

ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของวัสดุที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* (L 450) เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)

Use for Optimum Ratio of Materials in Mass Production of Probiotic, *Lactobacillus acidophilus* (L 450), in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)

ชื่อนักศึกษา นายรัฐพล เอนกผลิน รหัส 41044241

ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา อาจารย์นงนุช เลาหะวิสุทธิ

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....
(ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ)

ภาควิชารับรองแล้ว

.....
Name Uthair

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สมชาย หวังวิบูลย์กิจ)

หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

วันที่ ๒๒ เดือน ๑๗.๕.....พ.ศ. 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของวัสดุที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus acidophilus*

(L 450) เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)

Use for Optimum Ratio of Materials in Mass Production of Probiotic,

Lactobacillus acidophilus (L 450), in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)



T099330

โดย

นายรัฐพล เอนกผลิน รหัส 41044241

ร.พ.

ร ๑๕๖ ก

๒๕๔๕

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... ๑๑๕๓๐

วันเดือนปี.....

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

พ.ศ. 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมของวัสดุที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* (L 450) เพื่อ
ใช้เป็นโปรไบโอติกในกุ้งกุลาดำ (*Penaeus monodon*)

Use for Optimum Ratio of Materials in Mass Production of Probiotic, *Lactobacillus*
acidophilus (L 450), in Black Tiger Shrimp (*Penaeus monodon*)

การทดลองเพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้วัสดุที่มีราคาถูก พบว่าเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* (L 450) สามารถเจริญได้ดีในกากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ รำละเอียด 5 เปอร์เซ็นต์ อาหารกุ้ง 5 เปอร์เซ็นต์ และนมสด 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง L 450 สามารถเจริญในรำละเอียด 5 เปอร์เซ็นต์ ได้ดีกว่าในอาหารกุ้ง 5 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นทำการเปรียบเทียบการเจริญของ L 450 ในอัตราส่วนวัสดุที่มีกากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับรำละเอียด 5 เปอร์เซ็นต์ และกากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับนมสด 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าในอัตราส่วนอาหารที่มีกากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับนมสด 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณของเชื้อ 7.79×10^9 CFUs/mL สูงกว่าในอัตราส่วนอาหารที่มีกากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับรำละเอียด 5 เปอร์เซ็นต์ 1.53×10^9 CFUs/mL แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) การทดสอบในกุ้งกุลาดำวัยอ่อน โพลลาวา 15 (PL 15) โดยการใส่เชื้อ L 450 ที่เลี้ยงด้วยอัตราส่วนอาหารที่มีนมสด 25 เปอร์เซ็นต์ร่วมกับรำละเอียด 5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับกากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 60 ชั่วโมง มีปริมาณเชื้อ 3.1×10^9 CFUs/mL ลงในน้ำที่ใช้เลี้ยงลูกกุ้งกุลาดำระยะโพลลาวา 15 พบว่ากุ้งในกลุ่มที่ได้รับเชื้อ L 450 ที่เลี้ยงด้วยอัตราส่วนวัสดุดังกล่าว เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนที่จะมีการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงด้วย *Vibrio harveyi* 1526 พบว่ากุ้งมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าในกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้เป็นงานทางวิชาการที่ได้ทำขึ้น ซึ่งถือได้ว่าเป็นเกียรติประวัติครั้งหนึ่งในชีวิตของนักศึกษาที่ได้รับรวบรวมความคิด สติปัญญา เพื่อให้เกิดความรู้ และประโยชน์ในการทำงาน ซึ่งกว่าจะประสบความสำเร็จผ่านมาได้ต้องพบอุปสรรคต่างๆ นานา ซึ่งอุปสรรคนั้นก็ได้อสอนให้ตัวเราเข้าใจถึงสัจธรรมของสังคมมนุษย์ ความสัมพันธ์ระหว่างการทำงาน และการแก้ไขปัญหา ก็ต้องขอขอบคุณภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมงที่ให้โอกาสนักศึกษาประสบกับปัญหาที่ก่อให้เกิดปัญญา (ปัญหาพิเศษ)

ปัญหาพิเศษฉบับนี้ไม่อาจจะเกิดขึ้นได้หากไม่มีบุคคลดั่งที่จะกล่าวต่อไปนี้ ขอขอบคุณ ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ ดร.พิกุล จิรวาณิชไพศาล ที่ให้โอกาสได้ทำงานที่ไม่เหมือนใคร ขอขอบคุณคุณศรีสุภาพ พูนลาภเดชา ที่ช่วยเหลือในการทำรูปเล่มนี้ ขอขอบคุณกำลังใจบริสุทธิ์ทั้งหลายที่เพื่อนๆ จริงใจมอบให้ รวมไปถึงผู้ที่ไม่ได้กล่าวนามที่อยู่เบื้องหลังความสำเร็จ ซึ่งถ้าได้อ่านคงเข้าใจถึงความรู้สึกที่กระผมมีให้ ขอขอบคุณ บิดา มารดา ครอบครัว เอนกผลิน ที่ให้กำลังใจเสมอมา ตลอดเวลา 4 ปี และปู่ ย่า ตา ยาย ซึ่งหากท่านยังอยู่อยากบอกให้รู้ว่า ขอขอบคุณมากครับ

นายรัฐพล เอนกผลิน
มีนาคม 2545

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	V
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	11
ผลการทดลองและวิจารณ์	18
สรุปและข้อเสนอแนะ	28
เอกสารอ้างอิง	29
ภาคผนวก	31



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> (CFUs/mL) ในกากน้ำตาลบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	18
2 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> (CFUs/mL) ในนมสดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	20
3 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> (CFUs/mL) ในรำละเอียดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	20
4 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> (CFUs/mL) ในอาหารกึ่งบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง	23
5 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> (CFUs/mL) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เวลา 24 ชั่วโมง	25
6 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> (CFUs/mL) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เวลา 48 ชั่วโมง	25
7 อัตรารอดของกึ่งกลาดำระยะโพสลาว่า 15 (เปอร์เซ็นต์) ในแต่ละชุดการทดลอง	27
ตารางผนวกที่	
1 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	31
2 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่ 24 ชั่วโมง	31
3 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง	31
4 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง	32
5 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของกากน้ำตาล	32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า
6 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในนมสดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	32
7 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในนมสดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	33
8 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในนมสดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง	33
9 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในนมสดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง	33
10 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของนมสด	34
11 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในรำละเอียดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	34
12 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในรำละเอียดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	34
13 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในรำละเอียดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง	34
14 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในรำละเอียดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง	35
15 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของรำละเอียด	35
16 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในอาหารกึ่งที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	35
17 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในอาหารกึ่งที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	35
18 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในอาหารกึ่งที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง	36
19 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในอาหารกึ่งที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง(ต่อ)

ตารางผนวกที่	หน้า	
20	ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารกึ่ง	36
21	ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในอัตราส่วนวัสดุผสม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	36
22	ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในอัตราส่วนวัสดุผสม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง	37
23	ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เวลา 24 ชั่วโมง	37
24	ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในอัตราส่วนวัสดุผสม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง	37
25	ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในอัตราส่วนวัสดุผสม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง	37
26	ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เวลา 48 ชั่วโมง	38
27	ปริมาณเชื้อ <i>V. harveyi</i> (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกึ่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS ที่เวลา 0 ชั่วโมง	38
28	ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกึ่ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เวลา 0 ชั่วโมง	38
29	จำนวนกึ่ง (ตัว) ที่รอดตายจากการใส่ <i>L. acidophilus</i> เพื่อยับยั้ง <i>V. harveyi</i> ในน้ำเลี้ยงกึ่ง ที่เวลา 24 ชั่วโมง	38
30	จำนวนกึ่ง (ตัว) ที่รอดตายจากการใส่ <i>L. acidophilus</i> เพื่อยับยั้ง <i>V. harveyi</i> ในน้ำเลี้ยงกึ่ง ที่เวลา 48 ชั่วโมง	39
31	จำนวนกึ่ง (ตัว) ที่รอดตายจากการใส่ <i>L. acidophilus</i> เพื่อยับยั้ง <i>V. harveyi</i> ในน้ำเลี้ยงกึ่ง ที่เวลา 72 ชั่วโมง	39
32	จำนวนกึ่ง (ตัว) ที่รอดตายจากการใส่ <i>L. acidophilus</i> เพื่อยับยั้ง <i>V. harveyi</i> ในน้ำเลี้ยงกึ่ง ที่เวลา 96 ชั่วโมง	39

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1 แผนภาพการทดลองแบบ CRD	13
2 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในกากน้ำตาลบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL)	19
3 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของกากน้ำตาลที่เพาะเลี้ยงเชื้อ <i>L. acidophilus</i>	19
4 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในนมสดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL)	21
5 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของนมสดที่เพาะเลี้ยงเชื้อ <i>L. acidophilus</i>	21
6 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในรำละเอียดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL)	22
7 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของรำละเอียดที่เพาะเลี้ยงเชื้อ <i>L. acidophilus</i>	22
8 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในอาหารกึ่งบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL)	24
9 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารกึ่งที่เพาะเลี้ยงเชื้อ <i>L. acidophilus</i>	24
10 ปริมาณเชื้อ <i>L. acidophilus</i> ในวัสดุผสมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL)	26
11 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของวัสดุผสมที่เพาะเลี้ยงเชื้อ <i>L. acidophilus</i>	26
12 อัตรารอดของกึ่งกุลาดำระยะโพลลาว่า 15 ในแต่ละชุดทดลอง	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ธุรกิจการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำโดยเฉพาะกุ้งกุลาดำเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่ได้รับความนิยมเลี้ยงเพื่อบริโภคอย่างแพร่หลายทั้งในและต่างประเทศ จึงเกิดอุตสาหกรรมการเลี้ยงกุ้งเป็นจำนวนมากทั่วโลก โดยมุ่งเน้นการเพิ่มผลผลิตให้ได้ปริมาณสูงสุด เกิดการเลี้ยงแบบพัฒนา (Intensive culture) ซึ่งเป็นระบบการเลี้ยงกุ้งแบบหนาแน่นที่ให้ผลตอบแทนสูงโดยสามารถเพิ่มผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่สูงสุดในระยะเวลาอันสั้น (ชุตินา, 2540) แต่ขาดการจัดการป้องกันและน้ำที่ดื่มทำให้เกิดการแพร่ระบาดของโรคกุ้ง เกิดการปนเปื้อนของเชื้อโรคในแหล่งน้ำ เมื่อเกิดปัญหาโรคขึ้นเกษตรกรผู้เลี้ยงมักแก้ไขปัญหาที่ผ่านมาและยังคงใช้อยู่คือ การนำยาปฏิชีวนะและสารเคมีมาใช้กันอย่างกว้างขวางทั่วไป ขาดการควบคุมอย่างถูกต้องนอกจากสิ้นเปลืองแล้วยังก่อให้เกิดปัญหาตามมาได้แก่ ปัญหาการดื้อยาของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคต่างๆ ในสิ่งแวดล้อม และการตกค้างของยาปฏิชีวนะและสารเคมีในตัวสัตว์น้ำ ซึ่งเมื่อมนุษย์บริโภคเข้าไป อาจไปมีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ตามปกติในลำไส้มนุษย์ (พิกุล, 2543)

การหลีกเลี่ยงและลดปริมาณการใช้ยาปฏิชีวนะ และสารเคมีลงโดยการใช้แบคทีเรียที่เป็นสารเสริมชีวนะ (probiotic) ในการเพิ่มประสิทธิภาพในการป้องกันเชื้อโรคในลำไส้ ซึ่งในปัจจุบันมีรูปแบบผลิตภัณฑ์ออกจำหน่ายมากมาย เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งจึงนิยมใช้โปรไบโอติกกันมากขึ้น โดยเฉพาะเชื้อในกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ได้แก่ เชื้อแลคโตบาซิลลัส แต่การใช้โปรไบโอติกสำเร็จรูปนั้นนอกจากมีราคาแพงแล้ว ยังได้เชื้อที่ไม่แข็งแรง เนื่องจากขบวนการผลิตหรือการเก็บรักษาที่ไม่เหมาะสม รวมทั้งมีการใช้ในปริมาณที่มาก เนื่องจากบ่อกุ้งแต่ละบ่อมีขนาดใหญ่ เพื่อเป็นการลดค่าใช้จ่ายให้เกษตรกร โดยการหาวัสดุที่มีราคาถูก และอัตราส่วนที่เหมาะสมในการเพิ่มปริมาณเชื้อก่อนนำไปใช้ต่อไป

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาอัตราส่วนของวัสดุที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *L. acidophilus*
2. เพื่อศึกษาปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ที่สามารถเพาะเลี้ยงได้ในอัตราส่วนวัสดุต่าง ๆ
3. เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *L. acidophilus* ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* ในลูกกุ้งกุลาดำ

การตรวจเอกสาร

เชื้อแลคโตบาซิลลัส (*Lactobacillus* sp.)

