บทที่ 1

บ ท น ำ

บทนำต้นเรื่อง

ประเทศไทยมีทรัพยากรที่อุดมสมบูรณ์ มีผลผลิตทางการเกษตรเป็นจำนวนมาก ซึ่งถูกนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆมากมาย สำหรับอ้อยซึ่งเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่มีการปลูกมากในจังหวัดแถบภาคตะวันตกของประเทศไทย โดยผลผลิตอ้อยที่ได้จะถูกนำมาแปรรูปเป็นน้ำตาลทราย ซึ่งในปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลทรายมีศักยภาพในการผลิตเกินความต้องการภายในประเทศทำให้มีเหลือสำหรับส่งออกเป็นจำนวนมาก อย่างไรก็ตาม ในกระบวนการผลิตน้ำตาลมีของเสียที่สำคัญเกิดขึ้น 2 ชนิด คือ

1. กากชานอ้อย เป็นส่วนที่เหลือหลังจากหีบสกัดเอาน้ำอ้อยออกแล้ว โดยจะมีกากชานอ้อยเกิดขึ้นร้อยละ 25 ของจำนวนอ้อยที่ใช้หีบ กากชานอ้อยส่วนใหญ่จะใช้เป็นเชื้อเพลิงและเป็นวัตถุดิบในการผลิตกระดาษและไม้อัด

2. กากน้ำตาล (Molasses) เป็นกากที่แยกได้เป็นครั้งสุดท้ายและไม่ถูกนำกลับไปใช้ในกระบวนการผลิตน้ำตาลอีก ได้กากน้ำตาลประมาณร้อยละ 4-5 ของปริมาณอ้อยที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลทราย

มีการใช้ประโยชน์จากกากน้ำตาลในอุตสาหกรรมต่างๆเช่น การผลิตโมโนโซเดียมกลูตาเมตหรือผงชูรส การผลิตแอลกอฮอล์และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เป็นต้น การผลิตสุราโดยใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบนั้นกระบวนการผลิตจะทำให้เกิดน้ำเสียที่เรียกว่าน้ำกากส่า (Molasses Waste Water, Slop Waste, Stillage) จำนวนมาก ซึ่งน้ำกากส่านี้จะมีคุณสมบัติทางเคมีประกอบด้วยค่าบีโอดี (BOD_5) ประมาณ 30,000–50,000 มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เดซิเมตร, ไนโตรเจน (N) 1,500-2,000 มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เดซิเมตร, โพแตสเซียม (K) 2,500-5,000 มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เดซิเมตร, ปริมาณของแข็งทั้งหมด (total solid) 80,000-120,000 มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เดซิเมตร, ปริมาณของแข็งแขวนลอย (total suspended solid) 22,000 มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เดซิเมตร, ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (total dissolved solid) 17,000 มิลลิกรัม/ลูกบาศก์เดซิเมตร, ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3.2 และอุณหภูมิ (น้ำกากส่าขณะออกจากกระบวนการผลิต) 95 องศาเซลเซียส และมีอัตราการปล่อยน้ำเสียอยู่ในเกณฑ์ 400-500 ลูกบาศก์เมตรต่อวัน ซึ่งน้ำเสียนี้เทียบเท่ากับน้ำเสียชุมชน 1 ล้านคน สำหรับโรงงานสุรา 1 แห่ง โดยปกติแล้วต้องมีการบำบัดน้ำกากส่าเพื่อลดปริมาณอินทรีย์สารและโลหะหนักก่อนปล่อยลงสู่แหล่งน้ำสาธารณะเพื่อให้เป็นไปตามเงื่อนไขของกระทรวงอุตสาหกรรมซึ่งต้องเสียค่าใช้จ่ายในส่วนนี้ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ของต้นทุนการผลิตสุรา

ปัจจุบันกุ้งที่จับได้จากท้องทะเลมีจำนวนน้อยลง จึงมีการเพาะเลี้ยงกุ้งตามชายฝั่งทะเล เพื่อเพิ่มผลผลิตกุ้งให้เพียงพอต่อความต้องการของผู้บริโภค แต่การเพาะเลี้ยงกุ้งเพื่อเพิ่มผลผลิตยังไม่ประสบผลสำเร็จนักเพราะปัญหาหลายประการ เช่น

1. ภัยทางธรรมชาติ เช่น ฝนตก น้ำท่วม เป็นต้น
2. การเกิดมลพิษจากชุมชนและอุตสาหกรรม
3. การเกิดโรคติดเชื้อจุลินทรีย์ เช่น โรคหัวเหลือง, โรคตัวแดงจุดขาว, โรคเรืองแสง และโรคเสี้ยนดำ เป็นต้น ซึ่งเป็นปัญหาสำคัญที่ประเทศไทยประสบอยู่และก่อให้เกิดความเสียหายต่อเกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้ง

โรคติดเชื้อแบคทีเรียที่พบในกุ้ง เช่น โรคเรืองแสง และโรคเสี้ยนดำ มีสาเหตุมาจากการติดเชื้อแบคทีเรีย *Vibrio harveyi* และ *Vibrio vulnificus* ตามลำดับ การรักษาส่วนใหญ่เกษตรกรผู้เลี้ยงกุ้งได้ใช้สารปฏิชีวนะในการักษา แต่การใช้สารปฏิชีวนะให้ได้ผลต้องมีความรู้และความชำนาญเกี่ยวกับสารปฏิชีวนะที่จะใช้ รวมทั้งต้องมีการวินิจฉัยโรคที่เกิดกับกุ้งได้อย่างถูกต้อง เพื่อการเลือกใช้สารปฏิชีวนะให้เหมาะสม และที่สำคัญที่สุดคือเกิดการดื้อยาของแบคทีเรียและเกิดปัญหาสารตกค้างในเนื้อกุ้ง (ลิลา เรืองแป้น, 2540)

เนื่องจากสารปฏิชีวนะเป็นอันตรายต่อผู้บริโภคทำให้ผู้นำเข้ากุ้ง เช่น ประเทศสหรัฐอเมริกา และประเทศญี่ปุ่นไม่ยอมรับสินค้าประมงนำเข้าที่มีสารปฏิชีวนะตกค้างอยู่ ส่งผลให้อุตสาหกรรมการส่งออกกุ้งของประเทศไทยที่ไปจำหน่ายต่างประเทศเกิดความเสียหาย และการใช้สารปฏิชีวนะในการเลี้ยงกุ้งติดต่อกันนานประกอบกับการใช้ไม่ถูกวิธีส่งผลให้แบคทีเรียดื้อยาทำให้การใช้ยาเพื่อการรักษาไม่ได้ผล นอกจากนี้แบคทีเรียที่มีประโยชน์ในการย่อยอาหารก็ถูกทำลายไปด้วย ส่งผลให้กุ้งอ่อนแอ เมื่อมีสารปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อกุ้งผลที่ตามมาคือก่อให้เกิดอันตรายต่อผู้บริโภค

เมื่อรักษาโรคติดเชื้อในกุ้งโดยใช้สารปฏิชีวนะไม่ได้ผลทำให้เกิดปัญหาตามมามากมาย ดังนั้นแนวทางการป้องกันมิให้เกิดโรคอีกวิธีหนึ่งคือ การเสริมสร้างความแข็งแรงและเสริมภูมิต้านทานให้แก่กุ้ง ในทางชีวภาพสามารถทำได้โดยใช้จุลินทรีย์ที่มีสมบัติการเป็นโปรไบโอติกเสริมในอาหารกุ้ง

ปัจจุบันมีการรายงานการใช้น้ำกากส่าในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำที่อำเภอบางคล้า จังหวัดฉะเชิงเทรา ซึ่งเกษตรกรที่นั้นประสบความสำเร็จในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำโดยใช้น้ำกากส่า ทั้งนี้ในจังหวัดสุราษฎร์ธานีนับว่ามีการเลี้ยงกุ้งทะเลกันอย่างกว้างขวางและมีโรงงานสุราตั้งอยู่ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นที่จะคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นโปรไบโอติกจากน้ำกากส่าเพื่อนำมาใช้ในการเลี้ยงกุ้ง เพื่อเสริมให้กุ้งมีสุขภาพดี แข็งแรง มีภูมิคุ้มกันโรค

บทตรวจเอกสาร

1. การผลิตสุรา

ในการผลิตสุราต้องใช้วัตถุดิบหลักประกอบด้วยกากน้ำตาลและข้าวเหนียว โดยนำมาหมักในถังหมักในอัตราความเข้มข้นที่เหมาะสม พร้อมกับใส่เชื้อยีสต์หรือเชื้อหมักและสารเคมีที่จำเป็น เช่น แอมโมเนียมและฟอสเฟต เมื่อหมักได้นาน 48 ชั่วโมง เชื้อยีสต์จะเปลี่ยนกากน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ (เอทธิลแอลกอฮอล์) ส่วนผสมในถังหมักเมื่อได้แอลกอฮอล์แล้วรวมเรียกว่า เบียร์หรือแมช (Beer or Mash) การแยกเอาแอลกอฮอล์ออกจากของเหลวรวมทำได้โดยใช้วิธีกลั่นโดยใช้ไอน้ำให้ความร้อนแก่เบียร์ เพราะจุดเดือดของแอลกอฮอล์อยู่ที่อุณหภูมิราว 78.5 องศาเซลเซียส แต่ของเหลวอื่นหรือน้ำจะมีจุดเดือดที่ 100 องศาเซลเซียส ครั้งแรกจะได้น้ำผสมแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 50 เมื่อนำแอลกอฮอล์ส่วนนี้มาเจือจางให้มีแอลกอฮอล์ราวร้อยละ 28 เรียกว่าสุราขาว จากนั้นก็จะบรรจุขวดเพื่อจำหน่ายต่อไป

ในการผลิตสุราสีหรือสุราผสมจะใช้น้ำแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 50 นี้นำไปกลั่นต่อในขั้นที่สองเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์เข้มข้นและบริสุทธิ์ร้อยละ 95 จากนั้นก็นำไปเก็บไว้ แล้วเจือจางด้วยน้ำโดยให้มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 35 แล้วเติมสี ยาสมุนไพรหรือส่วนประกอบอื่น ที่ทำให้เกิดกลิ่นหอมและรสชาติดี แล้วนำไปบรรจุเพื่อจำหน่ายต่อไป ซึ่งได้แก่ แม่โขงและหงส์ทอง เป็นต้น

