



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การประเมินความสามารถในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์โดยเอนไซม์ที่สกัดจาก
แบคทีเรียในกระเพาะหมักของกระบือ

Evaluation of Feed Digestibility by Crude Enzyme Extracted from
Buffalo Ruminal Bacteria

รศ.ดร. กานต์ สุขสุแพทย์
ผศ.ดร. กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์
ผศ.ดร. กัญญา จิระเจริญรัตน์

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555
คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อโครงการ การประเมินความสามารถในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์โดยเอนไซม์ที่สกัดจากแบคทีเรีย
ในกระเพาะหมักของกระบือ

แหล่งเงิน เงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ประจำปีงบประมาณ 2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 100,000 บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2554 ถึง 30 กันยายน 2555

หัวหน้าโครงการ รศ.ดร. กานต์ สุขสุแพทย์

สังกัดภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระ
จอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ผู้ร่วมโครงการวิจัย ผศ.ดร. กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ , ผศ.ดร. กัญญา จิระเจริญรัตน์

สังกัดภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระ
จอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้จัดทำขึ้นเพื่อศึกษาคุณสมบัติการทำงานของเอนไซม์ที่ผลิตโดยเชื้อแบคทีเรียไอโซ
เลทหมายเลข ID2R1P1 ที่จำแนกได้จากกระเพาะหมักของกระบือปลัก โดยเชื้อมีความสามารถในการ
ย่อยอาหารแข็งที่เติมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC agar) และ ที่เติมไซแลน (xylan agar) มี
อัตราส่วนวงใสต่อโคโลนี เท่ากับ 2.53 ± 0.37 และ 2.09 ± 0.13 ตามลำดับ จากการศึกษาพบว่า การ
เพาะเลี้ยงเชื้อที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลเนสได้ดีที่สุด คือบ่มที่อุณหภูมิ 37-39 องศา
เซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน โดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็น CMC 1 เปอร์เซ็นต์ และ แหล่งไนโตรเจนเป็น yeast
extract 0.1 เปอร์เซ็นต์ เอนไซม์สกัดจากเชื้อแบคทีเรียสามารถย่อยสารคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสได้ดี
ที่สุดที่ pH 7.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที และสามารถย่อยไซแลนได้ดีในช่วง
อุณหภูมิ 30-90 องศาเซลเซียส เอนไซม์ยังสามารถย่อยอะไมเลสและกระดาศกรองได้ เอนไซม์สกัดย่อย
ข้าวโพด 1 กรัม ให้ได้น้ำตาลกลูโคสสูงสุด 28.09 มิลลิกรัม เอนไซม์สามารถย่อยรำข้าว มันสำปะหลังได้
เป็นน้ำตาลกลูโคส 27.48 และ 26.85 มิลลิกรัมกลูโคส ตามลำดับ นอกจากนี้ยังย่อยกากถั่วเหลืองได้
น้ำตาลกลูโคส 14.54 มิลลิกรัม ตามลำดับ เมื่อนำเอนไซม์สกัดมาย่อยอาหารไก่สำเร็จรูป พบว่า สามารถ
ย่อยเยื่อใยชนิด NDF และ ADF ได้ 3.12 เปอร์เซ็นต์ และ 0.66 เปอร์เซ็นต์ และย่อยเฮมิเซลลูโลสได้
2.46 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แต่ไม่สามารถย่อยลิกนินได้ ดังนั้นการเสริมเอนไซม์ที่ผลิตโดยแบคทีเรียไอโซ
เลท ID2R1P1 ในอาหารไก่น่าจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยเยื่อใยของไก่ได้ ทั้งนี้จะต้องมีการทดสอบ
ในสภาพการเลี้ยงจริงต่อไป

คำสำคัญ : แบคทีเรียจากกระเพาะหมัก, เซลลูเลส, ไซแลเนส, วัตถุดิบอาหารสัตว์, อาหารไก่

Research Title: Evaluation of Feed Digestibility by Crude Enzyme Extracted from Buffalo Ruminant Bacteria

Researcher: Assoc.Prof. Kan Suksupath, Asst.Prof. Kanokrat Srikitsasemwat, Asst.Prof. Kanya Jirajaroenrat

Faculty: Agricultural Technology

Department: Animal Production Technology and Fisheries

ABSTRACT

The research was conducted to study the properties of the enzymes produced by the bacterial isolate ID2R1P1 isolated from the rumen of swamp buffalo. The isolate showed the halo clear zone on carboxymethyl cellulose (CMC) agar = 2.53 ± 0.37 and on the xylan agar = 2.09 ± 0.13 . The studies found that cultivation of the isolate to give the maximum enzyme production was incubation at 37-39°C for 2 days using 1% CMC as a carbon source and 0.1% yeast extract as a nitrogen source. Crude enzyme of the isolate ID2R1P1 was able to digest the CMC substrate at an optimal condition when incubation in a pH 7.0 buffer at 50°C for 10 minutes. The crude enzyme digested xylan, avicel and filter paper. The enzyme produced by bacteria isolate ID2R1P1 could digest 1 gram of corn to 28.09 mg of glucose. The enzyme digested rice bran, cassava chip to 27.48 mg and 26.85 mg of glucose respectively. The enzyme also digested soybean meal to 14.54 mg of glucose. The crude enzyme was supplemented to a commercial chicken feed. The result showed that the enzyme digested NDF and ADF at 3.12% and 0.66% respectively. Digestibility of hemicellulose was 2.46%, but lignin was not able to digest. In conclusion, supplementation of the crude enzyme from the isolate ID2R1P1 from the ruminal bacteria may improve the digestibility of fiber in the chicken feed. However, potential of enzyme digestibility in the farm scale would be further investigated.

Keywords : ruminal bacteria, cellulase, xylanase, feedstuff, chicken feed

กิตติกรรมประกาศ

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จากแหล่งทุนเงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ คุณจรรยา คงฤทธิ์ นักวิทยาศาสตร์ประจำภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร ในการให้คำปรึกษาในการวิเคราะห์เนื้อหาของวัตถุดิบอาหารสัตว์ คุณอำพล กล่อมปัญญา นักวิชาการสัตวบาลประจำภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร ในการที่ให้การช่วยเหลือการเตรียมวัตถุดิบอาหารสัตว์

การวิจัยครั้งนี้เป็นส่วนหนึ่งในการผลิตบัณฑิตระดับปริญญาโท นางสาวทิภาภรณ์ งามสง่า ในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณบุคลากรของคณะเทคโนโลยีการเกษตรทุกท่านที่มีส่วนช่วยให้งานวิจัยครั้งนี้ประสบผลสำเร็จบรรลุตามวัตถุประสงค์ได้ด้วยดีมา ณ ที่นี้

รศ.ดร. กานต์ สุขสุแพทย์
ผศ.ดร. กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์
ผศ.ดร. กัญญา จิระเจริญรัตน์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	2
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย.....	2
1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทบทวนวรรณกรรม.....	3
2.1 วัตถุดิบอาหารเลี้ยงสัตว์.....	3
2.2 องค์ประกอบของพืชอาหารสัตว์.....	6
2.3 การคัดแยกแบคทีเรียจากกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง.....	8
2.4 เอนไซม์ย่อยเยื่อใยพืช.....	9
2.5 การเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์.....	10
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย.....	12
3.1 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย.....	12
3.2 ตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์.....	12
3.3 การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเอนไซม์.....	12
3.4 การผลิตเอนไซม์.....	12
3.5 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของโปรตีน.....	12
3.6 การวัดกิจกรรมของเอนไซม์โดยการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์.....	13
3.7 การประเมินสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์.....	13
3.8 การประเมินการย่อยวัตถุดิบพืชอาหารสัตว์.....	13
3.9 การวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย.....	14
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	15
4.1 สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์.....	15
4.1.1 ผลของระยะเวลาการบ่มเชื้อ.....	15
4.1.2 ผลของอุณหภูมิการบ่มเชื้อ.....	15
4.1.3 ผลของความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	16
4.1.4 ผลของปริมาณแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	16

	หน้า
4.1.5 ผลของชนิดแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	17
4.2 คุณสมบัติการทำงานของเอนไซม์.....	18
4.2.1 ผลของระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์.....	18
4.2.2 ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อการทำงานของเอนไซม์.....	18
4.2.3 ผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์.....	19
4.2.4 ความจำเพาะของเอนไซม์ต่อการย่อยสารตั้งต้น.....	19
4.2 ผลของการย่อยวัตถุอาหารสัตว์.....	20
4.2 ประสิทธิภาพการย่อยอาหารไก่ด้วยเอนไซม์สกัด.....	20
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	22
เอกสารอ้างอิง.....	23
ภาคผนวก.....	26
ภาคผนวก ก การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย.....	27
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์เอนไซม์.....	30
ประวัตินักวิจัย.....	36
ผลผลิตจากการวิจัย.....	48

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 4.1 ความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยสารตั้งต้นชนิดต่างๆ.....	20
ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ปล่อยจากวัสดุ 1 กรัม ของเอนไซม์สกัดจากแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1.....	20
ตารางที่ 4.3 ปริมาณเยื่อใยในอาหารไก่สำเร็จรูปก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์สกัดจากเชื้อ ID2R1P1.....	21
ตารางภาคผนวกที่	หน้า
ตารางผนวกที่ ข1 ค่ามาตรฐานกลูโคสที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติของเอนไซม์.....	30
ตารางผนวกที่ ข2 ค่ามาตรฐานไซโลสที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติของเอนไซม์.....	31
ตารางผนวกที่ ข3 ค่ามาตรฐาน BSA ของการวิเคราะห์ความเข้มข้นของโปรตีน.....	32
ตารางผนวกที่ ข4 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส และ specific activity บ่มที่อุณหภูมิ 37°C บ่มเชื้อ เป็นระยะเวลา 1-5 วัน.....	33
ตารางผนวกที่ ข5 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส บ่มที่อุณหภูมิ 37°C บ่มเชื้อ เป็นระยะเวลา 1-5 วัน.....	33
ตารางผนวกที่ ข6 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสที่ผลิตโดยไอโซเลท ID2R1P1	33
ตารางผนวกที่ ข7 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสที่ pH 3.0 - 9.0.....	34
ตารางผนวกที่ ข8 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในปริมาณแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน.....	34
ตารางผนวกที่ ข9 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในแหล่งไนโตรเจนต่างชนิด.....	34
ตารางผนวกที่ ข10 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส (crude enzyme) เมื่อทำปฏิกิริยา ที่เวลาต่างกัน.....	35
ตารางผนวกที่ ข11 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสเมื่อบ่มที่ระดับ pH 3.0-10.0.....	35
ตารางผนวกที่ ข12 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสที่บ่มในอุณหภูมิ 30-90°C.....	35

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 4.1 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในช่วงเวลาการเลี้ยงเชื้อ 5 วัน	15
ภาพที่ 4.2 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในช่วงอุณหภูมิการบ่มเชื้อที่แตกต่างกัน	16
ภาพที่ 4.3 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกัน	16
ภาพที่ 4.4 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสที่ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน	17
ภาพที่ 4.5 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในอาหาร CMC broth และ xylan broth โดยใช้แหล่งไนโตรเจนต่างกัน	17
ภาพที่ 4.6 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในช่วงเวลาของการบ่ม 5, 10, 15 และ 20 นาที	18
ภาพที่ 4.7 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของเอนไซม์เซลลูเลส และไซแลนเนสเมื่อบ่มที่ระดับ pH 3.0-10.0	19
ภาพที่ 4.8 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสเมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30-90°C	19
 ภาพผนวกที่	 หน้า
ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานกลูโคส	30
ภาพผนวกที่ ข2 กราฟมาตรฐานไซโลส	31
ภาพผนวกที่ ข3 กราฟมาตรฐานโปรตีน	32

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยมีพื้นฐานทางเศรษฐกิจส่วนหนึ่งมาจากการเกษตรกรรม จากข้อมูลในปีพ.ศ.2553 ประเทศไทยมีจำนวนเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ทั้งหมด 3,184,250 ครัวเรือน ในจำนวนนี้มีการเลี้ยงโคเนื้อจำนวน 6,426,853 ตัว โคนมจำนวน 529,572 ตัว กระบือจำนวน 1,190,886 ตัว สุกรจำนวน 8,347,017 ตัว ไก่จำนวน 266,037,477 ตัว และเป็ดจำนวน 29,232,925 ตัว (กรมปศุสัตว์ 2553) แสดงให้เห็นถึงความต้องการอาหารสัตว์ที่มีปริมาณมากในแต่ละปี นอกจากนี้จากข้อมูลการนำเข้าวัตถุดิบอาหารสัตว์และอาหารเสริมสำหรับสัตว์ล่าสุดตลอดปีพ.ศ. 2552 พบว่า มีมูลค่าการนำเข้าทั้งหมด 54,674,510,156 บาท ซึ่งมากกว่ามูลค่าการส่งออกถึงสองเท่า (กรมปศุสัตว์ 2552) จะเห็นได้ว่าเกษตรกรของไทยต้องพึ่งพาวัตถุดิบอาหารสัตว์จากต่างประเทศในปริมาณที่สูงมาก จากข้อมูลดังกล่าว คณะผู้วิจัยจึงเห็นความสำคัญของการวิจัยเพื่อนำไปสู่การผลิตเอนไซม์ขึ้นใช้เองภายในประเทศ ซึ่งนำมาจากแหล่งธรรมชาติ โดยในกระเพาะหมักของกระบือนับว่าเป็นแหล่งที่อยู่อาศัยของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยเยื่อใยของพืชอาหารหยาบที่กระบือบริโภคเข้าไป โดยมีประชากรของเชื้อแบคทีเรียที่มีปริมาณมากที่สุดและเป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ที่มีความหลากหลายและย่อยเยื่อใยพืชได้ดี

ประเทศไทยมีวัตถุดิบอาหารสัตว์จากพืชเป็นจำนวนมาก สามารถนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ แต่เป็นอาหารที่มีกากหรือเยื่อใยสูง มีโภชนะย่อยต่ำ เช่น หญ้า ถั่วต่าง ๆ หญ้าสด หญ้าหมัก รวมทั้งหญ้าแห้งตลอดจนวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรต่าง ๆ เช่น ฟางข้าว ต้นและเปลือกข้าวโพดอ่อน ยอดอ้อย เป็นต้น ในอาหารสำหรับเลี้ยงไก่และสุกร นิยมใช้ ปลาเยี่ยว ข้าวโพดบด รำละเอียด กากถั่วเหลือง มันเส้นบด ขณะที่ในอาหารสำหรับเลี้ยงโคกระบือ นิยมใช้ข้าวโพดบด รำละเอียด กากถั่วเหลือง มันเส้นบด กากเมล็ดฝ้าย และใบกระถินแห้ง นอกจากนี้ก็ยังมีการใช้กากเมล็ดยางพารา กากมะพร้าว กากเมล็ดฝ้าย กากปาล์ม น้ำมัน กากเมล็ดทานตะวัน ใบมันสำปะหลังแห้ง ป่นใบผักตบชวา ใบถั่วไมยราใบมันสำปะหลัง กากแคโนล่าหรือกากเรพชิต ยอดอ้อย ต้นข้าวโพด ต้นกล้วย เปลือกสับปะรด ฟางข้าว และพืชในท้องถิ่นตามที่เกษตรกรจะหาได้และเหมาะสมกับสัตว์ที่เลี้ยง

คณะผู้วิจัยได้ทำการคัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากกระเพาะหมักของกระบือโดยวิธีการจุลชีววิทยา และนำเชื้อที่เพาะเลี้ยงได้มาทำการจำแนกสายพันธุ์โดยใช้เทคนิคจุลชีววิทยาร่วมกับชีวโมเลกุล ในเบื้องต้นพบว่าสามารถแยกเชื้อได้จำนวน 32 ไอโซเลท โดยไอโซเลท ID2R1D1 สามารถย่อยสับสเตรตแบคทีเรียบอกลีเซลลูโลส และเอมิเซลลูโลสบนอาหารแข็งได้ดี จึงได้เลือกมาทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อให้มีการสร้างเอนไซม์มากที่สุดโดยใช้วัตถุดิบพืชอาหารสัตว์เป็นแหล่งคาร์บอน การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์รวมทั้งค่าความเป็นกรดและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังต้องการศึกษาความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตอาหารสัตว์เพื่อใช้เป็นแนวทางในการนำเอนไซม์ไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อประเมินสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเพื่อการผลิตเอนไซม์ที่ดีที่สุด

1.2.2 เพื่อประเมินสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ที่สกัดได้

1.2.3 เพื่อประเมินความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 ประเมินสถานะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อที่ให้ปริมาณการผลิตเอนไซม์ที่สูงที่สุดโดยการทดสอบชนิดของแหล่งคาร์บอน ระดับความเข้มข้น และระยะเวลาของการบ่มเชื้อที่เหมาะสม

1.3.2 เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในสถานะที่เหมาะสมและสกัดเอนไซม์รวมในรูปแบบ crude enzyme

1.3.3 ประเมินสถานะที่เหมาะสมของเอนไซม์ในการทำกิจกรรมเซลลูเลสและไซแลนเนส

1.3.4 ประเมินการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ด้วยการวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใยและการวิเคราะห์ผลผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ก่อนและหลังการย่อยของเอนไซม์

1.3.5 รวบรวมและวิเคราะห์ข้อมูล รายงานผลการวิจัย

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

1.4.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่จะทดสอบ

1.4.2 การศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ของแบคทีเรีย

1.4.3 การศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส

1.4.4 การศึกษาการย่อยของอาหารไก่สำเร็จรูปและการวิเคราะห์การย่อยเยื่อใย

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.5.1 ทราบสถานะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากกระเพาะหมักของกระบือเพื่อให้ผลิตเอนไซม์ได้มากที่สุด

1.5.2 ทราบสถานะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์

1.5.3 ทราบประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์

1.5.4 ใช้เป็นข้อมูลในการพิจารณาเลือกเอนไซม์สกัดที่เหมาะสมในการเสริมในอาหารสัตว์แต่ละชนิด

บทที่ 2

ทบทวนวรรณกรรม

2.1 วัตถุดิบอาหารเลี้ยงสัตว์

การแบ่งประเภทอาหารของสัตว์อาจแบ่งเป็นประเภทใหญ่ๆได้ 2 ประเภท คือ อาหารข้น (concentrates) และอาหารหยาบ (roughages) อาหารข้น การที่สัตว์ย่อยอาหารชนิดนี้ได้ง่ายเนื่องจากมีโภชนาการจำพวกแป้งและน้ำตาลอยู่ปริมาณมาก เช่น ข้าวโพด มันเส้น รำ กากถั่วเหลือง อาหารข้นสามารถแบ่งได้เป็นอาหารที่ให้พลังงาน และอาหารข้นที่ให้โปรตีน อาหารหยาบ คือ อาหารสัตว์ที่มีเยื่อใยมากกว่า 18 เปอร์เซ็นต์ เช่น พืชอาหารสัตว์ ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปของพืชสดเช่น หญ้า ถั่วต่างๆ พืชแห้ง หรือพืชหมักก็ได้ รวมไปถึงเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรต่างๆ เช่น ฟางข้าว ชังข้าวโพด ต้นข้าวโพด ยอดอ้อย ชานอ้อย เป็นต้น วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ใช้ในการเลี้ยงไก่และสุกรส่วนใหญ่ ได้แก่ ปลายข้าว ข้าวโพดบด รำละเอียด กากถั่วเหลือง มันเส้นบด เป็นต้น ส่วนอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงโคกระบือ ได้แก่ กากถั่วเหลือง มันเส้นบด กากเมล็ดฝ้ายและใบกระถิน เป็นต้นและนอกจากนี้ยังมีการใช้กากทานตะวันกะเทาะเปลือก กากงาอัดน้ำมัน กากมะพร้าว กากดอกคำฝอย เป็นต้น (บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2541) ไก่ที่ได้รับอาหารดีจะมีสุขภาพร่างกายแข็งแรง มีความต้านทานโรคสูงและให้ผลผลิตดี (อาวุธ ตันโซ. 2538)

วัตถุดิบอาหารเลี้ยงสัตว์ แบ่งได้ดังนี้

2.1.1 วัตถุดิบอาหารประเภทโปรตีนต่ำหรือประเภทแป้ง

ปลายข้าวเป็นผลพลอยได้จากการสีข้าว ใช้เลี้ยงสุกรมาตั้งแต่ดั้งเดิมและปัจจุบันก็ยังใช้เลี้ยงอยู่ทั่วไป ทั้งนี้เพราะเป็นวัตถุดิบอาหารที่หาได้ง่ายแม้กระทั่งในท้องถิ่นที่ห่างไกล มีราคาค่อนข้างถูกเมื่อเทียบกับวัตถุดิบอาหารอื่นๆที่มีคุณค่าทางอาหารใกล้เคียง เช่น ข้าวโพด ข้าวฟ่าง นอกจากนี้ปลายข้าวหรือรำละเอียดที่ซื้อมามากจะอยู่ในรูปที่สามารถใช้ผสมอาหารได้เลยไม่ต้องมาบดให้ละเอียดอย่างเช่น ข้าวโพดหรือข้าวฟ่าง (อุทัย คันธ 2529) ปลายข้าวประกอบไปด้วยแป้งที่ย่อยง่ายเป็นส่วนใหญ่ มีไขมันละเอียดใยในระดับต่ำ ปลายข้าวจึงสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่เหม็นหืน ปลายข้าวมีสีขาวสามารถตรวจสอบการปลอมปนได้ง่าย ปลายข้าวที่ใช้เลี้ยงไก่และสุกรควรเป็นปลายข้าวเม็ดเล็ก หากเป็นปลายข้าวเม็ดใหญ่ สัตว์จะไม่สามารถย่อยได้หมด จึงควรนำมาบดเสียก่อนจะใช้ผสมอาหาร ปลายข้าวประกอบไปด้วยเศษของเมล็ดที่หักและจมูกข้าว ซึ่งเป็นส่วนของต้นอ่อน ส่วนนี้มีโปรตีน ไขมันและวิตามิน และแร่ธาตุมากกว่าส่วนอื่นๆของเมล็ดข้าว

