งมีขนาดความยาว 8.53 มม. เป็นเวลา 42 วัน ในบ่อซีเมนต์กลม ปริมาตรน้ำในบ่อ 155 ลิตร ปล่อยลูกกุ้งในอัตราความหนาแน่น 3,875 ตัว/บ่อ (25 ตัว/ลิตร) ให้อาหารวันละ 3 ครั้ง เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า ลูกกุ้งมีความยาวเฉลี่ยดังนี้ 21.45 ± 0.979, 20.66 ± 0.880 และ 21.51 ± 1.457 มม. ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) สำหรับอัตราการรอดเฉลี่ยของลูกกุ้งเป็นดังนี้ 20.03 ± 1.41, 20.52 ± 2.09 และ 20.60 ± 0.67 % ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) คุณสมบัติของน้ำระหว่างการทดลองเป็นดังนี้ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 27-33°C และความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 7.1-7.3 สำหรับการศึกษอายุการเก็บรักษาอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติก โดยกำหนดให้ปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่เหลืออยู่ในอาหารต้องไม่น้อยกว่า 10⁷ CFU/g พบว่าอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 สูตร (T₁ และ T₂) คงคุณภาพได้นาน 5 วัน ในอุณหภูมิปกติและเก็บได้นาน 45 วัน ที่อุณหภูมิตู้เย็น (12-13 °C)

คำสำคัญ : แบคทีเรียแลคติก โปรไบโอติก กุ้งก้ามกราม

*ผู้รับผิดชอบ: เกษตรกลาง จตุจักร กรุงเทพฯ ๑๐๕๐๐ โทร. ๐ ๒๕๔๐ ๖๑๓๐-๔๕

E-mail : pawaredi@fisheries.go.th

Utilization of Lactic Acid Bacteria as Probiotic in Freshwater Prawn (*Macrobrachium rosenbergii* de Man) Culture

Pawared Inthuserdha^{1*} Sasivimon Pitipornchai² Pantip Suwansakornkul¹
Bordin Ittipong¹ and Sirirat Jongritthiporn¹

¹Fishery Technology Development Division, Department of Fisheries

²Chonburi Inland Fisheries Development Center, Department of Fisheries

Abstract

Fifty four strains of lactic acid bacteria were tested for antibacterial activity against *Aeromonas sobria* and *Vibrio alginolyticus*. Twenty two strains of *Lactobacillus plantarum* showed inhibitory activity against *A. sobria* and *V. alginolyticus*. The further testing for probiotic properties of these strains were conducted. The results showed that 6 strains exhibited probiotic functions. Two of these strains (TISTR 541 and TISTR 543) were selected as probiotic for preparing of feeds in freshwater prawn culture, namely formula 1 (T₁) and formula 2 (T₂), respectively. The shrimp culture trials by probiotic feed formula were performed and compared to the control trial which was fed by regular feed formula 3 (T₃). The 27-days larvae of *Macrobrachium rosenbergii* de Man (8.53 mm length) were cultured in 155 liters round cement tanks. The density of larvae are 3,875 larvae per tank (25 larvae per liter). The larvae were fed 3 times per day. After 42 days, the average length of larvae were 21.45 ± 0.979 , 20.66 ± 0.880 and 21.51 ± 1.457 mm and the average survival rate were 20.03 ± 1.41 , 20.52 ± 2.09 and 20.60 ± 0.67 %, respectively. Both total length and survival rate were not significantly difference among three treatments ($P < 0.05$). Water quality during experiment were 27-33°C and 7.1-7.3 in pH. The shelf-life of probiotic feed containing lactic acid bacteria more than 10^7 CFU/g was 5 days at room temperature and 45 days in refrigerator (12-13 °C).

