บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

1. ประวัติและความเป็นมาของการเติมสารปฏิชีวนะลงในอาหารสัตว์

การเติมสารปฏิชีวนะหรือสารต่างๆลงในอาหารสัตว์นั้นได้ทำกันมาตั้งแต่ต้นศตวรรษที่ 20 เริ่มแรกทีเดียวโดยการเติมสารประเภทระบายท้องจำพวกเกลือ (saline cathartic) เช่น ดีเกลือ (epsom salt) ลงไปในอาหารสำหรับสัตว์เลี้ยง ต่อมามีการใช้ดีเกลือร่วมกับสารประเภทผงถ่าน (charcoal) หรือน้ำมันชนิดต่าง ๆ เช่น anise oil ก็พบว่าช่วยให้สัตว์มีการขับถ่ายดีขึ้น ตั้งแต่นั้นมาก็เป็นที่ยอมรับกันว่า การเติมยาหรือสารบางจำพวกลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์ จะทำให้สัตว์มีสุขภาพดีกว่าการที่ไม่เติมอะไรเลย ต่อมาก็พบว่าการเติมยาหรือสารบางชนิดสามารถที่จะป้องกันหรือทำลายสารพิษที่สร้างจากพวกแบคทีเรีย หรือเชื้อราได้ด้วย หรือการเติมยาพวกสมุนไพร เช่น ขิง เปลือกไม้บางชนิด เจนเซี่ยน (gentian) ลงในอาหารสัตว์ พบว่าจะช่วยป้องกันโรคได้ และทำให้สัตว์มีการเจริญเติบโตได้ดีกว่าตามปกติในขณะเดียวกันก็ได้เริ่มมีการเติมเกลือของพวกสารหนู (arsenic salts) และสารจุนสี (copper sulfate) ลงในอาหารเพื่อรักษาและป้องกันโรคทางเดินอาหารในสุกรและสัตว์ปีก

ส่วนการผสมสารปฏิชีวนะและยาซัลฟาลงในอาหารสัตว์นั้นก็ได้เริ่มทำกันอย่างจริงจังเป็นเรื่องเป็นราวมาตั้งแต่ปี 2500 ซึ่งในระยะนั้นผู้เลี้ยงสัตว์มีการตื่นตัวในเรื่องนี้มาก อาหารสัตว์ทุกชนิดจะขายได้ดี ต่อเมื่อมีการผสมสารปฏิชีวนะหรือยาซัลฟาลงไปด้วย ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการผสมยาลงในอาหารสำหรับสัตว์เลี้ยงนั้น ได้มีวิวัฒนาการมาเรื่อยๆ ตั้งแต่จากการที่ผู้เลี้ยงสัตว์เติมสารลงไปในอาหารแบบครอบจักรวาลโดยไม่มีจุดมุ่งหมายที่แท้จริงจนกลายมาเป็นเรื่องที่เห็นว่าเป็นสิ่งสำคัญ และเป็นความจำเป็นต่ออุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ และเป็นการเพิ่มผลประโยชน์ให้แก่ผู้เลี้ยงด้วย

สารปฏิชีวนะ (Antibiotics) หมายถึง สารที่ได้จากกระบวนเมตาโบลิสม (metabolism) ของสิ่งมีชีวิต บางชนิด ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโต และ/หรือการอยู่รอดของสิ่งมีชีวิตอื่นได้ โดยใช้สารเพียงความเข้มข้นต่ำๆ เท่านั้น (Waksman,1961) สารปฏิชีวนะ หมายถึง สารเคมีที่ใช้ในการรักษาโรค ซึ่งได้มาจากจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งสร้างขึ้นเพื่อทำลายหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง (บัญญัติ, 2525) ส่วน Abraham และ Newton (Baker และ Prescho, 1973) กล่าวว่า

สารปฏิชีวนะเป็นสารประกอบธรรมชาติที่ได้จากสิ่งมีชีวิตโดยเฉพาะจุลินทรีย์ ซึ่งโดยตัวมันเอง หรือหลังจากนำสารประกอบนี้ไปผ่านกรรมวิธีทางเคมีแล้ว สามารถฆ่าหรือยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ หรือ เซลล์ที่ผิดปกติในสัตว์ชั้นสูง โดยใช้ปริมาณน้อยๆ

สารปฏิชีวนะเป็นผลผลิตจากกระบวนการเมตาโบลิสมที่ไม่เกี่ยวข้องหรือจำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของเซลล์ที่ผลิต แต่ถูกผลิตขึ้นมาเป็นพิเศษในจุลินทรีย์ชนิดที่ผลิตสารปฏิชีวนะได้ (Bu' lock, 1961; Katz และคณะ, 1977) ซึ่งเรียกกระบวนการนี้ว่า เมตาโบลิสมแบบทุติยภูมิ (secondary metabolism)และเรียกผลผลิตที่ได้ว่า เมตาโบไลท์แบบทุติยภูมิ (secondary metabolite) มีจุลินทรีย์บางชนิดเท่านั้นที่สามารถผลิตสารปฏิชีวนะ คือ แบคทีเรียและราบางชนิด(Aharonowitz, 1979) และชนิดที่สำคัญคือ แบคทีเรียพวกแอคติโนมัยสีท (Actinomycetes) ซึ่งสามารถผลิตสารปฏิชีวนะได้ประมาณ 85 เปอร์เซนต์ของสารปฏิชีวนะที่ผลิตได้ในประเทศญี่ปุ่นและอเมริกา เชื้อรา (fungi)ผลิตสารปฏิชีวนะได้ประมาณ11เปอร์เซนต์และแบคทีเรียอื่นๆผลิตได้ประมาณ4 เปอร์เซนต์ (Gottieb, 1973) ประมาณ 90 เปอร์เซนต์ของสารปฏิชีวนะที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันผลิตโดยแอคติโนมัยสีท ในกลุ่มสเตรปโตมัยสีท (Streptomyces) (Kurylowicz, 1976)

Prescott and Buggat (1988) พบว่าสารปฏิชีวนะที่ใช้ผสมอาหารสัตว์มีผลต่อสุขภาพสัตว์ ดังนี้

1. สามารถลดจำนวนหรือทำลายจุลชีพที่เป็นเหตุให้เกิดโรคในร่างกายลดลง ในสภาพที่ไก่ยังไม่แสดงอาการป่วย

2. กระตุ้นให้จุลชีพบางชนิด เช่น แลคโตแบซิลไล เพิ่มจำนวนมากขึ้น และสร้างวิตามินบี 12 และวิตามินซีเพิ่มขึ้น

3. สารปฏิชีวนะบางชนิดทำให้ผนังลำไส้บางลงทำให้การดูดซึมอาหารเข้าสู่ร่างกายได้ดีขึ้น

4. สารปฏิชีวนะบางชนิดทำให้เซลล์อุ้มน้ำมากขึ้น (water retention) ทำให้เซลล์บริเวณลำไส้ใหญ่ของไก่อุ้มน้ำได้มากขึ้น และสามารถดึงน้ำและไขมันกลับเข้าสู่ร่างกายได้มากขึ้น

5. สารปฏิชีวนะบางชนิดจะดึงเอาฮอร์โมนอะดรีนารีนออกมา ทำให้ลดความเครียดในสัตว์ลงได้ สัตว์จะเจริญเติบโตได้โดยไม่หยุดชะงัก

6. สารปฏิชีวนะบางชนิดจะกระตุ้นให้มีการสร้างเม็ดเลือดขาวมากขึ้น ไก่จะมีความต้านทานต่อโรคบางอย่างดีขึ้น

