สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ประสิทธิภาพการสร้างเอ็นไซม์ของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารไก่

Efficiency of Microorganism from Gastrointestinal Tracts of Chicken for Enzyme Production

คณะผู้ดำเนินการวิจัย

รศ.วิชัย ศุภลักษณ์

รศ.เศรษฐสิทธิ์ แสงโสภณจิตร

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

R&H
P542ว
2556
ตำหนิ.....
เลขทะเบียน.140741
รับ.เดือน.ปี.24 ก.พ. 2559

b.12748286
i.....

ได้รับการสนับสนุนจากงบประมาณเงินรายได้โครงการวิจัยประจำปี งบประมาณ 2556

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ประสิทธิภาพการสร้างเอ็นไซม์ของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารไก่

บทคัดย่อ

การศึกษาประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์ จากการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากระบบทางเดินอาหารของไก่ พบว่ามีส่วนของเชื้อราที่นำมาทำการทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ดังนี้ เชื้อราในส่วน Duodenum (LD) ได้แก่ *Mucor* sp. (LD-PDA-01) และ *Rhizopus* sp. (LD-PDA-03) เชื้อราในส่วน Jejunum (LJ) ได้แก่ *Aspergillus niger* (LJ-PDA-01), *Rhizopus* sp.(LJ-PDA-01) และ*Trichoderma* sp.(LJ-PDA-03) เชื้อราในส่วน Ilium (LI) ได้แก่ *Trichoderma* sp. (LI-PDA-02) เชื้อราในส่วน Ceacum (LC) ได้แก่ *Mucor* sp. (LC-PDA-01) เชื้อราในส่วน Large intestine (LL) ได้แก่ *Eurotium* sp. (LL-PDA-01) ในส่วนของแบคทีเรียจากระบบทางเดินอาหารของไก่ พบว่า แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Duodenum ได้แก่ bacteria (LD-NA-01) แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Ceacum ได้แก่ bacteria (LC-NA-01) แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Large intestine ได้แก่ bacteria (LL-NA-01) ในส่วนของ Actinomycetes จากระบบทางเดินอาหารของไก่ พบเพียงในลำไส้จากส่วน Large intestine คือ Actinomycetes LL-NA-01 ผลการนำจุลินทรีย์ในส่วนต่างๆ มาทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ amylase, cellulase, hemicellulase, ligninase, lipase และ protease พบว่า เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ amylase มีดังนี้ *A. niger* (LJ-PDA-01), *Mucor* sp. (LD-PDA-01), *Mucor* sp. (LC-PDA-01), *Rhizopus* sp. (LD-PDA-03), *Rhizopus* sp. (LJ-PDA-01) และ *Trichoderma* sp. (LI-PDA-02) เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ Cellulase ได้แก่ *Rhizopus* sp. (LJ-PDA-01) เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ hemicellulase มีดังนี้*A.niger* (LJ-PDA-01), *Mucor* sp.(LD-PDA-01), *Mucor* sp. (LC-PDA-01), *Eurotium* sp.(LL-PDA-01), *Rhizopus* sp. (LD-PDA-03), *Rhizopus* sp. (LJ-PDA-01), *Trichoderma* sp. (LI-PDA-02) และ *Trichoderma* sp. (LJ-PDA-03) เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ lipase ได้แก่ *Mucor* sp. (LD-PDA-01) และ *Mucor* sp. (LC-PDA-01) เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ protease ได้แก่ *A. niger* (LJ-PDA-01), *Eurotium* sp. (LL-PDA-01), *Trichoderma* sp. (LI-PDA-02) และ *Trichoderma* sp.(LJ-PDA-03) เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ ligninase ได้แก่ *Mucor* sp. (LC-PDA-01) และ*Trichoderma* sp.(LI-PDA-02) การทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ของแบคทีเรีย พบว่า Bacteria(LD-NA-01), Bacteria (LC-NA-02) และ Bacteria (LL-NA-01) สามารถสร้างเอ็นไซม์ hemicellulase และ ligninase ส่วนแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ amylase ได้แก่ Bacteria (LD-NA-01) และ Bacteria (LL-NA-01) ในการทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ cellulase พบว่ามีเพียง Bacteria (LD-NA-01) เท่านั้นที่สามารถสร้าง cellulase ได้ การสร้างเอ็นไซม์ของ Actinomycetes พบว่า จากการทดสอบความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ของ Actinomycetes (LL-NA-01) สามารถสร้างเอ็นไซม์ amylase, cellulase, hemicellulase และ ligninase ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

Efficiency of Microorganism from Gastrointestinal Tracts of Chicken for Enzyme Production

ABSTRACT

A study on the efficiency of enzyme production of microorganism isolated from the gastrointestinal tracts of chicken was conducted. The fungi isolated from the duodenum were: Mucor sp. (LD-PDA-01) and Rhizopus sp. (LD-PDA-03). In the jejunum, the fungi isolated were: Aspergillus niger (LJ-PDA-01). Rhizopus sp. (LJ-PDA-01) and Trichoderma sp. (LJ-PDA-03). From the ilium, Trichoderma sp. (LI-PDA-02 was found. In the caecum, Mucor sp. (LC-PDA-01) was isolated and in the Large intestine Eurotium sp. (LL-PDA-01) was found. The bacteria isolated were still unidentified and coded as LD-NA-01 (isolated from the duodenum), LC-NA-01 (from ceacum) and LL-NA-01 (from large intestine). An Actinomycetes was isolated only in the large intestine and coded as LL-NA-01.

Result of enzyme analysis revealed that amylase was produced by isolates: A. niger (LJ-PDA-01), Mucor sp. (LD-PDA-01), Mucor sp. (LC-PDA-01), Rhizopus sp. (LD-PDA-03), Rhizopus sp. (LJ-PDA-01) and Trichoderma sp. (LI-PDA-02). The enzyme cellulose was produced by Rhizopus sp. (LJ-PDA-01). Hemicellulase was produced by A. niger (LJ-PDA-01), Mucor sp. (LD-PDA-01), Mucor sp. (LC-PDA-01), Eurotium sp. (LL-PDA-01), Rhizopus sp. (LD-PDA-3), Rhizopus sp. (LJ-PDA-01), Trichoderma sp. (LJ-PDA-03). For the enzyme lipase, two isolates were found to produce this enzyme namely: Mucor sp. (LD-PDA-01) and Mucor sp. (LC-PDA-01). Protease production was observed in A. niger (LJ-PDA-01), Eurotium sp. (LL-PDA-01), Trichoderma sp. (LI-PDA-02) and Trichoderma sp. (LJ-PDA-03). The enzyme ligninase was produced by Mucor sp. (LC-PDA-01) and Trichoderma sp. (LI-PDA-02). For bacteria, it was found out that isolates LB-NA-01, LC-NA-02 and LL-NA-01 could produce hemicellulase and ligninase. Moreover, bacterial isolates LD-NA-01 and LL-NA-01 could produce amylase. The enzyme cellulose was produced by isolate LD-NA-01. The Actinomycetes (LL-NA-01) could produce the enzymes amylase, cellulose, hemicellulase and ligninase.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ	i
สารบัญ	iii
สารบัญตาราง	vi
สารบัญภาพ	v
บทนำ	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	3
ระเบียบวิธีวิจัย	7
ผลการวิจัย	10
สรุปผลการวิจัย	30
เอกสารอ้างอิง	32

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ผลการศึกษาความสามารถในของเชื้อราในทางเดินอาหารไก่ การสร้างเอนไซม์ amylase, cellulase, hemicellulase, ligninase , lipase และ protease	14
2	ผลการศึกษาความสามารถของแบคทีเรียในทางเดินอาหารไก่ ในการสร้างเอนไซม์ amylase, cellulase, hemicellulase, ligninase , lipase และ protease	15