Key words : Lactic acid bacteria, Probiotic, Freshwater prawn

Corresponding author Kaset-Klang, Chatuchak, Bangkok 10900 Tel. 0 2940 6130-45

E-mail : pawaredi@fisheries.go.th

คำนำ

กุ้งก้ามกรามเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของไทย มีการเลี้ยงกันมายาวนานกว่า 40 ปี นิยมเลี้ยงกันมากในจังหวัดสุพรรณบุรี ราชบุรี และนครปฐม ในปี 2546 มีผลผลิตกุ้งก้ามกรามทั้งหมด 28,500 ตัน คิดเป็นมูลค่ากว่า 3 พันล้านบาท (ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง, 2546) แต่การเลี้ยงกุ้งในระบบปิด และการปล่อยกุ้งในอัตราที่หนาแน่นเกินไป ทำให้เกิดปัญหาเรื่องโรคกุ้งตามมา จึงทำให้มีการใช้ยาปฏิชีวนะกันอย่างกว้างขวาง เพื่อเป็นการป้องกันโรคซึ่งเป็นความเชื่อที่ผิด เพราะการใช้ยาอย่างไม่ถูกวิธีจะทำให้เชื้อดื้อยา และเกิดปัญหาเรื่องสารเคมีตกค้างในตัวกุ้งอีกด้วย (สมพงษ์, 2545) ดังนั้นจึงควรหาวิธีทางธรรมชาติที่จะช่วยให้กุ้งแข็งแรง โตไวและมีความต้านทานโรคสูง ซึ่งจะเป็นการลดปัญหาการใช้ยาได้ วิธีดังกล่าวคือการใช้โปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้ง ซึ่งโปรไบโอติกคือจุลินทรีย์ที่มีชีวิต ที่มีประโยชน์ต่อตัวสัตว์ ทำให้จุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารอยู่ในสมดุล ช่วยให้ระบบการย่อยอาหารดีขึ้น และการเจริญเติบโตดีขึ้น (คณินิจ, 2541) การใช้โปรไบโอติกเป็นสารเสริมอาหารในการเลี้ยงสัตว์มีมานานแล้ว เช่น ในสุกร (Barrow *et al.*, 1980; Hill *et al.*, 1970; Muralidhara *et al.*, 1977; Ratcliffe *et al.*, 1986) และในไก่ (Barrow *et al.*, 1988; Fuller *et al.*, 1981) ซึ่งโปรไบโอติกจะเป็นตัวช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโตของสัตว์ ช่วยให้สัตว์มีสุขภาพสมบูรณ์แข็งแรงและยังสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้อีกด้วย สัตว์ที่เลี้ยงด้วยโปรไบโอติกจะมีการเจริญเติบโตที่ดี สุขภาพแข็งแรงและปลอดโรค ทำให้สามารถขายได้ราคาดีและเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการรักษาโรคอีกด้วย แต่ในปัจจุบันการใช้โปรไบโอติกในการเลี้ยงสัตว์นี้ยังไม่กว้างขวาง ถึงแม้ว่า ในปี 1995 Austin และคณะ ประสบความสำเร็จในการใช้โปรไบโอติกเลี้ยงปลาซลมอนก็ตาม และในปี 1996 Phianphak ได้ใช้ *Bacillus* sp. เป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำ โดยพบว่า ลูกกุ้งที่ได้รับโปรไบโอติก มีอัตราการรอดจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดย *Vibrio harveyi* สูงถึง 100 เปอร์เซ็นต์ นอกจาก *Bacillus* sp. แล้วยังเป็นแบคทีเรียอีกกลุ่มหนึ่งที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกคือแบคทีเรียแลคติก เช่น *Lactobacillus lactis*, *L. casei* และ *L. acidophilus* เป็นต้น (พันทิพา, 2538) แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถพบได้ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม อาหารหมักดอง รวมทั้งในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ ลักษณะเด่นของแบคทีเรียแลคติกคือ สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นกรดแลคติก ซึ่งกรดแลคติกที่สร้างขึ้นสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ ดังนั้นถ้าสามารถนำแบคทีเรียกลุ่มนี้มาใช้เป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้ง จะเป็นการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้ง ทำให้กุ้งสุขภาพแข็งแรงและมีความต้านทานโรคสูงขึ้น ซึ่งจะลดปัญหาการเกิดโรคในกุ้งลงได้และยังช่วยลดการใช้ยาปฏิชีวนะในการรักษาโรคอีกด้วย ซึ่งจะช่วยให้ต้นทุนต่ำลง และกุ้งที่ได้ยังปลอดจากสารเคมีตกค้าง นอกจากนี้ยังส่งผลดีต่อการส่งออกอีกด้วย

วัตถุประสงค์

1. คัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก
2. ศึกษาผลของโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม
3. ศึกษาอายุการเก็บรักษาอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติก

วิธีดำเนินการ

1. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกสำหรับใช้เป็นโปรไบโอติก

1.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคนกในกุ้งก้ามกราม

เชื้อแบคทีเรียแลคติกจากศูนย์จุลินทรีย์ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย จำนวน 54 สายพันธุ์ (ภาคผนวก ก.) นำมาทดสอบการยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคนกในกุ้งก้ามกรามคือ *Aeromonas sobria* และ *Vibrio alginolyticus* โดยวิธีดังต่อไปนี้ (Sarkar and Banerjee, 1996)

1.1.1 เลี้ยงแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลว MRS บ่มที่ 30°C เป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสที่ได้ไว้ในตู้เย็นเพื่อรอการทดสอบ

1.1.2 เลี้ยงเชื้อ *A. sobria* และ *V. alginolyticus* ใน Nutrient broth บ่มที่ 35°C เป็นเวลา 24 ชม.

1.1.3 ทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคนกในกุ้งก้ามกรามโดยปิเปตเชื้อจากข้อ 1.1.2 ปริมาตร 10 ไมโครลิตรใส่ใน soft agar (1.2% agar) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วเทลงบน Nutrient agar plate แล้วนำเข้าตู้อบที่อุณหภูมิ 55°C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อให้หน้าวุ้นแห้ง จากนั้นหยดส่วนใสที่ได้จากข้อ 1.1.1 ปริมาตร 10 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่ 35°C นาน 24 ชม. ตรวจสอบโคโซนใสที่เกิดขึ้น

1.2 การทดสอบความเหมาะสมในการใช้เป็นโปรไบโอติก (วลัยพร, 2544)

นำแบคทีเรียแลคติกทั้ง 54 สายพันธุ์ (ตามข้อ 1.1) มาทดสอบการย่อยเม็ดเลือดแดง การเจริญในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 0-10 การเจริญในอาหารเหลวที่อุณหภูมิ 10-55°C การเจริญในอาหารเหลวที่ pH 2-10 และการเจริญในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือน้ำดีร้อยละ 0-7

2. การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามโดยใช้อาหารผสมโปรไบโอติก

ดำเนินการทดลองที่ศูนย์วิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืดชลบุรี ระหว่างเดือนมิถุนายนถึงกรกฎาคม 2548 รวมระยะเวลา 42 วัน