7. สารปฏิชีวนะบางชนิดจะทำให้ลดการบีบตัวของลำไส้ ทำให้มีการเก็บกักอาหารได้มากขึ้นอาหารผ่านช้าลง การดูดซึมอาหารจะมากขึ้น การเติบโตย่อมดีขึ้น

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

นอกจากนี้ยังมีรายงาน พบว่า การใช้สารปฏิชีวนะในระดับที่ใช้เพื่อเป็นการกระตุ้นการเจริญเติบโต มีผลไปยับยั้งการสร้างแอมโมเนียของจุลชีพจากสารที่มีไนโตรเจน เป็นส่วนประกอบในลำไส้ และ ชลอการดูดซึมของแอมโมเนียด้วย โดยปกติแล้วระดับของแอมโมเนียในทางเดินอาหารของสัตว์จะอยู่ระหว่าง 140-180 ppm. ถ้าระดับของแอมโมเนียสูงกว่าปกติ จะมีผลไปทำลายเซลล์และไปเปลี่ยนแปลงการสร้างนิวคลีอิคแอซิดขัดขวางการสร้างภูมิคุ้มกันโรค และเพิ่มอัตราการติดเชื้อและยังพบว่า สารต้านจุลชีพสามารถลดการเกิดไฮโดรลัยซีสของกรดน้ำดี (bile acids) ในร่างกายได้ด้วย ดังนั้นสารปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ จะช่วยลดการสร้างแอมโมเนียของจุลชีพจากยูเรีย หรือยูริคแอซิด และลดการสลายตัวของกรดน้ำดี (bile acids) จึงทำให้สัตว์มีการเจริญเติบโตดีขึ้น จะเห็นได้ว่า มีการศึกษามากมาย และศึกษาในทุกแง่ทุกมุมที่จะเป็นไปได้ เพื่อนำมาอธิบายถึงกลไกในการกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ แต่ก็ยังไม่มีข้อสรุปใดๆ ที่จะอธิบายถึงกลไกในการออกฤทธิ์ที่ชัดเจน ซึ่งเรื่องนี้ยังคงต้องมีการศึกษาต่อไปเพื่อจะได้เป็นแนวทางในการคิดค้นยาหรือสารกลุ่มอื่นๆ ที่มีผลไปกระตุ้นการเจริญเติบโตของสัตว์ให้ได้ผลดี อีกทั้งเพื่อเป็นประโยชน์ในการใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ได้อย่างถูกต้องและมีประสิทธิภาพได้มากที่สุด (มาลินี,2533)

สารปฏิชีวนะที่สัตว์ได้รับอยู่ทุกวันนั้นมีผลไปทำให้เกิดสภาพความกดดันขึ้นระหว่างจุลชีพที่อยู่ในระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะในส่วนของลำไส้จุลชีพกลุ่มที่มีความไวต่อสารปฏิ-ชีวนะก็จะถูกทำลายไปเรื่อยๆจนกระทั่งภายในระบบทางเดินอาหารอิ่มตัวไปด้วยจุลชีพที่ดื้อต่อสารปฏิชีวนะซึ่งจะกลายเป็นแหล่งเพาะเชื้อที่ดื้อต่อสารปฏิชีวนะ (pool of resistant bacteria) จุลชีพภายในร่างกายสัตว์ก็จะกลายเป็นจุลชีพที่ดื้อต่อสารปฏิชีวนะเป็นส่วนใหญ่ และยังมีจุลชีพกลุ่มที่ไวต่อสารปฏิชีวนะเหลืออยู่บางเพียงเล็กน้อย (มาลินี, 2533)

เมื่อหยุดให้สารปฏิชีวนะแล้วเชื้อดื้อต่อสารปฏิชีวนะในลำไส้จะสามารถกลับไปเป็นเชื้อปกติได้เร็ว หรือช้าขึ้นอยู่กับจำนวนเชื้อที่มีอยู่ในร่างกาย ถ้าหากในสิ่งแวดล้อมของร่างกาย มีแต่เชื้อที่ดื้อต่อสารปฏิชีวนะเต็มไปหมดโอกาสที่จะกลับไปเป็นจุลชีพปกติก็น้อยลง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

<u>ผลต่อสุขภาพของมนุษย์</u>

ปัญหาของเชื้อดื้อยาที่พบในมนุษย์ มีสาเหตุที่สำคัญมาจากการใช้สารปฏิชีวนะในอาหารสัตว์ เพื่อเป็นการกระตุ้นการเจริญเติบโตในสัตว์ นอกจากนี้ สารปฏิชีวนะที่ตกค้างอยู่ในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์จากสัตว์จะมีผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคอีกด้วย

FDA Task Force (1972) ได้สรุปผลการพิจารณาไว้ดังนี้

1. การใช้สารปฏิชีวนะ ในขนาดต่ำกว่าขนาดที่ใช้รักษาโรค เป็นผลทำให้เกิดการขยายตัวของเชื้อดื้อยา

2. สัตว์ที่ได้รับสารปฏิชีวนะในอาหารจะเป็นตัวสะสมเชื้อดื้อยา ทั้งชนิดทำให้เกิดโรคและไม่ทำให้เกิดโรคในร่างกาย และสัตว์ที่สะสมเชื้อดื้อยาอาจทำให้เกิดโรคในมนุษย์ได้

3. อัตราการเพิ่มของเชื้อดื้อยาที่มี R-factor ทั้งชนิดทำให้เกิดโรคและไม่ทำให้เกิดโรคมีความสัมพันธ์กับการใช้สารปฏิชีวนะในสัตว์

4. ตรวจพบเชื้อดื้อยาในเนื้อสัตว์

5. อัตราการเกิดเชื้อดื้อยาในมนุษย์เพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ

ตารางที่ 2.1 : สมบัติของ โพรไบโอติก และ สารปฏิชีวนะ

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. ให้ฤทธิ์ในการต้านเชื้อได้ทั่งร่างกายและออกฤทธิ์ต่อเชื้อต่างๆ ได้มากชนิด
3. เจริญได้ในทางเดินอาหารและแข่งการเจริญกับเชื้อก่อโรคได้	

2. ประวัติและความเป็นมาของโพรไบโอติก

นักวิทยาศาสตร์ได้นิยามความหมายของคำว่า โพรไบโอติก ไว้ดังนี้คือ

PARKER, 1974: จุลินทรีย์และสารซึ่งก่อให้เกิดการสมดุลย์ของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหาร

FULLER, 1989: การเสริมจุลินทรีย์ในอาหารสัตว์ซึ่งจะมีผลทำให้เกิดสมดุลย์ในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ชนิดนั้น

จุลินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นโพรไบโอติก (Fuller, 1989) ได้แก่

1. *Yeasts (Saccharomyces cerevisiae)*
2. *Lactobacilli*
3. *Streptococci*
4. *Bifidobacterium spp.*
5. *Bacillus subtilis*
6. *Enterococcus spp.*
7. *Escherichia coli*
8. *Clostridium butyricum*
9. Some combinations (mixed cultures)

โพรไบโอติกที่ใช้เป็นอาหารสำหรับเลี้ยงสัตว์ได้คือแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกและที่นิยมมากคือ แบคทีเรียในสกุล Lactobocillus เพราะแบคทีเรียในสกุลนี้นอกจากจะมีสมบัติตามที่แสดงในตารางที่ 2.1 แล้วยังเป็นพวกที่ไม่ก่อโรคในคนและสัตว์ง่ายต่อการเพาะเลี้ยง ทนต่อน้ำดีและกรดที่ pH ต่ำมากมีชีวิตยืนยาวและคงทนได้นานไม่ว่าในสภาพเดี่ยวหรือผสมร่วมกับอาหารผลิตกรดได้ และบางชนิดยังสามารถผลิตสารต่อต้านจุลชีพ นอกจากการใช้โพรไบโอติกเพื่อกระตุ้นการเจริญของสัตว์ ยังใช้ป้องกันโรคติดเชื้อที่เกี่ยวเนื่องกับโรคทางเดินอาหารในสัตว์ได้ (เพิ่มพงษ์, 2524)