2. ลักษณะน้ำทิ้งจากโรงงานสุรา

การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในแต่ละปีจะมีแนวโน้มสูงขึ้น เช่น ในบราซิลสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ 16.2 พันล้านลิตรในปี 1997 โดย 79 เปอร์เซ็นต์ผลิตจากน้ำตาลสด และ 21 เปอร์เซ็นต์ผลิตจากกากน้ำตาล ในอินเดียมีโรงงานกลั่นสุรา 250 โรงงาน สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ 1.5 พันล้านลิตรในปี 1995 (Singh and Nigam, 1996) และในสหรัฐอเมริกามี 57 โรงงาน สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ 6.9 พันล้านลิตรในปี 1999 และจากกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์นี้จะทำให้เกิดน้ำกากส่าขึ้น 20 ลิตรต่อการผลิตแอลกอฮอล์ 1 ลิตร ในประเทศไทยมีโรงงานแอลกอฮอล์ประเภทต่างๆที่จดทะเบียนกับกรมโรงงานอุตสาหกรรม ประกอบด้วย โรงงานผลิตสุราขาว สุราผสม และสุราปรุงพิเศษ (ความแรงแอลกอฮอล์ประมาณ 20-40 ดีกรี) 15 โรงงาน กำลังการผลิต 735.27 ล้านลิตรต่อปี โรงงานผลิตสุราพิเศษประเภทวิสกี้ บรั่นดี รัม และสุราจีน (ความแรงแอลกอฮอล์ประมาณ 38-42 ดีกรี) 10 โรงงาน กำลังการผลิตรวม 231.55 ล้านลิตรต่อปี โรงงานผลิตสุราแช่ประเภทผลไม้ สุราพื้นเมือง และไวน์ (ความแรงแอลกอฮอล์ประมาณ 5-15 ดีกรี) 10 โรงงาน กำลังการผลิตรวม 42.32 ล้านลิตรต่อปี โรงงานผลิตสุราทับ (ความแรงแอลกอฮอล์ประมาณ 95 ดีกรี) เพื่อการส่งออก 2 โรงงาน กำลังการผลิตรวม 168.63 ล้านลิตรต่อปี และมีโรงงานสุราของรัฐที่ผลิตเพื่อจำหน่ายภายในประเทศอีก 1 โรงงาน กำลังการผลิตรวมประมาณ 20 ล้านลิตรต่อปี และโรงงานผลิตเบียร์ (ความแรงแอลกอฮอล์ประมาณ 4.8 ดีกรี) ที่เป็นโรงงานขนาดใหญ่ 8 โรงงาน

กำลังการผลิตรวม 1,235.49 ล้านลิตรต่อปี และโรงงานขนาดเล็ก 7โรงงานกำลังการผลิตรวม 1.47 ล้านลิตรต่อปี

น้ำเสียของโรงงานสุราแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. น้ำเสียประเภทเจือจาง ได้แก่ น้ำล้างขวด น้ำที่มีอุณหภูมิสูง น้ำล้างพื้น

น้ำเสียที่มีอุณหภูมิสูง ได้แก่ น้ำจากการพ่นเข้า (blow down) เครื่องกำเนิดไอน้ำ และน้ำที่ใช้สำหรับหล่อเย็นของเครื่องกลั่นสุรา

<u>วิธีการบำบัด</u>

น้ำเสียอุณหภูมิสูงนี้จะไหลมารวมกันยังบ่อพักน้ำร้อนจากนั้นจะถูกปั๊มไปฉีดสเปร์ยที่บ่อ Polishing ในอัตรา 60 ลูกบาศก์เมตรต่อวัน การสเปร์ยจะช่วยลดอุณหภูมิและเป็นการเพิ่มปริมาณออกซิเจนละลายน้ำให้แก่น้ำที่สเปร์ย และทำให้อุณหภูมิของน้ำเสียลดลงเหลือประมาณ 30-40 องศาเซลเซียส ซึ่งใกล้เคียงกับน้ำในแม่น้ำ

น้ำล้างขวดและน้ำโสโครกอื่นๆ ได้แก่ น้ำจากการล้างขวดเก่าและขวดใหม่ น้ำจากการล้างเรซินของเครื่องทำน้ำบริสุทธิ์และน้ำที่ใช้ภายในโรงงานโดยมีปริมาณน้ำเสียประมาณวันละ 220, 30 และ 100 ลูกบาศก์เมตร ตามลำดับ (สุจินต์ พนาปวุติกุล, 2528)

โดยน้ำเสียกลุ่มนี้มีคุณสมบัติ คือ

1) น้ำทิ้งจากการล้างขวดจะมีเศษผงและเศษฉลากต่างๆติดไปด้วย จะใช้ตะแกรงกรองเอาเศษออกก่อน น้ำล้างขวดจะมี pH 7.2 และ BOD_5 30 มิลลิลิตร/ลูกบาศก์เดซิเมตร

2) น้ำทิ้งจากการล้างเรซิน BOD_5 น้อยมาก

3) น้ำจากการใช้ภายในโรงงาน BOD_5 80-100 มิลลิลิตร/ลูกบาศก์เดซิเมตร

<u>วิธีการบำบัด</u>

จะนำน้ำล้างขวดและน้ำโสโครกเหล่านี้ไปเจือจางน้ำเสียประเภทเข้มข้น (น้ำกากส่า)

2. น้ำเสียประเภทเข้มข้น (น้ำกากส่า) ได้จากเครื่องกลั่นสุราและมีความเข้มข้นของอินทรียสารสูง เช่น น้ำตาลชนิดต่างๆ อาทิ ซูโครส, กลูโคส, ฟรุกโตส และราฟฟิโนสที่ยีสต์สามารถใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ และยังมีสารอื่นๆที่ยีสต์ไม่สามารถใช้ในการหมักแอลกอฮอล์ส่วนใหญ่จะเป็นพวกคาราเมลของน้ำตาล ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ โดยเกิดจากการที่น้ำตาลได้รับความร้อนสูงเกินไปในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำตาลทราย เมลานอยดินเป็นสารที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบเกิดจากปฏิกิริยาของน้ำตาลกับกรดอะมิโน ทำให้กากน้ำตาลหรือน้ำกากส่ามีสีน้ำตาลเข้มขึ้นด้วย (สุจินต์ พนาปวุติกุล, 2528) น้ำกากส่าสดนี้จะนำไปใช้ในการเลี้ยงกุ้งโดยเติมลงในบ่อเลี้ยงกุ้งในอัตราส่วน 30 ลิตรต่อไร่ ใส่ทุก 3-5 วัน

ประเภทของน้ำกากส่า (กวีศิลป์ บูรณสมภพ, 2546)

น้ำกากส่าที่ได้จากโรงงานสุรา มี 2 ประเภท คือ

1. น้ำกากส่าสด คือ น้ำกากส่าที่ได้จากกระบวนการกลั่นและบรรจุในภาชนะหรือบ่อคอนกรีต
2. น้ำกากส่าหมัก คือ น้ำกากส่าที่ผ่านกระบวนการย่อยสลายแบบไม่ใช้ออกซิเจน น้ำกากส่าที่ผ่านกระบวนการนี้จะเหมาะสมกับการใช้เป็นปุ๋ยให้กับพืช โดยเฉพาะปาล์มน้ำมันเพราะในน้ำกากส่าประเภทนี้จะมีสารอาหารที่พืชต้องการนั่นคือโปแตสเซียมสูง

นอกจากนี้ยังพบว่าในน้ำกากส่าสดยังประกอบไปด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มต่างๆ ได้แก่ กลุ่มแบคทีเรียแลกติกและกลุ่มบาซิลลัส ซึ่งเป็นกลุ่มที่สามารถอยู่ในอุณหภูมิสูงได้ กลุ่ม ยีสต์ และเชื้อราบางสายพันธุ์

จากการสุ่มตัวอย่างน้ำกากส่าของโรงงานสุราแห่งหนึ่งจำนวน 10 ครั้ง เพื่อวิเคราะห์คุณลักษณะ พบว่าได้ค่าเฉลี่ยดังนี้ (พูนสุข ประเสริฐสรรพ์และประกฤติ สุขสวัสดิ์, 2525)

ค่าบีโอดี	27,850	มิลลิกรัมต่อลิตร
ค่าซีโอดี	184,000	มิลลิกรัมต่อลิตร
ปริมาณน้ำตาล	35,200	มิลลิกรัมต่อลิตร
ปริมาณของแข็ง	2,345	มิลลิกรัมต่อลิตร
ปริมาณไนโตรเจน	2,700	มิลลิกรัมต่อลิตร
อุณหภูมิ	92	องศาเซลเซียส
pH	4.4	

และจากการศึกษาคุณลักษณะของน้ำกากส่าจากโรงงานผลิตสุราแห่งหนึ่งในประเทศไทยพบว่าน้ำกากส่ามีคุณลักษณะดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะของน้ำกากส่าเหล้าจากโรงงานผลิตสุราในประเทศไทย

Table 1. Characteristics of slop waste from alcohol distillated in Thailand.

Characteristics	Average	
pH	3.66	
อุณหภูมิ	88.60	^{0}C
COD	118,098.00	mg/l
BOD	27,475.00	mg/l
Suspended solids	11,319.00	mg/l
Total solids	75,829.00	mg/l
Total volatile solids	58,523.00	mg/l
Settleable solids	26.67	mg/l
Total-N	935.00	mg/l
PO_3^{-3}-P	115.20	mg/l
K	4,763.00	mg/l
SO_4^{-2}	3,718.00	mg/l
BOD load	3,806.00	kg/day
BOD load	2.77	kg/20 l
Waste	0.106	m^3/20 l

ที่มา : ไชยยุทธ กลิ่นสุคนธ์ และ เสริมพล รัตสุข (2524)

3. การใช้ประโยชน์น้ำกากส่า

สำหรับการนำน้ำกากส่ามาใช้ประโยชน์ พบว่ามีการนำน้ำกากส่ามาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ คือ การนำน้ำกากส่ามาใช้ประโยชน์ในรูปของปุ๋ย โดยทำการเคี่ยวน้ำกากส่าจนงวดแห้งโดยให้มีเนื้อของแข็งประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำเนื้อของแข็งพ่นเข้าไปในห้องเผาไหม้ของหม้อน้ำเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงในการเผาไหม้และเถ้าที่เกิดขึ้นยังใช้เป็นปุ๋ยที่มีโปรแตสเซียมในสัดส่วนที่สูงอีกด้วย นอกจากนั้นยังมีการนำมาทำเป็นปุ๋ยหมัก โดยมีวิธีการผลิตดังนี้ นำน้ำกากส่าพ่นลงบนกองกากชานอ้อย กลับกองกากชานอ้อยแล้วพ่นน้ำกากส่าลงบนกากชานอ้อยซ้ำอีกสลับกันไป ซึ่งการผลิตปุ๋ยหมักดังกล่าวจะเสียค่าใช้จ่ายในการกำจัดน้ำกากส่าประมาณ 24 บาท/การกำจัดน้ำกากส่า 1 ลูกบาศก์เมตร (เกษตรอุตสาหกรรม, 2530)

สุเมธ และคณะ (2530) นำน้ำกากส่ามาใช้เป็นปุ๋ยในการปลูกข้าวและข้าวโพด พบว่า การใส่น้ำกากส่าที่ผ่านการหมัก 100 ลูกบาศก์เมตร/ไร่ ให้ผลผลิตเพิ่มขึ้น 5 และ 25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ในขณะที่ใช้น้ำกากส่าสดในอัตรา 50 และ 100 ลูกบาศก์เมตร/ไร่ ให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นคิดเป็น 13 และ 31 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการปลูกข้าวและข้าวโพด และจากการสังเกตพบว่าในแปลงที่ปลูกข้าวและข้าวโพดที่ใส่น้ำกากส่าสดในอัตรา 50 และ 100 ลูกบาศก์เมตร/ไร่ ไม่มีวัชพืชขึ้นเลย