รำหยาบ ประกอบไปด้วยแกลบซึ่งเป็นเปลือกชั้นนอกสุดปนมาบ้าง มีคุณค่าทางอาหารสัตว์ คือ โปรตีนรวมประมาณ 11-13 เปอร์เซ็นต์ มีเยื่อใยไม่เกิน 13 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 10-15 เปอร์เซ็นต์เมื่อสีออกมาใหม่ๆจะมีความน่ากินสูงมาก แต่ทิ้งไว้นานๆจะมีกลิ่นหืน เพราะเป็นอาหารที่มีไขมันสูง รำมีโปรตีนสูงกว่าข้าวโพด มีฟอสฟอรัส ไนอะซิน และวิตามินบี 1 สูงเป็นพิเศษ และมี บี 2 มากกว่าข้าวทั้งเมล็ด

2.1.2 วัตถุดิบอาหารโปรตีนสูงจากพืช

กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่มีคุณภาพสูงที่สุดมี EAA หลายตัวแต่มี cysteine และ methionine มีน้อยมาก เม็ดถั่วเหลืองมีโปรตีนประมาณ 38 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 16-21 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อสกัดเอาน้ำมันออกแล้วจะมีโปรตีนเฉลี่ย 44 เปอร์เซ็นต์ อาจสูงถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ขึ้นอยู่กับวิธีสกัดน้ำมันและขนาดของเมล็ด แบ่งทางการค้าได้ 2เกรด คือ กากถั่วเหลือง 44 เปอร์เซ็นต์ และ 49 เปอร์เซ็นต์ ถ้า

เป็นกากถั่วเหลือง 44 เปอร์เซ็นต์ คือกากถั่วเหลืองที่มีเปลือกผสมอยู่ 49 เปอร์เซ็นต์ คือ คือกากถั่วเหลืองที่กระเทาะเอาเปลือกออก ไม่มีส่วนของเปลือกปนมาเลยเป็นเนื้อในของถั่วเหลืองแท้ๆ โปรตีนอาจสูงถึง 51-52 เปอร์เซ็นต์ ถั่วเหลืองดิบมีสารพิษอยู่มากมีทั้งสารที่เป็นตัวกระตุ้นแก่แข็ง รวมทั้งสารที่ทำให้เกิดการแพ้วม และที่สำคัญคือ trypsin inhibitor ดังนั้น ในกรณีของถั่วเหลืองจึงพบว่าถั่วเหลืองที่โดนความร้อนจะมีคุณค่าของโภชนะสูงกว่าถั่วดิบ แต่หากความร้อนสูงไปจะทำให้คุณค่าของโภชนะเสียได้ กากถั่วเหลือง นอกจากนี้ไขมันในถั่วเหลืองยังมีคุณสมบัติในการระบายท้องและทำให้ซากสัตว์มีไขมันเหลว (กรณีต่างวิวัฒน์ และคณะ 2553)

2.1.3. วัตถุดิบอาหารโปรตีนสูงจากสัตว์

ปลาป่น เป็นวัตถุดิบอาหารที่ให้โปรตีนสูงทั้งด้านปริมาณและคุณภาพ จึงเหมาะแก่การเจริญเติบโตของสุกรมาก ปลาป่นที่ผลิตในไทยมิได้ทำจากปลาชนิดใดชนิดหนึ่งโดยเฉพาะ โดยทั่วไปมักทำจากเศษปลาหรือปลาเป็ดซึ่งไม่สามารถใช้เป็นอาหารคนได้ ปลาป่นต่างๆจะมีโปรตีนระหว่าง 50-65 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ปลาป่นยังประกอบไปด้วยแร่ธาตุในปริมาณสูงถึง 20- 24 เปอร์เซ็นต์

ปลาป่นในประเทศไทยในอดีตแบ่งตามคุณภาพ (พันทิพา พงษ์เพียจันทร์.2547) ได้ดังนี้

1). ปลาป่นเค็ม การนำเอาปลาตัวเล็กๆ ดิบๆ มาใส่เกลือตากแห้งแล้วป่น มีโปรตีน 40-43 เปอร์เซ็นต์มีเกลือ 8-15 เปอร์เซ็นต์ มีคุณค่าทางอาหารต่อสัตว์กระเพาะเดี่ยวต่ำกว่าปลาป่นชนิดอื่นๆ เนื่องจากเกิดการหืนในเนื้อปลา ทำให้มีกลิ่นเหม็นหืน ชนิดนี้ราคาถูก

2). ปลาป่นกร่อย ลักษณะคล้ายปลาป่นเค็ม เป็นปลาดิบเช่นกันที่ปลาป่นกร่อยทำโดยเอาปลาแช่น้ำทะเลหรือน้ำเกลือแล้วตากแห้ง มีโปรตีน 45-48 เปอร์เซ็นต์เกลือ 3-4 เปอร์เซ็นต์ ปลาที่ใช้โตกว่าปลาชนิดแรกเล็กน้อย แต่การหืนของไขมันยังมีอยู่ ตรวจสอบความแตกต่างของปลาทั้งสองได้โดยการชิม

3). ปลาป่นจืด ใช้ปลาตัวใหญ่กว่าต้มให้สุกแล้วนำมาตากให้แห้ง มีคุณค่าทางอาหารสูงพอใช้โปรตีน 50-55 เปอร์เซ็นต์ไม่มีเกลือผสมอยู่ เกิดการหืนได้เพราะยังมีไขมันอยู่ แต่เกิดช้ากว่า 2 ชนิดดังกล่าว

4). ปลาป่นจืดอัดน้ำมัน ทำโดยเอาปลาตัวใหญ่มาต้มหรือนึ่งด้วยความดันไอน้ำ แล้วอัดเอาของเหลวซึ่งมีไขมันปนอยู่ออก จะได้ปลาป่นและของเหลวซึ่งมีน้ำมันกับไขมันเรียกว่า น้ำคาวปลา ซึ่งมีโปรตีนอยู่ประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ของวัตถุแห้ง ส่วนปลาป่นที่ได้มีโปรตีน 56-60 เปอร์เซ็นต์

2.1.4. วัตถุดิบอาหารประเภทไวตามินและแร่ธาตุบริสุทธิ์

เปลือกหอยป่น เป็นแหล่งของแคลเซียม มีแคลเซียมอยู่ไม่น้อยกว่า 33 เปอร์เซ็นต์ นิยมใช้มากในไก่ มีทั้งเปลือกหอยนางรม หอยกาบ เพราะเปลือกหอยมีขนาดใหญ่กว่าแหล่งของแคลเซียมอื่นๆ ทำให้อยู่ในทางเดินอาหารตรงส่วนกินนานตลอดคืน และค่อยๆปลดปล่อย แคลเซียม ออกมาสร้างเปลือกไข่ได้สม่ำเสมอ ดังนั้นจึงนิยมใช้เปลือกหอยไปแทนที่หินปูนป่น เปลือกหอยบดที่ขายตามท้องตลาดมักจะมีหินปูนปนมาด้วยในปริมาณที่มากน้อยไม่เท่ากันหากเปลือกหอยที่ใช้ผสมอาหารมีการปนปลอมด้วยหินปูนในระดับสูง ก็จะมีผลทำให้ไข่มีลักษณะเปลือกบางหรือไข่นิ่มและแม่ไก่เป็นง่ายได้

2.1.5. วัตถุประสงค์ประเภทของสารปรุงแต่ง

2.1.5.1 สารสี

ไม่มีคุณค่าทางอาหารใดๆโดยปกติใส่เพื่อเพิ่มมูลค่าให้ผลผลิต เช่น ทำให้ไข่แดงมีสีแดงขึ้น หรือทำให้หนังไก่มีสีเหลืองขึ้น เพื่อผลผลิตทางการตลาดหรือสนองความต้องการของผู้บริโภค สินค้าเหล่านี้มักอยู่ในกลุ่มแซนโทฟิลล์ หรือแคโรทีนอยด์ สารสีแบ่งได้ 2 กลุ่ม คือ

1) สารสีที่ได้จากธรรมชาติ ชนิดของสารสีจากธรรมชาติซึ่งอยู่ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ โดยมากมักจะมีสีเหลือง ส้ม และแดง ส่วนสารสีจากธรรมชาติที่นำมาใช้เลี้ยงสัตว์คือ สารสีเหลืองจากข้าวโพดและถั่วอัลฟัลฟา สารสีเหลืองที่สกัดจากดอกดาวเรือง และสารสีแดงที่สกัดจากพริก

2) สารสีที่ได้จากการสังเคราะห์ คือสารที่สังเคราะห์ขึ้นโดยกระบวนการทางเคมี ซึ่งแบ่งเป็นสามกลุ่มใหญ่ คือ สารสีเหลืองใช้เสริมในอาหารไก่เนื้อและไก่ไข่ เพื่อให้หนังไก่หรือไข่แดงมีสีเหลืองขึ้น สารสีแดงใช้เสริมในอาหารสัตว์ร่วมกับสารสีเหลืองเพื่อให้ไข่แดงมีสีเข้ม และสารสีส้มอมแดง แอสตาแซนธิน มักใช้ในอาหารสัตว์น้ำ

2.1.5.2 โปรไบโอติก

เป็นกลุ่มของจุลินทรีย์พวกแบคทีเรีย และเชื้อราที่เสริมในอาหารสัตว์ ในพืชหมักและที่ให้สัตว์กินโดยตรงเพื่อเพิ่มการผลิตเอนไซม์และกรดแล็กติก ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่เป็นโทษต่อสัตว์ ลดปริมาณไนโตรเจนและไนเตรตในกระเพาะหมัก ลดปัญหาท้องเสีย เพิ่มความน่ากินของอาหาร และเพิ่มผลผลิตนม

2.1.5.3 เอนไซม์

เป็นสารประกอบโปรตีนเชิงซ้อนที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อเป็นตัวกระตุ้นปฏิกิริยาหรือทำให้สารอื่นเปลี่ยนแปลงโดยที่ตัวมันไม่เปลี่ยนแปลง และมุ่งเน้นใช้ในการย่อยอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต โปรตีน และไขมัน การใช้เอนไซม์ในอาหารสัตว์ในปัจจุบันได้พัฒนามากขึ้น เพื่อให้เหมาะสมกับชนิดของวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดของสัตว์ และวิธีการผลิตเอนไซม์ด้วยเทคโนโลยีสมัยใหม่ เพื่อนำไปสู่การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตสัตว์และลดต้นทุนการผลิตสัตว์ ประโยชน์ที่สำคัญอย่างหนึ่งคือเนื่องจากเอนไซม์เป็นสารที่มีโปรตีนเป็นส่วนประกอบฉะนั้นจึงย่อยสลายได้ในธรรมชาติ โดยไม่ก่อให้เกิดมลพิษตามมาและไม่มีผลตกค้างในตัวสัตว์ด้วย

เอนไซม์ที่ใช้ในอาหารสัตว์ส่วนมากใช้เพื่อช่วยย่อยอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต และโปรตีน ซึ่งจำแนกชนิดของเอนไซม์ตามแหล่งที่มาได้ดังนี้

- 1) เอนไซม์จากสัตว์ เช่น ไลเปส (lipase) เพปซิน (pepsin) ทริปซิน (trypsin)
- 2) เอนไซม์จากพืช เช่น ไคโมพานิน (chymopainin) พาเพน (malt papain)
- 3) เอนไซม์จากจุลินทรีย์ เช่น อะไมเลส (amylase) เซลลูเลส (cellulase) กลูคาเนส (glucanase) อะไมโลกลูโคซิเดส (amylglucosidase) เฮมิเซลลูเลส (hemicellulase) แล็กเทส (lactase) ไลเปส (lipase) เพกทีเนส (pectinase)

การใช้เอนไซม์ในอาหารสัตว์จะช่วยลดอิทธิพลของสารยับยั้งการใช้สารอาหารที่อยู่ในวัตถุดิบอาหารสัตว์ (anti-nutritional factors) เช่น ผนังเซลล์ของข้าวบาร์เลย์ ประกอบด้วย เบตา-กลูแคน (β -glucan) และ อะราบินอกซาลิน (arabinoxylans) ซึ่งยับยั้งการย่อยได้ในไก่เนื้อทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลงและไก่มักถ่ายเหลวหรือแฉะ การนำเอนไซม์มาใช้ในอาหารสัตว์ที่มีส่วนประกอบของข้าวบาร์เลย์เป็นหลักในอาหารไก่เนื้อ เช่น เอนไซม์ เบตา-กลูคาเนส จะทำให้ประสิทธิภาพการใช้อาหารและ

การเจริญเติบโตของไก่เนื้อดีขึ้น เนื่องจากเอนไซม์ดังกล่าวสามารถย่อยสลายสารเบตา-กลูแคนได้ ได้มีการประยุกต์ใช้เอนไซม์เบตา-กลูคาเนส และไซแลนเนสในวัตถุดิบอาหารอื่นๆ ด้วย เช่น ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี และข้าวไรย์ ซึ่งใช้ได้ดีในเวลาต่อมา รวมทั้งได้ใช้เพิ่มเติมในอาหารสัตว์อื่นๆ ด้วยนอกจากไก่เนื้อแล้ว

เอนไซม์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ของสารอาหาร น้ำย่อยจากสัตว์อาจไม่สามารถย่อยสารอาหารได้ต่างๆ ได้ครบถ้วน ฉะนั้นการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหารย่อมลดน้อยลง ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบและชนิดสัตว์ด้วย เช่น สัตว์กระเพาะเดี่ยวจะไม่มีเอนไซม์ทำหน้าที่ในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีส่วนประกอบของกากสูงได้โดยตรง การย่อยของสัตว์กระเพาะเดี่ยวยังจะลดน้อยลงตามปริมาณกากในวัตถุดิบอาหารสัตว์ชนิดนั้นๆ หรือการใช้เอนไซม์ไฟเตส(phytase) เพื่อช่วยเพิ่มการย่อยได้ของแร่ธาตุฟอสฟอรัสในพืช ซึ่งอยู่ในรูปที่สัตว์ใช้ ประโยชน์ได้น้อย เป็นต้น

เอนไซม์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยของคาร์โบไฮเดรตประเภทไม่ใช่แป้ง (non-starch polysaccharide หรือ NSP) การย่อย NSP ของสัตว์กระเพาะเดี่ยวนั้น มีประสิทธิภาพต่ำมากขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่วัตถุดิบอาหารสัตว์อยู่ในกระเพาะ และปริมาณแบคทีเรียในลำไส้ โดยทั่วไปแล้วอาจกล่าวได้ว่า สัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่นั้นไม่สามารถย่อย NSP ได้เลย ยกเว้นในสุกรการย่อยสลายนั้นเกิดขึ้นได้ในส่วนของลำไส้ใหญ่ โดยอาศัยจุลินทรีย์ในลำไส้เป็นหลัก การผลิตสัตว์ในปัจจุบันจึงได้มีการพัฒนาเอนไซม์มาเพื่อช่วยย่อยส่วนของ NSP ให้อยู่ในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว (monosaccharides) ที่เป็นประโยชน์ต่อตัวสัตว์ต่อไป เช่น การใช้เอนไซม์เฮมิเซลลูเลสและเซลลูเลส เป็นต้น

นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณเอนไซม์เพื่อช่วยการย่อยสารอาหารได้ดีขึ้น ในการผลิตเอนไซม์ในสัตว์นั้นอาจมีปริมาณไม่พอเพียงกับสารอาหาร โดยเฉพาะกับสัตว์เล็กหรือสัตว์สูงอายุนั้นได้มีการเสริมเอนไซม์ลงในอาหารลูกสุกรและลูกไก่ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการย่อยอาหารให้ดียิ่งขึ้น เช่น ลูกสุกรแรกเกิดในช่วงสองถึงสามสัปดาห์จะมีปริมาณเอนไซม์แล็กเทสสูงมากเพื่อย่อยน้ำตาลแล็กโทสในน้ำนม จากนั้นจะลดลงจนเกือบเป็นศูนย์ ดังนั้นน้ำตาลหรือคาร์โบไฮเดรตในรูปอื่นๆ ก็จะมีการย่อยได้ต่ำ การเสริมเอนไซม์ลงในอาหารลูกสุกรจึงเป็นทางหนึ่งที่จะช่วยให้การย่อยอาหารดีขึ้น

2.2 องค์ประกอบของพืชอาหารสัตว์

อาหารสัตว์มีส่วนประกอบสำคัญ คือ ผนังเซลล์พืช ประเภทของผนังเซลล์พืชเป็นส่วนที่สำคัญ เพราะมีผลต่อการย่อยอาหารโดยเฉพาะ ในอาหารที่ใช้เลี้ยงสัตว์เพื่อผลิตเป็นเนื้อ ส่วนประกอบของเซลล์พืชประกอบด้วย ชั้นนอกเรียกว่า ผนังเซลล์พืชหลัก ชั้นที่สองภายในเซลล์เรียกว่า ผนังเซลล์รอง (ชวนพิศแดงสวัสดิ์ 2544) เซลล์พืชนั้นประกอบด้วยโพลีเมอร์องค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาล กลูโคสที่เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic เฮมิเซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีมากเป็นอันดับรองจากเซลลูโลส เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลเพนโตส หรือน้ำตาลเฮกโซส ได้แก่ กลูแคน (glucan) แมนแนน (mannan) และไซแลน (xylan) โดยมีไซแลนเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนลิกนินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนประเภทพอลิฟีนอลิก (polyphenolic) เกาะกันเป็นกลุ่มใหญ่และห่อหุ้มเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเอาไว้ข้างใน (Wong et al, 1988)

ชนิดของเยื่อใยที่สำคัญในพืชอาหารสัตว์มี 3 ชนิด คือ เฮมิเซลลูโลส เซลลูโลสและลิกนิน สำหรับวิธีการที่ใช้วิเคราะห์หาชนิดและปริมาณของเยื่อใยแต่ละชนิดเรียกว่า Detergent Analysis ซึ่งวิธีการนี้เป็นวิธีที่มี ความเหมาะสมอย่างยิ่ง สำหรับการวิเคราะห์อาหารสัตว์ที่มี เยื่อใยสูงๆ เช่น พืชอาหารสัตว์

การวิเคราะห์ด้วยวิธีนี้จะสามารถแยกส่วนของอาหารสัตว์หรือพืชอาหารสัตว์ในรูปของวัตถุแห้งออกได้ 2 พวกใหญ่ๆ คือ

2.2.1 ส่วนที่อยู่ภายในเซลล์พืชทั้งหมด เรียกว่า Cell Contents หรือ Neutral Detergent Soluble (NDS) ประกอบด้วย น้ำตาล แป้ง คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ (Water soluble carbohydrate) กรดอะมิโนโปรตีนพวก Soluble protein สารประกอบพวก Non-protein nitrogen ไขมัน เรซิน แทนนิน เพคติน และวิตามินพวก Water soluble vitamin เป็นต้น น้ำย่อยของสัตว์ทุกชนิดสามารถย่อยวัตถุแห้งนี้ได้เกือบทั้งหมดและสัตว์สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้

2.2.2. ส่วนที่เป็นผนังเซลล์ของพืชทั้งหมด เรียกว่า Cell wall constituents หรือ Neutral Detergent Fiber (NDF) ได้แก่ เยื่อใยทั้งหมด คือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน นอกจากนี้ยังมี คิวติน ซิลิกา และเคราติน ประกอบอีกบ้างเล็กน้อย น้ำย่อยในกระเพาะหรือลำไส้ของสัตว์ทั่วไปไม่สามารถย่อยเยื่อใยเหล่านี้ได้ สัตว์เหล่านี้จึงไม่สามารถใช้ประโยชน์ได้ ยกเว้นสัตว์เคี้ยวเอื้องและสัตว์จำพวกม้า กระต่าย ซึ่งมีจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยเซลลูโลส และ เฮมิเซลลูโลส ให้เป็น Volatile Fatty Acid (VFA) อยู่ในกระเพาะรูเมนและลำไส้ส่วน Caecum ซึ่งสัตว์จะสามารถดูดซึม VFA ไปใช้ประโยชน์ได้ต่อไป (Schroeder.2004) NDF แบ่งได้เป็น 2 พวก คือ