2.1 แผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely randomized design) เพื่อศึกษาผลของโปรไบโอติกต่อการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มทดลอง คือ กลุ่มทดลองที่ 1 และ 2 เลี้ยงด้วยอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติก กลุ่มทดลองที่ 3 เป็นกลุ่มควบคุม เลี้ยงด้วยอาหารกุ้งปกติ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2 บ่อทดลอง

ใช้บ่อซีเมนต์กลมขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 75 เซนติเมตร สูง 43 เซนติเมตร จำนวน 9 บ่อ ระดับน้ำลึก 35 เซนติเมตร (ปริมาตรน้ำในบ่อ 155 ลิตร) มีท่อระบายน้ำที่อยู่ตรงกลางบ่อ ใส่หัวทรายบ่อละ 2 หัว เพื่อให้อากาศตลอดเวลา มีการควบคุมอุณหภูมิของน้ำโดยใช้กระเบื้องมุงหลังคาปิดปากบ่อในตอนกลางวัน ตอนกลางคืนใช้โคมไฟพลาสติกคลุมเพื่อรักษาอุณหภูมิให้คงที่ ก่อนการทดลองแช่บ่อด้วยคลอรีนผงเข้มข้น 100 ppm เพื่อฆ่าเชื้อโรคเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นล้างออกด้วยน้ำสะอาดและตากบ่อให้แห้งอีก 2 วัน

2.3 การเตรียมน้ำสำหรับเลี้ยงกุ้ง

ใช้น้ำจากอ่างเก็บน้ำ โดยฆ่าเชื้อด้วยคลอรีนผงเข้มข้น 50 ppm ให้อากาศตลอดเวลาประมาณ 3 วัน จากนั้นปล่อยให้ตกตะกอน แล้วสูบน้ำใส่บ่อใหม่โดยไม่เอาส่วนที่เป็นตะกอน เติมาอากาศตลอดเวลาอีกประมาณ 2-3 วัน หรือจนกระทั่งคลอรีนระเหยหมด

2.4 ลูกกุ้งทดลอง

ซื้อลูกกุ้งก้ามกรามระยะหลังคว่ำอายุประมาณ 27 วัน จากจังหวัดสุพรรณบุรี ทำการวัดความยาวและชั่งน้ำหนัก จากนั้นสุ่มดวงลูกกุ้งลงบ่อ บ่อละ 3,875 ตัว หรือ 25 ตัว/ลิตร

2.5 การเตรียมอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้ง

ใช้อาหารสำเร็จรูปไฮเกรดเบอร์ 9042 โดยแบ่งเป็น 3 สูตร คือ สูตรที่ 1 (T₁) และ 2 (T₂) เป็นอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติก ซึ่งมีวิธีเตรียมโดยเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 1.1 และ 1.2 ในอาหารเหลว MRS ปริมาตร 2 ลิตร บ่มที่ 37 °C เป็นเวลา 24 ชม. จากนั้นเหวี่ยงที่ 8,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เทส่วนใสทิ้ง เติมาอาหารเหลว MRS 1 ลิตร แล้วฉีดพ่นบนอาหารกุ้ง 3 กิโลกรัม โดยคลุกเคล้าให้ทั่ว จากนั้นผึ่งให้แห้ง และบรรจุลง เก็บไว้ในตู้เย็น อาหารกุ้งที่ผสมโปรไบโอติกแล้วจะมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกประมาณ 10⁸ CFU/g สำหรับอาหารสูตรที่ 3 (T₃) ใช้อาหารสำเร็จรูปธรรมดาเพื่อเป็นกลุ่มควบคุม

2.6 การให้อาหารกุ้ง

ให้อาหารกุ้งวันละ 3 ครั้ง เวลา 10.00, 13.00 และ 16.00 น. ปริมาณที่ให้คิดจาก 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัวกุ้ง/วัน มีการตรวจสอบอาหารที่กุ้งกินเหลือเพื่อปรับปริมาณอาหารให้เหมาะสม

2.7 การจัดการและดูแลรักษา

มีการทำความสะอาดบ่อทุกวัน โดยดูดตะกอนที่ก้นบ่อและเปลี่ยนถ่ายน้ำ 50 เปอร์เซ็นต์ทุกวัน และทำการย้ายบ่อทุก 1 สัปดาห์

2.8 การสุ่มตัวอย่างและรวบรวมข้อมูล

2.8.1 การเจริญเติบโต

ทำการชั่งน้ำหนักและวัดความยาวลูกกุ้งทุก 2 สัปดาห์ โดยสุ่มลูกกุ้งจากแต่ละบ่อ บ่อละ 100 ตัว

2.8.2 อัตราการรอด

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการนับจำนวนลูกกุ้งทั้งหมดที่เหลือรอดในแต่ละบ่อ และคำนวณหาอัตราการรอดโดยใช้สูตร

$$\text{อัตราการรอด} = \frac{\text{จำนวนลูกกุ้งที่เหลือ}}{\text{จำนวนลูกกุ้งเริ่มต้น}} \times 100$$

2.8.3 การตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำ

ทำการตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำในบ่อทดลองทุกวันก่อนถ่ายน้ำ โดยวัดอุณหภูมิ และ pH นอกจากนี้ยังมีการตรวจสอบคุณภาพของน้ำทุกสัปดาห์ โดยวัดค่าแอมโมเนียม ไนไตรท์และฟอสเฟต ใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูปของ LaMotte

2.9 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางด้านการเจริญเติบโตและอัตราการรอดโดยวิธี ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างโดยวิธี Duncan's New Multiple – range Test โดยใช้โปรแกรม SPSS for Windows version 10.0

3. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติก

เตรียมอาหารกุ้งผสม โปรไบโอติกดังข้อ 2.5 จากนั้นแบ่งเป็น 2 ส่วน ส่วนแรกเก็บรักษาในตู้เย็น ส่วนที่สองเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง และมีการสุ่มตัวอย่างมาตรวจหาปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่เหลืออยู่เป็นระยะๆ จนครบ 60 วัน โดยวิธี pour plate ด้วยอาหารวุ้น MRS บ่มที่ 37°C เป็นเวลา 48 ชม.

