

บทสรุปสำหรับผู้บริหาร

การศึกษาคัดแยกแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีท์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากดินเพื่อผลิตน้ำตาลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

แอคติโนมัยซีท์เป็นแบคทีเรียแกรมบวกที่มีลักษณะการเจริญคล้ายเชื้อรา สามารถสร้าง สปอร์ อับสปอร์ substrate mycelium และ aerial mycelium นอกจากนี้แบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยซีท์มีประโยชน์ต่อสภาพแวดล้อมในด้านการสร้างเอนไซม์ที่ใช้ในกระบวนการย่อยสลายซากพืช ซากสัตว์ ที่มีปริมาณมากในธรรมชาติ เป็นผลทำให้ดินมีความอุดมสมบูรณ์มีปริมาณธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืชและสัตว์ สำหรับเอนไซม์แบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีท์ผลิตออกมาเพื่อใช้ในการย่อยสลายซากพืช ได้แก่ เอนไซม์ในกลุ่ม cellulase เอนไซม์ในกลุ่มนี้จะใช้ในการย่อยสลายเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบที่พบมากในเซลล์พืช รวมทั้งยังเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีความสำคัญต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งในปัจจุบันได้มีการศึกษาวิจัยและทดลองเกี่ยวกับความสามารถของเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีท์ในหลายด้าน เช่น ด้านการแพทย์ได้มีการศึกษาการสร้างสารปฏิชีวนะที่มีฤทธิ์ยับยั้งจุลินทรีย์ก่อโรค และด้านการเกษตรได้มีการนำเชื้อแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีท์มาใช้ในการทำปุ๋ยชีวภาพ เป็นต้น จากข้อมูลทางการวิจัยที่กล่าวมาข้างต้นจึงทำให้มีการวิจัยการคัดแยกแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีท์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากดินเพื่อผลิตน้ำตาลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรขึ้น

1. เพื่อคัดแยกแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีส์จากตัวอย่างดินในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ
2. เพื่อทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสของแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีส์บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Carboxymethylcellulose (CMC) agar
3. เพื่อหาแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อใช้ผลิตน้ำตาลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร
4. ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาเบื้องต้นของแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยซีส์ เช่น ลักษณะภายใต้กล้องจุลทรรศน์ และลักษณะโคโลนีบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัย

การวิจัยครั้งนี้เป็นการวิจัยขั้นพื้นฐาน โดยทำการคัดแยกจุลินทรีย์ในพื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ด้วยวิธี Spread plate technique บนอาหาร carboxy methyl cellulose agar จากนั้นนำจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้มาทดสอบการย่อยสลายเซลลูโลสเบื้องต้นบนจานอาหารดังกล่าว โดยการรดด้วยสารละลายแกรมไอโอดีน แล้วทำการวัดค่า Hydrolysis capacity value (HC value) ซึ่งเป็นเส้นผ่าศูนย์กลางบริเวณใสรวมโคโลนี ต่อเส้นผ่าศูนย์กลาง

โคโลนี จากนั้นตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์บีต้า-กลูโคซิเดส พร้อมทั้งหาแหล่งคาร์บอนเช่นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ และแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม และการศึกษาขั้นสุดท้ายในการทดลองนี้ได้ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดแยกได้บนจานอาหารเลี้ยงเชื้อและภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ผลการวิจัย

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีท

ผลจากการคัดแยกแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีทจากตัวอย่างดินบริเวณแปลงตัวอย่าง พื้นที่เขื่อนจุฬาภรณ์ จังหวัดชัยภูมิ สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแอคติโนมัยสีทได้จำนวน 190 ไอโซเลท ซึ่งแต่ละไอโซเลทจะถูกทำการคัดแยกบนอาหาร starch casein agar เพื่อคัดเลือกลักษณะโคโลนีของเชื้อแอคติโนมัยสีท เพื่อที่จะนำไปใช้ในการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสต่อไป

การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสของแบคทีเรียกลุ่มแอคติโนมัยสีทบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Carboxymethylcellulose (CMC) agar

การทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อ Carboxymethylcellulose(CMC) agar จากเชื้อที่แยกได้ทั้งหมดจำนวน 190 ไอโซเลท แล้วทำการทดสอบโดยใช้เทคนิค point inoculation บ่มที่ 30 °C เป็นเวลา 5 วัน แล้ววัดค่าอัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางระหว่าง clear zone กับ colony diameter ด้วยวิธีการวาดแกรมไอโอดีนในหน่วยวัดที่เป็นมิลลิเมตร พบว่าเชื้อไอโซเลท CDF₂L₁D₁₃ มีค่าอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของ clear zone กับ colony diameter เท่ากับ 14.02 ซึ่งเป็นค่าที่สูงที่สุดที่วัดได้จากการทดสอบความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสบนจานอาหารเลี้ยงเชื้อบน CMC agar

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อใช้ผลิตน้ำตาลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยการแปรผันแหล่งคาร์บอนในอาหาร CMC broth

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลส โดยจะทำการศึกษาไปที่เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส เอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Hydrolase มีหน้าที่ในการเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายโมเลกุลของ cellobiose ได้เป็นน้ำตาล glucose ซึ่งจะตรวจวัดด้วยวิธี DNS method ในรูปของน้ำตาลรีดิวซ์ ผลจากการตรวจสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสของเชื้อไอโซเลท CDF₂L₁D₁₃ พบว่าในแหล่งคาร์บอนที่เป็นฟางข้าว CDF₂L₁D₁₃ มีกิจกรรมของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส สูงสุดเท่ากับ 2.639 U/ml ในวันที่ 15 ของการบ่ม ส่วนแหล่งคาร์บอนที่เป็นรำจะให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสสูงสุดเท่ากับ 2.480 U/ml

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อใช้ผลิตน้ำตาลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในอาหาร CMC broth

จากการแปรผันแหล่งไนโตรเจนในการเพาะเลี้ยงเชื้อ พบว่าแหล่งไนโตรเจนมีส่วนช่วยเพิ่มอัตราการผลิตเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส และอัตราเร็วในการเจริญเติบโตของเชื้อ โดยการเจริญในแหล่งไนโตรเจนที่ใช้แอมโมเนียมซัลเฟต จะส่งเสริมการผลิตเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดสที่มีกิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดอยู่ที่ 5.337 U/ml และแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ peptone จะให้ปริมาณกิจกรรมของเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส สูงสุดเท่ากับ 5.443 U/ml ในวันที่ 5 ของการบ่ม จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าแหล่งไนโตรเจนมีส่วนช่วยในการทำให้เชื้อที่ใช้ทดสอบ มีการเจริญเติบโตและผลิตเอนไซม์ได้เร็วขึ้น

ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท CDF₂L₁D₁₃

จากผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อไอโซเลท CDF₂L₁D₁₃ ซึ่งทำการศึกษาลักษณะของโคโลนีบนจานอาหารและลักษณะสายโซ่สปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พบว่า CDF₂L₁D₁₃ มีลักษณะโคโลนีเจริญตามรอย streak ขนาดเล็ก ขอบหยัก สร้าง substrate mycelium สีขาว aerial mycelium สีขาว สร้างสปอร์สีดำมีลักษณะคล้ายผงถ่าน และสายโซ่สปอร์ม้วนเป็นวงกลมคล้าย loop สายโซ่สปอร์มีลักษณะเรียงต่อกันเป็นท่อนๆ ภายใต้เส้นใย คาดว่าน่าจะอยู่ใน genus Streptosporangium

ข้อเสนอด้านการวิจัย

ควรมีการตรวจวัดกิจกรรมของเอนไซม์นอกเหนือจากเอนไซม์เบต้า-กลูโคซิเดส เช่น เอนไซม์ exo-glucanase และ endo glucanase รวมทั้งปริมาณโปรตีนเพื่อตรวจสอบว่าเป็นโปรตีนที่ต้องการหรือไม่ รวมทั้งจะทำให้มีข้อมูลพื้นฐานและง่ายสำหรับการศึกษาลำดับยีนในอนาคต