3. การใช้โพรไบโอติกเสริมในอาหารสัตว์

เนื่องจากการใช้สารปฏิชีวนะเสริมในอาหารสัตว์ก่อให้เกิดผลเสียแก่ผู้บริโภคดังกล่าวมาแล้ว และพบว่าแลคติกแอซิดแบคทีเรียบางชนิดสามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆ โดยเฉพาะพวกที่ก่อให้เกิดโรคเกี่ยวกับระบบทางเดินอาหารของสัตว์ ดังนั้น การให้สัตว์กินแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถเข้าไปเจริญตั้งรกรากในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ได้จะช่วยทำให้จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคไม่สามารถเจริญและทำอันตรายต่อสัตว์ สัตว์จะมีสุขภาพดีซึ่งส่งผลทำให้สมรรถภาพในการผลิตของสัตว์เพิ่มขึ้นจึงมีผู้สนใจและพยายามนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียมาใช้เสริมในอาหารให้สัตว์กิน (วิโรจน์, 2525)

3.1 การใช้โพรไบโอติกในสุกร

ในปีค.ศ. 1959 Pasienyi ทดลองเลี้ยงสุกรด้วย Acidophilus Skim Milk ทั้งในรูปของเหลวและรูปผลิตภัณฑ์แห้งปริมาณ 1 ลิตร/ตัว/วัน ทำให้สุกรมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อวันเพิ่มขึ้น = 13% และสุกรใช้อาหารดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับสุกรที่กินนมเปรี้ยวตามธรรมชาติและต่อมา Redmond และ Moss (1966) ทดลองเลี้ยงสุกร แรกเกิดจนมีอายุได้ 2 เดือนด้วย Acidophilus Milk ในปริมาณ 0.5 มล./วัน ปรากฏว่าอาการเกิดโรคลำไส้อักเสบลดลงเป็นระยะเวลานาน

King (1968) ทดลองเสริม *L. acidophilus* ที่ผลิตเป็นการค้าซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีเชื้อจำนวนไม่ต่ำกว่า 10^7 เซลล์/กรัม ในอาหารเลี้ยงสุกรพันธุ์ลาร์จไวท์โดยให้กิน 2กรัม/ตัว/วัน พบว่าให้น้ำหนักเพิ่มโดยเฉลี่ยและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าพวกที่ไม่ได้เสริมด้วยเชื้อ

Olson (1969) ศึกษาโดยใช้เชื้อแห้งแข็ง *L. acidophilus* (Majdres) 50-100 กรัม ให้สุกรที่เป็นโรคลำไส้อักเสบเรื้อรังกินทุกวันเป็นเวลา 10 วัน ทำให้การเพิ่มน้ำหนักดีขึ้น 20-25% และหายจากโรคดังกล่าว และยังให้ผลดีต่อการป้องกันและรักษาโรคท้องร่วงในลูกสุกรหลังหย่านม

Premi และ Bottazzi (1975) ทดลองเอาเชื้อ *L. acidophilus* ให้ลูกสุกร 20 วัน หลังคลอดกินวันละ 10^8 เซลล์ ปรากฏว่ามีน้ำหนักดีกว่าพวกที่ไม่ได้กินเชื้อถึง 5% และยังมีสภาพระบบการทำงานของลำไส้ดีกว่า

Jensen (1975) ทดลองป้องกันการเกิดโรคท้องร่วงในสุกรโดยให้กิน *L. acidophilus* ปริมาณ 2-5 มิลลิลิตร (10^8 เซลล์) ต่อตัวต่อวันเป็นเวลานาน 2 เดือน หลังคลอดและหลังจากนั้นให้เชื้อปริมาณ 10-20 มิลลิลิตร (10^5 เซลล์) ต่อตัวต่อวัน ปรากฏว่าอาการท้องร่วงลดลง 80-90 เปอร์เซ็นต์

Maralidhara (1977) พบว่าเมื่อให้ *L. lactis* ที่เก็บรักษาในรูปเชื้อแช่แข็งแก่สุกรกินในประมาณ 1 ลิตร / 8-10 ตัว จะทำให้ *E. coli* ซึ่งทำให้เกิดโรคลดลง

วิโรจน์ วนาสิทธิชัยวัฒน์ และคณะ (2521) ได้ศึกษาการใช้แลคติดแอซิดแบคทีเรียในรูปเชื้อเหลวเป็นอาหารเสริมเลี้ยงสุกร ปรากฏว่าแลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถเจริญ อยู่รอดได้ในลำไส้สุกร และมีผลต่อการเจริญเติบโตของสุกร

เนื่องจากการนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียเสริมในอาหารหรือให้ลูกสุกรจะก่อให้เกิดผลดี จึงมีผู้ทดลองนำแลคติกแอซิดแบคทีเรียไปเสริมในอาหารสัตว์ปีกเพื่อจุดประสงค์ต่างๆที่จะช่วยให้สมรรถภาพในการผลิตสูงขึ้น นักวิทยาศาสตร์เชื่อกันว่าลูกไก่จะมีโอกาสติดเชื้อยากขึ้นหรือโตดีขึ้นถ้าหากลูกไก่นั้นมีแลคติดแอซิดแบคทีเรียที่สามารถสร้างสารยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ทำให้เกิดโรคโดยแลคติกแอซิดแบคทีเรียจะเจริญตั้งรกรากอยู่ในทางเดินอาหารของลูกไก่แรกเกิดก่อนแบคทีเรียพวกอื่นๆ แล้วแบคทีเรียที่ก่อโรคจะไม่เจริญ จึงไม่สามารถทำอันตรายต่อลูกไก่ได้ ผลที่เกิดขึ้น คือ ไก่จะเจริญเติบโตดี (เพิ่มพงษ์,2524)

3.2 การใช้โพรไบโอติกในสัตว์ปีก

Rettger และคณะ (1912) รายงานว่าการให้ลูกไก่แรกเกิดกินนมเปรี้ยวแล้วมีแนวโน้มว่าจะช่วยป้องกันโรคขี้ขาว ซึ่งเกิดจากเชื้อ *Salmonella pullorum* และมีรายงานว่า เชื้อ Salmonella ที่มีความสามารถทำให้เกิดโรคในคนมักจะอาศัยอยู่ในลำไส้ของไก่โดยไก่เป็นพาหะและไม่แสดงอาการออกมาให้เห็น ลูกไก่มีความไวที่สุดที่จะรับเชื้อ *Salmonella* โดยเชื้อจะเจริญได้ดีในทางเดินอาหารของลูกไก่ หลังจากการฟักออกเป็นตัวเมื่ออายุ 1 วัน เชื้อนี้จะเพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วและพบมากที่ส่วนของไส้ตัน จากเหตุผลนี้จึงมีผู้พยายามทดลองหาเชื้อแลคติกแอซิดแบคทีเรียที่ยับยั้งการเจริญของ *Salmonella* ได้ และพยายามให้ลูกไก่แรกเกิดกิน เพื่อป้องกันการติดเชื้อ Salmonella (Brownell, 1969)