การนำน้ำกากส่าไปใช้ในการหมักก๊าซมีเทน การหมักดังกล่าวเป็นการเปลี่ยนแปลงอินทรียสารโดยจุลินทรีย์ในสภาพไร้ออกซิเจนผลที่ได้คือ ก๊าซผสมซึ่งมีก๊าซมีเทนประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์, คาร์บอนไดออกไซด์มากกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ และไฮโดรเจนซัลไฟด์อีกเล็กน้อย สำหรับก๊าซมีเทนที่ได้จะถูกนำไปใช้เผาไหม้ทำให้เกิดพลังงานความร้อนเพื่อใช้ในกิจกรรมต่างๆของโรงงาน (เกษตรอุตสาหกรรม, 2530)

Frankel (1986) ได้ทำการทดลองโดยการนำน้ำกากส่ามาหมักโดยใช้จุลินทรีย์พวกที่ไม่ใช้ออกซิเจน จะได้ก๊าซมีเทนและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เป็นปริมาณ 30 เท่า ของปริมาตรน้ำกากส่าที่ใช้ สำหรับก๊าซมีเทนที่ได้นั้นถูกนำไปใช้เผาไหม้ทำให้เกิดพลังงานความร้อนในโรงงาน ส่วนก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์สามารถนำไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยงสาหร่าย

การใช้น้ำกากส่าในการเลี้ยงปลา จากการทดลองแม้ว่าจะใช้ได้ผลแต่ต้องใช้ในปริมาณที่จำกัด เนื่องจากหากใช้ในปริมาณมากไปจะเป็นอันตรายต่อปลาได้ ทั้งนี้เพราะจะทำให้ระดับออกซิเจนในน้ำลดลง (สุเมธ และคณะ, 2530)

สมพงษ์ แซ่โค้ว (2528) ทดลองนำน้ำกากส่า 6 อัตราส่วน คือ 0.125, 0.375, 0.625, 0.875, 1.125 และ 1.375 มิลลิกรัม/ลิตร มาเลี้ยงโรติเฟอร์ 3 จีนัส คือ *Brachionus* sp., *Keratella* sp. และ *Lecane* sp. พบว่าน้ำกากส่าที่อัตราส่วน 1.375 มิลลิกรัม/ลิตร ให้ผลในการเลี้ยงโรติเฟอร์ทั้ง 3 จีนัสได้ดีที่สุด และนอกจากการนำน้ำกากส่าไปใช้เลี้ยงโรติเฟอร์ดังกล่าวแล้วยังใช้เป็นปุ๋ยในบ่อปลาได้ด้วย

เนื่องจากในน้ำกากส่ามีน้ำตาลฟรุคโตสเหลืออยู่ พบว่าจุลินทรีย์หลายชนิดสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตได้ดีฉะนั้นในการนำน้ำกากส่ามาเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจึงเพียงแต่เติมแหล่งไนโตรเจนเพียงเล็กน้อย เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำกากส่าดังกล่าวมีค่าบีโอดี (BOD) และ ซีโอดี (COD) ลดลง จึงถือได้ว่าเป็นการช่วยลดมลภาวะในน้ำกากส่าได้อีกทางหนึ่งด้วย (Kujala *et. al*., 1976)

จรูญ ลีไตรรงค์ (2531) ได้ทำการทดลองเลี้ยง *Spirulina platensis* ด้วยน้ำกากส่าที่เตรียมขึ้นด้วยความเข้มข้น 0-10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 16 วัน พบว่าทุกความเข้มข้นของน้ำกากส่าเหมาะสมต่อการเลี้ยง *S. platensis* โดยมีช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเก็บเกี่ยวประมาณ 6 วัน เมื่อนำ *S. platensis* ที่เลี้ยงในน้ำกากส่าและที่เลี้ยงในอาหารสังเคราะห์มาหาโปรตีน พบว่ามีโปรตีน 51.63 และ 25.39 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนี้ในการทดลองเลี้ยง *S. platensis* ในน้ำกากส่าดังกล่าวมี

ผลพลอยได้คือ *S. platensis* สามารถฟอกสีของน้ำกากส่าโดยลดความเข้มสีลงถึง 65.91-79.27 เปอร์เซ็นต์

Gonzalez (1979) ได้ทดลองนำเชื้อราหลายสายพันธุ์มาเลี้ยงในน้ำกากส่า พบว่าเชื้อราสายพันธุ์ *Aspergillus phoenicis* H-13 ให้ผลผลิต 17 กรัม/ลิตร เทียบกับเมื่อเลี้ยงในอาหารสังเคราะห์ (potato dextrose broth) ซึ่งให้ผลผลิตเพียง 3.5 กรัม/ลิตร

Gonzalez (1980) ได้ทดลองนำยีสต์มาเลี้ยงในน้ำกากส่าในอัตราส่วน 1:1 ผสมด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต 0.15 เปอร์เซ็นต์ และโปรแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.10 เปอร์เซ็นต์หลังจากเลี้ยง 24 ชั่วโมงสามารถลดบีโอดีได้ 60 เปอร์เซ็นต์ และได้ยีสต์เป็นผลผลิต 10 กรัม/ลิตร โดยมีโปรตีนเฉลี่ย 32-40 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง

Shojaosadati และคณะ (1999) ทดลองเลี้ยงยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ *Candida rugosa* ในน้ำกากส่าสดพบว่า ได้ผลในการลดซีโอดีที่ 40 องศาเซลเซียส ได้สูงกว่าเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิต่ำ นอกจากนี้ที่อุณหภูมิสูงยังทำให้การตกตะกอนของยีสต์ดีขึ้น ซึ่งเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการเก็บเกี่ยวได้

การนำน้ำกากส่ามาผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆทางชีวภาพ ได้แก่ เอนไซม์, ไคโตซาน, แอสต้าแซนทิน, ฮอร์โมนพืช และผลิตภัณฑ์ในกลุ่มโพลีเมอร์ เช่น พอลลูแลน (pullulan) และอัลเทอแนน (alternan) (Kelly *et al*., 2000) มีการใช้น้ำกากส่าเลี้ยงเชื้อรา *A. awamori* var. *kawachi* เพื่อให้ผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตน้ำผลไม้ และการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มโปรติเอสโดยใช้เชื้อรา *Aspergillus usami* (Morimura *et al.*, 1991) การผลิตไคโตซานโดยเชื้อ *Gongronella butteri* และยังให้ผลในการลดซีโอดีถึง 49 เปอร์เซ็นต์ (Yokoi *et al*., 1998) สำหรับการผลิตแอสต้าแซนทินซึ่งเป็นโพลีเมอร์ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายทั้งในอุตสาหกรรมผลิตอาหารและอุตสาหกรรมยาโดยเลี้ยงเชื้อ *Phaffia rhodozyma* (Fontana *et al.,* 1997)

น้ำกากส่าที่ระดับการเจือจาง 1:4 สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตฮอร์โมนพืช เช่น กรดจิบเบอเรลลิน (gibberellic acid), กรดแอบซิซิน (abscisin acid), กรดอินโดลอะซิติก (indole acetic acid) และไซโตไคนิน (cytokinin)โดยเลี้ยงเชื้อ *Funalia trogii* และ *Trametes versicolor* (Yurekli *et al.,*1999) ของเหลวข้นจากน้ำกากส่าถูกใส่เพิ่มลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ *Leuconostoc mesenteroides* เพื่อผลิต alternan ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง (Leathers, 1998) และยังสามารถใช้เพื่อผลิต pullulan โดยเชื้อ *Aureobasidium* sp. ได้อีกด้วย (Leathers and Gupta, 1994)

4. โปรไบโอติกกับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ

โปรไบโอติกนำมาใช้ครั้งแรกในงานวิจัยทางวิทยาศาสตร์ของ Lilly และStillwell (1965) กล่าวถึงสารที่จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งขับออกมาและช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นการทำงานที่ตรงข้ามกับการทำงานของยาปฏิชีวนะ (antibiotic) ที่จะทำลายจุลินทรีย์ทุกประเภท (ธารารัตน์ ศุภศิริ, 2542)

Parker (1974) ได้ให้คำนิยามไว้คือ สิ่งมีชีวิตและสารเคมีที่มีผลต่อสมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้

Fuller (1989) ให้คำนิยามคือ อาหารเสริมจุลินทรีย์มีชีวิตที่สามารถก่อให้เกิดประโยชน์ต่อร่างกายของสิ่งมีชีวิตที่มันอาศัยอยู่ สามารถปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย

จากการศึกษาองค์ประกอบต่างๆในน้ำกากส่าพบว่า น้ำกากส่าสดที่ได้จากโรงงานกลั่นสุราประกอบด้วยวิตามินบีรวม ยีสต์และแบคทีเรีย โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *Bacillus* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อกุ้งกุลาดำในแง่ของการเป็นโปรไบโอติกในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ

Verchuere และคณะ (2000) ได้ให้ความหมายของคำว่าโปรไบโอติกที่เหมาะสมกับสัตว์น้ำ คือ กลุ่มจุลินทรีย์มีชีวิตที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อเจ้าบ้านโดยมีความสัมพันธ์กับเจ้าบ้านหรือกลุ่มจุลินทรีย์อื่นๆ เมื่อนำมาผสมในอาหารเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพของอาหาร หรือกระตุ้นให้มีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงขึ้น ช่วยเสริมให้เจ้าบ้านมีความสามารถในการต้านทานโรคและช่วยปรับสภาพสิ่งแวดล้อม

Hammes และ Hertel (1997) ได้ให้ความหมายของโปรไบโอติกว่าคือ การเลี้ยงจุลินทรีย์มีชีวิตเพียงชนิดเดียวหรือหลายชนิดในสัตว์หรือมนุษย์แล้วส่งผลให้เกิดประโยชน์ต่อเจ้าบ้าน โดยจุลินทรีย์โปรไบโอติกจะเข้าไปทำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆที่อยู่ในลำไส้ให้เกิดความสมดุล ปัจจุบันพบว่ามีจุลินทรีย์ทั้งยีสต์ , รา และแบคทีเรีย ที่นำมาใช้เป็นโปรไบโอติกแล้ว

โปรไบโอติกสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำคือจุลินทรีย์ที่เติมลงสู่ถังหรือบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ จุลินทรีย์ที่ดีหรือโปรไบโอติกจะไปเปลี่ยนแปลงชนิดหรือแทนที่แบคทีเรียที่ก่อโรคในน้ำและในตะกอนดิน เพิ่มความหลากหลายของจำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ และทำให้สัตว์น้ำมีสุขภาพดีขึ้น (Moriaty, 1997) รวมทั้งสามารถเจริญในระบบทางเดินอาหารของสัตว์น้ำได้ (Cahill, 1990; Gatesoupe, 1999; Gram *et al*., 1999) สำหรับจุลินทรีย์ที่ใช้เป็นโปรไบโอติกแสดงในตารางที่ 2 Boyd และ Gross (1998); Phinphak และคณะ (1997) และ Moriaty (1997) กล่าวถึงการทำงานของโปรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำดังนี้

1) เพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์ในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำ
2) ลดความเข้มข้นของไนโตรเจนและฟอสฟอรัส
3) ส่งเสริมการเจริญของสาหร่ายที่มีประโยชน์และยับยั้งการเจริญของสาหร่ายที่เป็นพิษ เช่นสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน

4) ช่วยเพิ่มความเข้มข้นของออกซิเจนละลาย
5) ควบคุมความเข้มข้นของแอมโมเนีย, ไนไตรท์ และไฮโดรเจนซัลไฟด์ โดยการสร้างเอนไซม์บางชนิดออกมา ซึ่งทำให้ความเป็นพิษของสารดังกล่าวลดลง
6) ทนต่อเชื้อก่อโรคและมีอัตราการอยู่รอดสูง
7) เพิ่มปริมาณอาหารมีชีวิต เช่น แพลงก์ตอนสัตว์ (zoo plankton)
8) ช่วยส่งเสริมระบบภูมิคุ้มกันให้ดีขึ้น
9) ปรับปรุงคุณภาพน้ำ ทำให้น้ำที่ปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมมีการปนเปื้อนน้อยลง
10) อาจมีการสร้างสารยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรค
11) โปรไบโอติกบางชนิด เช่น *Bacillus* sp. สามารถสร้างเอนไซม์ที่ย่อยสารโมเลกุลใหญ่ เช่น พอลิเมอร์ จึงทำให้แบคทีเรียในกลุ่มนี้สามารถเจริญในน้ำได้ดีกว่าเชื้อก่อโรค เช่น *Vibrio* sp. ซึ่งไม่สามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้

สาเหตุของการใช้โปรไบโอติกในเชิงอาหารสัตว์

การเลี้ยงสัตว์ในประเทศไทยในปัจจุบันได้มีการพัฒนาเป็นอย่างมาก ทั้งในพันธุ์สัตว์ การจัดการเลี้ยงดู และการให้อาหาร สัตว์ที่เลี้ยงยุคใหม่มักจะได้รับการปรับปรุงพันธุ์ให้มีผลผลิตสูง เช่น มีอัตราการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีปริมาณเนื้อแดงมาก ไขมันน้อย เป็นต้น จนสัตว์ต่างๆ เหล่านี้เมื่อให้ผลผลิตเพิ่มมากขึ้นมักจะมีความต้านทานโรครวมทั้งความแข็งแรงลดลง ความทนทานต่อความเครียดต่างๆในระดับต่ำ ทำให้สัตว์เป็นโรคง่าย ดังนั้นสัตว์ที่เลี้ยงในปัจจุบันจึงต้องผสมยาปฏิชีวนะหรือสารเคมีสังเคราะห์สำหรับการควบคุมโรคลงไปในอาหารตลอดเวลา เพื่อช่วยลดความเครียดให้กับสัตว์ แต่การใช้ยาปฏิชีวนะและสารเคมีสังเคราะห์เพื่อเป็นสารกระตุ้นการเจริญเติบโตนั้น อาจก่อให้เกิดผลเสียในระยะยาว ได้หลายประการ คือ

1. การใช้ยาปฏิชีวนะชนิดใดชนิดหนึ่งเป็นเวลานานในฟาร์ม อาจจะทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรคในฟาร์มนั้นเกิดการดื้อยา ทำให้การรักษาโรคนั้นอาจยากมากขึ้น
2. หากไม่มีการหยุดใช้ยาก่อนส่งสัตว์ออกจำหน่ายเป็นระยะเวลาเพียงพอจะทำให้มียาปฏิชีวนะตกค้างในเนื้อหรือในผลิตภัณฑ์ของสัตว์ ซึ่งจะถ่ายทอดต่อไปยังผู้บริโภคด้วย และเป็นสาเหตุให้เกิดการกีดกันทางการค้าได้
3. ยาปฏิชีวนะอาจมีผลทำให้เชื้อโรคคนดื้อยาตามไปด้วย ในปัจจุบันนิยมหันมาใช้โปรไบโอติกกันมากขึ้น (อุทัย คันโธ, 2535) ซึ่งจากเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น ทำให้การใช้โปรไบโอติกเป็นทางออกที่ได้รับความนิยมในปัจจุบัน โดยมีการนำจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อการเติบโตมาใช้ในอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับสัตว์มานานกว่า 50 ปี

Parker (1974) และ Fuller (1989) ได้รวบรวมทำการศึกษาการใช้โปรไบโอติกแทนสารปฏิชีวนะ และได้รวบรวมความแตกต่างของสมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกและสารปฏิชีวนะ (ตารางที่ 3) ซึ่งในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำปัญหาใหญ่ที่ทำให้เกษตรกรผู้เพาะเลี้ยง

ประสบความสำเร็จหรือล้มเหลวคือ การป้องกันและควบคุมโรคที่ทำให้เกิดปัญหา ได้แก่ โรคที่เกิดจากเชื้อ *Vibrio* (Vibriosis) โดยการใช้ยาหรือสารปฏิชีวนะ เมื่อใช้ไปได้ระยะหนึ่งจะประสบปัญหาการดื้อยา ทำให้การรักษาทำได้ยากมากขึ้นจำเป็นต้องมีการเพิ่มปริมาณการใช้ยามากขึ้นกว่าที่เคยใช้ในระยะแรกของการเลี้ยงการใช้ยาไม่สามารถรักษาอาการป่วยที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรียได้เลย ปัญหาการดื้อยาของเชื้อแบคทีเรียที่ก่อโรคโดยเชื้อแบคทีเรียจะปรับตัวให้สามารถทนต่อยาหรือสารปฏิชีวนะได้มากขึ้น ซึ่งสาเหตุของการดื้อยามาจากการใช้ยาหรือสารปฏิชีวนะไม่ถูกต้องในการป้องกันและรักษาโรค มีการใช้ยาเพื่อป้องกันในระยะที่กุ้งยังไม่ป่วยทำให้มีการใช้ยาบ่อยเกินไป การใช้ยามากเกินไป การใช้ยาปฏิชีวนะดังกล่าวจะส่งผลให้เกิดความเสียหายกับตับและตับอ่อนซึ่งทำหน้าที่กำจัดสารแปลกปลอมออกจากร่างกายของกุ้ง การใช้ยาหรือสารปฏิชีวนะมากเกินไปทำให้เกิดการฝ่อของตับ ทำให้หน้าที่อื่นๆของตับ เช่น การสร้างน้ำย่อย การสะสมอาหารเพื่อการดำรงชีวิตด้อยลงไปด้วย สารปฏิชีวนะที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำเป็นสารที่ออกฤทธิ์ต่อจุลินทรีย์ต่างๆ ในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำจะไม่ใช้สารปฏิชีวนะผสมในอาหารกุ้งแต่จะให้กุ้งกินโดยตรง หรือละลายน้ำแช่ลูกกุ้งเพื่อการรักษาโรคที่ติดเชื้อแบคทีเรีย สารปฏิชีวนะที่ใช้ในการเลี้ยงกุ้งและเกิดการตกค้างได้แก่ Oxytetracycline, Chloramphenicol, Nitrofuran และ Sulfa drug เป็นต้น การใช้ยาไม่ถูกวิธีนอกจากจะเป็นการสิ้นเปลืองและไม่ได้ผลในการรักษาแล้วยังก่อให้เกิดปัญหาการดื้อยาของแบคทีเรียและปัญหาสารตกค้างในเนื้อกุ้งซึ่งเป็นปัญหาในการส่งออกกุ้งไปจำหน่ายยังต่างประเทศ

ตารางที่ 2 แบคทีเรีย ยีสต์และราที่เป็นโปรไบโอติก

Table 2. Probiotic bacteria, yeasts and molds.

Probiotic microorganism	
Bacteria	*Bacillus coagulan, B. Subtilis, B. licheniformis, B. toysi,*
	B. stearothermophilus
	Bacteroides amylophilus, B. capillosus, B. ruminocola, B. suis
	Bifidobacterium thermophilum, B. adolescentis, B. animalis,
	B. bifidum, B. infatis, B. longum
	Lactobacillus acidophilus, L. bifilus, L. brevis, L. bulgaricus, L. casei,
	L. rerterii, L. ellobiosus, L. colinoides, L. corvatus, L. delbruekii,
	L. fermentum, L. lactis, L. plantarum, L. ruminis, L. vitulinus
	Leuconostoc cromoris, L. dextranicum, L. lactis, L. mesenteroides
	Pediococcus acidophilus, P. halophilus, P. pentosaecus, P. cerevisiea
	P. acidilacticii
	Propionibacterium freudenreichii, P. shermanii
	Streptococcus cremoris, S. diacetyl actis, *S. faesium, S. intermedius,*
	S. lactis, S. thermophilus
	Clostridium butyridium
	Enterococcus sp.
	Escherichia coli
Yeasts	*Sacharomyces cerevisieae*
	Candida pentoiepessi (Torulopsis bovina)
Molds	*Aspergillus oryzae, A. niger*

ที่มา : ดัดแปลงจาก วรรณี เมืองเจริญ (2535)

ตารางที่ 3 สมบัติและกลไกการออกฤทธิ์ของโปรไบโอติกและสารปฏิชีวนะ

Table 3. Properties and mechanisms of probiotics and antibiotics.

