

บทที่ 4

สรุปผลการทดลอง

การวิเคราะห์น้ำกากส่าสดที่ได้จากหอกลิ้น โรงงานผลิตสุราจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี มีค่า pH 4.52, อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส, COD 220,800 มิลลิกรัม/ลิตร, BOD 52,000 มิลลิกรัม/ลิตร, suspended solids 2,960 มิลลิกรัม/ลิตร, total solids 148,572 มิลลิกรัม/ลิตร, settleable solids 40 มิลลิกรัม/ลิตร, dissolved solid 145,612 มิลลิกรัม/ลิตร, total-N 3,038 มิลลิกรัม/ลิตร, reducing sugar 7,555 มิลลิกรัม/ลิตร, ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด, *Bacillus* spp., แบคทีเรียแลคติก และยีสต์อยู่ในช่วง 1.25×10^6 - 2.75×10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร, 1.80×10^3 - 2.40×10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร, 1.75×10^5 - 1.80×10^6 โคโลนี/มิลลิลิตร และ 2.50×10^3 - 3.75×10^4 โคโลนี/มิลลิลิตร ตามลำดับ

เมื่อนำน้ำกากส่ามาทำการคัดเลือกจุลินทรีย์โปรไบโอติก โดยการนำน้ำกากส่ามาตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 13 วัน โดยทำการวิเคราะห์ปริมาณแบคทีเรียแลคติก, ยีสต์ และ *Bacillus* spp. พบว่า ปริมาณแบคทีเรียแลคติก และยีสต์จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาในการหมักมากขึ้น โดยมีปริมาณมากที่สุดในวันที่ 7 และ 9 ของการหมักเท่ากับ 2.50×10^6 โคโลนี/มิลลิลิตร และ 1.60×10^7 โคโลนี/มิลลิลิตร ในขณะที่ปริมาณ *Bacillus* spp. จะมีปริมาณมากที่สุดในวันที่ 1 เท่ากับ 4.00×10^3 โคโลนี/มิลลิลิตร

เมื่อศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ของน้ำกากส่าที่ผ่านการหมักข้างต้น พบว่า ค่า COD และ reducing sugar มีค่าลดลงเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ค่า total nitrogen และ pH มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาในการหมัก เมื่อทำการคัดเลือกแบคทีเรียแลคติก, *Bacillus* spp. และยีสต์จากน้ำกากส่าหมักในวันที่มีปริมาณสูงสุด พบแบคทีเรียแลคติก, *Bacillus* spp. และยีสต์ 34, 16 และ 30 ไอโซเลต ตามลำดับ นำแบคทีเรียแลคติก, ยีสต์ และ *Bacillus* spp. ทั้งหมดที่คัดเลือกได้จากน้ำกากส่ามาทำการทดสอบสมบัติการเป็นโปรไบโอติกสำหรับกุ้ง โดยทดสอบการย่อยแป้ง, โปรตีน และไขมัน พบว่ามีเพียงยีสต์ 10 ไอโซเลตเท่านั้นที่สามารถย่อยแป้ง, โปรตีน และไขมันได้ และ *Bacillus* spp. 9 ไอโซเลตที่สามารถย่อยไขมัน และโปรตีนได้ จึงนำยีสต์ 10 ไอโซเลตและ *Bacillus* spp. 9 ไอโซเลตที่ได้มาทำการทดสอบความสามารถในการเจริญในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน และสภาวะที่เป็นกรด (pH 1-5) พบว่า *Bacillus* spp. และยีสต์ทั้งหมดมีความสามารถในการเจริญในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน และสภาวะที่เป็นกรด โดยเจริญได้ดีที่สุดที่ pH เท่ากับ 4 เมื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคในกุ้ง (*Vibrio* *haveyi* และ *Vibrio* *parahaemolyticus*) พบว่ามีเพียง *Bacillus* sp. 1 ไอโซเลต (B43) เท่านั้นที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ แต่จากการศึกษาสมบัติการเป็นโปรไบโอติกข้างต้นถึงแม้ว่ายีสต์ไม่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ แต่ก็มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติก

สำหรับกุ้งได้จึงเลือกยีสต์ที่เจริญได้ดีที่สุดในสภาวะที่เป็นกรดมาอีก 1 ไอโซเลต คือ Y22 เพื่อมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการนำไปประยุกต์ใช้ในกุ้งขาว จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Bacillus* sp. (B43) และยีสต์ (Y22) พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลตเจริญได้ดีที่สุดในน้ำจืดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ pH 7.5 โดยให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด คือ 18.07 และ 14.34 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เวลาในการเลี้ยง 18 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อนำเซลล์สดของ *Bacillus* sp. (B43) และยีสต์ (Y22) มาผสมในอาหารกุ้ง ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 6 สัปดาห์ คุณภาพน้ำที่ใช้เลี้ยงวัดได้ตลอดการทดลอง พบว่าอุณหภูมิของน้ำอยู่ระหว่าง 26-27 องศาเซลเซียส, pH อยู่ระหว่าง 7.4-7.6, ความเค็ม 15 ppt, แอมโมเนีย (NH₃) อยู่ระหว่าง 0-0.01 มิลลิกรัม/ลิตร, ค่าไนโตรเจน (NO₂) อยู่ระหว่าง 0.3-0.4 มิลลิกรัม/ลิตร และค่าความเป็นด่าง (Alkalinity) อยู่ระหว่าง 51-68 มิลลิกรัม/ลิตร ซึ่งเป็นค่าที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของกุ้งขาว ชุดการทดลองที่ 4 คือ ลูกกุ้งที่ได้รับอาหารเม็ดที่ผสมเซลล์สดของยีสต์ (Y22) ในระดับความเข้มข้น 2×10^6 CFU/g อาหาร และเคลือบหับด้วยน้ำมันปลา มีอัตราการเจริญต่อวันสูงสุด คือ 4.44 และชุดควบคุมมีอัตราการเจริญเติบโตต่อวันต่ำสุด คือ 2.03 หลังจากการเลี้ยงกุ้งเป็นเวลา 6 สัปดาห์ พบว่ากุ้งมีอัตราการรอดตาย 80% ได้แก่ กุ้งในชุดการทดลองที่ 3, 4 และชุดควบคุม สำหรับกุ้งในชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ซึ่งเป็นกุ้งที่ได้รับอาหารเม็ดที่ผสมเซลล์สดของ *Bacillus* sp. (B43) ในระดับความเข้มข้น 2×10^3 และ 2×10^6 CFU/g อาหาร และเคลือบหับด้วยน้ำมันปลา มีอัตราการรอดตาย 70% และ 75% ตามลำดับ

การวิเคราะห์เม็ดเลือดรวมในกุ้งเมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าชุดการทดลองที่ 4 ให้ปริมาณเม็ดเลือดรวมเฉลี่ยสูงสุด คือ 2.50×10^7 เซลล์/มิลลิลิตร สำหรับการวิเคราะห์ PO activity พบว่า ในชุดการทดลองที่ 4 ให้ค่ามากที่สุด คือ 232.67 unit/min/mg protein หลังจากเลี้ยงกุ้งครบ 6 สัปดาห์ นำกุ้งขาวที่เหลือจากการทดลองในช่วงต้นมาทดสอบการทนต่อการเกิดโรคเรืองแสงโดยฉีดเชื้อ *V. harveyi* ที่มีความเข้มข้น 10^7 CFU/ml ตัวละ 0.1 มิลลิลิตร ติดตามอัตราการรอดตายหลังจากที่กุ้งได้รับเชื้อ *V. harveyi* เป็นระยะเวลา 10 วัน พบว่าชุดการทดลองที่ 4 ให้ % การรอดตายสูงสุด คือ 93.75