ผลการศึกษาและวิจารณ์ผล

1. การคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกสำหรับใช้เป็นโปรไบโอติก

1.1 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคนิ่วในกึ่งก้ามกราม

จากการทดสอบแบคทีเรียแลคติกจำนวนทั้งสิ้น 54 สายพันธุ์ ต่อการยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคนิ่วในกึ่งก้ามกรามคือ *A. sobria* และ *V. alginolyticus* พบว่ามี 22 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งเชื้อโรคนิ่วดังกล่าวได้ ซึ่งทั้ง 22 สายพันธุ์นี้เป็นสกุล *L. plantarum* (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของวลัยพร (2544) ที่พบว่า *L. plantarum*, *L. casei* และ *L. lactis* มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อโรคนิ่วในกึ่งก้ามกรามดังกล่าว

ตารางที่ 1 ผลการยับยั้งของแบคทีเรียแลคติกต่อ *A. sobria* และ *V. alginolyticus*

TISTR No.	เส้นผ่านศูนย์กลาง ของโซนใส (ซม.)		TISTR No.	เส้นผ่านศูนย์กลาง ของโซนใส (ซม.)	
	<i>A. sobria</i>	<i>V. alginolyticus</i>		<i>A. sobria</i>	<i>V. alginolyticus</i>
	373	1		1	862
541	1	1.5	863	0.8	0.8
542	1	0.8	864	1.5	1.3
543	1	0.8	875	1	1.2
544	0.9	1.3	877	1	1.3
844	0.7	1	926	1.1	1
846	1	1.2	1284	0.8	1
850	0.9	1	1330	1	1
854	1	1.2	1331	0.8	1
858	0.7	1	1334	1.2	1
861	1	0.9	1465	0.8	1

1.2 การทดสอบความเหมาะสมในการใช้เป็นโปรไบโอติก

จากการทดสอบความเหมาะสมในการใช้เป็นโปรไบโอติกของแบคทีเรียแลคติก 54 สายพันธุ์ โดยการย่อยเม็ดเลือดแดง การเจริญในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 0-10 การเจริญในอาหารเหลวที่อุณหภูมิ 10-55°C การเจริญในอาหารเหลวที่ pH 2-10 และการเจริญในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือ น้ำดี ร้อยละ 0-7 ผลการทดสอบเป็นดังนี้

1.2.1 การย่อยเม็ดเลือดแดง

ผลการทดสอบการย่อยเม็ดเลือดแดงของแบคทีเรียแลคติกทั้ง 54 สายพันธุ์ พบว่ามีแบคทีเรียแลคติก 13 สายพันธุ์ ที่ไม่ย่อยเม็ดเลือดแดง ดังนี้ *L. plantarum* 6 สายพันธุ์ (TISTR 373, TISTR 541, TISTR 542, TISTR 543, TISTR 863 และ TISTR 1330) *L. fermentum* 4 สายพันธุ์ (TISTR 391, TISTR 876, TISTR 914 และ TISTR 948) *L. casei* 1 สายพันธุ์ (TISTR 453) *L. delbrueckii* subsp. *lactis* 1 สายพันธุ์ (TISTR 785) และ *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus* 1 สายพันธุ์ (TISTR 892)

1.2.2 การเจริญในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือต่างๆ

ผลการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือต่างๆ พบว่า *L. plantarum* ทั้ง 22 สายพันธุ์ สามารถเจริญได้ในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 8 แต่ไม่เจริญในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 10 สำหรับแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์อื่นมีเพียง 2 สายพันธุ์เท่านั้นที่สามารถเจริญได้ในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 8 คือ TISTR 938 (*L. curvatus*) และ TISTR 1338 (*L. acidophilus*)

1.2.3 การเจริญในอาหารเหลวที่อุณหภูมิต่างๆ

ผลการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวที่อุณหภูมิต่างๆ ทำให้สามารถแบ่งเชื้อทดสอบได้เป็น 4 กลุ่มดังนี้

- กลุ่มที่เจริญในช่วงอุณหภูมิ 20-40°C ได้แก่ TISTR 373, TISTR 785, TISTR 858, TISTR 863, TISTR 875, TISTR 876, TISTR 877, TISTR 1034 และ TISTR 1284
- กลุ่มที่เจริญในช่วงอุณหภูมิ 20-45°C ได้แก่ TISTR 326, TISTR 389, TISTR 390, TISTR 391, TISTR 398, TISTR 450, TISTR 451, TISTR 453, TISTR 864, TISTR 868, TISTR 879, TISTR 892, TISTR 895, TISTR 914, TISTR 915, TISTR 937, TISTR 945, TISTR 946, TISTR 947, TISTR 948, TISTR 949, TISTR 950, TISTR 1339, TISTR 1340 และ TISTR 1341
- กลุ่มที่เจริญในช่วงอุณหภูมิ 10-40°C ได้แก่ TISTR 541, TISTR 543, TISTR 544, TISTR 844, TISTR 846, TISTR 850, TISTR 854, TISTR 861, TISTR 862, TISTR 926, TISTR 1330, TISTR 1331, TISTR 1334, TISTR 1338 และ TISTR 1465
- กลุ่มที่เจริญในช่วงอุณหภูมิ 10-45°C ได้แก่ TISTR 542, TISTR 855, TISTR 860, TISTR 938 และ TISTR 1039

