232102

บทคัดย่อ

ทางปาล์มน้ำมันซึ่งประกอบด้วยเซลลูโลสประมาณร้อยละ 42 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ10 และลิกนินร้อยละ 26 เป็นวัสดุของเหลือจากสวนปาล์มน้ำมันที่มีปริมาณมาก ซึ่งสามารถใช้เป็นอาหารทางเลือกสำหรับสัตว์เคี้ยวเอื้อง แม้จะมีศักยภาพแต่มีข้อจำกัดในแง่ที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ และมีลิกนินซึ่งเป็นสารที่ย่อยสลายได้ยากอยู่สูง งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อที่จะเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ทางปาล์มน้ำมันเป็นอาหารสัตว์โดยการปรับปรุงคุณค่าทางอาหารของทางปาล์มน้ำมันด้วยการหมักของเห็ดกินได้ในกลุ่ม basidiomycetous white rot fungi

การวิจัยเริ่มจากการสำรวจความต้องการการใช้ทางปาล์มน้ำมันเป็นอาหารสัตว์ของเกษตรกรผู้เลี้ยง ซึ่งพบว่าเกษตรกรร้อยละ 90 มีความสนใจ ขั้นตอนต่อมาเป็นการคัดแยกเห็ดกินได้ในกลุ่ม basidiomycetous white rot fungi ที่มีคุณสมบัติย่อยลิกนินได้ ให้โปรตีนสูงและปลอดภัย จากการทดสอบด้วยวิธี agar plate screening สามารถคัดกรองสายพันธุ์ที่เจริญเร็วและให้กิจกรรม ligninolytic enzyme [manganese peroxidase (MnP), laccase, lignin peroxidase (LiP)] สูงถึง 27 รหัสจากทั้งหมด 63 รหัส เมื่อนำสายพันธุ์ที่คัดกรองได้ไปหมักทางปาล์มน้ำมันอุณหภูมิ 30^{o}C เป็นเวลา 30 วัน พบว่ามีเห็ดอยู่ 4 สายพันธุ์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับใช้ปรับปรุงคุณค่าทางอาหารของทางปาล์มน้ำมัน คือมีอัตราการเจริญเร็ว ลดลิกนินได้สูงและยังคงเหลือวัตถุแห้ง (dry matter) ไม่ต่ำกว่าร้อยละ 80 เมื่อเพาะเลี้ยงบนทางปาล์มในระยะเวลาสั้นๆ เพียง 5-10 วัน ซึ่งได้แก่ *Pleurotus sajor-caju* OP16, *Schizophylum commune* OP18, *Pleurotus ostreatus* OP21, *Lentinus edodes* OP35 ซึ่งเห็ดสายพันธุ์เหล่านี้สามารถสร้าง ligninolytic enzyme ได้หลายชนิด และจากกิจกรรมที่เสริมกันของเอนไซม์เหล่านี้ทำให้ลิกนินถูกย่อยสลายซึ่งจะมีผลทำให้คุณค่าทางอาหารของทางปาล์มน้ำมันเพิ่มสูงขึ้น

ขั้นตอนต่อมาเป็นการขยายการหมักทางปาล์มน้ำมันในระดับฟาร์มของเห็ดทั้ง 4 สายพันธุ์ เพื่อทดสอบความสามารถในการสร้าง ligninolytic enzyme การย่อยสลายลิกนินและการปรับปรุงคุณค่าทางอาหาร โดยใช้หัวเชื้อเมล็ดข้าวฟ่างของเห็ดแต่ละสายพันธุ์ในปริมาณร้อยละ 2, 5 และ 7 (w/w) ลงหมักบนทางปาล์มน้ำมัน 2 ชุดการทดลองที่ไม่มีการฆ่าเชื้อก่อนหมักแต่อย่างใด ชุดแรกปรับความชื้นเริ่มต้นด้วยน้ำประปาที่ร้อยละ70 ชุดที่สองไม่ปรับความชื้น (~56%) ส่วนชุดควบคุมเตรียมวิธีเดียวกันแต่ไม่ใส่หัวเชื้อ พบว่าเห็ดทุกสายพันธุ์เจริญได้ดีบนทางปาล์มน้ำมันและลดลิกนินได้ในทุกระดับของหัวเชื้อ ยกเว้น *Lentinus edodes* OP35 ที่ไม่สามารถเจริญในทั้ง 2 ชุดการทดลอง เนื่องจากเจริญได้ช้ากว่า *Neurospora* sp. ซึ่งเป็นราที่มีอยู่ในธรรมชาติและปนเปื้อนมาในทางปาล์ม ส่วน *Pleurotus ostreatus* OP21 เจริญได้ช้ากว่าและลดลิกนินได้ต่ำกว่า *Pleurotus sajor-caju* OP16 และ *Schizophylum commune* OP18 ดังนั้นในการหมักทางปาล์มน้ำมันแบบกองพื้นที่ระดับความสูง 15, 30, 45 และ 60 เซนติเมตรจึงใช้เห็ด 2 สายพันธุ์นี้ที่ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 2 โดยไม่ปรับความชื้นเริ่มต้นหรือฆ่าเชื้อก่อนหมักแต่อย่างใด ซึ่งพบว่าเห็ดทั้ง 2 สายพันธุ์เจริญในกองทางปาล์มที่ระดับความสูง 15 เซนติเมตรได้ดีที่สุด แต่ย่อยลิกนินได้ไม่ต่างกัน โดยที่ *Schizophylum commune* OP18 มีโปรตีนสูงกว่า *Pleurotus sajor-caju* OP16 ซึ่งสามารถเพิ่ม

232102

โปรตีนลงในกองทางปาล์มหมักถึงร้อยละ 17.4 และ 23.7 หรือเพิ่มขึ้น 2.7 และ 4.8 เท่า จากโปรตีนเริ่มต้นเมื่อหมักเพียง 6 และ 10 วันตามลำดับ

ในการทดสอบการยอมรับทางปาล์มหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง (โคเนื้อ 5 ตัว, แพะ3 ตัว) ที่ไม่มีการเตรียมสัตว์ให้คุ้นเคยกับทางปาล์มหมักด้วย white rot fungi มาก่อน โดยใช้ทางปาล์มน้ำมันที่หมักด้วย *Schizophylum commune* OP18 โดยไม่เติมสารอาหารหรือสารเสริมใดๆ พบว่าโคเนื้อยอมรับทางปาล์มหมักและทางปาล์มสดได้พอกัน แต่ต่ำกว่าการยอมรับหญ้าสดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนแพะเนื้อยอมรับทางปาล์มหมักต่ำกว่าทางปาล์มสดและหญ้าสดตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งการพัฒนาการใช้ทางปาล์มน้ำมันด้วยการหมักของ white rot fungi เพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์นั้น ควรใช้จำนวนสัตว์ทดลองที่มากกว่านี้และมีการเตรียมสัตว์ก่อนการทดลอง และไม่ควรเทียบกับหญ้าสด

Abstract

Oil palm fronds, a lignocellulosic material, is the major by-product of the oil palm plantation. It consists of approximately 42% cellulose, 10% hemicelluloses and 26% lignin. Due to its abundant availability, it can serve as the alternative forage for ruminant feed. Although it has potential, the use of this agricultural waste is limited by it inherently low crude protein content and presence of high lignin, the anti-nutritional compound. Aim of this study was to improve the nutritional properties of oil palm fronds by solid state fermentation with edible basidiomycetous white rot fungi.

The study began with surveying the farmer interest of using oil palm fronds for ruminant feed and found that 90 percents of farmers met the idea. The following step was the isolation of edible basidiomycetous white rot fungi due to they meet the GRAS (Generally Regarded As Safe) requirement, exhibit considerable lignin degrading ability, and enrich lignocellulosic substrates with protein of high nutritional value. By agar plate screening, 27 from a total of 63 isolates were selected due to their high growth rate associated with high activity of ligninolytic enzymes [manganese peroxidase (MnP), laccase and lignin peroxidase (LiP)]. Following step was the cultivation of each selected strain on oil palm fronds at 30^{o}C for 30 days. The results founds that there were 4 candidates (*Pleurotus sajor-caju* OP16, *Schizophylum commune* OP18, *Pleurotus ostreatus* OP21, *Lentinus edodes* OP35) suitable for improving nutritional properties of oil palm fronds, which performed high growth rate with moderate delignification and had dry matter left more than 80% after a short period of 5-10 days cultivation. Since those fungal strains secreted different level of ligninolytic enzymes, the degradation of lignin could be due to the synergistic action of these enzymes and thus improve the nutritional value of the substrate.

Large-scale solid substrate fermentation was set up to test these strains for their ability on ligninolytic enzyme production and lignin degradation. Sorghum grain-spawn of each strain, which was easy in preparing and using, was inoculated [inoculums size of 2, 5 and 7% (w/w)] in both sets of non sterile oil palm fronds. The initial moisture content in the first set was adjusted at 70% with tap water and another set was not adjusted (~56% moisture content), while no inoculation for the control treatment. At every inoculum sizes of all strains, except *Lentinus edodes* OP35, colonized oil palm substrate relatively rapidly and exhibited moderate lignin reduction. *Lentinus edodes* OP35 could not grow in those sets of non sterile oil palm treatments due to the outgrowth of naturally contaminant mold species, *Neurospora* sp. The growth and lignin degradation of *Pleurotus ostreatus* OP21 was slightly under perform compared to *Pleurotus sajor-caju* OP16 and *Schizophylum commune* OP18. Thus, the latter two strains were used for further experiment. Oil palm fronds were piled up on cement

floor at different heights of 15, 30, 45 and 60 cm without adjusting the initial moisture content or sterilization and were inoculated with 2% grain spawn of *Pleurotus sajor-caju* OP16 and *Schizophylum commune* OP18. Both strains grew well in piles of oil palm substrate at 15 cm height. *Schizophylum commune* OP18 had higher protein content than *Pleurotus sajor-caju* OP16 but lignin degradation was not significantly different ($p>0.05$). Protein content in a pile of oil palm fronds at 45 cm height inoculated with *Schizophylum commune* OP18 increased to 17.4 and 27.3% from the initial (3.2-4.9%) or increased by 2.7 and 4.8 folds from the initial when cultivation for 6 and 10 days, respectively. Preliminary testing on the acceptability of untrained ruminant animals (cattle 3, goat 5) on fermented oil palm fronds inoculated with *Schizophylum commune* OP18 without any supplementation found that the cattle accepted fermented oil palm fronds as well as the fresh one but significantly lesser ($p\leq0.05$) than fresh grasses. While the acceptance of fermented oil palm fronds by goats was significantly lesser ($p\leq0.05$) than fresh oil palm fronds and fresh grasses, respectively. In order to develop the use of fermented oil palm fronds with white rot fungi for animal feed, high number of trained animals should be used. Besides, fresh grasses should not be compared with fermented oil palm fronds.