Tortuero (1973) ได้ศึกษาผลการให้ *L. acidophilus* แก่ลูกไก่กระทงและไก่ฮอร์น อายุ 1 วัน โดยการเติมเชื้อผงแห้ง 1 กรัม (10^6 เซลล์) ในน้ำที่ไก่กิน 1 ลิตร ปรากฏว่าไก่จะมีน้ำหนักเพิ่มและประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีขึ้นและตรวจพบโคโลนีของ *Lactobacillus* เมื่อลูกไก่อายุ 9 วัน ในขณะที่จำนวน *enterococcus* ลดลงเกือบหมด และได้มีผู้ทดลองศึกษาเกี่ยวกับการเจริญของ *Lactobacillus* ที่ฝังตัวเข้ากับผนังของกระเพาะพักในลูกไก่แรกเกิดใหม่ก่อนแบคทีเรียชนิดอื่นจะมีผลยับยั้งการเพิ่มจำนวนของ*E. coli*โดยอาหารจะอยู่ในกระเพาะพักของลูกไก่ประมาณ 6 ชั่วโมง ทำให้การหมักของ *Lactobacillus* เกิดขึ้นได้ ยิ่งทำให้ *Lactobacillus* เจริญในกระเพาะพักเร็วเท่าใดยิ่งช่วยให้สมดุลย์ของแบคทีเรียในสภาพปกติเกิดได้เร็วขึ้นเท่านั้น ผู้รายงานยังเสนอว่าผลอันนี้น่าจะมีผลไปช่วยเร่งการเจริญเติบโตของลูกไก่ได้ด้วยและยังรายงานว่าการใช้ *Lactobacillus* ที่แยกจากสัตว์อื่นที่ไม่ใช่สัตว์ปีกจะไม่สามารถเจริญ หรือให้ผลดีเท่ากับ *Lactobacillus* ที่แยกมาจากสัตว์ปีก (Fuller, 1974)

Nikolic และคณะ (1974) ทดลองให้ลูกไก่แรกเกิดซึ่งป่วยเป็นโรคท้องร่วงจาก *E. coli* serotype 0.126, R16, 0.1148 กิน Acidophilus Milk ปรากฏว่าลูกไก่หายป่วย โดย *L. acidophilus* สามารถยับยั้งการเจริญของ *E. coli* ทั้ง 3 ชนิด

Stekar (1975) ทดลองเปรียบเทียบการเสริมสารปฏิชีวนะกับแลคติกแอซิดแบคทีเรียในอาหารที่ลูกไก่กินผลปรากฏว่าลูกไก่ที่ได้รับสารปฏิชีวนะกับลูกไก่ที่ได้รับแลคติกแอซิดแบคทีเรียมีน้ำหนักเพิ่มคล้ายคลึงกันแต่พวกที่ให้แลคติกแอซิดแบคทีเรียมีประสิทธิภาพในการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าพวกที่ให้สารปฏิชีวนะ

ในปี 1977 Lioyd และคณะทดลองการป้องกันการติดเชื้อ *Salmonella typhimurium* ในลูกไก่และลูกไก่วงแรกเกิดโดยใช้ของเหลวที่แยกจากส่วนต่างๆ ของลำไส้ของไก่หรือไก่วงที่โตเต็มที่ และมีสุขภาพสมบูรณ์ เจือจางในน้ำเกลือในอัตรา 1: 200 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วกรองผ่านใยแก้วส่วนที่จะนำไปกรอกให้ลูกไก่และลูกไก่วงในปริมาณตัวละ 0.2 มิลลิลิตร หลังจากกรอกของเหลวนี้แล้ว 3 วัน จึงกรอกเชื้อ *Salmonella typhimurium* พบว่าของเหลวที่แยกจากส่วนต่างๆของลำไส้นี้มีผลในการป้องกันการเจริญของเชื้อก่อโรคนี้ได้และของเหลวที่แยกได้จากส่วนของไส้ติ่งมีผลในการป้องกันการติดเชื้อได้ดีที่สุด

Barnes และคณะ (1981) รายงานว่า *Lactobacillus* เพียงชนิดเดียวไม่สามารถป้องกันการติดเชื้อ *Salmonella* ในลูกไก่แรกเกิดได้แต่ถ้าเป็นเชื้อแบคทีเรียผสมระหว่างพวกที่เจริญได้ ทั้งในสภาพที่มีและไม่มีออกซิเจน(anaerobe)ซึ่งแยกได้จากไก่ที่โตเต็มที่และมีสุขภาพสมบูรณ์จึงสามารถป้องกันการเจริญหรือการติดเชื้อ *Salmonella* ได้ และแบคทีเรียพวกที่เป็น facultative anaerobe ที่น่าสนใจมากที่สุดคือ *Streptococcus faecalis*

Bruce และคณะ (1982) ทดลองใช้เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ป้องกันและรักษาโรคที่เกิดจาก*E. coli* ในลูกไก่โดยกรอกเชื้อประมาณ10^8-10^9เซลล์/มล. ให้กับลูกไก่อายุประมาณ 2 วัน หลังจากนั้นอีกประมาณ 2 วันให้กินเชื้อ *E. coli* ซึ่งก่อให้เกิดโรคในไก่ได้ประมาณ 10^8-10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ผลปรากฏว่าจะลดอัตราการตายของลูกไก่ได้เป็นอย่างดี โดยที่เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* มีผลทำให้ pH ในกระเพาะพัก ไส้ติ่งและลำไส้ใหญ่ส่วนท้ายลดลง ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *E. coli*

4. แลคโตแบซิลไลในระบบทางเดินอาหารไก่

แลคโตแบซิลไลเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นของระบบทางเดินอาหารของสัตว์และคน (Sandine และคณะ, 1972 ; Sandine, 1979) ชนิดของแลคโตแบซิลไลในระบบทางเดินอาหารของสัตว์แต่ละชนิดจะแตกต่างกัน (Gilliland และคณะ,1975) แลคโตแบซิลไลที่มักพบในระบบทางเดินอาหารได้แก่ *L. acidophilus, L. bifidus, L. casei, L. fermentum และ L. plantarum* (Gilliland, 1979) สำหรับจำนวนของแลคโตแบซิลไลมีประมาณ 10^8 เซลล์/กรัมของมูลไก่ (Gilliland และคณะ, 1975) สำหรับในไก่ Harvath และคณะ(1958) ได้ศึกษาจำนวนแบคทีเรียชนิดต่างๆในมูลไก่ และรายงานว่ามี แลคโตแบซิลไล 10^8 เซลล์ต่อกรัมของมูลซึ่งใกล้เคียงกับรายงานของ Fuller และ Briggs (1962) สำหรับจำนวนแลคโตแบซิลไลในส่วนต่างๆของท่อทางเดินอาหารไก่ได้รวบรวมจากรายงานของ Pollmann และคณะ(1980) ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 : จำนวนแลคโตแบซิลไลในส่วนต่างๆของทางเดินอาหารไก่

Tissue	1. Gnotobiotic chicken 2. Conventional chicken	
	log colony forming unit/g.	
	Avg.	Avg.
Duodenum	3.54	7.95
Jejunum	3.92	7.10
Ileum	3.47	8.27
Cecum	3.53	10.69
Colon	3.79	10.97
Feces	3.89	10.20
Avg.	3.79	8.98

1. ไก่ที่เลี้ยงในสภาพปราศจากเชื้อ 2. ไก่ที่เลี้ยงสภาพปกติ

ที่มา : รวบรวมจาก Pollmann และคณะ (1980)

ความทนทานของแลคโตแบซิลไลต่อการยับยั้งการเจริญโดยระบบทางเดินอาหาร

มีปัจจัยหลายอย่างที่ควบคุมจำนวนและชนิดของแบคทีเรียในท่อทางเดินอาหารสิ่งที่ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียอับดับแรก คือ น้ำย่อยจากกระเพาะซึ่งความสามารถในการยับยั้งจะสัมพันธ์กับ pH และความเข้มข้นของกรดเกลือ นอกจากนี้ในกระเพาะยังมีเอนไซม์บางชนิดเช่นไลโซไซม์ (Lysozyme) ซึ่งจะทำลายแบคทีเรีย ส่วนในลำไส้นั้นแบคทีเรียต้องทนต่อเกลือน้ำดี (bile salt) ซึ่งจะยับยั้งการเจริญของแบคทีเรีย(Hawlay และคณะ,1959;Sandine,1975) นอกจากนี้แบคทีเรียยังจะต้องอยู่รอดในที่มีความตึงผิวต่ำ และกลไกอีกอันหนึ่งซึ่งควบคุมแบคทีเรียในลำไส้คือ ภูมิต้านทานของสัตว์ (Gilliland, 1975)