1.2.4 การเจริญในอาหารเหลวที่ pH ต่างๆ

ผลการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวที่ pH ต่างๆ ทำให้สามารถแบ่งเชื้อทดสอบได้เป็น 5 กลุ่มดังนี้

- กลุ่มที่เจริญในช่วง pH 4-8 ได้แก่ TISTR 326, TISTR 373 และ TISTR 862
- กลุ่มที่เจริญในช่วง pH 4-9 ได้แก่ TISTR 451, TISTR 785, TISTR 858, TISTR 868, TISTR 876 และ TISTR 1338
- กลุ่มที่เจริญในช่วง pH 4-10 ได้แก่ TISTR 389, TISTR 390, TISTR 450, TISTR 453, TISTR 855, TISTR 860, TISTR 863, TISTR 877, TISTR 879, TISTR 892, TISTR 895, TISTR 914, TISTR 938, TISTR 1034 และ TISTR 1039
- กลุ่มที่เจริญในช่วง pH 3-9 ได้แก่ TISTR 542, TISTR 844, TISTR 846, TISTR 850, TISTR 861, TISTR 926, TISTR 949, TISTR 950, TISTR 1330, TISTR 1341 และ TISTR 1465
- กลุ่มที่เจริญในช่วง pH 3-10 ได้แก่ TISTR 391, TISTR 398, TISTR 541, TISTR 543, TISTR 544, TISTR 854, TISTR 864, TISTR 875, TISTR 915, TISTR 937, TISTR 945, TISTR 946, TISTR 947, TISTR 948, TISTR 1284, TISTR 1331, TISTR 1334, TISTR 1339 และ TISTR 1340

1.2.5 การเจริญในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือน้ำดีระดับต่างๆ

ผลการทดสอบการเจริญของแบคทีเรียแลคติกในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นของเกลือน้ำดีระดับต่างๆ พบว่ามีเพียง 18 สายพันธุ์เท่านั้นที่สามารถเจริญได้ในอาหารเหลวที่มีเกลือน้ำดีความเข้มข้นร้อยละ 4 ได้แก่ TISTR 373, TISTR 541, TISTR 542, TISTR 543, TISTR 544, TISTR 844, TISTR 846, TISTR 850, TISTR 854, TISTR 861, TISTR 863, TISTR 875, TISTR 877, TISTR 926, TISTR 1330, TISTR 1331, TISTR 1334 และ TISTR 1465 ซึ่งทั้งหมดเป็นสกุล *L. plantarum* สำหรับแบคทีเรียแลคติกสายพันธุ์อื่น ไม่สามารถเจริญได้ในอาหารเหลวที่มีความเข้มข้นของเกลือน้ำดีเกินร้อยละ 1

จากผลการศึกษาดังกล่าวข้างต้น ทำให้สามารถคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่มีความเหมาะสมที่จะใช้เป็นโปรไบโอติกได้ทั้งหมด 6 สายพันธุ์ โดยพิจารณาจากความสามารถในการยับยั้งเชื้อที่ก่อให้เกิดโรคในกึ่งกัมกรามและเป็นเชื้อที่ไม่ย่อยเม็ดเลือดแดงซึ่งได้แก่ TISTR 373, TISTR 541, TISTR 542, TISTR 543, TISTR 863 และ TISTR 1330 เชื้อทั้ง 6 สายพันธุ์นี้ สามารถเจริญได้ในอาหารเหลวที่ความเข้มข้นเกลือร้อยละ 8 และอาหารเหลวที่มีเกลือน้ำดีเข้มข้นร้อยละ 4 แต่มีเพียง 2 สายพันธุ์เท่านั้นคือ TISTR 541 และ TISTR 543 ที่สามารถเจริญได้ในอาหารเหลว pH 3-10 ซึ่งเป็นช่วง pH ที่กว้างกว่าเชื้ออื่นๆ ดังนั้นจึงได้เลือก TISTR 541 และ TISTR 543 เป็นโปรไบโอติกสำหรับผสมในอาหารกึ่ง โดยใช้ TISTR 541 ในอาหารกึ่งสูตรที่ 1 (T₁) และ TISTR 543 ในอาหารกึ่งสูตรที่ 2 (T₂)

