

ลักษณะโดยทั่วไปของแบคทีเรียสกุลต่างๆมีดังต่อไปนี้

3.1.1 *Streptococcus* spp. เซลล์มีรูปร่างกลมหรือรูปไข่ มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.8-1.2 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ความยาวของสายโซ่ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ *Streptococcus* เป็น facultative anaerobic ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ให้ผลกะตะเลสลบ ต้องการสารอาหารหลายชนิด บางสายพันธุ์ต้องการกรดอะมิโน วิตามิน พิวรีน ไพริมิดีน และกรดไขมัน เป็นต้น (อภิญา, 2530) มีการเจริญที่อุณหภูมิ 20-42 องศาเซลเซียส ประกอบด้วย 39 สปีชีส์ รวมทั้งสปีชีส์ที่ทำให้เกิดโรค และสปีชีส์ที่ใช้เป็นกล่าเชื้อในอุตสาหกรรมนมหมัก (Hardie and Whilej, 1995) บางสปีชีส์มีการสร้างแคปซูล และมีหลายสปีชีส์ที่มีการสร้างโพลีแซคคาไรด์ที่ปล่อยออกมานอกเซลล์เมื่อเจริญในอาหารที่มีซูโครส

3.1.2 *Lactococcus* spp. เซลล์มีรูปร่างกลม หรือรูปไข่ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-1 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว คู่ หรือต่อกันเป็นสายโซ่ ไม่เคลื่อนที่ เจริญที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส ปัจจุบันประกอบด้วย *Lactococcus lactis* ssp. *lactis*, *L. lactis* ssp. *cremoris*, *L. lactis* ssp. *hordniae*, *L. raffinolactis* และ *L. piscium* (Teuber, 1995)

3.1.3 *Vagococcus* spp. เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกที่แยกมาจาก *Streptococcus* กลุ่ม N เนื่องจากสามารถเคลื่อนที่ได้ เซลล์มีรูปร่างกลม เจริญที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แต่ไม่เจริญที่ 45 องศาเซลเซียส (Axelson, 2004) ประกอบด้วย 2 สปีชีส์ คือ *Vagococcus fluvialis* และ *Vagococcus salmoninarum* (Stiles and Holzapfel, 1997)

3.1.4 *Enterococcus* spp. เซลล์มีรูปร่างกลม จัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว อยู่เป็นคู่หรือสายโซ่สั้นๆ เป็น facultative anaerobic ผลิตรกรดแลคติกชนิด L(+) ใช้ความสามารถในการเจริญที่อุณหภูมิ 10 และ 45 องศาเซลเซียส และการเจริญในโซเดียมคลอไรด์ 6.5 เปอร์เซ็นต์ ในการแยกความแตกต่างของจีโนม *Enterococcus* ประกอบด้วย 19 สปีชีส์ จากการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของยีน 16s rRNA แสดงให้เห็นว่า enterococci มีความใกล้ชิดกับ *Carnobacterium* และ *Vagococcus* มากกว่า *Streptococcus* และ *Lactococcus*

3.1.5 *Pediococcus* spp. เซลล์มีรูปร่างกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.36-1.43 ไมครอน สามารถแบ่งตัวในลักษณะ 2 ทิศทางบนระนาบเดียวกัน โดยแบ่งครั้งที่ 2 ในทิศทางที่ตั้งฉากกับครั้งแรก ทำให้เกิดลักษณะเฉพาะเป็นสี่เซลล์ติดกันคล้ายจตุรัส(tetrad formation) ในสภาวะไม่มีอากาศผลิตกรดแลกติกชนิด DL และ L(+) จากการหมักกลูโคส แต่ไม่สร้างก๊าซ *Pediococcus* สามารถเจริญได้เมื่อมี vancomycin หรือ avoparcin (50 มิลลิกรัมต่อลิตร) จึงทำให้สามารถจำแนก *Pediococcus* spp. ออกจากแบคทีเรียแกรมบวกรูปร่างกลมชนิดอื่นได้ ประกอบด้วย 6 สปีชีส์ ได้แก่ *Pediococcus acidilactici*, *P. domonosus*, *P. dextrinicus*, *P. inopinatus*, *P. parvurus* และ *P. pentosaceus* (Simpson and Taguchi, 1995)

3.1.6 *Tetragenococcus* spp. เซลล์มีรูปร่างกลม ลักษณะการแบ่งตัวเป็นสี่เซลล์ติดกันคล้ายจตุรัส(tetrad formation) เหมือนกับ *Pediococcus* (Simpson and Taguchi, 1995) แต่สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีโซเดียมคลอไรด์สูงถึง 18 เปอร์เซ็นต์ (Axelson, 2004)

3.1.7 *Aerococcus* spp. เซลล์มีรูปร่างกลม มีลักษณะการแบ่งตัวเป็นคู่หรือเป็นสี่เซลล์ติดกันเหมือนกับ *Pediococcus* แต่มีลักษณะที่แตกต่างคือ สามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีความเป็นด่างสูงประมาณพีเอช 9 ประกอบด้วย 2 สปีชีส์ คือ *Aerococcus viridans* และ *A. urinae* สปีชีส์เดิมคือ *Pediococcus homari* และ *P. urinae-equi* ตามลำดับ (Stiles and Holzapfel, 1997) โคโลนีที่เจริญบน blood agar บริเวณรอบๆโคโลนีจะเป็นสีเขียว จึงได้ชื่อว่า *A. viridans* (viridans = green) พบแบคทีเรียพวกนี้ในอากาศ ในฝุ่นละออง ในคนที่มีโรคติดเชื้อ ในอาหาร เช่น เนื้อสัตว์และผักดิบเป็นต้น (อภิญา, 2530)

3.1.8 *Leuconostoc* spp. รูปร่างของเซลล์ขึ้นอยู่กับสภาวะที่ใช้ในการเจริญ เซลล์ที่เจริญในอาหารที่มีกลูโคสจะมีรูปร่างค่อนข้างยาวคล้าย lactobacilli มากกว่า streptococci แต่เมื่อเจริญในน้ำนมจะมีลักษณะกลม *Leuconostoc* มีการจัดเรียงตัวเป็นเซลล์เดี่ยว อยู่เป็นคู่ หรือเป็นสาย โซ่สั้นถึงปานกลาง ไม่เคลื่อนที่ เป็น facultative anaerobes อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วง 20 ถึง 30 องศาเซลเซียส เป็นพวกที่มีความต้องการสารอาหารซับซ้อน เช่น ต้องการวิตามิน กรดอะมิโน และคาร์โบไฮเดรตบางชนิดที่แบคทีเรียพวกนี้สามารถทำการหมักและนำไปใช้ได้ (อภิญา, 2530) ในการหมักน้ำตาลกลูโคสแบบ heterofermentative ลักษณะเฉพาะของแบคทีเรียกลุ่มนี้คือ ผลิตกรดแลกติกชนิด D เท่านั้น (Axelson, 2004)

3.1.9 *Oenococcus* spp. เชลล์มีรูปร่างกลม สปีชีส์เดิมคือ *Leuconostoc oenos* แต่เนื่องจากมีลักษณะทางพันธุกรรมที่ต่างจาก *Leuconostoc* สปีชีส์อื่นอย่างเห็นได้ชัด สามารถทนต่อกรด และเอทานอลได้ในปริมาณสูง (Dellaglio *et al.*, 1995) จึงถูกจำแนกออกเป็นกลุ่มใหม่

3.1.10 *Lactobacillus* spp. เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกกลุ่มใหญ่ที่สุด เชลล์มีรูปร่างท่อนหรือทรงรี(coccobacilli) ไม่สร้างสปอร์ ไม่เคลื่อนที่ ทนต่อกรดและต้องการสารอาหารหลายชนิด(เช่น คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน เพปไทด์ กรดไขมัน เกลือ กรดนิวคลีอิก และวิตามิน) พบได้ในอาหารหลายชนิดมีทั้งที่ก่อให้เกิดประโยชน์ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร และอาจก่อให้เกิดโทษ โดยทำให้อาหารเสียได้เช่นกัน เช่น ทำให้ไส้กรอก ซอสมะเขือเทศ และมายองเนสเสียได้ เป็นต้น (อภิญา, 2530)

3.1.11 *Carnobacterium* spp. เชลล์มีรูปร่างเป็นท่อนตรง คล้าย lactobacilli มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5-0.7 ไมครอน และยาว 1.1-3.0 ไมครอน จัดเรียงตัวเป็นเชลล์เดี่ยว เป็นคู่ มักไม่พบการเรียงตัวเป็นสายโซ่ ให้ผลกะตะเลสลบ ไม่สร้างสปอร์ *Carnobacterium* มีความแตกต่างจาก lactobacilli คือ ไม่สามารถเจริญได้บนอาหารอะซีเตตที่พีเอช 5.4 สามารถหมักกลีเซอรอลและแมนนิทอลได้ด้วย ซึ่งพบได้ยากมากในพวก lactobacilli ค่าพีเอช 4.5 สามารถยับยั้งการเจริญของ *Carnobacterium* ได้ แต่พวก lactobacilli สามารถเจริญได้ที่พีเอชที่ต่ำกว่า นอกจากนั้น *Carnobacterium* ยังสามารถเจริญได้ที่พีเอช 9.0 จึงทำให้ต่างจากพวก lactobacilli แบคทีเรียในจินสนี้ประกอบด้วย 6 สปีชีส์ คือ *Carnobacterium divergens*, *C. funditum*, *C. gallinarum*, *C. mobile*, *C. piscicola* และ *C. alterfunditum* (Stiles and Holzapfel, 1997)

3.1.12 *Weissella* spp. เป็นแบคทีเรียกรดแลคติกสกุลเดียว ที่มีทั้งสปีชีส์ที่มีรูปร่างกลมและแท่ง ประกอบด้วย 7 สปีชีส์ ซึ่งเดิมอยู่ในสกุล *Leuconostoc* และ *Lactobacillus* คือ *Weissella paramesenteroides* (*Leuconostoc paramesenteroides*), *W. confuses* (*Lactobacillus confusus*), *W. halotolerans* (*Lb. halotolerans*), *W. kandleri* (*Lb. kandleri*), *W. viridescens* (*Lb. viridescens*), *W. minor* (*Lb. minor*) และ *W. hellenica* (Stiles and Holzapfel, 1997)

3.2 การผลิตสารต้านจุลชีพโดยแบคทีเรียกรดแลคติก

สารต้านจุลชีพที่แบคทีเรียกรดแลคติกสร้างขึ้นมีดังต่อไปนี้

3.2.1 กรดอินทรีย์(organic acid) ในการหมักน้ำตาลเฮกโซสของจุลินทรีย์แบบ homofermentation จะได้ผลผลิตเป็นกรดแลคติก ส่วนการหมักแบบ heterofermentation จะได้กรดแลคติก กรดอะซิติก เอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ จากการสังเกตเป็นเวลานานพบว่ากรดอ่อนมีกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์ที่พีเอชต่ำได้มากกว่าพีเอชเป็นกลาง กรดอะซิติกเป็นตัวยับยั้งที่มีกิจกรรมการยับยั้งในช่วงกว้างสามารถยับยั้งได้ทั้ง ยีสต์ รา และแบคทีเรีย

กรดอินทรีย์ที่สร้างโดยแบคทีเรียกรดแลคติก เช่น กรดแลคติก และกรดอะซิติก มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่มที่ไม่ทนกรด เช่น *Escherichia coli*, *Bacillus* sp. และ *Pseudomonas* sp. ปัจจัยที่มีผลในการยับยั้งเกิดจากการลดลงของพีเอช และการสะสมของกรดอินทรีย์ โดยปกติเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์จะทำหน้าที่คัดเลือกสารเข้าออกภายในเซลล์ และไม่ยอมให้สารที่มีประจุผ่านเข้าเซลล์ได้ เพื่อรักษาสภาพความเป็นกลางภายในเซลล์ แต่เนื่องจากกรดอินทรีย์เป็นกรดไขมันที่ระเหยได้(Volatile Fatty Acid; VFA) มักจะมีโมเลกุลขนาดเล็กโดยมีน้ำหนักน้อยกว่า 700 ดาลตัน จึงสามารถซึมผ่านผนังเซลล์แบคทีเรียแกรมลบที่ก่อโรคได้ดี กรดอินทรีย์อยู่ในรูปที่ไม่แตกตัวสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรีย และเกิดการแตกตัวให้ประจุบวก(H^+) และประจุลบ($RCOO^-$) ภายในเซลล์ ประจุบวก(H^+) ซึ่งมีสมบัติเป็นกรดจะทำให้ความเป็นกรดภายในเซลล์เพิ่มสูงขึ้น พีเอชภายในเซลล์แบคทีเรียก่อโรคจึงลดลง การสะสมของกรดที่เกิดขึ้นจะขัดขวางกระบวนการเมแทบอลิซึม ในการสังเคราะห์สารต่างๆภายในเซลล์ เช่น RNA DNA และโปรตีน รวมทั้งการขนส่งสารต่างๆในเซลล์ที่จำเป็นต่อการอยู่รอดจนไม่สามารถทำหน้าที่ได้ตามปกติ ทำให้เชื้อก่อโรคที่ฉวยโอกาสเข้ามาเกี่ยวกับอาหารตายลง หรือไม่สามารถเจริญเติบโตได้ โดยหลังจากที่กรดอินทรีย์แตกตัวให้ประจุบวก(H^+) และประจุลบ($RCOO^-$) แบคทีเรียจะมีการพยายามที่จะขับกรดที่แตกตัวนี้ออก แต่การขับออกจะขับออกได้แต่ประจุบวก(H^+) ในขณะที่ประจุลบ($RCOO^-$) จะมีการขับออกได้น้อยมาก ทำให้มีการสะสมอยู่ในเซลล์สูง ประจุลบเหล่านี้เป็นพิษต่อระบบการสังเคราะห์โปรตีน RNA และDNA ภายในเซลล์ และในการขับประจุบวก(H^+)ออกจากเซลล์นั้น แบคทีเรียต้องอาศัยพลังงานภายในเซลล์(ATP) เข้าช่วย ทำให้เซลล์สูญเสียพลังงานมาก ไม่เพียงพอที่จะนำไปใช้ในกระบวนการอื่นๆ ไม่ว่าจะเป็นการเจริญเติบโต

หรือการสืบพันธุ์ และหากต้องขับกรดยูริกออกมาจากเซลล์จะสูญเสียพลังงานจนหมดและตายได้ นอกจากนั้นสภาวะที่เป็นกรดภายในลำไส้ยังช่วยทำให้เอนไซม์ และน้ำย่อยต่างๆทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งเป็นผลดีต่อจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่เป็นเชื้อประจำถิ่นภายในลำไส้อยู่แล้ว ส่งผลให้อัตราการย่อยและการดูดซึมอาหารเพิ่มขึ้น ทำให้สัตว์เจริญเติบโตได้ดีขึ้น (รจเรข, 2546)

จากสมบัติที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่า การทำงานของกรดอินทรีย์ในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียก่อโรคลำไส้กับการทำงานของสารปฏิชีวนะ เช่น การเข้าขัดขวางการสังเคราะห์โปรตีนที่ผนังเซลล์ หรือขัดขวางการสังเคราะห์ RNA DNA ในนิวเคลียสของเซลล์ ตลอดจนขัดขวางการขนส่งสารที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตภายในเซลล์แบคทีเรียก่อโรค แต่แท้ที่จริงแล้วการทำงานนี้มีความแตกต่างกันอย่างมาก เนื่องจากการทำงานของสารปฏิชีวนะนั้น การที่จะออกฤทธิ์ดังที่กล่าวมานี้จะต้องอาศัยความจำเพาะต่อรีเซปเตอร์(receptor) คือ จุด หรือตำแหน่งที่สารปฏิชีวนะจะเข้าไปเกาะกับผนังเซลล์หรือภายในเซลล์ เพื่อที่สารปฏิชีวนะจะสามารถออกฤทธิ์ได้ ซึ่งจุลินทรีย์เองที่เป็นวิธีที่แบคทีเรียจะปรับตัวต่อสู้กับสารปฏิชีวนะได้ โดยแบคทีเรียจะมีพัฒนาการปรับตัวให้จุลินทรีย์เปลี่ยนแปลงไป ทำให้สารปฏิชีวนะซึ่งออกแบบมาจำเพาะต่อจุลินทรีย์เดิมๆนั้นไม่สามารถจับกับรีเซปเตอร์ใหม่ที่เปลี่ยนแปลงไปได้ เป็นสาเหตุของการดื้อต่อสารปฏิชีวนะของแบคทีเรียก่อโรคลำไส้พันธุ์ต่างๆหลังจากมีการใช้สารปฏิชีวนะไปไ้ระยะหนึ่ง แต่การออกฤทธิ์ของกรดอินทรีย์นั้นแตกต่างกับสารปฏิชีวนะ กรดอินทรีย์ไม่จำเป็นต้องอาศัยจุลินทรีย์ เนื่องจากสมบัติของกรดอินทรีย์ที่มีขนาดเล็ก ทำให้กรดที่ยังไม่แตกตัวสามารถซึมผ่านเข้าไปในเซลล์ของแบคทีเรียได้ทันที และทำการแตกตัวออกฤทธิ์ต่อแบคทีเรียดังที่กล่าวมาข้างต้น (รจเรข, 2546)

Chapman (1988) ได้สรุปประโยชน์ที่ได้จากการเสริมกรดอินทรีย์ในอาหารสัตว์ไว้ดังนี้ กรดอินทรีย์จะช่วยเสริมกรดที่มีไม่เพียงพอในกระเพาะอาหารโดยเฉพาะในลูกสัตว์กรดที่เติมลงในอาหารจะไปลดระดับพีเอชในกระเพาะอาหารของสัตว์ ส่งผลให้มีการเปลี่ยนเพปซิโนเจน (pepsinogen) ไปเป็นเพปซิน(pepsin) เร็วขึ้น ทำให้สัตว์ย่อยอาหารประเภทโปรตีนได้ดีขึ้น สภาพพีเอชที่ลดลงนี้ สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรคในระบบทางเดินอาหารได้ โดยเฉพาะ *E. coli* ในทางตรงข้ามจะไปส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลกติก ทำให้เพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหารของสัตว์ได้ดียิ่งขึ้น กรดอินทรีย์ที่เติมลงในอาหารยังทำหน้าที่เป็น chelating agent ช่วยเพิ่มการดูดซึมแร่ธาตุบางชนิดในระบบทางเดินอาหาร และทำหน้าที่เป็นสารตัวกลางที่สำคัญในวิถีการสร้างพลังงาน และมีบทบาทโดยตรงในกระบวนการเมแทบอลิซึม

3.2.2 ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์(hydrogen peroxide, H_2O_2) ในสภาพที่มีออกซิเจน แบคทีเรียกรดแลคติกจะมีการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จากการทำงานของฟลาโวโปรตีน (flavoprotein) ของเอนไซม์ oxidase, NADH oxidases และ superoxide dismutase ในสภาวะที่ไม่มีธาตุเหล็ก แบคทีเรียกรดแลคติกจะไม่มีการสร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase) ที่ใช้กำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ แต่ระบบอื่นซึ่งทำหน้าที่ในการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์มีประสิทธิภาพน้อยกว่าการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นเหตุให้เกิดการสะสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ อย่างไรก็ตาม Foentaine *et al.* (1996) กล่าวว่าในสิ่งมีชีวิตไม่มีการสะสมของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เนื่องจากไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะถูกสลายโดยเอนไซม์ peroxidases, pseudocatalase และ flavoproteins ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สามารถทำลายแบคทีเรียชนิดอื่นได้ เนื่องจากเป็นตัวออกซิไดส์ที่รุนแรงต่อเซลล์ของแบคทีเรีย โดยจะออกซิไดส์ส่วนประกอบของเซลล์ที่มีหมู่ sulfhydryl ได้แก่ โปรตีนในเซลล์ และไขมันในเยื่อหุ้มเซลล์ นอกจากนี้ปฏิกิริยาการสร้างไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ จะมีการขับออกซิเจนออก ทำให้เกิดสภาวะไร้ออกซิเจนส่งผลให้แบคทีเรียชนิดอื่นไม่สามารถเจริญได้ (Ouweland and Vesterlund, 2004)

3.2.3 คาร์บอนไดออกไซด์(carbondioxide, CO_2) ส่วนใหญ่เกิดจากกระบวนการหมักน้ำตาลเฮกโซสแบบ heterofermentative นอกจากนี้วิธีเมแทบอลิซึมอื่นๆก็สามารถสร้างคาร์บอนไดออกไซด์ได้ ในระหว่างกระบวนการหมัก คาร์บอนไดออกไซด์มีผลในการยับยั้งแบคทีเรียสองแบบคือ หนึ่งทำให้เกิดสภาวะไร้ออกซิเจน และสองทำหน้าที่เป็นสารยับยั้งจุลินทรีย์ โดยคาร์บอนไดออกไซด์(CO_2) จะไปยับยั้งระบบเอนไซม์ของกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) และมีการสะสมของคาร์บอนไดออกไซด์ในชั้นไขมัน เป็นเหตุให้เกิดการสูญเสียสมบัติในการซึมผ่านของสารบริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ เมื่อมีความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ต่ำสามารถกระตุ้นการเจริญของจุลินทรีย์บางชนิดได้ แต่ความเข้มข้นสูงจะช่วยป้องกันการเจริญของจุลินทรีย์ (Ouweland and Vesterlund, 2004)

3.2.4 ไดอะซีทิล(diacetyl) ไดอะซีทิลชนิด 2,3-butanedione เป็นสารที่ให้กลิ่นเฉพาะในผลิตภัณฑ์เนย และมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ ไดอะซีทิลเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากกระบวนการเมแทบอลิซึม ในการใช้น้ำตาลเฮกโซสของแบคทีเรียกรดแลคติก อาทิเช่น *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus* และ *Streptococcus* สามารถสังเคราะห์ไดอะซีทิลได้ ไดอะซีทิลมีประสิทธิภาพมากที่พีเอชน้อยกว่า 7.0 สามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ ยีสต์ และราได้

มากกว่าแบคทีเรียแกรมบวก โคอะซิคลจะทำปฏิกิริยากับโปรตีนที่จับกับอาร์จินีน (arginine) ของแบคทีเรียแกรมลบ ครอบคลุมการนำกรดอะมิโนชนิดนี้ไปใช้ (Ouwehand and Vesterlund, 2004)

3.2.5 สารต่อต้านจุลชีพที่มีมวลโมเลกุลต่ำ เป็นสารที่ทำงานได้ดีที่พีเอชต่ำ มีความเสถียรต่อความร้อน มีฤทธิ์ในการทำงานได้กว้าง และละลายได้ในอะซิโตน สามารถจำแนกได้ 3 ชนิดคือ รูทีริน(reuterin), รูทีริไซคลิน(reutericyclin) และ 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid(PCA) รูทีริน เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นโดยเชื้อ *Lactobacillus reuteri* ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ประจำถิ่นอยู่ในลำไส้ของมนุษย์ และสัตว์หลายชนิด รูทีรินเป็นสารซึ่งไม่ใช่โปรตีน มีมวลโมเลกุลต่ำ ละลายน้ำได้ดีที่พีเอชเป็นกลาง เชื้อจะสร้างรูทีรินขึ้นเมื่อเจริญในสารผสมของกลูโคส กลีเซอรอล และกลีเซอรอลดีไฮด์ในสภาวะไร้ออกซิเจน เมื่อเกิด dehydration ของกลีเซอรอล *L. reuteri* จะสร้าง 3-hydroxypropanal(reuterin) ขึ้นมา จากนั้นจะถูกรีดิวซ์ไปเป็น 1,3-propanediol โดย NADH+H⁺-dehydrogenase ในช่วง log phase จะยังไม่มีการสร้างรูทีริน แต่จะเริ่มมีการสะสมรูทีรินในช่วงที่ระยะการเจริญคงที่(stationary phase) รูทีรินมีช่วงการยับยั้งกว้าง สามารถยับยั้งกิจกรรมของแบคทีเรีย รา โปรโตซัว และไวรัสได้ รูทีริไซคลิน(reutericyclin) เป็นสารที่ *Lactobacillus reuteri* สร้างขึ้น มีน้ำหนัก 349 Da มีประจุลบ และมีส่วนที่ไม่ชอบน้ำ(hydrophobic) สูง จะพบการสร้างรูทีริไซคลินเมื่อมีการดัดไขมันในอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับสาร 2-pyrrolidone-5-carboxylic acid(PCA) ถูกสร้างขึ้นโดย *Lactobacillus casei* spp. *casei* , *L. casei* spp. *pseudoplantarum* และ *Streptococcus bovis* สาร PCA สามารถยับยั้ง *Bacillus subtilis*, *Enterococcus cloacae* และ *Pseudomonas putida* ได้ PCA ทนต่อความร้อน 121 องศาเซลเซียส ได้นาน 20 นาที แต่จะสูญเสียกิจกรรมเมื่อค่าพีเอชสูงกว่า 2.5 แม้ว่า PCA จะมีกิจกรรมการยับยั้งสูงกว่ากรดแลคติกเมื่อมีความเข้มข้นเท่ากัน แต่ก็มีกลไกการทำงานที่คล้ายกัน (Ouwehand and Vesterlund, 2004)

3.2.6 แบคเทอริโอซิน(bacteriocin) เป็นสารประเภทโปรตีน หรือโปรตีนเชิงซ้อน พวกลิโปโปรตีน(lipoprotein) หรือไกลโคโปรตีน(glycoprotein) ซึ่งแบคทีเรียแกรมบวก และแบคทีเรียแกรมลบสร้างขึ้น มีกิจกรรมการยับยั้งจุลินทรีย์โดยเฉพาะแบคทีเรียแกรมบวก และสายพันธุ์ที่ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ที่สร้างแบคเทอริโอซิน แบคเทอริโอซินที่แบคทีเรียกรดแลคติกสร้างขึ้นเป็นสารจากธรรมชาติที่มีความปลอดภัย และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียก่อโรคในอาหาร และแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเน่าเสียได้ อาทิเช่น *Bacillus*, *Enterococcus*, *Clostridium* , *Listeria* และ *Staphylococcus aureus* เป็นต้น (Tagg et al., 1976; Klaenhammer, 1993; Soomro et al., 2002) แบคเทอริโอซินที่แบคทีเรียกรดแลคติกสร้างขึ้นได้แก่ nisin, lacticin 3147, lacticin 481,

lactococcin A, lactocin 27, sakacin A, plantaricin C, pediocin A และ enterocin A เป็นต้น สมบัติของแบคทีเรียโอซินจะพิจารณาจากขนาด ความคงตัว ตำแหน่งทางพันธุกรรม การดัดแปลงหลังผ่านกระบวนการแปลรหัสทางพันธุกรรม(post-translation modification) และกลไกการทำงานของสารแบคทีเรียโอซินซึ่งมีความแตกต่างกัน แบคทีเรียโอซินจากแบคทีเรียกรดแลคติกส่วนใหญ่เป็นสารที่ไม่ละลายน้ำ มีประจุบวก มีสมมูลทางไฟฟ้าสูง มักเสถียรที่พีเอชเป็นกรดหรือเป็นกลาง แบคทีเรียโอซินจะถูกทำลายเมื่อเก็บไว้ที่พีเอชสูงกว่า 10 (Ozlem, 2003) นอกจากนั้นแบคทีเรียโอซินแต่ละชนิดยังมีความไวต่อโปรติโอไลติกเอนไซม์ต่างกัน

กลไกการออกฤทธิ์ของแบคทีเรียโอซิน โดยทั่วไปแบคทีเรียโอซินจะทำให้เกิดรูใน cytoplasmic membrane ของเซลล์ เป็นเหตุให้เกิดการรั่วของสารต่างๆภายในเซลล์ และสูญเสียแรงขับเคลื่อนของโปรตอน(proton motive force) แบคทีเรียโอซินเป็นโมเลกุลที่มีประจุบวกที่มีส่วนที่ไม่ชอบน้ำ(hydrophobic) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับกลุ่มฟอสเฟต(phosphate groups) บนเมมเบรนของเซลล์เป้าหมาย โดยส่วนที่ไม่ชอบน้ำจะแทรกเข้าไปในเมมเบรนทำให้เกิดเป็นรู จากนั้นจะเข้าไปทำปฏิกิริยากับเป้าหมาย เช่น DNA RNA เอนไซม์ และตำแหน่งอื่นๆเพื่อฆ่าเซลล์เป้าหมาย (Bruno *et al.*, 1992; Chikindas *et al.*, 1993; Cleveland *et al.*, 2001) โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียโอซินไม่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งแบคทีเรียแกรมลบ เนื่องจากแบคทีเรียแกรมลบมี outer membrane(OM) ทำหน้าที่ป้องกัน cytoplasmic membrane และชั้นเพปทิโดไกลแคน(peptidoglycan) ของแบคทีเรียแกรมลบ OM แบ่งออกเป็นชั้นในและชั้นนอก ชั้นในประกอบด้วย glycerophospholipids แต่ชั้นนอกเป็น lipopolysaccharide(LPS) ซึ่ง LPS ประกอบไปด้วยส่วนที่เป็นไขมัน และ complex heteropolysaccharide ที่มีลักษณะบางส่วนเป็นประจุลบ จึงเกิดการจับกันแน่นและมีสมบัติเป็น hydrophilic ดังนั้น OM จึงทำหน้าที่ป้องกันสารที่มีสมบัติเป็น hydrophobic และโมเลกุลขนาดใหญ่ เป็นเหตุให้แบคทีเรียโอซินซึ่งมีสมบัติเป็น hydrophobic ไม่สามารถผ่าน OM เข้าไปทำปฏิกิริยาที่บริเวณเป้าหมายได้ (Helender and Mattila-Sandholm, 2000)

แบคทีเรียโอซินที่แบคทีเรียสร้างขึ้นมีความแตกต่างจากสารปฏิชีวนะ ทั้งในด้านกลไกการสังเคราะห์ กลไกการทำงาน ช่วงการยับยั้งจุลินทรีย์ ความเป็นพิษ และกลไกการต้านทาน โดยแบคทีเรียโอซินเป็นโปรตีนที่ถูกสังเคราะห์จากไรโบโซม มีช่วงการยับยั้งแคบสามารถยับยั้งแบคทีเรียแกรมบวกสายพันธุ์ใกล้เคียงได้ดี เซลล์ที่สร้างแบคทีเรียโอซินจะมีการสร้างภูมิคุ้มกันต่อแบคทีเรียโอซินขึ้นมา กลไกการทำงานโดยทั่วไปจะทำให้เกิดรูและมีผลต่อการสังเคราะห์ผนังเซลล์เล็กน้อย เซลล์ที่ต้านทานแบคทีเรียโอซินจะมีการดัดแปลงองค์ประกอบของ

เซลล์เมมเบรน ยังไม่มีรายงานความเป็นพิษหรือผลข้างเคียงของการใช้แบคทีเรียโอซิน ส่วนสารปฏิชีวนะเป็นสารทุติยภูมิ(secondary metabolite) มีช่วงการยับยั้งกว้าง เซลล์ที่สร้างสารปฏิชีวนะไม่มีการสร้างภูมิคุ้มกันทาน กลไกการทำงานมีความจำเพาะต่อเป้าหมาย โดยทั่วไปจะทำปฏิกิริยาบริเวณเซลล์เมมเบรน หรือภายในเซลล์ เซลล์ที่ต้านทานต่อสารปฏิชีวนะจะมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม จึงทำให้เกิดผลข้างเคียงในการใช้สารปฏิชีวนะ (Cleveland *et al.*, 2001) จากความแตกต่างดังกล่าวจึงได้มีการนำแบคทีเรียโอซินไปใช้เป็นสารกันเสียชีวภาพในอาหารซึ่งต่างจากสารปฏิชีวนะที่ส่วนใหญ่นำไปใช้เพื่อการรักษา ในช่วงหลายปีที่ผ่านมาแบคทีเรียโอซินถูกนำมาใช้แทนการใช้สารเคมีในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์อาหารชนิดต่างๆ ช่วยยืดอายุการเก็บรักษา และเพิ่มความปลอดภัยในอาหาร เนื่องจากในปัจจุบันผู้บริโภคมีความต้องการอาหารเพื่อสุขภาพมากขึ้น (Soomro *et al.*, 2002) ประกอบกับแบคทีเรียโอซินเป็นสารที่ได้จากธรรมชาติจึงง่ายต่อการยอมรับจากผู้บริโภค (Ouweland and Vesterlund, 2004)

3.3 จุลินทรีย์ที่พบในระบบทางเดินอาหารแบ่งออกเป็น 2 กลุ่มใหญ่

3.3.1 จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค(Pathogenic microflora) ในไก่ เช่น แบคทีเรียสายพันธุ์ *Escherichia coli*, *Salmonella* sp., *Clostridium perfringens* และ *Campylobacter sputorum* เป็นต้น (Gunat *et al.*, 2006) โดยแบคทีเรียก่อโรคที่พบบ่อยในอุตสาหกรรมเลี้ยงไก่ คือ *E. coli* และ *Salmonella* spp. ลักษณะโดยทั่วไปของ *E. coli* จัดเป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งสั้นๆขนาดเล็ก แกรมลบ มีแฟลเจลลัมเซลล์ไว้ เคลื่อนที่โดยใช้ peritrichous flagella แบคทีเรีย *E. coli* จะเกาะจับที่ผนังลำไส้ และทำลายเนื้อเยื่อบริเวณนั้นหรือสร้างสารพิษ (enterotoxin) ออกมาทำลายเยื่อผนังลำไส้ ทำให้สัตว์มีอาการท้องร่วง (อรุณ, 2537) *Salmonella* spp. เป็นแบคทีเรียในกลุ่ม Enterobacteriaceae เซลล์มีรูปร่างท่อนสั้น แกรมลบ เชื้อนี้จะเจริญอยู่ในระบบทางเดินอาหารโดยเฉพาะในลำไส้ และปนอยู่ในอุจจาระ ถ้าถูกขับออกจากร่างกายแล้วสามารถปนเปื้อนมาในเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น เนื้อวัว เนื้อหมู เนื้อไก่ และไข่ (อรุณ, 2537) โรคที่มีสาเหตุจาก *Salmonella* เรียกว่า salmonellosis ทำให้เกิดการอักเสบของลำไส้และเกิดอาการท้องร่วงตามมา salmonellosis เป็นโรคของระบบทางเดินอาหารที่พบบ่อยที่สุด (Rose *et al.*, 2000) และเป็นโรคที่มีความสำคัญมากที่สุดของเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ซึ่งรวมทั้งประเทศไทยด้วย

3.3.2 จุลินทรีย์ที่ไม่ก่อให้เกิดโรค(Non-pathogenic microflora) เป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของสัตว์ จุลินทรีย์เหล่านี้จะทำหน้าที่ควบคุมจุลินทรีย์ก่อโรคไม่ให้มีมากเกินไปจนเป็นอันตรายต่อร่างกาย หากปราศจากจุลินทรีย์เหล่านี้ร่างกายจะอ่อนแอและเกิดโรคได้ง่าย จุลินทรีย์กลุ่มนี้ที่พบมาก ได้แก่ Lactobacilli และ Bifidobacteria สำหรับ Lactobacilli เป็นจุลินทรีย์กลุ่มหลักที่พบมากในลำไส้เล็กตอนปลาย ลักษณะโดยทั่วไปเป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีรูปร่างเป็นท่อนยาว ไม่สร้างสปอร์ จุลินทรีย์เหล่านี้สามารถทนต่อสภาพที่มีออกซิเจนได้ (facultative anaerobe bacteria) มีเพียงบางสายพันธุ์เท่านั้นที่ไม่สามารถทนต่อออกซิเจน นอกจาก Lactobacilli แล้ว จุลินทรีย์ที่มีประโยชน์อีกตัวหนึ่งที่พบมากในลำไส้ใหญ่คือ Bifidobacteria ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมบวก เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น หรือยาว มีรูปร่างไม่แน่นอนสามารถเปลี่ยนแปลงได้ ไม่สร้างสปอร์ และไม่ทนต่อสภาพที่มีออกซิเจน(strictly anaerobe bacteria) สามารถหมักย่อยได้ผลผลิตสุดท้ายเป็นกรดอะซิติก และกรดแลคติก ซึ่งจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดจัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียกรดแลคติก และจัดเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ ปัจจุบันนำมาใช้ในรูปของ โพรไบโอติก (กรณิการ์, 2545)

ในการเลี้ยงสัตว์ความเครียดต่างๆที่เกิดขึ้นในฟาร์ม จะทำให้สมดุลของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารเสียไป การเจริญของเชื้อก่อโรคจะบุกรุกและทวีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในสภาพที่ร่างกายอ่อนแอ ดังนั้นการเพิ่มปริมาณจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ในระบบทางเดินอาหารจะช่วยส่งผลให้จุลินทรีย์เหล่านั้นอยู่ในสภาวะที่สมดุล เพิ่มความต้านทานโรค มีผลต่อการกินอาหาร การเจริญเติบโต และมีอัตราการแลกเนื้อเป็นปกติ

3.3 การใช้แบคทีเรียกรดแลคติกเป็นโพรไบโอติกในไก่

3.3.1 การใช้โพรไบโอติกเพื่อเร่งการเจริญเติบโตและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตในไก่

Tahir *et al.* (1983) ได้ทำการทดลองนำเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* มาละลายในน้ำที่ปราศจากคลอรีนให้ไก่วงพันธุ์ Broad Breasted Large White กินตั้งแต่แรกเกิดจนครบ 20 สัปดาห์ ปริมาณเชื้อที่ไก่วงได้รับเท่ากับ 4.5×10^8 โคโลนีต่อตัวต่อวัน อาหารที่ใช้เลี้ยงไก่วงเป็นอาหารผสมมีข้าวโพดและกากถั่วเหลืองเป็นหลัก โดยไม่เติมสารเร่งการเจริญเติบโตหรือยาปฏิชีวนะใดๆแต่ให้ยากันบิดบางระยะเท่านั้น เมื่อสิ้นสุดการทดลองครบ 20 สัปดาห์ ไก่วงที่ได้รับเชื้อ *L. acidophilus* มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวสูงกว่าชุดเปรียบเทียบซึ่งไม่ได้รับเชื้อ 1.6 ปอนด์

แต่ประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารดีกว่าเพียงร้อยละ 0.06 ส่วนอัตราการตายของไก่วงที่ได้รับเชื้อ *L. acidophilus* และกลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อเท่ากับร้อยละ 1 และ 11.15 ตามลำดับ และจากการตรวจสอบคุณภาพของไก่วงบางกลุ่มที่ได้รับแบคทีเรียกรดแลคติก มีคุณภาพซากดีกว่ากลุ่มที่ไม่ได้รับเชื้อ สมชาย (2527) ได้ศึกษาผลการให้กินแบคทีเรียกรดแลคติกต่อสมรรถภาพในการผลิตไก่กระทงพบว่า เมื่อให้เชื้อ *Streptococcus* sp. KB106602 ที่แยกจากลำไส้ไก่ประมาณ $3 \times 10^6 - 5 \times 10^6$ เซลล์ต่อตัวต่อวัน ตั้งแต่วันแรกจนอายุครบ 5 สัปดาห์ พบว่าไก่มีน้ำหนักเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ Artherton and Robins (1987) ได้ทดลองใช้แบคทีเรียกรดแลคติก 2 สายพันธุ์คือ *Lactobacillus acidophilus* และ *Streptococcus faecium* ซึ่งมีชื่อทางการค้าว่า Lacto-sacc เพื่อศึกษาสมรรถภาพการผลิตไก่กระทงอายุ 21 วัน พบว่า ไก่มีการเจริญและประสิทธิภาพการใช้อาหารดีขึ้นในปี 2539 จิตพิงษ์ได้ทำการศึกษาแยก *Lactobacillus* spp. จำนวน 6 สายพันธุ์ จากลำไส้ไก่โตเต็มวัยที่มีสุขภาพแข็งแรง โดยคัดเลือกจากความสามารถในการยับยั้งเชื้อทดสอบที่ก่อโรคในคนและสัตว์ มีความทนทานต่อเกลือ น้ำดีที่มีความเข้มข้นสูง และสามารถทนต่อสารปฏิชีวนะที่ใช้เสริมอาหารสัตว์ได้ จากนั้นนำ *Lactobacillus* spp. ทั้ง 6 สายพันธุ์ ที่ได้ผสมเป็นโปรไบโอติกเสริมในการเลี้ยงไก่ในรูปสารละลายเชื้อสดในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 พบว่า ไก่กลุ่มทดลองที่เสริม *Lactobacillus* spp. มีน้ำหนักตัวมากกว่าไก่กลุ่มควบคุมที่ไม่ได้เสริมเชื้ออย่างมีนัยสำคัญ Kahraman *et al.* (1997) ทำการทดลองในไก่เนื้อจำนวน 275 ตัว โดยแบ่งออกเป็น 5 กลุ่ม และได้รับอาหารเสริม Fastract (ประกอบด้วยเชื้อ *Streptococcus faecium*, *L. acidophilus*, *S. cerevisiae*, *A. oryzae* และ *B. subtilis* จำนวน 8.8×10^{11} CFU ต่อกิโลกรัม) ระหว่างวันที่ 1-7, 1-21, 21-42 และ 1-42 ตามลำดับ ปริมาณที่ให้เท่ากับ 227 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมอาหาร หลังจากสิ้นสุดสัปดาห์ที่ 6 พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยของไก่กลุ่มที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกมีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.01$) และได้สรุปว่า การเสริมโปรไบโอติกทางการค้าเพื่อนำไปเลี้ยงไก่เนื้อจะช่วยกระตุ้นการเจริญเติบโตและลดอัตราการตายได้มาก

ปัญชลี (2541) ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบการเสริมโปรไบโอติกในการเลี้ยงไก่โดยใช้ *Lactobacillus* spp. 4 สายพันธุ์ (*Lactobacillus acidophilus* TISTR 1338, *Lactobacillus bulgaricus* TISTR1339, *Lactobacillus casei* subsp. *Tolerans* TISTR1341 และ *Lactobacillus jensenii* TISTR1342) ผสมในอัตราส่วนเท่ากัน 1:1:1:1 ในอาหารไก่ และในน้ำดื่ม อัตราส่วน 1:1000 และในสภาพแห้งความเข้มข้น 10^6 CFU/g และ CFU/ml เมื่อนำมาเลี้ยงไก่ และเปรียบเทียบระหว่างการให้อาหารและน้ำดื่มพบว่า ไก่กลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำดื่มมีน้ำหนักเฉลี่ยสูงสุด รองลงมาคือ กลุ่มที่ได้รับสารปฏิชีวนะ และกลุ่มที่มีการเสริมโปรไบโอติก ในอาหาร และ

ทั้งสองกลุ่มนี้มีน้ำหนักเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มควบคุมที่ได้รับสารปฏิชีวนะในอาหารด้วย Jin *et al.* (1998a) ได้ทำการศึกษาผลของการเสริมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* I26 และเชื้อผสมของ *Lactobacillus* 12 สายพันธุ์ ต่อการเจริญเติบโต น้ำหนักอวัยวะ จุลินทรีย์ในลำไส้ และปริมาณกรดระเหยได้ของไก่อกระเทง แบ่งการทดลองออกเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ให้อาหารปกติ(ควบคุม) กลุ่มที่ 2 อาหารปกติเสริมด้วยเชื้อ *L. acidophilus* I26 ปริมาณ 1 กรัมต่อกิโลกรัม และกลุ่มที่ 3 อาหารปกติเสริม *Lactobacillus* 12 สายพันธุ์ ปริมาณ 1 กรัมต่อกิโลกรัม ผลการทดลองพบว่าอาหารที่มีการเสริมเชื้อเดี่ยวหรือเชื้อผสมจะช่วยเพิ่มน้ำหนักตัว และประสิทธิภาพการเปลี่ยนอาหารในช่วง 0-6 สัปดาห์ ได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) และในปีเดียวกันนี้ Jin *et al.* (1998b) ได้ศึกษาผลของ *Lactobacillus* ต่อการเจริญเติบโต จำนวนจุลินทรีย์ในลำไส้ และระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมของไก่อกระเทง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ให้อาหารปกติ (ควบคุม) กลุ่มที่ 2, 3 และ 4 ให้อาหารปกติที่มีการเสริม *Lactobacillus* 0.05%, 0.10% และ 0.15% ตามลำดับ พบว่าไก่อกระเทงกลุ่มที่ได้รับ *Lactobacillus* 0.05% หรือ 0.10% มีน้ำหนักตัวและประสิทธิภาพการใช้อาหารเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมในวันที่ 21 และ 42 ของการทดลอง ระดับโคเลสเตอรอลในซีรัมในไก่อกระเทงกลุ่มที่ได้รับ *Lactobacillus* ทั้ง 3 กลุ่ม ในวันที่ 30 และกลุ่มที่มีการเสริม *Lactobacillus* 0.05% หรือ 0.10% ลงในอาหารในวันที่ 20 ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) บุญเรียง (2544) ได้ทำการเสริมโปรไบโอติกลงในน้ำดื่มของไก่ โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 6 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 เป็นกลุ่มควบคุม กลุ่มที่ 2, 3, 4 และ 5 ทำการเสริม *Lactobacillus acidophilus*, *Pediococcus* KUL2, *Saccharomyces cerevisiae* Y77 และ *Bacillus subtilis* B31 ตามลำดับ ในกลุ่มที่ 6 ทำการเสริมเชื้อผสมของ *Pediococcus* KUL2, *S. cerevisiae* Y77 และ *B. subtilis* B31 ผลการทดลองพบว่า การเจริญของไก่ช่วงอายุ 1 ถึง 21 วัน ทั้งน้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนการเจริญที่อายุ 22 ถึง 40 วัน และ 1 ถึง 40 วัน พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยที่เพิ่มขึ้น และประสิทธิภาพการใช้อาหาร ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ไก่อกระเทงกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกมีเปอร์เซ็นต์การอยู่รอดสูงกว่ากลุ่มควบคุม นอกจากนี้ยังพบว่า โปรไบโอติกมีผลทำให้เชื้อ *E. coli* ในลำไส้ไก่มีปริมาณลดลงอีกด้วย Kabir *et al.* (2004) ทำการศึกษาผลของโปรไบโอติกต่อน้ำหนักตัวของไก่อกระเทง น้ำหนักของส่วนต่างๆ และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกัน โดยเสริมโปรไบโอติกลงในน้ำให้ไก่กิน พบว่า การเสริมโปรไบโอติกช่วยเพิ่มน้ำหนักตัว และการตอบสนองทางภูมิคุ้มกันได้อย่างมีนัยสำคัญ Murry *et al.* (2006) ศึกษาผลของสมุนไพรโปรไบโอติก (botanical probiotic) ที่มี *Lactobacillus* เป็นส่วนประกอบ พบว่า น้ำหนัก

ตัวและน้ำหนักเฉลี่ยไม่มีความแตกต่าง อัตราการกินและประสิทธิภาพการใช้อาหารในช่วง 22-42 วัน ในกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.01$)

3.3.2 การใช้โปรไบโอติกเพื่อป้องกันโรคติดเชื้อในระบบทางเดินอาหารในไก่

Nurmi and Rantala (1973) ทดลองใช้ของเหลวจากทางเดินอาหารของไก่ที่โตเต็มวัยและมีสุขภาพสมบูรณ์เจือจางกับน้ำเกลือเข้มข้นร้อยละ 0.85 ในอัตราส่วน 1:10 (น้ำหนักต่อปริมาตร) มากพอให้ลูกไก่แรกเกิดทางปาก ปริมาณ 0.5 มิลลิลิตร หลังจากนั้น 24 ชั่วโมง จึงกรอกตามด้วยเชื้อ *Salmonella Infantis* พบว่า การให้ของเหลวจากทางเดินอาหารของไก่ที่โตเต็มที่ และมีสุขภาพดีนี้ช่วยป้องกันการเจริญของเชื้อ *Salmonella Infantis* ในทางเดินอาหารของไก่ได้ ในปี 1982 Watkins *et al.* ได้ทดลองใช้เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เพื่อป้องกันและรักษาโรคที่เกิดจากเชื้อ *E. coli* ในลูกไก่ สำหรับการทดลองเพื่อป้องกันโรคได้ทำการกรอกเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ประมาณ 10^8 - 10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ให้ลูกไก่อายุประมาณ 2 วัน และอีก 2 วันต่อมาทำการให้เชื้อ *E. coli* สายพันธุ์ที่ก่อโรคในไก่ ประมาณ 10^8 - 10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร พบว่า *Lactobacillus acidophilus* ช่วยลดอัตราการตายของลูกไก่ได้ เนื่องจาก *Lactobacillus acidophilus* มีผลช่วยลดพีเอชในกระเพาะพัก ไข่ตั้ง และลำไส้ส่วนปลาย ทำให้เกิดสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *E. coli* ต่อมาในปี 1983 Watkins *et al.* ได้ศึกษาการให้เชื้อ *Lactobacillus acidophilus* เพื่อป้องกันและรักษาโรคจาก *Salmonella Typhimurium* และ *Staphylococcus aureus* ในการให้เชื้อเพื่อป้องกันโรคจะให้ *L. acidophilus* ทางปากแก่ไก่พันธุ์ Grey Leghorn อายุ 2 วัน ปริมาณ 1 มิลลิลิตร (10^8 CFU/ไก่ 1 ตัว) แล้วจึงให้เชื้อก่อโรคทดสอบ (10^9 - 10^{10} CFU/ไก่ 1 ตัว) สายพันธุ์ละ 1 มิลลิลิตร เมื่อไก่อายุ 4 วัน และในกรณีเพื่อการรักษาไก่จะได้รับเชื้อก่อโรคก่อน แล้วตามด้วย *L. acidophilus* ระยะการให้ *L. acidophilus* คือ เมื่อไก่อายุ 6, 8, 10, 12 และ 14 วัน พบว่า การใช้ *L. acidophilus* เพื่อป้องกันโรคติดเชื้อ สามารถลดอัตราการตายของไก่ลงได้มาก และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.01$) เมื่อเปรียบเทียบกับผลในการรักษาโรค และพบว่า *L. acidophilus* สามารถกำจัดทั้ง *Salmonella Typhimurium* และ *Staphylococcus aureus* ได้ โดยพบว่าเชื้อก่อโรคทั้งสองสายพันธุ์มีจำนวนลดลง ในขณะที่ *L. acidophilus* มีจำนวนเพิ่มขึ้นและเข้ายึดครองพื้นที่ในทางเดินอาหารไก่แทน ปีญชลิ (2541) ได้ศึกษาการให้โปรไบโอติกในการเลี้ยงไก่ โดยใช้ *Lactobacillus* spp. 4 สายพันธุ์ ผลการทดสอบผลความต้านทานต่อการติดเชื้อ *Salmonella Typhimurium* ในไก่กระทรงพบว่า การให้โปรไบโอติกสามารถลดการติดเชื้อ *S. Typhimurium* ใน

ลำไส้ได้ดีที่สุด และมีประสิทธิภาพในการลดการติดเชื้อ *S. Typhimurium* สูงกว่าไก่กลุ่มควบคุมที่ได้รับสารปฏิชีวนะ

Jin *et al.* (1998a) ได้ทำการศึกษาผลของการเสริมเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* I26 และเชื้อผสมของ *Lactobacillus* 12 สายพันธุ์ พบว่า การเสริม *Lactobacillus* ทั้งในรูปแบบเชื้อเดี่ยวและเชื้อผสมในอาหารไก่ สามารถลดปริมาณโคลิฟอร์มในลำไส้ส่วนซีกัมได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อไก่มีอายุ 10 และ 20 วัน Pascual *et al.* (1999) ได้ทดลองใช้ *Lactobacillus salivarius* CTC2197 เป็นโปรไบโอติกในไก่กระทง เพื่อศึกษาความสามารถในการป้องกัน *Salmonella* Enteritidis C-114 ในไก่ โดยการให้โปรไบโอติกร่วมกับ *S. Enteritidis* C-114 ทางปาก, ผสมในอาหาร และผสมในน้ำดื่ม ผลการทดลองพบว่า หลังจาก 21 วัน จุลินทรีย์ก่อโรคถูกกำจัดออกจากไก่อย่างสมบูรณ์ ปริมาณเซลล์ของ *Lactobacillus* ที่ลูกไก่แรกเกิดได้รับเท่ากับ 10^5 CFU/g นั้นสามารถเพิ่มจำนวนในทางเดินอาหารได้หลังจากที่ให้เชื้อไป 1 สัปดาห์ แต่ในช่วง 21 และ 28 วัน ไม่สามารถตรวจพบ *L. salivarius* CTC2197 ในทางเดินอาหารของไก่แสดงให้เห็นว่า จำเป็นต้องมีการให้โปรไบโอติกมากกว่า 1 ครั้ง จึงจะแน่ใจว่าสามารถตรวจพบโปรไบโอติกได้ในช่วงสุดท้ายของการศึกษา Djouvinov *et al.* (2005) ทำการศึกษาผลของการเสริมโปรไบโอติก Lactina ต่อการเจริญของไก่กระทง โดย Lactina ประกอบด้วย *Streptococcus thermophilus*, *Enterococcus faecium* และ *Lactobacillus* 4 สายพันธุ์ (*L. bulgaricus*, *L. acidophilus*, *L. helveticus* และ *L. lactis*) จากการทดลองพบว่า โปรไบโอติกไม่มีผลต่อปริมาณโคเลสเตอรอลในซีรัม แต่สามารถลดจำนวน *E. coli* และ *Salmonella* และเพิ่ม Lactobacilli ในลำไส้ส่วนซีกัมได้