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ระบบย่อยอาหาร	2
2	เชื้อราในลำไส้จากส่วน Duodenum 1 *Mucor* sp. LD-PDA-01 2 *Rhizopus* sp. LD-PDA-03	10
3	เชื้อราในลำไส้จากส่วน Jejunum : 1 *Aspergillus niger* LJ-PDA-01 2 *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01 3 *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03	11
4	เชื้อราในลำไส้จากส่วน Ilium : *Trichoderma* spp. LI-PDA-02	11
5	เชื้อราในลำไส้จากส่วน Ceacum : *Mucor* sp. LC-PDA-01	11
6	เชื้อราในลำไส้จากส่วน Large intestine : *Eurotium* sp. LL-PDA-01	12
7	แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Duodenum : Bacteria LD-NA-01	12
8	แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Ceacum : Bacteria LC-NA-01	12
9	แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Large intestine : Bacteria LL-NA-01	13
10	Actinomycetes ในลำไส้จากส่วน Large intestine Actinomycetes LL-NA-01	13
11	การสร้างเอนไซม์ Amylase ของเชื้อ *Mucor* sp. LD-PDA-01, *Rhizopus* sp. LD-PDA-03, *Aspergillus niger* LJ-PDA-01, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 และ *Mucor* sp. LC-PDA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Strach Agar	16
12	การไม่สร้างเอนไซม์ Amylase ของเชื้อ *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03 และ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Strach Agar	17
13	การสร้างเอนไซม์ Amylase ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01 และ Bacteria LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Strach Agar	17
14	การไม่สร้างเอนไซม์ Amylase ของเชื้อ Bacteria LC-NA-02 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Strach Agar	18
15	การสร้างเอนไซม์ Amylase ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Strach Agar	18
16	การสร้างเอนไซม์ Cellulase ของเชื้อ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร CBM	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
17	การไม่สร้างเอนไซม์ Cellulase ของเชื้อ *Mucor* sp. LD-PDA-01, *Rhizopus* sp. LD-PDA-03, *A.niger* LJ-PDA-01, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03, *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร CBM	19
18	การไม่สร้างเอนไซม์ Cellulase ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01, Bacteria LC-NA-02 และ Bacteria LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร CBM	20
19	การไม่สร้างเอนไซม์ Cellulase ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร CBM	20
20	การสร้างเอนไซม์ hemicellulase ของเชื้อ *Mucor* sp. LD-PDA-01, *Eurotium* sp. LL-PDA-01, *A.niger* LJ-PDA-02, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* sp. LJ-PDA-03, *Trichoderma sp.* LI-PDA-03, *Mucor* sp. LC-PDA-01 และ*Rhizopus* sp. LD-PDA-02 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Xylan	21
21	การสร้างเอนไซม์ Hemicellulase ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01, Bacteria LC-NA-01 และ Bacteria LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Xylan	22
22	การสร้างเอนไซม์ hemicellulase ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Xylan	22
23	การสร้างเอนไซม์ ligninase ของเชื้อ *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 และ *Mucor* sp. LC-PDA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร Corn Meal Agar	23
24	การไม่สร้างเอนไซม์ ligninase ของเชื้อ *Mucor* sp. LD-PDA-01, *Rhizopus* sp. LD-PDA-03, *A.niger* LJ-PDA-01, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร Corn Meal Agar	24
25	การสร้างเอนไซม์ lininase ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01, Bacteria LC-NA-03, Bacteria LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร Corn Meal Agar	24
26	การสร้างเอนไซม์ lininase ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร Corn Meal Agar	25
27	การสร้างเอนไซม์ lipase ของเชื้อ *Mucor* sp. LD-PDA-01 และ *Mucor* sp. LC-PDA-01 บนอาหาร PYG	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
28	การไม่สร้างเอนไซม์ lipase ของเชื้อ *Rhizopus* sp. LD-PDA-03, *A.niger* LJ-PDA-01, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03, *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 และ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 บนอาหาร PYG	26
29	การไม่สร้างเอนไซม์ lipase ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01, Bacteria LC-NA-02 และ Bacteria LL-NA-01 บนอาหาร PYG	27
30	การไม่สร้างเอนไซม์ lipase ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 บนอาหาร PYG	27
31	การสร้างเอนไซม์ protease ของเชื้อ *A.niger* LJ-PDA-01 และ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร casein	
32	การไม่สร้างเอนไซม์ protease ของเชื้อ *Mucor* sp. LD-PDA-01, *Rhizopus* sp. LD-PDA-03, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* sp. LJ-PDA-03, *Trichoderma* spp. LI-PDA-03 และ *Mucor* sp. LC-PDA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร casein	28
33	การไม่สร้างเอนไซม์ protease ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01, Bacteria LC-NA-02 และ Bacteria LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร casein	29
34	การไม่สร้างเอนไซม์ protease ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร casein	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

บทนำ

หลักการและเหตุผลของการวิจัย

ระบบทางเดินอาหารของสัตว์ปีก (Gastrointestinal system) ประกอบด้วย ท่อทางเดินอาหาร ตับ ตับอ่อน gut-associated lymphoid tissue และจุลินทรีย์ประจำถิ่น (Resident microflora) เนื้อเยื่อและอวัยวะเหล่านี้ มีผลต่อประสิทธิภาพการใช้อาหารของสัตว์ปีก (Dibner and Richards, 2004) นอกจากนั้นปฏิกิริยาระหว่างจุลินทรีย์และเยื่อบุทางเดินอาหารของสัตว์อาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและหน้าที่ของระบบทางเดินอาหาร จุลินทรีย์ที่เป็นโทษสามารถส่งผลกระทบต่อ ระบบการย่อยอาหาร การเจริญเติบโต การให้ผลผลิต และสุขภาพของสัตว์ปีก ส่วนจุลินทรีย์ที่เป็นประโยชน์ (Beneficial microbes) สามารถป้องกันการเกิดโรคในสัตว์ด้วยกระบวนการ competitive exclusion (Gabriel *et al*., 2006) นอกจากนั้นเอ็นไซม์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ สามารถเสริมลงในอาหาร และเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยได้และการดูดซึมโภชนะของสัตว์ด้วย ß – glucanase จาก *Aspergillus niger* และ GPB – glucanase จาก *Trichoderma longibrachiatum* (Mottaghitalab and Ebrahimiyan, 2007) จุลินทรีย์หลายชนิดสามารถสร้างเอ็นไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายโมเลกุลขนาดใหญ่ให้เป็นหน่วยย่อย จัดอยู่ในกลุ่มของเอ็นไซม์ amylase, cellulase, hemicellulase, ligninase, lipase และ protease ความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์บางชนิดของจุลินทรีย์จะมีผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อมกับเซลล์พืชและสัตว์ เช่น amylase และ lipase ทำให้เกิดการสลายตัวของสารที่เป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ amylase เป็นเอ็นไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง glycogen และ polysaccharides ในขณะที่ cellulase เป็นเอ็นไซม์ที่ใช้ในการย่อย linear glucose polymer ของ cellulose ให้มีขนาดเล็กลง ในส่วนของ protease ทำหน้าที่ในการแยกโปรตีนให้เป็นหน่วยเล็กๆ เช่น peptide และ amino acid การจำแนกชนิดและความหลากหลายของประชากรของจุลินทรีย์ที่สร้างเอ็นไซม์ในระบบลำไส้ของไก่จึงเป็นขั้นตอนหนึ่งที่สำคัญและจำเป็นอย่างยิ่งที่จะต้องดำเนินการศึกษา ในปัจจุบันได้มีการนำเอาเอ็นไซม์มาใช้ประโยชน์ในสัตว์เศรษฐกิจ โดยผสมจุลินทรีย์ลงในอาหารสัตว์เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้กับสัตว์ เนื่องจากการย่อยอาหารของสัตว์เหล่านี้ มักเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์ จะมีส่วนของอาหารที่ยังไม่ได้ย่อยสลายถูกขับออกมา สัตว์ไม่สามารถดูดซึมสารอาหารไปใช้ได้เท่าทีควร เป็นการสิ้นเปลืองต้นทุนค่าอาหารสัตว์มากกว่าที่จะเป็น การใช้เอ็นไซม์จากจุลินทรีย์จะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยสลายองค์ประกอบอาหารสัตว์และดูดซึมสารอาหาร ทำให้เกิดประโยชน์กับสัตว์มากขึ้น เนื่องจากสัตว์สามารถนำสารอาหารไปใช้ในร่างกายได้เร็วกว่าการย่อยอาหารปกติ สัตว์กินอาหารเท่าเดิมแต่ได้รับคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้นเป็นการลดต้นทุนค่าอาหารและเพิ่มผลผลิตของสัตว์ อย่างไรก็ตาม การใช้เอ็นไซม์จากจุลินทรีย์เติมลงในอาหารสัตว์ต้องมีการเลือกใช้จุลินทรีย์ที่เหมาะสมเพราะจุลินทรีย์บางชนิดอาจทำให้เกิดอันตรายได้

การศึกษาถึงความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ Amylase, Cellulase, Hemicellulase, Ligninase, Protease และ Lipase ของเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆที่พบในระบบทางเดินอาหารของไก่จะเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการนำเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์เหล่านี้ไปใช้ในด้านต่างๆเช่น ในด้านการเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

โปรไบโอติกในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ หรือการป้องกันรักษาโรคในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อเกษตรกรในอนาคต

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1) เพื่อศึกษาถึงประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ที่พบในระบบทางเดินอาหารไก่ในการสร้างเอ็นไซม์ Amylase, Cellulase, Hemicellulase, Ligninase, Lipase และ Protease

ขอบเขตของการวิจัย

1) การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากระบบทางเดินอาหารของไก่
2) การทดสอบความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ Amylase
3) การทดสอบความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ Cellulase
4) การทดสอบความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ Hemicellulase
5) การทดสอบความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ Ligninase
6) การทดสอบความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ Lipase
7) การทดสอบความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ Protease

ระยะเวลาดำเนินวิจัย

12 เดือน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับของการวิจัย

ทำให้ทราบถึงชนิดของจุลินทรีย์ที่พบในระบบทางเดินอาหารของไก่ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอ็นไซม์ amylase, cellulase, hemicellulase, ligninase, lipase และ protease สามารถใช้เป็นแนวทางในการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการสร้างเอ็นไซม์เหล่านี้ ไปใช้ประโยชน์ในด้านโปรไบโอติก ในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์ ในการป้องกันและรักษาโรคในระบบทางเดินอาหารของสัตว์ ซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่เกษตรกรในอนาคต

สถานที่ทำการวิจัย

1) ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีชีวภาพเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Literature review)

ระบบทางเดินอาหารของสัตว์ปีก (poultry)

บุญเสริมและบุญล้อม (2552) รายงานว่าระบบทางเดินอาหารของสัตว์ปีกต่างจากระบบทางเดินอาหารของสัตว์กระเพาะเดี่ยว โดยมีส่วนที่เป็นกระเพาะอยู่ถึง 3 กระเพาะ สัตว์ปีกจะกินอาหารโดยไม่ได้เคี้ยว ซึ่งส่วนประกอบของระบบทางเดินอาหารของสัตว์ปีก มีดังนี้

1. ปาก (beak) ปากสัตว์ปีกจะเป็นจงอยที่แหลมคม ภายในไม่มีฟัน ใช้จิกอาหารกลืนลงกระเพาะโดยไม่ต้องเคี้ยว

