บทที่ 2
การตรวจเอกสาร

การใช้สารปฏิชีวนะเสริมในอาหารสัตว์

ตั้งแต่มีการค้นพบเพนนิซิลลินเมื่อปี ค.ศ. 1928 วิวัฒนาการของการผลิตสารปฏิชีวนะก้าวไปอย่างรวดเร็วและพัฒนาอย่างต่อเนื่อง ปัจจุบันมีสารปฏิชีวนะที่ค้นพบมากกว่า 8,000 ชนิด (Brock และ Madigan,1991) นอกจากใช้ในการรักษาโรคแล้ว มาลิน (2532) อ้างถึง Moore (1946) พบว่า การใช้สารปฏิชีวนะผสมในอาหารในระดับต่ำสามารถเร่งการเจริญเติบโตของสัตว์ได้ โดยเฉพาะในสัตว์เล็กหรือสัตว์ที่กำลังอยู่ในระยะกำลังเจริญเติบโต ตัวอย่างสัตว์เศรษฐกิจที่ตอบสนองต่อสารปฏิชีวนะได้ดี ได้แก่ สัตว์ปีกในช่วง 1- 4 สัปดาห์ สุกร 3-6 สัปดาห์ และลูกโคช่วงอายุถึง 3 เดือน นอกจากนี้สัตว์อ่อนแอหรืออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่ดี หรือได้รับอาหารคุณภาพต่ำจะให้ผลตอบสนองต่อยาได้ดีกว่าสัตว์ปกติที่แข็งแรง (Miller และ Warren, 1976, มาลิน, 2532) การยอมรับนำสารปฏิชีวนะใช้เป็นสารมาตรฐานที่จำเป็นต้องเสริมลงในอาหารไก่กระทง และไก่งวงเกิดขึ้นในปี ค.ศ. 1951 Bird (1969) อ้างถึง Stokstad และ Jukes (1950) ว่าการเสริมออริโอมัยซินในอาหารไก่กระทงช่วยทำให้ไก่กระทงมีน้ำหนักเพิ่มมากขึ้นกว่าพวกไม่เสริมถึงร้อยละ 10-14 ชนิดของสารปฏิชีวนะที่นิยมใช้เสริมในสูตรอาหารไก่และสุกร ได้แก่ แบคซิตราซิน คลอเตตราซัยคลิน ออกซีเตตราซัยคลิน เพนนิซิลลิน สเตรปโตมัยซิน โอลินโดมัยซิน ไทโลซิน และ เวอจิเนียมัยซิน (อุทัย, 2529) ประมาณร้อยละ 58 ของสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้ในปัจจุบันแยกได้จาก *Streptomyces* ประมาณร้อยละ 18 แยกได้จาก *Aspergillus* และประมาณร้อยละ 9 แยกได้จาก *Bacillus* สารปฏิชีวนะส่วนน้อยที่เหลือได้แยกจากแบคทีเรียกลุ่มอื่น ๆ เช่น *Norcardia* และ *Micromonospora* นอกจากนี้ยังมีสารปฏิชีวนะที่แยกได้จากพืชชั้นสูงซึ่งมีประมาณร้อยละ 12 และแยกได้จาก algae หรือ lichen และจากสัตว์อื่น ๆ อีกประมาณร้อยละ 3 (มาลินี, 2540)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การให้อาหารไก่เนื้อ

จุดมุ่งหมายการให้อาหารไก่เนื้อ คือ เพื่อให้ไก่เนื้อเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วที่สุดและปราศจากโรคโดยใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงสั้นที่สุดและใช้อาหารอย่างประหยัดที่สุด กล่าวคือ ให้อาหารน้อยเพื่อเปลี่ยนเป็นเนื้อไก่ให้ได้มากที่สุด ในขณะเดียวกันก็ต้องเป็นอาหารที่มีคุณภาพสูง ช่วยให้ไก่โตเร็ว ขนงอกเร็ว และแข็งแรง เพื่อให้ได้เป้าหมายของการเลี้ยงไก่ ยาและสารปฏิชีวนะได้ถูกนำมาใช้เพื่อจุดประสงค์ในการเร่งการเจริญเติบโต การเพิ่มประสิทธิภาพการใช้อาหารและป้องกันโรค โดยการนำมาใช้เป็นสารเร่งการเจริญเติบโตจะใช้ในระดับต่ำ นิยมผสมลงในอาหารสัตว์โดยตรง (กองสัตวแพทย์สาธารณสุข, 2537) โดยทั่วไปการให้อาหารไก่เนื้อจะแบ่งเป็นระยะตามความต้องการโปรตีนและพลังงาน มีการเสริมไวตะมินและแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตและเสริมสร้างสุขภาพให้แข็งแรง ทนต่อโรค ผ่านขั้นตอนการผลิตอาหารจนได้เม็ดอาหารขนาดต่าง ๆ พอเหมาะกับระยะการเจริญและขนาดของไก่ มักจะแบ่งเป็น 2 หรือ 3 ระยะ ตามแต่สูตรของแต่ละบริษัท โดยแบ่งตามช่วงการเจริญและน้ำหนักตัว

อาหารไก่ในระยะแรกให้ไก่ในช่วงแรกเกิดถึง 3 หรือ 4 สัปดาห์ จะมีปริมาณโปรตีนที่เสริมให้สูงที่สุดประมาณร้อยละ 22 มีระดับพลังงานที่เสริมในอาหารค่อนข้างต่ำกว่าในระยะอื่น ประมาณ 3,000 กิโลแคลอรีต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ทั้งนี้เนื่องจากไก่ในระยะนี้เป็นช่วงที่มีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วมีความต้องการใช้โปรตีนและกรดอะมิโนในการเสริมสร้างกล้ามเนื้อและกระบวนการเมตาบอลิสมต่าง ๆ ในร่างกาย

อาหารในระยะต่อมาให้ไก่ในช่วง 3- 5 สัปดาห์ หรือ 5-8 สัปดาห์ จะมีปริมาณโปรตีนลดลงเหลือประมาณร้อยละ 20 แต่มีปริมาณพลังงานมากขึ้นประมาณ 3,100-3,300 กิโลแคลอรี ต่ออาหาร 1 กิโลกรัมเป็นการเพิ่มน้ำหนักตัวและปริมาณไขมันให้ไก่

อาหารในระยะสุดท้ายให้ไก่ในช่วง 5 สัปดาห์ถึงส่งตลาด อาหารที่ใช้จะเป็นอาหารที่ให้พลังงานสูงขึ้นและมีปริมาณโปรตีนต่ำลงประมาณร้อยละ 18

การเสริมสารปฏิชีวนะลงในอาหารไก่ส่วนใหญ่นิยมเสริมในช่วง 2 ระยะแรกเนื่องจากเป็นช่วงที่ไก่กำลังเจริญเติบโต การให้สารปฏิชีวนะจะมีผลช่วยเร่งการเจริญได้ดี และช่วยเพิ่มค่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร โดยเฉพาะเมื่อไก่อยู่ในสภาพเครียด สำหรับอาหารในระยะสุดท้ายจะไม่มีการเติมสารปฏิชีวนะหรือยาซัลฟาแต่ในทางปฏิบัติจริงนิยมใช้อาหารในระยะที่สองเลี้ยงต่อไปจนครบอายุส่งตลาด และในบางบริษัทไม่มีการผลิตอาหารในระยะที่ 3 ส่งผลให้ไม่มีระยะงดให้ก่อนส่งโรงฆ่าสัตว์เป็นผลให้เกิดการตกค้างของสารปฏิชีวนะในเนื้อไก่ (กองสัตวแพทย์สาธารณสุข, 2537, ลิขิต, 2532, จารุรัตน์, 2528)

กลไกที่สารปฏิชีวนะสามารถเร่งการเจริญเติบโตได้

กลไกการกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์โดยสารปฏิชีวนะและยาต้านจุลชีพมีหลายทฤษฎีด้วยกัน กล่าวคือ สารปฏิชีวนะที่สัตว์ได้รับทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพในระบบทางเดินอาหาร มีผลยับยั้งการเจริญของจุลชีพกลุ่มก่อโรคในลำไส้ เช่น *E. coli* หรือ Salmonella ลดอาการอักเสบของผนังลำไส้ โดยมีผลให้ผนังลำไส้บางลงช่วยให้การดูดซึมสารอาหารของสัตว์ดีขึ้น (Brock และ Madigan, 1991) มีผลต่อกระบวนการ Peristalsis โดยทำให้การเคลื่อนตัวของลำไส้ลดลงเพราะถ้า Peristalsis เกิดมากจะทำให้การเก็บกักอาหารในทางเดินอาหารน้อย ถ้า Peristalsis ลดลงอาหารจะถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกายได้มากขึ้นส่งผลให้การเจริญเติบโตดีขึ้น และทำให้ผนังลำไส้อุ้มน้ำได้มากขึ้น เช่น คลอเตตราซัยคลิน หรือ ซาลิโนมัยซิน จะทำให้มีการดูดซึมน้ำในช่วงลำไส้ใหญ่กลับสู่ร่างกายมากขึ้น และดูดซึมไขมันกลับเข้าร่างกายมากขึ้น (ยุคล, 2533) รวมทั้งมีผลลดการสร้างทอกซินของจุลชีพโดยเฉพาะอย่างยิ่งทอกซินที่มีผลชะลอการเจริญเติบโตของร่างกาย (ทัศนีย์, 2540) กระตุ้นให้มีการสร้างไวตะมินบี 12 และ ไวตะมินซี เพิ่มมากขึ้น (Tortora, Funke และ Case, 1986) อย่างไรก็ตามทฤษฎีดังกล่าวยังคงเป็นแค่ข้อเสนอแนะเท่านั้น เนื่องจากยังไม่ข้อมูลพิสูจน์ได้อย่างชัดเจน

