

247396

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



247396

เรื่อง

การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียโพรไบโอติกในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตขนมจีนเพื่อใช้ผสมใน
อาหารและน้ำดื่มสำหรับสุกรและสัตว์ปีก

Cultivation of probiotic bacteria in waste-water from “khamom-jeen”
factory to be supplemented in animal feed and drinking water for swine
and poultry

โดย

ผศ. ดร. เสาวนิต ทองพิมพ์

รศ. งามนิจ นนทโส

รศ. เทอดศักดิ์ คำเหม็ง

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๒

600252685

247396

ห้องสมุดงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ



247396

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียโปรไบโอติกในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตขนมจีนเพื่อใช้ผสมใน
อาหารและน้ำดื่มสำหรับสุกรและสัตว์ปีก

**Cultivation of probiotic bacteria in waste-water from “khamom-jeen”
factory to be supplemented in animal feed and drinking water for swine
and poultry**

โดย

ผศ. ดร. เสาวนิต ทองพิมพ์

รศ. งามนิจ นนทโส

รศ. เทอดศักดิ์ คำเหม็ง

ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๒



กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้เป็นผลการวิจัยในปีที่๒ ของโครงการวิจัยต่อเนื่อง ๓ ปี ได้รับทุนอุดหนุนโครงการวิจัย ประเภทอุดหนุนทั่วไป ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๕๒ จากมหาวิทยาลัยขอนแก่น นอกจากนี้คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ เครื่องมือ อุปกรณ์ สารเคมีบางชนิด และขอขอบคุณ สุพิชญา กาญจนนวโชติ สุธีรา ศรีสมัย และรัชฎา เมษคง ที่ได้ช่วยงานด้านห้องปฏิบัติการ และขอขอบคุณคุณวันชัย หินทองแห่งบริษัทพรีเมอร์จำกัดที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่ สุกกร และไก่ที่ใช้ในการทดลอง

เสาวนิต ทองพิมพ์

งามนิจ นนทโส

เทอดศักดิ์ คำเหม็ง

๒๕ กรกฎาคม ๒๕๕๔

บทคัดย่อ

247396

จากผลการทดลองในปีแรก คัดเลือกได้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกไอโซเลท SK5 ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคท้องร่วงในสุกรได้ดี แต่เชื้อไอโซเลท SK5 ไม่สามารถย่อยแป้งได้เนื่องจากไม่สร้างเอนไซม์อะไมเลส ดังนั้นเมื่อต้องการนำมาเพาะเลี้ยงในน้ำเหลืองทั้งจากการต้มเส้นขนมจีน จึงเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Bacillus coagulans* NF 17 ที่สร้างเอนไซม์อะไมเลสได้ดี ในการเพาะเลี้ยงเชื้อไอโซเลท SK5 ร่วมกับ *B. coagulans* NF17 ในน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมน้ำนมยูเอชที 10%: WDNM ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 วัน ได้ปริมาณเชื้อ 1.9×10^9 และ 4.1×10^8 CFU/ml ตามลำดับก่อนนำไปทดสอบประสิทธิภาพการเป็นโปรไบโอติกกับสุกรในฟาร์ม โดยแบ่งลูกสุกรเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่สุกรกลุ่มทดสอบให้กินอาหารที่เติมเชื้อผสม SK 5 และ NF 17 ที่เพาะเลี้ยงใน WDNM ส่วนสุกรกลุ่มควบคุมให้กินอาหารที่เติม WDNM หลังจากเลี้ยงสุกรไป 19 วันจึงทำ “challenged test” โดยให้สุกรกินเชื้อก่อโรคท้องร่วง *Salmonella* Choleraesuis NIH 2392 เป็นเวลา 3 วันติดต่อกัน แล้วเลี้ยงสุกรต่อไปอีก 30 วัน ซึ่งพบว่าสุกรที่ได้รับโปรไบโอติกมีความรุนแรงของอาการท้องร่วงลดลง เมื่อตรวจนับเชื้อแบคทีเรียในมูลสุกร พบว่าแบคทีเรียกรดแลคติกและ *Bacillus* มีจำนวนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญในขณะที่เชื้อแบคทีเรียในวงศ์ Enterobacteriaceae และเชื้อซัลโมเนลลามีจำนวนลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับสุกรกลุ่มควบคุม ซึ่งบ่งถึงศักยภาพการเป็นโปรไบโอติกที่ดีของเชื้อผสมแบคทีเรียกรดแลคติกสายพันธุ์ SK5 และ *B. coagulans* NF17

ในการศึกษาโปรไบโอติกสำหรับสัตว์ปีก สามารถแยกและคัดเลือกได้เชื้อแบคทีเรียกรดแลคติกไอโซเลท LAB42 และ *Bacillus* OB8 ซึ่งสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคท้องร่วงในสัตว์ปีกได้ดี เมื่อนำไปเพาะเลี้ยงใน WDNM เป็นเวลา 2 วัน พบว่าไอโซเลท LAB42 และ OB8 เจริญเพิ่มจำนวนขึ้นเป็น 8.62×10^{10} และ 2.0×10^{10} CFU/ml เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30°C. และ 35°C. ตามลำดับ ก่อนนำไปทดสอบประสิทธิภาพในการเป็นโปรไบโอติกในไก่กระตัง โดยแบ่งไก่ออกเป็น 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ให้อาหารปกติ กลุ่มที่ 2 ให้อาหารที่มีส่วนผสมของยาปฏิชีวนะคลอเตตระไซคลิน กลุ่มที่ 3 ให้ไก่ได้รับอาหารที่ผสมเชื้อ LAB42 และกลุ่มที่ 4 ให้ไก่ได้รับอาหารที่ผสมเชื้อ OB8 เมื่อเลี้ยงไก่ไปเป็นเวลา 7 วัน ทำการ “challenge” ไก่ทดลองด้วยเชื้อ *Salmonella* Enteritidis แล้วเลี้ยงไก่ต่อไปอีก 21 วัน หลังจากเลี้ยงไก่ครบ 28 วัน พบว่าไก่ทดลองกลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกจะมีเชื้อซัลโมเนลลาลดลงและมีปริมาณต่ำกว่าในกลุ่มที่ให้อาหารปกติและอาหารที่ผสมยาคลอเตตระไซคลิน นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อไอโซเลท LAB42 และ *Bacillus* OB8 ยังส่งเสริมการเจริญในไก่ทดลองด้วย โดยพบว่าไก่กลุ่มที่ได้รับโปรไบโอติกมีอัตราการแลกเนื้อ (feed conversion ratio) ดีกว่าในกลุ่มควบคุม ผลการศึกษาในครั้งนี้ได้แสดงให้เห็นว่าไอโซเลท LAB42 และ *Bacillus* OB8 ที่คัดเลือกได้มีศักยภาพที่ดีในการเป็นโปรไบโอติกเพื่อแทนที่ยาปฏิชีวนะและเสริมอาหารในสัตว์ปีก

Abstract

247396

Lactic acid bacteria strain SK5 was obtained as the potential probiotic bacteria for swine from the screening processes in the previous year. This potential probiotic isolate was cultivated in wastewater discarded from the noodle-boiling process in “khanom-jeen” factories supplemented with 10% UHT milk (WDM). As the isolate SK5 did not produce amylase to break down starch in WDM, it was co-cultured with *Bacillus coagulans* NF17 that produces strong amylase. After incubation at room temperature for one day, we could obtain lactic acid bacteria strain SK5 and *B. coagulans* NF17 at the concentration of 1.9×10^9 and 4.1×10^8 CFU/ml respectively. The effect of mixed bacterial cultures, isolate SK5 and *B. coagulans* NF17, was investigated in 12 weaned pigs for 49 days. Pigs in the test and control groups were fed with diets supplemented with mixed bacterial cultures grown in WDM and WDM without probiotic bacteria, respectively. After being raised for 19 days, pigs of both control and test group were challenged orally with *Salmonella enterica* serovar Choleraesuis for three consecutive days and the raising was continued for another 30 days. It was found that pigs treated with mixed probiotic bacteria showed reduced incidence, severity, and duration of diarrhea. There was a significant increase in viable cell count of lactic acid bacteria and *Bacillus* and a significant decrease in viable cells of enterobacteria and *Salmonella* in fecal samples of pigs in the test group when compared to the control group. This was a strong evidence to employ mixed bacterial cultures as probiotics in pig.

Lactic acid bacteria strain LAB42 and *Bacillus* sp. strain OB8 were obtained as the potential probiotic bacteria for poultry from the screening processes in the previous year. These isolates were cultivated in WDM. We could obtain 8.62×10^{10} CFU/ml of isolate LAB42 after incubating at 30°C and 2.0×10^{10} CFU/ml of isolate OB8 after incubating at 35°C for 2 days. These potential probiotic isolates were then employed in the feed-trial experiments. Broiler chickens were divided into 4 groups. Each group was daily fed with chicken feed supplemented with chlortetracycline, lactic acid bacteria strain LAB42, *Bacillus* OB8 and feed without supplement, respectively. After being raised for 7 days, the chickens were fed with *Salmonella* Enteritidis and the raising was continued for another 4 weeks. It was found that chickens fed with probiotic bacteria showed reduced incidence, severity and duration of diarrhea. The amounts of *Salmonella* found in excrement of chicken fed with probiotics were lower than the ones in other two chicken groups. Moreover, feed conversion ratio displayed that the employed probiotic bacteria had also a positive effect on chicken growth. Therefore, lactic acid bacteria strain LAB42 and *Bacillus* OB8 are promising alternatives to antibiotics in poultry raising.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญเรื่อง	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ฉ
คำอธิบายคำย่อ	ช
บทที่ 1: บทนำ	1
บทที่ 2: ทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	3
บทที่ 3: วิธีดำเนินการวิจัย	7
บทที่ 4: ผลการวิจัยและอภิปรายผล	12
บทที่ 5: สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	26
เอกสารอ้างอิง	28

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 จำนวนเชื้อ lactic acid bacteria (LAB) strain SK5 และ <i>B. coagulans</i> NF17 เมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำต้มเส้นขนมจีน	12
ตารางที่ 2 ปริมาณแบคทีเรียกลุ่มต่าง ๆ ที่ตรวจพบในมูลสุกร (log cfu/g)	15
ตารางที่ 3 จำนวนเชื้อ lactic acid bacteria strain LAB42 และ <i>Bacillus</i> OB8 ที่เจริญในน้ำทิ้งที่เหลือจากการต้มเส้นขนมจีนที่เติมนม 10% เมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30°C และ 35°C ตามลำดับ เป็นเวลา 3 วัน	18
ตารางที่ 4 จำนวน <i>Salmonella</i> spp. ที่ตรวจพบจากมูลไก่ (log CFU/g มูลไก่)	20
ตารางที่ 5 จำนวน lactic acid bacteria และ <i>Bacillus</i> ที่ตรวจพบในมูลไก่ระหว่างการเลี้ยงนาน 28 วัน	21
ตารางที่ 6 จำนวนไก่ทดลอง น้ำหนักไก่ น้ำหนักอาหารที่ไกกิน ตลอดระยะเวลาของการทดลองนาน 35 วัน และอัตราการแลกเนื้อ (Feed conversion ratio: FCR) ของไก่กระทรงในระยะไก่เล็ก และไก่รุ่น	23

สารบัญภาพ

	หน้า
รูปที่ 1 การเจริญของเชื้อผสมของ LAB strain SK5 กับเชื้อ <i>Bacillus coagulans</i> NF17 เมื่อเลี้ยงร่วมกันในน้ำดื่มเส้นขนมจีน และน้ำดื่มเส้นขนมจีนที่มีการเติมนมยูเอชที 10 เปอร์เซนต์	13
รูปที่ 2 แบคทีเรียที่ตรวจพบจากมูลสุกรตลอดช่วงระยะเวลา 49 วันของการเลี้ยงสุกร	16
รูปที่ 3 เชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก LAB42 และ OB8 เมื่อเพาะเลี้ยงในน้ำดื่มเส้นขนมจีนที่เสริมด้วยนมยูเอชที 10% เป็นเวลา 3 วัน	19
รูปที่ 4 จำนวนซัลโมเนลลาที่ตรวจพบจากมูลไก่ทดลอง 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารธรรมดา กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารที่ผสมคลอเตตระไซคลิน 50 ppm กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารที่ผสมเชื้อโปรไบโอติก LAB42 และ กลุ่มที่ 4 ได้รับอาหารที่ผสมเชื้อโปรไบโอติก OB8	20
รูปที่ 5 จำนวน lactic acid bacteria ที่ตรวจพบจากมูลไก่ทดลอง 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารธรรมดา กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารที่ผสมคลอเตตระไซคลิน 50 ppm กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารที่ผสมเชื้อโปรไบโอติก LAB42 และ กลุ่มที่ 4 ได้รับอาหารที่ผสมเชื้อโปรไบโอติก OB8	21
รูปที่ 6 จำนวนเชื้อ <i>Bacillus</i> ที่ตรวจพบจากมูลไก่ทดลอง 4 กลุ่ม กลุ่มที่ 1 ได้รับอาหารธรรมดา กลุ่มที่ 2 ได้รับอาหารที่ผสมคลอเตตระไซคลิน 50 ppm กลุ่มที่ 3 ได้รับอาหารที่ผสมเชื้อโปรไบโอติก LAB42 และ กลุ่มที่ 4 ได้รับอาหารที่ผสมเชื้อโปรไบโอติก OB8	22

คำอธิบายคำย่อ

CFU	หมายถึง Colony forming unit
LAB	หมายถึง Lactic acid bacteria
GYP	หมายถึง Glucose-Yeast extract Peptone
NB	หมายถึง Nutrient broth
NA	หมายถึง Nutrient agar
Ppm	หมายถึง part per million
SD	หมายถึง Standard deviation
WDNM	หมายถึง Waste water discarded from the noodle-boiling process supplemented with 10% UHT milk
X	หมายถึง Mean