Gilliland (1979) ได้รายงานถึงการทนต่อกรดในกระเพาะอาหารของ แลคโตแบซิลไลชนิดต่างๆ คือ *L. casei* ทนกรดได้ดีกว่าชนิดอื่น คืออยู่รอดอย่างสมบูรณ์ใน 3 ชั่วโมงที่อยู่ในสารละลาย gastric juiceสังเคราะห์ซึ่งมี pH 3 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ส่วน *L. acidophilus* และ *L. plantarum* สามารถทนกรดได้ดีเช่นกัน นอกจากนี้ Shirota (1962) ได้รายงานว่า *L.*

acidophilus และ *L. casei* สามารถทนกรดที่ระดับ pH 4.0 ได้นานถึง 21 วัน มีรายงานว่าระดับ pH ของของเหลวในท่อทางเดินอาหารไก่นั้นแตกต่างกันดังนี้ ในกระเพาะอาหารมีระดับ pH ต่ำสุด (4.2-5.1) ลำไส้เล็กตอนต้นมี pH 6.2-7.1 ระดับ pH ของลำไส้ตอนปลายมี pH 6.8-8.0 ระดับ pH ของของเหลวใน caecum มีค่าประมาณ 6.5-7.2 ส่วนในลำไส้ใหญ่ช่วง pH ค่อนข้างกว้าง คือ 6.4-8.0 (Riis และ Jakobson, 1969)

ปัจจัยที่สำคัญอีกประการหนึ่งเกี่ยวข้องกับการควบคุมจำนวนและชนิดของแบคทีเรียคือกิจกรรมของเอนไซม์ไลโซไซม์ นักวิจัยที่ต้องการจะแยก DNA จากแลคโตแบซิลไล พบว่าเป็นการยากอย่างยิ่งที่จะทำลายแลคโตแบซิลไลด้วยไลโซไซม์ แสดงว่า แลคโตแบซิลไลสามารถทนต่อไลโซไซม์ได้ ดังนั้น จึงไม่เป็นปัญหาสำหรับแลคโตแบซิลไลในการเอาชนะสิ่งยับยั้งนี้ ในระบบทางเดินอาหาร (Gilliland, 1979)

เป็นที่ทราบกันมากว่า 50 ปีแล้วว่า แลคโตแบซิลไลมีความสามารถแตกต่างกันในการเจริญในที่ที่มีแรงตึงผิวต่ำ Albus (1928)ได้ทดลองเปรียบเทียบการทนต่อแรงตึงผิวต่ำของแลคโตแบซิลไลชนิดต่างๆ โดยใช้อาหารเหลวที่มีแรงตึงผิว 45.6, 42.6 และ 40.4 ดายน์ ซึ่งปรับระดับแรงตึงผิวด้วยการเติม Sodium ricinoleate พบว่า *L. bulgaricus* 17 สายพันธุ์ที่ใช้ทดสอบไม่สามารถเจริญที่แรงตึงผิว 40.4 ดายน์ ได้ขณะที่ *L. acidophilus* ทั้ง 15 สายพันธุ์ ที่ใช้ทดสอบเจริญได้ดี ส่วน *L. casei* ทุกสายพันธุ์เจริญได้ที่แรงตึงผิว 42.6 ดายน์

Gilliland และSpeck(1977) ได้แยกแลคโตแบซิลไล ที่ทนน้ำดีโดยใช้อาหาร Lactobacillus selection Agar ซึ่งเติม oxgall 0.15% และได้รายงานว่า *L. plantarum* ; *L. fermentum* ; *L. aicdophilus* *L. brevis* และ *L. casei* เจริญได้ในสภาวะดังกล่าว ส่วน *L. bulgaricus* และ *L. lactis* เจริญไม่ได้ นอกจากนี้ Shirota (1962) ได้รายงานว่า *L. bulgaricus* ; *L. fermentum* ; *L. acidophilus* และ *L. casei* สายพันธุ์ Shirota สามารถทนต่อความเข้มข้นของเกลือน้ำดี (ชนิดผง) ในระดับ 2, 4, 10, 12 และ 15 เปอร์เซนต์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อตามลำดับ

กลไกอีกอย่างหนึ่งในการควบคุมแบคทีเรียในลำไส้ คือ ภูมิต้านทานของสัตว์ ความรู้ในด้านนี้โดยเฉพาะเกี่ยวกับเชื้อแลคโตแบซิลไลยังมีรายงานน้อยมากในการศึกษาพบว่า*L. acidophilus* ซึ่งแยกมาลำไส้คนไม่สามารถเจริญอยู่ในลำไส้ของไก่ได้ (Morishita และคณะ, 1971) นอกจากนี้ยังมีผู้ศึกษาว่า *L. acidophilus* ซึ่งแยกจากคนและสัตว์อื่นๆจะมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน

(Gilliland ,1975) ดังนั้นการอยู่รอดของแลคโตแบซิลไลในลำไส้อาจเกี่ยวข้องกับความจำเพาะเจาะจงกับ host นั้นๆด้วย (Gilliland,1979) Barrow และคณะ (1980) ได้ศึกษาการยึดเกาะ (attachment) ของแลคโตแบซิลไลกับ Squamous epithelial cell ของสุกรพบว่า แลคโตแบซิลไลที่แยกจากสุกรเท่านั้นจึงสามารถยึดเกาะกับ squamous epithelial cell ของสุกรได้ในขณะที่แลคโตแบซิลไล ซึ่งแยกจากสัตว์อื่นไม่สามารถทำได้

โรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารของไก่ที่พบบ่อยในประเทศไทย

จากรายงานของกองพยาธิวิทยาคลีนิคกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์กระทรวงสาธารณสุข ปี พ.ศ. 2531 ได้ทำการวิจัยและศึกษาระบาดวิทยาของเชื้อแบคทีเรียก่อโรคในระบบทางเดินอาหารของไก่ที่สำคัญพบว่า สามารถจำแนกชนิดของโรคได้เป็น 7 ชนิด ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 : โรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารของไก่ที่พบบ่อยในประเทศไทย

โรค	จุลินทรีย์ก่อโรค	การแพร่โรค	การรักษา
1. พัลโลรุ่ม	*Salmonella pullorum*	ติดต่อผ่านทางอาหารและน้ำ	ใช้ยาไตรเมทโธพริมและซัลฟา
2. ไทฟอยด์ไก่	*Salmonella gallinarum*	ติดต่อผ่านทางอาหารและน้ำ	ใช้ยาซัลฟา
3. พาราไทฟอยด์	*Salmonella typhimurium*	ติดต่อผ่านทางอาหารและน้ำ	ใช้ยาซัลควิน
4. ซูโดโมนาส	*Pseudomonas* spp.	ติดต่อผ่านทางบาดแผล	ใช้ยาเจนตามัยซินและอามิเคซิน
5. ลิสเทอเรีย	*Listeria* spp.	ติดต่อผ่านทางอาหารและน้ำ	ใช้ยานีโอ-128
6.สตาฟฟิโลคอคคัส	*Staphylococcus* spp.	ติดต่อผ่านทางบาดแผล	ใช้ยาอีริโธรมัยซิน
7. อหิวาต์ไก่	*Pasteurella multocida*	ติดต่อผ่านทางอาหารและน้ำ	ใช้ยาคลอแรมเฟนิคอล