1. ลักษณะทั่วไปของแลคโตบาซิลลัส

Lactobacillus sp. จัดเป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก ไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างสปอร์ มีรูปร่างเป็นท่อน แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสให้เป็นกรดแลคติกได้สูง พบทั่วไปในสิ่งแวดล้อมรวมทั้งอาหารหมักดอง และในทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์ เป็นแบคทีเรียประจำถิ่นของทั้งปลาทะเลและปลาน้ำจืด บางครั้งสามารถแยกได้จากอวัยวะภายในของปลา

แลคโตบาซิลลัสเป็นแบคทีเรียแลคติก ซึ่งแบ่งออกได้ 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม Homofermentative และกลุ่ม Heterofermentative โดยที่กลุ่ม Homofermentative สามารถสร้างกรดแลคติกจากน้ำตาลกลูโคสได้สูงถึงประมาณ 95 เปอร์เซ็นต์ แต่สร้างกรดอะซิติกหรือคาร์บอนไดออกไซด์ได้เพียงเล็กน้อย ได้แก่ *L. acidophilus* *L. bulgaricus* *L. lactis* ในขณะที่กลุ่ม Heterofermentative สามารถผลิตกรดแลคติกจากน้ำตาลกลูโคสประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ และที่เหลืออีก 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นการผลิตกรดอะซิติก รวมทั้งเอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ อย่างละ 20 – 25 เปอร์เซ็นต์ (อรนุช, 2530)

แบคทีเรียสกุล *Lactobacillus* ที่พบมีประมาณ 50 สายพันธุ์แต่พบว่ามีเพียง *L. piscicola* ทำให้ปลาเป็นโรค ต่อมาได้มีการจัดให้เชื้อนี้อยู่ในสกุลใหม่คือ *Carnobacterium piscicola* เชื้อแลคโตบาซิลลัส นอกจากมีความสำคัญในอาหารหมักดองแล้ว ยังใช้เป็นอาหารเสริมในสัตว์แท่นยาปฏิชีวนะ และเป็นโปรไบโอติกในสัตว์ด้วยเช่น *L. acidophilus* *L. casei* *L. plantarum* และ *L. delbrueckii* เป็นต้น บางสายพันธุ์ของแบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถผลิตสารที่มีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ เช่น acidocin acidophilin และ lactacinB สามารถควบคุมการติดเชื้อ และป้องกันอาการท้องเสียในสุกรแรกเกิดได้รวมทั้งสามารถเพิ่มอัตราการรอดและยับยั้งการติดเชื้อ *Salmonella typhimurium* ในหนูทดลองได้

1.1 คุณสมบัติของเชื้อ *L. acidophilus*

L. acidophilus เป็นแบคทีเรียในสกุลแลคโตบาซิลลัสอยู่ในกลุ่ม Homofermentative สามารถสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติในการต้านจุลชีพ เช่น acidolin acidophilin และ lactacin B ได้ โดยที่สารทั้ง 3 ชนิด นี้สามารถยับยั้งแบคทีเรียทั้งชนิดแกรมบวกและแกรมลบ รวมทั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค เช่น staphylococci salmonella และ pseudomonas ได้ (Havenaar, 1992) นอกจากนี้ยังมีคุณสมบัติในการควบคุมการติดเชื้อ *Escherichia coli* และป้องกันอาการท้องเสียในสุกรแรกเกิดรวมทั้งสามารถเพิ่มอัตราการรอด และยับยั้งการติดเชื้อ *Salmonella typhimurium* ในหนูทดลองได้ (Perdigon and Alvarez, 1992)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

L. acidophilus ซึ่งเลี้ยงในนมที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อ ได้แก่ *Salmonella typhosa* *Salmonella schottmuelleri* *Shigella dysenteriae* *Shigella paradysenteriae* *Pseudomonas aeruginosa* *Staphylococcus aureus* *Klebsiella pneumoniae* และ *Vibrio comma* (ชุตินา, 2540)

1.2 สารที่แลคโตบาซิลัสผลิตออกมายับยั้งจุลินทรีย์ มีดังนี้

1.2.1 กรดอินทรีย์ โดยการสะสมของกรดอินทรีย์ทำให้ ความเป็นกรดเป็นด่าง ลดลง ซึ่งมีผลต่อการเจริญโดยยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของ จุลินทรีย์บางชนิดที่ไม่สามารถทนกรดได้ เช่น *Bacillus* sp. *E. coli* และ *Pseudomonas* sp.

1.2.2 คาร์บอนไดออกไซด์ ที่ผลิตโดยแลคติกแบคทีเรียทำให้ ความเป็นกรดเป็นด่าง ภายใน และภายนอกเซลล์ลดลง อีกทั้งยังสามารถทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ได้

1.2.3 ไดอะซิติก (Diacetyl) มีความสามารถในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิด รวมทั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรคได้ เช่น *Mycobacterium tuberculosis*

1.2.4 แบคเทอริโอซิน จัดเป็นสารต่อต้านจุลชีพ (antimicrobial substances) ซึ่งเป็นสารประเภทโปรตีนที่อาจมีหรือไม่มีคาร์โบไฮเดรตรวมอยู่ มีขนาดใหญ่กว่าสารปฏิชีวนะ และมีฤทธิ์ในการฆ่าหรือทำลายแบคทีเรียที่มิภูมิรับไว (susceptible bacteria)

1.2.5 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และสารที่ไม่ทนความร้อนอื่นๆ ซึ่งการสะสมของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้ เนื่องจากเกิดการออกซิไดซ์อย่างรุนแรงภายในเซลล์ ซึ่งทำลายโครงสร้างพื้นฐานโมเลกุลของกรดนิวคลีอิก และโปรตีนในเซลล์นั้น ยังสามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ และรวมตัวเป็นสารประกอบยับยั้งจุลินทรีย์ได้ (ชุตินา, 2540)

2. การเพาะเชื้อแลคโตบาซิลัส

ธาตุที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์แบคทีเรีย พบว่าธาตุคาร์บอนเป็นธาตุที่มีมากที่สุด ในเซลล์แบคทีเรีย ซึ่งมีอยู่ระหว่าง 50 - 53 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ธาตุที่มีรองลงมา คือ ไนโตรเจน ที่มีอยู่ระหว่าง 12 - 15 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง ถัดต่อมา คือ ไฮโดรเจน มีประมาณ 7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง นอกจากนั้นจะเป็นธาตุฟอสฟอรัส กำมะถัน โปแตสเซียม โซเดียม แคลเซียม แมกนีเซียม คลอไรด์ และเหล็ก ซึ่งมีค่าอยู่ระหว่าง 0.02 - 4.5 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง (บุษบา, 2540)

2.1 คุณสมบัติของเชื้อตั้งต้นแบคทีเรียแลคติก

2.1.1 สามารถใช้น้ำตาลในวัตถุดิบผลิตกรดในระยะเวลาและปริมาณที่เหมาะสม

2.1.2 เมื่อเป็นเชื้อตั้งต้นจะอยู่ในสภาพที่สามารถเจริญแข่งขันกับจุลินทรีย์อื่นได้

2.1.3 การปลอดจากฟาจ (phage) หรือเชื้ออื่นๆ

2.1.4 ต้องคงสภาพความสามารถในการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.5 ควรอยู่ในสภาพสมบูรณ์ และแข็งแรง เพื่อลดระยะพักตัวในการหมัก

2.1.6 ควรอยู่ในปริมาณที่เพียงพอ และปริมาณเหมาะสมต่อการหมัก

2.1.7 ต้องอยู่ในสภาพลักษณะพื้นฐานรูปร่าง ขนาด และโครงสร้างที่เหมาะสมต่อการหมัก (นภา, 2534)

2.2 หลักการเพาะเลี้ยงเชื้อทั่วไป

2.2.1 เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารที่อยู่ในสภาวะเหมาะสม เพื่อให้ได้ปริมาณเซลล์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด

2.2.2 ในกรณีที่จะผลิตกล้าที่มีปริมาณเชื้อเข้มข้น ควรเลือกใช้วิธีที่เหมาะสม

2.2.3 ทุกขั้นตอนของการทำงานต้องระวังการปนเปื้อนของฝาก (นภา, 2534)

2.3 ความต้องการสารอาหารของแบคทีเรียเพื่อการเจริญเติบโต

ในการเจริญของแบคทีเรียทุกชนิดต้องการน้ำ แหล่งพลังงาน แหล่งคาร์บอน ไนโตรเจน และแร่ธาตุ แบคทีเรียบางชนิดอาจต้องการสารอาหารเสริม เช่น ไวตามิน หรือกรดอมิโน นอกจากนั้นถ้าเป็นแอโรบิกแบคทีเรียยังต้องการออกซิเจน ในห้องปฏิบัติการการคิดสูตรวัสดุเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยสารเคมีบริสุทธิ์ต่างๆ สามารถทำให้แบคทีเรียเจริญได้ดีหรือให้ผลผลิตดี แต่วัสดุเลี้ยงเชื้อดังกล่าวไม่เหมาะที่จะใช้ในฟาร์มเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เนื่องจากมีราคาแพง การคิดสูตรอาหารเพื่อใช้ในฟาร์มนั้นจำเป็นต้องใช้สารอาหารที่มีราคาถูกนำมาเป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ และส่วนประกอบในวัสดุเลี้ยงเชื้อจะต้องมีแร่ธาตุต่างๆ ครบ เพื่อใช้ในการเพิ่มผลผลิต และต้องมีแหล่งพลังงานเพื่อใช้ในการสร้างเซลล์ ในการพิจารณาสูตรวัสดุเลี้ยงเชื้อ จะเริ่มโดยการพิจารณาสมการเคมีเพื่อการเจริญ และการสร้างผลผลิตของแบคทีเรีย



การพิจารณาสมการจะพิจารณาในแง่ปริมาณว่า เซลล์ผลิตภัณฑ์ คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ ประกอบด้วยธาตุต่างๆ (elements) เป็นปริมาณเท่าใด ในส่วนที่เป็นวัสดุเลี้ยงเชื้อ (คือแหล่งคาร์บอน + แหล่งพลังงาน + แหล่งไนโตรเจน + สารอื่นๆ) ควรประกอบด้วยแร่ธาตุต่างๆ เป็นปริมาณที่ใกล้เคียงกันเพื่อไม่ให้เกิดการสูญเสีย การที่จะรู้ว่าวัสดุเลี้ยงเชื้อควรประกอบด้วยธาตุต่างๆ เป็นปริมาณเท่าใด ทำได้โดยการวิเคราะห์แร่ธาตุซึ่งเป็นส่วนประกอบของแบคทีเรีย (กานีด, 2534)

แหล่งอาหารต่างๆ ที่แลคโตบาซิลัสต้องใช้จากวัสดุเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ น้ำ แหล่งไนโตรเจน แหล่งคาร์บอน ไวตามิน และแหล่งพลังงานต่างๆ ซึ่งมีรายละเอียด ดังนี้

2.3.1 น้ำ เป็นส่วนประกอบสำคัญในสูตรอาหาร และการใช้ทั่วไป น้ำเป็นตัวช่วยละลายสารอาหารต่างๆ ในแหล่งน้ำที่มีคุณภาพน้ำดีมักใช้น้ำประปาในการเตรียมวัสดุเลี้ยงเชื้อ การแยก และการล้างจุลินทรีย์

2.3.2 แหล่งไนโตรเจน หมายถึง สารประกอบที่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ เช่น โปรตีน กรดอะมิโน เกลือแอมโมเนียม ยูเรีย และก๊าซแอมโมเนีย เป็นต้น ซึ่งในบางครั้งอาจต้องเติมกรดอะมิโนบางตัวลงไปในวัสดุเลี้ยงเชื้อ เนื่องจากแบคทีเรียไม่สามารถสังเคราะห์เองได้

2.3.3 แหล่งคาร์บอน หมายถึง สารประกอบที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบ ซึ่งแหล่งคาร์บอนที่นิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมหมัก ได้แก่ กากน้ำตาล เนื่องจากมีปริมาณน้ำตาลอยู่สูง อีกทั้งยังมีแหล่งไนโตรเจน ไวตามิน และแร่ธาตุต่างๆ อีกหลายชนิด

2.3.4 แหล่งแร่ธาตุ โดยแร่ธาตุที่จำเป็นมากในวัสดุเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ ฟอสฟอรัส และแมกนีเซียม เพราะเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาการสร้างและการถ่ายเทพลังงาน ถ้าในสารอาหารที่นำมาเลี้ยงเชื้อมีแร่ธาตุเหล่านี้ไม่เพียงพอ ต้องเติมลงไปในรูปแบบสารประกอบที่เหมาะสม

2.3.5 แหล่งวิตามิน ซึ่งส่วนใหญ่จะมีอยู่ในองค์ประกอบที่มาจากแหล่งคาร์บอน และแหล่งไนโตรเจน เป็นสารเร่งการเจริญเติบโต วิตามินบี 1 (ไทอะมีน) วิตามินบี 6 (ไพริดอกซิด) ได้จากรำข้าว

2.3.6 แหล่งพลังงาน เนื่องจากการเจริญเป็นขบวนการที่จำเป็นต้องใช้พลังงานเพื่อนำมาสังเคราะห์ส่วนประกอบต่างๆ ของเซลล์ ซึ่งพลังงานมาจากแสงอาทิตย์ การออกซิไดซ์สารประกอบบางชนิด และขบวนการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ (กำเนิด, 2534)

2.4 วัสดุเลี้ยงเชื้อ ในการเลือกหรือสร้างสูตรอาหารเพาะเลี้ยงแบคทีเรียแลคติกเพื่อเพาะเลี้ยงเชื้อ ควรคำนึงถึงสิ่งต่อไปนี้

2.4.1 แบคทีเรียแลคติกเป็นกลุ่มแบคทีเรีย ซึ่งมีความต้องการสารอาหารที่อุดมสมบูรณ์ (complex medium) แบคทีเรียกลุ่มนี้ต้องการแหล่งไนโตรเจนในรูปแบบสารอินทรีย์ เช่น กรดอะมิโน และนิวคลีโอไทด์ นอกจากนี้ยังต้องไวตามินและเกลือแร่ อีกหลายชนิด ซึ่งความต้องการสารอาหารต่างๆ เหล่านี้จะแตกต่างกันไปตามชนิดและสายพันธุ์ และในบางครั้งอาจจำเป็นต้องย่อยสลายวัตถุดิบที่ใช้เป็นแหล่งสารอาหารให้มีสารอาหารโมเลกุลเล็กพอที่แบคทีเรียจะนำไปใช้ได้ทันที การใช้วัตถุดิบเป็นแหล่งสารอาหารในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรีย หากใช้ปริมาณมากไปก็จะมีผลเสียเช่นกัน ตัวอย่างเช่นในการเลี้ยง *Lactobacillus acidophilus* โดยใช้อาหารที่ประกอบด้วยหางนมที่ย่อยสลาย (peptinized whey) ปริมาณ 2.5 - 5 เปอร์เซ็นต์ จะเจริญได้จำนวนเซลล์มากที่สุดภายในเวลา 10 ชั่วโมง และจะคงปริมาณนี้อีกเป็นเวลาประมาณ 12 - 15 ชั่วโมง ในขณะที่เพิ่มหางนมเป็น 9.5 เปอร์เซ็นต์ เชื้อยังคงใช้ระยะเวลาเท่าเดิมในการเพิ่มจำนวนให้ได้ปริมาณมากที่สุด แต่หลังจากนั้นปริมาณเชื้อจะลดลงทันที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 การใช้สูตรวัสดุเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม สามารถขจัดปัญหาการเข้าทำลายของ ฝูงก็ได้ เนื่องจากการที่ฝูงจะเพิ่มจำนวนในเซลล์ได้นั้น ต้องมีแคลเซียมในวัสดุเลี้ยงเชื้อพอ เพียง ดังนั้นในกรณีที่ใช้หางนม หรือนมพร่องมันเนยเป็นแหล่งสารอาหาร จึงต้องมีวิธีการกำจัด แคลเซียมก่อนใช้

2.4.3 เป็นอาหารที่มีองค์ประกอบเหมาะสมต่อการที่เชื้อจะสร้างเอนไซม์ ที่จำเป็น ต่อการดำเนินกิจกรรม

