ชื่อโครงการ การย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยเอนไซม์จากแบคทีเรียในกระเพาะหมักของกระบือ
แหล่งเงิน เงินรายได้คณะเทคโนโลยีการเกษตร
ประจำปีงบประมาณ 2555 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 400,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ 1 ตุลาคม 2554 ถึง 30 กันยายน 2555
หัวหน้าโครงการ ผศ.ดร. กัญญา จิระเจริญรัตน์
สังกัดภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผู้ร่วมโครงการวิจัย รศ.ดร. กานต์ สุขสุแพทย์ รศ.ดร. จำรูญ เล้าสินวัฒนา และ ผศ.ดร. กนกรัตน์ ศรีกิจเกษมวัฒน์
สังกัดภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้จัดทำขึ้นเพื่อคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากกระเพาะหมักของกระบือปลักที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสร่วมกับไซแลนเนสและประเมินการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร จากการศึกษาพบว่า เชื้อไอโซเลทหมายเลข ID2R1P1 และ ID2R1P2 สามารถย่อยอาหารแข็ง CMC agar และ xylan agar ได้ดี ไอโซเลท ID2R1P1 มีความเหมือนของยีน 16S rRNA กับเชื้อ *Corynebacterium* sp. (X89778.1) 99% ขณะที่ไอโซเลท ID2R1P2 มีความเหมือนกับยีนของ *Bacillus pumilus* 96% เชื้อไอโซเลท ID2R1P1 ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุดเมื่อบ่มในอาหารที่มี 1% CMC และ 0.1% yeast extract ที่อุณหภูมิ 39°C pH 7.0 เป็นเวลา 2 วัน และผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี 2% xylan และ 0.1% yeast extract ที่อุณหภูมิ 37°C pH 3.0 เป็นเวลา 2 วัน สภาวะการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส คือ บ่มที่อุณหภูมิ 50°C pH 7.0 นาน 10 นาที และบ่มที่อุณหภูมิ 90°C pH 7.0 นาน 5 นาที ตามลำดับ เอนไซม์ยังสามารถย่อยอะไวเซลและกระดาษกรองได้ดี ขณะที่เชื้อไอโซเลท ID2R1P2 ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุดเมื่อบ่มในอาหารที่มี 3% CMC และ 0.1% yeast extract ที่อุณหภูมิ 37°C pH 5.0 เป็นเวลา 5 วัน และผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี 1% xylan และ 0.1% yeast extract ที่อุณหภูมิ 39°C pH 4.0 เป็นเวลา 3 วัน สภาวะการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส คือ บ่มที่อุณหภูมิ 50°C pH 5.0 นาน 10 นาที และบ่มที่อุณหภูมิ 70°C pH 8.0 นาน 10 นาที ตามลำดับ เอนไซม์สามารถย่อยกระดาษกรองได้เล็กน้อย ใบอ้อยสามารถใช้ในการผลิตเซลลูเลสได้ดี ขณะที่ต้นข้าวโพดและฟางข้าวสามารถใช้ในการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสได้ดี เมื่อนำฟางข้าวผ่านการอบด้วยคลื่นไมโครเวฟนาน 30 นาที และนำใบอ้อยและต้นข้าวโพดผ่านการอบด้วยความดันไอน้ำนาน 20 นาที พบว่า เอนไซม์สกัดจากไอโซเลท ID2R1P1 สามารถย่อยใบอ้อยและต้นข้าวโพดได้ดี ขณะที่เอนไซม์สกัดจากไอโซเลท ID2R1P2 ย่อยฟางข้าวได้ดี เอนไซม์ไซแลนเนสที่ผลิตจากทั้งสองไอโซเลทสามารถทำงานได้ดีในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงและเป็นด่าง น่าจะสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมที่ใช้ความร้อนและด่างในขบวนการผลิตได้ เช่น การทำเยื่อกระดาษ การฟอกย้อมผ้า เป็นต้น

คำสำคัญ : แบคทีเรียจากกระเพาะหมัก, เซลลูเลส, ไซแลนเนส, วัตถุเหลือทิ้งทางการเกษตร

Research Title: Degradation of Agricultural Residues by Enzymes from Bacteria in Buffalo Rumen
Researcher: Asst.Prof. Kanya Jirajaroenrat, Assoc.Prof. Kan Suksupath, Assoc.Prof. Chamroon Laosinwattana, Asst.Prof. Kanokrat Srikijkasemwat
Faculty: Agricultural Technology
Department: Animal Production Technology and Fisheries

ABSTRACT

This research was performed to isolate ruminal bacteria producing both cellulase and xylanase and to investigate the degradation of agricultural residues by the enzymes. Bacterial isolates ID2R1P1 and ID2R1P2 showed halo clear zones on both CMC agar and xylanase agar were selected for study. The 16S rDNA sequencing indicated that the ID2R1P1 and ID2R1P2 shared identity to *Corynebacterium* sp. (X89778.1) 99% และ *Bacillus pumilus* 96% respectively. Isolate ID2R1P1 produced cellulase when incubation in CMC broth containing 1% CMC and 0.1% yeast extract at 39°C, pH 7.0 for 2 days and produced xylanase when incubation in xylan broth containing 2% xylan and 0.1% yeast extract at 37°C, pH 3.0 for 2 days. Optimal condition of cellulase activity was incubation at 50°C, pH 7.0 for 10 mins and for xylanase activity was incubation at 50°C, pH 7.0 for 10 mins. The crude enzyme was able to digest avicel and filter paper. Whereas, isolate ID2R1P2 produced cellulase when incubation in CMC broth containing 3% CMC and 0.1% yeast extract at 37°C, pH 5.0 for 5 days and produced xylanase when incubation in xylan broth containing 1% xylan and 0.1% yeast extract at 39°C, pH 4.0 for 3 days. Optimal condition of cellulase activity was incubation at 50°C, pH 5.0 for 10 mins and that of xylanase activity was incubation at 70°C, pH 8.0 for 10 mins. The crude enzyme was able to digest filter paper but nor avicel. Sugarcane leaves could be used as carbon source for cellulase production while corn stalk and rice straw could be used as for xylanase production. Pretreatment of rice straw by microwaving for 30 mins and pretreatment of sugarcane leaves and corn stalk by autoclaving for 20 mins, then digesting by the crude enzymes showed that the enzyme from isolate ID2R1P1 could digest sugarcane leaves and corn stalk while the crude enzyme from isolate ID2R1P2 could digest rice straw. The xylanase activities of the two isolates presented at high level when incubation at high temperature and pH. This indicated that the enzymes could be applied to paper pulp production and textile bio-polishing process.

Keywords : ruminal bacteria, cellulase, xylanase, agricultural residues