2.2.2.1 เยื่อใยพวก Acid Detergent Soluble

เฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ชั้นที่สองของพืช เป็นสารประกอบพวก คาร์โบไฮเดรตที่ไม่ละลายน้ำ ประเภท Hetero-generous polysaccharide คือ มีโมเลกุลของน้ำตาลหลายชนิดมาเกาะติดกัน ได้แก่ กลูโคส แกลกโตส แมนโนส ไซโรสอะราบินอส และกรดยูโรนิค เฮมิเซลลูโลสสามารถละลายได้ดีในกรดอ่อนและด่างอ่อน เฮมิเซลลูโลสในพืชตระกูลหญ้าจะประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาลไซโรสมาเชื่อมต่อกันแบบ เบต้า 1-4 เป็นสายยาว และมีกิ่งก้านสาขาที่ประกอบด้วยกรดเมทิลกลูคิวโรนิค กลูโคส กาแลคโตสและ อะราบินอส (Dekker and Richards, 1976) พืชตระกูลหญ้าจะมีเฮมิเซลลูโลสสูงกว่าพืชตระกูลถั่ว จะพบเฮมิเซลลูโลสมากที่ส่วนใบของพืช พืชที่กำลังงอกจะใช้เฮมิเซลลูโลสที่มีในเมล็ดเป็นอาหาร เนื่องจากสัตว์ทุกชนิดไม่มีน้ำย่อยสำหรับย่อยเฮมิเซลลูโลส แต่จุลินทรีย์ในระบบการย่อยอาหารของสัตว์เคี้ยวเอื้อง ม้าและกระต่าย สามารถย่อยเฮมิเซลลูโลสให้เป็น VFA ได้ ดังนั้นสัตว์เหล่านี้จึงสามารถใช้ประโยชน์จากเฮมิเซลลูโลสได้ แต่เนื่องจากในพืชอาหารสัตว์จะพบเฮมิเซลลูโลสอยู่ร่วมกับลิกนินที่บริเวณผนังเซลล์ชั้นที่สอง ดังนั้น ลิกนินจึงขัดขวางการย่อยได้ของเฮมิเซลลูโลส ทำให้เฮมิเซลลูโลสถูกย่อยได้ไม่หมด การที่เฮมิเซลลูโลสจะถูกย่อยได้มากน้อยเพียงใด ขึ้นอยู่กับปริมาณของลิกนินถ้าพืชอาหารสัตว์ 2 ชนิด มีปริมาณเฮมิเซลลูโลสเท่ากัน แต่พืชอาหารสัตว์ชนิดแรกมีลิกนินต่ำกว่าพืชอาหารสัตว์ชนิดที่สอง การย่อยได้ของเฮมิเซลลูโลสของพืชอาหารสัตว์ชนิดแรกจะย่อยได้มากกว่าการย่อยเฮมิเซลลูโลสของพืชอาหารสัตว์ชนิดที่สอง การทำลายพันธะที่เชื่อมระหว่างเฮมิเซลลูโลสกับลิกนินทำได้โดยใช้สารประเภทด่างหรือสาร Oxidizing agent สารนี้จะไปทำลายพันธะระหว่างเฮมิเซลลูโลสกับลิกนินทำให้การย่อยได้ของเฮมิเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้น

2.2.2.2 เยื่อใยพวก Lignocellulose หรือ Acid Detergent Fiber (ADF)

ประกอบด้วย เซลลูโลส และลิกนิน นอกจากนี้จะมี คิวติน และ ซิลิกา อีกบ้างเล็กน้อย ส่วนประกอบของผนังเซลล์พืชส่วนใหญ่จะเป็นเซลลูโลสซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตพวกที่ไม่ละลายน้ำ มีสูตรโครงสร้างที่มีโมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสมาต่อกันแบบเบต้า 1-4 เป็นสายยาว ไม่มีกิ่งก้านสาขา โดยมีอ็อกซิเจนเป็นตัวเชื่อมระหว่างโมเลกุลของกลูโคส แต่ละโมเลกุลของเซลลูโลสจะประกอบด้วยโมเลกุลของน้ำตาล

กลูโคสอย่างน้อย 1000 โมเลกุล นั่นคือ น้ำตาลกลูโคสที่ผนังเซลล์ของพืชจะอยู่ที่เซลล์ลูโลสทั้งหมด การที่โมเลกุลของกลูโคสมาต่อกันทำให้โมเลกุลของเซลล์ลูโลสมีความแข็งแรง ถูกย่อยด้วยกรดอ่อนและด่างอ่อนได้ยากแต่กรดแก่สามารถไฮโดรไลต์เซลล์ลูโลสให้เป็นกลูโคสได้ น้ำย่อยของสัตว์ทุกชนิดไม่สามารถย่อยเซลล์ลูโลสได้ แต่จุลินทรีย์ที่อยู่ในกระเพาะรูเมนของสัตว์เคี้ยวเอื้องและลำไส้เล็กของม้าและกระต่ายสามารถย่อยเซลล์ลูโลสได้ ดังนั้น สัตว์เคี้ยวเอื้อง ม้า และกระต่าย จึงสามารถใช้เซลล์ลูโลสเป็นประโยชน์ได้ แต่การย่อยได้ของเซลล์ลูโลสจะมากหรือน้อยเพียงใดนั้นขึ้นอยู่กับปริมาณของลิกนิน เช่นเดียวกับกรณีของเฮมิเซลล์ลูโลส

ลิกนิน เป็นเยื่อใยที่เป็นสารประกอบ โพลีเมอร์ ของพวก Phenylpropanoid ประกอบด้วยธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน ออกซิเจน และ ไนโตรเจน โดยมีไนโตรเจนประกอบอยู่ประมาณ 1-5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของพืช ลิกนินเป็นส่วนประกอบที่สำคัญของผนังเซลล์พืช ทำให้ผนังเซลล์พืชแข็งแรง เป็นส่วนประกอบของเปลือก ชัง หรือ ส่วนที่เป็นเยื่อใยของราก ลำต้น และจะถูกสร้างจากส่วนโคนต้นไปสู่ยอดเมื่อพืชมีอายุมากขึ้นปริมาณลิกนินก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วย (Schroeder.2004)

2.3 การคัดแยกแบคทีเรียจากกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้อง

สัตว์เคี้ยวเอื้องกินพืชเป็นอาหารหลัก ในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องจึงมีจุลินทรีย์อาศัยอยู่หลายชนิด คือ แบคทีเรีย โปรโตซัว และ เชื้อรา จุลินทรีย์เหล่านี้จะช่วยให้การสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยเยื่อใยพืชเปลี่ยนเป็นโภชนะ แต่ชนิดและสัดส่วนของจุลินทรีย์อาจแปรผันไปได้ขึ้นอยู่กับอาหารที่สัตว์ได้รับ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโภชนะประเภทที่เกิดการหมักย่อยได้ อย่างไรก็ตามในกระเพาะหมักของสัตว์เคี้ยวเอื้องนั้นมีจำนวนประชากรของแบคทีเรียมากที่สุด โดยในโคกระปือที่ปล่อยเลี้ยงตามธรรมชาติในชนบทของประเทศไทย พบจำนวนแบคทีเรียในกระเพาะหมักของกระปือ 1.61×10^9 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ขณะที่โนโคมีแบคทีเรียอยู่ 1.36×10^8 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (Wanapat, 2001) ในการศึกษาประชากรของแบคทีเรียในกระเพาะหมักของกระปือปลักในประเทศไทยด้วยวิธีทางชีวโมเลกุลโดยการวิเคราะห์รหัสพันธุกรรมของยีน 16S rRNA พบว่ามีความหลากหลายของประชากรแบคทีเรียอยู่สูง โดยมีกลุ่มประชากรแบคทีเรีย Low G+C gram-positive bacteria มากที่สุดถึง 57.8% และเป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ในกลุ่มเซลล์ลูเลสและไซลแลนเนสได้ นอกจากนี้ยังพบว่ามีแบคทีเรียชนิดใหม่ที่ยังไม่เคยรายงานมาก่อนด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อ (unculturable bacteria) อยู่ถึง 56.07% (ศรัณยา สติธย์มันวิวัฒน์. 2551) แสดงได้กระเพาะเลี้ยงเชื้อจากกระเพาะหมักของกระปือในประเทศไทยสามารถค้นพบแบคทีเรียสายพันธุ์ใหม่ๆได้

จากรายงานการเพาะเลี้ยงเชื้อจากกระเพาะหมักของโค พบว่ามีแบคทีเรียที่ย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตเป็นแบคทีเรียกลุ่มใหญ่ที่สุด โดยพบแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเซลล์ลูโลส ได้แก่ *Fibrobacter succinogenes* (*Bacteroides succinogenes*) , *Ruminococcus flavefaciens*, *R. albus*, *Clostridium cellobioparum*, *Cl. Longisporum*, *Cl. Lochheadii*, *Eubacterium cellulosolvens* (*Cillobacterium cellulosolvens*) และแบคทีเรียที่สามารถย่อยสลายเฮมิเซลล์ลูโลส ได้แก่ *Butyrivibrio fibrisolvens*, *Prevotella ruminicola* (*Bacteroides ruminicola*), *Eubacterium uniformis* *E. xylanophilum* (Kamra, 2005)

การคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลล์ลูเลสจากของเหลวในกระเพาะหมักของโคพื้นเมือง โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็งชนิด rumen fluid glucose cellobiose agar บ่มเชื้อที่ 37 °C ในสภาวะไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 3 วัน โดยพบว่าแบคทีเรียส่วนใหญ่เป็นแกรมบวกรูปกลม และเมื่อแยก

แบคทีเรียที่สลายเซลลูโลสโดยใช้ cellulose agar บ่มที่ 37 °C ในสภาพไร้ออกซิเจนได้แบคทีเรียทั้งหมด 101 ไอโซเลท ตรวจสอบความสามารถในการสลายเซลลูเลส โดยวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า มี 31 ไอโซเลท มีความสามารถสลายเซลลูโลสได้สูง (ระพีพรรณ อินปันแก้ว. 2530)

มานิสา บุพตา (2555) คัดแยกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสจากในกระเพาะกระป๋องอาหาร rumen fluid glucose cellobiose agar บ่มเชื้อในสภาวะไร้อากาศเป็นเวลา 48 ชั่วโมง พบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด 4.8×10^4 CFU/ml คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่มีลักษณะโคโลนีแตกต่างกันได้ 32 ไอโซเลท เมื่อคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยเซลลูโลสและไซแลนบนอาหาร CMC agar และ xylan agar พบแบคทีเรียที่แสดงกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจำนวน 19 ไอโซเลทและเอนไซม์ไซแลนเนสจำนวน 4 ไอโซเลท และเมื่อทำการจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียที่พบกิจกรรมเอนไซม์สูง 6 ไอโซเลท

Sewell *et al* (1989) สามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียชนิดใหม่ได้ 6 ไอโซเลท ที่มีกิจกรรมเอนไซม์ไซแลนเนสจากกระเพาะหมักของโค เมื่อจัดจำแนกสายพันธุ์ยังพบว่ามีความใกล้เคียงกับแบคทีเรีย *Butyrivibrio fibrisolvens* และสามารถย่อยสลายไซแลนจากหญ้า Napier ได้

Oyeleke and Okusanmi (2008) สามารถทำการคัดแยกจุลินทรีย์จากกระเพาะหมักของโค แกะ และแพะ ได้แบคทีเรียกลุ่ม *Pseudomonas aeruginosa* 9.0% *Bacillus* 37.8 % *Micrococcus* 8.1% และ *Streptococcus* 44.3% โดยแบคทีเรียที่แยกได้มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสได้

2.4 เอนไซม์ย่อยเยื่อใยพืช

เอนไซม์ที่มีหน้าที่ย่อยเยื่อใยพืช ได้แก่

2.4.1 เอนไซม์เซลลูเลส

เป็นเอนไซม์ที่กระตุ้นปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะ β -1,4-glucosidic ของโครงสร้างเซลลูโลส ซึ่งให้เป็นน้ำตาลกลูโคส เอนไซม์เซลลูเลสเกิดจากการเหนี่ยวนำการสังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตบนส่วนประกอบที่มีเซลลูโลส (สุริยะ สะวานนท์ .2551) เอนไซม์เซลลูเลสจำแนกออกตามกิจกรรมการทำงานได้ 3 กลุ่ม คือ

- 1) endoglucanase (1,4- β -D-glucan-4-glucanohydrolase) จะย่อยสลายเซลลูโลสไปเป็นกลูโคสเซลโลไบโอสและโอลิโกแซคคาไรด์โดยจะย่อยสลายด้านในของสายเซลลูโลสแบบสุ่ม
- 2) exoglucanase (1,4- β -D-glucanoglucohydrolase) จะย่อยเซลลูโลสและโอลิโกแซคคาไรด์ไปเป็นเซลโลไบโอสโดยจะย่อยสลายด้านปลายของสายเซลลูโลส
- 3) β -glucosidase (β -d-glucosideglucohydrolase) จะย่อยสลายเซลลูไบโอสไปเป็นกลูโคส

2.4.2 เอนไซม์ไซแลนเนส

ไซแลนเนสเป็นเอนไซม์ที่ย่อยสลายโครงสร้างของไซแลนซึ่งเป็นโพลิเมอร์ที่ประกอบด้วยน้ำตาลไซโลส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-D-xylopyranosyl โดยมีหมู่อะราบินอซิล (arabinosyl) กลูคูโรนิล (glucoronyl) หรืออะซิetyl (acetyl) โดยเชื่อมต่อด้านข้างของไซโลสโดยหมู่อะราบินอซิลต่อกับตำแหน่ง O-3 ของไซโลสหมู่กลูคูโรนิลต่อกับตำแหน่ง O-2 ของไซโลสส่วนหมู่อะซิetylต่อกับตำแหน่ง O-3 และ O-2 ของไซโลส (Dekker and Richard, 1976) แบ่งออกเป็น 2 กลุ่มคือ

1) endo-xylanase หรือ 1,4- β -D-xylan- xylanohydrolase EC 3.2.1.8 เอนไซม์ชนิดนี้จะย่อยสลายพันธะ 1,4- β -D-xylanxylosidicแบบสุ่มได้ไซโลสและโอลิโกแซ็กคาไรด์สายสั้นๆเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย(Agboret *al.* 2011)

2) β -xylosidase หรือ 1,4- β -xylan-xylanohydrolase EC 3.2.1.37 เอนไซม์ชนิดนี้จะย่อยสลายพันธะ 1,4- β -D-xylan-xylopyranose ที่ละ 1 หน่วยจากปลายด้านนอกรีติวซ์ (non-reducing end) ได้ไซโลสเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย

2.5 การเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์

Iyayi *et al* (2005) ได้ทำการศึกษา ใช้อาหารจำนวน 3 สูตร ดังนี้ สูตรที่ 1: อาหารเลี้ยงไก่กระตังพื้นฐานที่มีข้าวโพดเป็นหลักซึ่งปราศจากการเสริมเอนไซม์ สูตรที่ 2: กากเปียร์แห้ง (BDG) เสริมเอนไซม์ และสูตรที่ 3: กากเนื้อเมล็ดปาล์มน้ำมัน (PKM) เสริมเอนไซม์ ซึ่งอาหารแต่ละสูตรแบ่งออกเป็น 4 กลุ่ม พบว่า เมื่อเลี้ยงด้วยอาหาร BDG และ PKM ที่เสริมด้วยเอนไซม์ไก่ในระยะเล็ก (starter phase) มีการเจริญเติบโตและอัตราการกินอาหารสูงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) เมื่อถึงระยะก่อนส่งตลาด (finisher phase) พบอัตราการกินอาหารมีค่าเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) จากการเลี้ยงด้วยอาหารเสริมเอนไซม์ แต่การเจริญเติบโตกลับไม่มีผลอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ซึ่งอัตราการเปลี่ยนอาหาร (FCR) ของอาหารสูตรที่เสริมเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในไกระยะเล็ก แต่เมื่อถึงระยะก่อนส่งตลาดพบการเปลี่ยนอาหารต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) อีกทั้งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ของน้ำหนักโครงไกระหว่างการเสริมด้วยเอนไซม์ พบน้ำหนักของตับอ่อนเพิ่มขึ้น และน้ำหนักไตของไก่ที่ได้รับอาหารสูตร BDG และ PKM ที่เสริมเอนไซม์มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) ค่าความสามารถในการถูกย่อยสลายของโปรตีนหยาบ (crude protein), ไขมันรวม (crude fat) และเส้นใย (crude fibre) เมื่อให้อาหารเสริมด้วยเอนไซม์ กลับมีค่าสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การเสริมด้วยเอนไซม์ผสมในอาหารพบว่าช่วยลดปริมาณความต้องการข้าวโพดในอาหารไก่ในระยะเล็กและระยะก่อนส่งตลาดกว่า 31% และ 52% ตามลำดับ

Meng and Slominki (2005) รายงานว่า การเสริมเอนไซม์ไซแลนเนสร่วมกับเอนไซม์เซลลูเลส (Cellulase) สามารถย่อยเยื่อใยในกากเมล็ดทานตะวัน รำสัคน้ำมัน และอาหารไก่เนื้อได้ดี ส่วนในกากถั่วเหลืองพบว่า เอนไซม์เพคติเนสจะให้ผลการย่อยเยื่อใยได้ดีที่สุดแต่อย่างไรก็ตามการเสริมเอนไซม์ไซแลนเนสเซลลูเลส และเพคติเนสรวมกันน่าจะส่งผลที่ดีที่สุด

Tufarelli *et al.* (2007) กล่าวว่า การเสริมเอนไซม์ไซแลนเนสและขนาดของอนุภาคที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพของไก่เนื้อขนดำจุดขาว ที่เลี้ยงด้วยอาหารที่มีข้าวสาลีพบว่า การเสริมเอนไซม์ไซแลนเนสในอาหารที่มาจากข้าวสาลีทำให้ละอียดจะช่วยให้ปรับปรุงประสิทธิภาพในการเจริญเติบโตของไก่เนื้อขนดำจุดขาว

Lü *et al.* (2009) ศึกษาเอนไซม์โดยเติมในอาหารไก่กระตังโดยผสมในสูตรอาหาร เอนไซม์ที่ใช้ได้แก่ เอนไซม์เบต้า-กลูคาเนส (β -glucanase) เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) เอนไซม์เฮมิเซลลูเลส (hemicellulase) เอนไซม์ไฟเตส (phytase) เอนไซม์โปรตีเอส (protease) และสารปรุงแต่งอาหารสัตว์ พบว่าการใช้เอนไซม์ในอาหารของสัตว์ช่วยปรับปรุงการย่อยให้ดีขึ้น มีเนื้อเพิ่มขึ้น

Abudabos (2010) ได้ทำการศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ทางการค้า Bergazyme P ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์เบต้า-เพนโตซานาส (β -pentosanase), แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase), กลูคาเนส

(glucanases) และกาแลคโตแมนเนส (galactomannases) ด้วยการผสมในอาหารสัตว์ในสัดส่วน ข้าวโพด-กากถั่วเหลืองตามมาตรฐานอาหารที่เลี้ยงไก่กระทงอายุ 1-49 วัน ใช้ไก่พันธุ์ Cobb 500 จาก ฟาร์มเชิงพาณิชย์ (commercial hatchery) อายุ 1 วันจำนวน 800 ตัว แบ่งไก่ออกเป็น 3 กลุ่มตามสูตรอาหาร คือ สูตร T1: อาหารข้าวโพด-กากถั่วเหลืองไม่เสริมเอนไซม์ (สูตรควบคุม), สูตร T2: T1+ Bergazyme P/t 250 g และสูตร T3: T1+ Bergazyme P/t 500 g พบว่า การเสริมเอนไซม์ Bergazyme P ปริมาณ 250 g/t ผสมในอาหารสัตว์ เป็นการเพิ่มสมรรถภาพการผลิตไข่ จากการพบระดับความสามารถย่อยโปรตีนที่มีค่าค่อนข้างสูง

Shirmohammad *et al* (2011) ศึกษาผลของการเสริมด้วยเอนไซม์ REAP[®] ในอาหารข้าวโพด-ถั่วเหลืองต่อการใช้พลังงานของลูกไก่และผลต่อสมรรถภาพของไก่กระทง ใช้ไก่ตัวผู้ พันธุ์อีซ่า-บราวน์ (Isa-Brown) อายุ 50 สัปดาห์ และให้อาหารที่มีค่าพลังงาน 2 ระดับ (2650 และ 1759 kcal TME_n/kg diet) ผสมกับเอนไซม์ REAP[®] ความเข้มข้น 0 และ 0.1% เพื่อศึกษาค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ (AME) และแบ่งไก่เพศผู้พันธุ์รอส (Ross) อายุ 3 วัน ศึกษาผลของการให้อาหารที่มีค่าพลังงาน 2 ระดับ (3100 และ 2980 kcal TME_n/kg diet) ผสมกับเอนไซม์ REAP[®] ความเข้มข้น 0 และ 0.1% พบว่า อาหารสัตว์ที่เสริมด้วย REAP[®] ช่วยปรับปรุงน้ำหนักร่างกายและลดไขมันในช่องท้อง ดังนั้นอาจสรุปได้ว่าอาหารสัตว์ที่เสริมด้วยเอนไซม์ REAP[®] ช่วยปรับปรุงคุณค่าสารอาหารของอาหารที่มีข้าวโพด-กากถั่วเหลืองเป็นหลักที่ใช้เลี้ยงไก่กระทง

Sharmila *et al* (2014) ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ไซแลนเนสและเอนไซม์เซลลูเลสในอาหารที่มีกากเนื้อเมล็ดปาล์มน้ำมัน (PKM) เป็นองค์ประกอบหลัก ต่อสมรรถภาพการเจริญ สุ่มไก่พันธุ์ Cobb เพศผู้ อายุ 75 วัน เลี้ยงด้วยสูตรอาหาร T1 (PKM 20% ปราศจากการเสริมด้วยเอนไซม์), สูตร T2 (PKM 20% เสริมด้วยเอนไซม์ไซแลนเนส) และสูตร T3 (PKM 20% เสริมด้วยเอนไซม์เซลลูเลส) โดยเสริมเอนไซม์แต่ละชนิดที่ความเข้มข้น 200 U/kg of feed โดยไก่ทั้งหมดเมื่ออายุ 35 วันจะถูกนำไปฆ่า และเก็บลำไส้ส่วนต้นด้วยเทคนิคปลอดเชื้อเพื่อวิเคราะห์ปริมาณ VFAs และนับประชากรแบคทีเรีย การเสริมด้วยเอนไซม์ไซแลนเนสและเอนไซม์เซลลูเลสในอาหาร PKM พบผลต่อสมรรถภาพการเจริญ, จำนวนประชากรแบคทีเรียในลำไส้ส่วนต้น และปริมาณ VFAs ที่แตกต่างกัน โดยพบว่า PKM ที่เสริมด้วยเอนไซม์เซลลูเลสช่วยลดการสะสมอาหารได้อย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับ PKM ที่เสริมด้วยเอนไซม์ไซแลนเนส และอาหาร PKM ที่ปราศจากการเสริมด้วยเอนไซม์ ซึ่งน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้นและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) สะสมในแต่ละทริตเมนต์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ผลของการเสริมด้วยเอนไซม์ไซแลนเนสและเอนไซม์เซลลูเลสต่อการเจริญของไก่กระทง มีความสัมพันธ์ของอัตราการกินอาหารที่มากขึ้นและช่วยลดจำนวนประชากรแบคทีเรียก่อโรคลำไส้ส่วนต้น ซึ่งอาหารที่เสริมด้วยเอนไซม์ไซแลนเนสมีประโยชน์ช่วยให้ไก่กระทงเพิ่มการสะสมการกินอาหาร มีน้ำหนัก และ FCR สูงขึ้น

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างเชื้อแบคทีเรีย

เชื้อแบคทีเรียไอโซเลทหมายเลข ID2R1P1 คัดแยกได้จากของเหลวในกระเพาะหมักของกระบือที่เก็บตัวอย่างมาจากโรงฆ่าสัตว์เขตหนองจอก กรุงเทพมหานคร เพาะเลี้ยงด้วยอาหาร Rumen Fluid Glucose Cellobiose Agar บ่มเชื้อในสภาวะไร้อากาศ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง (Dehority and Grubb, 1976) มีกิจกรรมเอนไซม์บนอาหารแข็ง CMC agar และ xylan agar โดยเกิดโซนใสรอบโคโลนีวัดเส้นผ่านศูนย์กลางได้ 2.53 ± 0.37 เซนติเมตร และ 2.09 ± 0.13 เซนติเมตร ตามลำดับ เก็บเชื้อที่แยกได้ในสารละลายกลีเซอรอล 30 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส (มานิสา บุพตา, 2555)

3.2 ตัวอย่างวัตถุดิบอาหารสัตว์

วัตถุดิบพืชอาหารสัตว์ที่ใช้ในการทดลอง ได้แก่ ปลายข้าว รำข้าว กากถั่วเหลือง ข้าวโพด มันสำปะหลัง (มันเส้น) และฟางข้าว โดยปลายข้าว รำข้าว กากถั่วเหลือง ข้าวโพด และมันเส้น ซื้อจากแหล่งจำหน่ายวัตถุดิบสำหรับผลิตอาหารสัตว์ เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร ส่วนฟางข้าวขอความอนุเคราะห์จากเกษตรกร เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร อาหารสัตว์ที่ใช้เป็นอาหารไก่เนื้อเบทาโกร 204

3.3 การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเอนไซม์

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในสูตรอาหารเหลวของ Berg *et al* (1972) โดยใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์เป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ ปลายข้าว รำข้าว กากถั่วเหลือง ข้าวโพด มันสำปะหลัง (มันเส้น) และฟางข้าว โดยปั่นให้เล็กลงด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้ ร้อนผ่านตระแกรงขนาด 40 mesh ล้างน้ำตาลออกด้วยน้ำกลั่น กรองน้ำทิ้ง แล้วอบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง (วิมลทิพย์ ไตรปัญญา และคณะ, 2550) ผสมในอาหารเหลวที่ระดับความเข้มข้น 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ตามลำดับ บ่มไว้ในตู้บ่มที่เขย่าในความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างน้ำหมักที่ได้มาแยกเซลล์หลังการบ่ม 24 48 และ 72 ชั่วโมง ตามลำดับ นำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที แยกเก็บส่วนใส นำไปวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสและไซลันเนส จากนั้นจึงนำวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุดทำการทดสอบสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อต่อไป

3.4 การผลิตเอนไซม์

เพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียในสูตรอาหารเหลวของ Berg *et al* (1972) โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ที่ดีที่สุด นำมาปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แยกเก็บส่วนใส ใช้เป็น crude enzyme

3.5 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของโปรตีน

ทำตามวิธีของ Bradford (1976) โดยนำตัวอย่างเอนไซม์ผสมกับน้ำยาวัดโปรตีน (Biorad, USA) ตามวิธีการในคู่มือของบริษัท ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น

แสง 595 นาโนเมตร คำนวณหาค่าความเข้มข้นของโปรตีนเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารละลาย bovine serum albumin (BSA) ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 mg/ml

3.6 การวัดกิจกรรมของเอนไซม์โดยการหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ทำตามวิธีของ Miller (1959) โดยนำเอนไซม์มาผสมกับสารละลายสับสเตรต 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 1 M (pH 7.0) นำไปบ่มที่ 50 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เติมสารละลาย dinitrosalicylic acid (DNS) โดยผสมให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยการทดสอบกิจกรรมเซลลูเลสใช้ CMC เป็นสับสเตรต และใช้กลูโคสสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน ส่วนการ กิจกรรมเซลลูเลสใช้ xylan เป็นสับสเตรตและใช้ไซโลสสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน แต่ละตัวอย่างต้องเตรียมปฏิกิริยา 4 หลอด คือ หลอด reagent control ไม่ใส่ทั้งสับสเตรตและเอนไซม์ หลอด substrate control ใส่สับสเตรตแต่ไม่ใส่เอนไซม์ หลอด enzyme control ใส่เอนไซม์แต่ไม่ใส่สับสเตรต และหลอดทดสอบใส่ทั้งสับสเตรตและเอนไซม์ นำค่าการดูดกลืนแสงของหลอดทดสอบมาหักลบออกด้วยค่าที่ได้จากหลอดควบคุมทั้งสามหลอด นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นโดยเทียบค่าจากกราฟมาตรฐานและคำนวณค่ากิจกรรมเอนไซม์ โดย 1 ยูนิตของเอนไซม์เซลลูเลสหรือไซแลนเนส หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสับสเตรตให้เป็นผลิตภัณฑ์น้ำตาลกลูโคสหรือไซโลส 1 ไมโครโมลต่อ 1 นาที ตามลำดับ ภายใต้สภาวะที่ทำการทดสอบ

3.7 การประเมินสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์

3.7.1 เวลาที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์

บ่มเอนไซม์กับสับสเตรต CMC และ xylan ที่ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 1 M (pH 7.0) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10, 20, 30, 40, 50, 60 นาที ตามลำดับ วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้และนำไป โดยใช้ DNS reagent เลือกระยะเวลาของการบ่มที่ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุดถือเป็นค่าที่เหมาะสม

3.7.2 ค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์

บ่มเอนไซม์กับสับสเตรต CMC และ xylan ที่ละลายในบัฟเฟอร์ 1 M ที่มีค่า pH 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10 และ 11 ตามลำดับ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และเวลาที่เหมาะสม วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้โดยใช้ DNS reagent ค่า pH ของการบ่มที่ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุดถือเป็นค่าที่เหมาะสม

3.7.3 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์

บ่มเอนไซม์กับสับสเตรต CMC และ xylan ที่ละลายในบัฟเฟอร์ 1 M ที่มีค่า pH ที่เหมาะสม บ่มที่อุณหภูมิ 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 65, 70, 75 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในระยะเวลาที่เหมาะสม แล้ววัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้โดยใช้ DNS reagent อุณหภูมิของการบ่มที่ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุดถือเป็นค่าที่เหมาะสม

3.8 การประเมินการย่อยวัตถุดิบพืชอาหารสัตว์

นำตัวอย่างวัตถุดิบพืชอาหารสัตว์มาบดให้เล็กลงด้วยเครื่องบดน้ำผลไม้ ล้างน้ำตาลออกจากน้ำกลั่น กรองน้ำทิ้ง แล้วอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ทำการย่อยตัวอย่างวัตถุดิบพืชอาหารสัตว์ตามวิธีที่ดัดแปลงจาก Wu *et al* (2004) โดยบ่ม crude enzyme 10 ยูนิต กับวัตถุดิบอาหาร

สัตว์ 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) ที่สภาวะที่เหมาะสม เมื่อครบเวลาเติม 1 M HCl 1 มิลลิลิตร และ pepsin 3000 ยูนิต บ่มต่อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 45 นาที เติม pancreatin 5 มิลลิกรัมที่ละลายใน โซเดียมไฮคาร์บอเนตบัฟเฟอร์ 1 M บ่มส่วนผสมต่อที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หยุด ปฏิกริยาบนน้ำแข็ง นำตัวอย่างที่ได้ละลายในบัฟเฟอร์ pH 6.0 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วกรองผ่าน กระดาษกรองเบอร์ 1 แยกเก็บตะกอนไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และเก็บส่วนใสนำไปวิเคราะห์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้

3.9 การวิเคราะห์องค์ประกอบเยื่อใย

ทำการวิเคราะห์น้ำหนักแห้งตามวิธีของ (AOAC, 1990) และเยื่อใยของพืชได้แก่ เซลลูโลส เฮมิ เซลลูโลส และลิกนิน ตามวิธีของ (Van Soest *et al*, 1991) เปรียบเทียบค่าก่อนและหลังการย่อยเยื่อใย ด้วยเอนไซม์ในสภาวะที่เหมาะสม

บทที่4

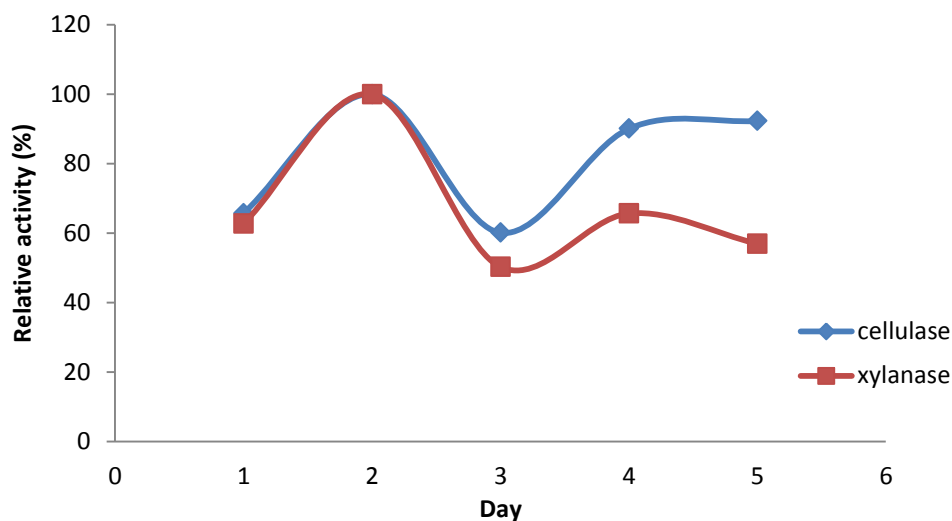
ผลการวิจัย

4.1 สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์

แบคทีเรียที่คัดเลือก คือ ไอโซเลท ID2R1P1 ซึ่งมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสได้สูงจากการทดสอบบนอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารตั้งต้น CMC นำเชื้อมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่ทำให้เชื้อแบคทีเรียมีกิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุด โดยทำการศึกษาผลของอุณหภูมิ pH รวมถึงแหล่งไนโตรเจนและระยะเวลาที่เหมาะสม

4.1.1 ผลของระยะเวลาการบ่มเชื้อ

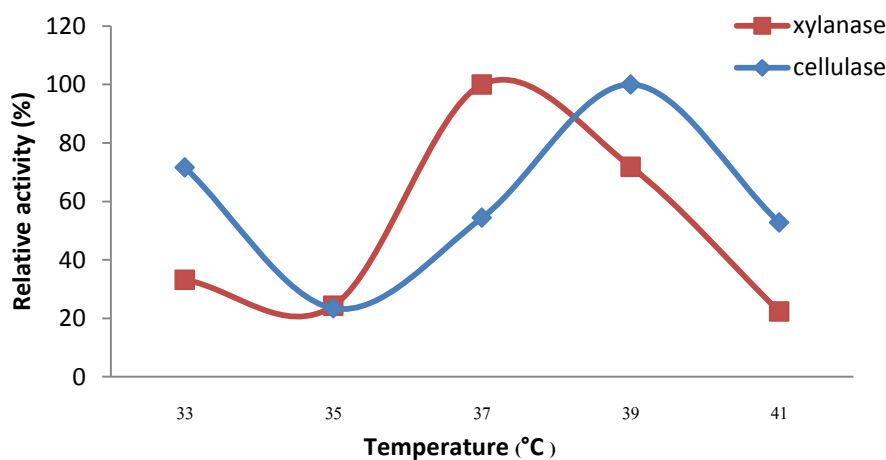
เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 ในอาหาร CMC broth และ xylan broth บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาแตกต่างกันคือ 1, 2, 3, 4 และ 5 วัน ตามลำดับ ในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 230 รอบต่อนาที และวัดกิจกรรมเอนไซม์พบว่าไอโซเลท ID2R1P1 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร CMC broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และ xylan broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 2 วัน โดยมีค่าของเอนไซม์เซลลูเลส เท่ากับ 1.248 ± 0.014 U/ml มีค่าเอนไซม์ไซแลนเนสเท่ากับ 50.728 ± 0.113 U/ml ตามลำดับ (ภาพที่ 4.1)



ภาพที่ 4.1 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในช่วงเวลาการเลี้ยงเชื้อ 5 วัน

4.1.2 ผลของอุณหภูมิการบ่มเชื้อ

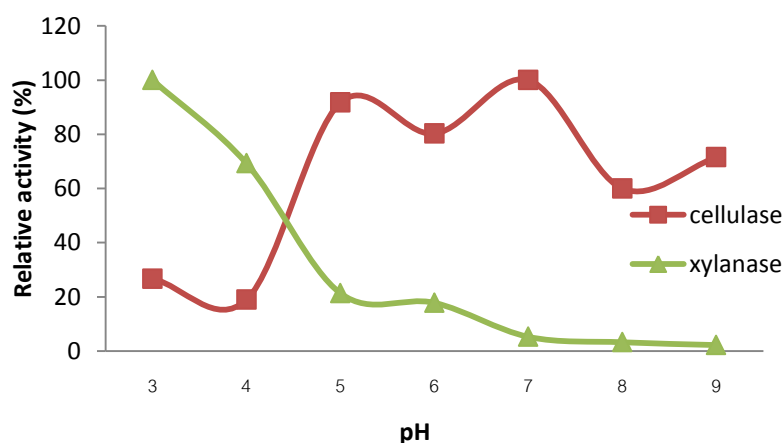
เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 ในอาหาร CMC broth และ xylan broth บ่มที่อุณหภูมิต่าง ๆ คือ 33, 35, 37, 39 และ 41 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน ในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 230 รอบต่อนาที พบว่า ไอโซเลท ID2R1P1 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหาร CMC broth ที่อุณหภูมิ 39°C และ xylan broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยมีค่าของเอนไซม์เซลลูเลส เท่ากับ 1.946 ± 0.013 U/ml มีค่าเอนไซม์ไซแลนเนสเท่ากับ 57.439 ± 0.019 U/ml ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าการผลิตเอนไซม์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิการบ่มเชื้อสูงขึ้น (ภาพที่ 4.2)



ภาพที่ 4.2 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในช่วงอุณหภูมิการบ่มเชื้อที่แตกต่างกัน

4.1.3 ผลของความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 ในอาหาร CMC broth และ xylan broth ที่ปรับค่า pH 3.0, 4.0, 5.0, 6.0, 7.0, 8.0 และ 9.0 ตามลำดับ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส และ 37 องศาเซลเซียส ตามลำดับเป็นเวลา 2 วัน พบว่า ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุด ของเอนไซม์เซลลูเลส เท่ากับ 2.034 ± 0.039 U/ml เมื่อเพาะเลี้ยงที่ pH 7.0 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซแลนเนสสูงสุด เท่ากับ 183.272 ± 0.011 U/ml เมื่อเพาะเลี้ยงที่ pH 3.0 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.3)

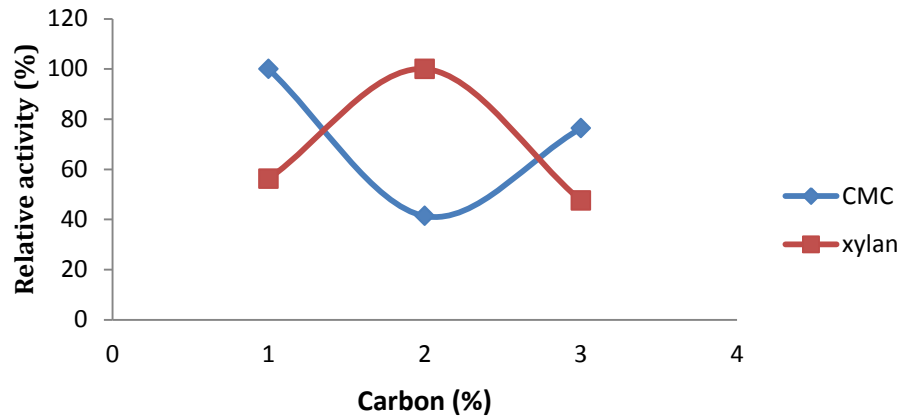


ภาพที่ 4.3 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างต่างกัน

4.1.4 ผลของปริมาณแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ

เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 ในอาหาร CMC broth และ xylan broth ที่มีแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันคือ CMC 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และปรับค่า pH 7.0 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วันและอาหาร xylan broth จะใช้แหล่งคาร์บอนคือ xylan 1, 2 และ 3 เปอร์เซ็นต์ ปรับค่า pH 3.0 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน พบว่า มีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี CMC 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสเท่ากับ

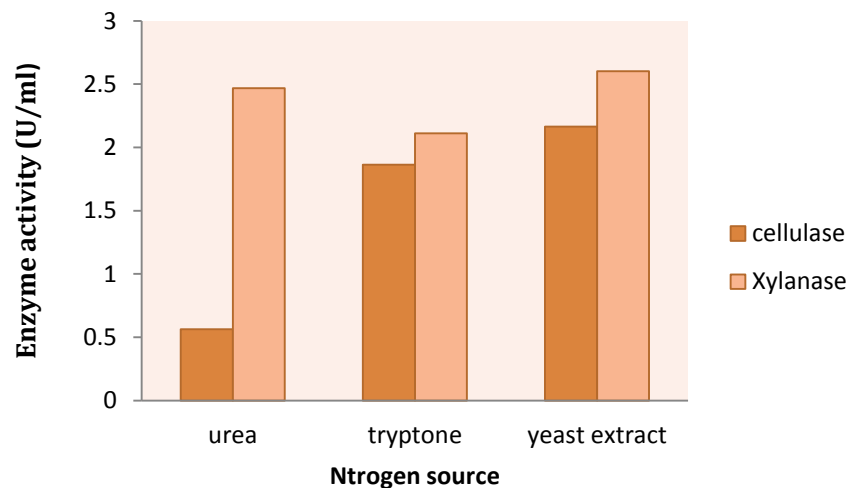
0.821 ± 0.002 U/ml และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซแลนเนส เท่ากับ 134.004 ± 0.012 U/ml เมื่อเลี้ยงใน xylan 2 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 4.4)



ภาพที่ 4.4 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสที่ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน

4.1.5 ผลของชนิดแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ

เมื่อเพาะเลี้ยงแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 ในอาหาร CMC broth และ xylan broth ที่มีแหล่งไนโตรเจนที่ต่างกันคือ yeast extract, urea และ tryptone ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ และปรับค่า pH 7.0 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วันและอาหาร xylan broth ปรับค่า pH 3.0 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน พบว่า มีกิจกรรมเอนไซม์สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มี yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส เท่ากับ 2.612 ± 0.040 U/ml และมีค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซแลนเนส เท่ากับ 3.641 ± 0.032 U/ml ตามลำดับ (ภาพที่ 4.5)



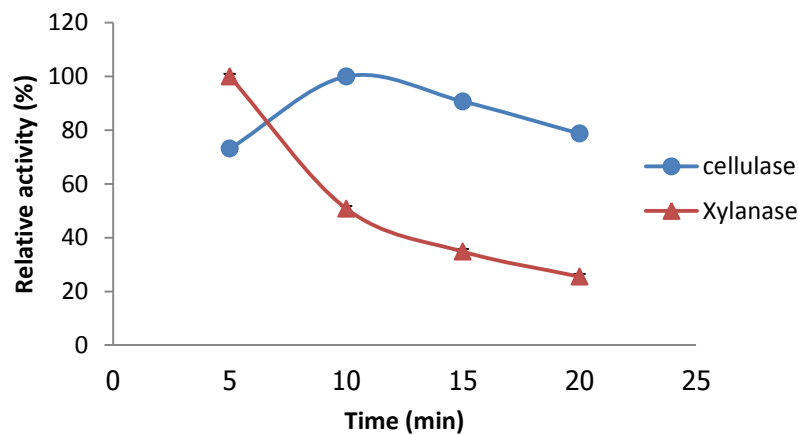
ภาพที่ 4.5 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในอาหาร CMC broth และ xylan broth โดยใช้แหล่งไนโตรเจนต่างกัน

4.2 คุณสมบัติการทำงานของเอนไซม์

เพื่อให้ทราบถึงคุณสมบัติการทำงานของเอนไซม์ที่ผลิตได้จากไอโซเลท ID2R1P1 ที่คัดแยกจากกระเพาะรูเมนกระบือ จึงต้องทำการศึกษาระยะเวลาในการบ่ม pH และอุณหภูมิที่เอนไซม์จะทำงานได้ประสิทธิภาพสูงที่สุด โดยนำ crude enzyme ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเชื้อมาศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์

4.2.1 ผลของระยะเวลาต่อการทำงานของเอนไซม์

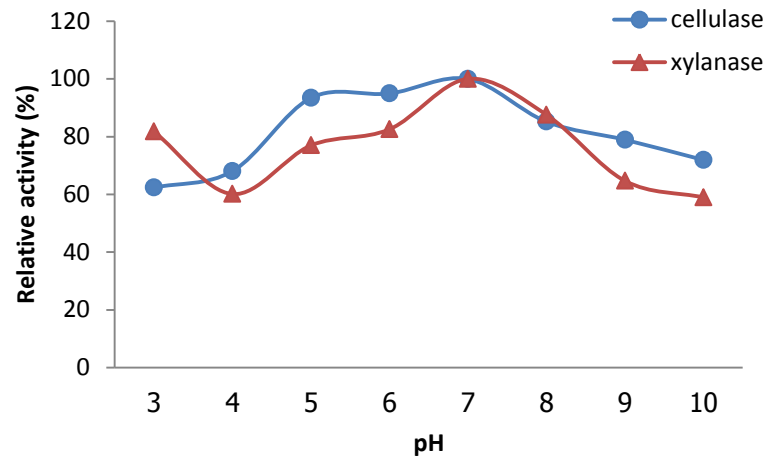
ทดสอบการทำงานของ crude enzyme ที่เวลา 5, 10, 15, 20 นาที เอนไซม์ที่สกัดจากแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 มีค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสสูงที่สุดหลังจากบ่มนาน 10 นาที โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ $17.407 \pm 0.022 \text{ U.mg}^{-1}$ (100%) ขณะที่ค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซแลนเนสสูงที่สุดหลังจากบ่มเป็นเวลา 5 นาที เท่ากับ $229.130 \pm 0.037 \text{ U.mg}^{-1}$ (100%) และเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการบ่มปฏิกิริยาเอนไซม์นานขึ้นพบว่าค่ากิจกรรมเอนไซม์ทั้งสองชนิดลดลงอย่างรวดเร็ว (ภาพที่ 4.6)



ภาพที่ 4.6 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส (100% = $17.407 \pm 0.022 \text{ U.mg}^{-1}$) และไซแลนเนส (100% = $229.130 \pm 0.037 \text{ U.mg}^{-1}$) ในช่วงเวลาของการบ่ม 5, 10, 15 และ 20 นาที

4.2.2 ผลของความเป็นกรด-ด่างต่อการทำงานของเอนไซม์

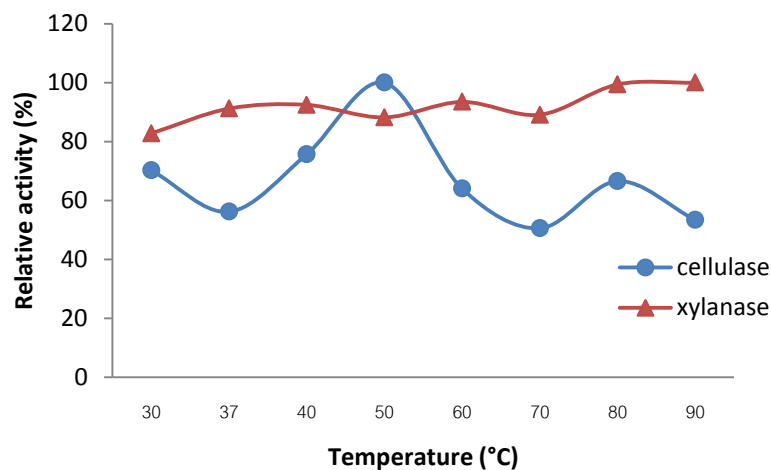
เมื่อบ่ม crude enzyme ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่มี pH 3.0-10.0 พบว่า ที่ระดับ pH 7.0 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ทั้งเซลลูเลสและไซแลนเนสมีค่าสูงสุดคือ $6.154 \pm 0.003 \text{ U.mg}^{-1}$ (100%) และ $372.008 \pm 0.055 \text{ U.mg}^{-1}$ (100%) ตามลำดับ (ภาพที่ 4.7)



ภาพที่ 4.7 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของเอนไซม์เซลลูเลส (100% $6.154 \pm 0.003 \text{ U.mg}^{-1}$) และไซแลนเนส (100% = $372.088 \pm 0.055 \text{ U.mg}^{-1}$) เมื่อปรับที่ระดับ pH 3.0-10.0

4.2.3 ผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์

เมื่อปรับ crude enzyme ในบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท pH 7.0 บ่มเป็นเวลา 10 นาที พบว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เอนไซม์เซลลูเลสมีค่าแอกติวิตีจำเพาะสูงสุดคือ $24.926 \pm 0.002 \text{ U.mg}^{-1}$ (100%) ขณะที่เอนไซม์ไซแลนเนสมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดเมื่อปรับที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เท่ากับ $224.349 \pm 0.067 \text{ U.mg}^{-1}$ (100%) (ภาพที่ 4.8)



ภาพที่ 4.8 ค่าฤทธิ์สัมพันธ์ของเอนไซม์เซลลูเลส (100% = $24.926 \pm 0.002 \text{ U.mg}^{-1}$) และไซแลนเนส (100% = $224.349 \pm 0.067 \text{ U.mg}^{-1}$) เมื่อปรับที่อุณหภูมิ 30-90 องศาเซลเซียส

4.2.4 ความจำเพาะของเอนไซม์ต่อการย่อยสารตั้งต้น (substrate specificity)

เมื่อนำเอนไซม์รวมที่สกัดจากแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 มาทดสอบการย่อยสับสเตรต ได้แก่ CMC, avicel pH101, xylan, และ filter paper (Whatman No. 1) ตามสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ พบว่า เอนไซม์จากไอโซเลท ID2R1P1 สามารถย่อย CMC และ Avicel ได้ใกล้เคียง

กัน โดยมีค่าแอกติวิตีจำเพาะ เท่ากับ $21.243 \pm 0.053 \text{ U.mg}^{-1}$ และ $18.439 \pm 0.016 \text{ U.mg}^{-1}$ ตามลำดับ และสามารถย่อยกระดาษกรองได้ค่าแอกติวิตีจำเพาะ เท่ากับ $8.700 \pm 0.052 \text{ U.mg}^{-1}$ กล่าวได้ว่าเอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 มีกิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสทั้งแบบเอนโดกลูคาเนสและเอกโซกลูคาเนส นอกจากนี้เอนไซม์จากไอโซเลท ID2R1P1 ยังสามารถย่อย xylan ได้ดี โดยมีค่าแอกติวิตีจำเพาะ เท่ากับ $263.980 \pm 0.017 \text{ U.mg}^{-1}$ (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยสารตั้งต้นชนิดต่างๆ

สารตั้งต้น	ค่าแอกติวิตีจำเพาะ (U.mg^{-1})
Xylan*	263.980 ± 0.017
CMC**	21.243 ± 0.053
Avicel pH101**	18.439 ± 0.016
กระดาษกรอง Whatman No. 1**	8.700 ± 0.052

*บ่มปฏิกิริยาที่ pH 7.0 อุณหภูมิ 90°C นาน 5 นาที **บ่มปฏิกิริยาที่ pH 7.0 อุณหภูมิ 50°C นาน 10 นาที

4.3 ผลของการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์

เมื่อทำการศึกษาความสามารถของเอนไซม์ในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ คือ มันสำปะหลังรำข้าว ข้าวโพดและ กากถั่วเหลือง ปริมาณ 1 กรัม ในสภาวะที่เอนไซม์ทำงานดีที่สุดและบ่มเป็นเวลา 30 นาที พบว่าเอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 มีกิจกรรมเอนไซม์การย่อยข้าวโพดได้สูงสุด 28.09 มิลลิกรัมกลูโคส ย่อยรำข้าว มันสำปะหลังได้รองลงมา คือ 27.48 มิลลิกรัมกลูโคส และ 26.85 มิลลิกรัมกลูโคส ตามลำดับ นอกจากนี้ยังสามารถย่อยกากถั่วเหลืองได้ 14.54 มิลลิกรัมกลูโคส (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ย่อยจากวัสดุ 1 กรัม ของเอนไซม์สกัดจากแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1

วัตถุดิบอาหารสัตว์	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัม)
มันสำปะหลัง	26.85
รำข้าว	27.48
ข้าวโพด	28.09
กากถั่วเหลือง	14.54

4.4 ประสิทธิภาพการย่อยอาหารไก่ด้วยเอนไซม์สกัด

เมื่อนำอาหารไก่สำเร็จรูปมาทำการย่อย โดยบ่ม crude enzyme 20 ยูนิต กับอาหารสัตว์ สำเร็จรูป 2 เปอร์เซ็นต์ ที่สภาวะที่เหมาะสม พบว่า เอนไซม์ที่สกัดจากเชื้อแบคทีเรียสามารถย่อยอาหารไก่ สำเร็จรูปได้โดยสามารถย่อย NDF ได้ 3.123 เปอร์เซ็นต์ ย่อย ADF ได้ 0.660 เปอร์เซ็นต์ ย่อยเฮมิเซลลูโลสได้ 2.46 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่พบการย่อยลิกนิน (ตารางที่ 4.3)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณเยื่อใยในอาหารไก่สำเร็จรูปก่อนและหลังการย่อยด้วยเอนไซม์สกัดจากเชื้อ ID2R1P1

Treatment	%NDF	%ADF	%Hemicellulose	% Lignin
Without enzyme	20.60±3.50	6.278±0.81	14.33±3.05	3.782±0.20
With enzyme	17.48±2.35	5.618±1.64	11.87±2.33	4.117±0.23
Digestibility	3.12 %	0.66 %	2.46 %	0%

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

งานวิจัยครั้งนี้ ใช้แบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส ID2R1P1 ที่คัดแยกจากกระเพาะรูเมนกระบือ พบว่า ไอโซเลทมีความสามารถในการย่อยบนอาหารแข็ง CMC agar และ xylan agar มีค่าวงใสของย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสสูง เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 มาเลี้ยงในอาหาร CMC broth ที่ความเข้มข้น CMC 1 เปอร์เซ็นต์ และ yeast extract 0.1 เปอร์เซ็นต์ เป็นระยะเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิ 39 องศาเซลเซียส pH 7.0 เขย่าด้วยความเร็วรอบ 230 รอบต่อนาที พบว่า เอนไซม์เซลลูเลสสามารถทำงานได้ดีที่ 10 นาที pH 7.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ขณะที่เอนไซม์ไซแลนเนสเป็นเอนไซม์ที่ทำงานได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 30-90 องศาเซลเซียส เอนไซม์ที่สกัดจากไอโซเลท ID2R1P1 มีคุณสมบัติแบบ multienzyme complex คือสามารถย่อยได้ทั้งสารตั้งต้นคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) และไซแลน (xylan) แต่สามารถย่อยกระดาศกรองได้น้อย จึงจัดอยู่ในกลุ่มเอนโดกลูคาเนส (endoglucanase)

เอนไซม์ที่ผลิตจากแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 มีความสามารถในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ได้ โดยนำมาย่อยข้าวโพดบดหยาบ รำข้าว มันสำปะหลังและกากถั่วเหลืองโดยบ่มกับวัตถุดิบอาหารสัตว์เป็นเวลา 30 นาที แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า เอนไซม์มีการย่อยข้าวโพด 1 กรัม ให้ได้น้ำตาลกลูโคสสูงสุด 28.09 มิลลิกรัม เอนไซม์สามารถย่อยรำข้าว มันสำปะหลังได้เป็นน้ำตาลกลูโคส 27.48 และ 26.85 มิลลิกรัมกลูโคสตามลำดับ นอกจากนี้ยังย่อยกากถั่วเหลืองได้น้ำตาลกลูโคส 14.54 มิลลิกรัม

การทดสอบโดยย่อยประสิทธิภาพการย่อยอาหารไก่เนื้อ โดยบ่มกับ crude enzyme 20 ยูนิต กับอาหารสัตว์สำเร็จรูปที่สภาวะการจำลองกระเพาะสัตว์ปีก พบว่าเอนไซม์ที่ได้จากแบคทีเรียไอโซเลท ID2R1P1 มีความสามารถในการช่วยย่อยวัตถุดิบในอาหารไก่ได้ดีกว่าอาหารที่ไม่ใส่เอนไซม์ พบว่า เอนไซม์สามารถย่อยอาหารไก่ได้โดยย่อย NDF ได้ 3.12 เปอร์เซ็นต์ ย่อย ADF ได้ 0.66 เปอร์เซ็นต์ ย่อยเฮมิเซลลูโลสได้ 2.46 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่สามารถย่อยลิกนินได้ ดังนั้นการเสริมเอนไซม์ในอาหารสัตว์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้ อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาต่อไปทดลองเลี้ยงไก่เพื่อดูประสิทธิภาพการย่อยได้ เพื่อประโยชน์ในการเพิ่มมูลค่าในอุตสาหกรรมการเลี้ยงไก่เนื้อ

เอกสารอ้างอิง

- กรมปศุสัตว์. 2552. สถิติการนำเข้า-ออก สินค้าปศุสัตว์. กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ, ศูนย์สารสนเทศ, กรมปศุสัตว์, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.. สินค้าปศุสัตว์รายเดือน ปีที่ 11, ฉบับที่ 12 ประจำเดือนธันวาคม.
- กรมปศุสัตว์. 2553. ข้อมูลจำนวนเกษตรกรและปศุสัตว์ในประเทศไทย ประจำปี 2553. ระบบฐานข้อมูลเกษตรกรผู้เลี้ยงสัตว์ (TH-LIFDS), กลุ่มสารสนเทศและข้อมูลสถิติ, ศูนย์สารสนเทศ, กรมปศุสัตว์.
- ชวนพิศ แดงสวัสดิ์. 2544. **สรีรวิทยาของพืช**. พิมพ์ครั้งที่ 2. สำนักพิมพ์พัฒนาศึกษา, กทม. 380 น.
- บุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2541. **โภชนศาสตร์สัตว์**. พิมพ์ครั้งที่ 6.ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.170 น.
- มานิสา บุพตา. 2555. การคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างเซลล์และไซแนสจากกระเพาะหมักของกระบือ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. กรุงเทพฯ: สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- วิมลทิพย์ ไตรปัญญา จักรกฤษณ์ เตชะอภัยคุณ กนก รัตนะกนกชัย และ คิน เลย์ คู. 2550. การย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรโดยใช้เอนไซม์ในกลุ่มไซลาลิโนไลติกและเซลลูโลไลติกจาก *Bacillus sp.* สายพันธุ์ TW-1. ใน เรื่องเติมการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45: สาขาวิทยาศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 85-92.
- ระพีพรรณ อินปันแก้ว. 2530. แบคทีเรียในกระเพาะหมักของโคพื้นเมืองและการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. เชียงใหม่: มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- ศรัณยา สถิตย์มันวิวัฒน์. 2551. ความหลากหลายทางพันธุกรรมของประชากรแบคทีเรียในกระเพาะรูเมนของกระบือปลัก (*Bubalus bubalis*). วิทยานิพนธ์ วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. กรุงเทพมหานคร: สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- สุริยะ สะวานนท์. 2551 . **จุลชีววิทยาและเทคโนโลยีชีวภาพด้านจุลินทรีย์ในกระเพาะรูเมน**. พิมพ์ครั้งที่ 1 , โรงพิมพ์สำนักส่งเสริมและฝึกอบรม กำแพงแสน, นครปฐม. 249 น.
- พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. 2547 .**หลักการอาหารสัตว์**.ครั้งที่ 2 ,โอเดียนสโตร์, เชียงใหม่. 600 น.
- อุทัย คันโธ. 2529 . **อาหารและการผลิตอาหารเลี้ยงสุกรและสัตว์ปีก**. ครั้งที่ 1 .297 น.
- ภรณ์ ต่างวิวัฒน์, บุญล้อม ชีวะอิสระกุล และเสาวคนธ์ โรจนสถิตย์. 2553. **เอกสารการสอน หลักโภชนศาสตร์และอาหารสัตว์**. ครั้งที่ 12 .สำนักพิมพ์ มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช,นนทบุรี. 516 น.
- อาวุธ ตันโซ. 2538. **การผลิตสัตว์ปีก**. กรุงเทพฯ : โอ.เอส.พริ้นติ้งเฮ้าส์.
- Abudabos, A. 2010. Enzyme Supplementation of Corn-Soybean Meal Diets Improves Performance in Broiler Chicken. *Internationnal Journal of Poultry Science*. 9(3): 292 – 297.
- AOAC (Association of Official Analytical Chemists), 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed, Arlington, VA.

- Bradford, M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Berg B, Hofstan BV and Petterson G. 1972. Growth and cellulase formation by *Cellvibrio fulvus*. J. Appl. Bact.. 35: 201-214.
- Dehority BA and Grubb JA. 1976. Basal medium for the selective enumeration of rumen bacteria utilizing specific energy sources. Appl Environ Microbiol. 32(5): 703–710.
- Dekker, R.F. and Richards, G.N. 1976. Hemicelllase: their occurrence, purification, properties and mode of action. *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. 32: 277-352.
- Iyayi, E. A. and Davies , B. I. 2005. Effect of Enzyme Supplementation of Palm Kernel Meal and Brewer's Dried Grain on the Performance of Broilers. *International Journal of Poultry Science*. 4 (2): 76-80.
- Kamra, D. N. 2005. Rumen microbial ecosystem. *Current Science*. 89: 124–135.
- Lu, M., Li, D., Gong, L., Ru, Y. and Ravindran, V. 2009. Effects of Supplemental Microbial Phytase and Xylanase on the Performance of Broilers Fed Diets Based on Corn and Wheat. *Japan Poultry Science Association*. 46: 217-223.
- Miller, L.G. 1959. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. *Analytical Chemistry*. 31: 246-248.
- Oyeleke, S.B. and Okusanmi, T.A. 2008. Isolation and characterization of cellulose hydrolyzing microorganism from the rumen of ruminants. *African Journal of Biotechnology*. 7(10):1503-1504.
- Schroeder, J.W. 2004. Forage Nutrition for Ruminants. *Extension dairy specialist*. (AS-1250).
- Sewell, G.W., Aldrich, H.C., Williams, D., Mannarell, B., Wilkie, A., Hespell, R.E., Smith, P.H. and Ingram, L.O. 1988. Isolation and characterization of xylan-degrading strains of *Butyrivibrio fibrisolvens* from a napier grass-fed anaerobic digestert. *Applied and Environmental Microbiology*. 54(5): 1085-1090.
- Sharmila, A. Azhar, K. Hezmee, M. N. and Samsudin, A. A. 2014. Effect of xylanase and cellulase supplementation on growth performance, volatile fatty acids and caecal bacteria of broiler chickens fed with palm kernel meal-based diet. *Journal of Animal and Poultry Sciences*. 3(1) : 19-28
- Shirmohammad, F. and Mehri, M. 2011. Effects of dietary supplementation of multi-enzyme complex on the energy utilization in rooster and performance of broiler chicks *African Journal of Biotechnology*. 10(38): 7541-7547

- Tufarelli, V., Dario, M. and Laudadio, V. 2007. Effect of xylanase Supplementation and Particle-Size on Performance of Guinea Fowl Broilers Fed Wheat-Based Diets. *International Journal of Poultry Science*. 6(4): 302-307.
- Van Soest, P.T., Roberson, J.B., and Lewis, B.A. 1991. Methods for Dietary Fiber, Neutral Detergent Fiber, and Nonstarch Polysaccharides in Relation to Animal Nutrition. *Journal of Dairy Science*. 74: 3583 – 3597.
- Wong, K.K.Y., Tan, L.U.L. and Saddler, J.N. 1988. Multiplicity of β -1, 4xylanase in microorganisms functions and applications. *Microbiology Reviews* . 52(3):305-317.
- Wanapat, M. 2001. Swamp buffalo rumen ecology and its manipulation [Online]. Available: <http://www.mekarn.org/procbuf/wanapat.htm> 17/04/2013.
- Wu, Y.B., Ravindran, V., Pierce, J. and Hendriks, W.H. 2004. Influence of Three Phytase Preparations in Broiler Diets Based on Wheat or Corn : In vitro Measurements of Nutrient Release. *International Journal of Poultry Science*. 3(7): 450-455.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลาย

1. การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

Xylan agar

Xylan	1.00	g
รำข้าว	5.00	g
Yeast extract	1.00	g
Agar	16.00	g
น้ำกลั่น	1.0	L
นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว (121 °C) 15 นาที		

Xylan broth

การเตรียมอาหารเหลว xylan broth มีส่วนประกอบเช่นเดียวกันกับอาหารแข็ง xylan agar แต่ไม่เติม agar นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว (121 °C) 15 นาที

CMC agar

NaNO ₃	2.0	g
K ₂ HPO ₄	1.0	g
MgSO ₄	0.1	g
KCl	0.1	g
CMC	2.0	g
Peptone	0.2	g
Agar	17.0	g
น้ำกลั่น	1.0	L

ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วค่อยเติม agar ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

CMC broth

CMC	0.5	%
Peptone	0.5	%
KH ₂ PO ₄	0.5	%
MgSO ₄ • 7H ₂ O	0.5	%
Yeast extract	0.5	%
น้ำกลั่น	100	ml

ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วค่อยเติม agar ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 °C ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

Lubia-Bertani broth (LB broth)

Tryptone	10.0	g
Yeast extract	5.0	g
NaCl	10.0	g
น้ำกลั่น	1.0	L

ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นจนเป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

Lubia-Bertani agar (LB agar)

Tryptone	10.0	g
Yeast extract	5.0	g
NaCl	10.0	g
Agar	15.0	g
น้ำกลั่น	1.0	L

ละลายสารทั้งหมดในน้ำกลั่นจนเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วค่อยเติม agar ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. การเตรียมสารละลายสำหรับการวิเคราะห์คุณสมบัติของเอนไซม์

3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) (Miller. 1959)

3,5-dinitrosalicylic acid	10.6	g
NaOH	19.8	g
Potassium sodium tartate	306.0	g
Na ₂ S ₂ O ₅	8.3	g
Phenol	7.6	ml
น้ำกลั่นอุ่น	1,416	ml

ละลาย Potassium sodium tartate ในน้ำกลั่นตามปริมาตรที่ต้องการ และจึงเติมสารละลายอื่นๆ ลงบรรจุใส่ขวดสีชาแล้วเก็บไว้ในที่มืด

2% CMC

ผสม CMC 2 g อุ่นให้ CMC ละลายจนหมด ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 100 ml

2% xylan

ผสม xylan 2 g อุ่นให้ xylan ละลายจนหมด ในน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว 100 ml

สารละลายโซเดียมอะซิเตรบัพเฟอร์ pH 3-6

- 0.2M acetic acid

- 0.2M sodium acetate (tri-hydrate) (27.2 g / l)

- เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ตาม pH ที่ต้องการ

pH	vol. of 0.2M acetic acid	vol. of 0.2M sodium acetate
3	982.3 ml	17.7 ml
4	847.0 ml	153.0 ml
5	357.0 ml	643.0 ml
6	52.2 ml	947.8 ml

สารละลายโซเดียมอะซเตตรตบัฟเฟอร์ pH 7-11

- 0.2M disodium hydrogen phosphate (28.4 g / l)

- 0.2M HCl

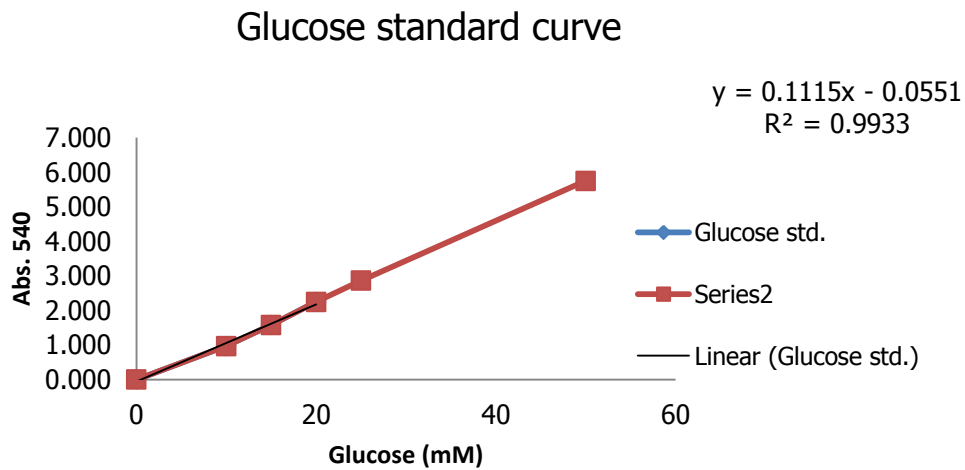
- 0.2M NaOH

- เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์ตาม pH ที่ต้องการ

pH	vol. of 0.2M disodium phosphate	vol. of 0.2M HCl	vol. of 0.2M NaOH
7	756.0 ml	244 ml	-
8	955.1 ml	44.9 ml	-
9	955.0 ml	45.0 ml	-
10	966.4 ml	-	33.6 ml

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์เอนไซม์

1. กราฟมาตรฐานกลูโคส

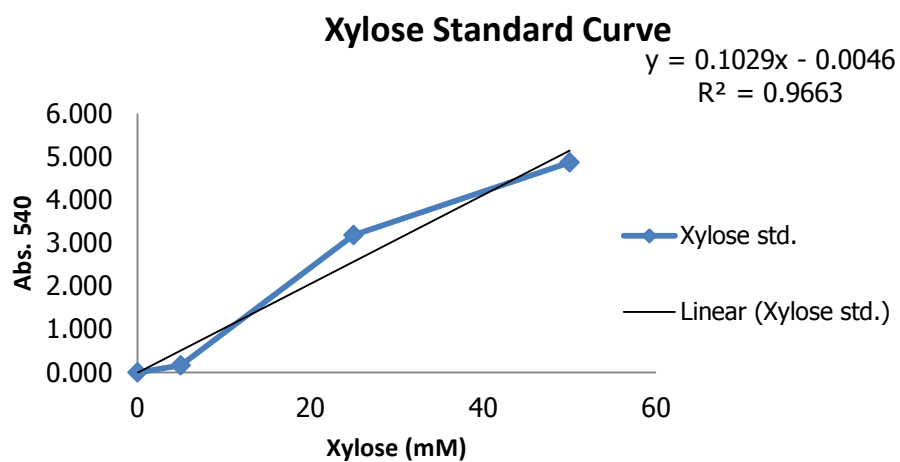


ภาพผนวกที่ ข1 กราฟมาตรฐานกลูโคส (Glucose Standard Curve) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

ตารางผนวกที่ ข1 ค่ามาตรฐานกลูโคสที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติของเอนไซม์

Glucose (mM)	OD 540
0	0.000
10	0.968
15	1.579
20	2.248
25	2.863
50	5.750

2. กราฟมาตรฐานไซโลส

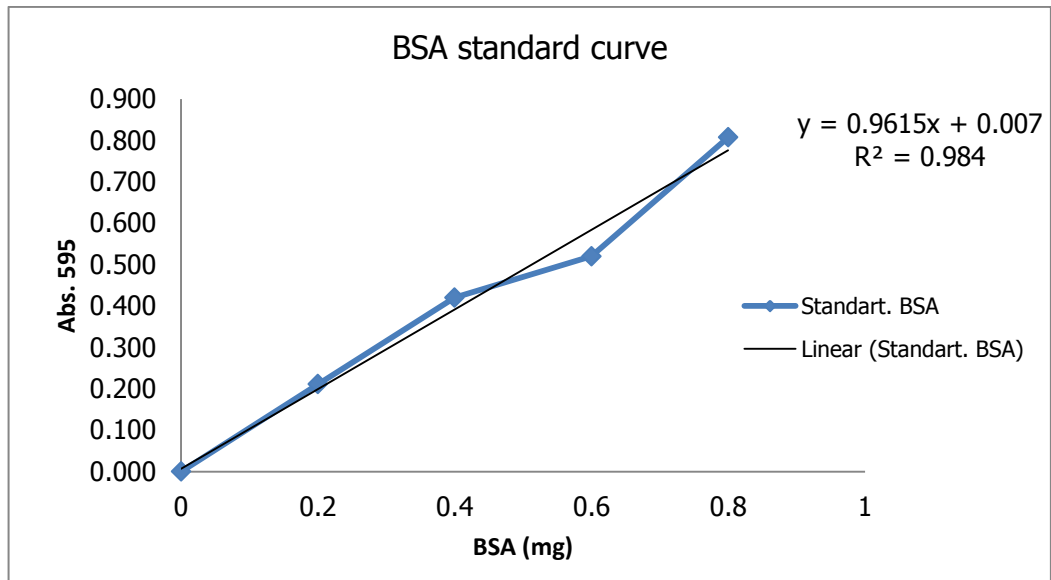


ภาพผนวกที่ ข2 กราฟมาตรฐานไซโลส (xylose standard curve) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 nm

ตารางผนวกที่ ข2 ค่ามาตรฐานไซโลสที่ใช้ในการวิเคราะห์คุณสมบัติของเอนไซม์

xylose (mM)	OD 540
0	0.000
5	0.163
25	3.182
50	4.866

3. กราฟมาตรฐานโปรตีนตามวิธี Bradford (1976)



ภาพผนวกที่ ข3 กราฟมาตรฐานโปรตีน (BSA standard curve) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 nm

ตารางผนวกที่ ข3 ค่ามาตรฐาน BSA ของการวิเคราะห์ความเข้มข้นของโปรตีน

BSA (mg/ml)	Abs 595 nm
0	0.000±0.000
0.2	0.211±0.022
0.4	0.420±0.058
0.6	0.520±0.045
0.8	0.807±0.100

3. กิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส

ตารางผนวกที่ ข4 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส บ่มที่อุณหภูมิ 37°C บ่มเชื้อ เป็นระยะเวลา 1-5 วัน

Time (day)	ปริมาณเชื้อ (OD 600)	Enzyme activity (U/ml)	Relative activity (%)
1	2.477 ± 0.044	0.82 ± 0.006	66
2	3.191 ± 0.699	1.248 ± 0.005	100
3	2.665 ± 0.181	0.750 ± 0.015	60
4	2.639 ± 0.265	1.124 ± 0.010	90
5	1.573 ± 0.304	1.152 ± 0.019	92

ค่าเฉลี่ยการทดลอง 3 ครั้ง

ตารางผนวกที่ ข5 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส บ่มที่อุณหภูมิ 37°C บ่มเชื้อ เป็นระยะเวลา 1-5 วัน

Time (day)	ปริมาณเชื้อ (OD 600)	Enzyme activity (U/ml)	Relative activity (%)
1	1.456 ± 0.134	31.806 ± 0.024	63
2	1.770 ± 0.527	50.728 ± 0.116	100
3	1.919 ± 0.327	25.502 ± 0.067	50
4	1.723 ± 0.430	33.302 ± 0.029	66
5	1.602 ± 0.329	28.879 ± 0.496	57

ค่าเฉลี่ยการทดลอง 3 ครั้ง

ตารางผนวกที่ ข6 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสที่ผลิตโดยไอโซเลท ID2R1P1 เมื่อเลี้ยงในอาหาร CMC broth และ xylan ที่อุณหภูมิต่างๆกันเป็นเวลา 2 วัน

Temperature (°C)	Enzyme activity (U/ml)		Relative activity (%)	
	Cellulase	Xylanase	Cellulase	Xylanase
33	1.393 ± 0.056	19.055 ± 0.009	72	33
35	0.456 ± 0.031	13.978 ± 0.051	23	24
37	1.059 ± 0.009	57.439 ± 0.013	54	100
39	1.946 ± 0.010	41.282 ± 0.006	100	72
41	1.027 ± 0.001	12.813 ± 0.017	53	22

ค่าเฉลี่ยการทดลอง 3 ครั้ง

ตารางผนวกที่ ข7 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสที่ pH 3.0 - 9.0

pH	Enzyme activity (U/ml)		Relative activity (%)	
	Cellulase	Xylanase	Cellulase	Xylanase
3	0.543 ± 0.009	183.272 ± 0.011	27	100
4	0.386 ± 0.001	126.904 ± 0.023	19	69
5	1.866 ± 0.053	39.076 ± 0.015	92	21
6	1.632 ± 0.026	32.634 ± 0.023	80	18
7	2.034 ± 0.039	9.636 ± 0.010	100	5
8	1.22 ± 0.081	5.968 ± 0.009	60	3
9	1.454 ± 0.066	4.08 ± 0.002	71	2

ค่าเฉลี่ยการทดลอง 3 ครั้ง

ตารางผนวกที่ ข8 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในปริมาณแหล่งคาร์บอนที่ต่างกัน

% carbon	Enzyme activity (U/ml)		Relative activity (%)	
	Cellulase	Xylanase	Cellulase	Xylanase
	0.389 ± 0.020	755.473 ± 0.052	100	56
2%	0.161 ± 0.010	1342.004 ± 0.018	41	100
3%	0.297 ± 0.023	638.125 ± 0.028	76	48

ค่าเฉลี่ยการทดลอง 3 ครั้ง

ตารางผนวกที่ ข9 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสในแหล่งไนโตรเจนต่างชนิด

nitrogen source	Enzyme activity (U/ml)		Relative activity (%)	
	Cellulase	Xylanase	Cellulase	Xylanase
Urea	0.562 ± 0.001	2.468 ± 0.060	26	95
Tryptone	1.862 ± 0.035	2.112 ± 0.014	86	81
yeast extract	2.165 ± 0.020	2.602 ± 0.060	100	100

ค่าเฉลี่ยการทดลอง 3 ครั้ง

ตารางผนวกที่ ข10 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส (crude enzyme) เมื่อทำปฏิกิริยาที่เวลาต่างกัน

Time (min)	Specific activity (U/mg protein)		Relative activity (%)	
	Cellulase	Xylanase	Cellulase	Xylanase
5	12.724±0.005	229.13±0.041	73	100
10	17.407±0.026	116.389±0.051	100	51
15	15.789±0.020	79.742±0.055	91	35
20	13.706±0.012	58.373±0.008	79	25

ค่าเฉลี่ยการทดลอง 3 ครั้ง

ตารางผนวกที่ ข11 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสเมื่อปรับที่ระดับ pH 3.0-10.0

pH	Specific activity (U/mg protein)		Relative activity (%)	
	Cellulase	Xylanase	Cellulase	Xylanase
3	3.837±0.002	304.323±0.032	62	82
4	4.188±0.010	223.457±0.079	68	60
5	5.748±0.014	286.161±0.007	93	77
6	5.842±0.006	307.478±0.084	95	83
7	6.154±0.002	372.088±0.055	100	100
8	5.241±0.031	325.494±0.190	85	87
9	4.857±0.024	240.713±0.237	79	65
10	4.427±0.009	219.124±0.052	72	59

ค่าเฉลี่ยการทดลอง 3 ครั้ง

ตารางผนวกที่ ข12 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสที่ปรับในอุณหภูมิ 30-90 °C

Temperature (°C)	Specific activity (U/mg protein)		Relative activity (%)	
	Cellulase	Xylanase	Cellulase	Xylanase
30	17.509±0.032	185.454±0.056	70	83
37	14.006±0.005	204.978±0.018	56	91
40	18.859±0.023	207.912±0.026	76	93
50	24.926±0.002	198.301±0.040	100	88
60	15.967±0.025	209.138±0.036	64	93
70	12.603±0.021	199.898±0.062	51	89
80	16.591±0.021	223.738±0.021	67	99
90	13.313±0.000	224.349±0.067	53	100

ค่าเฉลี่ยการทดลอง 3 ครั้ง

ประวัตินักวิจัย

หัวหน้าโครงการ

1. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นายกานต์ สุขสุแพทย์, รศ.ดร.
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr. Kan Suksupath, Associate Professor Dr.

2. เลขหมายประจำตัวประชาชน 3 1409 00264 98 9

3. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้

สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

โทรศัพท์ 02-3298519 โทรสาร 02-3298519

E-mail kssuchee@kmitl.ac.th

4. ประวัติการศึกษา

พ.ศ. 2516-2520 วท.บ. เกษตรศาสตร์(สัตวบาล) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2520-2524 วท.ม. เกษตรศาสตร์(สัตวบาล) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

พ.ศ. 2533-2537 Ph.D Agriculture (Poultry nutrition) The University of Sydney, Australia

5. ประสบการณ์งานวิจัย

งานวิจัยที่ทำสำเร็จแล้วและตีพิมพ์เผยแพร่

1). Cole, R.J., Taylor, D.J., Cole, E.A., Suksupath, S., McDowell, G.H. and Bryden, W.L. 1988. Cyclopiazonic acid toxicity in lactating ewe and laying hen. *Proc.Nutr.Soc. Aust.*, 13:134.

2). Suksupath, S., Cole, E.A., Cole, R.J. and Bryden, W.L. 1989. Toxicity of cyclopiazonic acid in the laying hens. *Proc. Aust. Poult.Sci.Symp.*, 2:94.

3). Dorner, J.W., Cole, R.J., Taylor, D.J., Suksupath, S. McDowell, G.H. and Bryden, W.L. 1990. Cyclopiazonic acid residues in ewe milk and chicken eggs. *Proc 10th AOAC Meeting*. P. 229.

4). Suksupath, S., Siriwan, P., Cole, R.J. and Bryden, W.L. 1990. Effect of cyclopiazonic acid on nutrient utilisation and endogenous amino acids secretion in broiler chickens. *Proc.Nutr.Soc.Aust.*, 15:54.

5). Suksupath, S., Mulley, R.C. and Bryden, W.L. 1990. Toxicity of cyclopiazonic acid in mature male chickens. *Proc.Aust. Poult.Sci.Symp.*, 3:120.

6). Suksupath, S., Dorner, J.W., Cole, R.J. and Bryden, W.L. 1991. Deposition of cyclopiazonic acid in eggs. *Proc. Aust.Poult.Sci.Symp.*, 4:70.

7). Suksupath, S., Fraser, D.R., Cole, R.J. and Bryden, W.L. 1991. Effect of cyclopiazonic acid on calcium content in plasma, egg shell, uterine fluid and egg shell gland of laying hens. *Proc.Aust.Poult.Sci.Symp.*, 4:71.

8). Suksupath, S., Elrington, D.J., Dorner, J.W., Cole, R.J. and Bryden, W.L.1991. Effect and fate of cyclopiazonic acid in poultry and sheep. *Proc.International Conference on "Fungi and Mycotoxins in Stored Products"*. p. 236-237. Bangkok, Thailand.

9). Suksupath, S., Dorner, J.W., Cole, R.J. and Bryden, W.L. 1992 Residues of the mycotoxin cyclopiazonic acid in eggs and tissues of laying hens. *Proc.Nutr.Soc.Aust.*, 17:141.

- 10). **Suksupath, S.**, Mollah, Y., Cole, R.J. and Bryden, W.L. 1992. Uric acid excretion from birds dosed with cyclopiazonic acid. *Proc.Aust.Poult.Sci.Symp.*, 5:146.
- 11). **Suksupath, S.**, Cole, R.J. and Bryden, W.L. 1993. Effect of cyclopiazonic acid on fertility, hatchability and progeny performance of laying hens. *Proc.Aust.Poult.Sci.Symp.*, 6:71.
- 12). **Suksupath, S.**, Muir, W.I., Cole, R.J. and Bryden, W.L. 1993. Effect of *Eimeria* spp. infection and cyclopiazonic acid in broiler chickens. *Proc.Aust.Poult.Sci.Symp.*, 6:87.
- 13). **Suksupath, S.**, Dorner, J.W., Cole, R.J. and Bryden, W.L. 1993 Clearance of cyclopiazonic acid by laying hens. *Proc.Aust. Poult.Sci.Symp.*, 6:86.
- 14). **Suksupath, S.** and Bryden, W.L. 1993. Effect of cyclopiazonic acid in laying hens. *Proc. Xth International Congress of the World Veterinary Poultry Association.* Sydney, Australia, p 168.
- 15). **Suksupath, S.** and Bryden, W.L. 1994. Influence of dietary zeolites on cyclopiazonic acid toxicity and toxin deposition in laying hens. *Proc.2nd Asian Conference on Food Safety.* Bangkok, Thailand.
- 16). **Brackpool, C.E.**, Robert, J.R., Hughes, J.R. Bryden, W.L. and Suksupath, S. 1994. Comparison of egg shell ultrastructure from eggs laid by hens either exposed to heat stress or exposed to the mycotoxin, cyclopiazonic acid. *Proc.Aust.Poult.Sci.Symp.* 6:59-63.
- 17). Dorner, J.W., Cole, R.J., Elrington, D.J., Suksupath, S., McDowell, G.H. and **Bryden, W.L.** 1994. Cyclopiazonic acid residues in milk and egg. *J. Agri. Food Chem.* 42:1516-1518.
- 18). Kulcharoen, N. and **Suksupath, S.** 2003. The metabolisable energy of rice by-products. *Asian Poultry Magazine*, Jan/Feb : p. 44-47.
- 19). **Triratapiwan, T.**, Suksupath, S., Tuntivisoottikul, K. and Sitthigripong, R. 2004. A study on genetic diversity of some Thai indigenous chicken lines by microsatellites. *Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development*, Bangkok, Thailand. 25-26 August 2004 Vol. 2 : 390-393.
- 20). **Chaitongkong, J.**, Suksupath, S., Tuntivisoottikul, K. and Sitthigripong, R. 2004. Growth hormone gene polymorphisms in local Thai chickens. *Proc. of the 1st KMITL International Conference on Integration of Science and Technology for Sustainable Development*, Bangkok, Thailand. 25-26 August 2004 Vol. 2 : 394-397.
- 21). **Vorachantra, S.**, Suksupath, S. and Wijitrothai, N. 2004. Studies on chemical composition and quality grade of protein feedstuffs 1). Fishmeal. Proceeding of International Symposium on Animal and Plant Production for Food and Environmental Security, 9-11 August 2004, Chaophaya Park Hotel, Bangkok, Thailand.
- 22). **สุชีพ สุขสุแพทย์** และพานิช แสนโกชน์. 2524. ข้อมูลบางประการเกี่ยวกับการเพาะเลี้ยงสัตว์ป่าพวกนกและไก่ฟ้า : การไข่และการฟักไข่. เอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องสัตว์ป่าเมืองไทยครั้งที่ 2 คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 24-25 ธันวาคม 2524. หน้า 236-239.
- 23). **สุชีพ สุขสุแพทย์** และพานิช แสนโกชน์. 2524. เทคนิคในการฟักไข่ด้วยตู้ฟักไข่ไฟฟ้าและการดูแลลูกไก่ฟ้าระยะแรกเกิด. เอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องสัตว์ป่าเมืองไทยครั้งที่ 2 คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 24-25 ธันวาคม 2524. หน้า 240-247.
- 24). **สุชีพ สุขสุแพทย์.** 2530. การศึกษาอุณหภูมิ ความชื้นสัมพัทธ์และการฟักออกเป็นตัว ของไข่ห่านจากการฟักด้วยวิธีธรรมชาติ. วารสารแก่นเกษตร. ปีที่ 15 หน้า 21-26.

- 25). สุชีพ สุขสุแพทย์ และทรงศักดิ์ ตันพิพัฒน์. 2530. การใช้มูลกระต่ายเป็นอาหารไก่กระทง. เอกสารการประชุมทางวิชาการเรื่อง การใช้ประโยชน์จากกากของเสียและทรัพยากรเหลือใช้. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 17-18 มิถุนายน 2530.
- 26). ศรีสกุล วรจันทรา และสุชีพ สุขสุแพทย์. 2530. อิทธิพลของการเก็บรักษาไข่ฟักต่อเปอร์เซ็นต์การฟักออกของนกกกระทาญี่ปุ่น. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 5 เล่มที่ 1 หน้า 18-27.
- 27). สุชีพ สุขสุแพทย์ และทรงศักดิ์ ตันพิพัฒน์. 2530. การศึกษาระดับอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมในการฟักไข่ห่าน. รายงานผลงานวิจัยเสนอสำเนียงงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
- 28). สุชีพ สุขสุแพทย์ และศรีสกุล วรจันทรา. 2531. วิธีการควบคุมน้ำหนักตัวเป็ดรุ่นไข่ วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. ปีที่ 6 เล่มที่ 3 หน้า 8-27.
- 29). สุชีพ สุขสุแพทย์ และทรงศักดิ์ ตันพิพัฒน์. 2531. การใช้กากเต้าหู้เป็นอาหารเสริมโปรตีนเพื่อลดต้นทุนการผลิตเป็ดเนื้อ. วารสารเกษตร ปีที่ 16 เล่มที่ 4 หน้า 190-199.
- 30). สุชีพ สุขสุแพทย์, ทรงศักดิ์ ตันพิพัฒน์ และ รณชัย สิทธิไกรพงษ์. 2533. การใช้มันสำปะหลังหมักโปรตีนสูงในอาหารเป็ดเนื้อ. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 8 เล่มที่ 3 หน้า 9-17.
- 31). สุชีพ สุขสุแพทย์ และทรงศักดิ์ ตันพิพัฒน์. 2534. การปรับปรุงวิธีการเก็บรักษาไข่นกกกระทาก่อนฟัก. วารสารเกษตร. ปีที่ 19 เล่มที่ 3. หน้า 156-162.
- 32). สุชีพ สุขสุแพทย์ และทรงศักดิ์ ตันพิพัฒน์. 2534. การศึกษาวิธีการเก็บรักษาไข่ห่านก่อนฟักและใช้การพ่นน้ำอุ่นเพื่อเพิ่มการฟักออก. วารสารเกษตร ปีที่ 19 เล่มที่ 5 หน้า 274-279.
- 33). สุชีพ สุขสุแพทย์ และ Bryden. W.L. 2537. ผลของเชื้อบิด *Eimeria* spp และสารพิษ cyclopiazonic acid ในไก่กระทง. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. ปีที่ 12 เล่มที่ 2 หน้า 1-14.
- 34). สุชีพ สุขสุแพทย์. 2537. ผลการจำกัดอาหารไก่เนื้อระยะเล็ก. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 12 เล่มที่ 3 หน้า 37-45.
- 35). สุชีพ สุขสุแพทย์. 2538. การให้อาหารเลือกกินอิสระในไก่ไข่. เอกสารประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 33. 3-5 กุมภาพันธ์ 2538.
- 36). สุชีพ สุขสุแพทย์ พานิช แสนโกชน และจรรยา คงฤทธิ์. 2539. ความต้องการโปรตีนและพลังงานสำหรับไก่ฟ้าหลังขาวระยะเล็กและระยะเจริญเติบโต. เอกสารประกอบการสัมมนาเรื่องสัตว์ป่าเมืองไทยครั้งที่ 17 คณะวนศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 19-20 ธันวาคม 2539. และตีพิมพ์ในวารสารสัตว์ป่าเมืองไทย 5(2) 2539 หน้า 89-99.
- 37). สุชีพ สุขสุแพทย์ สุภรัตน์ โฆษิตเจริญกุล และอาทิตย์ พลายมาศ. 2540. ผลการใช้ข้าวโพดเก็บรักษาด้วยสารเคมีควบคุมอะฟลาทอกซินในนกกกระทาญี่ปุ่น. เอกสารประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35. 3-5 กุมภาพันธ์ 2540.
- 38). ณพทัย วิจิตโรทัย สุชีพ สุขสุแพทย์ และจรรยา คงฤทธิ์. 2540. การใช้กากถั่วเขียวจากโรงงานวันเส้นในอาหารนกกกระทา. เอกสารประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35. 3-5 กุมภาพันธ์ 2540.
- 39). อาวุธ ตันโช และสุชีพ สุขสุแพทย์ 2540. ผลของการเสริมกรดฮิวมิกต่อลักษณะการไข่ของแม่ไก่ไข่ที่อายุ 28-51 สัปดาห์. เอกสารประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 35. 3-5 กุมภาพันธ์ 2540.
- 40). นันทนิจ กุลเจริญ และสุชีพ สุขสุแพทย์ 2540. เทคนิคการประเมินค่าพลังงานใช้ประโยชน์ของวัตถุดิบอาหารสัตว์ปีก. เอกสารประชุมทางวิชาการ ม.อ. ครั้งที่ 1 28-30 กรกฎาคม 2540 มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
- 41). สุชีพ สุขสุแพทย์ 2540. การประเมินค่าพลังงานใช้ประโยชน์ของรำสกัดในสัตว์ปีก. เอกสารประชุมทางวิชาการ ม.อ. ครั้งที่ 1 28-30 กรกฎาคม 2540 มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
- 42). สุชีพ สุขสุแพทย์ พานิช แสนโกชน และจรรยา คงฤทธิ์ 2541. การศึกษาระดับความต้องการโปรตีนและพลังงานสำหรับไก่ฟ้าหลังขาวธรรมดา. เอกสารประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 36. 3-5 กุมภาพันธ์ 2541
- 43). สุชีพ สุขสุแพทย์ และ พานิช แสนโกชน 2541. การศึกษาชนิดของอาหารและการกินอาหารของไก่ฟ้า การเสนอผลงานวิชาการในการสัมมนาเรื่อง สัตว์ป่าเมืองไทย ครั้งที่ 19 วันที่ 22-24 ธันวาคม 2541 ณ อาคารสารนิเทศ 50 ปี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

44). สุชีพ สุขสุแพทย์ อนุชา แสงโสภณ และอาวุธ ต้นโซ 2541. การฟักไข่นกกระจอกเทศเป็นการค้า วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 16 เล่ม 2 หน้า 37-43.

45). สุชีพ สุขสุแพทย์ อนุชา แสงโสภณ และกนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ 2542 อิทธิพลของน้ำหนักไข่ต่อการฟักออกของลูกนกกระจอกเทศ วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ปีที่ 17 เล่ม 2 หน้า 42-47.

46). สุชีพ สุขสุแพทย์ และ พานิช แสนโภชน 2542. การศึกษาความต้องการโภชนะสำหรับไก่ฟ้าโดยให้อาหารแบบเลือกกินอิสระ เอกสารประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37. 3-5 กุมภาพันธ์ 2542

47). สุชีพ สุขสุแพทย์ และ อนุชา แสงโสภณ 2542. ผลของระยะเวลาในการเก็บรักษาไข่ก่อนฟักต่อเปอร์เซ็นต์การฟักออกของลูกนกกระจอกเทศ เอกสารประชุมทางวิชาการ 30 ปีเกษตรเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 24-25 มิถุนายน 2542 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

48). สุชีพ สุขสุแพทย์ และ พานิช แสนโภชน 2543. การศึกษาต้นทุนการผลิตไก่ฟ้า วารสารสัตว์ป่าเมืองไทย 8(1) 2543 หน้า 96-103.

49). อาทิตย์ พลายมาศ สุชีพ สุขสุแพทย์ และศุภรัตน์ โมฆิตเจริญกุล 2543. การใช้สารเคมีควบคุมการสร้างอะฟลาทอกซินในข้าวโพด วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง ปีที่ 8 ฉบับที่ 1 หน้า 36-41.

50). สุชีพ สุขสุแพทย์ และ เทพกร ช่วยสงคราม. 2546. ผลงานใช้ประโยชน์ของกากปาล์มน้ำมันในสัตว์ปีก. เอกสารประชุมทางวิชาการ(C-1/31) การประชุมและแสดงผลงานทางวิชาการพระจอมเกล้าลาดกระบัง ครั้งที่ 1 25 สิงหาคม 2546 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

51). สุชีพ สุขสุแพทย์ รณชัย สิทธิ ไกรพงษ์ และ ทัศนีย์ ตริยรัตน์อภิวัน 2547. การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของไก่พื้นเมืองไทยจำนวน 5 สายพันธุ์โดยใช้เทคนิคไมโครแซทเทลไลท์. รายงานผลงานวิจัยเสนอคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

52). สุชีพ สุขสุแพทย์ รณชัย สิทธิ ไกรพงษ์ และ เจษฎาพร ไชยทองคง 2547. การศึกษาสมรรถภาพการผลิตในไก่คอกเปลี่ยนที่เลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิสูง. รายงานผลงานวิจัยเสนอคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

53). ศรีสกุล วรจันทรา สุชีพ สุขสุแพทย์ และณหทัย วิจิตโรทัย. 2547. การศึกษาส่วนประกอบของกรดอะมิโนและค่าการย่อยได้จริงโดยสัตว์ปีกของวัตถุดิบแหล่งพลังงาน. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติ ประจำปี 2547 สาขาสัตวศาสตร์/สัตวบาล 27-28 มกราคม 2547 ณ. โรงแรมโซฟิเทล ราชาออดิต จังหวัดขอนแก่น

54). ศรีสกุล วรจันทรา สุชีพ สุขสุแพทย์ และณหทัย วิจิตโรทัย. 2547. ส่วนประกอบทางเคมีและชั้นคุณภาพของวัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งพลังงาน. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติ ประจำปี 2547 สาขาสัตวศาสตร์/สัตวบาล 27-28 มกราคม 2547 ณ. โรงแรมโซฟิเทล ราชาออดิต จังหวัดขอนแก่น

55). ศรีสกุล วรจันทรา สุชีพ สุขสุแพทย์ และณหทัย วิจิตโรทัย. 2547. การศึกษาส่วนประกอบของกรดอะมิโนและค่าการย่อยได้โดยเปปซินในวัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งพลังงาน. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติ ประจำปี 2547 สาขาสัตวศาสตร์/สัตวบาล 27-28 มกราคม 2547 ณ. โรงแรมโซฟิเทล ราชาออดิต จังหวัดขอนแก่น

56). ศรีสกุล วรจันทรา สุชีพ สุขสุแพทย์ และณหทัย วิจิตโรทัย. 2547. ความสัมพันธ์ของค่าการย่อยได้จริงในสัตว์ปีกกับค่าการย่อยได้โดยเปปซินของกรดอะมิโนในวัตถุดิบแหล่งพลังงาน. เอกสารการประชุมสัมมนาวิชาการเกษตรแห่งชาติ ประจำปี 2547 สาขาสัตวศาสตร์/สัตวบาล 27-28 มกราคม 2547 ณ. โรงแรมโซฟิเทล ราชาออดิต จังหวัดขอนแก่น

57). ศรีสกุล วรจันทรา สุชีพ สุขสุแพทย์ และณหทัย วิจิตโรทัย. 2548. การศึกษาค่าการย่อยได้ของกรดอะมิโนโดยสัตว์ปีกของวัตถุดิบแหล่งโปรตีน 1. ปลาป่น การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ 14-15 พฤศจิกายน 2548 ณ. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

58). สุชีพ สุขสุแพทย์ รณชัย สิทธิ ไกรพงษ์ และ เจษฎาพร ไชยทองคง 2548. การศึกษาสมรรถภาพการผลิตในไก่คอกเปลี่ยนที่เลี้ยงในสภาวะอุณหภูมิสูง. การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ 14-15 พฤศจิกายน 2548 ณ. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

59). สุชีพ สุขสุแพทย์ และพานิช แสนโภชน . 2549. การเพิ่มความยาวแสงในไก่ฟ้าหลังขาวในช่วงฤดูผสมพันธุ์. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยนเรศวร ปีที่ 2 ฉบับที่ 1 มกราคม-มิถุนายน 2549

60). จารุณี พรหมมานนท์ จรรยา คงฤทธิ์ และ สุชีพ สุขสุแพทย์. 2549. การศึกษาการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ของอาหารไก่ฟ้า. การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 24 มกราคม 2549 ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ร่วมกับ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (โปสเตอร์).

61). ศรีสกุล วรจิตรา สุชีพ สุขสุแพทย์ ณัทชัย วิจิตโรทัย และจรรยา คงฤทธิ์. 2549. การศึกษาส่วนประกอบทางเคมีและชั้นคุณภาพในวัตถุดิบอาหารสัตว์แหล่งโปรตีน 2. กากถั่วเหลือง การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 24 มกราคม 2549 ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ร่วมกับ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (โปสเตอร์).

62). ศรีสกุล วรจิตรา สุชีพ สุขสุแพทย์ ณัทชัย วิจิตโรทัย และจรรยา คงฤทธิ์. 2549. การศึกษาค่าการย่อยได้ของกรดอะมิโนโดยสัตว์ปีกของวัตถุดิบแหล่งโปรตีน 2. กากถั่วเหลือง การประชุมสัมมนาวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 2 24 มกราคม 2549 ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ร่วมกับ กรมปศุสัตว์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. (โปสเตอร์).

63). สุชีพ สุขสุแพทย์ พานิช แสนโภชน์ จรรยา คงฤทธิ์ และจารุณี พรหมมานนท์. 2549. การศึกษาการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ของอาหารไก่ฟ้า. การประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 7 วันที่ 25-26 พฤษภาคม 2549 สำนักวิจัยและส่งเสริมวิชาการการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จ. เชียงใหม่ (โปสเตอร์).

64). สุชีพ สุขสุแพทย์ และพานิช แสนโภชน์. 2549. ผลการใช้หนอนนกและกรดอะมิโนสังเคราะห์ในไก่ฟ้าหลังขาวในช่วงฤดูผสมพันธุ์. การประชุมทางวิชาการ สิ่งแวดล้อมนครสวรรค์ ครั้งที่ 2 วันที่ 28-29 มิถุนายน 2549 คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ. พิษณุโลก (โปสเตอร์).

65). สุชีพ สุขสุแพทย์ จรรยา คงฤทธิ์ และ จารุณี พรหมมานนท์. 2549. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ เรื่อง การศึกษาการให้โภชนาที่เหมาะสมในสัตว์ปีกที่รับอาหารแบบเลือกกิน ได้รับงบประมาณสนับสนุน เงินรายได้ ปีงบประมาณ พ.ศ. 2549 ของภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล. งบประมาณ 50,000 บาท

66). สุชีพ สุขสุแพทย์ และจรรยา คงฤทธิ์ 2550. ผลของชนิดอาหารต่อการเจริญเติบโต การออกไข่และการฟักไข่ของไก่ฟ้าหลังขาว การประชุมทางวิชาการ สิ่งแวดล้อมนครสวรรค์ ครั้งที่ 3 วันที่ 20-21 มิถุนายน 2550 คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ. พิษณุโลก

67). จารุณี พรหมมานนท์ และ สุชีพ สุขสุแพทย์. 2550. ผลของระดับโปรตีนในอาหารให้แบบเลือกกินต่อการเจริญเติบโตของไก่ฟ้าหลังขาว การประชุมทางวิชาการ สิ่งแวดล้อมนครสวรรค์ ครั้งที่ 3 วันที่ 20-21 มิถุนายน 2550 คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จ. พิษณุโลก

68). จารุณี พรหมมานนท์ และ สุชีพ สุขสุแพทย์ 2550. ผลการให้อาหารแบบเลือกกินในไก่ฟ้าหลังขาวระยะเติบโต. การเสนอผลงานวิชาการในการประชุมใหญ่สามัญประจำปี พ.ศ. 2550 ของสมาคมสัตว์ปีกโลก สาขาประเทศไทย วันที่ 30 ตุลาคม 2550 ณ โรงแรมโซฟิเทล เซลทารา

แกรนด์ กรุงเทพฯ

69). สุชีพ สุขสุแพทย์ จารุณี พรหมมานนท์ และ จรรยา คงฤทธิ์ และ 2551. ผลการให้อาหารแบบเลือกกินต่อการเติบโตของไก่ฟ้าหลังขาวระยะรุ่น. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 4 วันที่ 31 มกราคม 2551 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (โปสเตอร์).

70). กานต์ สุขสุแพทย์,¹ จรรยา คงฤทธิ์ และ จารุณี พรหมมานนท์ 2551 การศึกษาความต้องการสารอาหารในสัตว์ปีกโดยวิธีให้อาหารแบบเลือกกิน การประชุมวิชาการ งานวันเกษตรแห่งชาติ ประจำปี 2551 ระหว่างวันที่ 8-10 กันยายน 2551 ณ คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร จังหวัดพิษณุโลก (โปสเตอร์)

71). สุชีพ สุขสุแพทย์ จรรยา คงฤทธิ์ และจารุณี พรหมมานนท์. 2551. การศึกษาการให้โภชนาที่เหมาะสมในสัตว์ปีกที่รับอาหารแบบเลือกกิน. รายงานผลงานวิจัยเสนอคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

72). มณฑนา บรรจง จรรยา คงฤทธิ์ และ กานต์ สุขสุแพทย์ 2552. ผลการให้อาหารเลือกกินต่อการเจริญเติบโตของไก่ลูกผสมพื้นเมือง. การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 5 วันที่ 26-28 มกราคม 2552 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น (โปสเตอร์).

73). จรรยา คงฤทธิ์ และ กานต์ สุขสุแพทย์ 2552. การเจริญเติบโตและซากของไก่พื้นเมืองที่ให้อาหารเลือกกิน. การประชุมสัมมนาทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 2 ระหว่างวันที่ 28-29 พฤษภาคม 2552 ณ โรงแรม ดรากอน บีช รีสอร์ท พัทยา จังหวัดชลบุรี (โปสเตอร์)

74). จรรยา คงฤทธิ์ ณัทย วิจิตโรทัย และ กานต์ สุขสุแพทย์ 2554. ผลการใช้กากกะทิในอาหารไก่เนื้อ. การประชุมสัมมนาทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 4 ระหว่างวันที่ 26-27 พฤษภาคม 2554 ณ โรงแรม ชลจันทร์ รีสอร์ท พัทยา จังหวัดชลบุรี (โปสเตอร์)

75). กานต์ สุขสุแพทย์ และจรรยา คงฤทธิ์ .2554. การศึกษาผลของอาหารต่อคุณภาพเปลือกไข่เป็ด : กรณีศึกษา-อำเภอบางเลน จังหวัดนครปฐม การประชุมสัมมนาทางวิชาการ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก ครั้งที่ 4 ระหว่างวันที่ 26-27 พฤษภาคม 2554 ณ โรงแรม ชลจันทร์ รีสอร์ท พัทยา จังหวัดชลบุรี (โปสเตอร์)

ผู้ร่วมวิจัย 1

1. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางกนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์, ผศ.ดร.
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Kanokrat Srikitsasemwat, Assistant Professor Dr.
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3400500802298
3. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์ 02-3298519 โทรสาร 02-3298519
E-mail kskanokr@kmitl.ac.th
4. ประวัติการศึกษา
พ.ศ. 2533-2537 วท.บ. เทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2537-2540 วท.ม. เทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2544-2549 ปรัช.ด. เทคโนโลยีชีวภาพเกษตรมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
5. ประสบการณ์งานวิจัย

ทุนวิจัย

- 1) การจำแนกเพศนกสวายนางด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ (ทุนวิจัยเงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร พ.ศ. 2550) – หัวหน้าโครงการ (ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์)
- 2) [การใช้ประโยชน์จากกากนมถั่วเหลืองในอาหารไก่เนื้อ](#) (ทุนงบประมาณ พ.ศ. 2552) – หัวหน้าโครงการ (โครงการวิจัยเสร็จสิ้น ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์ภายในสิ้นเดือนมิถุนายน 2554)
- 3) [การพัฒนาเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ในการจำแนกเพศนกแก้วปากขอ](#) (ทุนงบประมาณ พ.ศ. 2552) – ผู้ร่วมวิจัย (ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์)

ผลงานที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ

- 1) กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2551. การตรวจแยกเพศนกสวายนางจากความแตกต่างของยีน CHD ด้วยเทคนิค PCR. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 26(2): 91-96.
- 2) กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2551. สเต็มเซลล์ สัตวแพทย์มหานครสาร. 3(1) : 67-72.
- 3) สุชีพ สุขสุแพทย์ อนุชา แสงโสภณ และกนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2542. อิทธิพลของน้ำหนักไข่ต่อการฟักออกของลูกนกกระจอกเทศ วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 17(2): 42-47.
- 4) อนุชา แสงโสภณ รณชัย สิทธิไกรพงษ์ พงศ์ศักดิ์ ศรีธเนศชัย และ กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2543. ผลกระทบของสมุนไพรฟ้าทะลายโจรต่อสมรรถภาพของไก่เนื้อและไก่พื้นเมืองลูกผสมทางการค้า. ว.พระจอมเกล้าลาดกระบัง 8(2) : 15-21.
- 5) อนุชา แสงโสภณ วิชัย ศุภลักษณ์ และกนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. 2544. ชนิดของเสียในถาดเกิดลูกไก่และวิธีการให้ความร้อนต่อองค์ประกอบทางเคมีในของเสีย. ว.พระจอมเกล้าลาดกระบัง 9(1) : 25-30.
- 6) อนุชา แสงโสภณ วิชัย ศุภลักษณ์ และกนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์. ชนิดและวิธีการให้ความร้อนต่อส่วนประกอบทางเคมีในของเสียจากการฟักไข่. ว.พระจอมเกล้าลาดกระบัง 8(3) : 25-30.
- 7) Srikitsasemwat, K., S. Chantakru, S. Wongnakpet , K. Siripattaraprat and T. Sirinarumitr. 2005. Production of Recombinant Porcine Interleukin-2 (IL-2). J Kasetart Veterinarians. 15(3) : 137-145
- 8) Srikitsasemwat, K., S. Vihokto, S. Chantakru, S. Wongnakpet and T. Sirinarumitr. 2005. Production of Recombinant Non-Structural Protein 3ABC of Foot and Mouth Disease Virus (FMDV) Serotype O Using Baculovirus-Insect Cell Expression System. J Kasetart Veterinarians. 15(3): 126-136

- 9) Thammakarn, C., A. Punchukrang, K. Jirajaroenrat and **K. Srikijkasemwat**. 2007. Sex identification of some Psittacine birds by polymerase chain reaction. Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine. 2(2):30-34.

การเสนอผลงานในที่ประชุมระดับชาติ

- 1) กนกรัตน์ บ้องประทุม. 2542.การควบคุมการเจริญและการสร้างสารพิษอะฟลาทอกซินของเชื้อรา *Aspergillus parasiticus* 102566 โดยใช้สารกันเสียบางชนิด. ใน : รายงานผลการวิจัย การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 37 วันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ 2542.หน้า 223.
- 2) กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ กรรณิการ์ ศิริภัทรประวัต ศิริรักษ์ จันทครุ ศิริชัย วงษ์นาคเพชร และ อีระพล ศิริ นฤมิตร. 2548. การผลิตโปรตีนรีคอมบิแนนท์ อินเตอร์ลิวคิน 2 ในเซลล์แมลง. ใน : รายงานผลการวิจัย การประชุมทางวิชาการของสัตวแพทย์และการเลี้ยงสัตว์ครั้งที่ 31 วันที่ 2-4 พฤษภาคม 2548. หน้า 28.
- 3) เยาวลักษณ์ คำจันทร์ กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์ อลงกต บุญสูงเนิน สุขสันต์ น่ำสิงห์ และปรีดา เลิศวัชรสารกุล. 2552. การจำแนกสายพันธุ์ย่อยของเชื้อ *Haemophilus parasuis* ที่คัดแยกได้จากสุกรในประเทศไทย. ใน : รายงานผลการวิจัย การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 47 กรุงเทพฯ วันที่ 17-20 มี.ค. 2552. หน้า 148-155.
- 4) **Srikijkasemwat, K.**, T. Siriinarumitr and K. Siripattaraprat. Cloning and Expression of Recombinant Porcine Interleukin-2 (IL-2) in Baculovirus, p. 68. In AgBiotech Graduate Conference I, 18-19 March 2004. Bangkok, Thailand.

การเสนอผลงานในที่ประชุมระดับนานาชาติ

- 1) **Srikijkasemwat, K.**, D. Thanaboripat and V. Ruangrattanametee. 2000. Control of growth and aflatoxin production of *Aspergillus parasiticus* in corn by salt, p. 111. In Proceedings Of Asian Mycological Congress 2000, 9-13 July 2000.Hong Kong Sar, China.
- 2) **Srikijkasemwat, K.**, T. Siriinarumitr, K. Siripattaraprat and D. Surangkul. Molecular Cloning and Expression of recombinant Porcine Interleukin-2 (IL-2) in Baculovirus p. 145. In The Fifth Princess Chulabhorn International Science Congress “Evolving Genetics and Its Global Impact”, 16-20 August. 2004. Bangkok, Thailand.
- 3) Yaowarat, N., K. Jirajaroenrat and **K. Srikijkasemwat**. Molecular Cloning of Family 9 Cellulase Genes from Metagenomic DNA in Buffalo Ruminant Fluid. P5-04. In the 16th Asian Agricultural Symposium “Sufficiency Agriculture” and 1st International Symposium on Agricultural Technology. 25-27 August 2010. Bangkok, Thailand.
- 4) Srimoon, O., K. Jirajaroenrat and **K. Srikijkasemwat**. Molecular Cloning of a Family 48 Cellulase Gene from Buffalo Rumen. P5-03. In the 16th Asian Agricultural Symposium “Sufficiency Agriculture” and 1st International Symposium on Agricultural Technology. 25-27 August 2010. Bangkok, Thailand.

ผู้ร่วมวิจัย 2

1. ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นางกัญญา จิระเจริญรัตน์, ผศ.ดร.
ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) Mrs. Kanya Jirajaroenrat, Assistant Professor Dr.
2. เลขหมายบัตรประจำตัวประชาชน 3209800120117
3. หน่วยงานและสถานที่ติดต่อได้
สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ถนนฉลองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520
โทรศัพท์ 02-3298519 โทรสาร 02-3298519
E-mail kjkanya@kmitl.ac.th
4. ประวัติการศึกษา
พ.ศ. 2532-2536 วท.บ. (เทคนิคการแพทย์) มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2541-2543 วท.ม. (อณูพันธุศาสตร์และพันธุวิศวกรรมศาสตร์) มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ. 2543-2547 Ph.D. (Animal Science) University of Nottingham, United Kingdom
5. ประสบการณ์งานวิจัย

ทุนวิจัย

- 1) การส่งผ่านยีนจากภายนอกไปสู่ตัวสุจิของกระต่ายโดยวิธีการฉีดผ่านลูกอสุย (ทุนนักวิจัยใหม่ นักเรียนทุนกระทรวงวิทยาศาสตร์ 2548) – หัวหน้าโครงการ (ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์)
- 2) การพัฒนาเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์โดยใช้ชุดไพรเมอร์รวมในการจำแนกชนิดของเนื้อสัตว์ในส่วนผสมเนื้อสัตว์ดิบและสุกร (ทุนงบประมาณ พ.ศ. 2548) – หัวหน้าโครงการ (ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์)
- 3) การศึกษาเกี่ยวกับการแสดงออกของยีนแคลปาสเตตินในโคพื้นเมืองไทย (ทุนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่ สกอ-สกว 2549) – นักวิจัยหลังปริญญาเอก (ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์)
- 4) การจำแนกเพศนกสวามด้วยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ (ทุนงบประมาณ พ.ศ. 2550) - ผู้ร่วมวิจัย
- 5) การศึกษาความหลากหลายทางพันธุกรรมของโคพื้นเมืองไทยในเขตภาคกลาง (ทุนวิชาการฝ่ายเกษตร สกว. 2550) – หัวหน้าโครงการ (ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์)
- 6) การศึกษาการทำงานและการแสดงออกของเอนไซม์กลุ่มแคลเพนและแคลปาสเตตินในเนื้อกวระหว่างการเก็บบ่ม (ทุนงบประมาณประจำปี 2551 บัณฑิตวิทยาลัย สจล.) – หัวหน้าโครงการ (ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์)
- 7) Molecular Identification of Novel Cellulases from Buffalo (*Bubalus bubalis*) Rumen as a Potential Biocatalyst for Biofuel Production (AIT-RTG Budget-Joint Research Project, Fiscal Year 2008) – นักวิจัยหลังปริญญาเอก (ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์)
- 8) การโคลนและการแสดงออกของยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสกลุ่มที่ 9 ที่คัดเลือกมาจากรูเมนของกระบือ (ทุนงบประมาณประจำปี 2553) – หัวหน้าโครงการ (ส่งรายงานฉบับสมบูรณ์)
- 9) การศึกษาความหลากหลายของแบคทีเรียในระบบลำไส้ของไก่โดยการวิเคราะห์ลำดับเบสของยีน 16S rDNA (ทุนวิจัยเงินรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร ประจำปี 2553) - ผู้ร่วมวิจัย

ผลงานที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับชาติ

- 1) Thammakarn, C., A. Punchukrang, K. Jirajaroenrat and K. Srikijsakemwat. 2007. Sex identification of some Psittacine birds by polymerase chain reaction. Journal of Mahanakorn Veterinary Medicine. 2(2):30-34.
- 2) กัญญา จิระเจริญรัตน์ ฐาปนา เขมนิพิฐพนธ์ และ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล. 2551. การจำแนกสปีชีส์ของสัตว์ในส่วนผสมเนื้อสัตว์ด้วยเทคนิคปฏิกิริยาพีซีอาร์เชิงซ้อน. วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 36(2):162-169.

- 3) **กัญญา จิระเจริญรัตน์**. 2551. การย้ายฝากยีนผ่านทางตัวอสุจิในสัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 26(1): 116-123. (บทความ)
- 4) พรพิมล บุญวงศ์ ภัทราภรณ์ จางวนิชเลิศ กันยา ตันติวิสุทธิกุล จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ **กัญญา จิระเจริญรัตน์**. 2551. อิทธิพลของจีโนไทป์ของยีนไมโอจินินต่อลักษณะของเส้นใยกล้ามเนื้อในสุกร. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 27(1):27-33.

ผลงานที่ตีพิมพ์ในวารสารระดับนานาชาติ

- 1) Pongjaroenkit, S., **K. Jirajaroenrat**, C. Boonchaay, U. Chanama, S. Leetachewa, L. Prapanthadara and A.J. Kettermen. 2001. Genomic organization and putative promoters of highly conserved glutathione S-transferases originating by alternative splicing in *Anopheles dirus*. Insect Biochem. Mol. Biol. 31(1):75-85.
- 2) **Jirajaroenrat**, K., S. Pongjaroenkit, C. Krittanai, L. Prapanthadara and A.J. Kettermen. 2001. Heterologous expression and characterization of alternatively spliced glutathione S-transferases from a single *Anopheles* gene. Insect Biochem. Mol. Biol. 31(9):867-875.
- 3) Oakley, A.J., **K. Jirajaroenrat**, T. Harnnoi, A.J. Kettermen and M.C. Wilce. 2001. Crystallization of two glutathione S-transferases from an unusual gene family. Acta Crystallogr. D. Biol. Crystallogr. 57(Pt 6):870-872.
- 4) Oakley, A.J., T. Harnnoi, R. Udomsinprasert, **K. Jirajaroenrat**, A.J. Kettermen, and M.C. Wilce. 2001. The crystal structures of glutathione S-transferases isozymes 1-3 and 1- 4 from *Anopheles dirus* species B. Protein Sci. 10(11):2176-2185.

การเสนอผลงานในที่ประชุมระดับชาติ

- 1) ฐาปนา เขมนิพิฐพนธ์ และ **กัญญา จิระเจริญรัตน์**. การตรวจสอบการปนเปื้อนของดีเอ็นเอสุกรในผลิตภัณฑ์อาหารฮาลาลด้วยเทคนิคพีซีอาร์. หน้า 164-168. ใน การประชุมวิชาการสัตวศาสตร์ ครั้งที่ 4. 31 มกราคม 2551. คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ขอนแก่น.
- 2) ฐาปนา เขมนิพิฐพนธ์ จุฑารัตน์ เศรษฐกุล และ **กัญญา จิระเจริญรัตน์**. การจำแนกสปีชีส์ของเนื้อสัตว์ที่ใช้ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์แปรรูปโดยเทคนิคปฏิกิริยาลูกโซ่พีซีอาร์ไพรมอร์เชิงซ้อน. (ซีดีรอม) ใน การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 9. 14-15 มีนาคม 2551. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยบูรพา ชลบุรี.

การเสนอผลงานในที่ประชุมระดับนานาชาติ

- 1) **Jirajaroenrat**, K., C. Denning, M. Hamshire and K.H.S. Campbell. Selection of accessible cleavage sites on alpha1,3-galactosyltransferase gene. In the 8th RNA Society Conference. 1-6 July 2003. Vienna, Austria. (abstract)
- 2) **Jirajaroenrat**, K. and C. Thammakarn. Sex identification of some pet birds by Polymerase Chain Reaction-based methods. p. 376-379. In International Conference on Integration of Science & Technology for Sustainable Development. 26-27 April 2007. Bangkok: Thailand.
- 3) **Jirajaroenrat**, K., Y. Opatpatanakit, L. Srisuwan and J. Sethakul. Myofibrillar protein degradation over ageing period of Kampaengsaen beef. p.193-194. In Proceeding of the 53rd International Congress of Meat Science and Technology. 5-10 August 2007. Beijing, China.

- 4) Sethakul, J., Y. Opatpatanakit, R. Limsupavanich, L. Srisuwan and **K. Jirajaroenrat**. Relationship of Postmortem Troponin-T Degradation and Meat Tenderness of Beef Longissimus dorsi from Different Production Systems in Thailand. Section 6.17. In Proceeding of the 54th International Congress of Meat Science and Technology. 10-15 August 2008. Capetown, South Africa.
- 5) **Jirajaroenrat, K.**, S. Satitmanwiwat, K. Tuntivisoottikul. Genetic Diversity of Central Thailand Beef Cattle Revealed by Mitochondrial DNA Data. Session I.O.1. In The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 22-26 September 2008. Hanoi, Vietnam.
- 6) **Jirajaroenrat, K.**, P. Boonwong and K. Tuntivisoottikul. Genetics Diversity of Thai Indigenous Beef Cattle Lines Using Microsatellites. Session I.P.12. In The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 22-26 September 2008. Hanoi, Vietnam.
- 7) Tuntivisoottikul, K. and **K. Jirajaroenrat**. Genetic Characterization of Five Goat Breeds Using some Microsatellite DNA Markers. Session I.P.13. In The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 22-26 September 2008. Hanoi, Vietnam.
- 8) Promthep, K., **K. Jirajaroenrat** and R. Sitthigripong. Fertility Efficiency of Bovine X-bearing Spermatozoa after Sexing by Percoll Density Gradient Centrifugation. Session I.P.14. In The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 22-26 September 2008. Hanoi, Vietnam.
- 9) Pokathikorn, P., S Tanapongpipat. L. Eurwilaichitr and **K. Jirajareonrat**. Isolation of a Gene Encoding Beta-endoglucanase from Bovine Ruminant Bacteria Using Molecular Approach. Session I.O.3. In The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 22-26 September 2008. Hanoi, Vietnam.
- 10) Artchawakom, C., Y. Opatpatanakij, J. Sethakul and **K. Jirajaroenrat**. Myofibrillar Protein Profiles of Kampaengsaen Beef and Thai Native Beef During Aging Period. Session II.P.5. In The 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 22-26 September 2008. Hanoi, Vietnam.
- 11) Satitmanwiwat, S., T. Thongaram, L. Eurwilaichitr and **K. Jirajaroenrat**. Genetic Diversity of Bacterial Population in Swamp Buffalo (*Bubalus bubalis*) Rumen. Session I.O.2. In the 13th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 22-26 September 2008. Hanoi, Vietnam.
- 12) **Jirajaroenrat, K.**, W. Sathitkowitchai, Y. Opatpatanakit. Evidence of cellulase diversity in rumen of swamp buffalo (*Bubalus bubalis*). p. 208-215. In Proceeding of the 20th Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology. 14-17 October 2008. Mahasarakarm, Thailand.
- 13) Tuntivisoottikul, K. and **K. Jirajaroenrat**. Genetic variation of goat populations raised in Bangkok using microsatellite markers. 292-298. In Proceeding of the 20th Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology. 14-17 October 2008. Mahasarakarm, Thailand.
- 14) Pimsomdaeng, O., K. Tuntivisoottikul and **K. Jirajaroenrat**. Reduction of calpain proteins in rusa deer meat during postmortem storage. 299-303. In Proceeding of the 20th

- Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology. 14-17 October 2008. Mahasarakarm, Thailand.
- 15) Marusect, L., N. H. Nhung, P. Harnpichanchai, L. Eurwilaichitr and **K. Jirajaroenrat**. Identification of a gene encoding cellulase enzyme from metagenomic library of ruminal bacteria. In the 21th Annual Meeting and International Conference of the Thai Society for Biotechnology. 24-25 September 2009. Bangkok, Thailand.
 - 16) Sathitkowitchai, W., K. Sae-Tang, S. Tanapongpipat and **K. Jirajaroenrat**. Molecular Cloning of Beta-1,4-Endoglucanase Genes from Buffalo Rumen (*Bubalus bubalis*). p.179-186. In Proceeding of the 48th Annual Conference of Kasetsart University. 3-5 February 2010. Bangkok, Thailand.
 - 17) Sangsoponjit, S., W. Suphalucksana, A.F. El Sheikha, D. Montet and **K. Jirajaroenrat**. Monitoring of the microbial community structure in intestinal tract of chicken (*Gallus gallus*) by PCR-DGGE technique. In the 14th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 23-27 August 2010. Pingtung, Taiwan.
 - 20) Pimsomdaeng, O., K. Tuntivisoottikul and **K. Jirajaroenrat**. Postmortem Proteolysis of Longissimus Muscle Proteins in Rusa Deer (*Cervus timorensis*). In the 14th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 23-27 August 2010. Pingtung, Taiwan.
 - 21) Suphalucksana, W., S. Kongsan, S. Sangsoponjit and **K. Jirajaroenrat**. Improvement of the Nutritional Value of Guinea Grass Silage by Addition of Lead Tree and Groundnut. In the 14th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 23-27 August 2010. Pingtung, Taiwan.
 - 22) Namkul, K., D. Boonkusol, **K. Jirajaroenrat** and A. Jarernpornnipat. Ovarian Developmental Stage Indices and Haemolymph Protein Change of Mud Crabs: *Scylla olivacea* and *Scylla paramamosain*. In the 14th Animal Science Congress of the Asian-Australasian Association of Animal Production Societies. 23-27 August 2010. Pingtung, Taiwan.
 - 23) Pinmongkongune, D., S. Netrphan and **K. Jirajaroenrat**. Molecular Cloning of Bacterial Beta-glucosidase Genes from Buffalo Ruminant Fluid Using Metagenomic Approach. P5-02. In the 16th Asian Agricultural Symposium "Sufficiency Agriculture" and 1st International Symposium on Agricultural Technology. 25-27 August 2010. Bangkok, Thailand.
 - 24) Yaowarat, N., **K. Jirajaroenrat** and K. Srikitkasemwat. Molecular Cloning of Family 9 Cellulase Genes from Metagenomic DNA in Buffalo Ruminant Fluid. P5-04. In the 16th Asian Agricultural Symposium "Sufficiency Agriculture" and 1st International Symposium on Agricultural Technology. 25-27 August 2010. Bangkok, Thailand.
 - 25) Srimoon, O., **K. Jirajaroenrat** and K. Srikitkasemwat. Molecular Cloning of a Family 48 Cellulase Gene from Buffalo Rumen. P5-03. In the 16th Asian Agricultural Symposium "Sufficiency Agriculture" and 1st International Symposium on Agricultural Technology. 25-27 August 2010. Bangkok, Thailand.

ผลผลิตจากการวิจัย

1. ทิภาภรณ์ งามสง่า, จุฑาทิพย์ เณลิมวานิชวงศ์, กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์, กานต์ สุขสุแพทย์ และ กัญญา จิระเจริญรัตน์ การประเมินกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสที่ผลิตโดยแบคทีเรียจากกระเพาะหมักของกระบือ. หน้า ST1121-ST1125 ใน การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 29. 24-25 ตุลาคม 2556. บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เชียงราย.