2. การเลี้ยงกุ้งก้ามกรามโดยใช้อาหารผสมโปรไบโอติก

2.1 การเจริญเติบโต

จากการศึกษาการเจริญเติบโตของลูกกุ้งก้ามกรามเป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ โดยสุ่มลูกกุ้งจากบ่อ 100 ตัว มาชั่งน้ำหนักและวัดความยาวทุก 2 สัปดาห์ พบว่ากลุ่มควบคุม (T_3) มีความยาวเฉลี่ยเมื่อครบ 6 สัปดาห์ สูงสุดคือ 21.51 มม. รองลงมาเป็น T_1 และ T_2 คือ 21.45 มม. และ 20.66 มม. ตามลำดับ (ตารางที่ 2) สำหรับน้ำหนักพบว่า T_3 มีน้ำหนักเฉลี่ยเมื่อครบ 6 สัปดาห์ สูงสุดคือ 0.087 กรัม รองลงมาเป็น T_2 และ T_1 คือ 0.080 กรัม และ 0.077 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 3) อย่างไรก็ตามน้ำหนักและความยาวของลูกกุ้งในแต่ละกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางที่ 2 ความยาวเฉลี่ยของลูกกุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงในระยะเวลา 6 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	ความยาวเฉลี่ย (มม.)			
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6
T_1	8.53 ± 0.41	9.94 ± 0.065 ^a	15.87 ± 0.006 ^a	21.45 ± 0.979 ^a
T_2	8.53 ± 0.41	10.23 ± 0.862 ^a	15.05 ± 0.280 ^a	20.66 ± 0.880 ^a
T_3	8.53 ± 0.41	10.08 ± 0.346 ^a	15.78 ± 0.618 ^a	21.50 ± 1.457 ^a

หมายเหตุ อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

T_1 = อาหารกุ้งผสม TISTR 541

T_2 = อาหารกุ้งผสม TISTR 543

T_3 = อาหารกุ้งปกติ (control)

ตารางที่ 3 น้ำหนักเฉลี่ยของลูกกุ้งก้ามกรามที่เลี้ยงในระยะเวลา 6 สัปดาห์

กลุ่มทดลอง	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม)			
	สัปดาห์ที่ 0	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 4	สัปดาห์ที่ 6
T_1	0.006 ± 0.0001	0.010 ± 0.0005 ^a	0.036 ± 0.0035 ^a	0.077 ± 0.0049 ^a
T_2	0.006 ± 0.0001	0.010 ± 0.0013 ^a	0.029 ± 0.0006 ^a	0.080 ± 0.0065 ^a
T_3	0.006 ± 0.0001	0.010 ± 0.0007 ^a	0.033 ± 0.0032 ^a	0.087 ± 0.0044 ^a

หมายเหตุ อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

2.2 อัตราการรอด

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนับจำนวนลูกกุ้งทั้งหมดที่เหลือรอดในแต่ละบ่อ จากนั้นคำนวณหาอัตราการรอดพบว่า T_3 มีอัตราการรอดสูงสุดคือ 20.60 % รองลงมาเป็น T_2 และ T_1 คือ 20.52 % และ 20.03 % ตามลำดับ (ตารางที่ 4) อย่างไรก็ตามอัตราการรอดของลูกกุ้งในแต่ละกลุ่มทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางที่ 4 อัตราการรอดของลูกกุ้งก้ามกรามเมื่อสิ้นสุดการทดลอง

กลุ่มทดลอง	จำนวนกุ้งเริ่มต้น (ตัว)	จำนวนกุ้งที่เหลือ (ตัว)	อัตราการรอด (%)
T_1	3,875	735 ± 52 ^a	20.03 ± 1.41 ^a
T_2	3,875	752 ± 75 ^a	20.52 ± 2.09 ^a
T_3	3,875	756 ± 24 ^a	20.60 ± 0.67 ^a

หมายเหตุ อักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้งแสดงถึงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

จากผลการศึกษาการใช้โปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามสำหรับการทดลองนี้ พบว่าการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามด้วยอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติกเทียบกับการเลี้ยงกุ้งด้วยอาหารปกติให้ผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดไม่แตกต่างกัน แต่ไม่อาจสรุปได้ว่าโปรไบโอติกไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตของกุ้งก้ามกราม เพราะมีปัจจัยอื่นเข้ามาเกี่ยวข้องปัจจัยที่สำคัญคือการกินกันเองของลูกกุ้ง (Cannibalism) ในขณะลอกคราบ ซึ่งพฤติกรรมดังกล่าวจะส่งผลกระทบต่ออัตราการรอดของลูกกุ้ง เพราะกุ้งที่ตายไม่ได้มีสาเหตุมาจากการเกิดโรคแต่มีสาเหตุมาจากการกินกันเอง ดังนั้นในการเลี้ยงจึงไม่ควรปล่อยกุ้งในอัตราที่หนาแน่นจนเกินไปและควรมีที่ให้กุ้งหลบภัยในขณะลอกคราบ และอีกปัจจัยหนึ่งที่มีส่วนสำคัญต่อความสำเร็จในการใช้โปรไบโอติกคือ ควรใช้ควบคู่กับฟรีไบโอติก ซึ่งฟรีไบโอติกคือสารอาหารที่ร่างกายย่อยไม่ได้และจะผ่านระบบทางเดินอาหารส่วนบนไปจนถึงลำไส้ใหญ่ ซึ่งสารเหล่านี้จะไปเป็นอาหารให้กับโปรไบโอติก ทำให้โปรไบโอติกเจริญเติบโตได้ดีและแข็งแรง ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการทำงานของโปรไบโอติกดียิ่งขึ้น สารจำพวกฟรีไบโอติกได้แก่ โอลิโกแซคคาไรด์ เช่น ฟรุคโต-โอลิโกแซคคาไรด์ และอินนูลิน เป็นต้น (ลานนา เกษตรกรรมจำกัด, 2547)

