

รหัสโครงการ : RMU 5080020
ชื่อโครงการ : การพัฒนาผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกที่มีคุณสมบัติในการควบคุมคุณภาพน้ำ ย่อยสลายของเสีย บำบัดชีวนและควบคุมแบคทีเรียก่อโรคในการเลี้ยงกุ้งทะเลเศรษฐกิจ
ชื่อนักวิจัย : รองศาสตราจารย์ ดร. สุนันท์ นิมรัตน์
สังกัดภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา
E-mail Address : subunti@buu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ : 3 ปี

การศึกษาในครั้งนี้เป็นการศึกษาการพัฒนาโพรไบโอติกที่มีประสิทธิภาพในการควบคุมคุณภาพน้ำ ย่อยสลายของเสีย บำบัดชีวนและควบคุมแบคทีเรียก่อโรคในการเลี้ยงกุ้งทะเลเศรษฐกิจ โดยทำการศึกษาแบ่งออกเป็น 6 ขั้นตอน โดยขั้นตอนแรกทำการศึกษาถึงคุณสมบัติของผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกทางการค้าที่จำหน่ายในประเทศไทยและต่างประเทศ จากการศึกษาพบว่าผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกจำนวน 11 ตัวอย่าง มีปริมาณแบคทีเรียน้อยกว่าปริมาณที่ระบุบนฉลาก และมีเพียงผลิตภัณฑ์เดียวเท่านั้นที่มีปริมาณแบคทีเรียใกล้เคียงกับปริมาณที่ระบุบนฉลาก แสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำที่ไม่มีประสิทธิภาพในอดีตน่าจะเป็นผลมาจากโพรไบโอติกที่มีปริมาณจุลินทรีย์น้อยกว่าที่ระบุบนฉลาก ต่อมาในขั้นตอนที่ 2 ได้ทำการแยกแบคทีเรียจากดินในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำและลำไส้กุ้งกุลาดำที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลสและไลเปสมาศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายแอมโมเนีย ในเทรต ในไทรต์ และฟอสเฟต ภายในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำจำลอง พบว่ากลุ่มแบคทีเรียนี้สามารถย่อยสลายแอมโมเนีย ในเทรต ในไทรต์และฟอสเฟตให้อยู่ในระดับที่ไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อกุ้งกุลาดำและมีระดับต่ำกว่าชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมโพรไบโอติก ในขั้นตอนที่ 3 นำโพรไบโอติกกลุ่มดังกล่าวมาศึกษาความสามารถในการบำบัดชีวนเปรียบเทียบกับวิธีการบำบัดวิธีอื่นในบ่อเลี้ยงกุ้งกุลาดำ พบว่าการตากแดดร่วมกับการพลิกเลนและเติมโพรไบโอติกเป็นวิธีการบำบัดชีวนที่มีประสิทธิภาพดีที่สุด โดยสามารถปรับพีเอชและปริมาณสารอินทรีย์ให้เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำ และสามารถย่อยสลายสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่เป็นพิษได้ อีกทั้งยังสามารถกำจัดแบคทีเรียก่อโรคลกลุ่ม *Vibrios* และ *Pseudomonads* ได้เช่นเดียวกัน

ขั้นตอนที่ 4 นำกลุ่มโพรไบโอติกดังกล่าวมาศึกษาความสามารถในการส่งเสริมการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำ พบว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกรูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์แช่แข็งมีอัตราการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้นและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อลดลงอย่างแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม และการเลี้ยงกุ้งกุลาดำด้วยโพรไบโอติกรูปแบบเซลล์มีชีวิตและเซลล์แช่แข็งไม่มีผลกระทบต่อปริมาณแบคทีเรียกลุ่มเฮทเทอโรโทรปทั้งหมดหรือแบคทีเรียที่มีประโยชน์ในระบบทางเดินอาหารของกุ้งกุลาดำ แต่สามารถควบคุมและลดปริมาณแบคทีเรียกลุ่ม *Vibrios* ซึ่งเป็นแบคทีเรียก่อโรคของกุ้งกุลาดำได้

ขั้นตอนที่ 5 นำกลุ่มโพรไบโอติกดังกล่าวมาตรวจหายีนกลุ่ม *Subtilin* ซึ่งเป็นยีนที่ควบคุมการผลิต Antimicrobial peptide พบว่าแบคทีเรียดังกล่าวไม่มียีนกลุ่มนี้เป็นองค์ประกอบ และในขั้นตอนสุดท้ายเป็นการศึกษากิจกรรมเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลสและไลเปสของโพรไบโอติกกลุ่มดังกล่าว โดยพบว่าโพรไบโอติกกลุ่มนี้มีกิจกรรมเอนไซม์เหล่านี้สูง ซึ่งเห็นว่าโพรไบโอติกกลุ่มนี้มีคุณสมบัติในการย่อยสลายสารอาหารประเภทโปรตีน คาร์โบไฮเดรตและไขมันซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักในอาหารของสัตว์น้ำ จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าโพรไบโอติกที่ใช้ในการศึกษาในครั้งนี้มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกที่ดี เนื่องจากสามารถลดอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและปริมาณแบคทีเรียก่อโรค โดยไม่มีผลกระทบต่อแบคทีเรียกลุ่มที่มีประโยชน์ต่อกุ้งกุลาดำ รวมทั้งส่งเสริมอัตราการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำและมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอินทรีย์และกำจัดแบคทีเรียก่อโรคในชีวนที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงกุ้งกุลาดำได้ แต่ควรทำการศึกษาถึงคุณสมบัติที่สำคัญอื่น ๆ ของโพรไบโอติกกลุ่มนี้ต่อไป เพื่อพัฒนาให้โพรไบโอติกมีประสิทธิภาพในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจและให้ผลผลิตสัตว์น้ำของประเทศไทยมีคุณภาพสูงและยั่งยืนต่อไป

Project Code : RMU 5080020
Project Title : Development of probiotic product capable of controlling water quality, biodegradation of waste, organic sludge treatment and controlling bacterial pathogens in economic marine shrimps
Investigator : Associate Prof. Subuntith Nimrat
Department of Microbiology, Faculty of Science, Burapha University
E-mail Address : subunti@buu.ac.th
Project Period : 3 years

This purpose of this research was to develop the potential probiotic for controlling water quality, biodegradation of waste, organic sludge treatment and controlling bacterial pathogens in economic marine shrimps. The experiment was divided into 6 phases. In the first phase, the characteristics of probiotic products vended in domestic and foreign countries were examined. Results demonstrated that 11 probiotic products had the lowered bacterial number, compared to those in manufacturer's label. Only 1 sample in this study associated with the number of microbes cited on the probiotic product's label. This phenomenon indicated that the ineffective probiotic use in the past may be caused by the less of microbial load than those mentioned in commercial probiotic products. In the second phase, the potential bacteria were isolated from black tiger shrimp pond bottom soil and its intestine. They presented high protease, amylase and lipase activities and were capable for controlling water quality in term of lowering the levels of ammonia, nitrate, nitrite and phosphate in simulated shrimp ponds, compared to the controls. In the third phase, beneficial bacteria probiotics were studied for the effectiveness of stabilize pH, organic matter level and pathogenic bacteria removal in organic sludge, compared to other treatments. Drying in sun light, tilling and addition of probiotics showed high efficiency because this treatment improved pH, degraded hazardous organic and inorganic matter resulting in the quality of reared aquatic-animal water was ameliorated. Organic sludge dried in sunlight, tilled and added with probiotics annihilated shrimp pathogenic bacteria, *Vibrios* and *Pseudomonads*. In the forth phase, bacteria probiotics were evaluated for the effect on the promoting shrimp growth. Shrimp supplemented with live-spayed and freeze-dried presented higher growth rate and lower feed conversion ratio and was significantly difference ($p < 0.05$) with control group. As a consequence, bacteria probiotics did not affect on the change of total heterotrophic bacteria or beneficial bacteria and controlled the pathogenic *Vibrios*. In the fifth phase, bacteria probiotics were investigated for *Subtilin* genes, the gene that regulates antimicrobial peptide production in microbes. None of the tested bacteria probiotics exhibited the *Subtilin* genes. In the final phase, protease, amylase and lipase activities of beneficial bacteria probiotics were detected. All of probiotics showed high all three enzymes activities indicating that candidated probiotics were able to use protein, carbohydrate and lipid, the main compositions in aquatic-animal diets. As a consequence, bacteria probiotics in this study could be potential probiotics because of reducing food conversion ratio and shrimp pathogens, no effect on beneficial bacteria, advocating shrimp growth rate, deterioration of organic matter and elimination of shrimp pathogenic bacteria. In addition, the other crucial characteristics of probiotics should be studied further in order to develop the effective probiotic products. The novel product can support the important economic aquaculture for sustainability.