การรอดชีวิตของแบคทีเรียแลคติคและการนำใช้เพื่อเป็นโพรไบโอติกในสัตว์
Viability of Lactic Acid Bacteria and Utilization as Probiotic in Animals

ไพรัตน์ ศรแผลง[1] และ สุทธิพงศ์ อุริยะพงศ์สรรค์[2]

บทนำ

โพรไบโอติก (probiotics) เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า สารเสริมชีวนะคือจุลินทรีย์มีชีวิตที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของคน (Gilliland, 1990) และสัตว์ (Fuller, 1989) โดยจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์นี้พบได้ทั้งที่เป็นแบคทีเรีย (bacteria) ยีสต์ (yeast) และ รา (mould) Fuller (1992) ได้กล่าวถึงสกุลและชนิดของจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติเป็นโพรไบโอติกได้แก่ แบคทีเรีย สกุล *Lactobacillus* spp., *Streptococus* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., *Propionibacterium* spp., *Enterococcus* spp., *Bifidobacterium* spp. และ *Bacillus* spp. ยีสต์ ชนิด *Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida pintolopesii* และ รา ชนิด *Aspergillus niger* และ *A. oryzae* แบคทีเรียส่วนใหญ่ที่ใช้เป็นโพรไบโอติกได้แก่กลุ่มแบคทีเรียแลคติค (Lactic acid bacteria) ซึ่งได้รับการยอมรับว่าเป็น Generally Regarded As Safe (GRAS) (Salminen et al., 1998) ถึงแม้กลุ่มแบคทีเรียแลคติคได้มีการนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกอย่างแพร่หลายแต่มักมีข้อจำกัดที่ทำให้จำนวนเซลล์มีชีวิต (viable cell) ของเชื้อลดลงอย่างรวดเร็ว เช่น กรดที่เชื้อสร้างมากเกินไปและไปทำลายตัวเชื้อเอง นอกจากนั้นองค์การอาหารและการเกษตรโลกและกลุ่มสหภาพยุโรปยังได้เน้นถึงจุลินทรีย์โพรไบโอติกที่นำมาใช้และก่อประโยชน์ต่อร่างกายคนหรือสัตว์ต้องปลอดภัยและมีปริมาณที่เพียงพอ (FAO/WHO, 2002) ดังนั้นผู้ผลิตและผู้ใช้โพรไบโอติกจึงได้ให้ความสำคัญของสายพันธุ์และการรอดชีวิตของเชื้อทั้งในระหว่างการผลิตและเก็บรักษา การผลิตจุลินทรีย์โพรไบโอติกโดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียแลคติคให้เจริญได้ดีและมีปริมาณมากได้เน้นที่ส่วนประกอบของวัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารสำหรับผลิตเชื้อได้แก่แหล่งพลังงานสำหรับเชื้อซึ่งมาจากทั้งโปรตีนและน้ำตาลและสารตั้งต้นสำหรับการ metabolism ของเชื้อซึ่งได้จากน้ำตาล และเทคโนโลยีการเก็บรักษาเชื้อที่ผลิตได้ เช่นการแช่เย็น แช่แข็ง หรือการทำให้แห้งแบบเยือกแข็ง สามารถเพิ่มอายุการเก็บรักษาเชื้อ แต่ระหว่างการเก็บรักษาเชื้อมักมีอัตรารอดลดลง การหาวิธีเพิ่มอัตรารอดของเชื้อทั้งในขั้นตอนการผลิตและเก็บรักษา จะช่วยให้เชื้อมีจำนวนเซลล์มีชีวิตมากขึ้นและใช้ประโยชน์ได้ดีขณะผ่านเข้าสู่ร่างกายและในเอกสารฉบับนี้ได้ทบทวนถึงเอกสารเกี่ยวกับประโยชน์ของแบคทีเรียแลคติคที่ใช้เลี้ยงสัตว์ด้วย

[1]ภาควิชาสัตวแพทย์สาธารณสุข คณะสัตวแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002
[1]Department of Veterinary Publich Health, Faculty of Veterinary Medicine, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand
[2]ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น อ. เมือง จ. ขอนแก่น 40002
[2]Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002, Thailand

อาหารที่มีส่วนประกอบของโพรไบโอติก

องค์การอาหารและยาประเทศสหรัฐอเมริกา (United States Food and Drug Administration, USFDA) ได้เปลี่ยนจากคำว่าโพรไบโอติกมาเป็นคำว่าจุลินทรีย์สิ่งเติมในอาหาร (direct feed microbials) และในปี ค.ศ. 2003 กลุ่มสหภาพยุโรปได้กำหนดระเบียบให้การใช้จุลินทรีย์เติมในอาหารสัตว์อยู่ในกลุ่ม zootechnical additives ซึ่งหมายรวมถึงสารที่ช่วยเพิ่มการย่อยได้เช่น เอนไซม์ และสารเพื่อความคงตัวของจุลินทรีย์ประจำถิ่นในทางเดินอาหารสัตว์ เช่น พรีไบโอติกและโพรไบโอติก โดยกำหนดให้ผู้ผลิตโพรไบโอติก ติดฉลากที่บอกถึงอายุการเก็บรักษา จำนวนและชนิดของสายพันธุ์ และจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ / กรัม (Anadon et al., 2006) ในอาหารคนได้มีการนำโพรไบโอติกมาใช้มากในผลิตภัณฑ์นมหมักและได้เริ่มพัฒนาผลิตภัณฑ์มามากกว่า 10 ปีที่ผ่านมาโดยเน้นถึงการรอดชีวิตและความปลอดภัยของเชื้อในผลิตภัณฑ์ (Bernardeau et al., 2006; Bezkorovainy, 2001; Champagne and Gardner, 2005; Saarela et al., 2000) คุณสมบัติด้านความปลอดภัยของเชื้อในคนได้ใช้คุณสมบัติของเชื้อที่ต้องไม่ถ่ายทอดพันธุกรรมการต้านยาปฏิชีวนะไปยังเชื้อตัวอื่น (Bernardeau et al., 2006) ส่วนในสัตว์ยังมีการศึกษาน้อยและใช้คุณสมบัติของเชื้อโพรไบโอติกที่แยกได้จากทางเดินอาหารตามชนิดของสัตว์เป็นคุณสมบัติหนึ่งด้านความปลอดภัยของเชื้อ (Morelli, 2000) มีรายงานการใช้จุลินทรีย์เติมในอาหารสัตว์ตั้งแต่ปี ค.ศ. 1980 แต่เริ่มมีระเบียบการใช้ในอาหารสัตว์โดยกลุ่มสหภาพยุโรปเมื่อปี ค.ศ. 1993 (Bernardeau et al., 2006) ในปัจจุบันการผลิตอาหารสัตว์ที่เสริมโพรไบโอติกได้รับความนิยมเพิ่มขึ้นเนื่องจากใช้ทดแทนยาปฏิชีวนะที่ใช้เร่งการเจริญเติบโต อย่างไรก็ตามการออกฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์ของเชื้อโพรไบโอติกในสัตว์นั้นยังมีการศึกษาน้อยทั้งนี้การทำหน้าที่ได้ดีของเชื้อโพรไบโอติกโดยเฉพาะเชื้อกลุ่มแบคทีเรียแลคติคมักขึ้นกับการมีชีวิตรอดของเชื้อได้ดีทั้งในระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา

ปัจจัยที่มีผลต่อการรอดชีวิตของเชื้อกลุ่มแบคทีเรียแลคติค

การรอดชีวิตของเชื้อกลุ่มแบคทีเรียแลคติค ได้แก่ การรอดชีวิตระหว่างกระบวนการผลิตและการเก็บรักษา และการเก็บรักษามักดูถึงความคงตัว (stability) ของแบคทีเรียแลคติคที่ใช้เป็นโพรไบโอติกหรือผลิตภัณฑ์โพรไบโอติกซึ่งหมายรวมถึงเซลล์มีชีวิตในอาหารตัวพาก่อนที่จะผ่านเข้าสู่ร่างกายคนหรือสัตว์และการทำหน้าที่ (activity) ได้ดีของเชื้อขณะเข้าสู่ร่างกาย การใช้ประโยชน์จากเชื้อโพรไบโอติกกลุ่มแบคทีเรียแลคติคนั้นมักกำหนดให้จำนวนเซลล์มีชีวิตระหว่างการเก็บรักษาแบบเชื้อแห้งก่อนผ่านเข้าสู่ร่างกายสัตว์อยู่ที่ประมาณอย่างน้อย 106 colony forming unit / milliliter (Anadon et al., 2006; Kailasapathy and Chin, 2000) ปัจจัยที่มีผลต่อการรอดชีวิตของเชื้อประกอบไปด้วยหลายปัจจัยได้แก่

1. สายพันธุ์ (strains)

เชื้อจุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียแลคติคส่วนมากที่นำมาใช้เป็นโพรไบโอติกได้แก่สกุล *Lactobacillus* และสกุล *Bifidobacterium* การคัดเลือกถึงสายพันธุ์ของเชื้อที่สัมพันธ์กับการอยู่รอดและทำหน้าที่ได้เมื่อผ่านเข้าสู่ร่างกายนั้นทำการทดสอบในห้องปฏิบัติการโดยคัดเลือกจากสายพันธุ์ที่ทนกรดเมื่อสัมผัสกับของเหลวเลียนแบบจากกระเพาะอาหาร เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ปรับ pH เป็น 3 และสายพันธุ์ที่ทนเกลือน้ำดีความเข้มข้น 1.5% เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง (Bezkorovainy, 2001) โดยทั่วไปแล้วสายพันธุ์ที่มีแหล่งเริ่มต้นของเชื้อจากสัตว์มักเป็นสายพันธุ์ที่มีชีวิตรอดได้ดีเมื่อนำมาใช้ตามชนิดของสัตว์นั้น (Morelli, 2000) สายพันธุ์ *Lactobacillus* ที่ผ่านการเพาะเลี้ยงในสภาวะเครียดคือ pH 3.5-4 ที่อุณหภูมิ 47°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง และนำมาเพาะเลี้ยงต่อไปจะมีจำนวนเซลล์มีชีวิตได้มากกว่าสายพันธุ์ *Bifidobacterium* (Saarela et al., 2004)

2. การผลิตเชื้อ

การผลิตเชื้อโพรไบโอติกหมายถึง การเพิ่มจำนวนเซลล์และปริมาณ (biomass) ของเชื้อที่คัดเลือกแล้วให้ได้จำนวนเซลล์ตามต้องการและมีปริมาณมากขึ้น การผลิตเชื้อโพรไบโอติคกลุ่มแบคทีเรียแลคติคมีความต้องการอาหารเฉพาะที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตซึ่งโดยทั่วไปแล้ววัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารสำหรับผลิตเชื้อมักต้องมีแหล่งของพลังงานหรือแหล่งคาร์บอน (c-source) เช่น กลูโคส (glucose) และสารปัจจัยการเจริญ (growth factors) เช่น เปปไตด์ กรดอะมิโน แร่ธาตุ วิตามินหรือเยื่อใยอาหาร ซึ่งแหล่งพลังงานในอาหารผลิตเชื้อมาจากทั้งโปรตีนและน้ำตาล แหล่งพลังงานจากโปรตีนเป็นแหล่งพลังงานทางอ้อมช่วยการเจริญและจำนวนเซลล์มีชีวิตของเชื้อและลดการผลิตกรดแลคติคได้ดีกว่าแหล่งพลังงานจากน้ำตาล นอกจากนั้นปริมาณของเปปไตด์สายสั้นหรือกรดอะมิโนอิสระมากมักช่วยให้เชื้อเจริญได้ดีเนื่องจากแบคทีเรียแลคติคมีเอนไซม์ protease สำหรับย่อยโปรตีนและนำไปใช้ (สมชาย, 2542; Donkor et al., 2006) วัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารสำหรับผลิตเชื้อที่มีร้อยละของโปรตีนอยู่สูงและมีรายงานการนำมาใช้เตรียมเลี้ยงสัตว์เช่น น้ำกากถั่วเหลือง (เพิ่มพงษ์, 2524) และวัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารสำหรับผลิตเชื้อที่มีปริมาณและชนิดของกรดอะมิโนมาก เช่น น้ำโปรตีนจากหางเนย (Guerra et al. 2006; Plumed-Ferrer et al., 2005) เป็นต้น วัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารสำหรับผลิตเชื้อนั้นควรมีคุณสมบัติที่สำคัญอีกประการหนึ่งคือ ความสามารถของการรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่าง (buffering capacity) เพื่อลดการถูกทำลายเซลล์ของเชื้อจากกรดแลคติคที่ผลิตขึ้นมาเอง วัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารสำหรับผลิตเชื้อที่มีคุณสมบัติรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่าง เช่น อาหารน้ำมะพร้าว (สายชลและนภา, 2517) หางนมขาดมันเนย (Carvalho et al., 2004) และโปรตีนจากหางเนย (สมชาย, 2542; Kailasapathy and Chin, 2000) เป็นต้น นอกจากนั้นวัตถุดิบที่ใช้เป็นอาหารสำหรับผลิตเชื้อที่มีเยื่อใยสูงเช่นข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี พบว่าเชื้อสามารถเปลี่ยนเยื่อใยมาเป็นคาร์โบไฮเดรทได้มากขึ้นและเชื้อมีจำนวนเซลล์และมีชีวิตรอดได้มากขึ้น (Skrede et al., 2003; Yang et al., 2006)

3. การเก็บรักษา

เชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกกลุ่มแบคทีเรียแลคติคได้มีการนำมาใช้มากในผลิตภัณฑ์อาหารทั้งในคนและสัตว์ (Bernardeau et al., 2006) การเก็บรักษาแบคทีเรียแลคติคที่ผลิตได้เพื่อเป็นโพรไบโอติกมักรวมถึงเทคโนโลยีที่ใช้เก็บรักษา (storage technology) ด้วย สมชาย (2542) กล่าวว่าสามารถเก็บรักษาเชื้อแบคทีเรียแลคติคโดยอาศัยหลักการพื้นฐาน 2 ประการคือ การลด metabolism ของเชื้อ และการแยกเซลล์เชื้อออกจาก waste product ต่างๆโดยการปั่นเหวี่ยงเอาเซลล์ที่ได้ไปละลายในอาหารตัวพาที่เหมาะสม เทคโนโลยีที่ใช้เก็บรักษาเชื้อนั้นหากจำแนกตามวัตถุประสงค์ที่ใช้ได้แก่ เชื้อสดแบบเป็นน้ำ (liquid culture) เพื่อใช้ทันทีหรือเก็บรักษาในเวลาสั้น เชื้อแช่แข็ง (freezing culture) เพื่อใช้งานนานขึ้น และเชื้อแห้งแบบเยือกแข็ง (freeze dried culture) เพื่อใช้งานนานขึ้นรวมทั้งที่ต้องขนส่ง และหากจำแนกตามรูปแบบเชื้อที่เตรียมแบ่งได้เป็นเชื้อแบบน้ำและเชื้อแบบแห้ง (dried culture) ซึ่งเชื้อแบบแห้งนี้ยังแบ่งออกได้เป็นเชื้อผงเชื้อแห้งแบบเยือกแข็งและเชื้อแห้งแบบพ่น(spray dried culture) เชื้อแบบน้ำสามารถเตรียมได้ง่ายและเซลล์ของเชื้อมักไม่สูญเสียขณะเตรียมแต่ระยะเวลาการเก็บรักษาจะสั้นลง ส่วนการเตรียมเชื้อแบบแห้งใช้ขั้นตอนมากกว่าและเซลล์ของเชื้อมีการสูญเสียไปด้วยขณะเตรียมแต่สามารถเก็บรักษาเชื้อไว้ได้นานขึ้น การรอดชีวิตของเชื้อระหว่างการเก็บรักษานอกจากขึ้นกับวิธีของเทคโนโลยีที่ใช้เตรียมเชื้อเพื่อเก็บรักษาตามที่กล่าวมาแล้วยังขึ้นกับสารที่เติมแก่เชื้อเพื่อเตรียมเก็บรักษาและอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาอีกด้วย สารที่เติมแก่เชื้อเพื่อเตรียมเก็บรักษาเป็นสารที่เติมลงไปเพื่อประโยชน์ดังนี้คือ เป็นสารป้องกันเซลล์ (protective agent) เป็นสารปัจจัยการเจริญแก่เชื้อ (growth factors) และมีความสามารถรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษามีผลต่อการมีชีวิตรอดของเชื้อกล่าวคืออัตรารอดของเชื้อจะสูงขึ้นเมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำลงเช่นที่อุณหภูมิห้องเชื้อ

อาจผลิตกรดแลคติคขึ้นมามากและฆ่าตัวเชื้อเองได้มากกว่าที่อุณหภูมิตู้เย็น (เพิ่มพงษ์, 2524) ความสามารถรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่างของสารที่เติมแก่เชื้อได้กล่าวไปแล้วจึงขอกล่าวถึงในส่วนของสารป้องกันเซลล์และสารปัจจัยการเจริญ ดังนี้

3.1 สารป้องกันเซลล์

สารป้องกันเซลล์เป็นสารที่เติมลงไปในเชื้อเพื่อลดการบาดเจ็บของเซลล์และคงสภาพของผนังเซลล์ทั้งในขณะทำให้เย็นซึ่งเรียกว่า cryoprotectant และในขณะทำแห้งโดยเฉพาะการเตรียมเชื้อแบบเชื้อแห้งแบบเยือกแข็ง สารป้องกันเซลล์ที่ใช้เติมเพื่อเตรียมเชื้อแบบเชื้อแห้งแบบเยือกแข็งและมีรายงานการนำมาใช้ได้แก่ หางนมขาดมันเนย (skim milk) หรือหางนมขาดมันเนยคืนรูป (reconstituted skim milk) ที่ความเข้มข้นระหว่าง 10-14% (w/v) (Carvalho et al., 2004; Capela et al., 2006; Milanovic et al., 2001) glycerol (Milanovic et al., 2001; Tomas et al., 2004) น้ำตาลโมเลกุลสั้น เช่น maltose, sucrose, glucose และ fructose (Carvalho et al., 2004; Saarela et al., 2005; Saarela et al., 2006) และโปรตีนหางเนยเข้มข้นหรือที่เรียกว่า whey protein concentrate (Antunes et al., 2005; Kailasapathy and Chin, 2000; Kos et al., 2000)

3.2 สารปัจจัยการเจริญ

การเติมสารเพื่อเป็นปัจจัยสำหรับการเจริญแก่แบคทีเรียแลคติคมักเติมเพื่อเก็บรักษาเชื้อที่เตรียมแบบเชื้อแบบน้ำ แบคทีเรียแลคติคมีความต้องการอาหารเพื่อเป็นแหล่งพลังงานและ metabolism แก่เซลล์ สารปัจจัยการเจริญที่ช่วยให้เชื้อเจริญได้ดีและใช้เป็นแหล่งให้พลังงานแก่เชื้อทางอ้อมได้จากเปปไตด์ หรือกรดอะมิโนอิสระในขณะเดียวกันเชื้อก็มีความต้องการคาร์โบไฮเดรทหรือน้ำตาลเพื่อสร้าง metabolism แก่เซลล์ (สมชาย, 2542; Bezkorovainy, 2001) แหล่งน้ำตาลพบมากในสารอาหารเยื่อใยที่ร่างกายดูดซึมไม่ได้แต่แบคทีเรียแลคติคสามารถย่อยและนำไปใช้ได้ หรือที่เรียกว่าพรีไบโอติก (prebiotic) ได้แก่ inulin, lactulose, raftilose และ fructooligosaccharide (Bezkorovainy, 2001; Desai et al., 2004) เป็นต้น เมล็ดของพืชจำพวกข้าว (cereal grains) มีส่วนประกอบทั้งที่เป็นน้ำตาลและกรดอะมิโนอิสระที่ดีสามารถนำมาผลิตเชื้อหรือเติมในขั้นตอนการเตรียมเพื่อเก็บรักษาได้ จากการนำเอาข้าวมอล์ท ข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลี มาทำผลิตภัณฑ์อาหารคนที่เติมจุลินทรีย์โพรไบโอติก พบว่าผลิตภัณฑ์จากข้าวมอล์ทตรวจพบจำนวนเชื้อมีชีวิตได้มากกว่า ข้าวบาร์เลย์และข้าวสาลี เนื่องจากพบว่าในข้าวมอล์ทมีชนิดของน้ำตาลและปริมาณของกรดอะมิโนอิสระที่มากกว่า (Charalampopoulos et al., 2002) เพิ่มพงษ์ (2524) ได้ทดลองเติมผงแป้งมันสำปะหลังและรำละเอียดเป็นตัวพาเพื่อเก็บรักษาแบคทีเรียแลคติคในรูปเชื้อผงที่อุณหภูมิห้องพบว่าเชื้อที่เติมผงแป้งมันสำปะหลังมีจำนวนเชื้อแบคทีเรียแลคติคเจริญได้น้อยกว่าเชื้อที่เติมรำละเอียดซึ่งอาจเนื่องจากผงแป้งมันสำปะหลังมีส่วนประกอบของโปรตีนน้อยกว่าในรำละเอียด

การใช้โพรไบโอติกในสัตว์

การรอดชีวิตของเชื้อโพรไบโอติกระหว่างการเก็บรักษาตามที่กล่าวมาแล้วนั้นจะส่งผลถึงจำนวนเชื้อมีชีวิตและทำหน้าที่ได้ขณะผ่านระบบทางเดินอาหารของสัตว์รูปแบบการให้โพรไบโอติกในสัตว์มีทั้งแบบให้สัตว์กินโดยตรงและผสมในอาหารสัตว์ รูปแบบการให้สัตว์กินโดยตรงมักได้เชื้อที่มีความเข้มข้นตามต้องการในปริมาณน้อยและเตรียมบ่อยครั้ง รูปแบบการใช้โดยผสมในอาหารสัตว์เพื่อให้สัตว์กินเป็นรูปแบบที่ได้นำมาใช้เพิ่มมากขึ้น ซึ่งนอกจากสามารถใช้เทคโนโลยีการเก็บรักษาก่อนนำมาผสมในอาหารตามที่กล่าวมาแล้วยังสามารถเลือกแหล่งอาหารสัตว์ราคาถูกหรือเป็นอาหารสัตว์และใช้ผลิตเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกได้ด้วย เช่น เศษอาหารที่คนกินเหลือทิ้งผสมกับปลายข้าวบาร์เลย์และปลายข้าวสาลีเมื่อนำมาหมักกับเชื้อแลคโตบาซิลลัสสามารถใช้เป็นอาหารเหลวเลี้ยงสุกรและเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้ประมาณ 10 วัน (Yang et al., 2006) อาหารหมักเหลวที่ประกอบด้วย

ข้าวบาร์เลย์ หางเนยและกากถั่วเหลืองในปริมาณ 69%, 18% และ12.8% ตามลำดับและเติมเชื้อแลคโตบาซิลลัส เมื่อนำมาเลี้ยงสุกรเป็นเวลา 10 สัปดาห์ ตรวจพบปริมาณเชื้อแลคโตบาซิลลัสในมูลเพิ่มขึ้นในขณะเดียวกันเชื้อ Enterobacteriaceae มีปริมาณลดลง (Plumed-Ferrer et al., 2005) หรือวัตถุดิบที่เป็นของเสียจากโรงงานผลิตหอยแมลงภู่ผสมกับหางเนยและหมักกับเชื้อแลคโตบาซิลลัส เมื่อนำมาผสมในอาหารลูกสุกรเชื้อสามารถมีชีวิตรอดได้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน และเมื่อนำมาเลี้ยงลูกสุกรสามารถลดปริมาณของ coliform ในมูลสุกรลงได้ในวันที่ 14-42 ของการเลี้ยง (Guerra et al. 2006) เป็นต้น มีรายงานการนำสายพันธุ์ของจุลินทรีย์โพรไบโอติกทั้งที่อยู่ในรูปที่เตรียมเป็นผลิตภัณฑ์และเตรียมจากเชื้อโดยตรงมาใช้ในสัตว์ดังแสดงใน Table 1 จุลินทรีย์โพรไบโอติกกลุ่มแบคทีเรียแลคติคเมื่อนำมาใช้เลี้ยง ลูกสุกร ลูกโค และไก่เนื้อสามารถต้านโรคท้องเสียและเพิ่มภูมิคุ้มกันให้กับสัตว์ได้ (เชิดชัยและคณะ, 2539; Bernardeau et al., 2006) มีรายงานการใช้ประโยชน์จากเชื้อโพรไบโอติกกลุ่มแบคทีเรียแลคติคในสัตว์ในกลุ่มประเทศแถบเอเชีย-แปซิฟิกและออสเตรเลียดังแสดงใน Table 2

Table 1 Probiotic strains that used for animal production.

Used forms	Strains	References
Probiotic powder	*Lactobacillus gallinarum, Enterococcus faecalis, Sporolactobacillus inulinus, Bacillus cereus* var. *toyoi, Propionibacterium freudenreichii*	Holzapfel et al., 1998
Probiotic liquid	*Lactobacillus* spp. , *Enterococcus faecium, Saccharomyces* spp. , *Bacillus subtilis*	Sukda et al., 2545
Freeze-dry culture	*Lactobacillus acidophilus, L. fermentum, L. crispatus, L. brevis*	Kalavathy et al., 2003; Jin et al., 1998
	Streptococcus thermophilus, Aspergillus oryza, Candida pintolopessi	Denli et al., 2003
	Lactobacillus reuteri	De Smet et al., 1998
Broth culture	*Lactobacillus acidophilus*	Dilworth and Day, 1978

Table 2 Lactic acid bacteria used as probiotic in Asia-Pacific and Australia region.

Region	Probiotic bacteria	Animal species	Utilization	Probiotic mechanisms
Australia	Lactobacilli Bifidobacteria	shrimp	-against intestinal pathogens	bacteriocin production
China	Lactobacilli, Bifidobacteria, *Lactococcus, Streptococcus, Bacillus*	pigs, broilers laying hens, ducks, dairy cows, rabbits, fish, shrimp, dogs and cats	-enhanced growth rate -enhanced feed conversion ratio -decreased diseases -decreased mortality -enhanced egg production and milk	anti- pathogenic bacteria substances production
Korea	Lactic acid bacteria	poultry, pigs and fish	-against intestinal pathogens	bacteriocin production
Mongolia	*Lactobacillus plantarum, L. acidophillus*	calve	anti -diarrhea	anti- diarrheal bacteria substances production
Thailand	Lactic acid bacteria	broilers, pigs ,shrimp	-against intestinal pathogens	anti- pathogenic bacteria substances production
Malaysia	Lactobacilli and Bifidobacteria	broilers	- enhanced growth rate -enhanced feed conversion ratio -decreased serum cholesterol[1/]	anti- pathogenic bacteria substances production

[1/] probiotic mechanism not clear
Source: modified from Crittenden et al (2005)

สรุป

การนำเชื้อจุลินทรีย์โพรไบโอติกโดยเฉพาะกลุ่มแบคทีเรียแลคติคมาใช้เลี้ยงสัตว์เพื่อจุดประสงค์หลักสำหรับเพิ่มการเจริญเติบโตนั้นเมื่อผ่านขั้นตอนการคัดเลือกสายพันธุ์ที่เหมาะสมแล้วควรได้คำนึงถึงการรอดชีวิตของเชื้อทั้งในระหว่างการผลิตเชื้อและระหว่างการเก็บรักษาปัจจัยสำคัญของการรอดชีวิตของเชื้อกลุ่มแบคทีเรียแลคติคนั้นได้แก่วัตถุดิบที่ใช้เป็นสารอาหารของเชื้อซึ่งต้องมีสารพลังงานและสารสำหรับการ metabolism แก่เชื้อ

เทคโนโลยีการแช่เย็นหรือแช่แข็งซึ่งมักเติมสารป้องกันการบาดเจ็บของเชื้อเนื่องจากการเกิดผลึกแข็งในเซลล์ของเชื้อและสารที่สามารถรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่างได้ดีเพื่อป้องกันการสร้างกรดแลคติคที่มากเกินไป แนวทางการเพิ่มการรอดชีวิตแก่เชื้อโดยเลือกวัตถุดิบทั้งเพื่อผลิตเชื้อและเก็บรักษาที่มีคุณสมบัติหลายอย่างได้แก่ เป็นแหล่งให้พลังงานทางอ้อมแก่เชื้อ เช่น วัตถุดิบที่ปริมาณโปรตีนมากกว่าคาร์โบไฮเดรทและมีความหลากหลายของชนิดของน้ำตาลเพื่อให้เกิด metabolism แก่เชื้อ สามารถป้องกันการบาดเจ็บของเชื้อและมีความสามารถรักษาสภาพความเป็นกรด-ด่างได้ดี ทั้งนี้การเลือกวัตถุดิบที่นำมาใช้ผลิตเชื้ออาจต้องเปรียบเทียบระหว่างปริมาณโปรตีนและราคาของวัตถุดิบนั้นจึงเป็นแนวทางหนึ่งของการเพิ่มการรอดชีวิตแก่เชื้อระหว่างการเก็บรักษาจนกระทั่งนำเข้าสู่ร่างกายสัตว์ นอกจากนั้นฤทธิ์ของเชื้อกลุ่มแบคทีเรียแลคติคที่ดีเมื่อนำมาเลี้ยงสัตว์ควรมีฤทธิ์ต้านเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นโทษในทางเดินอาหาร อย่างไรก็ตามการออกฤทธิ์ที่เป็นประโยชน์อย่างอื่นของเชื้อกลุ่มนี้ในสัตว์ เช่นฤทธิ์ของการลดโคเลสเตอรอล ควรได้มีการศึกษากลไกการทำงานของเชื้อที่เด่นชัดเพิ่มขึ้นเพื่อประโยชน์ในการผลิตสัตว์และเพิ่มคุณค่าทางอาหารแก่ผู้บริโภคได้ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

เชิดชัย รัตนเศรษฐากุล วราภรณ์ ศุกลพงศ์ กัลยา เจือจันทร์ และ ประสาทพร บริสุทธิ์เพ็ชร. 2539. ผลของโปรไบโอติก บาซิลลัส โตโยอิ ต่อการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันโรคและการเร่งการเจริญเติบโตในไก่เนื้อ. รายงานการวิจัย ทุนอุดหนุนการวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น ปีงบประมาณ 2539.

เพิ่มพงษ์ ศรีประเสริฐศักดิ์. 2524. การผลิตและการเก็บเชื้อบักเตรีแลคติกที่ใช้เป็นอาหารเสริมสุกรในรูปเชื้อผง. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศักดา เทพปรีชากุล บุญขวัญ วงศ์อยู่น้อย และ เกรียงศักดิ์ พูนสุข. 2545. แบคโตแซคในการปรับปรุงคุณภาพการเลี้ยงไก่กระทง. ประมวลรายงานการสัมมนาทางวิชาการเรื่องเทคโนโลยีชีวภาพเพื่อการพัฒนาเกษตรกรรมไทย. วันที่ 23-24 พฤษภาคม 2545 ณ. โรงแรมริมปาว อ.เมือง จ.กาฬสินธุ์ หน้า 52-55.

สมชาย เชื้อวัชรินทร์. 2542. การพัฒนาการเลี้ยง Lactic acid bacteria ที่ความเข้มข้นสูงโดยเทคนิคการควบคุมเมตาบอลิสม. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ทุนวิจัยหลังปริญญาเอก สกว.

สายชล ชิวปรีชา และ นภา โล่ห์ทอง. 2517. การใช้น้ำมะพร้าวเป็นอาหารเลี้ยงและเก็บเชื้อบักเตรีแลคติกที่ผลิตกรดแลคติกและกรดน้ำส้ม. รายงานการประชุมวิชาการเกษตรและชีววิทยา ครั้งที่ 13. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Anadon, A., M. R. Martinez-Larranaga, and M. A. Martinez. 2006. Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment. Regulatory toxicology and Pharmacology. (in press)

Antunes, A. E. C., T. F. Cazetto, and H. M. A. Bolini. 2005. Viability of probiotic micro-organism during storage, postacidification and sensory analysis of fat-free yogurts with added whey protein concentration. International Journal of Dairy Technology. 58(3): 169-173.

Bernardeau, M., M. Guguen, and J. P. Vernoux. 2006. Beneficial lactobacilli in food and feed: long-term use, biodiversity and proposals for specific and realistic safetyassessments. FEMS Microbiology Review. (in press)

Bezkorovainy, A. 2001. Probiotics: determinants of survival and growth in the gut. American Journal of Clinical Nutrition. 73 (suppl): 399s-405s.

Carvalho, A. S., J. Silva, P. Ho, P. Teixeira, F. X. Malcata, and P. Gibbs. 2004. Relevant factor for the preparation of freeze-dried lactic acid bacteria. International Dairy Journal. 14: 835-847.

Capela, P., T. K. C. Hay, and N. P. Shah. 2006. Effect of cryoprotectants, prebiotics and microencapsulation on survival of probiotic organisms in yoghurt and freeze-dried yoghurt. Food Research International. 39: 203-211.

Champagne, C. P. and N.T. Gardner. 2005. Challenges in the addition of probiotic cultures to foods. Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 45: 61-84.

Charalampopoulos, D., S. S. Pandiella, and C. Webb. 2002. Growth studies of potentially probiotic lactic acid bacteria in cereal-based substrates. Journal of Applied Microbiology. 92(5): 851-859.

Crittenden, R., A. R. Bird, P. Gopal, A. Henriksson, Y. K. Lee and M. J. Playne. 2005. Probiotic research in Australia, New Zealand and the Asia-Pacific region. Current Pharmaceutical Design. 11: 37-53.

Denli, M., F. Okan, and K. Celik. 2003. Effect of dietary probiotic, organic acid and antibiotic supplementation to diets on broiler performance and carcass yield. Pakistan Journal of Nutrition. 2(2): 89-91.

Desai, A. R., I. B. Powell, and N. P. Shah. 2004. Survival and Activity of probiotic Lactobacilli in skim milk containing prebiotics. Journal of Food Science. 69(3): 57-60.

De Smet, I., P. De Boever, and W. Verstraete. 1998. Cholesterol lowering in pigs through enhanced bacterial bile salt hydrolase activity. British Journal of Nutrition. 79: 185-194.

Dilworth, B.C. and E. J. Day. 1978. *Lactobacillus* cultures in broiler diets. Poultry Science. 57: 480-486.

Donkor, O. N., A. Henriksson, T. Vasiljavic, and N. P. Shah. 2006. Effect of acidification on the activity of probiotics in yogurt during cold storage. International Dairy Journal. (in press)

FAO/WHO. 2002. Guidelines for the evaluation of probiotics in food. Report of a joint FAO/WHO working group on drafting guidelines for the evaluation of probiotic in food, London, Ontario, Canada, April 30 and May 1, 2002.

Fuller, R. 1989. Probiotics in man and animals. Journal of Applied Bacteriology. 66: 365-378

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

Gilliland, S. E. 1990. Health and nutritional benefits from lactic acid bacteria. FEMS Microbiology Reviews. 7(1-2): 175-786.

Guerra, N. P., P. F. Bernadez, J. Mendez, P. Cachaldora, and L. P. Castro. 2006. Production of four potentially probiotic lactic acid bacteria and their evaluation as feed additives for weaned piglets.

Animal Feed Science and Technology. (in press)

Holzapfel, W. H., P. Haberer, J. Snel, U. Schillinger, and J. H, Huis in't Veld. 1998. Overview of gut flora and probiotics. International Journal of Food Microbiology. 41(2): 85-101.

Jin, L. Z., Y. W. Ho, N. Abdullah, and S. Jalaludin. 1998. Growth performance, intestinal microbial population, and serum cholesterol of broiler fed diets containing *Lactobacillus* cultures. Poultry Science 77: 1259-1265.

Kailasapathy, K., and J. Chin. 2000. Survial and therapeutic potential of probiotic organisms with reference to *Lactobacillus acidophilus* and *Bifidobacterium* spp. Immunology and Cell Biology. 78: 80-88.

Kalavathy, R., N. Abdullah, S. Jalajudin, and Y. W. Ho. 2003. Effects of *Lactobacillus* cultures on growth performance, abdominal fat deposition, serum lipids and weight of organs of broiler chickens. British Poultry Science. 44: 139-144.

Kos, B., J. Suskovic, J. Goreta, and S. Matosic. 2000. Effect of protectors on the viability of *Lactobacillus acidophilus* M 92 in simulated gastrointestinal conditions. Food Technology and Biotechnology. 38(2): 121-127.

Milanovic, N.T., A. Kodsic, J. Baras, and S. D. Brankovic. 2001. The influence of a cryoprotective medium containing glycerol on the lyophilization of lactic acid bacteria. Journal of Serb. Chemical Society. 66(7): 435-441.

Morelli, L. 2000. *In vitro* selection of probiotic lactobacilli: A critical appraisal. Current Issues Interesting of Microbiology. 1(2): 59-67.

Plumed-Ferrer, C., I. Kivela, P. Hyvonen, and A. von Wright. 2005. Survival, growth and persistence under farm conditions of a Lactobacillus Plantarum strain inoculated into liquid pig feed. Journal of Applied Microbiology. 99: 851-858.

Saarela, M., G. Mogensen, R. Fonden, J. Malto, and T. Maltila-Sandholm. 2000. Probiotic bacteria: safety, functional and technological properties. Journal of Biotechnology. 84: 197-215.

Saarela, M., I. Virkajarvi, H. L. Alakomi, P. S. Mattila, and J. Matto. 2006. Stability and functionality of freeze-dried probiotic *Bifidobacterium* cells during storage in juice and milk. Internatonal Dairy Journal. (in press)

Saarela, M., I. Virkajarvi, H. L. Alakomi, T. M. Sandholm, A. Vaari, T. Soumalainen, and J. Matto. 2005. Influence of fermentation time, cryoprotectant and neutralization of cell concentrate on freeze-drying survival, storage stability, and acid and bile exposure of *Bifidobacterium animalis* ssp. Lactis cells produced without milk-based ingredients. Journal of Applied Microbiology. 99: 1330-1339.

Saarela, M., M. Rantala, K. Hallamaa, L. Nohynec, and J. Verkajarvi. 2004. Stationary-phase acid and heat treatments for improvement of the viability of probiotic lactobacilli and bifidobacteria. Journal of Applied Microbiology. 96(6): 1205-1214.

Salminen, S., A. von Wright, L. Morelli, P. Marteau, D. Brassart, W.M. de Vos, R. Fonden, M. Saxelin, K. Collins, G. Mogensen, S.E. Birkeland, and T. Mattila-Sanholm. 1998. Demonstration of safety of probiotics-a review. International Journal of Food Microbiology. 44: 93-96.

Skrede, G., O. Herstad, S. Sahlstrom, A. Holck, E. Slinde, and A. Skrede 2003. Effects of lactic acid fermentation on wheat and barley carbohydrate composition and production performance in the chicken. Animal Feed Science and Technology. 105:135-148.

Tomas, S. M. J., V. S. Ocana, and M. E. Nader-Macias. 2004. Viability of vaginal probiotic lactobacilli during refrigerated and frozen storage. Anaerobe. 10: 1-5.

Yang, S.Y., K. S. Ji, Y. H. Baik, W. S. Kwak, and T.A. McCaskey. 2006. Lactic acid fermentation of food waste for swine feed. Bioresource Technology. 97(15): 1858-1864.