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. แลคติกแอซิดแบคทีเรีย

แลคติกแอซิดแบคทีเรียจัดอยู่ในตระกูล Lactobacillaceae มีลักษณะที่เป็นท่อนยาวท่อนสั้นหรือกลมแกรมบวกไม่สร้างสปอร์ในการเจริญเติบโตส่วนใหญ่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (Microaerophile) บางชนิดเป็นพวกที่ไม่ต้องการอากาศเลย (Strictly Anaerobe) เนื่องจากเป็นแบคทีเรียที่ได้พลังงานจากการหมักน้ำตาล โดยไม่ใช้ออกซิเจน (Frazier และ Westhoff, 1979) ความต้องการสารอาหารค่อนข้างสลับซับซ้อน (Prescott และ Dunn, 1959) เช่น ใช้กรดอะมิโนเป็นแหล่งไนโตรเจนเชื้อจะเจริญได้ดีในอาหารที่มี Growth Factor และ วิตามินหลายชนิด เช่น ไบโอติน (Biotin), ไรโบฟลาวิน (Riboflavin) และส่วนใหญ่ต้องการสารอนินทรีย์ในปริมาณค่อนข้างสูง เช่น แมงกานีส (Mn), แมกนีเซียม (Mg), ฟอสฟอรัส (P), (Tittsler และคณะ, 1952) แหล่งที่สามารถพบแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ได้แก่ เนื้อและผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม อาหารหมักดองต่างๆ เป็นต้น (นภา โล่ห์ทอง, 2534) แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถใช้อาหารพวกคาร์โบไฮเดรท และ เปลี่ยนเป็นกรดแลคติก แบคทีเรียในตระกูลนี้สามารถแบ่งได้ 5 สกุล (Genus) (Buchanan และ Gibbons, 1974) ได้แก่

1. Genus Streptococcus (Lactococcus) แลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดนี้มีลักษณะกลมแบบ Cocci หรือรูปรีแบบ Oval ขนาดประมาณ 0.5 - 1.0 μm จะพบเป็นคู่ หรือ เป็นสายมีทั้งพวกที่ต้องการอากาศ (Aerobe) หรือพวกที่ต้องการอากาศเล็กน้อย (Microaerophile) Streptococcus จัดอยู่ในกลุ่ม Homofermentative Lactic Acid Bacteria เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญในอุตสาหกรรมนมคือ ใช้ในการเตรียมเนย เนยแข็งและนมเปรี้ยว

2. Genus Leuconostoc แลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดนี้มีรูปร่างกลม (Cocci) จะพบเป็นคู่หรือเป็นสายมีทั้งพวกที่ไม่ต้องการอากาศ(Anaerobe)หรือพวกที่ต้องการอากาศเล็กน้อย (Microaerophile) Leuconostoc จัดอยู่ในกลุ่ม Heterofermentative Lactic Acid Bacteria สามารถพบได้ทั่ว ๆ ไปในธรรมชาติ เป็นแบคทีเรียที่มีความสำคัญ ต่อการเริ่มต้นขบวนการหมักพวกผัก มีบางสายพันธุ์ ที่ใช้ในอุตสหกรรมผลิตภัณฑ์นมเนื่องจากส่วนใหญ่ Leuconostoc จะเจริญในน้ำนมได้ช้าจึงไม่เหมาะในการใช้เป็นหัวเชื้อเพื่อผลิตกรดแต่มีสมบัติพิเศษที่สามารถเมตาโบไลซ์ได้เป็นสารพวกไดอะเซติล (Diacetyl) อะซิโตอิน (Acetoin) จึงมักนิยมใช้เพื่อผลิตสารที่มีกลิ่นหอม (นภา โล่ห์ทอง, 2522)

3. Genus Pediococcus แลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดนี้มีรูปร่างกลม (Cocci) ซึ่งอาจอยู่เป็นคู่ (Pairs) หรือเป็นกลุ่ม (Tetrads) จัดเป็นพวกที่ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อย (Microaerophile) และเป็น Homofermentative Lactic Acid Bacteria ลักษณะพิเศษคือ สามารถสร้าง Racemic (DL)

Lactic Acid จากน้ำตาลกลูโคส แบคทีเรียพวกนี้มักพบในอาหารพวกผัก, เนื้อ (ไส้กรอกเปรี้ยว) เป็นต้น

4. Genus Lactobacillus แลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดนี้อาจพบรูปร่างหลายแบบเช่น Coccobacilli, Bent Rods, Coryneform หรือ Thread-Link จะเจริญได้ทั้งในสภาพที่มีอากาศ (Aerobe) หรือ ต้องการอากาศเล็กน้อย (Microaerophile) มีทั้งพวกที่เป็น Homofermentative และ Heterofermentative Lactic Acid Bacteria

5. Genus Bifidobacterium แลคติกแอซิดแบคทีเรียชนิดนี้มีการค้นพบในปี 1899 (Tissier, และคณะ,1899) ที่แยกจากอุจจาระเด็กทารกสุขภาพสมบูรณ์ที่ดื่มนมมารดาแต่เดิมเรียกว่า *Bacillus bifidum* ต่อมาเมื่อมีการศึกษาอย่างกว้างขวางจึงตั้งชื่อว่า Bifidobacterium สามารถพบได้ลักษณะรูปร่าง เช่น รูปตัว Y, V, Bent, Club จะไม่พบในลักษณะที่เป็นสาย เจริญได้ใน Obligately Anaerobe จัดเป็นพวก Heterofermentative Lactic Acid Bacteria ลักษณะพิเศษของ Bifidobacterium คือ สามารถให้กรดแลคติก 1 โมล และ กรดอะซิติค 1.5 โมล จากน้ำตาลกลูโคส 1 โมล

รายละเอียดของการจัดกลุ่มแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (ล.อ.บ.) รวบรวม ในตารางที่ 2.4

แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถแบ่งได้ตามลักษณะการหมักได้เป็น 2 กลุ่ม

1. Homofermentative Lactic Acid Bacteria คือ แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส หรือ น้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัว ให้กรดแลคติก 85 - 95% ส่วนที่เหลืออาจนำไปใช้เพื่อให้พลังงาน เช่น *Lactobacillus acidophilus* (Lawrence และ Terence, 1979)

2. Heterofermentative Lactic Acid Bacteria คือ แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส หรือ น้ำตาลที่มีคาร์บอน 6 ตัว ให้กรดแลคติก ประมาณ 50% ส่วนที่เหลือเป็นกรดอะซิติก และ เอธิลอัลกอฮอล์ 20-25% และสร้างคาร์บอนไดออกไซด์ 20-25% เช่น *Leuconostoc mesenteroides* (Tamine, 1981)

ตารางที่ 2.4 : การจัดกลุ่มของแลคติกแอซิดแบคทีเรีย (Buchanan, 1974)

Genus	Morphology	Type of Lactic Acid Fermentation
Streptococcus (Lactococcus)	pairs or chains of cocci	Homofermentation
Pediococcus	chains of 4 cocci	Homofermentation
Leuconostoc	pairs or chainsof cocci	Heterofermentation
Leuconostoc	rods	Homofermentation and Heterofermentation
Bifidobacterium	rods, polymorphic	Heterofermentation