Probiotics	**Antibiotics**
Properties	**Properties**
1. Organism	1. Pure substrant
2. Had not the ability to utilization	2. Had the ability to utilization
3. The growth increase	3. The growth increase
4. Have not in the tissue	4. Have in the tissue
5. Not mutation of pathogen	5. Mutation of pathogen
Mechanisms	**Mechanisms**
1. Specific anti pathogen	1. Not specific anti pathogen

ที่มา : ดัดแปลงจากศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ (2539)

แบคทีเรียที่เป็นโปรไบโอติกสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำได้แก่ *Bifidobacterium* sp. (Itami *et al.*, 1998); *Bacillus* sp. (Boyd and Gross, 1998; Reangpipat *et al*., 1998a; 1998b); *Pseudomonas* sp. (Smith and Durey, 1993; Gram *et al*., 1999) *Rhodopseudomonas* sp. (Jingjin *et al*., 1997) *Rhodobacter* sp. (Xiuzhen and Yufeng, 1993; Pradal, 1994); *Lactobacillus* sp. (Jiravanichaisal *et al*., 1997)

Boyd และ Gross (1998) รายงานว่าแบคทีเรียที่นิยมใช้เป็นโปรไบโอติกชนิดที่เป็นเซลล์มีชีวิตเติมลงในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำมีหลายชนิดได้แก่ *Bacillus* sp., *Nitrosomonas* sp., *Pseudomonas* sp., *Enterobacter* sp., *Cellulomonas* sp. และ *Rhodopseudomonas* sp. โดยปริมาณแบคทีเรียที่ใช้เติมลงในบ่อเลี้ยงสัตว์น้ำจะอยู่ในช่วง 10^2-10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร Zherdmant และคณะ (1997 อ้างโดย Gomez-Gil *et al*., 2000) รายงานโปรไบโอติกแบคทีเรียจำนวน 10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร สามารถป้องกันการติดเชื้อในกุ้งขาว (*Penaeus vanamei*) ได้ Haryanti และ Tsumura (1998) รายงานว่าเมื่อใช้แบคทีเรียสายพันธุ์ BY-9 ที่มีเชื้อเริ่มต้น 10^6 โคโลนี/มิลลิลิตร เติมลงในถังที่เลี้ยงกุ้งกุลาดำ พบว่าแบคทีเรียก่อโรค (*Vibrio* sp.) ในน้ำมีจำนวนลดลง กุ้งมีอัตราการรอด 46.11 เปอร์เซ็นต์ ส่วนชุดควบคุมมีอัตราการรอดเพียง 10.57 เปอร์เซ็นต์ Maeda และ Liao (1992) รายงานว่าเมื่อเติมแบคทีเรียที่แยกได้จากดินจำนวน 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร ลงในบ่ออนุบาลลูกกุ้งกุลาดำ ทำให้อัตราการรอดและการลอกคราบดีกว่าชุดควบคุม เมื่อใช้โปรไบโอติกแบคทีเรียจำนวน 10^6 โคโลนี/มิลลิลิตร เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงตัวอ่อนหอยนางรม (*Crassostrea gigas*) พบว่าได้ผลผลิต

สูงขึ้นเพราะโปรไบโอติกแบคทีเรียมีสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญและสร้างเอนไซม์ที่ทำให้หอย นางรมมีระบบการย่อยที่ดี นอกจากนี้ยังช่วยกำจัดสารเมทาบอไลท์บางชนิดที่สาหร่ายหรือสิ่งมีชีวิต อื่นๆสร้างขึ้น Xiuzhen และ Yufeng (1993) ทดลองเติมแบคทีเรียสังเคราะห์แสงลงในบ่อเลี้ยงปลา silver carp (*Hypophthalmicchthys molitrix*) และ grass carp (*Ctenopharyngo donidella*) พบว่า จำนวนที่เหมาะสมที่ให้ผลผลิตสูงสุดคือ 17.6×10^{12} เซลล์/ลูกบาศก์เมตร Gomez-Gil และคณะ (1998) ใช้โปรไบโอติกแบคทีเรีย 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร เติมในถังเลี้ยงกุ้งที่ปลอดเชื้อ พบว่าเมื่อเวลา ผ่านไป 72 ชั่วโมง โปรไบโอติกแบคทีเรียจะลดจำนวนลง

แบคทีเรียแลกติกที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก

lactobacilli สามารถเกาะที่ผนังลำไส้ได้และพบว่าแบคทีเรียแลกติกในสัตว์เลือดเย็นจะมี ความจำเพาะเจาะจงต่อทางเดินอาหารของเจ้าบ้าน ซึ่งแบคทีเรียแลกติกที่แยกได้จากสัตว์ฟันแทะไม่ สามารถเกาะได้ในทางเดินอาหารของไก่ (Fuller, 1989) Owehand และ Conway (1996) แยกเชื้อ และศึกษาคุณสมบัติของสารที่ผลิตโดย *L. fermemtum* ที่สามารถยับยั้งการเกาะของ *E. coli* ที่เยื่อบุ เมือกบริเวณลำไส้เล็ก ต่อมา Olsson (1995) และ *Joborn et al*. (1997) พบว่าแบคทีเรียแลกติก สามารถเกาะได้ที่เนื้อเยื่อของทางเดินอาหารของปลาและจากการทดสอบในห้องปฏิบัติการชี้ให้ เห็นว่า *Carnobacterium* sp. สามารถเกาะได้ที่เยื่อบุบริเวณลำไส้ของปลาเรนโบว์เทราท์ แต่กลไกใน การเกาะไม่มีความจำเพาะและถือว่าการแย่งการเกาะที่บริเวณ receptors บนเยื่อบุบริเวณลำไส้กับ เชื้อก่อโรคเป็นผลมาจากคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก (Montes and Pugh, 1993)

Gatesoupe (1991a) เติมแบคทีเรียแลกติกในการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์ พบว่า *Lactobacillus* 2 สายพันธุ์คือ *L. plantarum* และ *L. helveticus* ให้ผลในการเพิ่มจำนวนความหนาแน่นของ โรติเฟอร์อย่างมีนัยสำคัญ และพบว่า *L. plantarum* มีประสิทธิภาพดีกว่า *L. helveticus* ในขณะที่ *Streptococcus thermophilus* ให้ผลในการเพิ่มจำนวนความหนาแน่นของโรติเฟอร์อย่างไม่มีนัย สำคัญ และพบว่าจำนวนของแบคทีเรียที่ต้องการอากาศในการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์ลดลงอย่างมีนัย สำคัญเมื่อเติม *L. plantarum* การเจริญของ *Aeromonas samonicida* ในการเพาะเลี้ยงโรติเฟอร์ สามารถถูกยับยั้งโดย *L. plantarum*

Garcia-de-la-Banda *et al*. (1992) อ้างโดย Bruno *et al*. (2000) มีการใช้ *Streptococcus lactis* และ *Lactobacillus bulgaricus* เป็นอาหารเลี้ยงโรติเฟอร์และอาร์ทีเมียเพื่อใช้เลี้ยงตัวอ่อนของ ปลาเทอบ็อท ทำให้ปลาเทอบ็อทมีอัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มควบคุมถึง 6 เท่า

Gastisoupe (1999) พบว่า *Lactobacillus* และ *Carnobacterium* สายพันธุ์ที่แยกได้จาก โรติเฟอร์สามารถเพิ่มความต้านทานให้แก่ตัวอ่อนของปลาเทอบ็อทต่อเชื้อก่อโรคซึ่งได้แก่ *Vibrio* sp. ซึ่งให้ผลสอดคล้องกับการทดลองของ Gilberg *et al*. (1995) พบว่าการเติม *C. divergens* ที่มีความเข้มข้น 10^5 CFU/ml ลงไปผสมในอาหารไม่สามารถต้านต่อการเกิดโรคโดย *Aeromonas*

hydrophila ในลูกปลาเซลมอน แต่สามารถลดอัตราการตายของลูกปลา Atlantic cod เมื่อเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดย *V. anguillarum*

Byun และคณะ (1997) ศึกษาประสิทธิภาพของ *Lactobacillus* sp. DS-12 พบว่า *Lactobacillus* sp. DS-12 สามารถใช้เป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงปลาตาเดียว (*Paralichthys olivaceus*) ได้

***Bacillus* spp. ที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก**

Phinphak และคณะ (1997) ทำการทดลองนำ *Bacillus* sp. มาผสมกับอาหารกุ้งเพื่อทำเป็นโปรไบโอติกให้แก่ลูกกุ้งกุลาดำกินในอัตราส่วนต่างๆกัน พบว่า ลูกกุ้งที่ได้รับโปรไบโอติกมีอัตราการรอดตายจากการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคโดย *Vibrio harveyi* สูงถึงร้อยละ 100 โดยกุ้งทดลองมีสุขภาพแข็งแรงและเจริญเติบโตได้ดี ในขณะที่กลุ่มควบคุมมีอัตรารอดเพียงร้อยละ 26 และมีอาการผิดปกติในตับ, ตับอ่อน และลำไส้

สิทธิ แดงสกุล และลิลา เรืองแป้น (2541) รายงานการนำ *Bacillus* sp. จำนวน 6 สายพันธุ์ที่แยกได้จากผิวดินพื้นบ่อเลี้ยงกุ้ง นำมาใช้เลี้ยงลูกกุ้งกุลดำ และทำการเปรียบเทียบอัตราการรอดตาย, น้ำหนัก, ความยาวที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตของลูกกุ้งกุลาดำ พบว่า *Bacillus* sp. สายพันธุ์ PO_{25}, PO_{26} และ PO_{27} ให้อัตราการรอดตายสูงกว่ากลุ่มควบคุม

Reangpipat และคณะ (1998a) รายงานว่าเมื่อใช้ *Bacillus* S11 ในลักษณะต่างกันคือ เซลล์สด, เซลล์สดในน้ำเกลือ และเซลล์แห้ง (lyophilized cell) ผสมอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งกุลาดำอายุ 30 วัน เปรียบเทียบกับอาหารสูตรปกติที่ไม่มีการเติมเชื้อ *Bacillus* S11 เมื่อให้อาหารครบ 100 วัน นำกุ้งกุลาดำในแต่ละชุดมาแช่เชื้อ *V. harveyi* D331 ที่มีปริมาณเชื้อ 10^5 โคโลนี/มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน หลังจากนั้นแช่เชื้อ *V. harveyi* D331 ซ้ำอีกครั้งโดยมีปริมาณเชื้อ 10^7 โคโลนี/มิลลิลิตรจนครบ 10 วัน ผลการทดลองพบว่ากุ้งกุลาดำที่กินอาหารผสม *Bacillus* S11 มีอัตราการรอดตาย 100 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกุ้งกุลาดำที่กินอาหารปกติมีอัตราการรอดตายเพียง 26 เปอร์เซ็นต์

ยีสต์ที่มีคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติก

มีการนำยีสต์ที่มีคุณสมบัติโปรไบโอติกมาประยุกต์ใช้ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ เช่น

Tovar และคณะ (2004) ศึกษาการนำยีสต์สายพันธุ์ *Debaryomyces hansenii* CBS 8339 ผสมในอาหารที่ใช้เลี้ยงปลาเบสทะเลปริมาณ 0%, 1.1% และ 5.7% โดยเลี้ยงเป็นเวลา 37 วัน พบว่าปลาเบสทะเลที่ให้อาหารผสมยีสต์มีอัตราการอยู่รอดเพิ่มขึ้น 10% และมีอัตราการเจริญเติบโตที่ผิดปกติลดลง โดยน้ำหนักของปลาเบสทะเลจะเพิ่มเป็น 2 เท่าเมื่อให้อาหารที่ผสมยีสต์ 1.1%

Storebakken และคณะ (2004) ได้ทำการศึกษาปริมาณยีสต์สีแดง (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) ที่ผสมในอาหาร 3 ระดับ คือ 45%, 70% และ 90% เปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่ได้ผสมยีสต์ แล้วนำไปเลี้ยงปลาเทราท์เป็นเวลา 92 วัน โดยมีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 0.8-0.9 (เมื่อให้อาหารในอัตราส่วน 0.8-0.9 กิโลกรัม ทำให้ได้น้ำหนักของปลาเพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม)

