

ชื่อวิทยานิพนธ์	การคัดเลือกจุลินทรีย์โปรไบโอติกจากน้ำกากส่าและการประยุกต์ใช้ในกุ้ง ขาว (<i>Penaeus vannamei</i>)
ผู้เขียน	นางสาวหทัยรัตน์ ใกล้เคียง
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา	2549

บทคัดย่อ

น้ำกากส่าเป็นของเสียที่เกิดจากกระบวนการผลิตสุราโดยมีกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ จากการวิเคราะห์น้ำกากส่าสดจากหอกลับโรงงานผลิตสุราจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี พบว่า มีค่า pH 4.52 อุณหภูมิ 94 องศาเซลเซียส COD 220,800 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร BOD 52,000 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร suspended solids 2,960 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร total solids 148,572 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร settleable solids 40 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร dissolved solids 145,612 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร total-N 3,038 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร reducing sugar 7,555 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด แบคทีเรียแลคติก *Bacillus* spp. ยีสต์และราอยู่ในช่วง 1.25×10^6 - 2.75×10^7 CFU/ml, 1.75×10^5 - 1.80×10^6 CFU/ml, 1.80×10^3 - 2.4×10^4 CFU/ml, 2.50×10^3 - 3.75×10^4 CFU/ml และ 25-75 CFU/ml ตามลำดับ เมื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงของจุลินทรีย์ในน้ำกากส่าที่ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 13 วัน เพื่อคัดเลือกจุลินทรีย์โปรไบโอติก พบว่า ปริมาณแบคทีเรียแลคติก *Bacillus* spp. และยีสต์เพิ่มสูงขึ้นเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น โดยมีจำนวนมากที่สุดในวันที่ 7, 1 และ 9 ของการหมัก เท่ากับ 2.50×10^6 CFU/ml, 4.00×10^3 CFU/ml และ 1.60×10^7 CFU/ml เมื่อศึกษาลักษณะของน้ำกากส่าที่ผ่านมารหมักข้างต้น พบว่าค่า COD และ reducing sugar ลดลง เมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ค่า total-N และ pH มีการเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย เมื่อทำการคัดเลือกแบคทีเรียแลคติก *Bacillus* spp. และยีสต์ จากน้ำกากส่าหมักในวันที่มีปริมาณสูงสุด ได้แบคทีเรียแลคติก *Bacillus* sp. และยีสต์ 34, 16 และ 30 ไอโซเลตตามลำดับ นำจุลินทรีย์ที่ได้ทั้งหมดทดสอบความสามารถในการย่อยแป้ง ไขมัน และ โปรตีน พบว่ามีเพียงยีสต์ 10 ไอโซเลตเท่านั้นที่สามารถย่อยแป้ง ไขมัน และ โปรตีน และ *Bacillus* sp. 9 ไอโซเลตที่สามารถย่อยแป้งและไขมันได้ จึงนำยีสต์และ *Bacillus* sp. ที่ได้ไปทดสอบการเจริญในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน และสภาวะที่เป็นกรด (pH 1-5) พบว่า *Bacillus* spp. และยีสต์ทั้งหมดสามารถเจริญได้ทั้งในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน และสภาวะที่เป็นกรด โดยเจริญได้ดีที่สุดที่ pH 4 เมื่อทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรคในกุ้ง (*Vibrio harveyi* และ *Vibrio parahaemolyticus*) พบว่ามีเพียง *Bacillus* sp. 1 ไอโซเลต (B43) เท่านั้น ที่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ จึงเลือก *Bacillus* sp.

(B43) และยีสต์ (Y22) ซึ่งเจริญได้ดีที่สุดในสภาวะที่เป็นกรด เพื่อมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการนำไปประยุกต์ใช้ในกุ้งขาว พบว่าทั้ง 2 ไอโซเลตสามารถเจริญได้ดีในน้ำกากส่าที่ 37 องศาเซลเซียส และ pH 7.5 โดยให้ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดเท่ากับ 18.07 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และ 14.34 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ที่เวลา 18 และ 36 ชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อนำเซลล์สดของ *Bacillus* sp. (B43) และยีสต์ (Y22) ผสมลงในอาหารเลี้ยงกุ้งขาวเป็นเวลา 45 วัน พบว่ากุ้งขาวในชุดทดลองที่ได้รับอาหารเม็ดที่ผสมเซลล์สดของยีสต์ในระดับความเข้มข้น 2×10^6 CFU/g ของอาหารมีอัตราการเจริญต่อวันสูงสุด มีอัตราการรอดตาย 80% และให้ค่าเม็ดเลือดรวมสูงสุดเท่ากับ 2.50×10^7 cell/ml และมีค่าความว่องไวของเอนไซม์ฟีนอลออกซิเดส 232.67 unit/min/mg protein เมื่อนำกุ้งที่เหลือมาทดสอบการทนต่อการเกิดโรคเรืองแสง พบว่า ชุดการทดลองที่ได้รับเซลล์สดยีสต์ 2×10^6 CFU/g ของอาหาร ให้ % การรอดตายสูงที่สุดเป็น 93.75 %

Thesis Title	Screening of Probiotic from Slop Waste and Its Application in White Shrimp (<i>Penaeus vannamei</i>)
Author	Miss Hathairat Plaisopon
Major Program	Biotechnology
Academic Year	2006

ABSTRACT

Slop waste is the liquid by-product from the distillation of alcohol following fermentation of molasses. Characterization of slop waste showed the following values: pH 4.52, temperature 94°C, COD 220,000 mg/l, BOD 52,000 mg/l, suspended solids 2,960 mg/l, total solid 148,572 mg/l, settleable solids 40 mg/l, dissolved solids 145,612 mg/l, total nitrogen 3,038 mg/l and reducing sugar 7,555 mg/l. The total bacteria count, lactic acid bacteria, *Bacillus* spp., yeasts and fungi counts of the initial slop waste were in the range of 1.25×10^6 - 2.75×10^7 CFU/ml, 1.80×10^3 - 2.4×10^4 CFU/ml, 1.75×10^5 - 1.80×10^6 CFU/ml, 2.50×10^3 - 3.75×10^4 CFU/ml and 25-75 CFU/ml, respectively. The slop waste was fermented at room temperature for 13 days, and the changes of microorganisms were monitored. The highest number of lactic acid bacteria, *Bacillus* spp. and yeasts were found on the seventh day, the first day, and the ninth day, respectively. Change of chemical compositions of slop waste during storage at room temperature showed that COD and reducing sugar decreased but total-nitrogen and pH did not change. 34 isolates of lactic acid bacteria, 16 isolates of *Bacillus* spp. and 30 isolates of yeasts were obtained from the slop waste at their maximum counts. All isolates were subjects for shrimp probiotic selective tests. Among them only 10 isolates of yeasts had the ability to utilize starch, protein, and fat, 9 isolates of *Bacillus* spp. had the ability to utilize starch and fat. All isolates were able to grow at pH 1-5 and could grow under both aerobic and anaerobic conditions. However, when these isolates were subjected for inhibition test against 2 pathogenic bacteria of white shrimp (*Vibrio harveyi* and *Vibrio parahaemolyticus*), only 1 isolate of *Bacillus* sp. (B43) showed inhibition. The yeast isolate (Y22) and *Bacillus* sp. (B43) showed optimal growth in the slop waste at pH 7.5 and temperature 37 °C with biomass of 18.07 mg/ml at 18 h and 14.34 mg/ml at 36 h, respectively. When a month old white shrimp was fed with the commercial feed mixed with fresh cells of yeast (Y22) or *Bacillus* sp.(B43) for 45 days the results showed that the shrimp fed with yeasts at

2×10^6 CFU/g feed had the highest growth, with 80% survival rate. The shrimp fed with yeasts 2×10^6 CFU/g feed showed the highest total haemocyte count (2.50×10^7 cells/ml) and activity of phenoloxidase (232.67 unit/min/mg protein). The challenged test of the survived shrimp with *V. harveyi* also showed that the shrimps fed with yeasts 2×10^6 CFU/g feed had the highest survival rate (93.75%).