2.4.4 เป็นวัสดุที่ทำให้เซลล์เพาะเลี้ยงได้มีชีวิตอยู่รอดนาน เช่น *Lactobacillus* sp. และ *Pediococcus* sp. มีอายุการอยู่รอดนานขึ้น เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำมันมะพร้าวเป็น องค์ประกอบ

2.4.5 ในการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเหล่านั้น เมื่อได้ปริมาณเซลล์ตามต้องการแล้ว ต้องแยกเอามาเฉพาะส่วนเซลล์

2.4.6 การใช้ความร้อนฆ่าเชื้อในการเตรียมอาหาร เป็นอีกขั้นตอนหนึ่งที่จะต้อง ระมัดระวัง เนื่องจากความร้อนในระดับที่สูงเกินไป อาจทำให้คุณสมบัติของอาหารเปลี่ยนไป (นภา, 2534)

2.5 คุณสมบัติของวัสดุเลี้ยงเชื้อ

ให้ผลผลิตหรือมวลชีวภาพมาก มีความเข้มข้นสูงที่สุดต่อหน่วยน้ำหนักของวัสดุ อัตราเร็วในการเกิดผลผลิตสูง มีสารที่ไม่ต้องการเกิดขึ้นทำให้เกิดปัญหาในการผลิตน้อยที่สุด มี ราคาถูก มีคุณสมบัติคงที่ และหาซื้อได้ง่ายตลอดปี (กำเนิด, 2534 และ บุชบา, 2540)

2.6 ตัวอย่างวัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ

2.6.1 กากน้ำตาล (molass) เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมน้ำตาลทราย กากน้ำตาลเป็นของเหลวชั้นส่วนที่ไม่นำไปตกผลึกอีก เพราะจะเสียค่าใช้จ่ายมากจึงไม่คุ้มค่า กากน้ำตาลนี้เรียกว่า Blackstrap molasses ในกากน้ำตาลมีน้ำตาลอยู่ประมาณ 52 เปอร์เซ็นต์ (ซูโครส 30 เปอร์เซ็นต์ และน้ำตาลอินเวอิต 22 เปอร์เซ็นต์) นอกจากนั้นยังมีสารประกอบ ไนโตรเจน ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดอะมิโน และมีวิตามินที่ทนความร้อนและค้างได้ เช่น niacin pantothenic acid riboflavin และ biotin ในกากน้ำตาลมีไอออนของสารอนินทรีย์ความ เข้มข้นค่อนข้างสูง ซึ่งอาจทำให้เชื้อโรคบางชนิดเจริญได้ช้า (กำเนิด, 2534)

2.6.2 รำละเอียด เป็นผลพลอยได้จากการสีข้าว ในระหว่างที่เมล็ดข้าวถูกขัดส่วนที่เป็นจมูกข้าว (germ) และเยื่อหุ้มส่วนนอกของเมล็ด (pericarp) รวมทั้ง aleurone layer ซึ่งอุดมไปด้วยโปรตีน น้ำมัน และวิตามิน จะถูกขัดออกมารวมกันเรียกว่า รำละเอียด ในบางครั้งอาจมีส่วน ของแป้ง (endosperm) หักออกมารวมอยู่ด้วยเล็กน้อย โดยรำละเอียดมีโปรตีน 11 เปอร์เซ็นต์ มี เยื่อใยสูงถึง 11 เปอร์เซ็นต์ มีแป้งรวม 40.5 เปอร์เซ็นต์ ถ้าเก็บรำละเอียดไว้นานเกินไปจะเกิดการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห็นได้ง่าย เนื่องจากมีไขมันสูงถึง 15.1 เปอร์เซ็นต์ และรำละเอียดยังเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วย ไวตามินบีหลายชนิด เช่น B₁, niacin choline และ pantothenic acid

2.7 กระบวนการหมัก โดยทั่วไปจะเกิดขึ้นเมื่อมีวัตถุดิบ และแบคทีเรีย รวมทั้งสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม โดยมีการปล่อยให้แบคทีเรียเจริญโดยใช้วัตถุดิบ หรือทำปฏิกิริยากับวัตถุดิบภายใต้สภาวะที่ควบคุมภายในระยะที่กำหนด ก็จะได้ผลิตภัณฑ์ออกมา กระบวนการหมักขนาดเล็กแบบธรรมชาติมักไม่มีปัญหา แต่หากกระบวนการหมักขนาดใหญ่ขึ้น ซับซ้อนมากขึ้น ปัญหาที่จะมากขึ้น จึงต้องมีการพัฒนากระบวนการหมัก รวมทั้งเครื่องมือที่ใช้ในการหมักอยู่ตลอดเวลา กระบวนการหมักมี 2 ประเภทใหญ่ คือ การหมักในอาหารเหลว (liquid fermentation) เช่น การเลี้ยงแบคทีเรียให้เจริญในอาหารเหลว โดยพ่นอากาศเข้าไป (submerged cultivation) การเลี้ยงแบคทีเรียให้เจริญที่ผิวอาหารเหลว (surface culture) และการหมักบนอาหารแข็ง (solid-state fermentation) (บุษบา, 2540)

2.8 การควบคุมสภาวะระหว่างการเพาะเลี้ยง

2.8.1 อุณหภูมิ การเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ใดๆ ก็ตามเพื่อให้ได้ปริมาณมากจำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิให้เหมาะสมกับเชื้อนั้นๆ สำหรับแบคทีเรียแลคโตบาซิลลัสอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 37 – 40 องศาเซลเซียส

2.8.2 ระดับความเป็นกรดเป็นด่าง ถึงแม้แบคทีเรียแลคติกจะเจริญได้ที่ระดับความเป็นกรดเป็นด่าง ในช่วงค่อนข้างกว้าง (4 – 7.5) แต่ทั่วๆ ไปจะอยู่ในช่วงประมาณ 6 – 6.5 และเนื่องจากแบคทีเรียกลุ่มนี้จะเมแทบอลิซึมน้ำตาลเป็นกรดแลคติก ทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างของวัสดุลดลงอย่างรวดเร็วจึงจำเป็นต้องคอยปรับความเป็นกรดเป็นด่างให้สูงขึ้น การเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่เป็นกรดนั้นนอกจากการเจริญจะช้าลงแล้วยังมีผลต่อการอยู่รอดของเชื้อในขณะเก็บ เมื่ออยู่ในสภาวะเป็นกรดมากๆ (นภา, 2534)

โปรไบโอติก (Probiotic)

วีเชียร (2541) โดยปกติมนุษย์และสัตว์ในสภาพร่างกายปกติ จะมีจุลินทรีย์อาศัยอยู่ในร่างกายเป็นจำนวนมาก จุลินทรีย์เหล่านี้จะทำหน้าที่ป้องกันอันตราย และคอยรักษาความสมดุลย์ของร่างกายอยู่เสมอ แต่เมื่อใดก็ตามที่จุลินทรีย์ดังกล่าวถูกรบกวนจากปัจจัยต่างๆ ทั้งที่ตั้งใจหรือไม่ตั้งใจของมนุษย์และสัตว์ เช่น การบริโภคอาหารไม่ครบห้าหมู่ ความเครียดและการใช้ยาปฏิชีวนะโดยไม่จำเป็น ซึ่งสภาพแวดล้อมในปัจจุบัน โอกาสที่มนุษย์และสัตว์จะได้รับการรบกวนจากปัจจัยดังกล่าวย่อมมีมากขึ้น เพื่อเป็นการรักษาสุขภาพความสมดุลย์ของจุลินทรีย์ภายในร่างกายมนุษย์และสัตว์ จึงจำเป็นต้องได้รับ โปรไบโอติก เพื่อให้มีชีวิตอยู่อย่างปกติสุข

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภารารัตน์ (2542) กล่าวไว้ว่า คำว่า โพรไบโอติก (probiotic) ได้ถูกนำมาใช้เป็นครั้งแรกใน รายงานการวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และ Stillwell ในปี 1965 เพื่อกล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ ชนิดหนึ่งขับออกมา และช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการ ทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์เกือบทุกชนิด และคำจำกัดความล่าสุดซึ่งเสนอโดย Fuller (1992) ที่อธิบายคำว่าโพรไบโอติก คือ อาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อประโยชน์กับร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มีอาศัยอยู่ (host) โดยการ ปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้ จนในที่สุดปี 1992 Havenaar และ Veid ได้ขยายคำจำกัด ความของโพรไบโอติก ว่าเป็นอาหารเสริมซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิต สามารถก่อให้เกิดประโยชน์ ของร่างกายสิ่งมีชีวิตที่มีอาศัยอยู่ (host) ทำให้เกิดการปรับสมดุลของจุลินทรีย์ที่อาศัยในลำไส้ เจ้าบ้าน โดยมีเพียงจุลินทรีย์ชนิดเดียวหรือมีส่วนประกอบของจุลินทรีย์หลายชนิดอยู่ในรูปของ เซลล์ที่ระเหิดแห้ง (freeze dried cells) หรืออยู่ในรูปผลิตภัณฑ์หมัก ซึ่งนอกจากจะไปส่งเสริมการ เจริญเติบโตแล้ว ยังคงทำให้คนและสัตว์มีสุขภาพดีขึ้น

เนื่องจากแบคทีเรียในกลุ่ม lactic acid bacteria ได้รับการพิจารณาว่าเป็น GRAS (generally recognized as safe organisms) คือมีความปลอดภัยสูงต่อคนและสัตว์ ดังนั้นการ นำแบคทีเรียชนิดนี้มาเป็นโพรไบโอติกในสัตว์น้ำจึงมีความปลอดภัย และเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม แม้ว่ายังไม่มีรายงานว่าสามารถแยกแบคทีเรียชนิดนี้ได้จากตัวกุ้งก็ตาม อาจเป็นเพราะยังไม่มีผู้ที่ ศึกษารายละเอียด เพราะการแยกแบคทีเรียชนิดนี้อาจต้องใช้เวลา และประสบการณ์ในการ หาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับแบคทีเรียกลุ่มนี้ (พิกุล, 2543)

พิกุล (2543) ทดลองเลี้ยงกุ้งในถังทดลองขนาดเล็ก โดยให้อาหารผสมแบคทีเรียกลุ่ม แลคติกแอซิดแบคทีเรีย 3 ชนิด *Pediococcus* sp., *Lactobacillus* (L5), *Lactobacillus* (L450) และอาหารปกติในกลุ่มควบคุม โดยเริ่มการทดลองในแต่ละกลุ่มเลี้ยงกุ้งจำนวนเท่ากัน 100 ตัว และตรวจสอบอัตราการรอดของกุ้งวันที่ 20, 40 และ 60 ของการทดลอง ผลปรากฏว่า อัตราการรอดของ กุ้งในวันที่ 20 และ 40 ของการทดลองทั้ง 4 กลุ่มไม่มีความแตกต่างกัน แต่อัตราการรอดของกุ้งในวันที่ 60 ของการทดลอง ในกลุ่มอาหารที่ผสมแบคทีเรียกลุ่ม แลคติกแอซิดแบคทีเรียทั้ง 3 ชนิด มี อัตราการรอดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากกลุ่มควบคุมซึ่งเลี้ยงด้วยอาหารปกติ โดยมีอัตราการรอดสูง กว่า ซึ่งสอดคล้องกับชุดิมา (2540) ทำการทดสอบความสามารถของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ในการยับยั้งเชื้อ *Vibrio harveyi* โดยทดลองให้อาหารผสมเซลล์สด และเซลล์ แห้งแบบเยือกแข็งของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* แก่กุ้งกุลาดำเป็นเวลา 30 วัน จึง เหนี่ยวนำไปหัดเชื้อ *Vibrio harveyi* แล้วทำการตรวจนับเชื้อทั้งสองในลำไส้กุ้งทดลอง พบว่าในกลุ่มที่ให้อาหารผสมเซลล์สดของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* มีปริมาณเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lactobacillus acidophilus ในลำไส้สูงสุดและสามารถควบคุมปริมาณเชื้อ *Vibrio harveyi* ให้มีจำนวนลดลงในลำไส้ก่อนกลุ่มทดลองอื่นๆ

1. การทำงานของแบคทีเรียโปรไบโอติก

1.1 ควบคุมและลดปริมาณเชื้อโรคในลำไส้

1.1.1 ไปแย่งเบียดบังพื้นที่ และสารอาหารของเชื้อโรค ทำให้เชื้อโรคไม่สามารถเจริญเติบโต (Competitive exclusion) โดยจุลินทรีย์โปรไบโอติกเพิ่มจำนวนได้ดี ทำให้เชื้อโรคเข้าเกาะกับผนังลำไส้เจ้าบ้านได้ยาก

1.1.2 โปรไบโอติกสร้างสารคล้ายยาปฏิชีวนะออกมา เพื่อยับยั้งหรือทำลาย (Production of antibiotic like substances)

1.1.3 สร้างกรดอินทรีย์ จึงเกิดการสะสมกรดอินทรีย์ในลำไส้ ทำให้ลำไส้มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง (Production of organic acid) ซึ่งมีผลต่อกระบวนการเจริญเติบโตของเชื้อโรค โดยยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิซึมที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของมัน (ไม่ปรากฏผู้แต่ง, 2541)

1.1.4 ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ที่ก่อโรคได้ โดยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่สร้างจากโปรไบโอติกแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ทำให้ความเป็นกรดเป็นด่างภายในและภายนอกเซลล์ลดลง (ชุตินา, 2540)

1.2 กระตุ้นการเจริญเติบโต

องค์ประกอบของสารโปรไบโอติกมีจุลินทรีย์บางตัว สามารถสร้างน้ำย่อยทำให้การดูดซึมสารอาหารมีประสิทธิภาพสูงเช่นแบคทีเรียในกลุ่ม Lactic acid bacteria (ชุตินา, 2540)

1.3 การกระตุ้นภูมิคุ้มกันต้านทานโรค

เมื่อแบคทีเรียโปรไบโอติกเข้าไปเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหารกึ่ง จะมีคุณสมบัติเหมือนสิ่งแปลกปลอม ระบบภูมิคุ้มกันต้านทานโรคแบบไม่เจาะจง (Non-specific) ของกึ่งจะได้รับสัญญาณเตือนจากนั้นก็มีการกระตุ้นให้เม็ดเลือดขาวมีความไวต่อการทำลายเชื้อโรคมมากขึ้น เมื่อมีเชื้อโรคเข้าสู่ทางเดินอาหารกึ่งก็จะถูกทำลาย นอกจากนี้ปริมาณเม็ดเลือดขาวก็จะถูกสร้างเพิ่มขึ้นและกระจายไปทั่วร่างกาย พร้อมจะทำลายเชื้อโรค