2.3 การตรวจสอบคุณสมบัติของน้ำ

คุณสมบัติของน้ำตลอดการทดลองเป็นดังนี้ อุณหภูมิอยู่ในช่วง 27-33°C และ pH อยู่ในช่วง 7.1-7.3 สำหรับการตรวจสอบคุณภาพของน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้งทุกสัปดาห์ พบว่าการใช้อาหารผสมโปรไบโอติก (T_1 และ T_2) ไม่มีผลต่อคุณภาพของน้ำเมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม (T_3) ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ผลการตรวจสอบคุณภาพน้ำในบ่อเลี้ยงกุ้ง

กลุ่มทดลอง	สัปดาห์ที่	แอมโมเนียม (ppm)	ไนโตรเจน (ppm)	ฟอสเฟต (ppm)
T ₁	1	0.5	0.2	1.0
	2	0.5	0.8	1.0
	3	0.5	1.0	1.0
	4	0.5	1.0	1.0
	5	0.5	0.6	3.0
T ₂	1	0.5	0.2	1.0
	2	0.5	1.0	1.0
	3	0.5	1.0	1.0
	4	0.5	1.0	2.0
	5	0.5	0.4	2.0
T ₃	1	0.5	0.1	1.0
	2	0.5	1.0	1.0
	3	0.5	1.0	1.0
	4	0.5	1.0	2.0
	5	0.5	0.5	2.0

3. การศึกษาอายุการเก็บรักษาของอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติก

เตรียมอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติกสูตรที่ 1 (T₁) และ สูตรที่ 2 (T₂) แต่ละสูตรแบ่งเก็บรักษาที่ตู้เย็น (12-13 °C) และที่อุณหภูมิห้อง (25-35 °C) ทำการสุ่มตัวอย่างมาตรวจหาปริมาณแบคทีเรียแลคติกพบว่าปริมาณแบคทีเรียแลคติกในอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติกเริ่มต้นเท่ากับ 3.6×10^8 และ 8.6×10^8 CFU/g ตามลำดับ (ตารางที่ 6)

ตารางที่ 6 ปริมาณแบคทีเรียแลคติกในอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติก

วันที่	ปริมาณแบคทีเรียแลคติก (CFU/g)			
	อาหารกุ้งสูตรที่ 1 (T ₁)		อาหารกุ้งสูตรที่ 2 (T ₂)	
	อุณหภูมิตู้เย็น	อุณหภูมิห้อง	อุณหภูมิตู้เย็น	อุณหภูมิห้อง
0	3.6x10 ⁸	3.6x10 ⁸	8.6x10 ⁸	8.6x10 ⁸
5	3.5x10 ⁸	3.1x10 ⁷	7.3x10 ⁸	5.3x10 ⁷
7	3.4x10 ⁸	1.0x10 ⁶	6.4x10 ⁸	2.0x10 ⁶
15	3.3x10 ⁸	1.0x10 ⁴	3.5x10 ⁸	1.0x10 ⁴
30	1.3x10 ⁸	-	1.6x10 ⁸	-
45	5.4x10 ⁷	-	7.5x10 ⁷	-
60	5.9x10 ⁶	-	2.3x10 ⁶	-

จากผลการทดลองพบว่าอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติกทั้ง 2 สูตรที่เก็บรักษาในตู้เย็นมีปริมาณแบคทีเรียแลคติกเหลืออยู่ 10⁶ CFU/g เมื่อเก็บไว้นาน 60 วัน แต่ถ้าเก็บที่อุณหภูมิห้อง 15 วันจะเหลือปริมาณแบคทีเรียแลคติกอยู่ 10⁴ CFU/g ดังนั้นจึงควรเก็บอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติกไว้ในตู้เย็นเพื่อรักษาให้แบคทีเรียแลคติกเจริญอยู่ได้และไม่ควรเก็บนานเกิน 45 วัน และถ้าจะเก็บที่อุณหภูมิห้องสามารถเก็บได้นานประมาณ 5 วัน เพราะถ้าเก็บนานกว่าระยะเวลาดังกล่าวปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่เหลืออยู่จะไม่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นโปรไบโอติก โดยปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นโปรไบโอติกคือ 10⁷-10⁸ CFU/g (วลัยพร, 2544)

สรุปและข้อเสนอแนะ

สามารถคัดเลือกแบคทีเรียแลคติกที่มีความเหมาะสมในการใช้เป็นโปรไบโอติกได้ 6 สายพันธุ์ ดังนี้ TISTR 373, TISTR 541, TISTR 542, TISTR 543, TISTR 863 และ TISTR 1330 ซึ่งทั้ง 6 สายพันธุ์ เป็น *L. plantarum* โดยที่ TISTR 541 และ TISTR 543 มีความสามารถในการเจริญในช่วง pH ที่กว้างกว่า จึงได้เลือกเชื้อดังกล่าวเป็นโปรไบโอติกสำหรับผสมอาหารกุ้ง เมื่อทำการศึกษาการเลี้ยงกุ้งก้ามกรามโดยใช้อาหารปกติเปรียบเทียบกับอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติก พบว่าการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของลูกกุ้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งอาจจะมาจากหลายสาเหตุ ดังนั้นจึงมีข้อเสนอแนะดังนี้ ไม่ควรเลี้ยงกุ้งในอัตราที่หนาแน่นจนเกินไป ทดลองในกุ้งที่มีขนาดโตกว่าและใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงที่นานขึ้น เพื่อจะได้เห็นผลที่ชัดเจนขึ้น และควรใช้ฟรีไบโอติกควบคู่กับการใช้โปรไบโอติก เพราะฟรีไบโอติกจะเป็นตัวช่วยส่งเสริมให้โปรไบโอติกทำงานได้อย่างเต็มประสิทธิภาพ สำหรับการศึกษาอายุการเก็บรักษาของอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติก พบว่าสามารถเก็บรักษาในตู้เย็นได้นาน 45 วัน โดยปริมาณแบคทีเรียแลคติกที่เหลือยังมีปริมาณที่เหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็นโปรไบโอติก ถ้าเก็บที่อุณหภูมิห้องไว้ได้นาน 5 วัน ดังนั้นจึงควรเก็บรักษาอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติกไว้ในตู้เย็นเพื่อที่จะยืดอายุของอาหารกุ้งผสมโปรไบโอติกให้นานมากขึ้น