ในปี ค.ศ. 1988 ได้มีการเสนอให้เปลี่ยนสกุล Streptococcus เป็นสกุล Lactococcus โดยยังคง species และ subspecies ไว้ตามเดิม (Sandine, 1988) ซึ่งได้รับการยอมรับจาก International Union of Microbiology Societies ตัวอย่างของแบคทีเรียสกุลนี้ได้แก่ *Lactococcus lactis* subsp. *lactis* (*Streptococcus lactis* subsp.*lactis*), *L. lactis* subsp. *lactis* var. *diacetylactis* (*S. lactis* subsp. *diacetyllactis*), *L. lactis* subsp. *cremoris* (*S. lactis* subsp. *cremoris*) อย่างไรก็ตามยังคงปรากฏชื่อ *Streptococcus lactis* ทั้งสาม subsp. ใน Bergey's Manual of Systematic Bacteriology เล่มล่าสุด (Shleifer, 1986)

แลคติกแอซิดแบคทีเรียนอกจากจะมีบทบาทที่สำคัญในการผลิตอาหารต่างๆดังกล่าวมาแล้วยังมีบทบาทอื่นๆ ที่สำคัญ เช่น ใช้เป็นจุลชีพทดสอบ (Test Organism) ในการวิเคราะห์วิตามิน (Frazier และ Westhoff, 1979) บางสายพันธุ์อาจใช้เป็นอาหารเสริมในอาหารสัตว์แทนการใช้สารปฏิชีวนะ (เพิ่มพงศ์ , 2524)

กระบวนการหมักกรดแลคติก (Lactic Acid Fermentation)

เนื่องจากอาหารจะเป็นแหล่งที่จุลินทรีย์สามารถใช้ได้อย่างดีสำหรับการเจริญเติบโต กระบวนการหมักของอาหารทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารอาหารเนื่องมาจากการกระทำของเอนไซม์ซึ่งอาจจะเป็นเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่เกี่ยวกับกระบวนการหมักหรือเอนไซม์ที่มีอยู่ในอาหารนั้นๆ โดนทั่วไปในกระบวนการหมักจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องมักเป็นจุลินทรีย์จากธรรมชาติ

แต่ในบางครั้งทางโรงงานอุตสาหกรรมจะมีการคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์ เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีรส กลิ่นและเนื้อสัมผัสตามต้องการ

สำหรับกระบวนการหมักที่เกิดกรดแลคติกจะมีระดับความเป็นกรดสูงเนื่องจากมีค่าpH ต่ำ ประสิทธิ-ภาพการเกิด Oxidation - Reduction ก็จะต่ำทำให้สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆ ที่ไม่ต้องการในกระบวนการหมักกรดแลคติก

ในอุตสาหกรรมอาหารกระบวนการหมักกรดแลคติกจะมีแบคทีเรียสำคัญหลายชนิด เช่น อุตสาหกรรมการหมัก ผัก ผลไม้ และ ธัญพืชจะมี *Lactobacillus plantarum, L. helveticus, L. fermenti Leuconostoc mesenteroides* อุตสาหกรรมผลิตภัณฑ์นมจะมี *L. bulgaricus, L. thermophilus, L. casei* ในอุตสาหกรรมหมักเนื้อจะมี *L. plantarum* เป็นต้น

กระบวนการหมักที่เกิดกรดแลคติกที่สำคัญมี 2 กระบวนการ (Fuller, 1989) คือ

1. Homofermentation

เป็นกระบวนการที่เกิดกรดแลคติกเป็นส่วนใหญ่จากจุลินทรีย์พวก Homofermentative Lactic acid Bacteria ขั้นตอนการสร้างกรดแลคติกเริ่มจากน้ำตาลแลคโตสจะผ่านเข้าสู่เซลล์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียโดยอาศัยเอนไซม์ที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มไซโตพลาสซึม(Cytoplasmic Membrane) ที่เรียกว่า Phosphoenol-pyruvate-Dependent Phosphotransferase System (PEP-PTS) ทำให้แลคโตสเกิดปฏิกิริยาเติมหมู่ฟอสเฟต (Phosphorylation) อยู่ในรูป Lactose-6-Phosphate จากนั้นจะถูกเอนไซม์ Phospho-Galactosidase ไฮโดรไลซ์ได้เป็น Galactose-6-Phosphate กับ Glucose ซึ่งกลูโคสจะผ่านเข้าสู่กระบวนการต่างๆของEmbden-Meyerhof-Parnas Pathway: EMP Pathway) จนได้เป็นLactateในขั้นตอนสุดท้ายซึ่งเปลี่ยนมาจากPyruvateโดยเอนไซม์Lactate Dehydrogenase ส่วน Galactose-6-Phosphate จะเข้าสู่กระบวนการต่างๆ ใน D-Tagatose-6-Phosphate Pathway ได้เป็น Tagatose-1,6-Diphosphate และเปลี่ยนเป็น Dihydroxyacetone-Phosphate ท้ายสุดโดยเอนไซม์ Tagatose - 1, 6 - Aldolase ซึ่งจะเปลี่ยนเป็น Glyceraldehyde - 3 - Phosphate โดยเอ็นไซม์ Triose Phosphate Isomerase ซึ่ง Glyceraldehyde-3-Phosphate เป็นสารตัวกลางในกระบวนการ EMP Pathway และเปลี่ยนเป็น Lactate ในที่สุด

น้ำตาลกลูโคสจะสามารถเข้าสู่เซลล์ของแลคติกแอซิดแบคทีเรียโดยอาศัยเอ็นไซม์ PEP-PTS ทำให้กลูโคสอยู่ในรูป Glucose - 6 - Phosphate ซึ่งจะเข้าสู่ EMP Pathway ได้เป็น Lactate

ในที่สุดส่วนน้ำตาลกาแลคโตสจะสามารถซึมผ่านเข้าสู่เซลเมมเบรมได้เลยหลังจากเติมหมู่ฟอสเฟต โดยเอ็นไซม์ Galactokinase ได้เป็น Galactose-1-Phosphate จากนั้นเข้าสู่ Leloir Pathway จนได้เป็น Glucose - 1 - Phosphate จากนั้นจะถูกเอนไซม์ Hexokinase Phosphoglucomutase เปลี่ยนเป็น Glucose-6-Phosphate ซึ่งเป็นตัวกลางใน EMP Pathway เปลี่ยนเป็น Lactate ในที่สุด แลคติกแอซิดแบคทีเรียที่มีกระบวนการหมักแบบนี้ ได้แก่ *L. bulgaricus, L. casei, L. plantarum* เป็นต้น

2. Heterofermentation

เป็นกระบวนการที่เกิดกรดแลคติกประมาณ 50% และจะได้ผลิตภัณฑ์อื่นๆร่วมด้วย เช่น กรดอะซิติก เอธิลอัลกอฮอล์ และ คาร์บอนไดออกไซด์ โดยจุลชีพพวก Heterofermentative Lactic Acid Bacteria ซึ่งแลคติกแอซิดแบคทีเรีย ในกลุ่มนี้จะไม่มีเอนไซม์ Aldolase ซึ่งเป็นเอนไซม์หนึ่งในกระบวนการ Glycolysis จึงทำให้ไม่สามารถย่อย Fructose-1,6-Diphophate เป็น Triose-Phosphate จึงต้องออกซิไดซ์Glucose-6-Phosphate ได้เป็น 6-Phosphogluconate จากนั้นเกิดปฏิกิริยา Decaboxylate ได้เป็น Pentose-Phosphate กับ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่ง Pentose-Phosphate จะแตกตัวเป็น Triose-Phosphate และ Acetyl-Phosphate โดยเอนไซม์ Phosphoketolase โดยที่ Triose-Phosphate จะเปลี่ยนเป็นLactate ได้ ส่วนAcetyl-Phosphate จะเปลี่ยนเป็น Acetaldehyde และ Ethanol นอกจากนี้แลคติกแอซิดแบคทีเรียอาจจะใช้กระบวนการอื่นๆในการสร้างผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น กรดอะซิติก กรดฟอร์มิก กลีเซอรอลเป็นต้น แบคทีเรียที่มีกระบวนการหมักแบบนี้ เช่น *Leuconostoc mesenteroides* เป็นต้น