2. ข้อจำกัดในการใช้โปรไบโอติกแบคทีเรีย

2.1 ความเค็ม แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบัน มีเพียงสายพันธุ์เดียวหรือชนิดเดียว ซึ่งจะทนอยู่ในช่วงความเค็มที่จำเพาะกับสายพันธุ์นั้นๆ ยกเว้นบางบริษัทที่ในผลิตภัณฑ์มีหลายสายพันธุ์ บางชนิดเป็นกลุ่มที่เจริญได้ดีในความเค็มต่ำบางชนิดเจริญและย่อยสลายได้ดีในความเค็มปานกลาง เช่น ประมาณ 20 ส่วนในพัน สูงขึ้นมาก็ประมาณ 30 - 35 ส่วนในพัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 สภาพการจัดการบ่อ ถ้าเป็นบ่อที่มีการให้อากาศแบบสมบูรณ์ อากาศถ่ายเทสะดวก และมีออกซิเจนเพียงพอ แบคทีเรียจะทำงานได้ดี เพราะแบคทีเรียที่พัฒนาขึ้นมาใช้ในช่วงนี้ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ เป็นกลุ่มแอโรบิกแบคทีเรีย บางครั้งก่อนใส่แบคทีเรียอาจจำเป็นต้องจัดการขจัดก๊าซพิษออกเสียก่อน ซึ่งเป็นสิ่งที่จำเป็นมาก เพราะแบคทีเรียจะไม่สามารถเจริญได้ ในสภาพที่ก้นบ่อเป็นพิษหรือมีผลิตภัณฑ์เป็นพิษ เช่น แอมโมเนีย ไฮโดรเจนซัลไฟด์ หรือมีเทน เป็นต้น และทำให้สิ้นเปลืองโดยเปล่าประโยชน์

2.3 อย่าใช้ร่วมกับยาฆ่าเชื้อ ถ้ามีการใช้สารเคมี เช่น คลอรีน ฟอรัมาลินหรือไฮโอดีน เป็นต้น ในระหว่างการเลี้ยงจำเป็นต้องใช้ในระยะเวลาที่ปลอดสารพิษ ไม่ควรใส่สารเคมีเหล่านี้พร้อมกับแบคทีเรีย อาจทำให้แบคทีเรียตายได้เพราะพิษของสารเคมีไม่เกิดประโยชน์ในการใช้แบคทีเรีย (กิจการ, 2540)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* สายพันธุ์ รหัส TISTR 450
2. เชื้อ *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ 1526
3. กากน้ำตาล (molass)
4. รำละเอียด
5. อาหารกุ้ง
6. นมสด
7. อาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (Tryptone Soy Agar) MRS (Man Rogosa Sharpe) และ TCBS

(Thiosulphate-Citrate-Bile salt-Sucrose agar)

8. กุ้งกุลาดำระยะโพลลาวา 15
9. เครื่องแก้วสำหรับเลี้ยงเชื้อและเจือจางเชื้อ
10. เครื่องวัดความเป็นกรดเป็นด่าง (pH meter)
11. ไมโครปิเปตต์ (Micropipette)
12. เครื่องแก้วปรับปริมาตร
13. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar Flow)
14. ตู้บ่มเชื้อ (Incubater)
15. เครื่องวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสง (Spectrophotometer)
16. เครื่องปั่นเหวี่ยงตกตะกอนความเร็วสูง (Centrifuge)
17. หม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave)
18. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)
19. เครื่องกวนสาร (Magnetic Stirrer)

วิธีการ

แผนการทดลอง

การทดลองที่ 1 การหาปริมาณเชื้อจากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ มีการวางแผนการทดลองเป็นแบบ CRD ซึ่งเป็นการทดลองใช้วัสดุ 4 ชนิด ที่ความเข้มข้นหลายระดับในการเพาะเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ให้มีปริมาณเชื้อสูงสุด โดยในแต่ละชุดการทดลองแบ่งเป็น 2 ซ้ำ และในแต่ละชุดการทดลองแบ่งได้ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 การทดลองใช้กากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ชุดการทดลองที่ 2 การทดลองใช้กากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์
- ชุดการทดลองที่ 3 การทดลองใช้กากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์
- ชุดการทดลองที่ 4 การทดลองใช้กากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์
- ชุดการทดลองที่ 5 การทดลองใช้อาหารกึ่งที่ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์
- ชุดการทดลองที่ 6 การทดลองใช้อาหารกึ่งที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์
- ชุดการทดลองที่ 7 การทดลองใช้รำละเอียดที่ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์
- ชุดการทดลองที่ 8 การทดลองใช้รำละเอียดที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์
- ชุดการทดลองที่ 9 การทดลองใช้นมสดที่ความเข้มข้น 12.5 เปอร์เซ็นต์
- ชุดการทดลองที่ 10 การทดลองใช้นมสดที่ความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์
- ชุดการทดลองที่ 11 การทดลองใช้นมสดที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์
- ชุดการทดลองที่ 12 การทดลองใช้อาหารกึ่งที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 การหาปริมาณเชื้อ จากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อผสม

มีการวางแผนการทดลองเป็นแบบ CRD ซึ่งเป็นการทดลองนำวัสดุแต่ละชนิดจากการทดลองที่ 1 ที่มีเปอร์เซ็นต์ ความเข้มข้นที่สามารถเพาะเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ได้ปริมาณสูงสุด และใช้ปริมาณต่ำที่สุด มาผสมรวมกันตามอัตราส่วนแต่ละชนิดเป็นวัสดุผสมเพื่อเพาะเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* โดยในแต่ละชุดการทดลองแบ่งเป็น 3 ซ้ำ และในแต่ละชุดการทดลองแบ่งได้ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 การทดลองใช้กากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์กับนมสดที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์

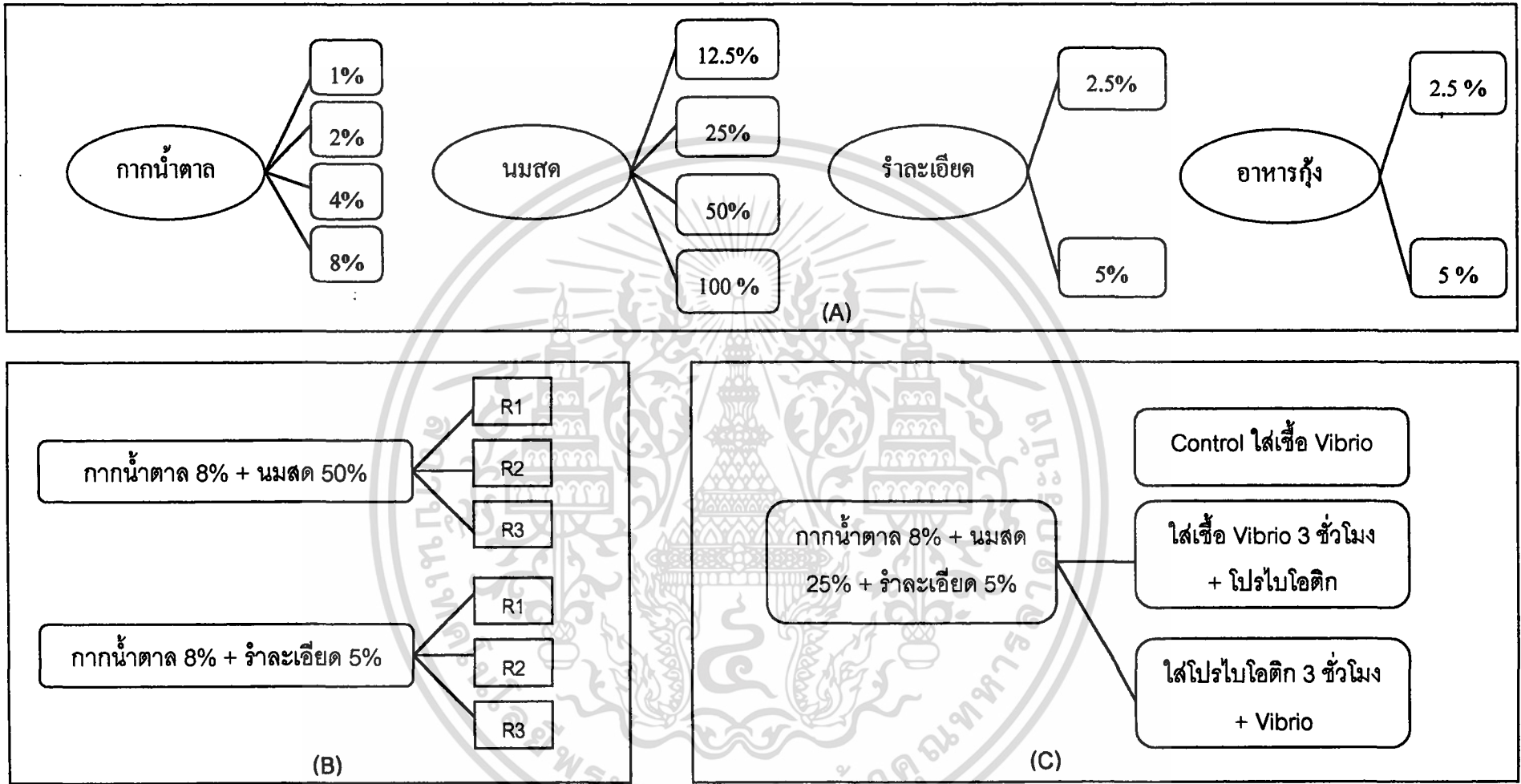
ชุดการทดลองที่ 2 การทดลองใช้กากน้ำตาลที่ความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์กับรำละเอียดที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 3 การวัดประสิทธิภาพของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ที่ได้จากการเพาะในวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อเป็นโปรไบโอติกในกึ่งกุลาดำ

มีการวางแผนการทดลองเป็นแบบ CRD ซึ่งเป็นการทดลองนำวัสดุผสมในอัตราส่วนที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 2 มาผสมกันนำมาเพาะเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ใช้เป็นโปรไบโอติกเพื่อนำไปทดลองประสิทธิภาพในกึ่งกุลาดำระยะโพลลาว่า 15 ที่มีการเหนียวทำให้เกิดโรคแบคทีเรียเรื้อรังแล้วเปรียบเทียบกับอัตราการรอดตายของกึ่ง และนับเชื้อในตัวกึ่ง โดยมีการทดลองแบ่งเป็น 4 ซ้ำ การทดลองนี้ใช้เวลาในการทดลองเป็นเวลา 3 วัน

ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม ใส่เชื้อ *Vibrio harveyi*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แผนภาพการทดลองแบบ CRD : (A) การทดลองที่ 1 (B) การทดลองที่ 2 และ (C) การทดลองที่ 3

ชุดการทดลองที่ 2 ใส่เชื้อ *Vibrio harveyi* 3 ชั่วโมงก่อนใส่โปรไบโอติก

ชุดการทดลองที่ 3 ใส่โปรไบโอติกก่อน 3 ชั่วโมงแล้วใส่เชื้อ *Vibrio harveyi*

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การหาปริมาณเชื้อจากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ

1. การเตรียมวัสดุในการเพาะเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ดังนี้

1.1 กากน้ำตาล เตรียมกากน้ำตาลที่มี ความเข้มข้น 1, 2, 4 และ 8 เปอร์เซ็นต์ลงในน้ำประปา (น้ำหนักต่อปริมาตร) และในแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยใส่ในขวดแก้วขวดละ 100 มิลลิลิตร ทุกความเข้มข้น แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งภายใต้ความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วใส่เชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยเชื้อที่ใส่ปรับค่าดูดกลืนคลิ่นแสงเท่ากับ 1 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร แล้วนำไปเข้าตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส

1.2 นมสด เตรียมนมสดที่มี ความเข้มข้น 12.5, 25, 50 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำประปา (ปริมาตรต่อปริมาตร) ในแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยใส่ในขวดแก้วขวดละ 100 มิลลิลิตร ทุกความเข้มข้น แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งภายใต้ความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วใส่เชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยเชื้อที่ใส่ปรับค่าดูดกลืนคลิ่นแสงเท่ากับ 1 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร แล้วนำไปเข้าตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส

1.3 รำละเอียด เตรียมรำความเข้มข้น 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำประปา (น้ำหนักต่อปริมาตร) และในแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยใส่ในขวดแก้วขวดละ 100 มิลลิลิตร ทุกความเข้มข้น แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งภายใต้ความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วใส่เชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยเชื้อที่ใส่ปรับค่าดูดกลืนคลิ่นแสงเท่ากับ 1 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร แล้วนำไปเข้าตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส

1.4 อาหารกุ้ง เตรียมอาหารกุ้งความเข้มข้น 2.5 และ 5 เปอร์เซ็นต์ ในน้ำประปา (น้ำหนักต่อปริมาตร) และในแต่ละความเข้มข้นทำการทดลอง 2 ซ้ำ โดยใส่ในขวดแก้วขวดละ 100 มิลลิลิตร ทุกความเข้มข้น แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งภายใต้ความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วใส่เชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยเชื้อที่ใส่ปรับค่าดูดกลืนคลิ่นแสงเท่ากับ 1 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร แล้วนำไปเข้าตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส

2. การตรวจหาปริมาณเชื้อและวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ทำการตรวจนับเชื้อด้วยวิธีการเจือจางเป็นสารละลาย (plate dilution) โดยการเก็บตัวอย่างจากวัสดุเพาะเลี้ยงแต่ละชนิดและความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทุกซ้ำ มาเจือจางใน สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ได้สารละลายเจือจาง 10 เท่า เจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้ว นำมาสารละลายมานับเชืบบนอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์เอส (MRS : Man, Rogosa, Sharpe) และอาหารเลี้ยงเชื้อทีเอสเอ (TSA) ด้วยการหยดลงบนอาหาร (drop plate) โดยใช้ไมโครปิเปต (micropipette) และวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างด้วยเครื่องวัด (pH meter) ตรวจนับเชื้อ และค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ 24 และ 48 ชั่วโมง

การทดลองที่ 2 การหาปริมาณเชื้อ จากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อผสม

1. การเตรียมวัสดุผสมในการเพาะเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ดังนี้

1.1 เตรียมวัสดุผสมระหว่าง กากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ร่วมกับนมสด 50 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใส่ในขวดแก้ว แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งภายใต้ความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วใส่เชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยเชื้อที่ใส่ปรับค่าดูดกลืนคลีนแสงเท่ากับ 1 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร แล้วนำไปเข้าตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส

1.2 เตรียมวัสดุผสมระหว่าง กากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ร่วมกับรำ 5 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยใส่ในขวดแก้ว แล้วนำไปฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งภายใต้ความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วใส่เชื้อปริมาตร 100 ไมโครลิตร โดยเชื้อที่ใส่ปรับค่าดูดกลืนคลีนแสงเท่ากับ 1 ที่ความยาวคลื่น 625 นาโนเมตร แล้วนำไปเข้าตู้บ่มควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส

2. การตรวจหาปริมาณเชื้อและวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่าง ทำการตรวจนับเชื้อด้วยวิธีการเจือจางเป็นสารละลาย (plate dilution) โดยการเก็บตัวอย่างจากวัสดุเพาะเลี้ยงแต่ละชนิดและความเข้มข้นปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทุกซ้ำ มาเจือจางใน สารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 0.85 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ได้สารละลายเจือจาง 10 เท่า เจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้ว นำมาสารละลายมานับเชืบบนอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์เอส (MRS : Man, Rogosa, Sharpe) และอาหารเลี้ยงเชื้อทีเอสเอ (TSA) ด้วยการหยดลงบนอาหาร (drop plate) โดยใช้ไมโครปิเปต (micropipette) และวัดค่าความเป็นกรดเป็นด่างด้วยเครื่องวัด (pH meter) ตรวจนับเชื้อ และค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ 24 และ 48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทดลองที่ 3 การวัดประสิทธิภาพของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ที่ได้จากการเพาะจากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกในกุ้งกุลาดำ

1. การเตรียมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกจากวัสดุผสมที่ได้จากการทดลองคือกากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ร่วมกับนมสด 25 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ร่วมกับรำละเอียด 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) บ่มเพาะเชื้อเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ที่มีปริมาณความเข้มข้นของเชื้อประมาณ 10^9 CFUs/mL

2. การเตรียมสัตว์ทดลองและภาวะในการทดลอง

2.1 สัตว์ทดลอง ใช้ลูกกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 จำนวน 100 ตัวต่อโหลแก้ว ปริมาตรน้ำ 500 มิลลิลิตร ซึ่งมีจำนวน 12 โหล

2.2 การเตรียมน้ำในการทดลอง เตรียมน้ำให้มีความเค็มที่ 30 ส่วนในพัน

2.3 ชนิดของอาหาร ใช้อาหารผงซึ่งเป็นอาหารสำเร็จรูปที่มีขายตามท้องตลาดทั่วไป

3. การดำเนินการทดลอง

3.1 ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม ใส่เชื้อ *Vibrio harveyi*

นำน้ำที่มีความเค็ม 30 ส่วนในพัน ใส่ลงในโหลแก้วปริมาตร 500 มิลลิลิตร นับลูกกุ้งจำนวน 100 ตัว ใส่ลงในโหลจำนวน 4 โหล โดยใส่เชื้อ *Vibrio harveyi* โดยปรับให้มีความเข้มข้นของปริมาณเชื้อ 10^5 CFUs/mL ลงไป 1 มิลลิลิตร ให้อากาศและอาหารตามปกติ

3.2 ชุดการทดลองที่ 2 ใส่เชื้อ *Vibrio harveyi* 3 ชั่วโมงก่อนใส่โปรไบโอติก

นำน้ำที่มีความเค็ม 30 ส่วนในพัน ใส่ลงในโหลแก้วปริมาตร 500 มิลลิลิตร นับลูกกุ้งจำนวน 100 ตัว ใส่ลงในโหลจำนวน 4 โหล โดยใส่เชื้อ *Vibrio harveyi* โดยปรับให้มีความเข้มข้นของปริมาณเชื้อ 10^5 CFUs/mL ลงไป 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมงแล้วใส่เชื้อ เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ที่ได้จากการเพาะจากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อ 250 ไมโครลิตร ให้อากาศและอาหารตามปกติ

3.3 ชุดการทดลองที่ 3 ใส่โปรไบโอติก 3 ชั่วโมงก่อนใส่เชื้อ *Vibrio harveyi*

นำน้ำที่มีความเค็ม 30 ส่วนในพัน ใส่ลงในโหลแก้วปริมาตร 500 มิลลิลิตร นับลูกกุ้งจำนวน 100 ตัว ใส่ลงในโหลจำนวน 4 โหล โดยใส่เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ที่ได้จากการเพาะจากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อ 250 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 3 ชั่วโมงแล้วใส่เชื้อ *Vibrio harveyi* โดยปรับให้มีความเข้มข้นของปริมาณเชื้อ 10^5 CFUs/mL ลงไป 1 มิลลิลิตร ให้อากาศและอาหารตามปกติ

3.4 การตรวจนับกุ้งและหาปริมาณเชื้อในน้ำที่เลี้ยงกุ้ง

เก็บน้ำตัวอย่างมาไหลละ 1 มิลลิลิตร (หลังจากใส่เชื้อ) มาหาปริมาณเชื้อด้วยวิธีการเจือจางเป็นสารละลาย (plate dilution) ทำการเจือจางใน สารละลายโซเดียมคลอไรด์ 2 เปอร์เซ็นต์ ได้สารละลายเจือจาง 10 เท่า เจือจางจนได้ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้ว นำมาสารละลายมานับเชื้อบนอาหารเลี้ยงเชื้อเอ็มอาร์เอส (MRS : Man, Rogosa, Sharpe) และอาหารเลี้ยงเชื้อที่ซึบิเอส (Thiosulphate-Citrate-Bile salt-Sucrose agar) ด้วยการหยดลงบนอาหาร (drop plate) โดยใช้ไมโครปิเปต (micropipette) แล้วทำการนับจำนวนลูกกึ่งกลาดำที่รอดตายทุกไหลทุกวันทั้ง 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง เมื่อนับลูกกึ่งกลาดำแล้วให้นำกลับคืนใส่ไหลโดยคัดตัวที่ตายออก และกรองตะกอนออก

การบันทึกข้อมูล

การทดลองที่ 1 การหาปริมาณเชื้อจากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดความเข้มข้นต่างๆ

1. บันทึกข้อมูลปริมาณเชื้อที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง
2. บันทึกข้อมูลค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

การทดลองที่ 2 การหาปริมาณเชื้อที่ได้จากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อผสม

1. บันทึกข้อมูลปริมาณเชื้อที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง
2. บันทึกข้อมูลค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เวลา 24 และ 48 ชั่วโมง

การทดลองที่ 3 การวัดประสิทธิภาพของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ที่ได้จากการเพาะจากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกในกึ่งกลาดำ

1. บันทึกอัตราการรอดตายของลูกกึ่งกลาดำ ที่เวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากแต่ละชุดการทดลองมาวิเคราะห์ และประเมินผลทางสถิติด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์ Microsoft excel version 1997

สถานที่ทำการทดลอง

หน่วยปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพทางทะเล ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีทางชีวภาพแห่งชาติ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ทางทะเล คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เขตปทุมธานี กรุงเทพฯ 10330

ระยะเวลาที่ใช้ในการทดลอง

ระยะเวลาในการทดลอง 3 เดือน ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2543 - มิถุนายน 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

การทดลองที่ 1 การหาปริมาณเชื้อจากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ

1. กากน้ำตาล

จากการทดลองพบว่า ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในกากน้ำตาล ที่เวลา 24 ชั่วโมง ในทุกระดับความเข้มข้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยที่ความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด และที่เวลา 48 ชั่วโมง โดยที่ความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับที่ความเข้มข้น 1, 2 และ 4 เปอร์เซ็นต์ สอดคล้องกับค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่ลดลงอย่างรวดเร็ว ซึ่งเกิดจากการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* ใช้ น้ำตาลซูโคสที่มีอยู่ในกากน้ำตาลเกิดกรดแลคติกขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง (ตารางที่ 1, ภาพที่ 2 และ 3)

ตารางที่ 1 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* (CFUs/mL) ในกากน้ำตาลบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

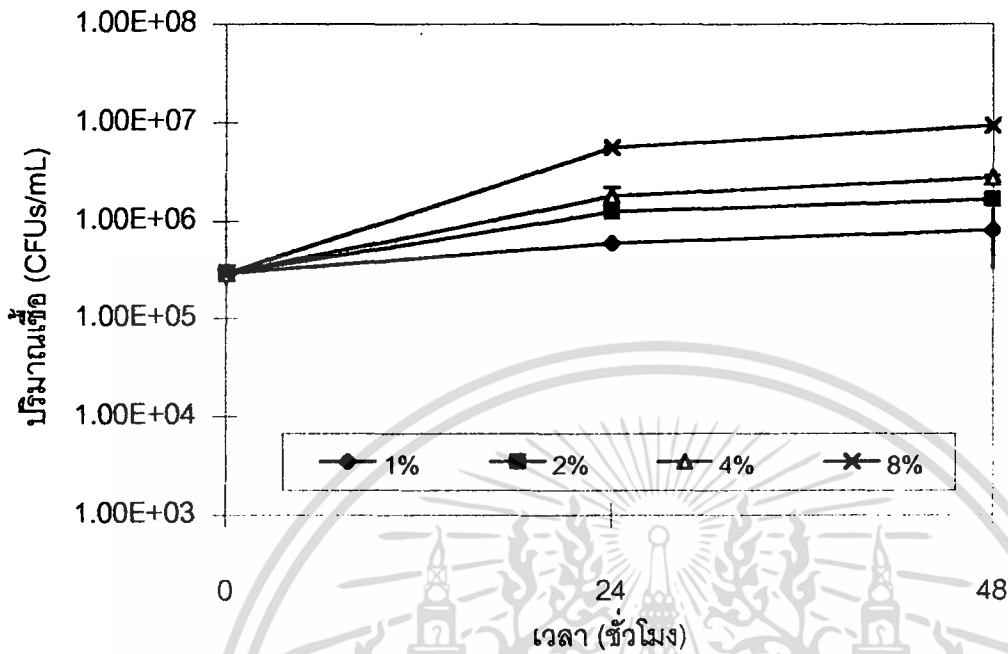
ความเข้มข้น (น้ำหนักต่อปริมาตร)	24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง	
	ปริมาณเชื้อ (CFUs/mL)	pH	ปริมาณเชื้อ (CFUs/mL)	pH
1 %	$5.90 \times 10^5 \pm 5.00 \times 10^4$ ^a	6.21	$8.03 \times 10^5 \pm 4.77 \times 10^5$ ^a	6.15
2 %	$1.25 \times 10^6 \pm 1.00 \times 10^4$ ^b	6.39	$1.65 \times 10^6 \pm 9.00 \times 10^4$ ^a	5.56
4 %	$1.81 \times 10^6 \pm 3.90 \times 10^5$ ^{abc}	5.48	$2.76 \times 10^6 \pm 1.25 \times 10^5$ ^b	4.87
8 %	$3.30 \times 10^6 \pm 6.00 \times 10^4$ ^c	4.89	$5.65 \times 10^6 \pm 1.70 \times 10^5$ ^c	4.53

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)

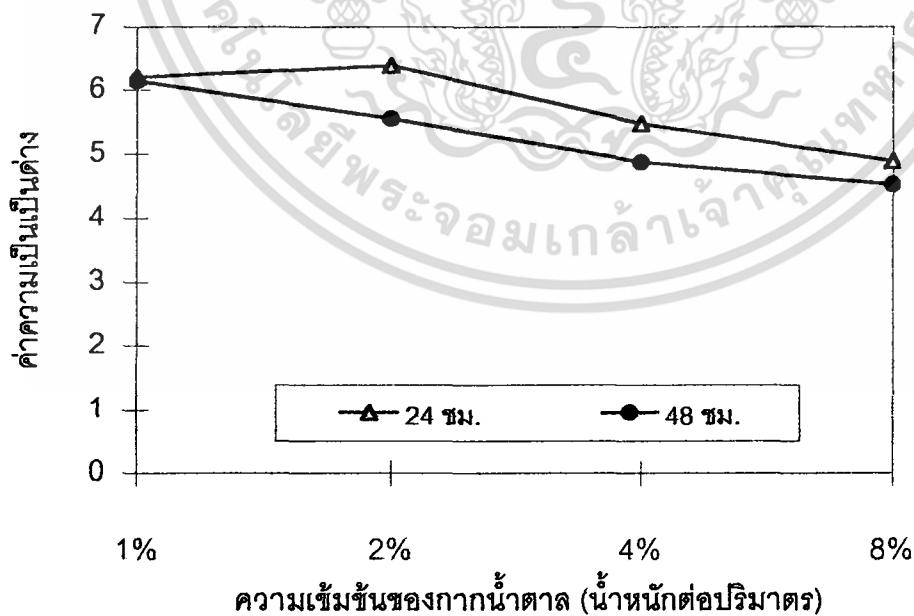
2. นมสด

จากการทดลองพบว่า ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในนมสด ที่เวลา 24 ชั่วโมง ในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด และที่เวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งที่ความเข้มข้น 100 50 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับที่ความเข้มข้น 12.5 เปอร์เซ็นต์ โดยที่ความเข้มข้น 100 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในกากน้ำตาลบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL)



ภาพที่ 3 ค่าความแตกต่างของกากน้ำตาลที่เพาะเลี้ยงเชื้อ *L. acidophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สอดคล้องกับความเป็นกรดเป็นด่างของนมสดที่ลดลงอย่างรวดเร็ว (ตารางที่ 2, ภาพที่ 4 และ 5) ซึ่งเกิดจากการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* เพิ่มปริมาณขึ้นพร้อมกับใช้น้ำตาลแลคโตสในนมสด และการย่อยสลายโปรตีนในนมสดเกิดกรดอะมิโนขึ้น ทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง

ตารางที่ 2 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* (CFUs/mL) ในนมสดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

ความเข้มข้น (ปริมาตรต่อปริมาตร)	24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง	
	ปริมาณเชื้อ (CFUs/mL)	pH	ปริมาณเชื้อ (CFUs/mL)	pH
12.50 %	$9.90 \times 10^7 \pm 1.50 \times 10^7$ ^a	5.87	$2.85 \times 10^8 \pm 9.75 \times 10^7$ ^a	3.64
25 %	$1.54 \times 10^8 \pm 8.50 \times 10^6$ ^a	5.90	$4.82 \times 10^8 \pm 2.00 \times 10^7$ ^b	3.82
50 %	$1.94 \times 10^8 \pm 1.60 \times 10^7$ ^a	5.97	$7.56 \times 10^8 \pm 1.02 \times 10^8$ ^b	4.16
100 %	$2.86 \times 10^8 \pm 2.20 \times 10^7$ ^a	5.97	$1.18 \times 10^9 \pm 9.65 \times 10^8$ ^b	4.40

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)

3. รำละเอียด

จากการทดลองพบว่า ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในรำละเอียด ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ทั้งสองความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด และที่เวลา 48 ชั่วโมง ในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด ส่วนค่าความเป็นกรดเป็นด่างค่อนข้างคงที่ (ตารางที่ 3 ภาพที่ 6 และ 7) เนื่องจากรำละเอียดไม่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ

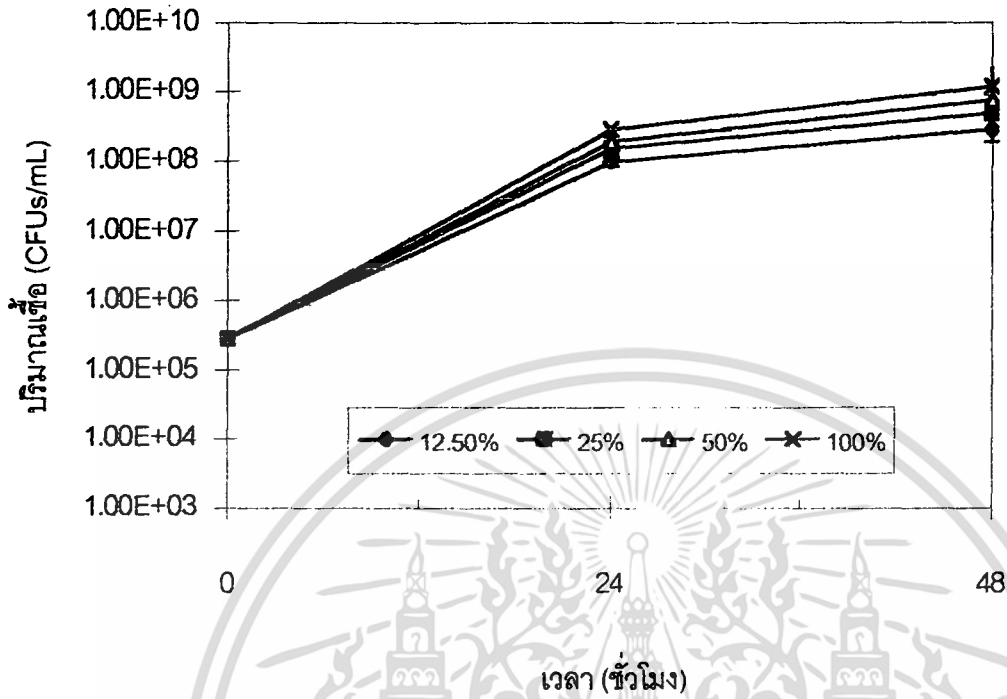
ตารางที่ 3 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* (CFUs/mL) ในรำละเอียดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

ความเข้มข้น (น้ำหนักต่อปริมาตร)	24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง	
	ปริมาณเชื้อ (CFUs/mL)	pH	ปริมาณเชื้อ (CFUs/mL)	pH
2.50 %	$6.29 \times 10^7 \pm 8.70 \times 10^6$ ^a	5.67	$1.16 \times 10^8 \pm 6.40 \times 10^7$ ^a	5.71
5 %	$1.15 \times 10^8 \pm 2.50 \times 10^6$ ^b	5.60	$2.70 \times 10^8 \pm 4.80 \times 10^7$ ^a	5.67

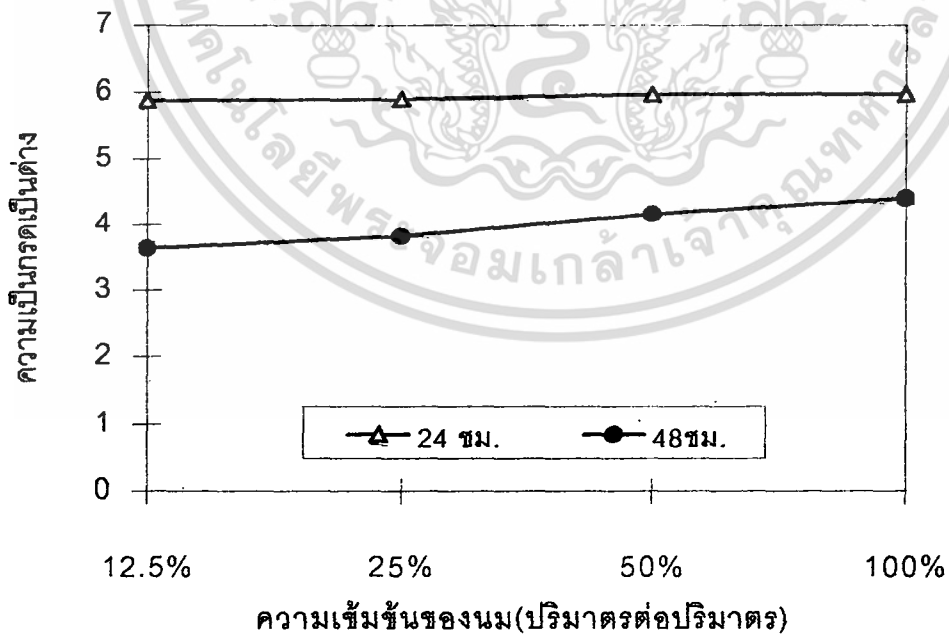
*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

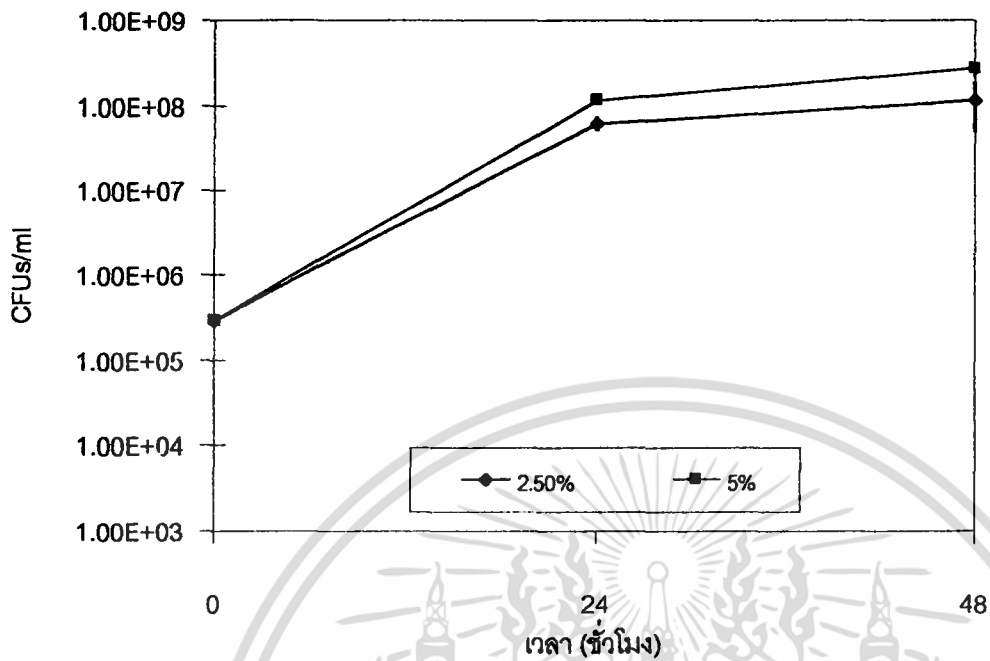


ภาพที่ 4 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในนมสดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL)

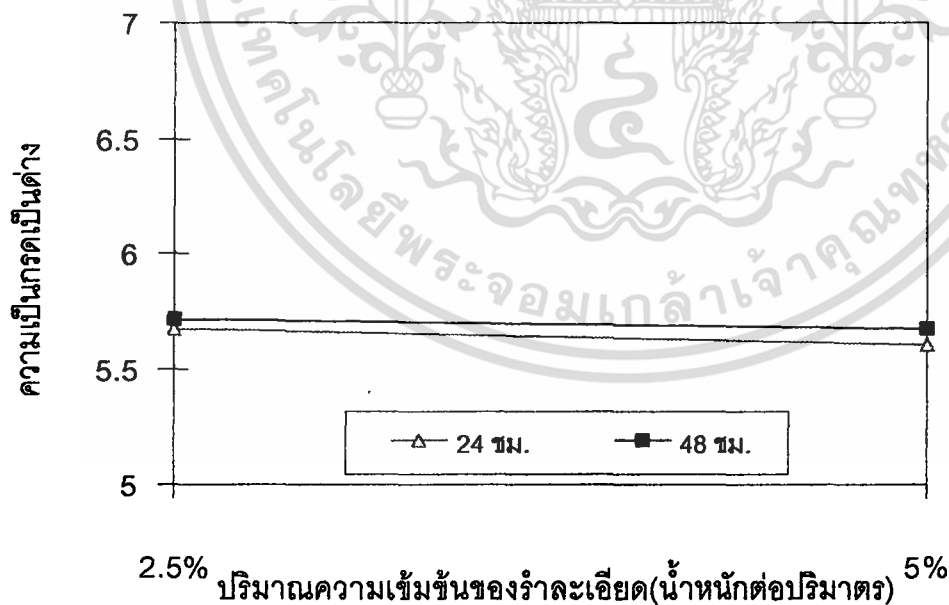


ภาพที่ 5 ค่าความแตกต่างของนมสดที่เพาะเลี้ยงเชื้อ *L. acidophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 6 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในรำละเอียดบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL)



ภาพที่ 7 ค่าความแตกต่างของรำละเอียดที่เพาะเลี้ยงเชื้อ *L. acidophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. อาหารกึ่ง

จากการทดลองพบว่า ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในอาหารกึ่ง ที่เวลา 24 ชั่วโมง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ในทุกความเข้มข้น โดยที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด และที่เวลา 48 ชั่วโมง ในทุกระดับความเข้มข้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) โดยความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด ส่วนค่าความเป็นกรดเป็นด่างค่อนข้างคงที่ (ตารางที่ 4 ภาพที่ 8 และ 9) เนื่องจากอาหารกึ่งไม่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบ

ตารางที่ 4 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* (CFUs/mL) ในอาหารกึ่งบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และ ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง

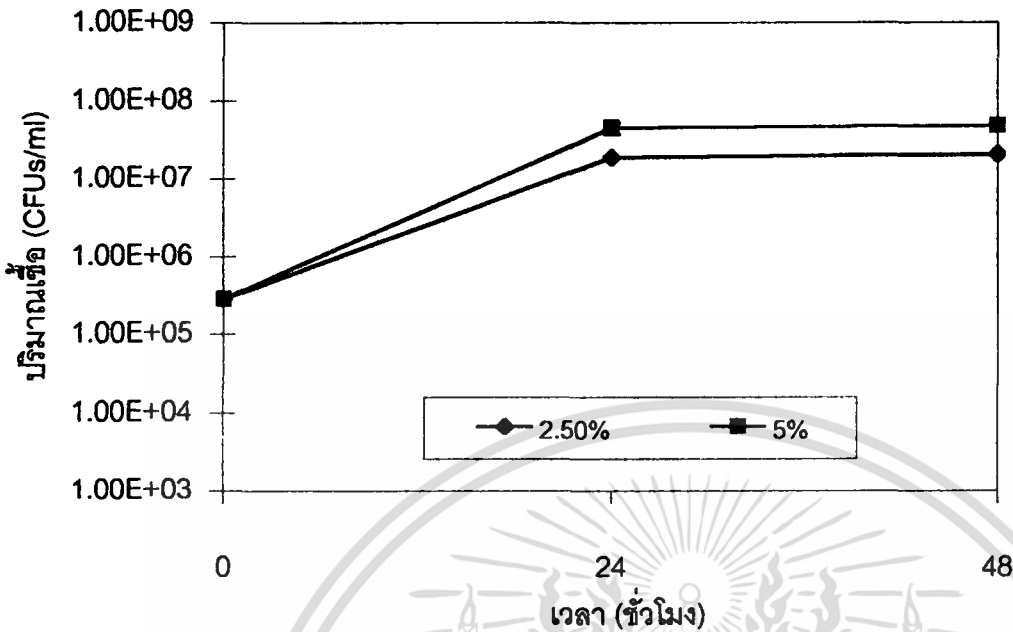
ความเข้มข้น (น้ำหนักต่อปริมาตร)	24 ชั่วโมง		48 ชั่วโมง	
	ปริมาณเชื้อ (CFUs/mL)	pH	ปริมาณเชื้อ (CFUs/mL)	pH
2.50 %	$1.88 \times 10^7 \pm 2.00 \times 10^5$ ^a	6.38	$2.08 \times 10^7 \pm 2.00 \times 10^5$ ^a	6.69
5 %	$4.40 \times 10^7 \pm 7.40 \times 10^6$ ^b	6.38	$4.76 \times 10^7 \pm 2.40 \times 10^6$ ^a	6.53

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)

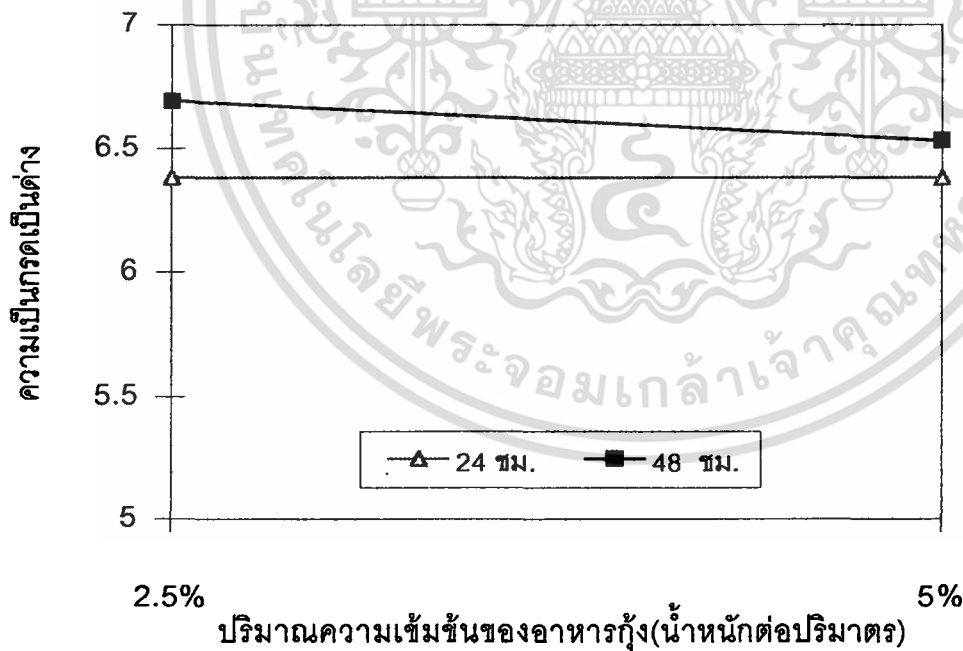
การทดลองที่ 2 การหาปริมาณเชื้อ จากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อผสม

จากการทดลองใช้กากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับนมสด 50 เปอร์เซ็นต์ และการใช้กากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับรำละเอียด 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ที่เวลา 24 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในทั้งสองอัตราส่วนของวัสดุเลี้ยงเชื้อ โดยอัตราส่วนของวัสดุเลี้ยงเชื้อที่ใช้กากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับนมสด 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด (ตารางที่ 5 และภาพที่ 10) และที่เวลา 48 ชั่วโมง พบว่าปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในทั้งสองอัตราส่วนของวัสดุเลี้ยงเชื้อ โดยอัตราส่วนของวัสดุเลี้ยงเชื้อที่ใช้กากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับนมสด 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด (ตารางที่ 6 และภาพที่ 10) สอดคล้องกับความเป็นกรดเป็นด่างที่ลดลงอย่างรวดเร็ว (ตารางที่ 6 และภาพที่ 11) ซึ่งเกิดจากการเจริญของเชื้อ *L. acidophilus* ใช้กากน้ำตาลซูโคสที่มีในกากน้ำตาล และน้ำตาลแลคโตสที่มีอยู่ในนม เกิดกรดแลคติกขึ้นทำให้ค่าความเป็นกรดเป็นด่างลดลง ในผลการทดลองจะเห็นได้ว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติระหว่างการใช้กากน้ำตาลเป็นวัสดุหลักร่วมกับนม และรำละเอียด ดังนั้นรำละเอียดสามารถใช้ทดแทนนมได้ในการเพาะเชื้อ ซึ่งจะช่วยลดต้นทุนในการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในอาหารกึ่งบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL)



ภาพที่ 9 ค่าความแตกต่างของอาหารกึ่งที่เพาะเลี้ยงเชื้อ *L. acidophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ผลการทดลองสอดคล้องกับ บุชบา (2540) กล่าวว่าวัสดุผสมสามารถใช้เพาะเชื้อได้มีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้วัสดุเพียงชนิดเดียว ในการทดลองที่ 1 เนื่องจากในวัสดุแต่ละชนิดขาดสารอาหารบางตัว เช่น กากน้ำตาลขาดกรดอะมิโน และปริมาณวิตามินต่ำ ส่วนรำละเอียดขาดแร่ธาตุ ทำให้การใช้วัสดุผสมโดยมีกากน้ำตาลเป็นหลักร่วมกับนมหรือรำละเอียด เชื้อ *L. acidophilus* สามารถนำสารอาหารที่มีอยู่ในวัสดุผสมซึ่งมีสารอาหารครบถ้วนไปใช้ในการเจริญของเชื้อได้ดีกว่าการใช้สารอาหารเพียงชนิดเดียว

ตารางที่ 5 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* (CFUs/mL) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เวลา 24 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	24 ชั่วโมง	pH
กากน้ำตาล 8 % ร่วมกับนม 50 %	$1.72 \times 10^9 \pm 3.43 \times 10^8$ ^a	5.82 ± 0.00
กากน้ำตาล 8 % ร่วมกับรำละเอียด 5 %	$8.59 \times 10^8 \pm 2.08 \times 10^7$ ^a	4.79 ± 0.01

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)

ตารางที่ 6 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* (CFUs/mL) บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS และค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เวลา 48 ชั่วโมง

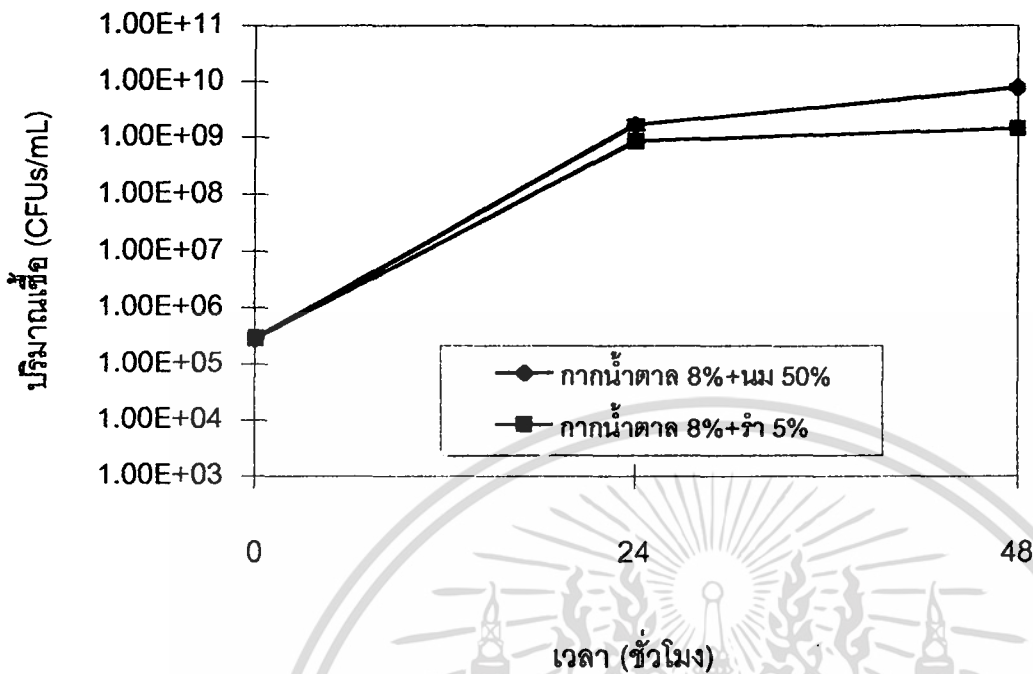
ชุดการทดลอง	48 ชั่วโมง	pH
กากน้ำตาล 8 % ร่วมกับนม 50 %	$7.79 \times 10^9 \pm 7.26 \times 10^8$ ^a	4.38 ± 0.03
กากน้ำตาล 8 % ร่วมกับรำละเอียด 5 %	$1.44 \times 10^9 \pm 6.43 \times 10^7$ ^a	4.40 ± 0.02

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวตั้ง หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)

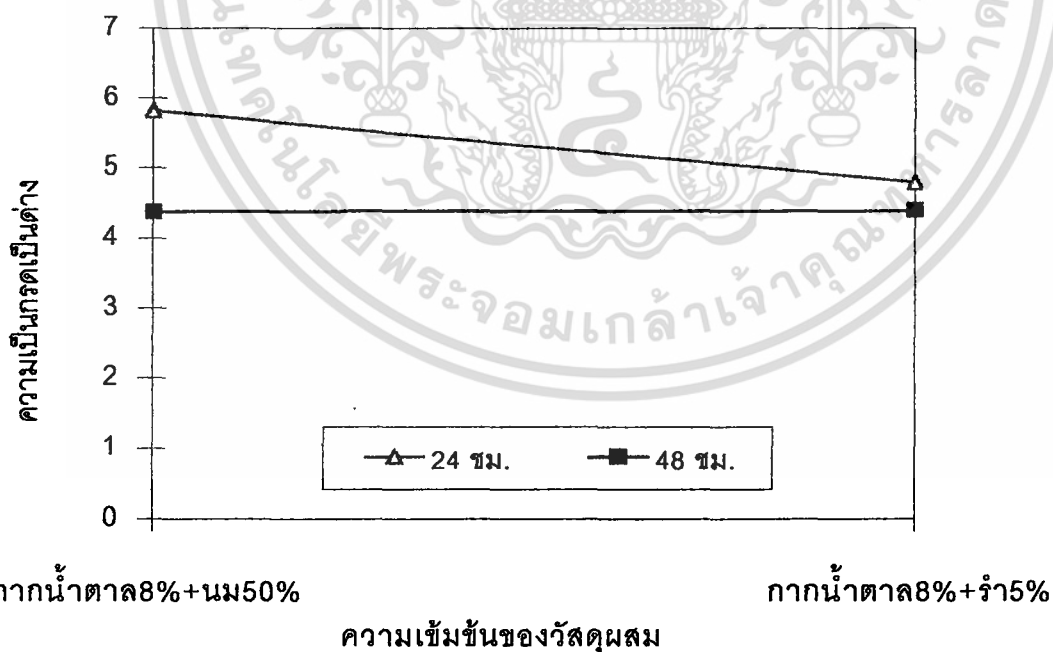
การทดลองที่ 3 การวัดประสิทธิภาพของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ที่ได้จากการเพาะจากวัสดุเพาะเลี้ยงเชื้อเพื่อใช้เป็นโปรไบโอติกในกึ่งอุตสาหกรรม

จากการทดลอง พบว่าอัตราการรอดตายของลูกกึ่งอุตสาหกรรม ที่เวลา 24 ชั่วโมง โดยกลุ่มที่ใส่ *V. harveyi* เพียงอย่างเดียวมีอัตราการรอดตายสูงที่สุด แต่อย่างไรก็ตามไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับทุกกลุ่มการทดลอง ที่เวลา 48 ชั่วโมง กลุ่มที่ใส่ *L. acidophilus* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดควบคุม โดยในกลุ่มที่ใส่ *L. acidophilus* ก่อนเป็นเวลา 3 ชั่วโมง มีอัตราการรอดตายของลูกกึ่งอุตสาหกรรมสูงที่สุด ที่เวลา 72 ชั่วโมง กลุ่มที่ใส่ *L. acidophilus* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในวัสดุผสมบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL)



ภาพที่ 11 ค่าความเข้มชั้นของวัสดุผสมที่เพาะเลี้ยงเชื้อ *L. acidophilus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

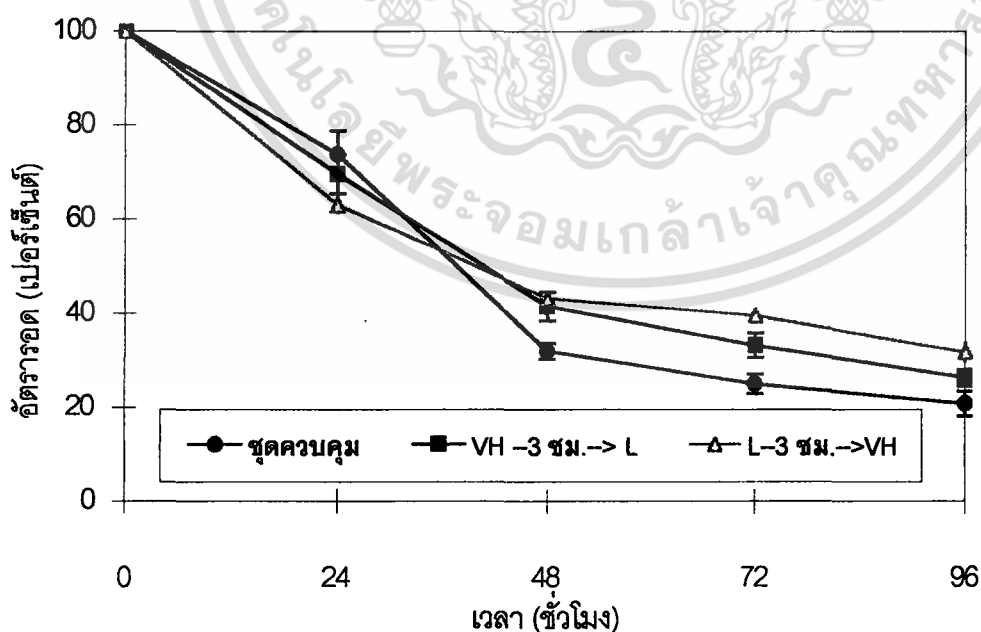
กับชุดควบคุม โดยในกลุ่มที่ใส่ *L. acidophilus* ก่อนเป็นเวลา 3 ชั่วโมง มีอัตราการรอดตายของลูกกุ้งกุลาดำสูงสุด และที่เวลา 96 ชั่วโมง กลุ่มที่ใส่ *L. acidophilus* มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดควบคุม โดยในกลุ่มที่ใส่ *L. acidophilus* ก่อนเป็นเวลา 3 ชั่วโมง มีอัตราการรอดตายของลูกกุ้งกุลาดำสูงสุด (ตารางที่ 7 และภาพที่ 12) เช่นเดียวกัน

ผลการทดลองสอดคล้องกับ Rengpipat (1997) ได้ทดลองให้โปรไบโอติกจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* S11 แก่กุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 ที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงด้วยเชื้อ *V. harveyi* พบว่าอัตราการรอดของกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้เชื้อ *V. harveyi* เพียงอย่างเดียว

ตารางที่ 7 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 (เปอร์เซ็นต์) ในแต่ละชุดการทดลอง

ชุดการทดลอง	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง	72 ชั่วโมง	96 ชั่วโมง
ชุดควบคุม	73.75 ± 5.04 ^a	32.00 ± 1.69 ^a	25.00 ± 2.04 ^a	20.75 ± 2.72 ^a
ใส่เชื้อ <i>V. harveyi</i> ก่อน 3 ชม.	69.50 ± 4.18 ^a	41.50 ± 3.12 ^b	33.25 ± 2.66 ^b	26.25 ± 1.80 ^b
ใส่เชื้อ <i>L. acido</i> ก่อน 3 ชม.	63.00 ± 1.64 ^a	43.25 ± 1.11 ^b	39.50 ± 0.87 ^b	31.75 ± 1.93 ^b

*ตัวอักษรเหมือนกันในแนวดิ่ง หมายถึง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ความเชื่อมั่น 95% ($P > 0.05$)



ภาพที่ 12 อัตรารอดของกุ้งกุลาดำระยะโพสลาวา 15 ในแต่ละชุดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุป

จากการหาปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* จากวัสดุแต่ละชนิดที่ความเข้มข้นต่างๆ พบว่าเชื้อ *L. acidophilus* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในกากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ นมสด 100 เปอร์เซ็นต์ รำละเอียด 5 เปอร์เซ็นต์ และอาหารกุ้ง 5 เปอร์เซ็นต์

จากการทดลองหาปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* จากวัสดุผสม พบว่าเชื้อ *L. acidophilus* สามารถเจริญเติบโตได้ดีที่สุดในวัสดุผสมที่มีกากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับนมสด 50 เปอร์เซ็นต์ โดยมีปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* เท่ากับ 7.79×10^9 CFUs/mL

จากการทดสอบประสิทธิภาพของเชื้อ *L. acidophilus* ที่ได้จากวัสดุผสมที่มีกากน้ำตาล 8 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับนมสด 25 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับรำละเอียด 5 เปอร์เซ็นต์ ในการยับยั้งเชื้อ *V. harveyi* พบว่าลูกกุ้งที่ได้รับโปรไบโอติกเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ก่อนการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *V. harveyi* มีอัตราการรอดสูงกว่ากลุ่มควบคุม

ข้อเสนอแนะ

การทดลองในครั้งต่อไปควรมีการทดลองแบบ factorial เพื่อให้ผลการทดลองในส่วนของการหาอัตราส่วนของวัสดุครอบคลุมมากขึ้น และควรหาวัสดุที่มีราคาถูกรวมมาใช้นั้น เช่น หางนม หรือวัสดุทางการเกษตรที่มีราคาถูก เช่น น้ำแช่ข้าวโพด

การทดลองใช้โปรไบโอติกจากเชื้อที่ได้จากการเพาะควรทดลอง ในกุ้งกุลาดำระยะอื่นๆ และความเค็มต่างๆ กัน หรือจะเปลี่ยนสัณฐานทดลองเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจชนิดอื่นๆ ก็ได้ เพื่อหาสภาพแวดล้อม และสัตว์น้ำที่ได้รับประโยชน์จากเชื้อ *L. acidophilus* มากที่สุด

เอกสารอ้างอิง

กิจการ ศุภมาตย์. 2540. โปรไบโอติกกับอนาคตการเลี้ยงกุ้งไทย. วารสารสัตว์น้ำ 8 (90) : 28-30.

กำเนิด สุกัญวงษ์. 2534. จุลชีวอุตสาหกรรม. โอ.เอส.พรินติ้ง เฮ้าส์. กรุงเทพฯ. 309 หน้า

เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2544. เทคโนโลยีชีวภาพสำหรับฟาร์มเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วารสารสัตว์น้ำ 12 (140) : 55-60.

ชุติมา เทพฤทธิ์. 2540. ความสามารถของ *Lactobacillus acidophilus* ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อ *Vibrio* spp. ในลำไส้กุ้งกุลาดำ *Peneaus monodon*. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. 24 หน้า

ธรรารัตน์ ศุภศิริ. 2542. โปรไบโอติกแบคทีเรียเพื่อสุขภาพ. วารสารวิทยาศาสตร์ 53 (6) : 357-359.

นภา ไฉ่หทัย. 2534. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. หจก. ฟันนี่ ฟับบลิชชิง. กรุงเทพฯ. 159 หน้า

นันทนา อรุณฤกษ์. 2537. การจำแนกแบคทีเรียกลุ่มแอโรบัส. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอเดียน สโตร์. 411 หน้า

บุษบา ยงสมิทธิ์. 2540. จุลชีววิทยาการหมัก วิตามินและสารสี. สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 275 หน้า

พิกุล จิรวาณิชไพศาล. 2543. การใช้โปรไบโอติกในสัตว์น้ำ. วารสารข่าวโรคสัตว์น้ำ 10 (1) : 2-6.

(ไม่ปรากฏผู้แต่ง). 2544. บทบาทของจุลินทรีย์กับการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. เพื่อนชาวกุ้ง 2 (24) : 9-12.

วิเชียร สิลลาวัชรมาศ. 2541. โปรไบโอติกอาหารสุขภาพสำหรับมนุษย์และสัตว์. ริมบ่อ 22 : 7-11.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สินธิ แดงสกุล และลิลลา เรืองแป้น. 2541. ประสิทธิภาพของโปรไบโอติกที่ผลิตจาก *Bacillus* เพื่อการเลี้ยงกุ้งกุลาดำ. วารสารการประมง 51 (5) : 446-456.

Fuller, R., 1989. Probiotics in man and animals J. Applied Bacteriol. 66: 365-378.

Fuller, R., 1992. Probiotics the scientific basis. 1st ed. Chapman & Hall, London, 398 pp.

Perdigon, G. and Alvarez, S. 1992. Probiotics and the immune state. In: R. Fuller (Editor). Probiotics the scientific basis. 1st ed. Chapman & Hall, London, 398 pp.

Rengpipat, S., W. Phianphak, S. Piyatiratitivorakul and P. Menasveta. 1998. Effects of a Probiotic Bacterium on Black Tiger Shrimp *Peneaus monodon* Survival and Growth. Aquaculture 167 : 301-313.

Verschuere, L., G. Rombaut, P. Sorgeloos and W. Verstraete. 2000. Probiotic Bacteria as Biological Control Agents in Aquaculture. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 64 : 655-671.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ตารางผนวกที่ 1 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
1 %	5.40×10^5	6.40×10^5	5.90×10^5	5.00×10^4
2 %	1.26×10^6	1.24×10^6	1.25×10^6	1.00×10^4
4 %	2.20×10^6	1.42×10^6	1.81×10^6	3.90×10^5
8 %	5.48×10^6	5.82×10^6	5.65×10^6	6.00×10^4

ตารางผนวกที่ 2 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่ 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
1%	6.60×10^5	6.80×10^5	6.70×10^5	1.00×10^4
2%	1.08×10^6	1.46×10^6	1.27×10^6	1.90×10^5
4%	2.06×10^6	1.36×10^6	1.71×10^6	3.50×10^5
8%	3.08×10^6	2.68×10^6	2.88×10^6	2.00×10^5

ตารางผนวกที่ 3 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
1 %	3.26×10^5	1.28×10^6	8.03×10^5	4.77×10^5
2 %	1.56×10^6	1.74×10^6	1.65×10^6	9.00×10^4
4 %	2.63×10^6	2.88×10^6	2.76×10^6	1.25×10^5
8 %	3.36×10^6	3.24×10^6	3.30×10^6	1.70×10^5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในกากน้ำตาลที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
1%	4.52×10^5	1.38×10^6	9.16×10^5	4.64×10^5
2%	1.86×10^6	1.68×10^6	1.77×10^6	9.00×10^4
4%	3.16×10^6	2.38×10^6	2.77×10^6	3.90×10^5
8%	5.30×10^6	5.64×10^6	5.47×10^6	1.70×10^5

ตารางผนวกที่ 5 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของกากน้ำตาล

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
1 %	6.21	6.15
2 %	6.39	5.56
4 %	5.48	4.87
8 %	4.89	4.53

ตารางผนวกที่ 6 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในนมสดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ปริมาตร/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
12.50 %	1.14×10^8	8.40×10^7	9.90×10^7	1.50×10^7
25 %	1.45×10^8	1.62×10^8	1.54×10^8	8.50×10^6
50 %	1.78×10^8	2.10×10^8	1.94×10^8	1.60×10^7
100 %	3.08×10^8	2.64×10^8	2.86×10^8	2.20×10^7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 7 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในนมสดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ปริมาตร/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
12.50 %	1.20×10^8	9.50×10^7	1.08×10^8	1.25×10^7
25 %	2.30×10^8	1.32×10^8	1.81×10^8	4.90×10^7
50 %	1.56×10^8	1.96×10^8	1.76×10^8	2.00×10^7
100 %	2.57×10^8	2.48×10^8	2.53×10^8	4.50×10^6

ตารางผนวกที่ 8 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในนมสดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ปริมาตร/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
12.50 %	3.40×10^8	5.35×10^8	2.85×10^8	9.75×10^7
25 %	4.62×10^8	5.02×10^8	4.82×10^8	2.00×10^7
50 %	8.58×10^8	6.54×10^8	7.56×10^8	1.02×10^8
100 %	2.10×10^8	2.14×10^9	1.18×10^9	9.65×10^8

ตารางผนวกที่ 9 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในนมสดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (ปริมาตร/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
12.50 %	3.01×10^8	4.52×10^8	3.77×10^8	7.55×10^7
25 %	3.42×10^8	4.95×10^8	4.19×10^8	7.65×10^7
50 %	5.68×10^8	6.28×10^8	5.98×10^8	3.00×10^7
100 %	7.56×10^8	1.24×10^9	9.98×10^8	2.42×10^8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 10 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของนมสด

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
12.5 %	5.87	3.64
25 %	5.90	3.82
50 %	5.97	4.16
100 %	5.97	4.40

ตารางผนวกที่ 11 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในรำละเอียดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
2.50 %	7.16×10^7	5.42×10^7	6.29×10^7	8.70×10^6
5 %	1.17×10^8	1.12×10^8	1.15×10^8	2.50×10^6

ตารางผนวกที่ 12 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในรำละเอียดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
2.50 %	2.76×10^8	2.72×10^8	2.74×10^8	2.00×10^6
5 %	2.82×10^8	3.38×10^8	3.10×10^8	2.80×10^7

ตารางผนวกที่ 13 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในรำละเอียดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
2.50 %	5.20×10^7	1.80×10^8	1.16×10^8	6.40×10^7
5 %	3.18×10^8	2.22×10^8	2.70×10^8	4.80×10^7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 14 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในรำละเอียดที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
2.50 %	9.40×10^6	2.98×10^6	6.19×10^6	3.21×10^6
5 %	8.40×10^7	1.16×10^8	1.00×10^8	1.60×10^7

ตารางผนวกที่ 15 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของรำละเอียด

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
2.5 %	5.67	5.71
5 %	5.60	5.67

ตารางผนวกที่ 16 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในอาหารกึ่งที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
2.50%	1.86×10^7	1.90×10^7	1.88×10^7	2.00×10^5
5%	5.14×10^7	3.66×10^7	4.40×10^7	7.40×10^6

ตารางผนวกที่ 17 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในอาหารกึ่งที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
2.50%	2.25×10^7	4.50×10^7	3.38×10^7	1.13×10^7
5%	5.46×10^7	4.12×10^7	4.79×10^7	6.70×10^6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 18 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในอาหารกึ่งที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
2.50 %	2.10×10^7	2.06×10^7	2.08×10^7	2.00×10^5
5 %	4.52×10^7	5.00×10^7	4.76×10^7	2.40×10^6

ตารางผนวกที่ 19 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในอาหารกึ่งที่ความเข้มข้นต่างๆ บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	เฉลี่ย	SE
2.50 %	1.20×10^7	2.18×10^7	1.69×10^7	4.90×10^6
5 %	5.67×10^7	5.40×10^7	5.54×10^7	1.35×10^6

ตารางผนวกที่ 20 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารกึ่ง

ความเข้มข้น (น้ำหนัก/ปริมาตร)	24 ชั่วโมง	48 ชั่วโมง
2.5%	6.38	6.69
5%	6.38	6.53

ตารางผนวกที่ 21 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในอัตราส่วนผสมนม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

อัตราส่วนผสมนม	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
กากน้ำตาล 8%+นมสด 50%	2.19×10^9	1.05×10^9	1.91×10^9	1.72×10^9	3.43×10^8
กากน้ำตาล 8%+รำละเอียด 5%	8.60×10^8	8.22×10^8	8.94×10^8	8.59×10^8	2.08×10^7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 22 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในอัตราส่วนวัสดุผสม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 24 ชั่วโมง

อัตราส่วนวัสดุ	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
กากน้ำตาล 8%+นมสด 50%	2.05×10^9	2.56×10^9	1.58×10^9	2.06×10^9	2.83×10^8
กากน้ำตาล 8%+รำละเอียด 5%	7.89×10^8	8.23×10^8	8.56×10^8	8.23×10^8	1.93×10^7

ตารางผนวกที่ 23 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เวลา 24 ชั่วโมง

อัตราส่วนวัสดุ	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
กากน้ำตาล 8%+นมสด 50%	5.82	5.82	5.82	5.82	0.00
กากน้ำตาล 8%+รำละเอียด 5%	4.78	4.80	4.78	4.79	0.00577

ตารางผนวกที่ 24 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในอัตราส่วนวัสดุผสม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

อัตราส่วนวัสดุ	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
กากน้ำตาล 8%+นมสด 50%	6.62×10^9	7.64×10^9	9.12×10^9	7.79×10^9	7.26×10^8
กากน้ำตาล 8%+รำละเอียด 5%	1.54×10^9	1.46×10^9	1.32×10^9	1.44×10^9	6.43×10^7

ตารางผนวกที่ 25 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* ในอัตราส่วนวัสดุผสม บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TSA (CFUs/mL) ที่เวลา 48 ชั่วโมง

อัตราส่วนวัสดุ	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
กากน้ำตาล 8%+นมสด 50%	5.60×10^9	6.45×10^9	6.98×10^9	6.34×10^9	4.02×10^8
กากน้ำตาล 8%+รำละเอียด 5%	1.42×10^9	1.58×10^9	1.23×10^9	1.41×10^9	1.01×10^8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 26 ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เวลา 48 ชั่วโมง

อัตราส่วนวัสดุ	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
กากน้ำตาล 8%+นมสด 50%	4.35	4.34	4.45	4.38	0.03464
กากน้ำตาล 8%+รำละเอียด 5%	4.37	4.41	4.43	4.40	0.01732

ตารางผนวกที่ 27 ปริมาณเชื้อ *V. harveyi* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ TCBS ที่เวลา 0 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	2.14×10^5	1.94×10^5	1.96×10^5	2.01×10^5	6.36×10^3
VH+L	1.88×10^5	1.98×10^5	1.76×10^5	1.87×10^5	6.36×10^3
L+VH	2.34×10^5	2.20×10^4	2.46×10^5	1.67×10^5	7.27×10^4

ตารางผนวกที่ 28 ปริมาณเชื้อ *L. acidophilus* (CFUs/mL) ในน้ำเลี้ยงกุ้ง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS ที่เวลา 0 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	เฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
VH+L	1.20×10^6	6.64×10^5	9.20×10^5	9.28×10^5	1.55×10^5
L+VH	1.02×10^6	0.00	1.02×10^6	1.02×10^6	0.00

ตารางผนวกที่ 29 จำนวนกุ้ง (ตัว) ที่รอดตายจากการใส่ *L. acidophilus* เพื่อยับยั้ง *V. harveyi* ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 24 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ค่าเฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	65	86	78	66	73.75	5.04
VH+L	62	81	70	65	69.5	4.175
L+VH	67	63	59	63	63	1.635

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 30 จำนวนกุ้ง (ตัว) ที่รอดตายจากการใส่ *L. acidophilus* เพื่อยับยั้ง *V. harveyi*
ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 48 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ค่าเฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	30	30	31	37	32	1.685
VH+L	43	49	40	34	41.5	3.12
L+VH	41	46	44	42	43.25	1.11

ตารางผนวกที่ 31 จำนวนกุ้ง (ตัว) ที่รอดตายจากการใส่ *L. acidophilus* เพื่อยับยั้ง *V. harveyi*
ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 72 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ค่าเฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	24	22	23	31	25	2.04
VH+L	36	39	31	27	33.25	2.66
L+VH	39	42	38	39	39.5	0.865

ตารางผนวกที่ 34 จำนวนกุ้ง (ตัว) ที่รอดตายจากการใส่ *L. acidophilus* เพื่อยับยั้ง *V. harveyi*
ในน้ำเลี้ยงกุ้ง ที่เวลา 96 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 4	ค่าเฉลี่ย	SE
ชุดควบคุม	21	15	19	28	20.75	2.72
VH+L	28	29	27	21	26.25	1.795
L+VH	37	32	28	30	31.75	1.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้