เอกสารอ้างอิง

- คณิงนิจ ก่อธรรมฤทธิ. 2541. การศึกษาและวิเคราะห์สถานภาพและศักยภาพการผลิต การใช้และความต้องการ Probiotic ของอุตสาหกรรมอาหารสัตว์. กองควบคุมคุณภาพอาหารสัตว์, กรมปศุสัตว์, กรุงเทพฯ. 40 หน้า.
- พันทิพา พงษ์เพ็ญจันทร์. 2538. หลักการอาหารสัตว์เล่ม 2. ภาควิชาสัตวศาสตร์, คณะเกษตรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่. 576 หน้า.
- ลานนา เกษตรกรรมจำกัด. 2547. <http://www.lannabiotic.com/Paper/Pro&Pre.htm>
- วลัยพร ทิมบุญธรรม. 2544. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ. 124 หน้า.
- ศูนย์สารสนเทศ กรมประมง. 2546. http://www.fisheries.go.th/it-stat/data_2546/menu_2546.htm
- สมพงษ์ สุวรรณเทศ. 2545. แผนการแก้ไขปัญหา เรื่องสารตกค้างและราคากุ้งก้ามกรามตกต่ำ. วารสารการประมง. 55(3): 277-278.
- Austin, B., L.F. Stuckey, P.A.W. Robertson, I. Effendi and D.R.W. Griffith. 1995. A probiotic strain of *Vibrio alginolyticus* effective in reducing diseases caused by *Aeromonas salmonicida*, *Vibrianguillarum* and *Vibrio ordalii*. J. Fish Diseases. 18: 93-96.
- Barrow, P.A., B.E. Brooker, R. Fuller and M.J. Newport. 1980. The attachment of bacteria to the gastric epithelium of the pig and its importance in the microecology of the intestine. J. Appl. Bacteriol. 48:147-154.
- Barrow, P.A., J.M. Simpson and M.A. Lovell. 1998. Intestinal colonization on the chicken by food-poisoning *Salmonella* serotypes; microbial characteristics associated with fecal excretion. Avian Pathology. 17: 571-588.
- Fuller, R., S.B. Houghton and B.E. Brooker. 1981. Attachment of *Streptococcus faecium* to the duodenal epithelium of the chicken and its importance in colonization of the small intestine. Appl. Environ. Microbiol. 41: 1433-1441.
- Hill, J.R., R. Kenworthy and P. Porter. 1970. Studies of the effect of dietary lactobacilli on intestinal and urinary amines in pigs in relation to weaning and post - weaning diarrhoea. Res. Veterin. Sci. 11: 320-326.
- Muralidhara, K.S., G.G. Sheggeby, P.R. Elliker, D.C. England and W.E. Sandine. 1977. Effect of Feeding lactobacilli on the coliform and *Lactobacillus* flora of intestinal tissue and feces from piglets. J. Food Protect. 40: 288-295.

- Phianphak, W. 1996. Use of bacteria as probiotic supplement in shrimp feed. M.Sc. Thesis. Chulalongkorn University, Bangkok. 123 pp.
- Ratcliffe, B., C.B. Cole, R. Fuller and M.J. Newport. 1986. The effect of yoghurt and milk fermented With a porcine intestinal strain of *Lactobacillus reuteri* on the performance and gastrointestinal flora of pigs weaned at two days of age. *Food Microbiol.* 3: 203-211.
- Sarkar, P. K. and S. Banerjee. 1996. Antibacterial activity of lactic acid bacteria isolates obtained from natural habitats. *J. Food Sci. Technol.* 33: 231-233.

กองพัฒนาอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ

ภาคผนวก ก.

รายชื่อแบคทีเรียแลคติกที่ใช้ในการทดลอง	TISTR No.					
<i>Lactobacillus acidophilus</i>	450	1034	1338			
<i>Lactobacillus brevis</i> subsp. <i>brevis</i>	855	860	868			
<i>Lactobacillus bulgaricus</i>	451					
<i>Lactobacillus casei</i>	389	390	453	1340	1341	
<i>Lactobacillus cellobiosus</i>	398					
<i>Lactobacillus curvatus</i>	938					
<i>Lactobacillus delbrueckii</i>	326					
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>bulgaricus</i>	892	895	1339			
<i>Lactobacillus delbrueckii</i> subsp. <i>lactis</i>	785	1039				
<i>Lactobacillus fermentum</i>	391	876	879	914	915	937
	945	946	947	948	949	950
<i>Lactobacillus plantarum</i>	373	541	542	543	544	844
	846	850	854	858	861	862
	863	864	875	877	926	1284
	1330	1331	1334	1465		