การสร้างสารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆโดยแลคติกแอซิดแบคทีเรีย

มีรายงานเป็นจำนวนมากกล่าวถึงความสามารถของสารที่สร้างโดยแลคติกแอซิดแบคทีเรียในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเกิดการเน่าเสียและเกิดโรคในผู้บริโภคโดยสารที่แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถสร้าง ได้แก่

1. กรดอินทรีย์

การสะสมของกรดอินทรีย์ซึ่งจะทำให้ค่าความเป็นกรดด่างลดลงในช่วงเริ่มต้นของการหมักจะมีผลต่อจุลินทรีย์บางชนิดที่ไม่สามารถทนกรด เช่น *Bacillus sp., Escherichia coli, Pseudomonas sp.* เป็นต้นกรดอินทรีย์จะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์โดยการยับยั้งกระบวนการเมตาบอลิสมที่จำเป็นต่อการดำรงชีพกรดอินทรีย์ที่อยู่ในรูปไม่แตกตัวจะสามารถซึมผ่านเข้าสู่เซลล์ของแบคทีเรียได้และแตกตัวเป็นอิออนภายในทำให้ระดับความเป็นกรดด่างภายในเซลล์ลดลง หรืออาจเกิดปฏิกิริยากับเซลล์มีผลทำลายเซลล์ หรือ หน่วงเหนี่ยวการเจริญของจุลินทรีย์นั้นๆ

Ingram, Ottowan และ Coppock (1956) ได้กล่าวว่า ปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อกลไกการถนอมอาหารที่เป็นกรดมี 3 ประการ คือ ผลของความเป็นกรดด่าง ผลของกรดอินทรีย์ และ ผลจำเพาะต่อโมเลกุลของเซลล์ Sorrel และ Speck (1970) พบว่า *Leuconostoc citrovorum* ซึ่งเป็นพวก Heterofermentative Lactic Acid Bacteria สามารถผลิตกรดอะซิติกและให้ผลการยับยั้งที่ดีกว่ากรดแลคติก (Lubis, 1983) พบว่าเมื่อระดับ pH สูงขึ้นจาก 4.0-5.5 จนเป็นกลาง (pH 7) จะทำให้สมบัติการยับยั้งการเจริญหมดไป (Sandine, 1979) พบว่าโมเลกุลของกรดสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้ออื่นได้ดีกว่าระดับ pH

2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

แลคติกแอซิดแบคทีเรียสามารถสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ระหว่างการเจริญเติบโตได้โดยเฉพาะเมื่อเลี้ยงเซลล์ในสภาวะที่มีอากาศโดยใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเลคตรอน ปฏิกิริยาที่ใช้มีหลายวิธี

$$\text{Pyruvate} + O_2 + PO_4^{3-} \xrightarrow{\text{pyruvate oxidase}} \text{Acetylphosphate} + CO_2 + H_2O_2$$

$$\text{Lactate} + O_2 \xrightarrow[\text{D-lactate dehydrogenase}]{\text{L-lactate oxidase / or NAD-independent}} \text{pyruvate} + H_2O_2$$

$$NADH + H^+ + O_2 \xrightarrow{\text{NADH oxidase}} NAD + H_2O_2$$

ที่มา Gotz, Sedewitz และ Elster (1980)

หอสมุดกลาง สถาบัน วิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อาหารเลี้ยงเชื้อของแลคติกแอซิดแบคทีเรียจะมีปริมาณของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สะสมอยู่มากเพราะแลคติกแอซิดแบคทีเรียไม่มีเอนไซม์คาตาเลสการสะสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะสามารถยับยั้งการเจริญของ *S. aureus, Salmonella typhimurium, Enterogenic E. coli, Cl. perfringens* โดยที่ *S. aureus* และ *Cl. perfringens* จะถูกยับยั้งได้ดีกว่า *S. thyphimurium* และ *E. coli* โดยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะเกิดการออกซิไดซ์อย่างรุนแรงภายในเซลล์ทำลายโครงสร้างโมเลกุลของเอนไซม์ภายในเซลล์ (Gilliland และ Speck, 1977) นอกจากนี้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์สามารถทำปฏิกิริยากับสารอื่นๆ และ สร้างสารต่อต้านจุลชีพได้ เช่น ในน้ำนมดิบ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำปฏิกิริยากับ Endogenous Thiocyanate โดยมีเอนไซม์ Lactoperoxidase สร้างสารตัวกลาง (Intermediate Oxidase) ที่สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้ เราเรียกขั้นตอนนี้ว่า Lactoperoxidase Antibacterial System (Banks, Broad และ Sparks, 1986; Reiter และ Harvath, 1984)

3. ไดอะซิติล (Diacetyl)

ไดอะซิติลมีชื่อทางเคมีว่า 2,3-butanedione จัดเป็นผลิตภัณฑ์ตัวสุดท้ายที่แลคติกแอซิดแบคทีเรียสร้างมาจากตัวกลางไพรูเวท(Pyruvate)ไดอะซิติลมีความสำคัญต่ออุตสาหกรรมการทำเนยเพราะเป็นสารที่มีกลิ่นหอม และยังจัดอยู่ในบัญชี GRAS (Generally Recognized as Safe) ไดอะซิติลสามารถยับยั้งจุลินทรีย์ได้หลายชนิดโดยยีสต์และแบคทีเรียแกรมลบจะมีความไวต่อไดอะซิติลมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก(Jay,1982)กลไกการยับยั้งของไดอะซิติลคาดว่าเกิดจากการรบกวนตำแหน่งกรดอะมิโนอาร์จินีนโดยทำปฏิกิริยากับอาร์จินีนที่เป็นองค์ประกอบในโปรตีนหรือเอมไซม์ของแบคทีเรีย

4. แบคเทอริโอซิน (Bacteriocin)

แบคเทอริโอซินจัดเป็นสารต่อต้านจุลชีพ (Antimicrobial Substance) ซึ่งสารต่อต้านจุลชีพต่างชนิดกันจะมีลักษณะผลการยับยั้งจุลินทรีย์ (Antimicrobial Spectrum) แตกต่างกันไปทั้งในแง่การทำลายกลไกการทำงาน (Mode of Action) และสมบัติทางเคมี สารต่อต้านจุลชีพจะเป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบ หรือโปรตีนที่มีคาร์โบไฮเดรทร่วมอยู่ด้วย มีขนาดใหญ่กว่าสารปฏิชีวนะ จะมีฤทธิ์ในการฆ่าหรือทำลายแบคทีเรียที่มีภูมิรับไว (Susceptible Bacteria) และจำเพาะต่อบริเวณรับแบคเทอริโอซิน (Bacteriocin Receptor) บนเซลล์แบคทีเรียด้วย (Tagg,

Dajanii และ Wannamaker,1976)อย่างไรก็ตามแบคเทอริโอซินที่สร้างจากแลคติกแอซิดแบคทีเรียต่างสายพันธุ์กันจะมีผลต่อการยับยั้งในกลุ่มแบคทีเรียที่ใกล้เคียงกันมีลักษณะทางชีวเคมีพันธุศาสตร์คล้ายคลึงกันแต่แตกต่างกันในการยับยั้งจุลินทรีย์ต่างชนิดกัน

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะคัดเลือกสายพันธุ์แลคติกแอซิดแบคทีเรีย ที่ให้สารยับยั้งจุลินทรีย์ มาเตรียมเป็นโพรไบโอติกเสริมในอาการไก่

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย