

บทที่ 4

ผลการศึกษา

การศึกษาคัดเลือกจุลินทรีย์ โดยศึกษาประสิทธิภาพในการย่อยสลายสารอาหาร คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ศึกษาการต่อต้านเชื้อก่อโรคในกุ้งกุลาดำ และความไวของเชื้อ ต่อยาต้านจุลชีพ ได้ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์เชื้อมาทดลองใช้เป็นโพรไบโอติก โดยเสริมลงใน อาหาร และในน้ำให้กับกุ้งกุลาดำอายุประมาณ 1 เดือน แล้วสุ่มเก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ค่าแอคติวิตี ของเอนไซม์ย่อยอาหาร เมื่อเลี้ยงครบ 90 วันทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคด้วย *Vibrio harveyi* ต่อไป อีก 10 วัน ผลการศึกษาวิจัยในแต่ละขั้นตอนมีดังนี้

การคัดเลือกจุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นโพรไบโอติก

การคัดเลือกจุลินทรีย์ เพื่อนำมาใช้เป็นโพรไบโอติกในการศึกษาทดลองครั้งนี้ ได้นำผล การทดลองของปฏินา ชัยพิริยะศักดิ์ (2546) ที่ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์จากผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก ในการย่อยสลายสารอาหาร และการต่อต้านเชื้อก่อโรคในกุ้งกุลาดำ และวุฒิสักดิ์ ศักดิ์สิทธิ์ (2546) ที่ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์จากลำไส้กุ้งกุลาดำเพื่อใช้เป็น โพรไบโอติกสำหรับกุ้งกุลาดำ พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ F1, F2, F3, F4, F5, F6, C1, C2, C3, C4, C5, C6 และ S2, S3, T0, T1, T2 และ T3 มี คุณสมบัติในการย่อยสลายสารอาหาร คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันได้ดี

1. ทดสอบการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน

เชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 18 เชื้อดังกล่าว ถูกนำมาทดสอบการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และ ไขมัน โดยพิจารณาสัดส่วนระหว่างเส้นผ่าศูนย์กลางของบริเวณใสรอบโคโลนีต่อ เส้นผ่าศูนย์กลางของหยดเชื้อเป็นเกณฑ์

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต ของจุลินทรีย์เดี่ยวทั้ง 18 เชื้อดังแสดงผลในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงประสิทธิภาพการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตของจุลินทรีย์เดี่ยว บน Starch Agar เมื่อหยดไอโอดีนแล้ว ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	ขนาดหยดเชื้อ โดยเฉลี่ย (ซม.)	ขนาดเคลียร์โซน โดยเฉลี่ย (ซม.)	ประสิทธิภาพการย่อยสลาย
F1	0.20 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00
F2	0.13 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00
F3	0.22 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.00
F4	1.40 ± 0.00	1.40 ± 0.00	1.00
F5	1.88 ± 0.03	1.87 ± 0.06	0.99
F6	2.20 ± 0.00	2.20 ± 0.00	1.00
C1	0.70 ± 0.00	0.88 ± 0.03	1.26
C2	2.18 ± 0.03	1.12 ± 0.03	0.51
C3	0.63 ± 0.03	0.62 ± 0.03	0.98
C4	0.92 ± 0.03	0.92 ± 0.03	1.00
C5	1.82 ± 0.03	1.80 ± 0.00	0.99
C6	0.43 ± 0.03	0.42 ± 0.03	0.98
S2	0.12 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.00
S3	0.42 ± 0.03	0.88 ± 0.03	2.10
T0	0.20 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00
T1	0.10 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00
T2	0.38 ± 0.03	0.38 ± 0.03	1.00
T3	0.17 ± 0.03	0.17 ± 0.03	1.00

Mean $\pm$ S.D. (N = 3)

พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตสูงสุด คือ S3 (2.10), C1 (1.26) และ F4, F6, C4, T2, T3 (1.00) ตามลำดับ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีน ของจุลินทรีย์เดี่ยวทั้ง 18 เชื้อ
ดังแสดงผลในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 แสดงประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนของจุลินทรีย์เดี่ยว บน Skim Milk Agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	ขนาดหยดเชื้อ โดยเฉลี่ย (ซม.)	ขนาดเคลียร์โซน โดยเฉลี่ย (ซม.)	ประสิทธิภาพการย่อยสลาย
F1	0.20 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00
F2	0.08 ± 0.03	0.32 ± 0.03	4.00
F3	0.28 ± 0.03	0.38 ± 0.03	1.36
F4	0.37 ± 0.03	1.58 ± 0.03	4.27
F5	0.32 ± 0.03	1.08 ± 0.03	3.38
F6	0.20 ± 0.00	1.42 ± 0.03	7.10
C1	0.18 ± 0.03	1.28 ± 0.03	7.11
C2	0.30 ± 0.00	1.60 ± 0.00	5.33
C3	0.28 ± 0.03	1.52 ± 0.03	5.43
C4	0.32 ± 0.03	1.58 ± 0.03	4.94
C5	0.23 ± 0.03	1.50 ± 0.00	6.52
C6	0.28 ± 0.03	1.48 ± 0.03	5.29
S2	0.12 ± 0.03	0.87 ± 0.03	7.25
S3	0.22 ± 0.03	1.58 ± 0.03	7.18
T0	0.10 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00
T1	0.10 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00
T2	0.23 ± 0.03	1.47 ± 0.03	6.39
T3	0.10 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00

Mean $\pm$ S.D. (N = 3)

พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนสูงที่สุดคือ S2 (7.25), S3 (7.18), C1 (7.11), F6 (7.10) ตามลำดับ

ผลการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมัน ของจุลินทรีย์เดี่ยวทั้ง 18 เชื้อ ดังแสดงผลในตารางที่ 4

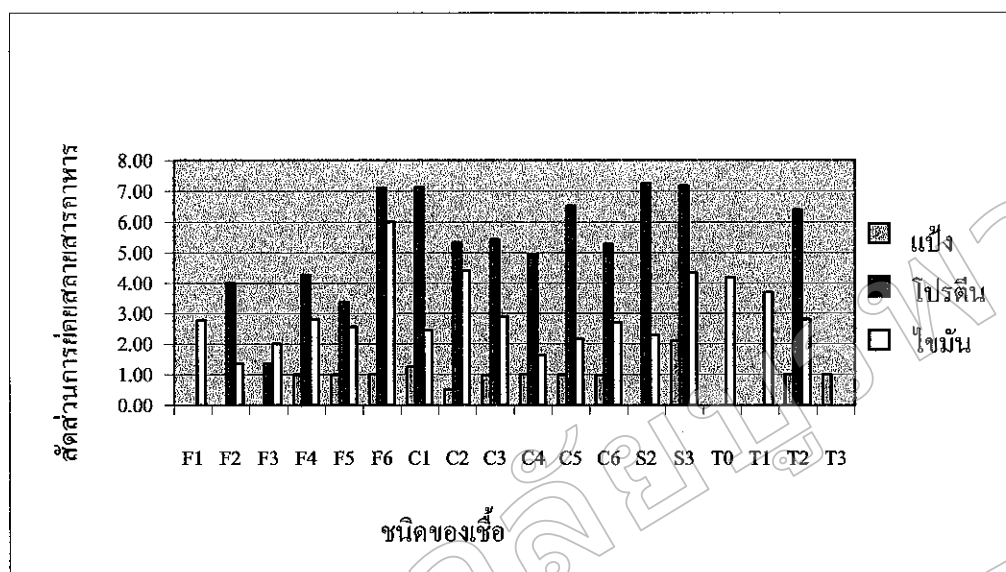
ตารางที่ 4 ทดสอบการย่อยไขมันของจุลินทรีย์เดี่ยว แสดงขนาดหยดเชื้อ และบริเวณใสที่เกิดขึ้นบน Tributyrin Agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	ขนาดหยดเชื้อ โดยเฉลี่ย (ชม.)	ขนาดเคลียร์โซน โดยเฉลี่ย (ชม.)	ประสิทธิภาพการย่อยสลาย
F1	0.18 ± 0.03	0.50 ± 0.00	2.78
F2	0.22 ± 0.03	0.30 ± 0.00	1.36
F3	0.20 ± 0.00	0.40 ± 0.00	2.00
F4	0.32 ± 0.03	0.90 ± 0.00	2.81
F5	0.43 ± 0.03	1.10 ± 0.00	2.56
F6	0.22 ± 0.03	1.32 ± 0.03	6.00
C1	0.53 ± 0.03	1.30 ± 0.00	2.45
C2	0.28 ± 0.03	1.23 ± 0.03	4.39
C3	0.38 ± 0.03	1.10 ± 0.00	2.89
C4	0.80 ± 0.00	1.30 ± 0.00	1.63
C5	0.60 ± 0.00	1.30 ± 0.00	2.17
C6	0.38 ± 0.03	1.03 ± 0.06	2.71
S2	0.10 ± 0.00	0.23 ± 0.03	2.30
S3	0.33 ± 0.06	1.43 ± 0.03	4.33
T0	0.22 ± 0.03	0.92 ± 0.03	4.18
T1	0.13 ± 0.03	0.48 ± 0.03	3.69
T2	0.35 ± 0.00	0.98 ± 0.03	2.80
T3	0.10 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00

Mean $\pm$ S.D. (N = 3)

พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันสูงที่สุด คือ F6 (6.00), C2 (4.39), S3 (4.33) และ T0 (4.18) ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบจุลินทรีย์เชื้อเดี่ยวที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนได้ดีที่สุดเป็นหลัก (เนื่องจาก กุ้งกุลาดำเป็นสัตว์ที่ต้องการสารอาหารประเภทโปรตีนสูง (ลิลา เรืองแป้น, 2542ค) ดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพที่ 1 แสดงประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอาหารคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันของ จุลินทรีย์เดี่ยวจากผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก และจากถั่วเหลืองกุดคำ

ประกอบกับความสามารถในการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตและไขมันได้ดีจึงทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด 7 เชื้อ คือ F6, C1, C2, C5, S2, S3 และ T2 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์กลุ่ม *Bacillus* และ *Micrococcus* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ไม่ก่อโรค แล้วนำเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 7 เชื้อไปทดสอบความไวของเชื้อต่อยาต้านจุลชีพ โดยใช้ยาต้านจุลชีพที่มัก ถูกคัดเลือกใช้เป็นอันดับแรก First Choice (คณะแพทยศาสตร์ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล, 2537 และ คณะทำงานจัดทำคู่มือการใช้ยาต้านจุลชีพ, 2539) จำนวน 3 ชนิด คือเพนนิซิลินจี 10 ยูนิต เป็นยาในกลุ่มเบตาแลคแตม ออกฤทธิ์ฆ่าทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Bactericidal) (มาลิน จุลศิริ, 2540) ซึ่งถูกเลือกใช้เป็น Drug of Choice ของแบคทีเรียกลุ่มแกรมบวกรูปกลม และยาต้านจุลชีพที่แบคทีเรียกลุ่มที่จะนำไปพัฒนาเป็นโพรไบโอติกไม่ควรจะมีการดื้อคือแวนโคมัยซิน 30 ไมโครกรัม เป็นยาในกลุ่ม Aminoglycosides ออกฤทธิ์ฆ่าทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Bactericidal) (มาลิน จุลศิริ, 2540) รวมทั้ง Drug of Choice ของแบคทีเรียกลุ่ม *Bacillus* คือแวนโคมัยซิน 30 ไมโครกรัม และเจนตามัยซิน 10 ไมโครกรัม เป็นยาในกลุ่ม Glycopeptides ออกฤทธิ์ฆ่าทำลายเชื้อแบคทีเรีย (Bactericidal) (มาลิน จุลศิริ, 2540) ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 แสดงขนาดของเส้นผ่าศูนย์กลางของส่วนใสที่ไม่มีโคโลนีของเชื้อเกิดขึ้น (Zone of Inhibition) เมื่อทดสอบกับยาต้านเชื้อจุลชีพ

รหัสเชื้อ	เคลียร์โซนเจนตามัยซิน	เคลียร์โซน	เคลียร์โซน
	เฉลี่ย (ซ.ม.)	แวน โคมัยซินเฉลี่ย (ซ.ม.)	เพนนิซิลิน จี เฉลี่ย (ซ.ม.)
C1	2.18 ± 0.03	2.22 ± 0.03	2.92 ± 0.03
C2	2.25 ± 0.05	2.23 ± 0.06	2.43 ± 0.15
C5	2.20 ± 0.10	2.20 ± 0.10	3.12 ± 0.03
F6	2.25 ± 0.05	2.17 ± 0.06	2.92 ± 0.03
S2	1.77 ± 0.06	1.73 ± 0.06	2.17 ± 0.06
S3	1.82 ± 0.03	2.05 ± 0.09	2.47 ± 0.03
T2	2.17 ± 0.06	1.87 ± 0.06	2.02 ± 0.10
Mean $\pm$ S.D. (N=3)			

นำค่าที่ได้ไปเทียบกับตารางมาตรฐานสำหรับแปลผลความไวของเชื้อต่อยาชนิดต่าง ๆ จากขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง (ภาคผนวก ง)

พบว่า จุลินทรีย์ที่ทำการคัดเลือกทุกเชื้อมีความไวต่อยาต้านจุลชีพ ซึ่งสามารถถูกทำลายได้ด้วยยาต้านจุลชีพทั้ง 3 ชนิด

หลังจากนั้นจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตแบบเชื้อคู่ โดยนำจุลินทรีย์ทั้ง 7 เชื้อ มาทำการจับคู่แบบต่างสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 6

ตารางที่ 6 แสดงประสิทธิภาพการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตของจุลินทรีย์คู่ บน Starch Agar เมื่อหยดไอโอดีนแล้ว ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	ขนาดหยดเชื้อ โดยเฉลี่ย (ซ.ม.)	ขนาดเคลียร์โซน โดยเฉลี่ย (ซ.ม.)	ประสิทธิภาพ การย่อยสลาย
C1_C2	1.43 ± 0.12	1.63 ± 0.06	1.14
C1_S2	1.03 ± 0.06	1.43 ± 0.06	1.39
C1_S3	1.40 ± 0.10	1.60 ± 0.00	1.14
C1_T2	0.90 ± 0.10	1.17 ± 0.15	1.30
C5_C2	1.30 ± 0.00	1.50 ± 0.00	1.15
C5_S2	1.00 ± 0.00	1.20 ± 0.00	1.20
C5_S3	1.43 ± 0.12	1.63 ± 0.12	1.14
C5_T2	1.13 ± 0.06	1.33 ± 0.06	1.18
F6_C2	1.17 ± 0.12	1.47 ± 0.21	1.26
F6_S2	1.00 ± 0.00	1.50 ± 0.00	1.50
F6_S3	1.33 ± 0.15	1.43 ± 0.06	1.08
F6_T2	1.40 ± 0.17	1.53 ± 0.23	1.10
S2_C2	1.27 ± 0.06	1.47 ± 0.06	1.16
S2_S3	1.13 ± 0.12	1.57 ± 0.06	1.38
T2_C2	1.27 ± 0.06	1.50 ± 0.00	1.18
T2_S3	1.13 ± 0.06	1.50 ± 0.00	1.32

Mean ± S.D. (N = 3)

ผลการทดสอบการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตแบบจุลินทรีย์เชื้อคู่ พบว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอาหารคาร์โบไฮเดรตสูงที่สุดคือ F6_S2 (1.50), C1_S2 (1.39) และ S2_S3 (1.38) ตามลำดับ

หลังจากนั้นจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายโปรตีนแบบเชื้อคู่ โดยนำจุลินทรีย์ทั้ง 7 เชื้อ มาทำการจับคู่แบบต่างสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 7

ตารางที่ 7 แสดงประสิทธิภาพการย่อยสลายโปรตีนของจุลินทรีย์เชื้อ แสดงขนาดหยดเชื้อ และบริเวณใสที่เกิดขึ้นบน Skim Milk Agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	ขนาดหยดเชื้อ โดยเฉลี่ย (ซ.ม.)	ขนาดเคลียร์โซน โดยเฉลี่ย (ซ.ม.)	ประสิทธิภาพ การย่อยสลาย
C1_C2	0.90 ± 0.00	2.10 ± 0.00	2.33
C1_S2	0.67 ± 0.15	1.67 ± 0.15	2.50
C1_S3	0.78 ± 0.10	1.97 ± 0.21	2.51
C1_T2	0.75 ± 0.22	1.70 ± 0.26	2.27
C5_C2	0.57 ± 0.12	1.53 ± 0.03	2.71
C5_S2	0.60 ± 0.00	1.57 ± 0.06	2.61
C5_S3	0.73 ± 0.06	2.20 ± 0.20	3.00
C5_T2	0.73 ± 0.06	1.67 ± 0.06	2.27
F6_C2	0.77 ± 0.06	2.13 ± 0.12	2.78
F6_S2	0.70 ± 0.10	2.17 ± 0.15	3.10
F6_S3	0.83 ± 0.06	2.43 ± 0.06	2.92
F6_T2	0.63 ± 0.06	2.02 ± 0.08	3.18
S2_C2	0.85 ± 0.05	2.10 ± 0.10	2.47
S2_S3	0.65 ± 0.05	2.30 ± 0.10	3.54
T2_C2	0.77 ± 0.12	2.07 ± 0.12	2.70
T2_S3	0.62 ± 0.08	2.30 ± 0.10	3.73

Mean $\pm$ S.D. (N = 3)

ผลการทดสอบการย่อยสลายโปรตีนแบบจุลินทรีย์เชื้อ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์เชื้อที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอาหารโปรตีนสูงที่สุดคือ T2_S3 (3.73), S3_S3 (3.54) และ F6_T2 (3.18) ตามลำดับ

หลังจากนั้นจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายไขมันแบบเชื้อ โดยนำจุลินทรีย์ทั้ง 7 เชื้อ มาทำการจับคู่แบบต่างสายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 8

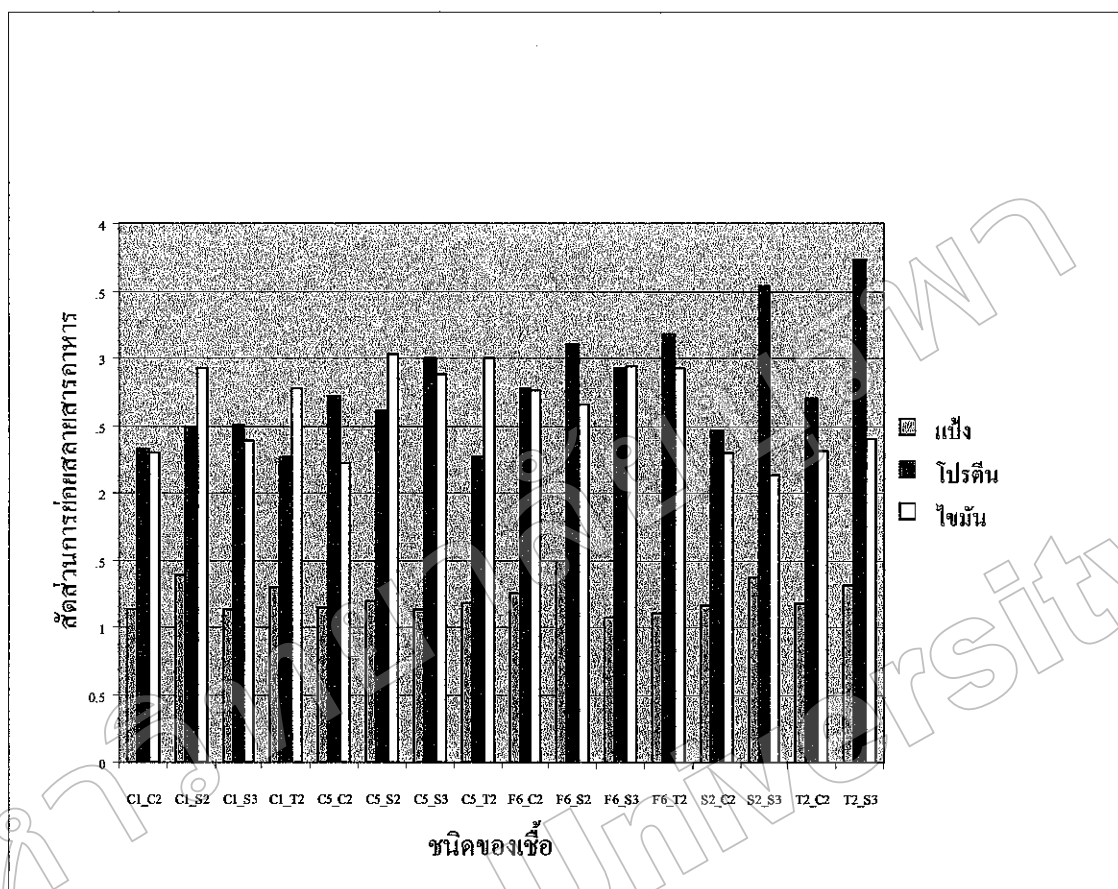
ตารางที่ 8 แสดงประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันของจุลินทรีย์คู่ บน Tributyrin Agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

รหัสเชื้อ	ขนาดหยดเชื้อ โดยเฉลี่ย (ซ.ม.)	ขนาดเกลียวโชน โดยเฉลี่ย (ซ.ม.)	ประสิทธิภาพ การย่อยสลาย
C1_C2	0.67 ± 0.15	1.53 ± 0.12	2.30
C1_S2	0.50 ± 0.10	1.47 ± 0.06	2.93
C1_S3	0.63 ± 0.06	1.52 ± 0.13	2.39
C1_T2	0.50 ± 0.00	1.38 ± 0.03	2.77
C5_C2	0.77 ± 0.06	1.70 ± 0.10	2.22
C5_S2	0.48 ± 0.03	1.47 ± 0.06	3.03
C5_S3	0.53 ± 0.06	1.53 ± 0.06	2.88
C5_T2	0.53 ± 0.06	1.60 ± 0.10	3.00
F6_C2	0.57 ± 0.06	1.57 ± 0.06	2.76
F6_S2	0.58 ± 0.14	1.55 ± 0.13	2.66
F6_S3	0.52 ± 0.03	1.52 ± 0.03	2.94
F6_T2	0.50 ± 0.00	1.47 ± 0.06	2.93
S2_C2	0.67 ± 0.06	1.53 ± 0.03	2.30
S2_S3	0.80 ± 0.10	1.70 ± 0.10	2.13
T2_C2	0.73 ± 0.06	1.70 ± 0.00	2.32
T2_S3	0.73 ± 0.06	1.77 ± 0.06	2.41

Mean $\pm$ SD. (N = 3)

ผลการทดสอบการย่อยสลายไขมันแบบจุลินทรีย์เชื้อคู่ พบว่า เชื้อจุลินทรีย์คู่ที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายไขมันสูงที่สุดคือ C5_S2 (3.03), C5_T2 (3.00) และ F6_S3 (2.94) ตามลำดับ

เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบจุลินทรีย์เชื้อคู่ที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ดังแสดงในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แสดงประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอาหารคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันของ จุลินทรีย์คู่จากผลิตภัณฑ์โพรไบโอติก และจากลำไส้กึ่งอุตสาหกรรม

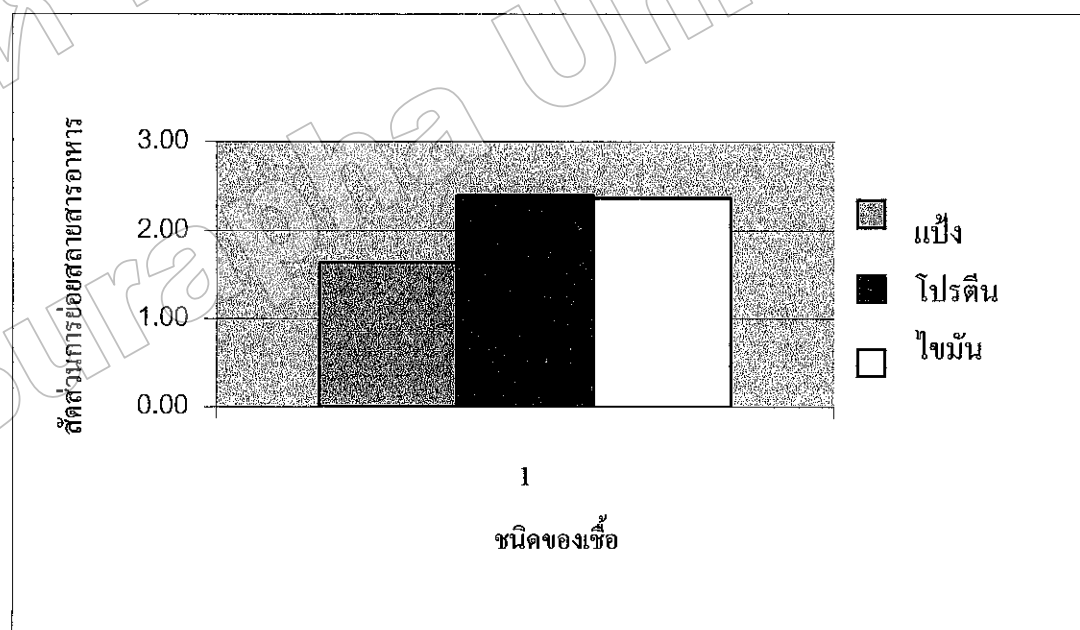
พบว่า จุลินทรีย์คู่ที่มีประสิทธิภาพการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน ได้ดี เป็นอันดับแรก ๆ คือ T2_S3, S2_S3, F6_T2, F6_S2, C5_S3, F6_S3 และ F6_C2 ตามลำดับ แล้วหลังจากนั้นจึงทำการทดสอบประสิทธิภาพในการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมันแบบเชื้อรวม โดยนำจุลินทรีย์ทั้ง 7 เชื้อ มาผสมรวมกัน ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 แสดงประสิทธิภาพการย่อยคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันของเชื้อจุลินทรีย์รวมบน Starch Agar เมื่อหยดไอโอดีนแล้ว Skim Milk Agar และ Tributyrin Agar ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

เชื้อรวม	ขนาดหยดเชื้อ โดยเฉลี่ย (ซ.ม.)	ขนาดเคลียร์โซน โดยเฉลี่ย (ซ.ม.)	ประสิทธิภาพ การย่อยสลาย
คาร์โบไฮเดรต	1.03 ± 0.07	1.69 ± 0.25	1.64
โปรตีน	1.21 ± 0.12	2.90 ± 0.22	2.40
ไขมัน	1.13 ± 0.13	2.67 ± 0.20	2.36

Mean $\pm$ S.D. (N = 3)

และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันของจุลินทรีย์รวมดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 แสดงประสิทธิภาพการย่อยสลายสารอาหารคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันของจุลินทรีย์รวมจากผลิตภัณฑ์โปรไบโอติก และจากลำไส้กึ่งอุตสาหกรรม

พบว่า สัดส่วนการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน เป็น 1.64, 2.40 และ 2.36 ตามลำดับ

2. ทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรค *V. harveyi*

นำเชื้อจุลินทรีย์แบบเชื้อเดี่ยว เชื้อคู่ และเชื้อรวม มาทดสอบการยับยั้งเชื้อก่อโรค *V. harveyi* ในอาหาร Nutrient Agar ที่มี 3% NaCl บนจานเพาะเลี้ยงเชื้อ โดยพิจารณาจากสัดส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณใสรอบโคโลนีต่อเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี ดังแสดงในตารางที่ 10

พบว่า จุลินทรีย์คู่เท่านั้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ โดยจุลินทรีย์คู่ที่มีความสามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ดีที่สุด คือ F6_S2 รองลงมาคือ T2_C2, S2_S3, F6_S3, C5_C2, C5_S3, T2_S3, F6_C2 และ S2_C2 ตามลำดับ

ตารางที่ 10 แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคนบนอาหาร NA ที่มี 3% NaCl ที่ทำการเกลี่ย

Vibrio harveyi จนทั่วที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

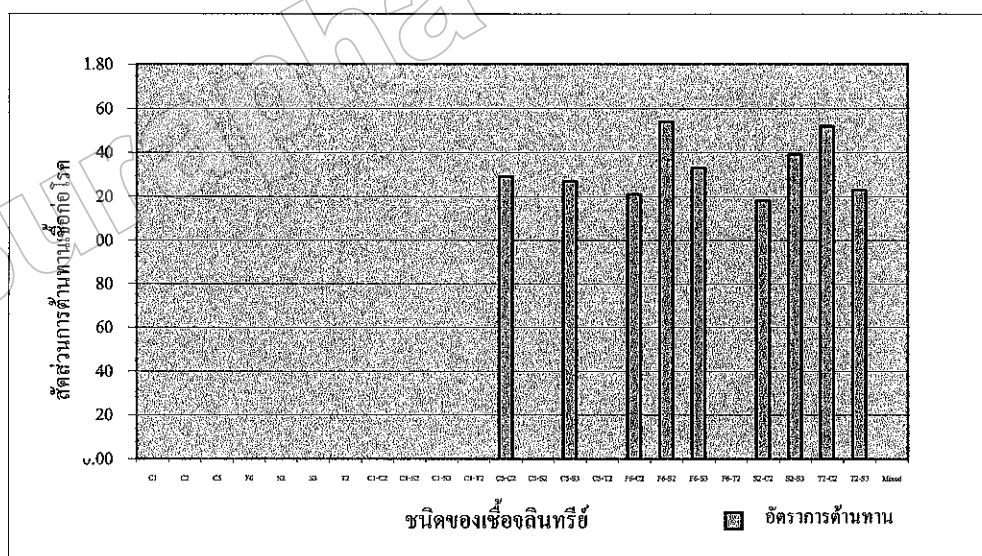
รหัสชื่อ	ขนาดหยดเชื้อ โดยเฉลี่ย(ซ.ม.)	ขนาดเกลี่ยโรโซน โดยเฉลี่ย(ซ.ม.)	ประสิทธิภาพ การยับยั้งเชื้อก่อโรค
C1	1.32 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.00
C2	1.48 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.00
C5	2.25 ± 0.05	0.00 ± 0.00	0.00
F6	2.20 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00
S2	0.92 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.00
S3	2.10 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00
T2	1.17 ± 0.08	0.00 ± 0.00	0.00
C1_C2	1.15 ± 0.09	0.00 ± 0.00	0.00
C1_S2	1.20 ± 0.05	0.00 ± 0.00	0.00
C1_S3	1.12 ± 0.03	0.00 ± 0.00	0.00
C1_T2	1.25 ± 0.05	0.00 ± 0.00	0.00
C5_C2	1.13 ± 0.06	1.47 ± 0.12	1.29
C5_S2	1.70 ± 0.10	0.00 ± 0.00	0.00
C5_S3	1.00 ± 0.00	1.27 ± 0.03	1.27
C5_T2	1.70 ± 0.10	0.00 ± 0.00	0.00

ตารางที่ 10 (ต่อ)

รหัสเชื้อ	ขนาดหยดเชื้อ โดยเฉลี่ย(ซ.ม.)	ขนาดเคลียร์โซน โดยเฉลี่ย(ซ.ม.)	ประสิทธิภาพ การยับยั้งเชื้อก่อโรค
F6_C2	1.13 ± 0.06	1.37 ± 0.12	1.21
F6_S2	0.93 ± 0.12	1.43 ± 0.21	1.54
F6_S3	1.15 ± 0.05	1.53 ± 0.06	1.33
F6_T2	1.12 ± 0.10	0.00 ± 0.00	0.00
S2_C2	1.10 ± 0.00	1.30 ± 0.00	1.18
S2_S3	1.12 ± 0.07	1.48 ± 0.06	1.39
T2_C2	1.03 ± 0.12	1.70 ± 0.10	1.52
T2_S3	1.25 ± 0.03	1.27 ± 0.06	1.23
Mixed	1.25 ± 0.05	0.00 ± 0.00	0.00

Mean ± S.D. (N = 3)

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการต้านทานเชื้อก่อโรคของจุลินทรีย์แบบเชื้อเดี่ยวเชื้อคู่ และเชื้อรวม ดังแสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 แสดงประสิทธิภาพการยับยั้งเชื้อก่อโรคของเชื้อจุลินทรีย์เดี่ยว เชื้อจุลินทรีย์คู่ และเชื้อจุลินทรีย์รวม

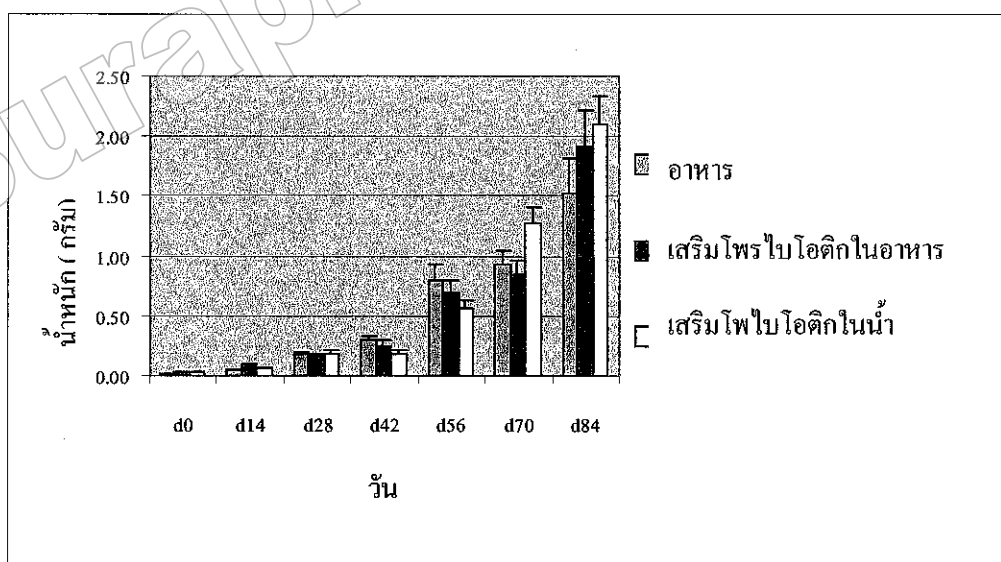
พบว่า จุลินทรีย์เดี่ยว และจุลินทรีย์รวม ไม่มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรค *V. harveyi* เลย แต่จุลินทรีย์คู่บางคู่สามารถยับยั้งเชื้อก่อโรคได้ โดยพบว่า เชื้อคู่ F6_S2 มีความสามารถในการยับยั้งเชื้อก่อโรคได้สูงที่สุด มีสัดส่วนเป็น 1.54 รองลงมา คือ T2_C2 (1.52) และ S2_S3 (1.39) ตามลำดับ

และเมื่อทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน พบว่า จุลินทรีย์เดี่ยวมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมันได้สูงที่สุด จุลินทรีย์คู่มีประสิทธิภาพรองลงมา และจุลินทรีย์รวมมีประสิทธิภาพต่ำที่สุด ประกอบกับความสามารถในการต้านทานต่อเชื้อก่อโรค พบว่าจุลินทรีย์เดี่ยว และจุลินทรีย์รวมไม่มีความสามารถในการต้านทานเชื้อก่อโรค ในขณะที่จุลินทรีย์คู่บางคู่มีความสามารถในการต้านทานเชื้อก่อโรคได้ดี จึงคัดเลือกจุลินทรีย์คู่ F6_S2 เพื่อใช้เป็นโพรไบโอติกในการเลี้ยงกุ้งกุลาดำในการทดลองขั้นต่อไป

ผลของโพรไบโอติกต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดของกุ้งกุลาดำ

1. การเจริญเติบโต

เปรียบเทียบการเจริญเติบโตในภาพรวม ของกุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก (T1) กุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกในอาหาร (T2) และกุ้งกุลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกในน้ำ (T3) โดยการชั่งน้ำหนักของกุ้งกุลาดำในวันที่ 0, 14, 28, 42, 56, 70 และ 84 แสดงผลตามภาพที่ 5



ภาพที่ 5 แสดงน้ำหนักของกุ้งกุลาดำตามระยะเวลาในการทดลองต่าง ๆ ที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

พบว่า วันที่ 84 กุ้งกุลาดำมี น้ำหนักเฉลี่ยสูงที่สุด 1.84 และวันที่ 70 กุ้งกุลาดำมีน้ำหนักเฉลี่ย รองลงมา 1.01 กรัม วันที่ 56, 42, 28 และ 14 กุ้งกุลาดำมี น้ำหนักเฉลี่ย 0.68 กรัม 0.24 กรัม 0.18 กรัม และ 0.07 กรัม ตามลำดับ และการเจริญเติบโตทางด้านน้ำหนักของกุ้งกุลาดำไม่มีความสัมพันธ์กับการได้รับการเสริมโปรไบโอติก

แต่เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบน้ำหนักของกุ้งกุลาดำในแต่ละวันตลอดการทดลอง ระหว่าง กุ้งกุลาดำที่ไม่ได้ รับโปรไบโอติก กุ้งกุลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหาร และ กุ้งกุลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำ ดังแสดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 แสดงการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำตามน้ำหนัก (กรัม) ตามระยะเวลาในการทดลอง ต่าง ๆ ที่ทรีทเมนต์ต่างกันต่างกัน

วัน	กุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับ โปรไบโอติก (กรัม)	กุ้งกุลาดำที่ได้รับ โปรไบโอติก ในอาหาร (กรัม)	กุ้งกุลาดำที่ได้รับ โปรไบโอติก ในน้ำ (กรัม)
0	0.008 ± 0.001^{a1}	0.036 ± 0.001^{c1}	0.027 ± 0.001^{b1}
14	0.050 ± 0.006^{a1}	0.096 ± 0.011^{b1}	0.062 ± 0.013^{a1}
28	0.179 ± 0.024^{a1}	0.167 ± 0.019^{a1}	0.182 ± 0.036^{a1}
42	0.291 ± 0.045^{a1}	0.256 ± 0.040^{a1}	0.181 ± 0.027^{a1}
56	0.800 ± 0.129^{a2}	0.694 ± 0.097^{a2}	0.569 ± 0.054^{a2}
70	0.922 ± 0.128^{a2}	0.839 ± 0.114^{a2}	1.274 ± 0.140^{a3}
84	1.530 ± 0.283^{a3}	1.918 ± 0.296^{a3}	2.098 ± 0.231^{a4}

Mean $\pm$ S.E. (N = 3)

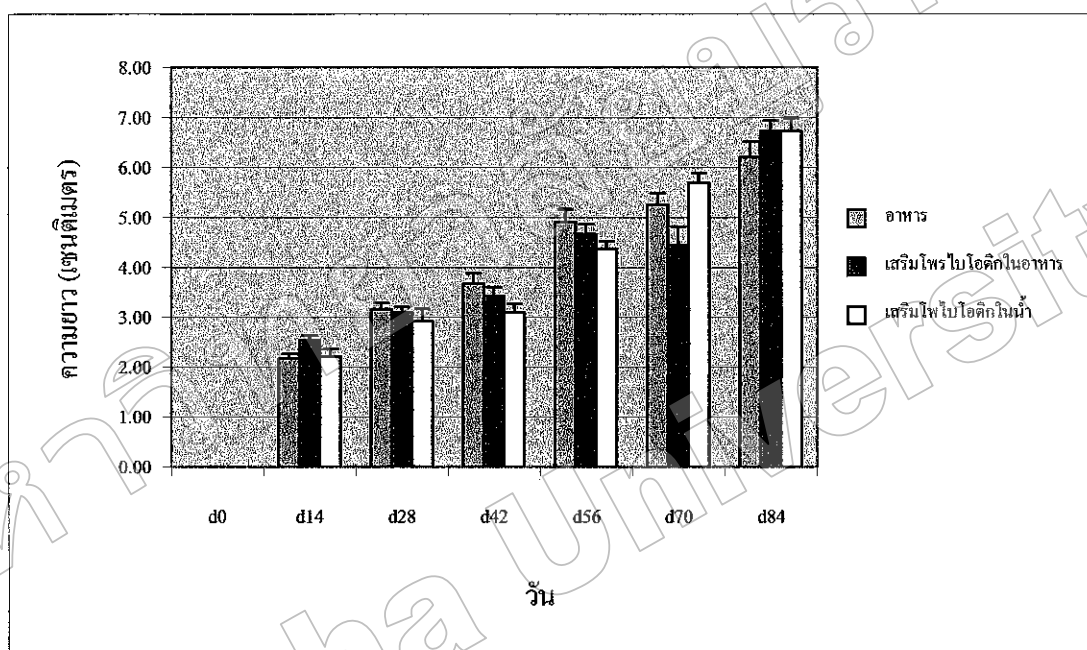
หมายเหตุ: - ตัวเลขที่ต่างกันในแต่ละแถว คือ ระยะเวลาที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

- ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์คือทรีทเมนต์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

พบว่า ในระยะเวลาการทดลองตลอด 84 วัน การเจริญเติบโตทางด้านน้ำหนักของ กุ้งกุลาดำจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเฉพาะในวันที่ 14 เท่านั้น โดยกุ้งกุลาดำที่ได้รับ

โพธิ์ใบโอดิกในอาหารมีน้ำหนักมากกว่ากึ่งกลาดำที่ได้รับโพธิ์ใบโอดิกในน้ำ และกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับการเสริมโพธิ์ใบโอดิก สำหรับวันอื่น ๆ ไม่พบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์

เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโตในภาพรวม ของกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับโพธิ์ใบโอดิก (T1) กึ่งกลาดำที่ได้รับโพธิ์ใบโอดิกในอาหาร (T2) และกึ่งกลาดำที่ได้รับโพธิ์ใบโอดิกในน้ำ (T3) โดยการวัดความยาวของกึ่งกลาดำในวันที่ 0, 14, 28, 42, 56, 70 และ 84 แสดงผลตามภาพที่ 6



ภาพที่ 6 แสดงความยาวของกึ่งกลาดำ ตามระยะเวลาในการทดลองต่าง ๆ ที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

พบว่า วันที่ 84 กึ่งกลาดำมีความยาวเฉลี่ยสูงสุด 6.56 ซม. วันที่ 70 กึ่งกลาดำ มีความยาวเฉลี่ยรองลงมา 5.13 ซม. วันที่ 56, 42, 28, และ 14 กึ่งกลาดำมี ความยาวเฉลี่ย 4.65 ซม., 3.40 ซม., 3.06 ซม. และ 2.31 ซม.ตามลำดับ และการเจริญเติบโตทางความยาวของกึ่งกลาดำไม่มีความสัมพันธ์กับ การได้รับการเสริม โพธิ์ใบโอดิก

แต่เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบความยาวของกึ่งกลาดำในแต่ละวันตลอดการทดลอง ระหว่างกึ่งกลาดำที่ ไม่ได้รับโพธิ์ใบโอดิก กึ่งกลาดำที่ได้รับโพธิ์ใบโอดิกในอาหาร และ กึ่งกลาดำที่ได้รับโพธิ์ใบโอดิกในน้ำ ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 12 แสดงการเจริญเติบโตของกุ้งกุลาดำตามความยาว (เซนติเมตร) ตามระยะเวลาในการทดลองที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

วัน	กุ้งกุลาดำที่ไม่ได้ รับ โปรไบโอติก (ชม.)	กุ้งกุลาดำที่ได้รับ โปรไบโอติก ในอาหาร (ชม.)	กุ้งกุลาดำที่ได้รับ โปรไบโอติก ในน้ำ (ชม.)
0	0.000 ± 0.000^{a1}	0.000 ± 0.000^{a1}	0.000 ± 0.000^{a1}
14	2.167 ± 0.103^{a2}	2.544 ± 0.099^{a2}	2.211 ± 0.159^{a2}
28	3.156 ± 0.126^{a3}	3.089 ± 0.122^{a23}	2.922 ± 0.249^{a3}
42	3.678 ± 0.202^{a3}	3.433 ± 0.183^{a3}	3.100 ± 0.167^{a3}
56	4.911 ± 0.257^{a4}	4.667 ± 0.203^{a4}	4.378 ± 0.146^{a4}
70	5.256 ± 0.226^{a4}	4.444 ± 0.382^{a4}	5.700 ± 0.194^{b5}
84	6.211 ± 0.313^{a5}	6.733 ± 0.209^{a5}	6.744 ± 0.250^{a6}

Mean $\pm$ S.E. (N = 3)

หมายเหตุ: - ตัวเลขที่ต่างกันในแนวตั้งคือระยะเวลาที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

- ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนคือทรีทเมนต์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

พบว่า ในระยะเวลาการทดลองตลอด 84 วัน การเจริญเติบโตทางด้านความยาวของกุ้งกุลาดำจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในวันที่ 70 เท่านั้น โดยกุ้งกุลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำมีความยาวมากกว่ากุ้งกุลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหาร และกุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับการเสริมโปรไบโอติก สำหรับวันอื่น ๆ ไม่พบความแตกต่างระหว่างทรีทเมนต์

2. อัตรารอดและความต้านทานต่อเชื้อก่อโรคของกุ้งกุลาดำ

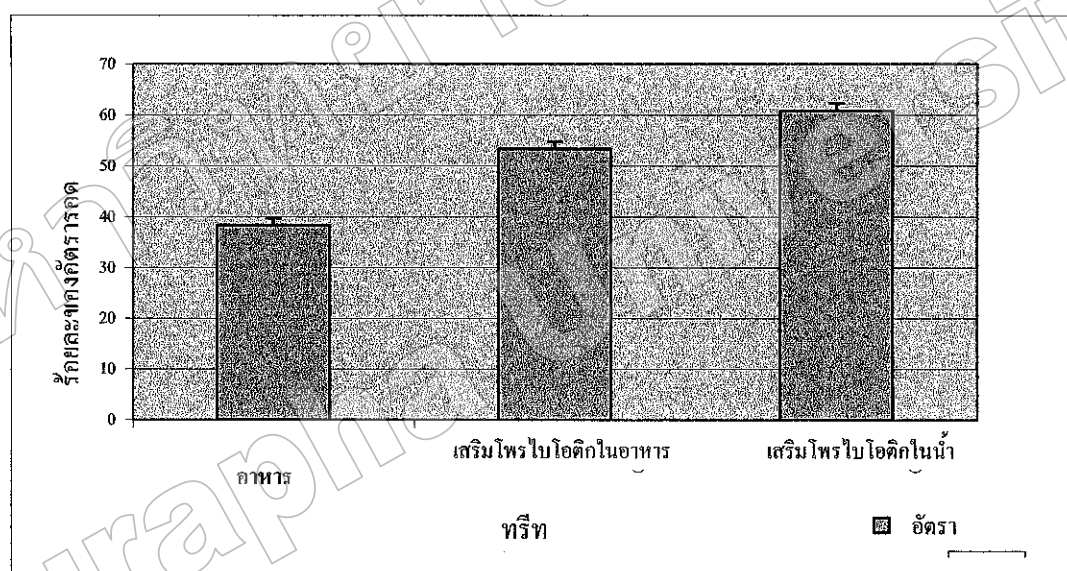
การศึกษาอัตราการรอดตายของกุ้งกุลาดำหลังจากทำการเลี้ยงครบ 90 วัน แล้วทำการเหนี่ยวนำให้เกิดโรคเรืองแสงด้วยเชื้อ *Vibrio harveyi* ต่อไปอีกเป็นเวลา 10 วัน ดังแสดงในตารางที่ 13 และภาพที่ 7

ตารางที่ 13 แสดงอัตราการรอดตายของกิ้งกูดำที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

ทรีทเมนต์	อัตราการรอดของกิ้งกูดำร้อยละ
อาหาร	38.33 ± 1.44^a
เสริมโพรไบโอติกในอาหาร	53.33 ± 1.44^b
เสริมโพรไบโอติกในน้ำ	60.83 ± 1.44^c

Mean $\pm$ S.E. (N = 3)

หมายเหตุ: - ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งคือทรีทเมนต์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p < 0.05$)



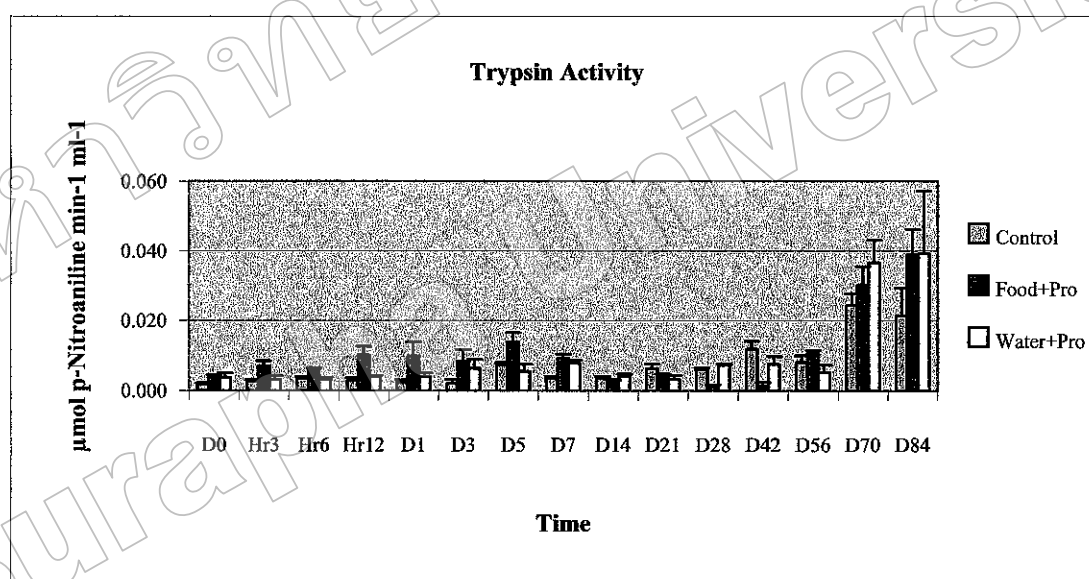
ภาพที่ 7 แสดงอัตราการรอดของกิ้งกูดำที่ทรีทเมนต์ต่างกันหลังจากเหนี่ยวนำให้เกิดโรค

พบว่า การเสริมโพรไบโอติกมีผลต่ออัตราการรอดตายของกิ้งกูดำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยกิ้งกูดำที่ได้รับโพรไบโอติกในน้ำมีอัตราการรอดตายสูงที่สุด คิดเป็นร้อยละ 60.83 กิ้งกูดำที่ได้รับโพรไบโอติกในอาหารมีอัตราการรอดตายรองลงมาคิดเป็นร้อยละ 50.33 และกิ้งกูดำที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก มีอัตราการรอดต่ำที่สุดคิดเป็นร้อยละ 38.33

การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินและไคโมทริปซิน

1. แอคติวิตีของทริปซินในกึ่งกลาดำ

ทำการศึกษาค่าแอคติวิตีของทริปซินในกึ่งกลาดำ ระหว่างกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับ โปรไบโอติก กึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหาร และกึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำ โดยวัดค่าแอคติวิตีของทริปซินในกึ่งกลาดำก่อนการทดลอง (วันที่ 0) และสุ่มเก็บตัวอย่างกึ่งกลาดำ หลังจากเริ่มให้อาหารมื้อแรกในช่วงเวลาที่ 3, 6 และ 12 ชั่วโมง ที่ 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 70 และ 80 โดยศึกษาการเกิดปฏิกิริยาระหว่างทริปซินกับสเตรด (1.25 mM Benzoyl-L-Arginine-p-Nitroanilide) ละลายใน 0.2 M Tris-HCl Buffer pH 8.4) และเอนไซม์ที่สกัดจากกึ่งกลาดำที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วพิจารณาอัตราการผลิตของ p-Nitroaniline ที่ค่าการดูดกลืนแสง 410 นาโนเมตร ต่อนาที ดังแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 8 แสดงแอคติวิตีของทริปซิน ($\mu\text{mol p-Nitroaniline min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$) ตามระยะเวลาในการทดลองของกึ่งกลาดำที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

พบว่า แอคติวิตีของทริปซินของกึ่งกลาดำโดยรวมมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 84 และวันที่ 70 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่า การเสริมโปรไบโอติกในอาหารทำให้ค่าแอคติวิตีของทริปซินในกึ่งกลาดำมีค่าสูงที่สุด รองลงมา คือ กึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำ และ

กุ้งกุลาดำที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกมีค่าแอกติวิตีของทริปซินต่ำที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

แต่เมื่อพิจารณาผลของการเสริมโปรไบโอติกในกุ้งกุลาดำต่อค่าแอกติวิตีของทริปซินในแต่ละช่วงเวลาตลอดการทดลอง ดังแสดงผลในตารางที่ 14

ตารางที่ 14 แอกติวิตีของทริปซิน ($\mu\text{mol p-Nitroaniline min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$) ของกุ้งกุลาดำตามระยะเวลาในการทดลองที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

กุ้งกุลาดำ	อาหาร	เติมโปรไบโอติก ในอาหาร	เติมโปรไบโอติกในน้ำ
วันที่ 0	0.0017 ± 0.0005^{a1}	0.0038 ± 0.0007^{a1}	0.0038 ± 0.0013^{a1}
ชม. ที่ 3	0.0026 ± 0.0005^{a1}	0.0070 ± 0.0015^{a1}	0.0032 ± 0.0010^{a1}
ชม. ที่ 6	0.0035 ± 0.0005^{a1}	0.0061 ± 0.0005^{b12}	0.0032 ± 0.0006^{a1}
ชม. ที่ 12	0.0029 ± 0.0007^{a1}	0.0102 ± 0.0025^{b12}	0.0041 ± 0.0003^{a1}
วันที่ 1	0.0023 ± 0.0007^{a1}	0.0098 ± 0.0040^{a12}	0.0041 ± 0.0010^{a1}
วันที่ 3	0.0020 ± 0.0011^{a1}	0.0084 ± 0.0033^{a12}	0.0064 ± 0.0025^{a1}
วันที่ 5	0.0073 ± 0.0008^{a12}	0.0139 ± 0.0026^{a2}	0.0055 ± 0.0020^{a1}
วันที่ 7	0.0035 ± 0.0005^{a2}	0.0093 ± 0.0011^{b12}	0.0079 ± 0.0009^{b1}
วันที่ 14	0.0035 ± 0.0005^{a1}	0.0026 ± 0.0005^{a1}	0.0041 ± 0.0007^{a1}
วันที่ 21	0.0064 ± 0.0012^{a12}	0.0041 ± 0.0007^{a1}	0.0032 ± 0.0012^{a1}
วันที่ 28	0.0061 ± 0.0005^{b12}	0.0014 ± 0.0003^{a1}	0.0073 ± 0.0003^{b1}
วันที่ 42	0.0119 ± 0.0023^{b2}	0.0014 ± 0.0010^{a1}	0.0075 ± 0.0023^{ab1}
วันที่ 56	0.0081 ± 0.0019^{a12}	0.0107 ± 0.0008^{a12}	0.0052 ± 0.0022^{a1}
วันที่ 70	0.0244 ± 0.0033^{a3}	0.0302 ± 0.0053^{a3}	0.036 ± 0.0065^{a2}
วันที่ 84	0.0215 ± 0.0078^{a3}	0.0389 ± 0.0073^{a4}	0.0392 ± 0.0180^{a2}

Mean $\pm$ S.E. (N = 3)

หมายเหตุ: - ตัวเลขที่ต่างกันในแนวตั้งคือระยะเวลาที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

- ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนคือทรีทเมนต์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

พบว่า ในระยะเวลาการทดลองตลอด 84 วัน แอคติวิตีของทริปซินของกึ่งกลาดำ จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังต่อไปนี้

แอคติวิตีของทริปซินของกึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหารในช่วงเวลาที่ 6 และ ชั่วโมงที่ 12 มีค่าสูงกว่ากึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำ และกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก

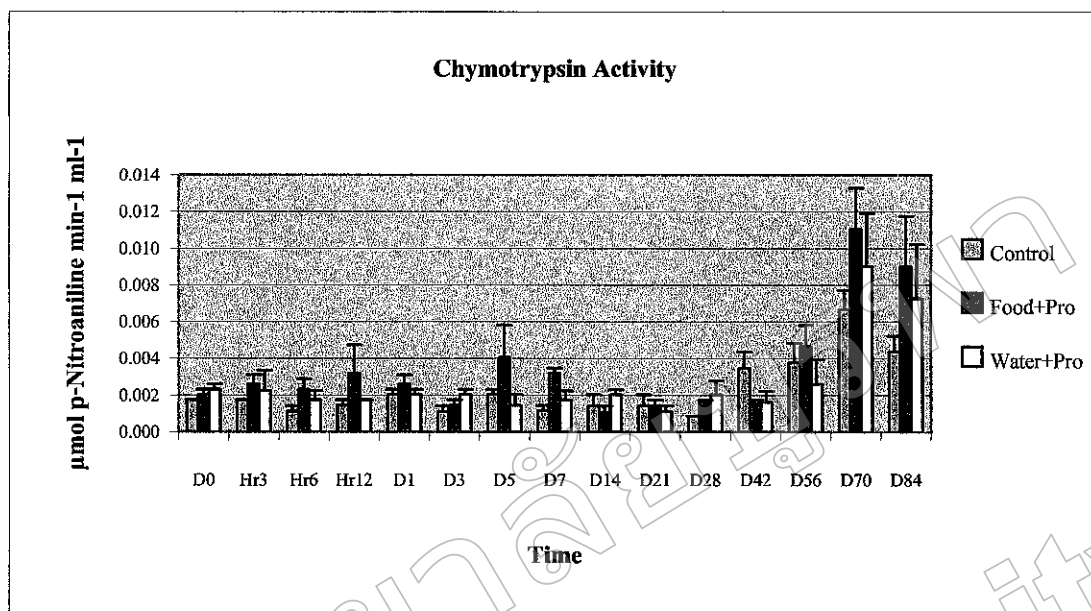
แอคติวิตีของทริปซินของกึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหาร และกึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำในวันที่ 7 มีค่าสูงกว่ากึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก

แอคติวิตีของกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก และกึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำ ในวันที่ 28 มีค่าสูงกว่ากึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหาร

แอคติวิตีของกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกในวันที่ 42 มีค่าสูงกว่ากึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำ และสูงกว่ากึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหาร

2. แอคติวิตีของโคโมทริปซินในกึ่งกลาดำ

ทำการศึกษาค่าแอคติวิตีของโคโมทริปซินระหว่างกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก กึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหาร และกึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำ โดยวัดค่าแอคติวิตีของโคโมทริปซินในกึ่งกลาดำก่อนการทดลอง (วันที่ 0) และสุ่มเก็บตัวอย่างกึ่งกลาดำหลังจากเริ่มให้อาหารมื้อแรก ในช่วงเวลาที่ 3, 6, 12 ชั่วโมง วันที่ 1, 3, 5, 7, 14, 21, 28, 42, 56, 70 และ 84 โดยศึกษาการเกิดปฏิกิริยาระหว่างโคโมทริปซินกับสเตรด (0.1 mM N-Succinyl-Ala-Ala-Pro-Phe-p-Nitroanilide ละลายใน 0.2 M Tris-HCl Buffer pH 8.4) และเอนไซม์ที่สกัดจากกึ่งกลาดำที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส แล้วพิจารณาอัตราการผลิตของ p-Nitroaniline ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ 410 นาโนเมตรต่อนาที ดังแสดงในภาพที่ 9



ภาพที่ 9 แสดงแอกติวิตีของไคโมทริปซิน ($\mu\text{mol p-Nitroaniline min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$) ของกึ่งกุลาดำตามระยะเวลาในการทดลองที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

พบว่า แอกติวิตีของไคโมทริปซินของกึ่งกุลาดำโดยรวมมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 70 และวันที่ 84 รองลงมาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่า การเสริมโปรไบโอติกในอาหารทำให้ค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินในกึ่งกุลาดำมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือการเสริมโปรไบโอติกในน้ำ และกึ่งกุลาดำที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกมีค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินต่ำที่สุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

แต่เมื่อพิจารณาผลของการเสริมโปรไบโอติกในกึ่งกุลาดำต่อค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินในแต่ละช่วงเวลาตลอดการทดลอง ดังแสดงผลในตารางที่ 15

ตารางที่ 15 แอคติวิตีของไคโมทริปซิน ($\mu\text{mol p-Nitroaniline min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$) ของกึ่งกลาดำตาม
ระยะเวลาในการทดลองที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

กึ่งกลาดำ	อาหาร	เติมโพรไบโอติก ในอาหาร	เติมโพรไบโอติก ในน้ำ
วันที่ 0	0.0017 ± 0.0000^{a12}	0.0020 ± 0.0003^{a1}	0.0023 ± 0.0003^{a1}
ชม. ที่ 3	0.0017 ± 0.0000^{a12}	0.0026 ± 0.0005^{a1}	0.0023 ± 0.0011^{a1}
ชม. ที่ 6	0.0011 ± 0.0003^{a1}	0.0023 ± 0.0006^{a1}	0.0017 ± 0.0005^{a1}
ชม. ที่ 12	0.0014 ± 0.0003^{a1}	0.0032 ± 0.0015^{a1}	0.0017 ± 0.0000^{a1}
วันที่ 1	0.0020 ± 0.0003^{a123}	0.0026 ± 0.0005^{a1}	0.0020 ± 0.0003^{a1}
วันที่ 3	0.0011 ± 0.0003^{a1}	0.0014 ± 0.0003^{a1}	0.0020 ± 0.0003^{a1}
วันที่ 5	0.0020 ± 0.0003^{a123}	0.0041 ± 0.0018^{a1}	0.0015 ± 0.0006^{a1}
วันที่ 7	0.0012 ± 0.0003^{a1}	0.0032 ± 0.0003^{b1}	0.0017 ± 0.0005^{a1}
วันที่ 14	0.0015 ± 0.0006^{a1}	0.0011 ± 0.0003^{a1}	0.0020 ± 0.0003^{a1}
วันที่ 21	0.0015 ± 0.0006^{a1}	0.0014 ± 0.0003^{a1}	0.0011 ± 0.0003^{a1}
วันที่ 28	0.0009 ± 0.0000^{a1}	0.0017 ± 0.0000^{a1}	0.0020 ± 0.0008^{a1}
วันที่ 42	0.0035 ± 0.0009^{a234}	0.0017 ± 0.0000^{a1}	0.0016 ± 0.0006^{a1}
วันที่ 56	0.0038 ± 0.0011^{a34}	0.0047 ± 0.0012^{a1}	0.0026 ± 0.0013^{a1}
วันที่ 70	0.0067 ± 0.0010^{a5}	0.0110 ± 0.0023^{a2}	0.0090 ± 0.0029^{a2}
วันที่ 84	0.0043 ± 0.0009^{a4}	0.0090 ± 0.0027^{a2}	0.0073 ± 0.0030^{a2}

Mean $\pm$ S.E. (N = 3)

หมายเหตุ: - ตัวเลขที่ต่างกันในแนวตั้งคือระยะเวลาที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.05$)

- ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนคือทรีทเมนต์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ ($p < 0.05$)

พบว่า ในระยะเวลาการทดลองตลอด 84 วัน แอคติวิตีของไคโมทริปซินของกึ่งกลาดำ
จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เฉพาะในวันที่ 7 เท่านั้น โดยแอคติวิตีของ
ไคโมทริปซินของกึ่งกลาดำที่ได้รับโพรไบโอติกในอาหาร มีค่าสูงกว่ากึ่งกลาดำที่ได้รับ
โพรไบโอติกในน้ำ และกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก

3. ปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหาร

ก่อนการวิเคราะห์หาค่าแอกติวิตีจำเพาะของทริปซิน และค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินนั้นจำเป็นต้องหาปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารก่อน การหาปริมาณของโปรตีนในน้ำย่อยอาหารของกิ้งกูดาคำ ใช้วิธี Bio-Rad DC (Detergent-Compatible) Protein Assay (Rungruangsak-Torrissen et al., 2002)

พบว่า การเสริมโปรไบโอติก มีผลต่อปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารของกิ้งกูดาคำ โดยรวมในทริทเมนที่ต่าง ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ยัง พบว่า ระยะเวลาในการเลี้ยงมีผลต่อความแตกต่างของปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารของกิ้งกูดาคำอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นเดียวกัน โดยพบว่า กิ้งกูดาคำที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกในอาหารมีปริมาณของโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารสูงที่สุดเฉลี่ย 1.675 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และปริมาณโปรตีนรวมใน น้ำย่อยอาหารมีค่าต่ำที่สุดในกิ้งกูดาคำที่ไม่ได้รับการเสริมโปรไบโอติก

แต่เมื่อพิจารณาผลของการเสริมโปรไบโอติกต่อปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารในแต่ละช่วงอายุของกิ้งกูดาคำตลอดการทดลอง ดังแสดงผลในตารางที่ 16

ตารางที่ 16 ปริมาณโปรตีนในน้ำย่อยอาหารที่สกัดจากกิ้งกูดาคำตามระยะเวลาในการทดลองที่ทริทเมนที่ต่างกัน

กิ้งกูดาคำ	ปริมาณโปรตีนในน้ำย่อยอาหาร (mg ml^{-1})		
	อาหาร	เติมโปรไบโอติกในอาหาร	เติมโปรไบโอติกในน้ำ
วันที่ 0	1.0365 ± 0.0741^{a1}	1.1657 ± 0.0440^{a1}	1.1590 ± 0.0320^{a1}
ชม. ที่ 3	1.2732 ± 0.0510^{a12}	1.5480 ± 0.0450^{b123}	1.1778 ± 0.0669^{a1}
ชม. ที่ 6	1.2853 ± 0.1415^{a12}	1.5214 ± 0.1726^{a123}	1.8709 ± 0.5177^{a23}
ชม. ที่ 12	1.7437 ± 0.1943^{a34}	1.6976 ± 0.1887^{a23}	1.2390 ± 0.1275^{a1}
วันที่ 1	1.3109 ± 0.1314^{a12}	1.5873 ± 0.0155^{a123}	1.5294 ± 0.2010^{a123}
วันที่ 3	1.2207 ± 0.1354^{a12}	1.3577 ± 0.1136^{a12}	1.4210 ± 0.1413^{a123}
วันที่ 5	1.2262 ± 0.0432^{a12}	1.5353 ± 0.0465^{a123}	1.3404 ± 0.1073^{a12}
วันที่ 7	1.2654 ± 0.0232^{a12}	1.7268 ± 0.1296^{b23}	1.3027 ± 0.0559^{a12}
วันที่ 14	1.2933 ± 0.0778^{a12}	1.2977 ± 0.0692^{a12}	1.2759 ± 0.0819^{a12}
วันที่ 21	1.3653 ± 0.0152^{a12}	1.3358 ± 0.0379^{a12}	1.1621 ± 0.1597^{a1}

ตารางที่ 16 (ต่อ)

กึ่งกุลาคำ	ปริมาณโปรตีนในน้ำย่อยอาหาร (mg ml ⁻¹)		
	อาหาร	เติมโพรไบโอติกในอาหาร	เติมโพรไบโอติกในน้ำ
วันที่ 28	1.8444 ± 0.0514 ^{ab34}	1.6346 ± 0.1010 ^{a123}	2.0211 ± 0.0727 ^{b34}
วันที่ 42	2.0738 ± 0.2686 ^{a4}	1.9239 ± 0.1904 ^{a34}	1.7785 ± 0.1526 ^{a123}
วันที่ 56	2.4552 ± 0.1341 ^{a5}	2.6333 ± 0.1159 ^{a5}	2.4735 ± 0.2617 ^{a4}
วันที่ 70	1.5259 ± 0.0043 ^{a23}	1.9320 ± 0.0882 ^{b34}	1.8737 ± 0.0647 ^{b23}
วันที่ 84	1.7929 ± 0.0545 ^{a34}	2.2305 ± 0.3553 ^{a4}	2.0138 ± 0.1751 ^{a34}

Mean ± S.E. (N = 3)

หมายเหตุ: - ตัวเลขที่ต่างกันในแนวตั้งคือระยะเวลาที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

- ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนคือทริทเมนต์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ(p<0.05)

พบว่า ในระยะเวลาการทดลองตลอด 84 วัน ปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารของ กึ่งกุลาคำจะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05) ดังต่อไปนี้

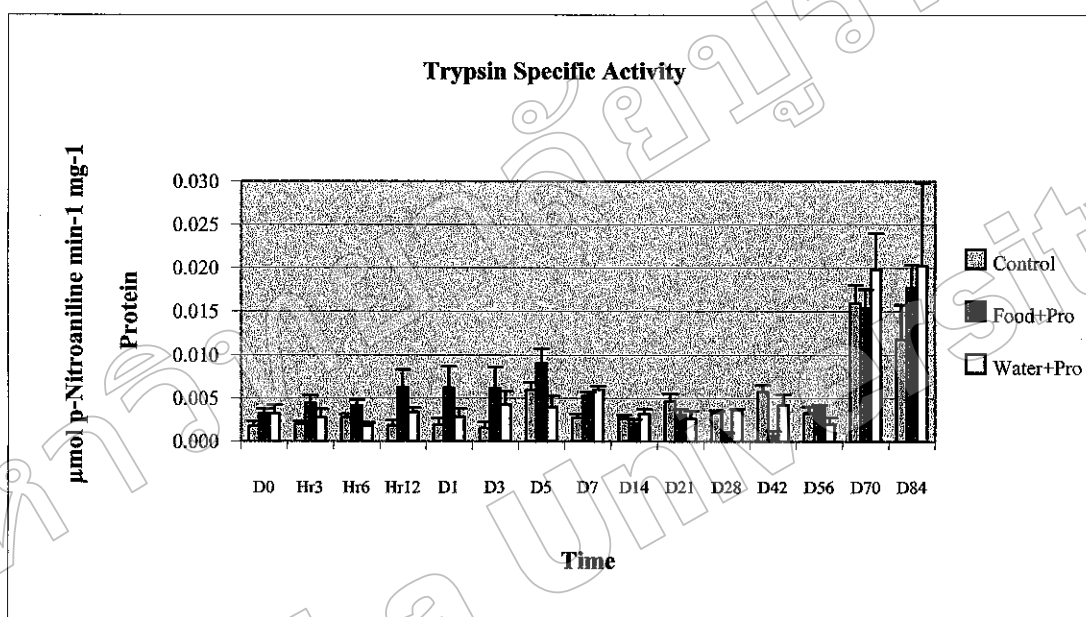
ปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารของ กึ่งกุลาคำที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติก ในอาหารในช่วงวันที่ 3 และวันที่ 7 มีปริมาณสูงกว่ากึ่งกุลาคำที่ได้รับโพรไบโอติกในน้ำ และ กึ่งกุลาคำที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก

ปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารของกึ่งกุลาคำที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกในน้ำ ในวันที่ 28 มีปริมาณสูงกว่ากึ่งกุลาคำที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก และสูงกว่ากึ่งกุลาคำที่ได้รับ โพรไบโอติกในอาหาร

และปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารของกึ่งกุลาคำที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกในอาหาร และกึ่งกุลาคำที่ได้รับการเสริมโพรไบโอติกในน้ำ ในวันที่ 70 มีปริมาณสูงกว่ากึ่งกุลาคำที่ไม่ได้รับโพรไบโอติก

4. แอคติวิตีจำเพาะของทริปซิน

ทำการศึกษาค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซิน โดยนำค่าแอคติวิตีของทริปซินในกึ่งกลูตา (μmol p-Nitroaniline min⁻¹ ml⁻¹) ในตารางที่ 14 มาหารด้วยปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารของกึ่งกลูตา (mg ml⁻¹) ในตารางที่ 16 จะได้เป็นค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซิน (μmol p-Nitroaniline min⁻¹ mg⁻¹ Protein) ดังแสดงในภาพที่ 10



ภาพที่ 10 แสดงแอคติวิตีจำเพาะของทริปซิน (μmol p-Nitroaniline min⁻¹ mg⁻¹ Protein) ของกึ่งกลูตาตามระยะเวลาในการทดลอง ที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

พบว่า ค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินของกึ่งกลูตาโดยรวมมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 70 และวันที่ 84 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่า ค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินกึ่งกลูตาที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกในอาหาร กึ่งกลูตาที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกในน้ำ และกึ่งกลูตาที่ไม่ได้รับการเสริมโปรไบโอติก มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

แต่เมื่อพิจารณาผลของการเสริมโปรไบโอติกต่อค่าแอคติวิตีจำเพาะของทริปซินของกึ่งกลูตาในแต่ละช่วงอายุของกึ่งกลูตาตลอดการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 17

ตารางที่ 17 แอคติวิตีจำเพาะของทริปซิน ($\mu\text{mol p-Nitroaniline min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$) ของกึ่งกลาดำ ตามระยะเวลาในการทดลองที่ทริทเมนต์ต่างกัน

กึ่งกลาดำ	อาหาร	เติมโปรไบโอติก ในอาหาร	เติมโปรไบโอติก ในน้ำ
วันที่ 0	0.0018 ± 0.0006^{a12}	0.0032 ± 0.0005^{a12}	0.0032 ± 0.0010^{a1}
ชม. ที่ 3	0.0020 ± 0.0003^{a12}	0.0044 ± 0.0008^{a123}	0.0028 ± 0.0010^{a1}
ชม. ที่ 6	0.0027 ± 0.0004^{ab12}	0.0041 ± 0.0007^{b12}	0.0018 ± 0.0003^{a1}
ชม. ที่ 12	0.0018 ± 0.0007^{a12}	0.0063 ± 0.0021^{a23}	0.0034 ± 0.0005^{a1}
วันที่ 1	0.0019 ± 0.0008^{a12}	0.0062 ± 0.0025^{a23}	0.0028 ± 0.0010^{a1}
วันที่ 3	0.0015 ± 0.0007^{a1}	0.0062 ± 0.0025^{a23}	0.0043 ± 0.0015^{a1}
วันที่ 5	0.0060 ± 0.0008^{a2}	0.0091 ± 0.0017^{a3}	0.0040 ± 0.0013^{a1}
วันที่ 7	0.0028 ± 0.0004^{a12}	0.0053 ± 0.0003^{a123}	0.0060 ± 0.0004^{b1}
วันที่ 14	0.0027 ± 0.0004^{a12}	0.0021 ± 0.0005^{a12}	0.0032 ± 0.0006^{a1}
วันที่ 21	0.0047 ± 0.0009^{a12}	0.0031 ± 0.0006^{a12}	0.0026 ± 0.0009^{a1}
วันที่ 28	0.0033 ± 0.0003^{b12}	0.0008 ± 0.0002^{a1}	0.0036 ± 0.0012^{b1}
วันที่ 42	0.0057 ± 0.0008^{b12}	0.0007 ± 0.0005^{a1}	0.0042 ± 0.0013^{b1}
วันที่ 56	0.0033 ± 0.0007^{a12}	0.0041 ± 0.0002^{a12}	0.0020 ± 0.0007^{a1}
วันที่ 70	0.0160 ± 0.0021^{a4}	0.0155 ± 0.0021^{a4}	0.0198 ± 0.0042^{a2}
วันที่ 84	0.0118 ± 0.0040^{a3}	0.0178 ± 0.0026^{a4}	0.0202 ± 0.0096^{a2}

Mean $\pm$ S.E. (N = 3)

หมายเหตุ: - ตัวเลขที่ต่างกันในแนวตั้งคือระยะเวลาที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($p < 0.05$)

- ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนคือทริทเมนต์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

พบว่า ในระยะเวลาการทดลองตลอด 84 วัน แอคติวิตีจำเพาะของทริปซินของกึ่งกลาดำ จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังต่อไปนี้

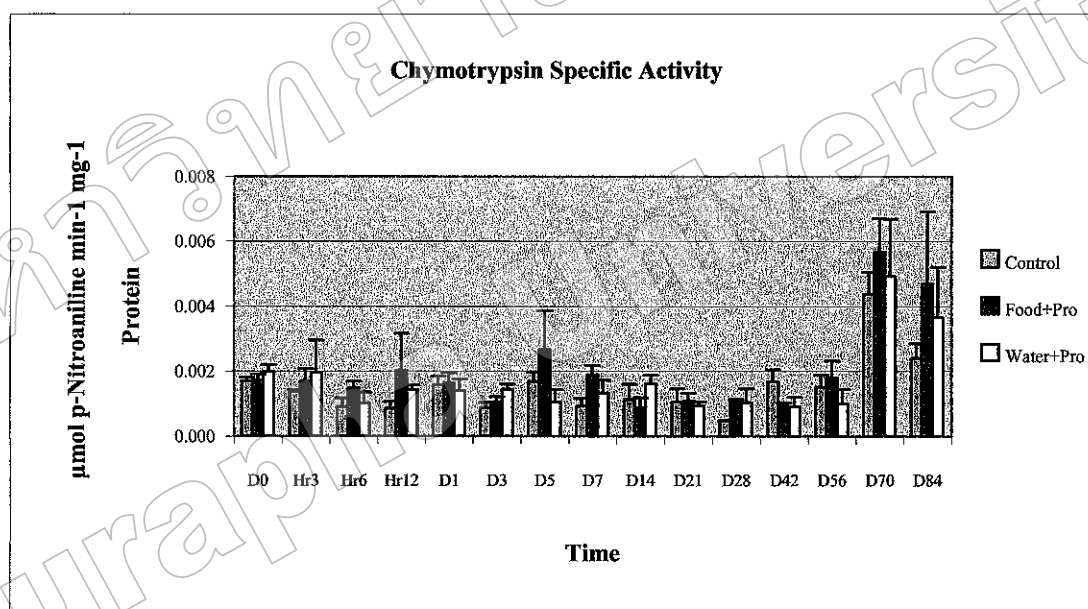
แอคติวิตีจำเพาะของทริปซินของกึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหารในช่วงวันที่ 6 มีค่าสูงกว่ากึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก และสูงกว่ากึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำ

แอกติวิตีจำเพาะของทริปซินของกึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำในวันที่ 7 มีค่าสูงกว่ากึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหาร และกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก

แอกติวิตีจำเพาะของทริปซินของกึ่งกลาดำที่ได้รับโปรไบโอติกในน้ำ และกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับโปรไบโอติกในวันที่ 28 และวันที่ 42 มีค่าสูงกว่ากึ่งกลาดำที่เสริมโปรไบโอติกในอาหาร

5. แอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซิน

ทำการศึกษาค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซิน โดยนำค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซิน ($\mu\text{mol p-Nitroaniline min}^{-1} \text{ ml}^{-1}$) ในตารางที่ 15 มาหารด้วยปริมาณโปรตีนรวมในน้ำย่อยอาหารของกึ่งกลาดำ (mg ml^{-1}) ในตารางที่ 16 จะได้เป็นค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซิน ($\mu\text{mol p-Nitroaniline min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ Protein}$) ดังแสดงใน ภาพที่ 11



ภาพที่ 11 แสดงแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซิน ($\mu\text{mol p-Nitroaniline min}^{-1} \text{ mg}^{-1} \text{ Protein}$) ของกึ่งกลาดำตามระยะเวลาในการทดลองที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

พบว่า ค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินของกึ่งกลาดำโดยรวมมีค่าสูงที่สุดในวันที่ 70 และวันที่ 84 มีค่ารองลงมา อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และพบว่า ค่าแอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซินของกึ่งกลาดำที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกในอาหาร กึ่งกลาดำที่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกในน้ำ และกึ่งกลาดำที่ไม่ได้รับการเสริมโปรไบโอติกไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p > 0.05$)

แต่เมื่อพิจารณาผลของการเสริมโปรไบโอติกต่อค่าแอกติวิตีของไคโมทริปซินของ
กิ้งกูด้าในแต่ละช่วงอายุของกิ้งกูด้าตลอดการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 18

ตารางที่ 18 แอกติวิตีจำเพาะของไคโมทริปซิน ($\mu\text{mol p-Nitroaniline min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{Protein}$) ของ
กิ้งกูด้าตามระยะเวลาในการทดลองที่ทรีทเมนต์ต่างกัน

กิ้งกูด้า	อาหาร	เติมโปรไบโอติก ในอาหาร	เติมโปรไบโอติก ในน้ำ
วันที่ 0	0.0017 ± 0.0001^{a23}	0.0017 ± 0.0002^{a1}	0.0020 ± 0.0002^{a12}
ชม. ที่ 3	0.0014 ± 0.0001^{a123}	0.0017 ± 0.0004^{a1}	0.0020 ± 0.0010^{a12}
ชม. ที่ 6	0.0009 ± 0.0003^{a12}	0.0015 ± 0.0002^{a1}	0.0010 ± 0.0003^{a1}
ชม. ที่ 12	0.0008 ± 0.0002^{a12}	0.0020 ± 0.0012^{a1}	0.0014 ± 0.0001^{a12}
วันที่ 1	0.0016 ± 0.0003^{a123}	0.0016 ± 0.0003^{a1}	0.0014 ± 0.0004^{a12}
วันที่ 3	0.0009 ± 0.0002^{a12}	0.0010 ± 0.0002^{a1}	0.0014 ± 0.0002^{a12}
วันที่ 5	0.0017 ± 0.0003^{a23}	0.0027 ± 0.0012^{a12}	0.0011 ± 0.0004^{a1}
วันที่ 7	0.0009 ± 0.0002^{a12}	0.0019 ± 0.0003^{a1}	0.0013 ± 0.0004^{a12}
วันที่ 14	0.0011 ± 0.0005^{a12}	0.0009 ± 0.0003^{a1}	0.0016 ± 0.0003^{a12}
วันที่ 21	0.0010 ± 0.0004^{a12}	0.0011 ± 0.0003^{a1}	0.0009 ± 0.0001^{a1}
วันที่ 28	0.0005 ± 0.0000^{a1}	0.0011 ± 0.0001^{a1}	0.0010 ± 0.0004^{a1}
วันที่ 42	0.0017 ± 0.0004^{a23}	0.0009 ± 0.0001^{a1}	0.0009 ± 0.0003^{a1}
วันที่ 56	0.0015 ± 0.0004^{a123}	0.0018 ± 0.0005^{a1}	0.0010 ± 0.0005^{a1}
วันที่ 70	0.0044 ± 0.0007^{a4}	0.0056 ± 0.0010^{a3}	0.0049 ± 0.0018^{a3}
วันที่ 84	0.0024 ± 0.0005^{a3}	0.0047 ± 0.0022^{a23}	0.0037 ± 0.0016^{a23}

Mean $\pm$ S.E. (N = 3)

หมายเหตุ: - ตัวเลขที่ต่างกันในแนวดิ่งคือระยะเวลาที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.05$)

- ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวนอนคือทรีทเมนต์ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ
ทางสถิติ($p < 0.05$)

พบว่าในระยะเวลาการทดลองตลอด 84 วัน แอคติวิตีจำเพาะของโคโมทริปซินของกึ่ง
กลูตาที่ไม่ได้รับโปรไบโอติก กึ่งกลูตาที่ได้รับโปรไบโอติกในอาหาร และกึ่งกลูตาที่ได้รับโปร
ไบโอติกในน้ำ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)

มหาวิทยาลัยบูรพา
Burapha University