Lara-flores และคณะ (2003) ได้ศึกษาผลของยีสต์ที่มีคุณสมบัติโปรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตของปลาหมอเทศ โดยใช้ยีสต์ 0.1% เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่มีการเติมยีสต์ โดยให้อาหารเป็นเวลา 9 สัปดาห์ ปรากฏว่าอาหารที่ผสมโปรไบโอติกจะให้การเจริญเติบโตที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม โดยพบว่าอาหารที่ผสมยีสต์ 40% จะให้การเจริญเติบโตและเพิ่มประสิทธิภาพการกินอาหาร แสดงว่ายีสต์เป็นตัวกระตุ้นการเจริญเติบโตของการเลี้ยงปลาหมอเทศได้ดี และยังมีการศึกษาในปลาเรนโบว์เทราท์อีกด้วย โดยได้ทำการคัดเลือกยีสต์ *Rhodotorula rubra*, *R. glutinis* และ *Candida zeylanoides* ซึ่งแยกได้จากลำไส้ในระบบทางเดินอาหารของปลาเรนโบว์เทราท์พื้นเมือง และนำกลับไปเลี้ยงปลาเรนโบว์เทราท์ซึ่งพบว่าอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มที่ไม่ได้รับยีสต์ (Vazqvez-Juarez *et al*., 1993) นอกจากนี้พบว่ายังมีการนำยีสต์มาประยุกต์ใช้กับกุ้งด้วย เช่น Nakano *et al*., 1999 ได้ทำการศึกษาโดยการผสมยีสต์ในอาหาร 10.87% เปรียบเทียบกับไม่ได้ผสมยีสต์ในอาหารพบว่า มีปริมาณน้ำหนักเพิ่มขึ้น 138.7% และ 125.8% ตามลำดับ และอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งต่อวันมีค่าเท่ากับ 1.56% สำหรับไม่ผสมยีสต์มีค่าเท่ากับ 1.35%

พรเลิศ จันทร์รัชชกูล และคณะ (2541) ได้ทดลองใช้ ß-glucan ซึ่งเป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่แยกได้จากยีสต์ ผสมอาหารให้กุ้งกินในอัตรา 5 และ 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เป็นเวลา 3 วันติดต่อกันและทำการเก็บตัวอย่างเลือดเพื่อหาปริมาณเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส, ความสามารถในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยการกลืน และความสารถในการยับยั้งแบคทีเรีย โดยเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมพบว่า ตลอดระยะเวลาในการให้อาหารผสม ß-glucan ในอัตรา 5 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม ไม่มีผลต่อการกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่เด่นชัด ในขณะที่กุ้งที่ได้รับ ß-glucan ในอัตรา 10 กรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีปริมาณเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส, ความสามารถในการกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยการกลืน และความสารถในการยับยั้งแบคทีเรียเพิ่มขึ้นต่างจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ หลังจากได้รับ ß-glucan นานติดต่อกัน 3 วัน

Scholz และคณะ (1999) ทดสอบความสามารถของกุ้งในการกำจัด *Vibrio harveyi* สายพันธุ์ BPO5 ออกจากเลือดของกุ้ง โดยให้กินอาหารที่ผสมยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae*, *Phaffia rhodozyma* HPPR1 และกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้รับยีสต์ ผลปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

5. โรคกุ้งที่มีสาเหตุจากแบคทีเรีย

โรคกุ้งมีสาเหตุจากแบคทีเรียมีเป็นจำนวนมากและมักเป็นการติดเชื้อแบบระยะที่สอง (secondary infection) คือ ร่างกายกุ้งจะอ่อนแอจากสาเหตุอื่นๆอยู่ก่อนแล้ว เช่น มีบาดแผล เกิดความเครียด เป็นต้น โรคแบคทีเรียมักพบมากในกุ้งวัยอ่อน (larvae) โพสท์ลาวา (postlarvae) และกุ้งวัยรุ่น (juvenile) แบคทีเรียก่อโรคในกุ้งส่วนใหญ่จะเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างเป็นแท่ง เคลื่อนไหวได้ ส่วนมากเป็นแบคทีเรียสกุลวิบริโอ (*Vibrio* spp.) ซึ่งได้แก่ *V. alginolyticus, V. parahaemolyticus, V. splendidus, V. vulnificus, V. damsela* และ *V. harveyi* (Lavilla-Pitogo, 1995)

เชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ตัวกุ้งได้หลายทาง เช่น ทางปากโดยการกินอาหารที่มีเชื้อปนเปื้อนเข้าไป ทางรอยแผล หรือติดต่อจากแม่กุ้งซึ่งในกรณีนี้เกิดจากเลือดซึ่งเข้าไปหล่อเลี้ยงรังไข่ทำให้ลูกกุ้งติดเชื้อมาตั้งแต่ยังอ่อน เป็นต้น บริเวณสำคัญที่สุดซึ่งเป็นจุดอันตรายที่เชื้อแบคทีเรียเข้าสู่ตัวกุ้งคือเหงือก จากนั้นจึงเข้าไปตามกระแสเลือดไปตามส่วนต่างๆหมุนเวียนไปทั่วร่างกายโดยการอาศัยน้ำเลือดที่มีโปรตีนสูงถึง 80-95% เป็นอาหาร เมื่อไปถึงตับหรือตับอ่อนหรือแม้แต่ส่วนอื่นๆที่เป็นจุดอับและเป็นแหล่งที่ใช้อาหารได้บางส่วน แบคทีเรียก็เข้าไปอยู่ในอวัยวะส่วนนั้นแล้วปล่อยเอนไซม์ออกมาย่อยเนื้อเยื่อ หลังจากนั้นก็มีการแพร่พันธุ์และขยายจำนวนออกไป เมื่อส่วนของเนื้อเยื่อถูกทำลายทำให้กุ้งป่วยโดยเกิดอาการกินอาหารได้ลดลง ซึมและเครียด เสียการทรงตัวเมื่อว่ายน้ำ และในที่สุดก็เกยฝั่งและตายภายใน 2-3 วัน หลังจากนั้นแบคทีเรียก็ออกมาอยู่ในน้ำเพื่อหา host ใหม่ต่อไป (ยอดยิ่ง เทพธรานนท์, 2541)

จากรายงานของ Jiravannichpaisal และคณะ (1995) พบว่าลูกกุ้งที่ติดเชื้อ *Vibrio* เกิดการตายของเนื้อเยื่อบริเวณเซลล์ท่อตับและพบแบคทีเรียอยู่ในบริเวณท่อตับที่เกิด granulomatous ล้อมรอบบริเวณที่ตับถูกเชื้อโรคเข้าทำลาย ในกรณีที่ติดเชื้อรุนแรงพบว่ามีแบคทีเรีย *Vibrio* จำนวนมากบุกรุกเข้าทำลายที่บริเวณ tubular lumen

โรคเรืองแสงในกุ้งเป็นโรคหนึ่งที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย โดยเกิดจากการปนเปื้อนของแบคทีเรียเรืองแสง (luminous bacteria) ซึ่งมีอยู่หลายชนิด สำหรับชนิดที่ตรวจพบในประเทศไทย ได้แก่ *V. fischeri, V. cholerae*, *V. harveyi* และ *Photobactrium leiognathi* ซึ่งในจำนวนแบคทีเรียเรืองแสงดังกล่าวมานี้ *V. harveyi* เป็นชนิดที่พบในแหล่งน้ำเป็นปริมาณสูงกว่าชนิดอื่นและยังพบในกุ้งป่วยและกุ้งตายอยู่เสมอ (Ruangpan *et al*., 1995b)

ความเสียหายจากปัญหาโรคกุ้งทั้งหมดในขณะนี้พบว่าโรคเรืองแสงจากเชื้อ *V. harveyi* รุนแรงที่สุด ไม่ต่ำกว่า 70% ของโรคทั้งหมดเกิดจากเชื้อโรคนี้เพียงอย่างเดียว ในประเทศไทยโรคเรืองแสงรายงานครั้งแรกในปี 2530 จากโรงเพาะฟักลูกกุ้งแชบ๊วย (*P. merguiemsis*) โดยพบแบคทีเรียเรืองแสงเจริญแพร่หลายมากในบ่อเพาะฟักในขณะที่เกิดการตายของลูกกุ้งระยะต่างๆถึง 70-100% เมื่อทดสอบการทำให้เกิดโรค (pathogenicity) พบว่าเชื้อ *V. harveyi* ที่ระดับความเข้มข้น

10^7 CFU/ml ทำให้เกิดโรคกับลูกกุ้งแชบ๊วยระยะนอเพลียส (nauplius) มากที่สุด ขณะที่ลูกกุ้งในระยะไมซิส (mysis) และโพสท์ลาวา (postlarva) จะเกิดโรคน้อยลงตามลำดับ (ดารุณี แซ่อุยและคณะ, 2530) มณเฑียร ส่งเสริมและคณะ(2533) รายงานว่า *V. harveyi* เป็นสาเหตุของโรคเรืองแสงในกุ้งกุลาดำระยะนอเพลียส และซูเอี้ย (zoea) มากที่สุด ขณะที่เกิดโรคกับกุ้งระยะไมซิสและโพสท์ลาวาได้น้อยลงตามลำดับ

รายงานการวิจัยของ Ruangpan และคณะ (1995a) พบว่าในบ่อเลี้ยงที่มีการเลี้ยงกุ้งหนาแน่นสูงพบแบคทีเรีย *Vibrio* และแบคทีเรียเรืองแสงในปริมาณสูงกว่าบ่อที่มีความหนาแน่นต่ำ และพบว่าหากปล่อยให้ปริมาณแบคทีเรียรวมในบ่ออยู่ในระดับสูง 10^4 เซลล์/มิลลิลิตร เป็นเวลานาน 10 วันขึ้นไปกุ้งในบ่อจะเกิดปัญหาด้านสุขภาพ นอกจากนี้เมื่อแยกเชื้อสกุล *Vibrio* จากกุ้งกุลาดำที่เป็นโรคจากการเลี้ยงในหลายพื้นที่ของประเทศไทยพบว่ามีเชื้อ *V. harveyi* ในตัวกุ้งด้วย (Ruangpan *et al.*, 1995b)

6. ระบบภูมิคุ้มกันในกุ้ง

กุ้งอยู่ในกลุ่มครัสเตเซียน (crustacean) ซึ่งอยู่ในไฟลัมสัตว์ที่มีขาปล้อง (arthropoda) เป็นสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง ซึ่งระบบภูมิคุ้มกันที่ตอบสนองสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายจะแตกต่างกันกับสัตว์ในกลุ่มที่มีกระดูกสันหลัง (Soderhall and Cerenius, 1992; Johansson *et al*., 2000) นั่นคือกุ้งจะมีการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายแบบไม่จำเพาะเจาะจง (Smith and Soderhall, 1983; Duvic and Soderhall, 1989) คือไม่สามารถจดจำสิ่งแปลกปลอมที่เข้ามาในร่างกายได้และจะตอบสนองช้ากว่าการสร้างแอนติบอดีในสัตว์ชั้นสูง โดยพบว่ามีการตอบสนองของเซลล์และสารในน้ำ (cellular and humoral responses) ดังนี้

1) cellular response เซลล์ที่ทำหน้าที่ในการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมได้แก่ เซลล์เม็ดเลือด (Soderhall *et al*., 1985; Persson *et al*., 1987; Soderhall and Cerenius, 1992, 1998) ซึ่งจะกำจัดสิ่งแปลกปลอมโดยกระบวนการต่างๆเช่น

1.1) ฟาโกซัยโตซิส (phagocytosis) เป็นกระบวนการที่สำคัญอย่างหนึ่งของระบบภูมิคุ้มกันเพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อโรคผ่านเข้ามาภายในร่างกาย โดยทั่วไปพบว่ากุ้งมีอัตราการเกิดฟาโกไซโทซิส 1-2% จนถึง 28% (Paterson and Stewart., 1976)

1.2) เอนแคปซูเลชัน (encapsulation) เมื่อมีสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดใหญ่ เช่น ปรสิตต่างๆ บุกรุกเข้ามาในร่างกาย ซึ่งไม่สามารถกำจัดได้ด้วยกระบวนการฟาโกไซโทซิส ร่างกายจะกำจัดสิ่งแปลกปลอมด้วยกระบวนการเอนแคปซูเลชันซึ่งจะมีฮีโมไซท์หลายชนิดจะเข้ามาช่วยกัน

1.3) โนดูลฟอร์เมชั่น (nodule formation) เมื่อมีสิ่งแปลกปลอมจำนวนมากเข้าสู่ร่างกาย กระบวนการฟาโกไซโทซิสไม่สามารถจะกำจัดสิ่งแปลกปลอมนั้นได้หมดจะมีกระบวนการสร้างโนดูล (nodule) ซึ่งเป็นกลุ่มเซลล์ที่รวมตัวกันรอบสิ่งแปลกปลอม ผลจากการเกิดโนดูลคือพวก

สิ่งแปลกปลอมจะอยู่ที่บริเวณผิวชั้นต่างๆของเม็ดเลือด และต่อมากลุ่มโนดูลนั้นจะเปลี่ยนกลายเป็นสีดำเนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ phenoloxidase ในตัวกุ้ง กิจการ ศุภมาตย์ และคณะ (2543) ฉีดเซลล์ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เข้าสู่กุ้งกุลาดำและพบลักษณะของโนดูลฟอร์เมชั่น กระจายอยู่ทั่วไปตามเนื้อเยื่อต่างๆ เช่น ต่อมน้ำเหลือง, ตับ, ตับอ่อน, หัวใจ และเหงือก กระบวนการกำจัดสิ่งแปลกปลอมจะมีเซลล์เม็ดเลือดในระบบไหลเวียนและเซลล์จับกินกับที่ (fixed phagocyte) เข้ามาเกี่ยวข้อง

2) humoral response เช่น โปรตีนชนิดต่างๆในพลาสมาได้แก่ แอกกลูตินิน (agglutinin), ฮีโมไลซิน (hemolysin), ไลโซไซม์ (lysozyme), โปรตีนที่ช่วยในการแข็งตัวของเลือด (clotting protein) (Hermandez-Lopez *et al*., 1996; Vargas-Albores *et al*., 1997; Roch, 1999) และแลคติน (lectin) มีหน้าที่อย่างน้อย 2 อย่าง คือ ช่วยกำจัดเซลล์ที่ไม่ต้องการในระหว่างกระบวนการเปลี่ยนแปลงรูปร่าง และทำหน้าที่ในการป้องกันการติดเชื้อต่างๆในสัตว์จำพวกกุ้ง

ถึงแม้ว่าในสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลังจะไม่มีกระบวนการตอบสนองต่อสิ่งแปลกปลอมแบบจำเพาะหรือแบบอิมโมโนโกลบลูลิน (immunoglobulins) เหมือนในสัตว์ที่มีกระดูกสันหลัง (Smith and Soderhall, 1983; Vargas-Albores and Yepiz-Plascencia, 2000) แต่สามารถจดจำและทำลายจุลินทรีย์หรือพาราไซต์ที่ผ่านเข้ามาในเซลล์ได้ โดยจะมีโปรตีนที่แม้จะไม่สามารถทำลายสิ่งแปลกปลอมได้เอง แต่จะกระตุ้นให้เกิดกระบวนการอื่นๆเช่น ฟาโกซัยโตซิส (Ratcliffe *et al*., 1985 อ้างโดย Vargas-Albores and Yepiz-Plascencia, 2000) และระบบกระตุ้นโปรฟีนอลออกซิเดส

ระบบกระตุ้นโปรฟีนอลออกซิเดส (Prophenoloxidase activating system, proPO system)

เป็นระบบที่ประกอบด้วยโปรตีนหลายชนิด ได้แก่ proteinases, proteinase inhibition และ recognition molecules ซึ่งจะจดจำโครงสร้างของแบคทีเรียและรา หน้าที่ของ proPO system คือ การสร้างออพโซนินก่อให้เกิดแคปซูลหรือโนดูล เกี่ยวข้องกับการแข็งตัวของเลือดช่วยในการทำลายสิ่งแปลกปลอมและมีส่วนช่วยในการติดต่อสื่อสารกันระหว่างเซลล์เม็ดเลือด

เอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส (phenoloxidase, PO) (E.C. 1.14.18.1) ที่พบในน้ำเลือด (haemolymp) จะอยู่ในรูปโปรเอนไซม์ เรียกว่า ProPO (Soderhall and Unestam, 1979) และเปลี่ยนเป็น phenoloxidase (PO) ได้ต้องอาศัยกระบวนการที่เรียกว่าระบบกระตุ้นโปรฟีนอลออก ซิเดส เอนไซม์ฟีนอลออกซิเดสมีหน้าที่ในการเกิดเอนแคปซูเลชันและกระบวนการสร้างเมลานิน (Soderhall and Cerenius, 1998) สารกระตุ้นจะไปจับกับโปรตีนที่มีหน้าที่ในการจดจำสิ่งแปลกปลอม เช่น beta-glucan binding protein และ lipopolysacharide binding protein เกิดเป็นสารเชิงซ้อนที่สามารถกระตุ้นให้เม็ดเลือดหลั่งสารต่างๆออกมา เช่น ระบบโปรฟีนอลออกซิเดสและระบบเอนไซม์ที่กระตุ้นระบบโปรฟีนอลออกซิเดส (Knaap, 1993 อ้างโดย สาวิตรี ศิลาเกษ, 2541) โดยเอนไซม์ที่หลั่งออกมาคือซีรีนโปรติเอส (serine proteinase) มีหน้าที่ในการย่อยเอนไซม์โปรฟีนอลออกซิเดสให้เป็นเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส เกิดปฏิกิริยาไฮดรอกซีเลชั่น และออกซิเดชัน

กับฟีนอล ผลิตภัณฑ์ที่ได้คือ ควินิน (quinines) (Soderhall and Cerenius, 1998; Johansson and Soderhall, 1989; Ashida and YamaZaki, 1990) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในกระบวนการสร้างเมลานิน (Ashida *et al*., 1983; Duvic and Soderhall, 1989; Hernandez-Lopez *et al*., 1996; Gollas-Galvan *et al*., 1997) ทำให้เห็นเป็นจุดสีดำเรียกกระบวนการนี้ว่าเมลาโนซิส (melanosis) มักเกิดบริเวณที่เกิดเอนแคปซูเลชัน โนดูลฟอร์เมชันหรือบริเวณผิวชั้นนอก (cuticle) (Ashida *et al*., 1983; Ferrer *et al*., 1989; Vargas-Albores and Yepiz-Plascencia, 2000)

กระบวนการกระตุ้นระบบ proPO

เริ่มต้นด้วยการเกิดการกระตุ้นระบบให้อยู่ในรูปแอคทีฟโดยสิ่งแปลกปลอม เช่น lipopolysaccharide peptidoglycan และ ß-1,3-glucan โดยสารคาร์โบไฮเดรตเหล่านี้จะกระตุ้นที่ฮีโมลิมป์ (hemolymph) จึงเกิดการเชื่อมต่อของ ß -1,3- glucan และ ß -1,3- glucan binding protein เกิดเป็น complex ไปกระตุ้นที่ membrane receptor ของเซมิแกรนูลาร์เซลล์ ทำให้เกิดการหลั่งสารออกมาหลายชนิดรวมทั้ง proPO ซึ่ง proPO จะออกซิไดส์สารจำพวกฟีนอล (phenol) ให้เป็นควิโนน (quinone) แล้วจึงเกิด polymerization ไปเป็นเมลานิน (melanin) ในที่สุดเมลานินจะทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญของเชื้อโรค นอกจากนั้นสารที่หลั่งออกมาจากเซมิแกรนูลาร์อีกชนิดหนึ่งคือ pro-adhesion and degranulating factor (ADGF) ซึ่งจะทำหน้าที่กระตุ้นเซมิแกนูลาร์และแกรนูลาร์ให้มีการหลั่งสารในระบบ proPO อย่างต่อเนื่อง Soderhall และ Cerenius (1992) ได้อธิบายว่า กลไกของระบบภูมิคุ้มกันเริ่มต้นจากการเกิดการกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันให้อยู่ในรูปที่พร้อมที่จะทำงาน โดยเฉพาะกลุ่มของสารจำพวกน้ำตาลจากจุลินทรีย์ เช่น เบต้ากลูแคน, เปปติโดไกลแคนและไลโปโพลีแซคคาไรด์ ซึ่งสารเหล่านี้จะไปกระตุ้นที่เม็ดเลือดมีผลทำให้เกิดการเชื่อมต่อของสารเหล่านี้กับกลุ่มของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในเม็ดเลือด เช่น การเชื่อมต่อของสารเบต้ากลูแคนและเบต้ากลูแคนที่จับกับโปรตีนได้เป็นสารที่มีโครงสร้างโมเลกุลขนาดใหญ่ที่จะไปกระตุ้น membrane recepteor ของเซมิแกรนูลาร์เซลล์ ทำให้เกิดการหลั่งเอนไซม์ออกมา ซึ่งได้แก่ เอนไซม์ ฟีนอลออกซิเดส เอนไซม์ดังกล่าวจะไปออกซิไดส์ฟีนอลให้ได้เป็นควิโนน ซึ่งเป็นรูปแบบหนึ่งของเมลานินที่จะไม่ถูกกระตุ้นการทำงานโดยเอนไซม์อื่นๆอีก ดังนั้นเมลานินจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ เช่น เอนไซม์โปรตีเอส และเอนไซม์ไคติเนส (Kuo and Alexander, 1967 อ้างโดย Soderhall and Cerenius, 1992) ที่ถูกสร้างขึ้นมาโดยเชื้อโรคที่เข้าสู่ตัวกุ้งทำให้ไม่สามารถที่จะก่อความเสียหายแก่ตัวกุ้งได้และทำให้เชื้อโรคไม่สามารถมีชีวิตอยู่ต่อไปได้ การกระตุ้นระบบโปรฟีนอลออกซิเดสในกุ้งดังแสดงในภาพที่ 1

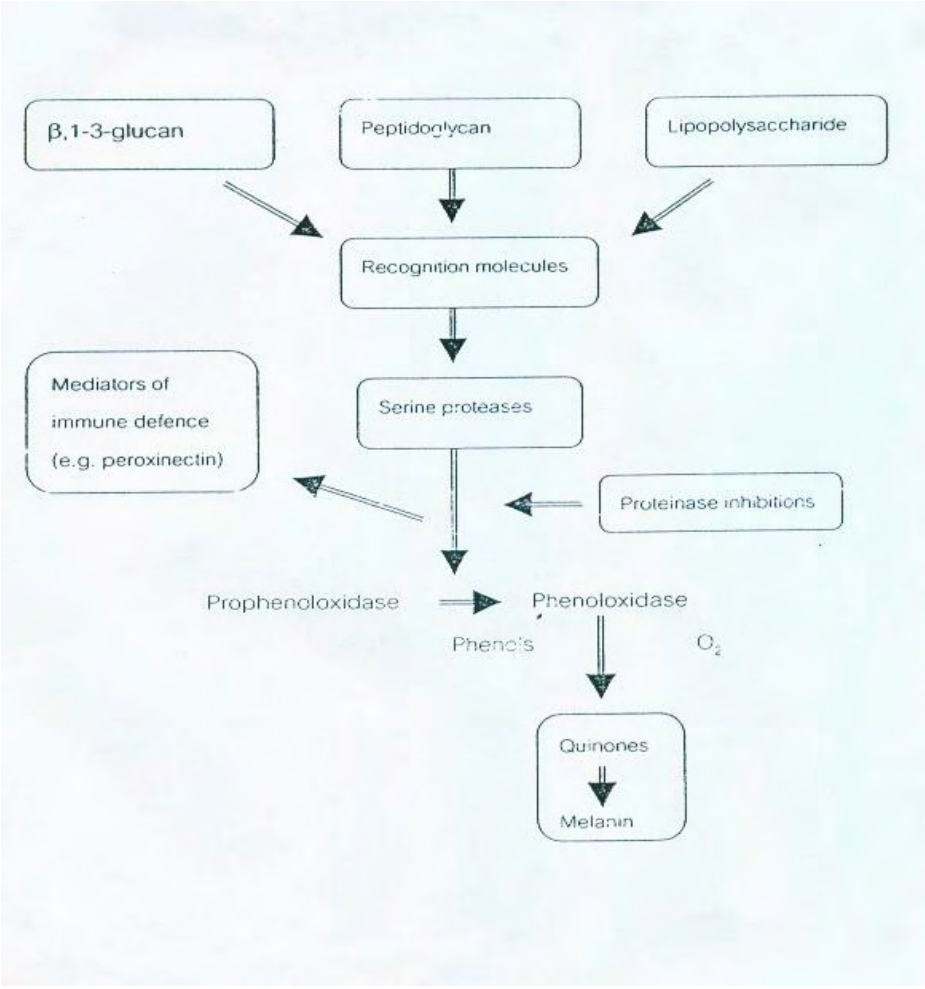
การแข็งตัวของเลือดและการสมานแผล (Clotting and wound healing)

การแข็งตัวของเลือดมักเป็นระบบการป้องกันตัวที่มีความจำเป็นสำหรับสัตว์กลุ่มครัสเตเซียน เนื่องจากสามารถป้องกันการสูญเสียจากรอยเปิดของบาดแผลที่เปลือกและป้องกันเชื้อโรคต่างๆไม่ให้สามารถผ่านเข้ามาได้ (Martin *et al*., 1993) กระบวนการแข็งตัวของเลือดกุ้ง แบ่ง

ออกเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนของ plasma clot และส่วนของ clotting protein โดยในส่วนของ plasma clot จะมีสารคล้ายไฟบริโนเจนอยู่ในพลาสมา ซึ่งสามารถเปลี่ยนแปลงเป็นไฟบริน และ มีทรานส์กลูตามิเนส (transglutaminase) ที่ได้จากไฮยาลินเซลล์ และแคลเซียมอิออน เป็นส่วนสำคัญในการก่อให้เกิดการแข็งตัวของเลือด (Vargas-Albores *et al*., 1998)

การสมานแผล กระบวนการนี้เริ่มจากแกรนูลาร์ฮีโมไซท์ (granular haemocyte) เป็นเซลล์ที่รับรู้ถึงการถูกทำลายเนื้อเยื่อและมีการหลั่งสารเพื่อกระตุ้นเซลล์ชนิดอื่นให้ทำหน้าที่ในการสมานแผล การสมานปิดบาดแผลเกิดขึ้นโดยมีการเพิ่มของการหลั่ง proPO อย่างต่อเนื่อง เกิด PO ซึ่งมีส่วนในการสร้างสารเมลานินมาปิดบาดแผล

ส่วนโปรตีนอีกชนิดที่จดจำสิ่งแปลกปลอมและสามารถกระตุ้นให้เกิดการตอบสนองได้ คือ beta-glucan bindidg protein (BGBP) มีตำแหน่งจำเพาะเพียงตำแหน่งเดียว (monovalent) จึงไม่สามารถชักนำให้เกิดแอกกลูติเนชั่นของแบคทีเรีย แต่สามารถกระตุ้นระบบโปรฟีนอลออกซิเดสได้ (Duvic and Soderhall, 1989)



ภาพที่ 1 การกระตุ้นระบบโปรฟีนอลออกซิเดสในกุ้ง

Figure 1. Stimulation of prophenoloxidase activating system in shrimp

ที่มา : Soderhall และ Cerenius (1998)

7. สารกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกัน (Immunostimulant)

สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันเป็นสารที่ทำให้สิ่งมีชีวิตมีความต้านทานโรคสูงขึ้น แต่จะมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะเท่านั้น (Sakai, 1999) ซึ่งสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันที่นิยมใช้ในกุ้งและปลามีดังนี้ กลูแคน, แลคโตเฟอริน (lactoferin), ไคติน (chitin) และลีวามิโซน (levamlsole) นอกจากนี้สารกระตุ้นการเจริญ (growth hormone), วิตามินซีและวิตามินอีก็มีรายงานว่าใช้เป็นสารกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ โดยจะกระตุ้นกระบวนการฟาโกซัยโตซิสและ bactericidal activity

1) กลูแคน

กลูแคนที่มีการนำมาใช้กระตุ้นภูมิคุ้มกันมีหลายชนิดเช่น ยีสต์, กลูแคน, เปปไทด์-กลูแคน และเบตา-1,3-กลูแคน เป็นต้น มลฤดี สิทธิพันธ์ และคณะ (2543) ทดลองใช้กลูแคนจากการสกัดจากผนังเซลล์ของยีสต์ผสมในอาหารสำหรับเลี้ยงกุ้งกุลาดำ ซึ่งผสมอาหารให้มีสารเบต้ากลูแคนอยู่ 0.1% โดยมีอาหาร 4 สูตร คือ อาหารชุดควบคุม อาหารที่ผสมผนังเซลล์ยีสต์ อาหารที่ผสมสารเบต้ากลูแคนก่อนทำให้บริสุทธิ์ และอาหารที่ผสมสารเบต้ากลูแคนที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ พบว่ากุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบต้ากลูแคนที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ให้ผลการทดลองดีที่สุด และอาหารทั้งสามสูตรสามารถกระตุ้นให้ระบบภูมิคุ้มกันสูงขึ้น Sung และคณะ (1994) พบว่ากุ้งกุลาดำที่แช่ในสารละลายเบต้ากลูแคนที่ระดับความเข้มข้น 0.5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำมาแช่ในสารละลายเชื้อ *V. vulnificus* ความเข้มข้น 5×10^7 โคโลนีต่อมิลลิลิตร นาน 12 ชั่วโมง จะต้านทานเชื้อได้ 18 วัน จากปริมาณเม็ดเลือดที่มีจำนวนมากจะทำให้กุ้งสามารถทนต่อเชื้อโรคได้นาน เนื่องจากกลุ่มของเม็ดเลือดจะมีระบบที่กำจัดเชื้อได้ทันทีและมีประสิทธิภาพ ซึ่งกลไกในการทำลายเชื้อโรคเช่น กระบวนการกลืนทำลาย, การกักล้อม และโนดูลฟอร์เมชัน เป็นต้น

2) ไลโปโพลีแซคคาร์ไรด์

ไลโปโพลีแซคคาร์ไรด์เป็นสารประกอบที่พบในผนังเซลล์ของแบคทีเรียแกรมลบ (Sakai, 1999) สามารถกระตุ้นภูมิคุ้มกันได้ Goldenberg และคณะ (1984) และ Salati และคณะ (1987 อ้างโดย Sakai, 1999) พบว่า LPS สามารถกระตุ้นให้เม็ดเลือดของกุ้งมังกร (Lobter) และปลากะพงแดง (red sea bream) มีกระบวนการฟาโกซัยโตซิสได้ดีขึ้น

สำหรับวิธีการให้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันแก่สัตว์น้ำมีหลายวิธี เช่น การฉีด (injection) การแช่ (immersion) และการกิน (oral) Itami และคณะ (1989) รายงานว่าเมื่อให้สารกระตุ้นภูมิคุ้มกันชนิดที่เป็น formalin-killed vibrio bactericin โดยวิธีการฉีดและการแช่ พบว่าสามารถลดอัตราการตายจากการติดเชื้อ *Vibrio* ในกุ้งคุรุม่าได้ และเมื่อให้วัคซีนที่ผลิตจากเชื้อเรืองแสง (*Vibrio harveyi)* ให้แก่กุ้งกุลาดำโดยวิธีการฉีด พบว่ากุ้งสามารถทนต่อ *V. harveyi* ได้ดีกว่าวิธีกินและวิธีการแช่ (สาวิตรี ศิลาเกษ, 2541) กิจการ ศุภมาตย์และสิทธิ บุณยรัตนผลิน (2538) ได้ให้วัคซีนที่ผลิตจาก *Vibrio* sp. แก่กุ้งกุลาดำโดยวิธีการแช่ พบว่าหลังจากแช่วัคซีนนาน 10 วัน ค่าความว่องไวใน

การจับกินสิ่งแปลกปลอมมีค่าสูงขึ้นเพียงเล็กน้อย และไม่มีความต้านทานต่อโรคไวรัสหัวเหลือง (yellow head virus)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกของแบคทีเรียที่แยกได้จากน้ำกากส่า
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของโปรไบโอติกแบคทีเรียในน้ำกากส่า
3. เพื่อหาความเข้มข้นที่เหมาะสมของโปรไบโอติกแบคทีเรียที่ได้จากน้ำกากส่าต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของโปรไบโอติกแบคทีเรียในน้ำกากส่า
2. ทราบถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของโปรไบโอติกแบคทีเรียที่ได้จากน้ำกากส่าเพื่อใช้กระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันในกุ้งขาว ซึ่งทำให้อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายในกุ้งขาวสูงขึ้น
3. สามารถนำโปรไบโอติกแบคทีเรียที่ได้จากน้ำกากส่าซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานสุรามาใช้ประโยชน์ในแง่ของการเป็นโปรไบโอติกในกุ้งขาว