ปัญหาที่เกิดจากการใช้สารปฏิชีวนะและยาต้านจุลชีพในอาหารสัตว์ มีดังนี้

ผลเสียที่เกิดจากการใช้สารปฏิชีวนะเสริมในอาหารสัตว์เป็นระยะเวลานานโดยไม่มีระยะงดให้รวมทั้งมีการใช้ยาอย่างพร่ำเพรื่อไม่มีการควบคุมปริมาณและชนิดของให้เหมาะกับการรักษาโรค ส่งผลต่อทั้งในสัตว์ที่ได้รับสารปฏิชีวนะโดยตรงและส่งผลต่อผู้บริโภค กล่าวคือ ในสัตว์การที่ได้รับสารปฏิชีวนะในระยะเวลานานติดต่อกันส่งผลให้จุลินทรีย์เกิดการดื้อยา ปริมาณแบคทีเรียที่ดื้อยานี้จะเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ ทำให้การใช้สารปฏิชีวนะในระดับรักษาโรคไม่ได้ผลเท่าที่ควร ส่งผลให้เกิดการแพร่ระบาดของจุลินทรีย์กลุ่มก่อโรคได้มากขึ้น (มาลิน, 2532) โดยเฉพาะแบคทีเรียในกลุ่มแกรมลบได้แก่ Salmonella ตรวจพบมียีนดื้อยาอยู่ที่พลาสมิดและสามารถถ่ายทอดสมบัติดื้อยานี้ให้แก่แบคทีเรียในกลุ่มแกรมลบอื่น ๆ ได้ ส่งผลให้แบคทีเรียกลุ่มแกรมลบก่อโรคในลำไส้สัตว์แพร่ระบาดมากขึ้น สมบัติการดื้อยานี้สามารถถ่ายทอดให้แก่แบคทีเรียกลุ่มก่อโรคในคนได้เช่นกัน (Brock และ Madigan, 1991) ส่งผลให้เกิดการขยายตัวของแบคทีเรียก่อโรคมากขึ้น และการรักษาโรคในคนโดยใช้สารปฏิชีวนะมีความลำบากมากขึ้น (มาลิน, 2525) นอกจากนั้นในกรณีที่มีการให้สารปฏิชีวนะติดต่อกันเป็นระยะเวลานานโดยไม่มีระยงดให้ อาจก่อให้เกิดปัญหาสารตกค้างในเนื้อสัตว์

ได้ผู้บริโภคที่ได้รับสารตกค้างเหล่านี้อาจเกิดอันตรายต่อสุขภาพได้ แต่โดยทั่วไปปริมาณยาที่ตกค้างในเนื้อสัตว์ หรือผลิตภัณฑ์จากสัตว์มักไม่สูงพอที่จะทำให้เกิดอันตรายชนิดรุนแรงได้ แต่ปัญหาสำคัญคืออันตรายที่เกิดในระยะยาวซึ่งก็ขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของยาที่ตกค้าง นอกจากนี้ยาบางตัวเมื่อเข้าสู่ร่างกายแล้วอาจถูกเปลี่ยนไปเป็นสารที่มีความเป็นพิษสูงกว่าสารตั้งต้นหรือเป็นสารก่อมะเร็ง นอกจากนี้อันตรายที่เกิดจากยาตกค้างทางอ้อมก็พบได้ในผู้บริโภค เช่น ทำให้เกิดอาการของโรคภูมิแพ้ หรือเกิดการเปลี่ยนแปลงของจุลชีพในร่างกาย ซึ่งก่อให้เกิดโรค หรือทำให้เกิดการขยายตัวของเชื้อยาได้ (ทัศนีย์, 2540)

การใช้โพรไบโอติกเสริมในการเลี้ยงสัตว์

จากปัญหาเชื้อดื้อยาและการตกค้างของสารปฏิชีวนะดังกล่าวข้างต้นจึงได้มีผู้สนใจศึกษานำโพรไบโอติกมาใช้เสริมในการเลี้ยงสัตว์ โพรไบโอติกนำมาใช้ครั้งแรกในปี ค.ศ.1907 โดย Metchnikoff แต่ความสนใจในการนำมาใช้เสริมในการเลี้ยงสัตว์ (feed supplement) เกิดขึ้นอย่างจริงจังในปี ค.ศ. 1974 (Fuller, 1992)

ได้มีผู้ให้คำจำกัดความของโพรไบโอติกไว้ดังนี้ คือ

Fuller (1989) กล่าวว่า โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตที่ใช้เสริมในการเลี้ยงสัตว์โดยมีผลปรับความสมดุลย์ของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

Havenaar และ Huis in't Veld (1992) กล่าวว่า โพรไบโอติก คือ จุลินทรีย์ที่มีชีวิตหนึ่งชนิดหรือมากกว่าในรูปผสมของหลายสายพันธุ์เสริมให้คนและสัตว์ ให้ประโยชน์ต่อผู้อาศัย โดยมีผลปรับปรุงให้เกิดสมดุลย์ของแบคทีเรียประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหาร รวมทั้งหมายถึงรูปแบบของผลิตภัณฑ์ที่ประกอบด้วยจุลินทรีย์ที่มีชีวิต เช่น เซลล์ในรูปผงแห้ง (Lyophilized form) หรือผลิตภัณฑ์ที่ผ่านกระบวนการหมัก (fermented product) มีผลช่วยปรับปรุงสุขภาพคนและสัตว์ มีผลต่อระบบทางเดินอาหาร(ใช้เสริมในรูปอาหารหรือแคบซูล)

การนำโพรไบโอติกใช้ในการเลี้ยงสัตว์อาจใช้ในรูปสายพันธุ์เดี่ยว หรือสายพันธุ์ผสม (mixed culture) ของหลาย ๆ สายพันธุ์ โดยใช้ในรูปผงหรือแคปซูล แกรนูล หรือในรูปเซลล์เปียกโดยป้อนให้สัตว์ทางปากโดยตรง หรือผสมลงในอาหาร และในน้ำดื่ม รวมทั้งในปัจจุบันนำมาใช้ในรูปสเปรย์พ่นรอบพื้นที่โรงเรือนเพื่อปรับสภาพแวดล้อมของจุลินทรีย์ในโรงเรือน (Fuller, 1992)

หลักเกณฑ์การคัดเลือกจุลินทรีย์ใช้เป็นโพรไบโอติก (Gilliland, 1979, Fuller, 1989, Nousiainen and Setala, 1992) **มีดังนี้**

1. เป็นจุลินทรีย์ชนิดที่ไม่ก่อโรค โดยเป็นสายพันธุ์ที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อเซลล์เจ้าบ้าน (host) สามารถมีชีวิตอยู่รอดได้ในสภาวะที่มีความเป็นกรดสูง เช่น ในกระเพาะอาหาร และสามารถทนต่อเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้นสูง เนื่องจากบริเวณลำไส้เล็กเป็นบริเวณที่มีการหลั่งของน้ำดีจากตับอ่อน

2. สามารถเจริญเพิ่มจำนวนและมีเมตาบอลิสมในระบบทางเดินอาหารได้

3. สามารถแข่งขันเข้ายึดเกาะกับจุลินทรีย์ก่อโรคในบริเวณเยื่อบุระบบทางเดินอาหารได้

4. ผลิตกรดอินทรีย์และสารต่อต้านจุลชีพซึ่งมีผลลดจำนวนจุลินทรีย์ก่อโรคลง

5. เพาะเลี้ยงได้ง่าย เจริญเพิ่มจำนวนได้อย่างรวดเร็ว และมีอัตราการรอดชีวิตสูงเมื่อเก็บรักษาในระยะเวลานาน

6. ในกรณีที่ใช้ร่วมกับสารปฏิชีวนะเพื่อให้ได้ผลผลิตที่ดียิ่งขึ้น ควรมีสมบัติทนต่อสารปฏิชีวนะที่ผสมในอาหารสัตว์ด้วย

จุลินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นโพรไบโอติก (Fuller, 1992)

1. *Lactobacillus* spp.
2. *Streptococcus* spp.
3. *Leuconostoc* spp.
4. *Pediococcus* spp.
5. *Propionibacterium* spp.
6. *Enterococcus* spp.
7. *Bifidobacterium* spp.
8. *Bacillus* spp.
9. Yeasts (*Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida pintolopesii*)
10. Moulds (*Aspergillus niger* และ *A. oryzae*)

จากจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกดังกล่าวข้างต้น แลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นกลุ่มแบคทีเรียส่วนใหญ่ที่มักใช้เสริมในการเลี้ยงสัตว์ เนื่องจากมีคุณสมบัติครบตามหลักเกณฑ์

ของโพรไบโอติกที่ดี ได้แก่ เป็นจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ก่อโรค พบเป็นแบคทีเรียประจำถิ่นในระบบทางเดินอาหารคนและสัตว์ สามารถเจริญเพิ่มจำนวนได้ดี และมีเมตาบอลิสมในร่างกายผู้อาศัย สามารถทนกรดและเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้นสูงจึงสามารถเจริญอยู่ในระบบทางเดินอาหารและลำไส้สัตว์ได้ สร้างกรดอินทรีย์และสารต้านจุลชีพที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในลำไส้ได้ เพิ่มจำนวนและเพาะเลี้ยงได้ง่ายที่อุณหภูมิห้อง รวมทั้งทนต่อสารปฏิชีวนะที่เสริมในอาหารสัตว์ได้ โดยสามารถแยกสายพันธุ์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ทนสารปฏิชีวนะได้จากสุกร ไก่ และโค ที่ได้รับสารปฏิชีวนะ (Nousiainen และ Setala, 1992)

Parker (1974) และ Fuller (1989) ได้รวบรวมและเปรียบเทียบสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโพรไบโอติกและสารปฏิชีวนะไว้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 สมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโพรไบโอติกและสารปฏิชีวนะ

โพรไบโอติก	สารปฏิชีวนะ
1. เป็นสิ่งมีชีวิต	1. เป็นสารเคมีบริสุทธิ์
2. ไม่ดูดซึมในทางเดินอาหาร	2. ดูดซึมได้ในทางเดินอาหาร
3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพการใช้อาหาร	3. เพิ่มการเจริญและประสิทธิภาพการใช้อาหาร
4. ไม่มีการหลงเหลือในเนื้อเยื่อ	4. มีการหลงเหลือในเนื้อเยื่อ
5. ไม่ก่อให้เกิดเชื้อกลายพันธุ์หรือดื้อยา	5. ทำให้เชื้ออื่นเกิดการกลายพันธุ์หรือดื้อยา
กลไกการออกฤทธิ์	**กลไกการออกฤทธิ์**
1. ให้กรดเพิ่มสภาวะการเป็นกรดและยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค	1. ขัดขวางการสังเคราะห์ผนังเซลล์, DNA, RNA หรือโปรตีน
2. ให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อเฉพาะที่	2. ให้ฤทธิ์ต้านเชื้อได้ทั้งร่างกายและออกฤทธิ์ต่อเชื้อต่าง ๆ ได้มากชนิด
3. เจริญได้ในทางเดินอาหารและแข่งการเจริญกับเชื้อก่อโรคได้	

ที่มา : Parker (1974) และ Fuller (1989)

การใช้โพรไบโอติกในสัตว์น้ำ

การใช้โพรไบโอติกในสัตว์น้ำยังมีรายงานน้อยมาก ในปี ค.ศ. 1995 Austin และคณะได้ใช้ *Vibrio alginolyticus* ที่มีสมบัติเป็นโพรไบโอติกสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคในปลาซัลมอนได้มาใช้ในการเลี้ยงปลาซัลมอน พบว่าปลาซัลมอนที่ได้รับโพรไบโอติกมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นและต้านทานโรคติดเชื้อในปลาซัลมอนได้

วรรณิภา (2539) แยก Bacillus S11 *(Bacillus mycoides)* ซึ่งมีสมบัติสามารถยับยั้งเชื้อทดสอบสายพันธุ์ที่ก่อโรคในคนและในกุ้งได้จากทางเดินอาหารกุ้งกุลาดำ นำมาผสมในอาหารกุ้งกุลาดำและเพาะเลี้ยงในระบบน้ำหมุนเวียนแบบปิดเป็นเวลา 100 วัน พบว่า กุ้งกุลาดำที่ได้รับอาหารผสม Bacillus S11 จะมีการเจริญเติบโตและมีอัตราการรอดมากกว่ากุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับอาหารที่ผสม Bacillus S11 อย่างมีนัยสำคัญ และสามารถต้านทานการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคจาก *Vibrio harveyi* ได้ โดยกลุ่มที่ได้รับ Bacillus S11 มีอัตรารอด 100 % กลุ่มที่ไม่ได้รับอาหารผสม Bacillus S11 มีอัตรารอด 26% แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$)

Byun และคณะ (1997) ทดลองแยกแลคติกแอซิดแบคทีเรียจากลำไส้เล็กปลาทะเล (flounder: *Paralichthys olivaceus*) ได้ 3 สายพันธุ์ และเลือกใช้ *Lactobacillus* sp. DS-12 ซึ่งมีคุณสมบัติทนเกลือ กรด และเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้นสูง และยังสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในปลาเตรียมในรูปผงแห้ง (freeze-dried) มีความเข้มข้นสุดท้าย 10^6 CFU/ml เสริมในการเลี้ยงปลา ผลการตรวจชนิดแบคทีเรียในลำไส้เล็กพบ *Lactobacillus* spp. DS-12 ในกลุ่มทดลองแต่ตรวจไม่พบ *Lactobacillus* spp. ในกลุ่มควบคุม จากการเปรียบเทียบน้ำหนักตัวเฉลี่ยเพิ่ม พบว่ากลุ่มที่ได้รับ *Lactobacillus* spp. DS-12 มีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มสูงกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

การใช้โพรไบโอติกเสริมในการเลี้ยงสุกร

นวลจันทร์ และคณะ (2533) ทดลองเสริมผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกทางการค้าซึ่งมีจุลินทรีย์ *Lactobacillus acidophilus* และ *Bacillus subtilis* พร้อมทั้งเอนไซม์ผสมในอาหารลูกสุกรหย่านมอายุ 4 สัปดาห์ โดยสูตรอาหารที่ผสมโพรไบโอติกนั้นได้ลดโปรตีนในสูตรอาหารลง 2% ผลพบว่าลูกสุกรที่กินอาหารผสมโพรไบโอติกในระดับ 0.2% แม้อาหารจะมีระดับโปรตีนต่ำกว่ากลุ่มควบคุมถึง 2% แต่ก็มีอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารใกล้เคียงกัน แต่เมื่อ

คิดต้นทุนการผลิตสุกรกลุ่มที่กินอาหารโปรตีนต่ำแล้วเสริมด้วยโพรไบโอติกจะมีต้นทุนต่ำที่สุด แสดงให้เห็นว่าสูตรอาหารผสมโพรไบโอติกมีการย่อย การดูดซึม และการใช้ประโยชน์จากสารอาหารต่าง ๆ ดีกว่าสูตรอาหารปกติ

Zani และคณะ (1988) นำ " Probiotic CenBiot" ที่ประกอบด้วย *Bacillus cereus* โดยผสมเซลล์ที่ทำให้แห้งกับแป้งข้าวโพดให้ได้ความเข้มข้น 10^{12} สปอร์/กิโลกรัม ทดสอบผลของโพรไบโอติกในการต้านโรคท้องร่วงในลูกสุกร พบว่ากลุ่มได้รับโพรไบโอติกและกลุ่มได้รับสารฟูราโซลิโดนมีประสิทธิภาพในการลดจำนวนลูกสุกรท้องร่วงได้ใกล้เคียงกัน โดยมีจำนวนลูกสุกรที่เกิดโรคท้องร่วงเท่ากับครึ่งหนึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม ในกลุ่มได้รับ Probiotic CenBiot มีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ย น้ำหนักเฉลี่ยต่อวัน และน้ำหนักเฉลี่ยรวมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับกลุ่มควบคุม โดยการเสริม Probiotic CenBiot ในลูกสุกรแรกเกิดจะให้ประสิทธิภาพดีกว่าการเสริมในสุกรวัยหย่านม และเมื่อเปรียบเทียบในกลุ่มที่ได้รับโพรไบโอติกด้วยกัน กลุ่มได้รับ Probiotic CenBiot จะให้ประสิทธิภาพดีกว่ากลุ่มที่ได้รับ commercial probiotic ซึ่งเป็นไปได้ว่าใน commercial probiotic มีจำนวนสปอร์ที่มีชีวิตอยู่จริงต่ำกว่าที่แจ้งในฉลาก ขณะที่ Probiotic CenBiot ยังคงมีจำนวนความเข้มข้นของจำนวนเซลล์คงที่ตลอดการทดลอง

Lim (1988) ทดลองเสริมโพรไบโอติกทางการค้าป้อนให้ลูกสุกรแรกเกิดเพื่อป้องกันโรคท้องร่วง เมื่ออายุครบ 15 วัน พบว่ากลุ่มได้รับโพรไบโอติกมีอัตราการตาย 13.11% โดยเป็นอัตราการตายที่มีสาเหตุมาจากโรคท้องร่วงในลูกสุกรแรกเกิด 8.19% ซึ่งมีค่าต่ำกว่ากลุ่มที่ได้รับสารปฏิชีวนะซึ่งมีอัตราการตายเท่ากับ 15.15% และ 12.12% ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบอัตราการตายที่มีสาเหตุมาจากโรคอุจจาระร่วง (Yellow diarrhea) พบว่าผลการทดลองสอดคล้องกับโรคท้องร่วงในลูกสุกรแรกเกิด และมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อวันสูงกว่า รวมทั้งมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยง 15 วันสูงกว่ากลุ่มได้รับสารปฏิชีวนะ (Chapman, 1988)

Nousiainen และ Setala (1992) ได้ศึกษาและรายงานชนิดของแบคทีเรียที่ใช้เสริมเป็นโพรไบโอติกในการเลี้ยงสุกรไว้ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ชนิดแบคทีเรียและผลของการเสริมโพรไบโอติกในการเลี้ยงสุกร

ช่วงการเจริญ	ชนิดแบคทีเรีย	ผลต่อสัตว์	อ้างอิง
ลูกสุกร	*Lactobacillus lactis*	ลดจำนวน *E.coli* ในอุจจาระ	Muralidhara et al. (1977)
ลูกสุกร	*L. reuteri* *L. bulgaricus*	ลด pH และจำนวน *E.coli* ในระบบทางเดินอาหาร	Ratcliffe et al. (1986)
ทดลอบความต้านทานการติดเชื้อ *E. coli* ในสุกรโตเต็มวัย	*S. faecium*	ลดจำนวน *E.coli*	Underdahl (1983)
ลูกสุกร	*S. faecalis*	เพิ่มจำนวน ล.อ.บ. และ Bifidobacteria, กดการเจริญของ *Salmonella*	Ozava et al. (1983)
สุกรโตเต็มวัย	*L. fermentum* *S. salivarius*	ลดจำนวน *E. coli* ในกระเพาะอาหาร	Barrow et al. (1980)
สุกรโตเต็มวัย	*L. bulgaricus*	ลดความเป็นพิษจากทอกซินของ *E.coli*	Mitchell และ Kenworthy (1976)
สุกรโตเต็มวัย	*L. acidophilus*	ลดระดับคลอเลสเตอรอลในตีรัม	Gilliland et al. (1985)
สุกรโตเต็มวัย	*L. acidophilus*	ลดการสร้างเอมีนในลำไส้	Hill et al. (1970), Goldin และ Gorbach (1984)
สุกรโตเต็มวัย	*L. bulgaricus* *L. acidophilus*	สังเคราะห์เอนไซม์ช่วยการย่อยสารอาหาร	Champ et al. (1983), Jonsson และ Hemmingsson (1991)
สุกรโตเต็มวัย	*Lactobacillus spp.*	เพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์หลั่งจากเยื่อบุผนังลำไส้	Collington et al. (1990)

ที่มา : Nousiainen และ Setala (1992)

การใช้โพรไบโอติกเสริมในการเลี้ยงไก่

Tortuero (1973) ทดลองเสริม *L. acidophilus* ในรูปผงแห้ง (freeze- dried culture) ความเข้มข้น 10^9 CFU/g ลงในน้ำดื่มความเข้มข้นสุดท้าย 10^6 CFU/ml เปรียบเทียบระหว่างกลุ่มที่ได้รับสารปฏิชีวนะจากอาหาร กลุ่มที่ได้รับ *L. acidophilus* ผสมในน้ำดื่มและได้รับสารปฏิชีวนะจากอาหาร และกลุ่มควบคุมไม่ได้รับสารปฏิชีวนะและ *L. acidophilus* จากอาหาร พบว่าในทั้ง 2 กลุ่มทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มต่อวันสูงกว่าไก่กลุ่มควบคุมอย่างเห็นได้ชัด โดยในแต่ละกลุ่มทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ยเพิ่มใกล้เคียงกัน และเมื่ออายุ 9 วัน ในกลุ่มได้รับ *L. acidophilus* พบว่า *L .acidophilus* เข้าไปเจริญและทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของแบคทีเรียประจำถิ่น โดย Enterococcus ที่ตรวจพบในช่วงแรกของการเจริญถูกแทนที่ด้วย *L. acidophilus*

Couch (1978) พบว่าไก่กระทงสามารถตอบสนองต่อโพรไบโอติกได้ดีเมื่ออยู่ในสภาวะเครียด เช่น ในสภาวะที่มีอากาศแปรปรวน หรืออุณหภูมิต่ำกว่าปกติ โดยทดลองเสริม *L. acidophilus* ลงในอาหารไก่ในปริมาณ 0.025, 0.0375, 0.05, 0.0625 และ 0.075% ตามลำดับ พบว่าสามารถเพิ่มอัตราการเจริญในไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกในเพศผู้ 7-10% และเพศเมีย 5-6% ตามลำดับ ทดลองซ้ำครั้งที่ 2 เลี้ยงไก่กระทงโดยควบคุมให้อุณหภูมิเหมาะสมและคงที่ตลอดการทดลอง โดยเสริมโพรไบโอติกในอาหารสูตรที่มีกรดอะมิโนในระดับต่ำในปริมาณ 0.05, 0.1 และ 0.2% ตามลำดับ เป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบว่า ไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกสามารถเร่งอัตราการเจริญได้ดีกว่าไก่กลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติก

Arens (1981) ทดลองเสริม *L. acidophilus* ในน้ำดื่ม โดยใช้สายพันธุ์ทนต่อเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้นสูง โดยไก่ยังคงได้รับสารปฏิชีวนะจากอาหารตามปกติ ทำการทดลองเลี้ยงในระดับฟาร์ม ชุดแรกไก่กลุ่มทดลองได้รับ *L. acidophilus* ในน้ำดื่มในปริมาณ 10^8 CFU/ml ทุกวันนาน 30 วัน ผลการทดลอง พบว่าน้ำหนักไก่กลุ่มทดลองเพิ่มขึ้นจากกลุ่มควบคุม 6% และค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเพิ่มขึ้น 3% ชุดที่ 2 ใช้จำนวนไก่ทดลองเท่ากันทั้งในกลุ่มควบคุมและกลุ่มทดลอง ใช้สภาวะทดลองเหมือนชุดแรก ผลการเปรียบเทียบน้ำหนักและประสิทธิภาพการใช้อาหาร พบว่ากลุ่มทดลองมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุม 3% และ 1% ตามลำดับ ชุดที่ 3 ให้ Lactobacilli 6.0×10^7 CFU/ml ทุกวัน นาน 52 วัน พบว่ามีผลเพิ่มน้ำหนัก 4% และค่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร 3% ตามลำดับ และการทดลองในชุดที่ 4 พบว่ามีน้ำหนักเพิ่มเท่ากับ 2% และค่าประสิทธิภาพการใช้อาหาร 3.6% เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุม จึงสรุปได้ว่าการให้ *L. acidophilus* ในน้ำดื่มมีผลกระตุ้นการเจริญเติบโตได้ดีกว่าการใช้สารปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียว

Miles และคณะ (1981) ทดลองเสริม *L. acidophilus* ในอาหารไก่ไข่ในขนาด 0.0125, 0.0375 และ 0.0625% ในพื้นที่ต่างกัน 3 แห่ง คือ ที่รัฐอริโซน่า ฟลอริด้า และ เซาท์ดาโกต้า พบว่าให้ผลแตกต่างกันในแต่ละพื้นที่ โดยมีผลเพิ่มปริมาณการผลิตไข่แตกต่างกับกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญที่รัฐอริโซน่า แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญที่รัฐฟลอริด้าและไม่มีความแตกต่างที่รัฐเซาท์ดาโกต้า เปรียบเทียบค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารพบว่าที่รัฐอริโซน่าการใช้ Lactobacillus เสริมในระดับต่ำมีผลทำให้ค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม ในพื้นที่อื่นไก่ที่ได้รับ Lactobacillus มีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงกว่ากลุ่มควบคุม เปรียบเทียบผลของ Lactobacillus ต่อจำนวน *E. coli* ในระบบทางเดินอาหาร พบว่าที่รัฐฟลอริด้าการเพิ่มขึ้นของ *L. acidophilus* อย่างรวดเร็ว มีผลทำให้จำนวน *E. coli* ในระบบทางเดินอาหารลดลงอย่างเห็นได้ชัด

Watkins, Miller และ Neil (1982) ทดสอบความสามารถของ *L. acidophilus* ในการต้านทานการติดเชื้อ *E. coli* โดยให้ *L. acidophilus* ในรูป broth ความเข้มข้น 10^8 – 10^9 CFU/ml ตั้งแต่อายุ 2 วัน ให้ซ้ำทุก 2 วัน และให้ *E. coli* ความเข้มข้น 10^7 CFU/chick เปรียบเทียบระหว่างการให้เพื่อป้องกันและให้เพื่อรักษา พบว่าการให้เพื่อป้องกันโดยให้ *L. acidophilus* ก่อนไก่ได้รับ *E. coli* 2 วัน มีผลลดอัตราการตายของไก่ได้ดีกว่าการให้เพื่อการรักษา และการให้ *L. acidophilus* ไม่ว่าจะให้ก่อนหรือหลังจากได้รับ *E. coli* มีผลทำให้ pH ในกระเพาะพัก ลำไส้ใหญ่ และไส้ตรงลดลง

Watkins และ Miller (1983) ป้อน *L. acidophilus* ในรูป broth ความเข้มข้น 10^8 CFU/chick ให้ลูกไก่แรกเกิด ทุก 2 วัน โดยดูความสามารถในการต้านทานการติดเชื้อ *S.* Typhimurium และ *S. aureus* ความเข้มข้น 10^9- 10^{10} CFU/chick เปรียบเทียบการให้ในรูปการป้องกันและรักษาโรค พบว่าการให้เพื่อป้องกันโรค โดยให้ *L. acidophilus* ก่อนการให้เชื้อก่อโรคทั้ง 2 ชนิด สามารถลดอัตราการตายในไก่อย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.01$) พร้อมทั้งลดจำนวนเชื้อก่อโรคได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.05$) โดยประสิทธิภาพของ *L. acidophilus* ในการลดจำนวนเชื้อก่อโรคจะเกิดได้ดีที่กระเพาะพัก แต่ได้ผลไม่ดีนักในลำไส้ใหญ่ และไส้ตรง ค่า pH เฉลี่ยของบริเวณผิวหน้าของกระเพาะพัก ลำไส้เล็กส่วนต้น ลำไส้ใหญ่ และไส้ตรงของไก่มีค่าลดลง เรียงตามลำดับได้แก่ 5.43, 5.02, 6.18, 6.56 และ 6.71 ในขณะที่ในส่วนลำไส้เล็กส่วนกลาง และส่วนปลายไม่พบว่า *L. acidophilus* ที่ให้มีผลต่อ pH บริเวณผิวหน้าแต่อย่างใด

Castaldo (1991) อ้างถึงรายงานของ Jiraphocakul และ Sullivan (1990) ทดลองเสริม *Bacillus subtilis* เป็นโพรไบโอติกร่วมกับสารปฏิชีวนะเสริมในอาหารไก่งวง พบว่าเมื่อเสริมโพรไบ

โอติกและสารปฏิชีวนะต่างชนิดกันให้ผลค่าน้ำหนักเฉลี่ยที่แตกต่างกัน แต่ส่วนใหญ่ไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกและสารปฏิชีวนะเสริมร่วมกันจะมีประสิทธิภาพการใช้อาหารดีกว่ากลุ่มได้รับสารปฏิชีวนะเพียงอย่างเดียว

Javed , Hameed และ Sildique (1993) ทำการทดสอบยืนยันผลของ Lactobacillus ต่อการต้านทานการติดเชื้อ Salmonella โดยเสริมในรูปสารละลายนมในน้ำดื่ม ให้ทุก 3 วัน จนอายุครบ 15 วัน แบ่งเป็น 3 กลุ่มทดลอง แต่ละกลุ่มได้รับ *S.* Gallinarum, *S.* pullorum และ *S.* Typhimurium ความเข้มข้น 2×10^5 CFU/chicks ผลการตรวจนับพบว่าจำนวน Salmonella ในกระเพาะพักและลำไส้ใหญ่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมไม่ได้รับโพรไบโอติก

Corrier และคณะ (1995) สกัดแยกส่วนของเหลวในส่วนลำไส้ใหญ่ของไก่พันธุ์เนื้ออายุ 10 สัปดาห์ ได้แบคทีเรียทั้งสิ้น 29 สายพันธุ์ ประกอบด้วย 15 facultative anaerobes และ 14 obligate anaerobes เพาะเลี้ยงในระบบ continuous flow cultures ทดลองโดยการฉีดพ่น CCF Culture ในโรงเรือนที่เลี้ยงไก่อายุ 1 วัน เปรียบเทียบจำนวน Salmonella ที่ตรวจพบในโรงเรือน ในลำไส้อายุ 3 และ 6 สัปดาห์ และใน Skin feather เมื่ออายุ 6 สัปดาห์ ระหว่างกลุ่มได้รับ CCF Culture และกลุ่มควบคุม ผลการทดลองพบว่ามีการปนเปื้อนของ Salmonella เข้ามาในโรงเรือนตั้งแต่วันแรก ๆ ของการเลี้ยงและตรวจพบอย่างต่อเนื่องตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ขณะที่ในลำไส้ใหญ่อายุ 3 สัปดาห์ ตรวจพบจำนวน Salmonella ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และเมื่ออายุครบ 6 สัปดาห์ ผลการตรวจ skin feather จำนวน Salmonella ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ในชุดซ้ำที่ 1 แต่ในอีก 2 ชุดทดลองผลไม่แตกต่างกับกลุ่มควบคุม สรุปได้ว่าการนำแบคทีเรียผสมจากของเหลวสกัดแยกจากลำไส้ใหญ่ไก่โตเต็มวัยใช้ในรูปสเปรย์ฉีดพ่นรอบโรงเรือนสามารถต้านทานการติดเชื้อ Salmonella ได้

Nisbet และคณะ (1995) นำแอนแอโรบิคแบคทีเรียแบบผสมในรูปของเหลวแยกได้จากลำไส้ใหญ่ และอุจจาระไก่โตเต็มวัยและมีสุขภาพดีจำนวน 29 สายพันธุ์ ประกอบด้วย *Enterococcus* spp., *Lactococcus* spp., *E. coli*, *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., Lactobacillus, Pseudomonas, Propionibacterium, Bifidobacterium, Eubacterium, Veillonella และ Fusobacterium ใช้ในรูปโพรไบโอติกเพื่อควบคุมและยับยั้งการเจริญของ Salmonella ในลำไส้ไก่ ปริมาณที่เหมาะสมในการใช้ คือ 10^8 CFU/ml ผสมในน้ำดื่มในอัตรา 1: 4 (1 ส่วนโพรไบโอติก : 4 ส่วนของน้ำ) ให้น้ำไก่ตั้งแต่แรกเกิดจนครบ 18 ชั่วโมง ประมาณว่าไก่ 1 ตัวได้รับน้ำ 10 มิลลิลิตร จึงเปลี่ยนให้น้ำตามปกติ และให้ *S.* Typhimurium 10^4 CFU/ml เมื่อ

อายุ 3 วัน ปรากฏว่าไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกสามารถเพิ่มความต้านทานต่อการติดเชื้อ Salmonella ได้โดยลดจำนวน Salmonella ในลำไส้ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.005$)

Haddadin และคณะ (1996) ผสม *L. acidophilus* ความเข้มข้นประมาณ 10^9 CFU/ml ในรูป broth เข้ากับอาหารไก่ไข่โดยให้ทุก 3 วัน จนครบอายุ 40 สัปดาห์ ในช่วง 8 สัปดาห์สุดท้ายให้อาหารสูตรปกติ ปรากฏว่าปริมาณไข่ที่ผลิตและประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ (8% และ 14.8%) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และปริมาณคลอเลสเตอรอลในไข่แดงลดลงถึง 18.8% โดยเฉพาะไนกลุ่มที่ได้รับ *L. acidophilus* ขนาด 4.0×10^6 CFU/ml ปริมาณคลอเลสเตอรอลลดลงต่ำกว่ากลุ่มควบคุมถึง 55% สาเหตุสำคัญพบว่าปริมาณ *L. acidophilus* ในกลุ่มทดลองมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุมมาก และสูงกว่าความเข้มข้นตั้งต้นที่เติมลงไป แสดงว่า *L. acidophilus* สายพันธุ์ที่ให้สามารถเข้าไปเจริญและเพิ่มจำนวนในลำไส้ได้

Yeo และ Kim (1997) เปรียบเทียบการเสริมสารปฏิชีวนะในอาหาร โพรไบโอติกและ Yucca Extract ซึ่งเป็นของเหลวสกัดจากลำไส้ไก่โตเต็มวัยประกอบด้วยส่วนผสมของจุลินทรีย์หลายชนิดนำมาเลี้ยงไก่กระทง เสริมคลอเตตราซัยคลินในอาหาร 0.1% , *Lactobacillus* casei 0.1% และ Yucca Extract 0.2% ตามลำดับ ไก่กลุ่มได้รับอาหารผสมโพรไบโอติกมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อวันสูงกว่ากลุ่มควบคุมในช่วง 3 สัปดาห์แรกอย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.05$) โดยในช่วง 3 สัปดาห์แรกไก่กลุ่มได้รับโพรไบโอติกในอาหารมีแอคติวิตีของเอนไซม์ยูรีเอสในลำไส้เล็กลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P< 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับไก่กลุ่มควบคุม แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในลำไส้ใหญ่ แต่เมื่อเลี้ยงครบ 6 สัปดาห์แอคติวิตีของเอนไซม์ยูรีเอสไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จึงกล่าวได้ว่าการเสริมโพรไบโอติกในอาหารไก่สามารถลดแอคติวิตีของเอนไซม์ยูรีเอสในลำไส้เล็กไก่รุ่นได้ และมีประสิทธิภาพช่วยเสริมสร้างให้ไก่มีสุขภาพแข็งแรง และเจริญเติบโตดีกว่าไก่กลุ่มได้รับสารปฏิชีวนะ การลดลงของปริมาณเอนไซม์ยูรีเอสนี้ส่งผลลดการสะสมของปริมาณแอมโมเนียซึ่งเป็นพิษต่อลำไส้ลง มีผลทำให้อัตราการเจริญของไก่ดีขึ้น

ฐิติพงษ์ (2539) ทดลองแยก *Lactobacillus* spp. จำนวน 6 สายพันธุ์จากลำไส้ไก่โตเต็มวัยที่มีสุขภาพแข็งแรง คัดเลือกสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดลองก่อโรคในคนและสัตว์ มีความทนต่อเกลือน้ำดีที่ความเข้มข้นสูง และทนต่อสารปฏิชีวนะที่ใช้เสริมในอาหารสัตว์ นำ *Lactobacillus* spp. ทั้ง 6 สายพันธุ์ที่ได้ผสมในรูปโพรไบโอติกเสริมในการเลี้ยงไก่ โดยเตรียมในรูปสารละลายเซลล์ลดใน 0.85% โซเดียมคลอไรด์ ให้ที่ความเข้มข้นและระยะเวลาต่าง ๆ กัน พบว่าไก่กลุ่มทดลองที่ให้กิน *Lactobacillus* spp. แบบผสมมีน้ำหนักตัวมากกว่าไก่กลุ่มควบคุมซึ่งไม่ได้ให้ *Lactobacillus* spp. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P< 0.05$) ปริมาณการให้

ที่เหมาะสมเท่ากับ 10 ^{6}CFU/ml และให้ทุก 3 วัน ประสิทธิภาพการใช้อาหารไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทั้ง 2 กลุ่ม และสามารถลดการเป็นพาหะของเชื้อ S. Typhimurium ในลำไส้ลงได้

Lactobacillus

แบคทีเรียในสกุล Lactobacillus จัดอยู่ในตระกูล Lactobacillaceae (Sharpe, 1981) รูปร่างท่อน แกรมบวก ไม่สร้างสปอร์ (Brock และ Madigan, 1991) ลักษณะรูปร่างและการเรียงตัวอาจพบหลายแบบ เช่น รูปโค้ง ท่อนโค้ง โคไรนีฟอร์ม หรือ สายยาวคล้ายเส้นด้าย ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และสภาวะในการเจริญ (Kandler และ Weiss, 1986) ความต้องการสารอาหารค่อนข้างสลับซับซ้อน (Prescott และ Dunn, 1959) เช่น ใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจน เชื้อจะเจริญได้ดีในอาหารที่มี Growth Factor และวิตามินหลายชนิด เช่น ไบโอติน (Biotin), ไรโบฟลาวิน (Riboflavin) และส่วนใหญ่ต้องการสารอนินทรีย์ในปริมาณค่อนข้างสูง เช่น แมงกานีส (Mn), แมกนีเซียม (Mg), ฟอสฟอรัส (P), (Tittsler และคณะ, 1952) เจริญได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศ (Aerobe) หรือ ต้องการอากาศเล็กน้อย (Microaerophile) (Sharpe, 1981) ได้พลังงานจากการหมักน้ำตาลโดยไม่ใช้ออกซิเจน (Frazier และ Westhoff, 1979) และได้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักขั้นสุดท้ายที่เกิดจากการหมัก (Stanier, 1986) จึงจัดอยู่ในกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Brock และ Madigan, 1991) ต้องการคาร์บอนไดออกไซด์ในการเจริญ 5-10 เปอร์เซ็นต์ จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียชอบกรดหรือทนกรด pH ที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 5.5 – 6.2 บางครั้งพบเจริญได้ในที่ ๆ มี pH ต่ำกว่า 5.0 การเจริญจะลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะแวดล้อมที่เป็นกลาง หรือเป็นเบส อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 30 - 40^{0}ซ แต่โดยทั่วไปสามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิกว้าง ประมาณ 2 –53 ^{0}ซ (Kandler และ Weiss, 1986)

เนื่องจากสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนต่ำ มีความสามารถในการทนกรดได้สูง สามารถเจริญได้ในที่ ๆ มี pH ต่ำ จึงมักตรวจพบในผลิตภัณฑ์หมักดองทั้งหลาย เช่น ไส้กรอก ผักดอง นมเปรี้ยว เนยแข็ง โยเกิร์ต และผลิตภัณฑ์นมทั้งหลาย พบในเมล็ดธัญพืชและผลิตภัณฑ์น้ำผลไม้ รวมทั้งพบในระบบทางเดินอาหารและลำไส้ของคนและสัตว์ ได้แก่ สุกร หนู และสัตว์ปีก (Kandler และ Weiss, 1986, Sharpe, 1981) Lactobacilli มีความสามารถเจริญอยู่ในบริเวณเยื่อบุทางเดินอาหารได้ เนื่องจากมีความสามารถในการยึดเกาะ (adhesion) สูง โดยมีความจำเพาะเจาะจงต่อชนิดของผู้อาศัยและและบริเวณที่เข้าไปเจริญ เช่น สายพันธุ์ของ Lactobacilli ที่แยกได้จากนกและสัตว์ปีกเท่านั้นที่สามารถเข้ายึดเกาะกับบริเวณเยื่อบุกระเพาะบดของไก่ (Fuller,

1989) Lactobacilli สายพันธุ์แยกได้จากหนูเท่านั้นที่สามารถเข้ายึดเกาะกับเยื่อบุกระเพาะอาหารหนูได้ (Sharpe, 1981)

นอกจาก Lactobacillus แบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดแลคติกหรือแลคติกแอซิดแบคทีเรียยังสามารถแบ่งได้อีก 4 สกุล ได้แก่ Streptococcus (Lactococcus), Leuconostoc, Pediococcus และ Bifidobacterium โดยสมาชิกทุกตัวในกลุ่มสามารถเจริญได้ในสภาพไม่มีออกซิเจน (anaerobic) ได้พลังงานจากการหมักย่อยน้ำตาล มีสมบัติแตกต่างจากกลุ่มแอนแอโรปส์โดยทั่วไป เนื่องจากสามารถทนต่อออกซิเจน เจริญได้ทั้งที่มีและไม่มีออกซิเจน จัดอยู่ในกลุ่มแอนแอโรปส์แบคทีเรียทนออกซิเจน (aerotolerant anaerobes) ขาดเอนไซม์คะตะเลส แต่สามารถย่อยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้โดยผ่านเอนไซม์เพอโรออกซิเดส (peroxidase) (Brock และ Madigan, 1991) มีบทบาทที่สำคัญในการผลิตอาหาร ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม อาหารหมักดองต่าง ๆ เป็นต้น (นภา, 2534) เช่น Streptococcus เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมนม คือใช้ในการเตรียมเนย เนยแข็ง และนมเปรี้ยว (B uchanan และ Gibbons, 1974) Leuconostoc มีความสำคัญต่อการเริ่มต้นขบวนการหมักพวกผัก มีบางสายพันธุ์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นม (นภา, 2522) Pediococcus มักพบในอาหารพวกผัก เนื้อ ไส้กรอกเปรี้ยว เป็นต้น (Buchanan และ Gibbons, 1974) และในบางสายพันธุ์อาจใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์แทนการใช้สารปฏิชีวนะ (เพิ่มพงศ์, 2524)

แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถแบ่งได้ตามลักษณะการหมักได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. Homofermentative Lactic Acid Bacteria คือ แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส หรือ น้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัว ให้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์หลักขั้นสุดท้าย ส่วนที่เหลืออาจนำไปใช้เพื่อให้พลังงาน (Brock and Madigan, 1991) เช่น *Lactobacillus acidophilus, Lactobacillus delbreckii, Lactobacillus jensenii* (De Vuyst และ Vandamme, 1991)

2. Heterofermentative Lactic Acid Bacteria คือ แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส หรือ น้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัว ให้กรดแลคติกเป็นผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่กว่า 50% ผลิตภัณฑ์ส่วนน้อยเป็นกรดอะซิติก เอธิลอัลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ (Tamine, 1981) เช่น *Leuconostoc mesenteroides, Lactobacillus fermentum, Lactobacillus brevis* (De Vuyst และ Vandamme, 1991)

แสดงรูปร่าง การเรียงตัว และ ลักษณะการหมักน้ำตาลของแบคทีเรียในกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ได้ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 รูปร่าง การเรียงตัว และลักษณะการหมักน้ำตาลของแบคทีเรียในกลุ่มแลคติก แอซิดแบคทีเรีย

สกุล	รูปร่าง การเรียงตัว	ลักษณะการหมัก	DNA (Mole% GC)
Lactobacillus	(1) ท่อน สายยาว	Homofermentative	32-53
	(2) ท่อน สายยาว	Heterofermentative	34-53
Streptococcus	กลม สายยาว	Homofermentative	34-46
Leuconostoc	กลม สายยาว	Heterofermentative	38-41
Pediococcus	กลม คู่สี่	Homofermentative	34-42
	โค้งคล้ายตระบอง หรือเรียงตัว	Heterofermentative	57-64
Bifidobacterium	คล้ายอักษรตัวงาย หรือ วี		

ที่มา : ดัดแปลงจาก Brock และ Madigan, 1991

กระบวนการหมักที่เกิดกรดแลคติกที่สำคัญมี 2 กระบวนการ ดังนี้

Homofermentation

เป็นกระบวนการที่เกิดกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่จากจุลินทรีย์พวก Homofermentative Lactic acid Bacteria เริ่มจากน้ำตาลแลคโตสจะผ่านเข้าสู่เซลล์โดยปฏิกิริยาเติมหมู่ฟอสเฟต ได้เป็น Lactose-6-phosphate โดยอาศัยเอนไซม์ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม (Cytoplasmic membrane) ที่เรียกว่า Phosphoenol-pyruvate-Dependent Phosphotransferase System (PEP-PTS) Lactose-6-phosphate จะถูกเอนไซม์ Phospho-ß-Galactosidase ไฮโดรไลซ์ได้เป็น Galactose-6-Phosphate กับ Glucose ซึ่งกลูโคสจะผ่านเข้าสู่กระบวนการไกลโคไลซิส ได้เป็น Pyruvate และจะถูกเปลี่ยนเป็น Lactate โดยเอนไซม์ Lactate Dehydrogenase ในขั้นตอนสุดท้าย ดังรูปที่1 ส่วน Galactose-6-Phosphateจะเข้าสู่กระบวนการต่างๆ ใน Tagatose-6-Phosphate Pathway ได้เป็น Tagatose-1,6-Diphosphate (Wood, 1985) และถูกเปลี่ยนเป็น Glyceraldehyde-3-P และ Dihydroxyacetone-Phosphate ในขั้นตอนสุดท้ายโดยเอนไซม์ Aldolase (Brock และ Madigan, 1991) ซึ่ง Glyceraldehyde-3-Phosphate เป็นสารตัวกลางใน

กระบวนการ EMP Pathway และเปลี่ยนเป็น Lactate ในที่สุด แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีกระบวนการหมักแบบนี้ เช่น *Lactobacillus lactis* และ *L. helveticus*

Heterofermentation

เป็นกระบวนการที่เกิดกรดแลคติกประมาณ 50% และจะได้ผลิตภัณฑ์อื่นๆ ร่วมด้วย ได้แก่ กรดอะซิติก เอธิลอัลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยกลุ่ม Heterofermentative Lactic Acid Bacteria ต่างจากกลุ่ม Homofermentative Lactic Acid Bacteria ดังรูปที่ 2 โดยแบคทีเรียในกลุ่มนี้จะไม่มีเอนไซม์ Aldolase ซึ่งเป็นเอนไซม์สำคัญในกระบวนการไกลโคไลซิส จึงทำให้ไม่สามารถย่อย Fructose-1,6-Diphophate เป็น Triose-Phosphate ได้จึงต้องออกซิไดซ์ Glucose-6-Phosphate ได้เป็น 6-Phosphogluconate จากนั้นเกิดปฏิกิริยา Decaboxylate ได้เป็น Pentose-Phosphate ซึ่ง Pentose-Phosphate จะถูกย่อยโดยเอนไซม์ Phosphoketolase แตกตัวเป็น Triose-Phosphate และ Acetyl-Phosphate โดยที่ Triose-Phosphate จะถูกเปลี่ยนเป็นกรดแลคติกได้พลังงาน 1 ATP ส่วน Acetyl-Phosphate จะเปลี่ยนเป็น Acetaldehyde และ Ethanol โดยไม่ได้รับพลังงาน (Brock และ Madigan, 1991) แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีกระบวนการหมักแบบนี้ ได้แก่ *Lactobacillus brevis* , *Lactobacillus fermentum* เป็นต้น (Kandler และ Weiss, 1986)

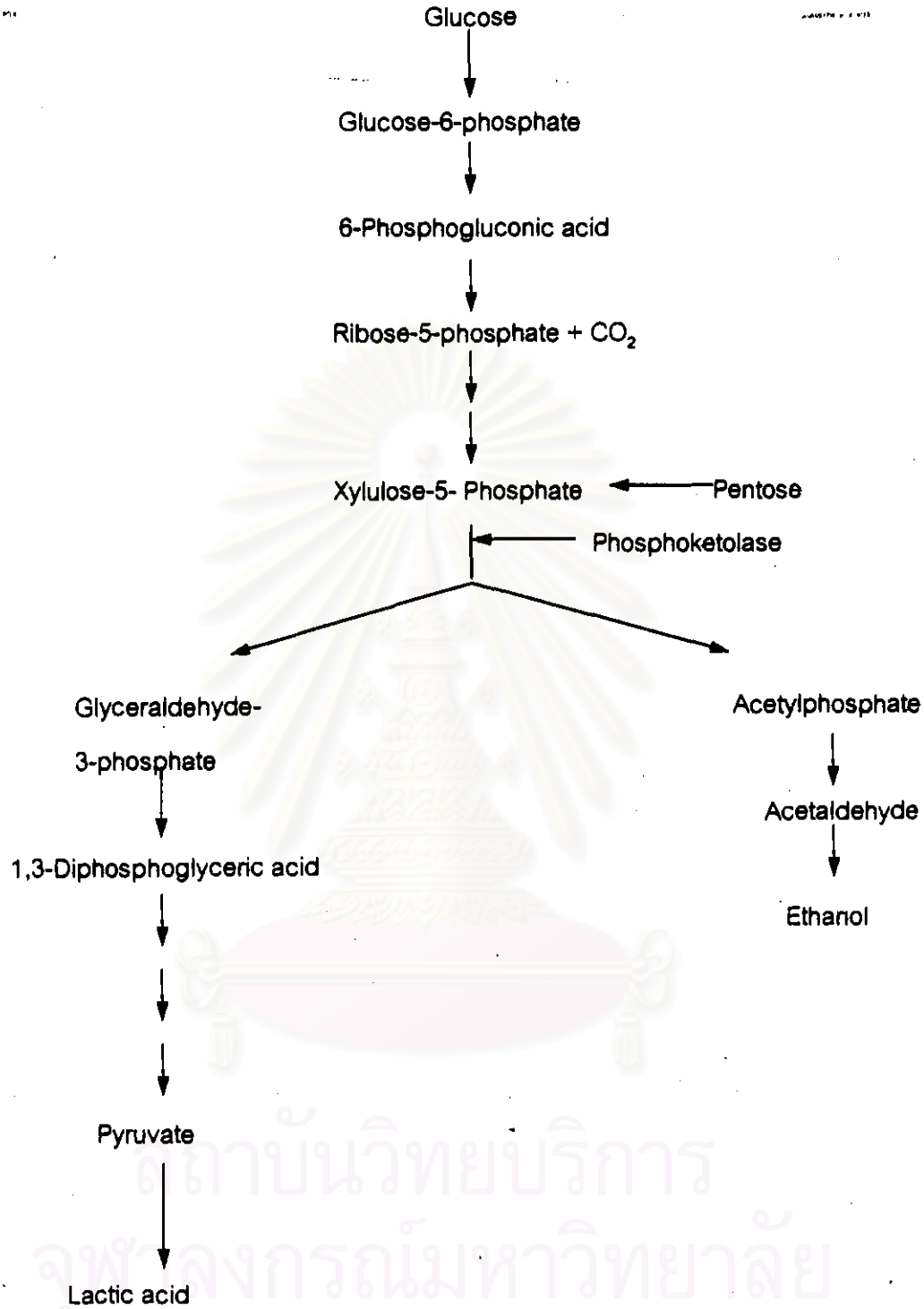
สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 1 กระบวนการหมักย่อยน้ำตาลแลคโตสโดย Homofermentative Lactic Acid Bacteria : *Lactobacillus lactis*

ที่มา : Wood, 1985

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 2 กระบวนการหมักย่อยน้ำตาลกลูโคสโดย Heterofermentative Lactic Acid Bacteria : *Lactobacillus fermentum*

ที่มา : Brock และ Madigan, 1991.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารยับยั้งการเจริญที่ผลิตโดยแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

การที่แลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อถนอมอาหารและนำมาใช้เป็นสารเร่งการเจริญในสัตว์เนื่องจากเป็นเพราะกลุ่มแบคทีเรียที่สามารถผลิตสารต่อต้านจุลชีพและสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญต่อจุลินทรีย์ได้หลายกลุ่ม โดยเฉพาะกลุ่มก่อโรคในระบบทางเดินอาหาร สารยับยั้งการเจริญและต่อต้านจุลชีพเหล่านี้ ได้แก่ กรดอินทรีย์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ไดอะซิติล และแบคเทอริโอซิน (Davidson และ Hoover, 1993)

กรดอินทรีย์

กรดอินทรีย์ที่แลคติกแอซิดแบคทีเรียสร้างขึ้นในระหว่างการเจริญส่งผลลด pH ในช่วงแรกของการเจริญ มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มไม่ทนกรด (Mayra และ Bigret, 1993) เช่น *Bacillus* sp., *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Pseudomones* sp. เป็นต้น กรดอินทรีย์มีผลยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิสมที่จำเป็นต่อการดำรงชีพของจุลินทรีย์ โดยการเกิดปฏิกิริยากับเซลล์มีผลทำลายเซลล์ หรือหน่วงเหนี่ยวการเจริญของจุลินทรีย์นั้นๆ (Fuller, 1989)

ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ระหว่างการเจริญเติบโตได้โดยเฉพาะเมื่อเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีอากาศโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่สร้างจะถูกสะสมไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการเจริญ เนื่องจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียขาดเอนไซม์คะตะเลส ทำให้ไม่สามารถคะตะไลส์ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียกลุ่มก่อโรคได้กว้างขวาง เช่น *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas* spp. (Mayra และ Bigret, 1993) โดยทั่วไปในน้ำนมจะมีเอนไซม์ lactoperoxidase อยู่ในระดับสูง ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่แลคติกแอซิดแบคทีเรียสร้างขึ้นจะถูกเร่งให้ทำปฏิกิริยากับไทโอไซยาเนต (thiocyanate) ซึ่งพบในสารคัดหลั่งจากสัตว์โดยทั่วไปโดยเอนไซม์ lactoperoxidase เรียกกระบวนการนี้ว่า Lactoperoxidase antibacterial system สารประกอบออกซิไดซ์ที่ได้จะมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญจุลินทรีย์ได้หลายชนิด (Bjorck, 1985)

ไดอะซิติล (Diacetyl)

ไดอะซิติล (2,3-butanedione) สร้างมาจากไพรูเวท (Pyruvate) เป็นสารที่มีกลิ่นหอมจึงนิยมนำมาใช้อุตสาหกรรมทำเนย สามารถออกฤทธิ์ยับยั้งยีสต์และแบคทีเรียแกรมลบ ได้แก่

Listeria monocytogenes, *L. ivanovii*, *L. innocua*, *Salmonella anatum*, *S.* Typhimurium, *Yersinia enterocolitica*, *Escherichia coli* และ *Aeromonas hydrophila* (Jay, 1982)

แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)

แลคติกแอซิดแบคทีเรียเป็นกลุ่มแบคทีเรียแกรมบวกที่มีการผลิตแบคเทอริโอซินกว้างขวางมากที่สุด แบคเทอริโอซินจัดเป็นสารต่อต้านจุลชีพ (Antimicrobial Substance) โดยทั่วไปผลิตได้จากแบคทีเรียทั้งในกลุ่มแกรมลบและแกรมบวก มีโครงสร้างเป็นโปรตีนออกฤทธิ์ฆ่าหรือทำลายแบคทีเรียอย่างจำเพาะเจาะจงโดยมีผลต่อแบคทีเรียในชนิดเดียวกันแต่ต่างสายพันธุ์กันสามารถออกฤทธิ์ทำลายแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสีย และแบคทีเรียกลุ่มก่อโรคในอาหาร เช่น *Bacillus cereus*, *Clostridium Botulinum*, *Clostridium Perfringern*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* หลายตัวมีสมบติทนต่อความร้อน จึงมีความสนใจในการนำไปใช้เป็นสารถนอมอาหาร ที่มีการค้นพบและนำไปใช้ในการถนอมอาหารแล้ว ได้แก่ ไนซิน ซึ่งผลิตจาก *L. lactis* subsp. *lactis* สามารถทนร้อนและออกฤทธิ์ได้ในช่วง pH กรด ปัจจุบันใช้ในอุตสาหกรรมผลิตเนยแข็งเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของ Clostridia (De Vuyst และ Vandamme, 1994)

การเก็บรักษาแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพื่อใช้ในทางอุตสาหกรรม

สำหรับการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมโดยทั่วไปนิยมเก็บรักษาหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียและ Lactobacillus ในรูปทำแห้งมากกว่าเซลล์สด วิธีที่นิยมใช้ คือ การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze Drying) และการทำแห้งแบบผงแห้ง (Spray Drying) (Kets และคณะ, 1996) เนื่องจากสามารถขจัดความชื้นและยืดอายุการเก็บหัวเชื้อและผลิตภัณฑ์ได้นานมากกว่า 1 ปีในสภาพการเก็บที่เย็นและไม่มีแสง และยังคงมีอัตราการรอดชีวิตของหัวเชื้อแบคทีเรีย หรือสปอร์ของราอยู่ในระดับสูงเมื่อเทียบกับวิธีอื่น ๆ (พรเทพ, 2538)

Kim และ Blowmik (1990) ศึกษาอัตราการรอดชีวิตของแลคติกแอซิดแบคทีเรียในโยเกิร์ตธรรมชาติระหว่างการทำแห้ง พบว่าการทำแห้งด้วยวิธีเยือกแข็งจะมีอัตราการรอดชีวิตของ *Streptococcus thermophilus* และ *L. bulgaricus* สูงกว่าการทำแห้งด้วยวิธีผงแห้ง และปริมาณ *S. thermophilus* ที่รอดชีวิตภายหลังการทำแห้งโดยวิธีผงแห้งมีเพียงครึ่งหนึ่งของการทำแห้งด้วยวิธีเยือกแข็ง เนื่องจากการทำแห้งแบบผงแห้งใช้อุณหภูมิสูงกว่าการทำแห้งแบบเยือกแข็ง ในขณะที่ปริมาณ *L. bulgaricus* ที่รอดชีวิตภายหลังการทำแห้งทั้ง 2 วิธีมีค่าใกล้เคียงกัน

การทำแห้งแบบเยือกแข็ง

การทำแห้งแบบเยือกแข็ง (Freeze Drying หรือ Lyophilization) เป็นกระบวนการที่ถูกนำมาใช้เพื่อเก็บรักษาสารชีวภาพ โดยไม่ทำให้คุณสมบัติประจำตัวของสารสูญเสียไป (Mellor, 1978) เมื่อเปรียบเทียบกับการทำแห้งแบบผงแห้ง การทำแห้งแบบเยือกแข็งใช้อุณหภูมิในการทำแห้งต่ำกว่าทำให้ไม่ได้รับการสูญเสียเนื่องจากความร้อน ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำแห้งแบบเยือกแข็งจะได้รับความกระทบกระเทือนเพียงเล็กน้อย (Lingle, 1986) สารชีวภาพที่นิยมนำมาทำแห้งแบบเยือกแข็งสามารถแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ เซลล์ไม่มีชีวิต (non-living matter) เช่น blood plasma, serum, hormone และผลิตภัณฑ์อาหาร อีกกลุ่ม ได้แก่เซลล์ที่มีชีวิต (living cells) ซึ่งต้องการคงความมีชีวิตรอดของเซลล์ไว้ในระยะเวลานาน ได้แก่ แบคทีเรีย ยีสต์ และไวรัส

สำหรับหลักการทำงานของเครื่อง Freezed Dryed หรือ Lyophilizer จะเป็นการทำให้เซลล์จุลินทรีย์หรือสารชีวภาพแข็งตัวโดยการลดอุณหภูมิ ความดัน และกระทำภายใต้ภาวะสูญญากาศ โดยอาศัยหลักการระเหิด (Sublimating) และการคาย (Desorbsion) ดึงน้ำในเซลล์ออก ทำให้จุลินทรีย์ที่อยู่ภายใต้สภาวะการเก็บที่อุณหภูมิต่ำอยู่ในภาวะพักตัว มีการลดลงของแอคติวิตีและกิจกรรมของเอนไซม์แต่ก็ยังคงสมบัติของเอนไซม์ไว้ได้โดยไม่ถูกทำลาย เมื่อเซลล์ถูกกระตุ้นใหม่เอนไซม์ก็สามารถทำงานได้ตามปกติ (Robinson, 1981, Norris และ Ribbon, 1970) ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ดังนี้ (พรเทพ, 2538, Mellor, 1978, Day และ McLellan, 1995)

1. Prefreezing สารชีวภาพที่ถูกเตรียมในรูปของเหลวจะถูกแช่แข็งภายใต้อุณหภูมิต่ำในอ่าง (chamber) ที่มีตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีจุดเยือกแข็งต่ำ เช่น เมทานอล เป็นตัวให้ความเย็น เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนนี้ของเหลวจะถูกเปลี่ยนสถานะกลายเป็นผลึกน้ำแข็ง

2. Primary Drying (Sublimating) ผลึกน้ำแข็งที่เกิดขึ้นถูกระเหิดจนกลายเป็นไอโดยการให้ความร้อนในสภาพสูญญากาศ การระเหิดจะเกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าก่อนและจะค่อย ๆ ครอบคลุมเข้าไปถึงบริเวณชั้นใน โดยอาศัยความแตกต่างของอุณหภูมิระหว่างแหล่งพลังงานความร้อนและน้ำแข็งบริเวณผิวหน้า (temperature gradient) ทำให้พลังงานความร้อนถูกส่งผ่านจากชั้นน้ำแข็งที่อยู่ภายในมาสู่น้ำแข็งบริเวณผิวหน้า ไอที่เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วนี้จะถูกกำจัดออกภายใต้ภาวะสูญญากาศอาศัยกระบวนการ mass transport ซึ่งเกิดขึ้นโดยความแตกต่างระหว่างความดัน (pressure gradient) ระหว่างผิวหน้าน้ำแข็งและส่วนที่ให้ความเย็น (refrigerated condenser) รวมทั้งการใช้สาร chemical dessicant ที่มีประสิทธภาพสูง ได้แก่ ฟอสฟอรัสเพนตะออกไซด์ (P_2O_5) เข้าไปจับไอน้ำแข็งที่เกิดขึ้น แต่จะทำได้ในปริมาณที่จำกัดเท่านั้น การกำจัดไอจะเกิดได้ดีหากว่าทำในส่วนให้ความเย็น (refrigerated condenser) ที่อุณหภูมิ $-50\ ^{\circ}$ซ สำหรับในเซลล์ที่มี

ชีวิตทั่วไป ได้แก่ แบคทีเรีย ภายในส่วนไซโตพลาสมโดยทั่วไปจะมีน้ำเป็นองค์ประกอบหลัก ได้แก่ free water ซึ่งเป็นตัวทำละลายอินทรีย์และสารประกอบเกลือแร่ต่าง ๆ ในส่วน inter และ intra-cellular spaces ส่วนน้อยจะประกอบด้วย bound water ซึ่งจะเชื่อมกับ macromolecules ในเซลล์ด้วย electrostatic forces หรือพันธะไฮโดรเจนที่แข็งแรงมาก ในขั้นตอนนี้จะเกิดผลึกน้ำแข็งในส่วน free water และจะถูกดึงออกอย่างง่ายดาย ซึ่งจะไม่เกิดขึ้นใน bound water หลังสิ้นสุดขั้นตอนนี้จะมีน้ำหรือความชื้นหลงเหลืออยู่ประมาณ 25-30 กรัมต่อปริมาณผลิตภัณฑ์ 100 กรัม หรือประมาณ 20–30 %

3. secondary drying (Desorbsion) เป็นขั้นตอนสุดท้ายของการดึงน้ำออก โดยจะดึงน้ำที่ยังหลงเหลืออยู่ในรูป bound water ซึ่งไม่ได้ถูกทำให้เป็นน้ำแข็งในขั้นตอน Prefreezing ออก bound water จะได้รับพลังงานความร้อนอย่างช้า ๆ จนน้ำกลายเป็นไอ (evaporation) เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนนี้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีลักษณะแห้ง มีน้ำหนักเบา มีปริมาณความชื้นเหลืออยู่ประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้งทั้งหมด

การทำแห้งแบบเยือกแข็งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการเก็บรักษาหัวเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียเพื่อใช้ในทางอุตสาหกรรมมากกกว่าวิธีอื่น เนื่องจากยังคงอัตราการรอดชีวิตไว้ได้ในระดับสูงเมื่อเก็บในระยะเวลานาน (พรเทพ, 2538) ประหยัดเนื้อที่ในการเก็บรักษา รวมทั้งสะดวกและนำไปใช้งานง่าย (Kets และคณะ, 1996) ในการทดลองนี้จึงนำ *Lactobacillus* spp. ทำแห้งแบบเยือกแข็งและเก็บรักษาในรูปเซลล์ผงแห้งภายใต้อุณหภูมิต่ำและตรวจสอบการรอดชีวิตหลังเก็บรักษานาน 12 เดือน เพื่อนำ *Lactobacillus* spp. ผงแห้งใช้ในรูปโพรไบโอติกเสริมในการเลี้ยงไก่ในการทดลองภาคสนาม ซึ่งคาดว่าน่าจะนำมาใช้ทดแทนการเสริมสารปฏิชีวนะในอาหารไก่ได้ต่อไปในอนาคต

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย