แลคติคแอสิดแบคทีเรียที่แยกได้จากมูลไก่พื้นเมือง

Lactic Acid Bacteria Isolated from Native Chicken Feces

ไพรัตน์ ศรแผลง[1] สุทธิพงศ์ อุริยะพงศ์สรรค์[2] เกรียงศักดิ์ พูนสุข[3] พลสัณห์ มหาขันธ์[4]
Pairat Sonplang[1] Suthipong Uriyapongson[2] Kriengsak Poonsuk[3] Polson Mahakhan[4]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาถึงปริมาณ ลักษณะโคโลนี และเซลล์ของแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่แยกได้จากมูลไก่พื้นเมือง สุ่มตัวอย่างมูลสดไก่พื้นเมืองที่สุขภาพแข็งแรง อายุระหว่าง 2 เดือน ถึง 4 ปี และเลี้ยงในสภาพแวดล้อมหมู่บ้าน จำนวน 27 ตัวอย่าง จากไก่ 27 ตัว คัดแยกโคโลนีของแลคติคแอสิดแบคทีเรียด้วยวิธีเพาะเชื้อบนอาหารแข็ง MRS ที่เติมแคลเซียมคาร์บอเนต 0.3% (น้ำหนัก/ปริมาตร) ย้อมสีแกรมและส่องตรวจด้วยกล้องจุลทรรศน์ จากการศึกษาพบลักษณะ clear zone รอบๆ โคโลนีของแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารนี้ ปริมาณของเชื้อเฉลี่ย 1.77×10^9 CFU/g ของมูลไก่ พบลักษณะโคโลนีและเซลล์ 6 และ 5 แบบ ตามลำดับ จำนวนโคโลนี 74 โคโลนี ได้ถูกเก็บโดยอาศัยแบบของโคโลนีที่แตกต่างกันจากทุกตัวอย่าง ทุกโคโลนีที่แยกได้พบว่าติดสีแกรมบวกและไม่ผลิต catalase พบเซลล์ของแบคทีเรียมีรูปร่างแบบแท่งและกลมโดยเฉลี่ย 87.84 และ 12.16% ตามลำดับ ดังนั้นจากการศึกษาครั้งนี้อาจใช้ตัวอย่างมูลไก่พื้นเมืองเพื่อคัดเลือกหาแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกได้

คำสำคัญ: แลคติคแอสิดแบคทีเรีย ไก่พื้นเมือง
Keywords: lactic acid bacteria, native chicken

[1] ภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
Department of Veterinary Public Health, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002
[2] ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002
[3] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย กรุงเทพมหานคร 10330
Department of Microbiology, Faculty of Veterinary Science, Chulalongkorn University, Bangkok, 10330
[4] ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002
Department of Microbiology, Faculty of Science, Khon Kaen University, Khon Kaen, 40002

Abstract

The concentration, colony and cell morphologies of Lactic acid bacteria (LAB) isolated from native chicken feces were conducted in this study. Twenty seven feces samples were collected from healthy 2 month to 4 year-old birds which raised in a village condition. Colony morphologies were isolated by using MRS agar with modified 0.3% (w/v) $CaCO_3$ added. Cell morphologies were detected by using Gram stain and light microscope. The colonies of isolates surrounding with clear zone grew on this medium. The average concentration of LAB is 1.77 x 10^9 CFU/g of feces. The colony and cell types were 6 and 5 types, respectively. From seventy four colonies, the isolated colonies were Gram-positive and catalase negative. The shapes of cell were average 87.84 and 12.16% of rod and cocci shape, respectively. Thus, we may use the feces samples of native chicken to select for LAB-probiotic bacteria.

บทนำ

ในระยะ 10 ปีที่ผ่านมาจนถึงปัจจุบัน นักวิจัยไทยได้เริ่มให้ความสนใจศึกษาถึงการนำโปรไบโอติกมาใช้เลี้ยงสัตว์รวมถึงแนวทางการคัดเลือกจุลินทรีย์โปรไบโอติกอีกด้วย ทั้งนี้ด้วยเหตุผลหลักที่สำคัญคือ ลดหรือทดแทนการใช้สารปฏิชีวนะในการเลี้ยงสัตว์ ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีว่าการใช้สารปฏิชีวนะดังกล่าวอาจมีผลตกค้างในเนื้อสัตว์และเป็นผลเสียต่อผู้บริโภค และเหตุผลอีกประการหนึ่งคือจุลินทรีย์โปรไบโอติกที่นำมาใช้ส่วนใหญ่ยังมาจากผลิตภัณฑ์ที่นำเข้าและการใช้ยังไม่แพร่หลาย (เกรียงศักดิ์, 2545) อย่างไรก็ตามมีรายงานการศึกษาของนักวิจัยเหล่านี้ถึงการนำโปรไบโอติกมาใช้เลี้ยงสัตว์โดยได้จากจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ เช่น การเลี้ยงกุ้ง (วลัยพร, 2544; ศิริรัตน์ และคณะ, 2548; Rengpipat et al., 1998; Rengpipat et al., 2000) การเลี้ยงไก่เนื้อ (ศิริรัตน์ และคณะ, 2540; ศิริรัตน์, 2542; สุนีย์ และคณะ, 2548) และการเลี้ยงโค (สุรีลักษณ์, 2545) และจากผลิตภัณฑ์โปรไบโอติก เช่น การเพิ่มสมรรถนะการผลิตในพ่อแม่พันธุ์ไก่เนื้อ (เยาวมาลย์ และคณะ, 2537) การเพิ่มภูมิคุ้มกันในไก่เนื้อ (เชิดชัย และคณะ, 2539) และเพิ่มการเจริญเติบโตในสุกร (นวลจันทร์ และอุทัย, 2533) เป็นต้น

สาเหตุหนึ่งของการนำโปรไบโอติกมาใช้เลี้ยงสัตว์ที่ยังไม่แพร่หลายอาจเนื่องจากผลที่ได้รับจากการศึกษายังมีความผันแปรอยู่ ปัจจัยที่ทำให้เกิดความผันแปรของการใช้โปรไบโอติกนั้นส่วนหนึ่งมาจากสายพันธุ์จุลินทรีย์ (เกรียงศักดิ์, 2535) ซึ่งนับว่าเป็นข้อกำหนดขั้นแรกที่ต้องตรวจคุณสมบัติของการเป็นโปรไบโอติก เช่น เป็นแบคทีเรียที่ไม่ทำให้เกิดโรค เป็นแบคทีเรียชนิดแกรมบวก เนื่องจากทนต่อน้ำย่อยในระบบทางเดินอาหารได้ดีกว่า ทนกรดและน้ำดีได้ดี สามารถสร้างกรด

ได้ดี สามารถผลิตสารต่อต้านจุลชีพได้ เพิ่มจำนวนได้เร็ว และเก็บไว้ได้นาน (นวลจันทร์, 2533; Nousiainen and Setala,1998) เป็นต้น Fuller (1992) ได้กล่าวถึงสกุลและชนิดของแบคทีเรียที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกได้แก่ *Lactobacillus* spp., *Streptococcus* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Bifidobacterium* spp. และ *Bacillus* spp. Nousiainen and Setala (1998) กล่าวว่าแลคติคแอสิดแบคทีเรียเป็นแบคทีเรียที่มักเสริมในการเลี้ยงสัตว์เนื่องจากมีคุณสมบัติค่อนข้างครบตามหลักเกณฑ์ของโปรไบโอติกที่ดี

การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์จากทางเดินอาหารของสัตว์เพื่อนำมาใช้ในสัตว์ชนิดนั้นจึงเป็นการลดปัญหาเรื่องความจำเพาะเจาะจงระหว่างตัวสัตว์กับสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่ใช้ (Morelli, 2000) อย่างไรก็ตามการแยกจุลินทรีย์ทางเดินอาหารด้วยวิธีเพาะเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อจำเพาะ deMan Rogosa Sharpe (MRS) (De Man et al., 1960) ไม่จำเพาะกับแลคติคแอสิดแบคทีเรียเสมอไป แต่การเติมสารที่มีคุณสมบัติปรับสภาพความเป็นกรด-ด่าง เช่น แคลเซียมคาร์บอเนต (สมบูรณ์, 2539) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้ออาจทำให้เชื้อกลุ่มแลคติคแอสิดแบคทีเรียเจริญดีขึ้นอีก ทั้งอาจสังเกตปฏิกิริยาของกรดที่ผลิตจากแบคทีเรียกลุ่มนี้กับแคลเซียมคาร์บอเนตได้ด้วย ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จึงได้แยกแลคติคแอสิดแบคทีเรียในทางเดินอาหารไก่พื้นเมือง โดยเป็นการศึกษาเบื้องต้นทั้งปริมาณและชนิดของเชื้อเพื่อนำมาประยุกต์ใช้เลี้ยงไก่เนื้อของไทยได้ต่อไป

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการ

ในช่วงเดือนพฤศจิกายน ถึง ธันวาคม 2549 ทำการสุ่มเก็บตัวอย่างมูลสดของไก่พื้นเมืองที่สุขภาพดีและไม่มีประวัติการป่วยในรอบ 1-2 เดือนที่ผ่านมา อายุระหว่าง 2 เดือน ถึง 4 ปี และเลี้ยงในสภาพแวดล้อมหมู่บ้าน จากไก่จำนวน 27 ตัว ตัวอย่างมูลไก่เก็บใส่ถุงพลาสติกที่รีดอากาศออกมัดปากถุงให้แน่นและแช่เย็นขณะส่งตรวจ ตรวจหาปริมาณของเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียโดยชั่งมูลไก่ตัวอย่างละ 5 กรัม ละลายใน 45 มิลลิลิตรของสารละลาย 0.1 % peptone ทำ serial 10-fold dilution ตามวิธีการ ISO-6887-1 (1999) แยกเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียด้วยวิธี pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MRS agar (De Man et al., 1960) ซึ่งดัดแปลงด้วยการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต 0.3 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) นำเข้าบ่มในภาวะ aerobic ที่อุณหภูมิ 37 $^{\circ}$C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ตามวิธีการ ISO-15214 (1998) ตรวจนับจำนวนโคโลนีที่สร้างกรดโดยเกิดวงใสรอบโคโลนีในจานเพาะเชื้อที่มีเชื้อ 30-300 โคโลนี คำนวณปริมาณของเชื้อโดยนำจำนวนโคโลนีคูณกับ dilution factor ต่อหน่วยน้ำหนัก (colony forming unit per gram (CFU/g))

ศึกษาสัณฐานวิทยาของเซลล์โดยย้อมสีเซลล์แบบแกรม (Gram stain) โดยนำเชื้อที่เก็บไว้มาเลี้ยงให้เจริญบนอาหาร MRS agar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง นำมา smear บนแผ่นแก้วสไลด์ที่สะอาดตรึงเซลล์ให้ติดแผ่นแก้วสไลด์ด้วยความร้อน และย้อมด้วยสี crystal violet, gram's iodine และ

safranin ตรวจดูรูปร่างและการเรียงตัวของเซลล์ด้วยกล้อง light microscope โดยใช้กำลังขยาย 1,000 เท่า

ทดสอบการสร้าง catalase โดยใช้ loop เขี่ยโคโลนีของเชื้อที่เก็บไว้และเจริญบนอาหาร MRS agar เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มาป้ายบนแผ่นแก้วสไลด์ที่สะอาด หยดสารละลาย 3% hydrogen peroxide ลงบนเชื้อ ตรวจดูการเกิดฟองก๊าซซึ่งแสดงว่าเชื้อมีการสร้าง catalase

ผลการทดลอง

จากผลการทดลองสามารถแยกพบเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียจากตัวอย่างมูลไก่โดยวิธีเพาะแยกเชื้อด้วย MRS agar ที่เติมแคลเซี่ยมคาร์บอเนต 0.3 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) โดยโคโลนีของเชื้อที่ขึ้นในอาหารนี้ที่อายุ 48 ชั่วโมง มีลักษณะการเกิด clear zone รอบๆ โคโลนี (Figure 2)

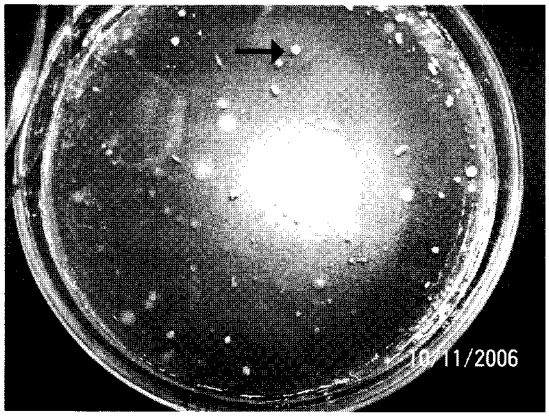

Figure 1 Bacterial colonies with not formed clear zone (arrow) grew on MRS agar without $CaCO_3$.

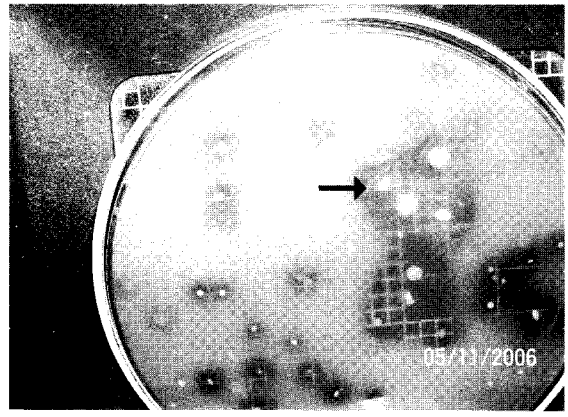

Figure 2 Bacterial colonies with clear zone (arrow) grew on MRS agar + 0.3% $CaCO_3$.

จากการคัดแยกแลคติคแอสิดแบคทีเรียจากตัวอย่างมูลสดไก่พื้นเมืองที่มีอายุ 2 เดือน ถึง 4 ปี จำนวน 27 ตัวอย่าง พบปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรีย 3.5×10^8 - 3.0×10^9 CFU/g (Table 1) และปริมาณเฉลี่ยของแบคทีเรียจากตัวอย่างมูลไก่คือ 1.77×10^9 CFU/g

Table 1 Lactic acid bacteria (LAB) in native chicken feces.

Chicken ages (month)	Number of sample	Average number of colony[1] at various dilutions			Average LAB count (CFU/g)
		10^{-6}	10^{-7}	10^{-8}	
2	7	nc[2]	35	9	3.5×10^{8}
5	3	nc	40	1	4.0×10^{8}
7	2	nc	303	30	3.0×10^{9}
8	5	nc	54	8	5.4×10^{8}
10	5	nc	45	2	4.5×10^{8}
12	4	nc	38	6	3.8×10^{8}
48	1	nc	46	3	4.6×10^{8}

[1] count with triplicate plates

[2] numerous colonies

ลักษณะโคโลนีของแลคติคแอสิดแบคทีเรีย 6 แบบที่ขึ้นบน MRS agar + 0. 3% (w/v) $CaCO_3$ ซึ่งได้แก่ A-F โดยแบ่งเป็นโคโลนีแบบขอบกลมและขอบรูปร่างไม่สม่ำเสมอ สีขาวเข้มและสีขาวเทา ผิวแบนจนถึงโค้ง ผิวหยาบจนถึงเรียบ และมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางตั้งแต่ 0.5-3 มิลลิเมตร (Table 2)

Table 2 Colony morphology of Lactic acid bacteria from native chicken feces at various ages.

Chicken ages (month)	Number of sample (n)	Colony types	Sample found (%)
2	7	D,F	100 (7/7)
5	3	D,F	100 (3/3)
7	2	D,F	100 (2/2)
8	5	D,F,A,B,C	100 (D,F), 40 (D,F,A,B,C)
10	5	D,F,A,B,C	100 (D,F), 40 (D,F,A,B,C)
12	4	D,F,A,B,C,E	100 (D,F), 75 (D,F,A,B,C), 25 (D,F,A,B,C,E)
48	1	D,F,A,B,C,E	100 (D,F,A,B,C,E)

A = circular, white, convex, slightly rough, 0.5-1 mm

B = circular, grayish-white, slightly convex, smooth, 0.5-1 mm

C = irregular, white, rough, 0.5-1 mm

D = circular, grayish-white, convex, smooth, 1-1.5 mm

E = irregular, grayish-white, convex, smooth, 1-1.5 mm

F = circular, grayish-white, flat, smooth, 1-3 mm

การติดสีแกรมของเชื้อที่แยกได้พบว่าติดสีแกรมบวกและทดสอบการผลิต catalase ให้ผลลบ พบลักษณะและรูปร่างของเซลล์แบ่งตามลักษณะโคโลนีได้ 5 แบบ คือ แบบ A หรือ D แบบ B, C, E และ F โดยแบ่งเป็นรูปร่างแท่ง (Figure 3) และกลม (Figure 4) แบบแท่งมีขนาดทั้งสั้น ปานกลาง และยาว ขอบของแบบแท่งมีลักษณะขอบกลมและขอบเหลี่ยม การเรียงตัวของเซลล์พบแบบต่างๆ ได้แก่ อยู่เดี่ยว อยู่คู่ อยู่เป็นกลุ่ม อยู่เรียงตัวเป็นสายสั้นและสายยาว (Table 3)

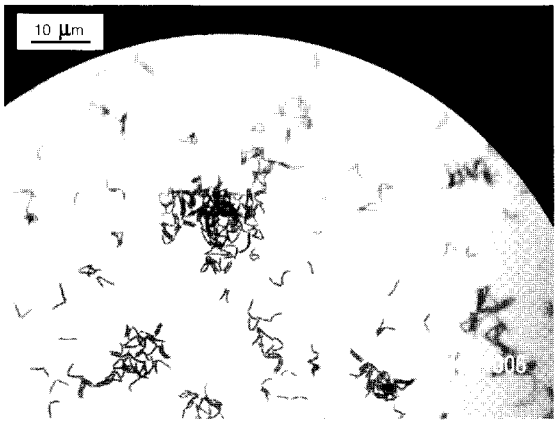

Figure 3 Rod shape of Lactic acid bacteria cells (magnification, x1000).

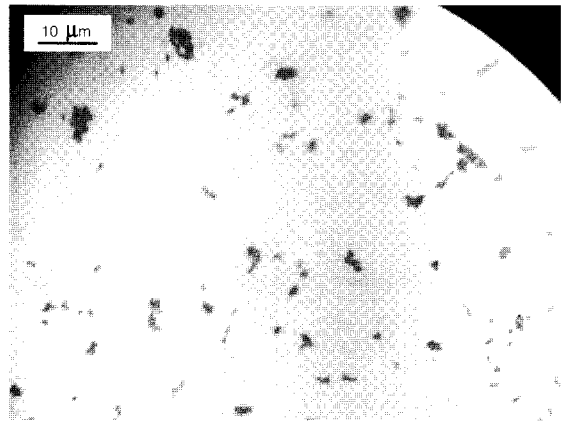

Figure 4 Coccus shape of Lactic acid bacteria cells (magnification, x1000).

Table 3 Phenotypic characterization of Lactic acid bacteria and the age of native chicken.

Characteristics	Colony types by using MRS agar + 0.3 % $CaCO_3$				
	A	B	C	E	F
Gram reaction	+	+	+	+	+
Shape of cell	long rods, rounded ends	cocci	medium rods, squared ends	medium-long rods rounded ends	short rods, squared ends
Cell arrangement	pair, short chain	single or cluster	single or pair, short chain	pair, short chain or cluster	single or pair
Catalase	–	–	–	–	–
Ages of chicken (months) found	2, 5, 7, 8, 10, 12, 48	8, 10, 12, 48	8, 10, 12, 48	12, 48	2, 5, 7, 8, 10, 12, 48
Isolated colonies found (%)	36.49 (27/74)	12.16 (9/74)	12.16 (9/74)	2.70 (2/74)	36.49 (27/74)

สรุป และวิจารณ์

จากการศึกษาครั้งนี้สามารถแยกเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียจากตัวอย่างมูลสดไก่พื้นเมืองทั้ง 27 ตัว โดยวิธีเพาะเชื้อด้วย MRS agar (De Man et al., 1960) และดัดแปลงด้วยการเติมแคลเซียมคาร์บอเนต 0.3 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งโคโลนีของเชื้อที่อายุ 48 ชั่วโมง ที่ขึ้นบนอาหารดังกล่าวมีลักษณะเกิด clear zone รอบๆ โคโลนีอย่างเห็นได้ชัดเนื่องจากเชื้อมีการผลิตกรดและทำปฏิกิริยากับแคลเซียมในอาหารนั่นเอง ร่วมกับการตรวจรูปร่างลักษณะ (morphology) ของเชื้อทั้งทางโคโลนีและเซลล์ โดยแยกโคโลนีได้ 6 แบบ และตรวจทางเซลล์ได้ 5 แบบ รูปร่างโคโลนีแบ่งเป็นแบบวงกลมและแบบขอบไม่สม่ำเสมอ ผิวโคโลนีแบ่งเป็นผิวเรียบและผิวหยาบซึ่งลักษณะผิวโคโลนีของแลคติคแอสิดแบคทีเรียอาจใช้เป็นลักษณะหนึ่งของการตรวจคุณสมบัติการเป็นโปรไบโอติกเบื้องต้นได้ ดังรายงานของ Suskovic et al. (2000) ที่รายงานว่าผิวโคโลนีของเชื้อ *Lactobacillus* ที่มีผิวเรียบและหยาบมีความสามารถทนต่อน้ำดีได้แตกต่างกัน และรายงานของ Wright and Klaenhammer (1981) พบว่าโคโลนีของเชื้อ *Lactobacillus* ที่มีผิวเรียบและหยาบที่เลี้ยงในอาหารที่มีแคลเซียมและผ่านการแช่แข็งมีจำนวนการรอดชีวิตแตกต่างกัน ซึ่งความสามารถทนต่อน้ำดีและความสามารถรอดชีวิตขณะแช่แข็งเป็นคุณสมบัติที่สำคัญอย่างหนึ่งของการคัดเลือกโปรไบโอติก

การตรวจทางเซลล์พบลักษณะของแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่สำคัญคือ ย้อมติดสีแกรมบวก มีรูปร่างเป็นแท่งและกลม และไม่ผลิต catalase โดยพบรูปร่างแท่งและกลมจากโคโลนีที่แยกได้จำนวน 74 โคโลนี คิดเป็น 87.84 และ 12.16 % ตามลำดับ (Table 3) ปริมาณของแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่พบในมูลไก่พื้นเมืองทั้งหมดมีค่าเฉลี่ย 1.77 x 10^9 CFU/g จากการศึกษาครั้งนี้พบแลคติคแอสิดแบคทีเรียรูปร่างแท่งจากทุกตัวอย่าง จึงมีแนวโน้มที่จะตรวจพบสกุล *Lactobacillus* หรือ *Carnobacterium* ได้เมื่อศึกษาในขั้นต่อไป ซึ่งการศึกษาของ Gilliland et al. (1975) รายงานพบเชื้อ *Lactobacillus* ที่แยกได้จากมูลไก่เมื่อเพาะเชื้อในสภาพไร้อากาศ (GasPak) มีปริมาณ 4.7 x 10^8 CFU/g และแยกจากลำไส้เล็กพบปริมาณเชื้อประมาณ 5.75 x 10^7- 7.59 x 10^8 CFU/g (Knarreborg et al., 2002) ปริมาณของแลคติคแอสิดแบคทีเรียที่แยกจากมูลไก่พื้นเมืองของการศึกษาครั้งนี้มีแนวโน้มสูงกว่าที่แยกพบจากลำไส้ไก่ที่ศึกษาโดย วลัยพร (2544) ที่พบปริมาณ 10^7-10^8 CFU/g

ผลการทดลองยังพบว่าไก่ที่อายุน้อย (2-7 เดือน) มีปริมาณของเชื้อแลคติคแอสิดแบคทีเรียใกล้เคียงกับไก่อายุมาก (8 เดือน ถึง 4 ปี) ส่วนการตรวจลักษณะทางโคโลนีและเซลล์นั้นพบว่าตัวอย่างมูลไก่กลุ่มอายุมากมีแนวโน้มพบชนิดของแลคติคแอสิดแบคทีเรียได้มากชนิดกว่าไก่กลุ่มอายุน้อย โดยพบลักษณะของโคโลนีและเซลล์ในไก่กลุ่มอายุมากและไก่กลุ่มอายุน้อยมีลักษณะ 5 และ 2 แบบตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Lu et al. (2003) ที่รายงานว่าเมื่อไก่ มีอายุมากขึ้นมีแนวโน้มตรวจพบชนิดของ *Lactobacillus* ในทางเดินอาหารไก่ได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามตัวอย่างมูลไก่กลุ่มอายุมากที่สุ่มเก็บในครั้งนี้ยังมีจำนวนน้อย ผลที่ได้จึงอาจมีความผันแปร ดังนั้นการศึกษาครั้งต่อไปผู้วิจัยจะได้เพิ่มจำนวนตัวอย่างให้มากขึ้น

กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น คณาจารย์และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาจุลชีววิทยา คณะสัตวแพทยศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ผู้สนับสนุนทุนวิจัย

เอกสารอ้างอิง

เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2535. ตัวเสริมชีวนะ (probiotics). สัตว์เศรษฐกิจ 10 (204): 76-78.

เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2545. ประมวลการใช้ผลิตภัณฑ์ชีวภาพในการเลี้ยงสัตว์. ประมวลรายงานการสัมมนาทางวิชาการเรื่องเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการพัฒนาเกษตรกรรมไทย. วันที่ 23-24 พฤษภาคม 2545 ณ โรงแรมริมปาว อ.เมือง จ.กาฬสินธุ์. หน้า 231-245

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล วราภรณ์ ศุกลพงศ์ กัลยา เจือจันทร์ และประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร. 2539. ผลของโปรไบโอติก บาซิลลัส โตโยอิ ต่อการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันโรคและการเร่งการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ. รายงานการวิจัยทุนอุดหนุนการวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

นวลจันทร์ พารักษา. 2533. สาระน่ารู้เกี่ยวกับโพรไบโอติก. สุกรสาส์น 16(63): 5-8.

นวลจันทร์ พารักษา และอุทัย คันโธ. 2533. ผลของการเสริมส่วนผสมจุลินทรีย์ประเภทโปรไบโอติคและกลุ่มเอ็นไซม์ต่อการย่อยได้ของอาหารลูกสุกรหย่านม. สุกรสาส์น 16(64): 9-13.

เยาวมาลย์ ค้าเจริญ เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล และวราภรณ์ ศุกลพงศ์. 2537. ประสิทธิภาพของโปรไบโอติก บาซิลลัส โตโยอิ ในอาหารพ่อแม่พันธุ์ไก่เนื้อต่อสมรรถนะในการผลิตและการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน. วารสารสัตวแพทยศาสตร์ มข. 4(2): 107-114

วลัยพร ทิมบุญธรรม. 2544. การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโปรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งก้ามกราม. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพมหานคร.

ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์. 2542. เปรียบเทียบการให้โพรไบโอติกในการเลี้ยงไก่. รายงานผลการวิจัย คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

ศิริรัตน์ เร่งพิพัฒน์ ฐิติพงศ์ ธนะรัชติการนนท์ และปัญชลี ประคองศิลป์. 2540. การใช้แลคติกแอสิดแบคทีเรียเป็นโพรไบโอติกเพื่อเสริมในอาหารไก่. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร.

ศิริรัตน์ ศรีหานาท สมคิด แข็งกลาง ลือชัย ยุตคุป และวิชัย ลีลาวัชรมาศ. 2548. การยับยั้งการเจริญของเชื้อก่อโรคในกุ้งด้วยจุลินทรีย์ที่แยกได้จากลำไส้กุ้งก้ามกราม. สงขลานครินทร์ วทท. 27 (ฉบับเสริม): 265-274.

สุนีย์ นิธิสินประเสริฐ เพ็ญแข วันไชยธนวงษ์ สุเจตน์ ชื่นชม และณัฐชนก อมรเทวภัทร. 2548. ผลของ Probiotic "*Lactobacillus reuteri* KUB-AC5" ต่อการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ. รายงานการวิจัย เสนอต่อสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ.

สุรีลักษณ์ รอดทอง. 2545. การอยู่รอดของแลคโตแบซิลไลจากหญ้าหมักในทางเดินอาหารของโค. รายงานผลการวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี. นครราชสีมา.

สมบูรณ์ ธนาศุภวัฒน์. 2539. เทคนิคการเก็บรักษาจุลินทรีย์. สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพมหานคร. 184 หน้า

De Man, J.C., Rogosa, M. and Sharpe, E.M. 1960. A medium for the cultivation of Lactobacilli. J. Appl. Bacteriol. 23: 30-35.

Fuller, R. 1992. Probiotic: The scientific basis. Chapman & Hall, London. 398 p.

Gilliland, S.E., Speck, M.L. and Moran, C.G., 1975. Detection of *Lactobacillus acidophilus* in feces of humans, pigs, and chickens. Appl. Microbiol. 30(4): 541-545

ISO-15214. 1998. Microbiology of food animal breeding stuffs-Horizontal method for the enumeration of mesophilic Lactic Acid Bacteria-colony-count technique.

ISO-6887-1. 1999. Microbiology of food animal breeding stuffs- Preparation of test samples, initial suspension and decimal dilution for microbiological examination. Part 1: General rules for the preparation of the initial suspension and decimal dilution.

Knarreborg, A., Simon, M.A., Engberg, R.M., Jensen, B.B. and Tannock, G.W. 2002. Effects of dietary fat source and subtherapeutic levels of antibiotic on the bacterial community in the ileum of broiler chickens at various ages. Appl. Environ. Micro. 68(12): 5918-5924.

Lu, J., Idris, U., Harmon, B., Hofacre, C., Maurer, J.J. and Lee, D.M. 2003. Diversity and succession of the intestinal bacterial community of the maturing broiler chicken. Appl. Environ. Micro. 69(11): 6816-6824.

Morelli, L. 2000. In vitro selection of probiotic lactobacilli: A critical appraisal. Curr. Issues. Intest. Microbiol. 1(2): 59-67.

Nousiainen, J. and Setala, J. 1998. Lactic acid bacteria as animal probiotics, *In:* Lactic Acid Bacteria. 2nd ed., S. Salminen and A. von Wright (eds). Mercel Dekker Inc., New York. pp. 431-473.

Rengpipat, S., Phianphak, W., Piyatiratitivorakul, S. and Menasaveta, P. 1998. Effect of probiotic Bacterium in black tiger shrimp *Penaeus monodon* survival and growth. Aquaculture 167: 301-313.

Rengpipat, S., Rukpratanporn, S., Piyatiratitivorakul, S. and Menasaveta, P. 2000. Immunity enhancement in black tiger shrimp (*Penaeus monodon*) by a probiont bacterium (Bacillus S11). Aquaculture 191: 271-288.

Suskovic, J., Kos, B., Matosic, S. and Besendorfer, V. 2000. The effect of bile salts on survival and morphology of potential probiotic strain *Lactobacillus acidophilus* M92. World J. Micro. Biotech. 16: 673-678.

Wright, C.T. and Klaenhammer, T.R. 1981. Calcium-induced alteration of cellular morphology affecting the resistance of *Lactobacillus acidophilus* to freezing. Appl. Environ. Microbiol. 41(3): 807-815.