2. หลอดอาหาร (esophagus) เป็นหลอดอาหารที่นำอาหารลงกระเพาะพัก(crop)

3. กระเพาะพัก (crop) เป็นส่วนของหลอดอาหารที่ขยายออกสำหรับเป็นที่เก็บอาหารระยะแรกและทำให้อาหารอ่อนนุ่ม

4. กระเพาะจริง(proventiculus)ทำหน้าที่ขับน้ำย่อยออกมาผสมกับอาหาร

5. กระเพาะบด (gizzard) บางครั้งเรียกว่า กึ๋น ทำหน้าที่บดย่อยอาหารให้แตกละเอียดโดยภายในมีกรวดสะสมอยู่เพื่อช่วยบดย่อยอาหาร

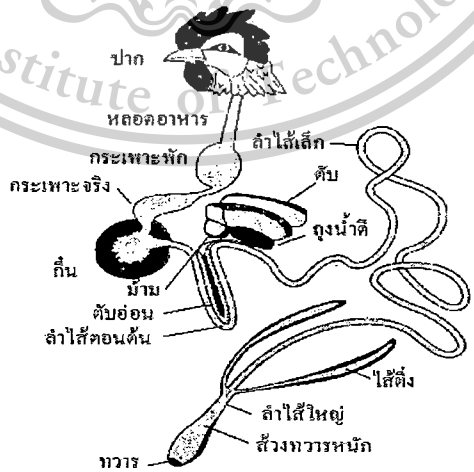
6. ลำไส้เล็กตอนต้น (duodenum) ยึดติดกันภายในเป็นรูปตัวยู ระหว่างตัวยูจะมี ตับอ่อนติดอยู่

7. ลำไส้เล็ก (small intestine) ทำหน้าที่ดูดซึมอาหารเข้าสู่ร่างกาย

8. ไส้ติ่ง (caecum) อยู่ระหว่างรอยต่อของลำไส้เล็กและลำไส้ใหญ่ มี 2 ข้าง ไม่มีหน้าที่และไม่มีประโยชน์

9. ลำไส้ใหญ่ (large intestine) ทำหน้าที่รองรับกากอาหารที่ร่างกายดูดซึมไปใช้แล้ว

10. ทวาร (vent) เป็นที่ขับกากอาหารออกนอกร่างกาย และยังเป็นที่รวมของท่อนำไข่ในสัตว์ปีกเพศเมียด้วย



ภาพที่ 1 ทางเดินอาหารของสัตว์ปีก

ที่มา : บุญเสริมและบุญล้อม (2542)

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆของเชื้อรา

Fergus (1969) ศึกษาความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ amylase ของเชื้อรา พบว่ามีเชื้อรา ที่สามารถผลิตเอ็นไซม์ amylase ได้ในปริมาณที่สูงทั้งในอาหารแข็งและอาหารเหลว ได้แก่ *Humicola lanuginose* stain Fergus No.13, *Humicola lanuginose* stain CBS No. 218.34, *Malbranchea pulchella* var. *sulfurea*, *Mucor miehei*, *Mucor pusillus* และ*Talaromyces thermophilus*

Monkemann *et al.* (1997) ศึกษาถึงส่วนประกอบของระบบ ligninolytic ของเชื้อรา *Fusarium oxysporum* และ *Trichoderma atroviride* ที่สามารถ solubilize low-rank coal (ถ่านหิน) ซึ่งวิเคราะห์โดย Chomosmal DNA ของราทั้งสองตัวนี้ ซึ่งจะแสดงแถบสายของ DNA ที่ชัดเจน เมื่อตรวจสอบอย่างละเอียดแล้ว สำหรับรหัสของเอนไซม์ลิกนิเนส ที่เหมือนกันสามตัว (H7,H8,H10) คือ Lignin peroxidases, Glyoxal oxidase และ Arylalcohol dehydrogenase จาก *Phanerochete chrysosporium* ข้อมูลเหล่านี้จะทำให้ทราบถึงจำนวนของเอนไซม์ที่มีอยู่ใน *Fusarium oxsporum* และ *Trichoderma atroviride* ในการสร้าง ligninolytic enzymes เปรียบเทียบกับ *Phanerochete chrysosporium* ที่มีผลต่อกระบวนการของ coal solubilization

Kubicek *et al.* (1993) พบว่า เชื้อรา *Trichoderma* sp. มีความสามารถในการสร้าง เอ็นไซม์ cellulase จึงได้ศึกษาการสร้างเอ็นไซม์ cellulase จากเชื้อ *Trichoderma reesei* และ species อื่นๆ โดยศึกษาขบวนการปลดปล่อย cellulase ของ *Trichoderma* ภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน และศึกษาในระดับ sequence ของ gene เนื่องจากให้ความสนใจว่า cellulose ถูกเชื้อราย่อยสลายได้อย่างไร และได้ทำแบบจำลองเริ่มต้นด้วย conidia ของเชื้อราสร้าง cellobiohydrolase ออกมาสลายโมเลกุลของ cellulose หลังจากนั้นเส้นใยมีการสร้าง disaccharides ขึ้นมาได้แก่ cellobiose, cellobiose – 1, 5 – lactones ซึ่งการสร้างสารเหล่านี้ขึ้นมาเป็นการช่วยส่งเสริมให้มีการสังเคราะห์ cellulase ต่อไป

Singh and Shama (2002) ทำการศึกษาความสามารถในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่นำมาเลี้ยงบนฟางข้าวสาลีเพื่อทำปุ๋ยผสม ได้แก่ *Pleurotus sajor – caju*, *Trichoderma harzianum*, *Aspergillus niger* และ *Azotobacter choococcum* ผลจากการนำจุลินทรีย์มารวมกันทำให้เกิดการย่อยสลาย lignocellulosic สามารถย่อยสลายฟางข้าวสาลีได้ในเวลา 40 วัน จากการตรวจวิเคราะห์ทางเคมีแสดงให้เห็นการลดลงของ cellulase, hemicellulase และ ligninase อย่างชัดเจน

ยศนันท์ และคณะ (2548) ศึกษาการคัดเลือกเชื้อราที่ผลิตเอ็นไซม์ย่อยสลายลิกนิน เพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นจำแนกเชื้อรา ตามประสิทธิภาพในการผลิตเอ็นไซม์ โดยวิธีเพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหารเทียมสูตรหลักจำนวน 26 species ซึ่งมีส่วนผสมของ ABTS (2, 2 / – azino – bis – (3 – ethylbenzthiazoline – 6 – sulfonate), Azure – B และ Xylan บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่า มีเชื้อรา 23 ชนิด ผลิตเอ็นไซม์ lactase บนอาหาร ABTS โดยเชื้อรา *Lentinus* sp. มีประสิทธิภาพผลิตเอ็นไซม์สูงสุด ในทำนองเดียวกัน มีเชื้อราเพียง 3 ชนิดที่ผลิตเอ็นไซม์ peroxidase บนอาหารเทียม Azue – B agar คือ *Trametes versicolor*, *Polyporus grammocephalus* และ *Microporus xanthopus* นอกจากนี้ยังพบว่า เชื้อราทั้ง 26 ชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ไม่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอ็นไซม์ xylanase และที่ช่วงเวลาหนึ่งเชื้อราผลิตเอ็นไซม์ชนิดเดียวกันมีความสามารถผลิตเอ็นไซม์ได้เท่าเทียมกัน ซึ่งเป็นประโยชน์ในการคาดคะเนการผลิตเอ็นไซม์ของเชื้อราโดยใช้ระยะเวลาเป็นตัวพยากรณ์เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไป

แบคทีเรียในลำไส้จะมีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพของสัตว์ โดยมีผลต่อ รูปลักษณะของท่อทางเดินอาหาร โภชนะ การเกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร และภูมิคุ้มกันโรค จุลินทรีย์ในลำไส้จะช่วยป้องกันไม่ให้จุลินทรีย์ที่ก่อโรคมายึดเกาะผนังลำไส้ และยังช่วยตอบสนองต่อภูมิคุ้มกันโรคของร่างกาย (Mead, 2000) อย่างไรก็ตามมีปัจจัยหลายประการ ที่ส่งผลกระทบต่อส่วนประกอบของแบคทีเรียในลำไส้สัตว์ปีก เช่น อาหาร อายุของสัตว์ปีก การให้ยาปฏิชีวนะ และการติดเชื้อจุลินทรีย์ที่ก่อโรค

ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆของเชื้อแบคทีเรีย

จันทนา (2541) ได้นำแบคทีเรียที่แยกได้จากผลปาล์มน้ำมันเน่าเสียจำนวน 56 ไอโซเลท ไปศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ lipase โดยพิจารณาจากการผลิตเอนไซม์ lipase บนอาหารแข็ง Olive oil emulsion ที่มีน้ำมันมะกอกร้อยละ 2 และอาหารแข็ง crude palm oil emulsion ที่มีน้ำมันปาล์มดิบร้อยละ 2 พบว่า มีแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ lipase บนอาหารแข็ง Olive oil emulsion เพียงอย่างเดียว 21 ไอโซเลต แบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ lipase บนอาหารแข็ง Crude palm oil emulsion เพียงอย่างเดียว 5 ไอโซเลท และแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ lipase บนอาหารแข็งทั้ง 2 ชนิด มีจำนวน 17 ไอโซเลท เมื่อนำแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ lipase ได้ทั้ง 3 กลุ่มไปศึกษาประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์ lipase โดยพิจารณาจากความกว้างของบริเวณใสที่เกิดขึ้นรอบโคโลนีของแบคทีเรียบนอาหารแข็ง tributyrin emulsion พบว่ามีแบคทีเรียที่ทำให้เกิดบริเวณใสกว้าง 1.8-2.0 เซนติเมตร จำนวน 7 ไอโซเลท หลังจากนั้นได้ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ lipase ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียทั้ง 7 ชนิด โดยเลี้ยงในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยสารละลายเบสผสมร้อยละ 10 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.01 น้ำมันมะกอกร้อยละ 1 และสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 7.0 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า แบคทีเรียไอโซเลท UTCC-B20, UTCC-B55 และ UTCC-B56 เป็นแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ lipase ที่มีการสร้างเอนไซม์สูงคือ 2,093.8, 1,666.7 และ 2,708.3 U/L ตามลำดับ

จักรพันธ์ และสุพรรนี (2552) ศึกษาการคัดเลือก *Bacillus* spp. ที่มีคุณสมบัติในการสร้างเอนไซม์ protease, lipase และ amylase จากดินในพื้นที่ทิ้งขยะ จังหวัดอุบลราชธานี ทำโดยวัดเส้นผ่าศูนย์กลางของโคโลนีเชื้อบนอาหาร selective media ที่บ่มไว้ที่อุณหภูมิ 30°ซ และ 45°ซ จากการทดสอบคุณสมบัติในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสของเชื้อบนอาหาร Skim milk agar พบว่า *Bacillus* sp. isolate 3 ผลิตเอนไซม์ protease ได้มากที่สุดทั้งที่ อุณหภูมิ 30°ซ และ 45°ซ ซึ่งมีเส้นผ่านศูนย์วงใสเท่ากับ 13.0 และ 15.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ และจากการทดสอบการผลิตเอนไซม์ lipase บนอาหาร Tributyrin agar พบว่า *Bacillus* sp. isolate 8 และ isolate 3 สามารถผลิตเอนไซม์ lipase ได้มากที่สุดทั้งที่อุณหภูมิ 30°ซ และ 45°ซ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสเท่ากับ 6.0 และ 5.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ ส่วนการทดสอบเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ amylase บนอาหาร Starch agar ย้อมสีด้วย iodine พบว่า *Bacillus* sp. Isolate 3 ผลิตเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

amylase ได้มากที่สุดทั้งที่อุณหภูมิ 30°ซ และ 45°ซ โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของวงใสเท่ากับ 5.0 และ 6.0 มิลลิเมตร ตามลำดับ แสดงว่า *Bacillus* sp. isolate 3 มีคุณสมบัติในการย่อยสลายโปรตีน ไขมันและคาร์โบไฮเดรตได้ดีกว่าไอโซเลทอื่นๆ

งามนิจ และคณะ (2544) ศึกษาโดยแยกเชื้อแบคทีเรียชอบด่างจำนวน 16 ไอโซเลท ได้จากน้ำเสียโรงงานเยื่อกระดาษ โดยทำการส่งเสริมการเจริญใน defined xylan medium pH 9.0 ผสม 1.0% oat spelt xylan บ่มในตู้บ่มแบบเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบ ต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 5 วัน จากนั้นจึงนำไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อชนิดเดิม บ่มที่อุณหภูมิ 45°ซ เป็นเวลา 15 วัน ได้นำเชื้อมาคัดเลือกการสร้างเอนไซม์ xylanase บน defined xylan medium pH 9.0 ผสม 1.0% oat spelt xylan และ 0.03% congo red พบว่ามีเพียง 8 ไอโซเลทที่สร้างเอนไซม์ xylanase โดยดูจากสีอาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆ โคโลนีที่จางลง เมื่อมีการบ่งชี้ชื่อพบว่า เชื้อทั้ง 8 ไอโซเลทเป็นแบคทีเรียที่จัดอยู่ในสกุล *Bacillus* sp. โดยที่ไอโซเลท X15 มีกิจกรรม xylanase สูง จึงได้นำมาใช้ในการศึกษาเปรียบเทียบการผลิต xylanase จากผลิตผลเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น แกลบ หรือชานอ้อยหรือขี้เลื่อยในอัตรา 1% รวมทั้งใช้ $(NH_4)2\ SO_4$ 0.2% เป็นแหล่งไนโตรเจน มี pH เริ่มต้นเท่ากับ 9 บ่มในตู้บ่มแบบเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30°ซ พบว่า ใช้ขี้เลื่อย 1% จะมีกิจกรรม xylanase สูงสุดเท่ากับ 17.15 unit ที่เวลา 48 ชม. เมื่อเปลี่ยนความเข้มข้นของขี้เลื่อยเป็น 0.5%, 1%, 2% พบว่าขี้เลื่อย 2% ให้กิจกรรม xylanase สูงสุดเท่ากับ 18.17 unit ที่เวลา 72 ชม. แต่ได้เลือกใช้ขี้เลื่อย 1% เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต xylanase เพื่อการศึกษาความเสถียรของเอนไซม์ในช่วงอุณหภูมิ 30-55°ซ และช่วง pH 5-11 พบว่า เอนไซม์ xylanase จากไอโซเลท X15 มีความเสถียรที่30°ซ ที่ pH 5 เมื่อเพิ่มค่า pH เป็น 11 ยังพบกิจกรรมของเอนไซม์แต่ลดลง เมื่อนำเอนไซม์ xylanase ไปฟอกสีเยื่อกระดาษ พบว่าไอโซเลท X15 มีประสิทธิภาพสูงกว่าไอโซเลทอื่นที่ pH 11 และอุณหภูมิ 55°ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ระเบียบวิธีวิจัย

1. การเตรียมและเก็บตัวอย่างในระบบทางเดินอาหารไก่

การเก็บตัวอย่างลำไส้ไก่ ทำการสุ่มฆ่าไก่เนื้อลูกผสมทางการค้า อายุ 35 วัน จำนวน 10 ตัว พร้อมเก็บตัวอย่างของเหลว ในระบบทางเดินอาหารของไก่ จากจุดกึ่งกลางของ duodenum จุดกึ่งกลางของทางเปิดท่อน้ำดี และ Meckel's diverticulum ในส่วนของ jejunum จุดกึ่งกลางระหว่าง Meckel's diverticulum และ ileocecal junction ในส่วนของ ileum และจุดกึ่งกลางของ caecum และ large intestine นำของเหลวที่ได้ใส่ในขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเก็บตัวอย่าง ที่อุณหภูมิ – 80^0 C.

2. การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากระบบทางเดินอาหารของไก่

นำเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้จากระบบทางเดินอาหารของไก่ ทำการเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PDA (Potato Dextrose Agar) เชื้อ Actinomycetes และ Bacteria บนอาหาร NA (Nutrient Agar) บ่มที่อุณหภูมิห้อง และนำไปทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ต่างๆ ทำการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์ สามารถตรวจสอบได้โดยการเติม substrates ลงในอาหารที่ใช้ทดสอบแต่ละชนิด ตัดชิ้นวุ้นบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อจุลินทรีย์จากอาหารที่ใช้ทดสอบ วางชิ้นวุ้นลงบนอาหารที่ใช้ในการทดสอบ ทำการทดลอง 4 ซ้ำ ในแต่ละขั้นการทดลองใช้อาหารในการทดสอบที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อเป็น negative control บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลาประมาณ 5 -10 วัน จึงตรวจสอบผลการทดลอง ซึ่งระยะเวลาขึ้นอยู่กับอัตราการเจริญของเชื้อแต่ละสายพันธุ์ การตรวจสอบด้วยสารเคมีที่เป็น indictor ทำเมื่อเชื้อเจริญประมาณ 50-60 % ของจานอาหารเลี้ยงเชื้อ

3. การทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ amylase

ทำการย้ายชิ้นวุ้นที่ตัดจากบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราที่ใช้ทดสอบบนอาหาร PDA ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร streak plate แบคทีเรียบนอาหาร NA ลงบน starch agar ที่เติมแป้ง (soluble starch) เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญของเชื้อ บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (25 ๐ซ) ประมาณ 5-10 วัน จึงตรวจผลการทดลองการเกิด clear zone รอบๆโคโลนีของเชื้อราที่ใช้ทดสอบเปรียบเทียบกับอาหาร starch agar ที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อ (negative control) เพื่อความชัดเจนในการสังเกตการย่อยแป้ง ทำได้โดยใช้สารละลายไอโอดีน (Lugol's iodine) เป็น indicator (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Paterson and Bride, 1994) บริเวณที่มีแป้งจะทำปฏิกิริยากับไอโอดีนทำให้เปลี่ยนเป็นสีม่วงแกมน้ำเงิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ดังนั้น ถ้าบริเวณรอบๆโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีม่วงหรือสีม่วงแกมน้ำเงิน (มีสีน้ำตาลอ่อนของไอโอดีนหรือสีใส) แสดงว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ amylase มาย่อยแป้งได้

4. การทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ cellulase

การทดสอบจะใช้วิธี cellulose containing plate (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Abdel-Rheem and shearer, 2002) เป็นการนำ cellulose ที่มีอยู่ใส่ลงไปในอาหาร ทำให้มีสีขุ่นวิธีการทดลองให้ทำการย้ายชิ้นวุ้นที่ตัดจากบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราที่ใช้ในการทดสอบบนอาหาร PYG (Peptone Yeast extract Glucose Agar) ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ลงบนอาหารทดสอบ CBM (Cellulolysis Basal Medium) และStreak plate แบคทีเรียลงบนอาหารทดสอบบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง(25 ˚ซ) ประมาณ 5-10 วัน จึงตรวจผลการทดลอง ซึ่งสามารถตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ cellulase ได้โดยสังเกตเห็น clear zone รอบๆ โคโลนี (Paterson and Bridge, 1994) และเพื่อความชัดเจนในการสังเกตกิจกรรมของเอนไซม์ cellulase ทำได้โดยใช้ 2 % congo red หยดให้ท่วมผิวหน้าอาหาร ทิ้งไว้ 15 นาที สังเกตการณ์เกิด clear zone รอบๆโคโลนีของเชื้อราที่ใช้ทดสอบ จะเห็นเป็นสีเหลืองใสๆเมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร CBM ที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อ (negative control) ดังนั้น ถ้าบริเวณรอบๆโคโลนีของเชื้อราเกิด clear zone เป็นสีเหลืองใสๆแสดงว่าเชื้อราสามารถสร้างเอนไซม์ cellulase ได้

5. การทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ hemicellulase

ทำการย้ายชิ้นวุ้นที่ตัดจากบริเวณขอบโคโลนีของเชื้อราที่ใช้ทดสอบบนอาหาร PDA ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร และทำการ streak plate แบคทีเรียจากบนอาหาร NA ลงบนอาหาร Xylan (ดัดแปลงมาจากวิธีของ Choi *et al. 2005*) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (25 ˚ซ) ประมาณ 5-10 วัน จึงตรวจผลการทดลองการเกิด clear zone รอบๆโคโลนีของเชื้อราที่ใช้ทดสอบ เปรียบเทียบกับอาหาร Xylan ที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อ (negative control) ถ้าบริเวณรอบๆโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีเหลือง แสดงว่าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ hemicellulase ได้

7. การทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ ligninase

วิธีการตรวจสอบการสร้างเอนไซม์ Peroxidase ซึ่งเป็นกระบวนการในการย่อยสลาย lignin (Abdel-Rheem and shearer, 2002) ทำได้โดยเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบบนอาหาร PYG (Peptone Yeast extract Glucose Agar) ด้วย cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร ลงบนอาหารทดสอบ CMA (Corn Meal Agar) (โดยดัดแปลงมาจากวิธีการของ Abdel-Rheem and shearer, 2002)บ่มเชื้อที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

อุณหภูมิห้อง (25 °ซ) สังเกตการณ์เจริญของเชื้อ เมื่อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบเจริญประมาณ 50-60% ของจานอาหารเลี้ยงเชื้อใช้ Cork borer เจาะลงบนอาหารบริเวณของโคโลนีให้เป็นหลุม 4 มุม ทำการทดสอบการสร้างเอนไซม์ ligninase ซึ่งเป็นกิจกรรมของ Peroxidase ได้โดยหยด 1 % w/vperogallic acid และ 0.4 % hydrogenperoxide อย่างละ 1 หยดลงในแต่ละหลุม สังเกตการเกิดปฏิกิริยา โดยจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบมีกิจกรรมของเอนไซม์ ligninase จะทำให้เกิดปฏิกิริยาเป็นสีเหลืองน้ำตาลจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ให้ผลเป็น positive เมื่อเปรียบเทียบกับอาหาร CMA ที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อซึ่งใช้เป็น negative control

8. การทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ lipase

วิธีการตรวจสอบการสร้างเอนไซม์ lipase ทำได้โดยเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบบนอาหาร PYG (Peptone Yeast extract Glucose Agar) ซึ่งเป็นอาหารที่ประกอบไปด้วยกรดอะมิโน แหล่งของพลังงานและวิตามิน บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (25 °ซ) เมื่อจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบเจริญประมาณ 50-60% ของจานอาหารเลี้ยงเชื้อใช้ Cork borer ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.5 เซนติเมตร และ Streak plate แบคทีเรียลงบนอาหารทดสอบที่เติมไขมันลงไป (tween 20) 2 ml. ลงไปในอาหารที่ใช้ทดสอบ ซึ่งเป็นแหล่งที่ผลิตคาร์บอนตัวแรก (ซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Abdel-Rheem and shearer, 2002) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (25 °ซ) สังเกตการเกิด fatty acid crystals รอบๆโคโลนีบริเวณใต้จานอาหารเลี้ยงเชื้อแสดงว่าให้ผลเป็นpositive (Abdel-Rheemandshearer,2002)

9. การทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์ protease

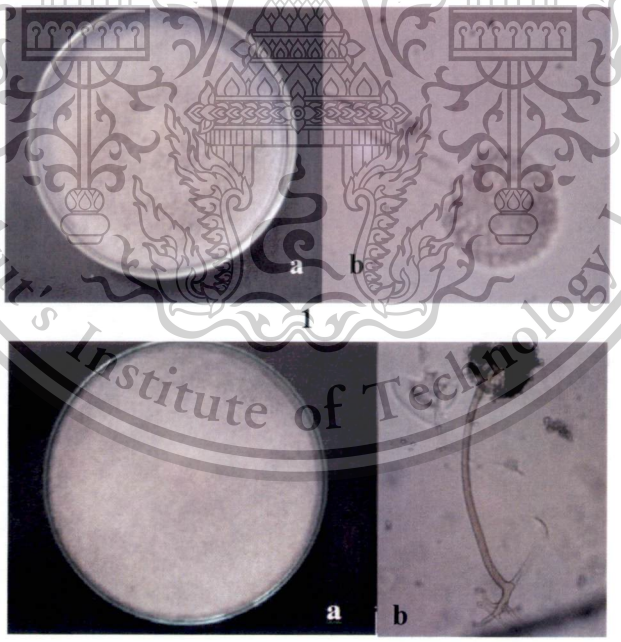
ทำการย้ายเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบลงบนอาหารทดสอบ Casein hydrolysis medium (ดัดแปลงมาจากวิธีการของ Paterson and Bridge, 1994) ซึ่งสามารถตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ protease ได้โดยในอาหารที่ใช้ทดสอบจะมีส่วนประกอบของ skim milk ซึ่งใช้เป็นแหล่งพลังงานในการเจริญเติบโตของเชื้อรา และทำให้ได้อาหารทดสอบมีสีขุ่น บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (25 °ซ) ประมาณ 3-5 วัน สังเกต clear zone บริเวณรอบๆโคโลนีของเชื้อราที่ใช้ทดสอบ เปรียบเทียบกับอาหาร Casein hydrolysis medium ที่ไม่ได้เลี้ยงเชื้อ (negative control) ถ้าเชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ protease มาย่อย skim milk ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนได้ จะทำให้เกิด clear zone รอบๆโคโลนีของจุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบ จะให้ผลเป็นpositive

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ผลการวิจัย

การศึกษาประสิทธิภาพของจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารไก่ ต่อการสร้างเอนไซม์ ผลจากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ สามารถแยกเชื้อจุลินทรีย์จากระบบทางเดินอาหารของไก่ในส่วนของเชื้อรา พบว่า เชื้อราในส่วน Duodenum (LD) ได้แก่ *Mucor sp.* LD-PDA-01 และ *Rhizopus* sp. LD-PDA-03 เชื้อราในส่วน Jejunum (LJ) ได้แก่ *Aspergillus niger* LJ-PDA-01, *Rhizopus* sp .LJ-PDA-01 และ *Trichoderma* spp. เชื้อราในส่วน Ilium (LI) ได้แก่ *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 เชื้อราในส่วน Ceacum (LC) ได้แก่ *Mucor* sp. LC-PDA-01 เชื้อราในส่วน Large intestine (LL) ได้แก่ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 ในส่วนของแบคทีเรียจากระบบทางเดินอาหารของไก่ พบว่า แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Duodenum ได้แก่ bacteria LD-NA-01 แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Ceacum ได้แก่ bacteria LC-NA-01 แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Large intestine ได้แก่ bacteria LL-NA-01 ในส่วนของ Actinomycetes จากระบบทางเดินอาหารของไก่ พบเพียงในลำไส้จากส่วน Large intestine คือ Actinomycetes LL-NA-01

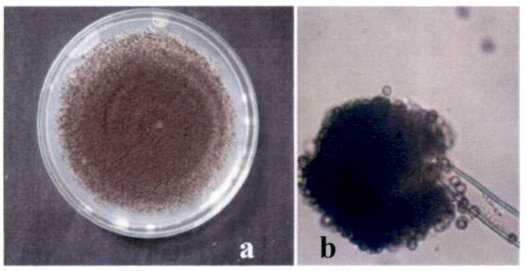
1. เชื้อรา



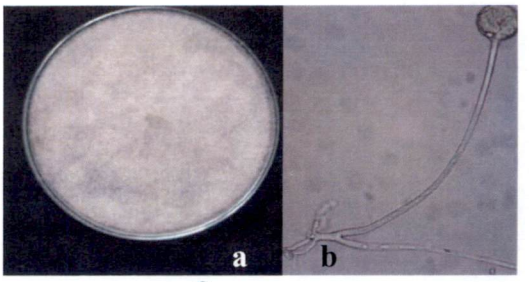
ภาพที่ 2 เชื้อราในลำไส้จากส่วน Duodenum 1 *Mucor* sp. LD-PDA-01 2 *Rhizopus* sp. LD-PDA-03
a. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA b. ลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

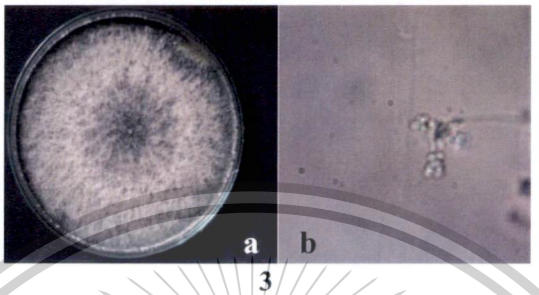
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



1



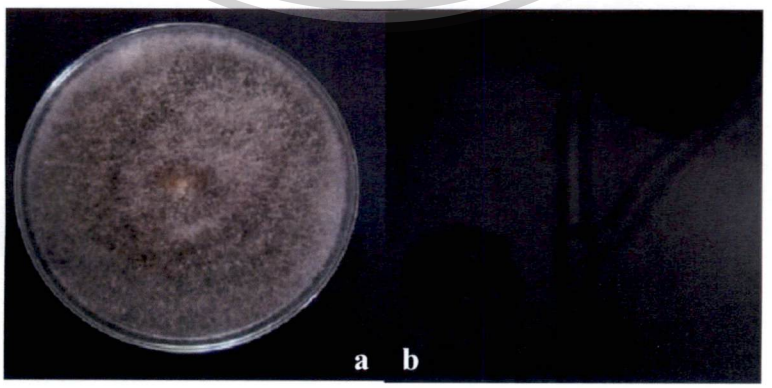
2



3

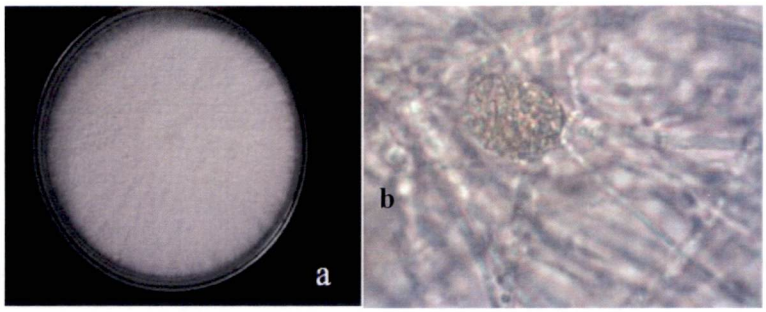
ภาพที่ 3 เชื้อราในลำไส้จากส่วน Jejunum : 1 *Aspergillus niger* LJ-PDA-01
2 *Rhizopus* sp.LJ-PDA-01 3 *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03
a. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA b. ลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

ภาพที่ 4 เชื้อราในลำไส้จากส่วน Ilium : *Trichoderma* spp. LI-PDA-02
a. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA b. ลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์



ภาพที่ 5 เชื้อราในลำไส้จากส่วน Ceacum : *Mucor* sp. LC-PDA-01
a. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA b. ลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

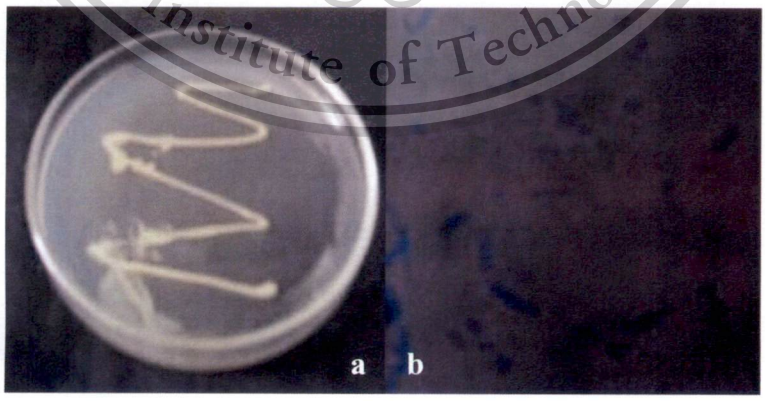
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



ภาพที่ 6 เชื้อราในลำไส้จากส่วน Large intestine : *Eurotium* sp. LL-PDA-01
a. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร PDA b. ลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

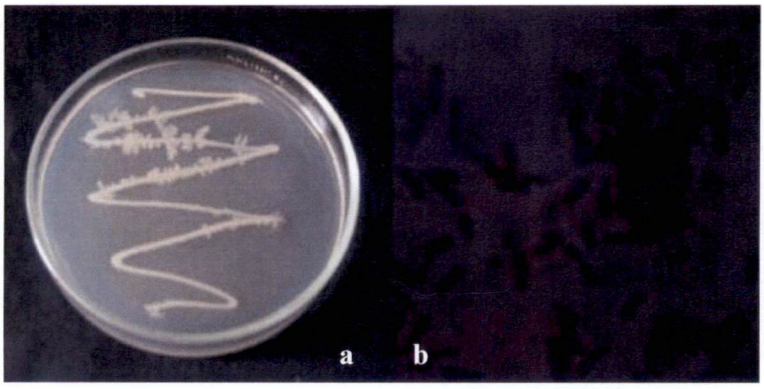
2. เชื้อแบคทีเรีย

ภาพที่ 7 แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Duodenum : bacteria LD-NA-01
a. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร NA b. ลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์



ภาพที่ 8 แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Ceacum : bacteria LC-NA-01
a. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร NA b. ลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



ภาพที่ 9 แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Large intestine : Bacteria LL-NA-01

a. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร NA b. ลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

3. Actinomycetes

ภาพที่ 10 Actinomycetes ในลำไส้จากส่วน Large intestine Actinomycetes LL-NA-01

a. ลักษณะโคโลนีบนอาหาร NA b. ลักษณะโครงสร้างภายใต้กล้องจุลทรรศน์

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์

1. การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเชื้อรา ที่แยกจากลำไส้ไก่ส่วนต่างๆ ได้แก่ เชื้อราในส่วน Duodenum (LD), Jejunum (LJ), Ilium (LI), Ceacum (LC) และ Large intestine (LL) ซึ่งความสามารถในการสร้างเอนไซม์ amylase, cellulase, hemicellulase, ligninase, lipase และ protease ของเชื้อรา แสดงไว้ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงผลการศึกษาความสามารถของเชื้อราในทางเดินอาหารไก่ในการสร้างเอนไซม์ amylase, cellulase, hemicellulase, ligninase, lipase และ protease

เชื้อรา	การสร้างเอนไซม์					
	Amylase[1/]	Cellulase[2/]	Hemicellulase[3/]	Ligninase[4/]	Lipase[5/]	Protease[6/]
Mucor sp. LD-PDA-01	+	-	+	-	+	-
Rhizopus sp. LD-PDA-03	+	-	+	-	-	-
A.niger LJ-PDA-01	+	-	+	-	-	+
Rhizopus sp. LJ-PDA-01	+	+	+	-	-	-
Trichoderma spp. LJ-PDA-03	-	-	+	-	-	+
Phialophora spp. LJ-PDA-01	+	-	+	-	-	+
Trichoderma spp. LI-PDA-02	+	-	+	+	-	+
Mucor sp. LC-PDA-01	+	-	+	+	+	-
Eurotium sp. LL-PDA-01	-	+	+	-	-	+

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

2. การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของแบคทีเรีย ที่แยกจากลำไส้ไก่ส่วนต่างๆ ได้แก่ แบคทีเรียในส่วน Duodenum (LD), Ceacum (LC) และ Large intestine (LL) ซึ่งความสามารถในการสร้างเอนไซม์ amylase, cellulase, hemicellulase, ligninase, lipase และ protease ของแบคทีเรีย แสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 แสดงผลการศึกษาความสามารถของแบคทีเรีย ในทางเดินอาหารไก่ ในการสร้างเอนไซม์ cellulase , amylase , hemicellulase, ligninase , lipase และ protease

แบคทีเรีย	การสร้างเอนไซม์					
	Amylase[1/]	Cellulase[2/]	Hemicellulase[3/]	Ligninase[4/]	Lipase[5/]	Protease[6/]
Bacteria LD-NA-01	+	-	+	+	-	-
Bacteria LC-NA-02	-	-	+	+	-	-
Bacteria LL-NA-01	+	-	+	+	-	-
Actinomycetes LL-NA-01	+	-	+	+	-	-

[1/]การสร้างเอนไซม์ amylase: + = positive บริเวณรอบโคโลนีไม่เปลี่ยนเป็นสีม่วง

- = negative บริเวณรอบโคโลนีเปลี่ยนเป็นสีม่วง

[2/]การสร้างเอนไซม์ cellulose: + = positive มีกิจกรรมการสร้างเอนไซม์เมื่อเปรียบเทียบกับ control

- = negative ไม่มีกิจกรรมการสร้างเอนไซม์เมื่อเปรียบเทียบกับ control

[3/]การสร้างเอนไซม์ hemicellulase: + = positive มีกิจกรรมการสร้างเอนไซม์เมื่อเปรียบเทียบกับ control

- = negative ไม่มีกิจกรรมการสร้างเอนไซม์เมื่อเปรียบเทียบกับ control

[4/]การสร้างเอนไซม์ Ligninase: + = positive เกิดปฏิกิริยาเปลี่ยนสีเป็นสีเหลืองทอง-น้ำตาลเข้ม

- = negative ไม่เกิดปฏิกิริยา

[5/]การสร้างเอนไซม์ Lipase: + = positive ใต้ plate บริเวณรอบๆโคโลนีมีเม็ดไขมันกลมๆ

- = negative ใต้ plate บริเวณรอบๆโคโลนีไม่มีเม็ดไขมันกลมๆ

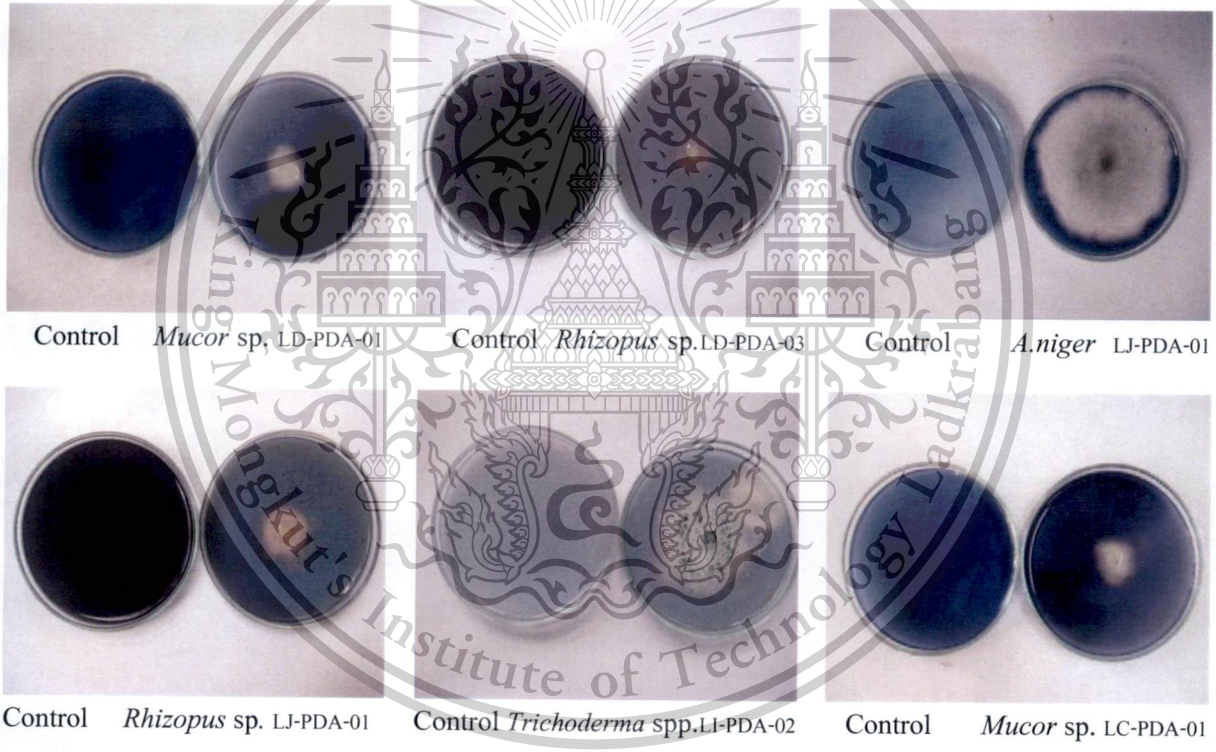
[6/]การสร้างเอนไซม์ Protease: + = positive เกิด clear zone รอบโคโลนี

- = negative ไม่เกิด clear zone รอบๆโคโลนี

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

1. ความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ Amylase

1.1 การสร้างเอนไซม์ amylase จากการทดสอบเชื้อราด้วยการใช้ cork borer ตัดชิ้นวุ้นขอบโคโลนีของเชื้อรา ย้ายลงบนอาหาร PDA ที่เติม soluble starch ใช้สารละลาย Lugol's iodine เป็น indicator เพื่อให้สามารถสังเกตการณ์ย่อยแป้งได้ชัดเจน พบว่าเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ amylase ตรงบริเวณที่มีแป้งจะทำปฏิกิริยากับ ไอโอดีน ตรงบริเวณรอบๆโคโลนีจะเปลี่ยนเป็นสีม่วง สีม่วงแกมน้ำเงินสีน้ำตาลอ่อนหรือสีใส เชื้อราที่สร้างเอ็นไซม์ amylase ได้แก่ *Mucor* sp. LD-PDA-01, *Rhizopus* sp. LD-PDA-03, *Aspergillus niger* LJ-PDA-01, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* spp. LI-PDA-03 และ *Mucor* sp. LC-PDA-01 (ภาพที่ 11) ส่วนเชื้อราที่ไม่สร้างเอนไซม์ amylase บริเวณรอบๆโคโลนีไม่พบการเปลี่ยนสี ได้แก่ *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03 และ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 ดังแสดงในภาพที่ 12

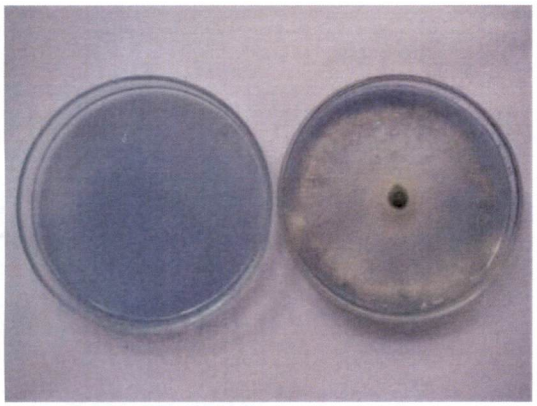


ภาพที่ 11 การสร้างเอนไซม์ Amylase ของเชื้อ *Mucor* sp. LD-PDA-01, *Rhizopus* sp. LD-PDA-03, *A. niger* LJ-PDA-01, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 และ*Mucor* sp. LC-PDA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Strach Agar

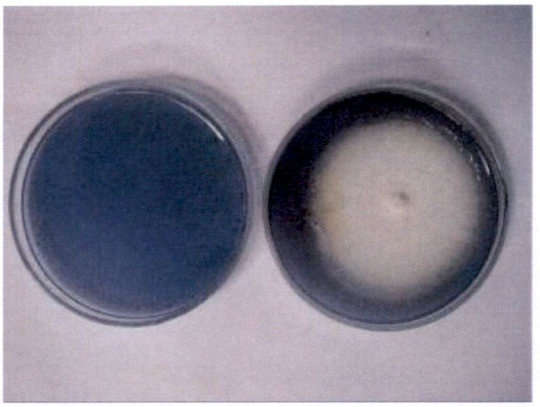
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



Control *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03



Control *Eurotium* sp. LL-PDA-01

ภาพที่ 12 การไม่สร้างเอนไซม์ Amylase ของเชื้อ *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03 และ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Strach Agar

1.2 แบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ amylase จากการทดสอบด้วยการ streak plate แบคทีเรียบนอาหาร NA ที่เติม soluble starch ใช้สารละลาย Lugol's iodine เป็น indicator เพื่อให้สามารถสังเกตการย่อยแป้งได้ชัดเจน บริเวณรอบๆโคโลนีจะเปลี่ยนเป็นสีม่วง สีม่วงแกมน้ำเงินสีน้ำตาลอ่อนหรือสีใส แบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ amylase ได้แก่ Bacteria LD-NA-01 และ Bacteria LL-NA-01 (ภาพที่ 13) แบคทีเรียที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ amylase บริเวณรอบๆโคโลนีไม่พบการเปลี่ยนสี ได้แก่ Bacteria LC-NA-02 ดังแสดงในภาพที่ 14

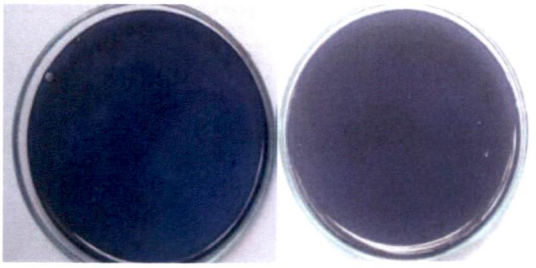
Control Bacteria LD-NA-01

Control Bacteria LL-NA-01

ภาพที่ 13 การสร้างเอนไซม์ Amylase ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01 และ Bacteria LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Strach Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite this document when use.
140741



Control Bacteria LC-NA-02

ภาพที่ 14 การไม่สร้างเอนไซม์ Amylase ของเชื้อ Bacteria LC-NA-02 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Strach Agar

1.3 Actinomycetes ที่สามารถสร้างเอนไซม์ amylase บริเวณรอบๆโคโลนีไม่พบการเปลี่ยนสี ได้แก่ Actinomycetes LL-NA-01 ดังแสดงในภาพที่ 15

Control Actinomycetes LL-NA-01

ภาพที่ 15 การสร้างเอนไซม์ Amylase ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Strach Agar

2. ความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ Cellulase

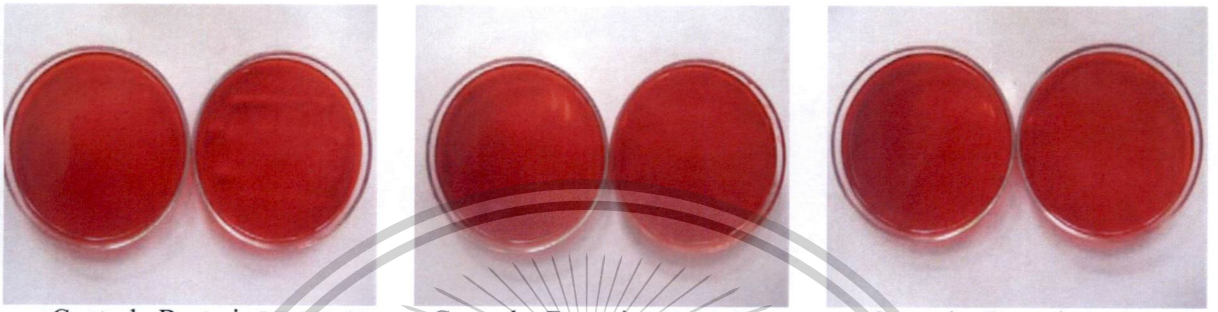
2.1 การสร้างเอนไซม์ cellulase ทำการการทดสอบเชื้อราด้วยวิธี cellulose containing plate ลงบนอาหาร PYG ใช้ cork borer ตัดชิ้นวุ้นขอบโคโลนีของเชื้อรา ย้ายลงบนอาหาร CMB ใช้ congo red 2% หยดผิวหน้าอาหาร เพื่อให้การสังเกตการสร้างเอ็นไซม์ cellulose ได้ชัดเจน พบว่าเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ cellulase จะเกิด clear zone รอบๆโคโลนีของเชื้อราเป็นสีเหลืองใสๆ เชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ cellulase ได้แก่ *Eurotium* LL-PDA-01 (ภาพที่ 16) เชื้อราที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ cellulase จะไม่เกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

2.2 แบคทีเรียที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ cellulase จากการทดสอบด้วยการ streak plate แบคทีเรียบนอาหาร CMB ใช้ congo red 2% หยดผิวหน้าอาหาร เพื่อให้สามารถสังเกตการสร้างเอ็นไซม์ cellulose ได้ชัดเจน พบว่าไม่เกิด clear zone รอบๆโคโลนี เป็นสีเหลืองใสๆ ได้แก่ Bacteria LD-NA-01, Bacteria LC-NA-02 และ Bacteria LL-NA-01 ดังแสดงในภาพที่ 18



ภาพที่ 18 การไม่สร้างเอนไซม์ Cellulase ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01, Bacteria LC-NA-02, Bacteria LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร CBM

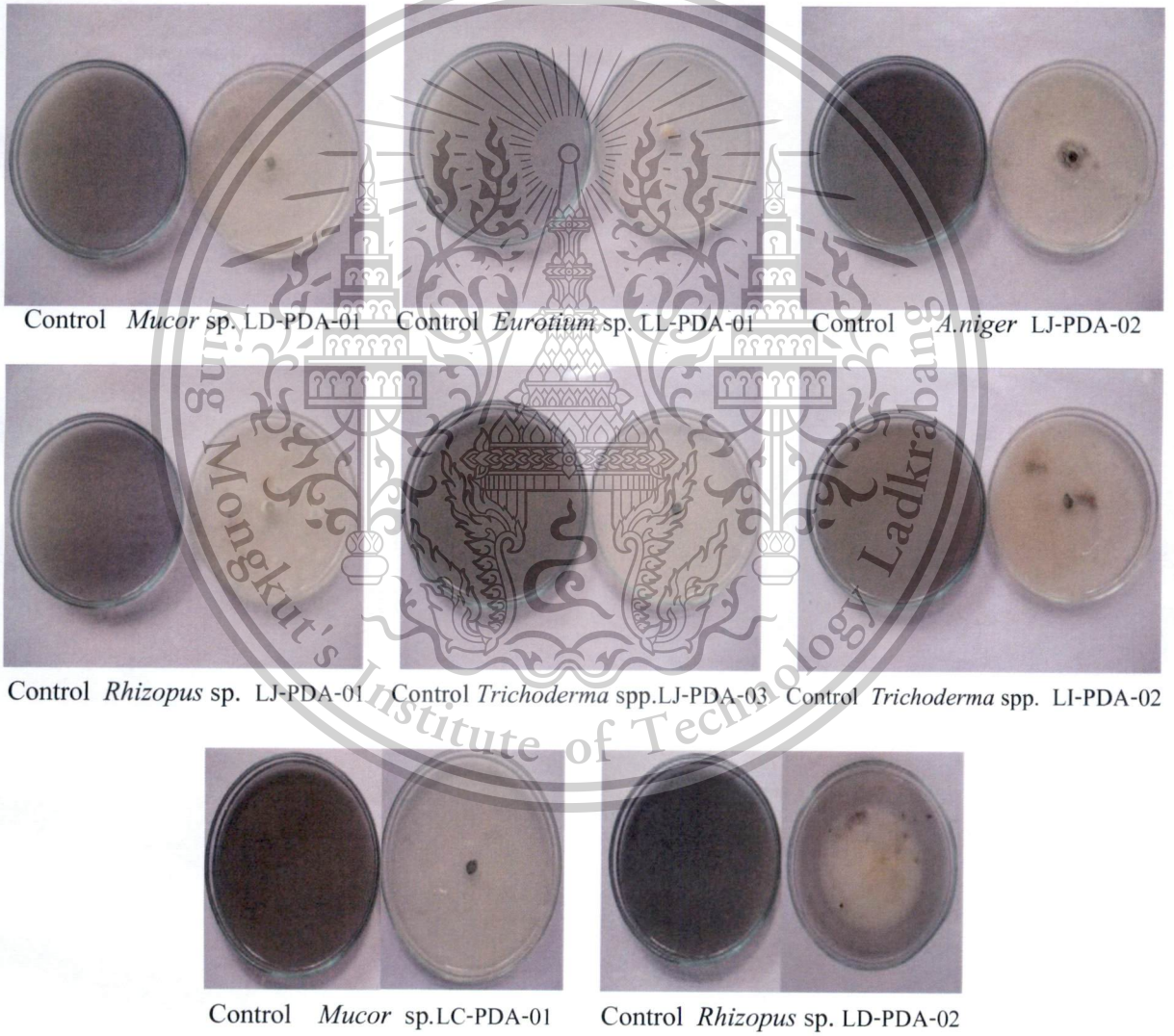
2.2 Actinomycetes ที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ Cellulase พบว่าไม่เกิด clear zone รอบๆโคโลนี เป็นสีเหลืองใสๆ ได้แก่ Actinomycetes LL-NA-01 (ภาพที่ 19)

ภาพที่ 19 การไม่สร้างเอนไซม์ Cellulase ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร CBM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

3. ความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ Hemicellulase

3.1 การทดสอบเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ hemicellulase ด้วยการใช้ cork borer ตัดชิ้นวุ้นขอบโคโลนีของเชื้อราบนอาหาร PDA ย้ายลงบนอาหาร Xylan เชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ hemicellulase จะพบว่าจะเกิด clear zone บริเวณรอบๆโคโลนีของเชื้อราที่ทำการทดสอบเปลี่ยนเป็นสีเหลือง ได้แก่ *Mucor* sp. LD-PDA-01 *Rhizopus* sp. LD-PDA-03 , *A.niger* LJ-PDA-01 , *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01 , *Trichoderma* spp.LJ-PDA-03 , *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 , *Mucor* sp. LC-PDA-01 และ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 ดังแสดงในภาพที่ 20

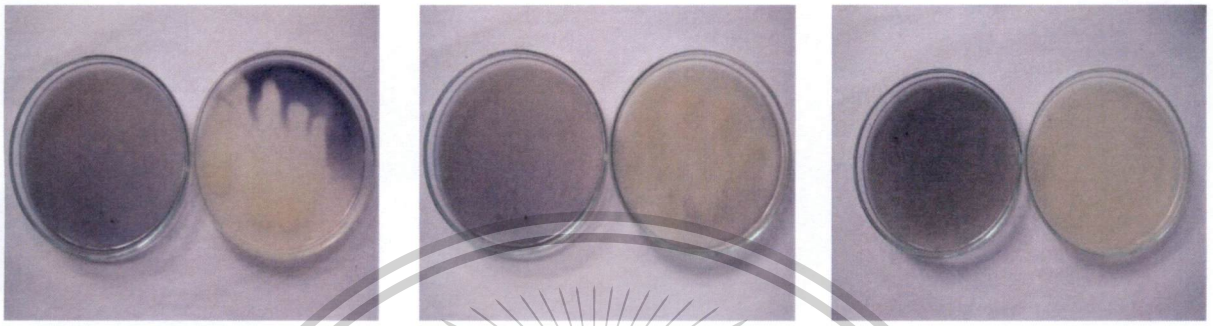


ภาพที่ 20 การสร้างเอนไซม์ hemicellulase ของเชื้อ *Mucor* sp. LD-PDA-01, *Eurotium* sp. LL-PDA-01, *A.niger* LJ-PDA-02, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* sp. LJ-PDA-03, *Trichoderma* sp. LI-PDA-03, *Mucor* sp. LC-PDA-01 และ *Rhizopus* sp. LD-PDA-02 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Xylan

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

3.2 การทดสอบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ hemicellulase ด้วยการนำแบคทีเรียจากอาหาร NA มา sterk plate ลงบนอาหาร Xylan แบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ hemicellulase บริเวณรอบๆโคโลนีของแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองได้แก่ Bacteria LD-NA-01 Bacteria LC-NA-02 Bacteria LL-NA-01 ดังแสดงในภาพที่ 21



Control Bacteria LD-NA-01 Control Bacteria LC-NA-01 Control Bacteria LL-NA-01

ภาพที่ 21 การสร้างเอนไซม์ Hemicellulase ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01, Bacteria LC-NA-01 และ Bacteria LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Xylan

3.3 Actinomycetes ที่สามารถสร้างเอนไซม์ hemicellulase ได้แก่ Actinomycetes LL-NA-01 ดังแสดงในภาพที่ 22

Control Actinomycetes LL-NA-01

ภาพที่ 22 การสร้างเอนไซม์ hemicellulase ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ Control บนอาหาร Xylan

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

4. ความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ ligninase

4.1 เชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ ligninase ใช้วิธีการตรวจสอบการสร้างเอ็นไซม์ peroxidase ซึ่งเป็นกระบวนการในการย่อยสลาย lignin ทำการเลี้ยงเชื้อราที่ทดสอบบนอาหาร PYG ใช้ cork borer ตัดชิ้นวุ้นขอบโคโลนีของเชื้อราย้ายลงบนอาหาร CMA เจาะอาหารบริเวณโคโลนี 4 หลุม หยด 1%w/vperogallic acid และ 0.4%hydrogenperoxide อย่างละ 1 หยดลงในแต่ละหลุม สังเกตุปฏิกิริยาเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ ligninase จะเกิดสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ได้แก่ *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 และ *Mucor* sp. LC-PDA-01 (ภาพที่ 23)

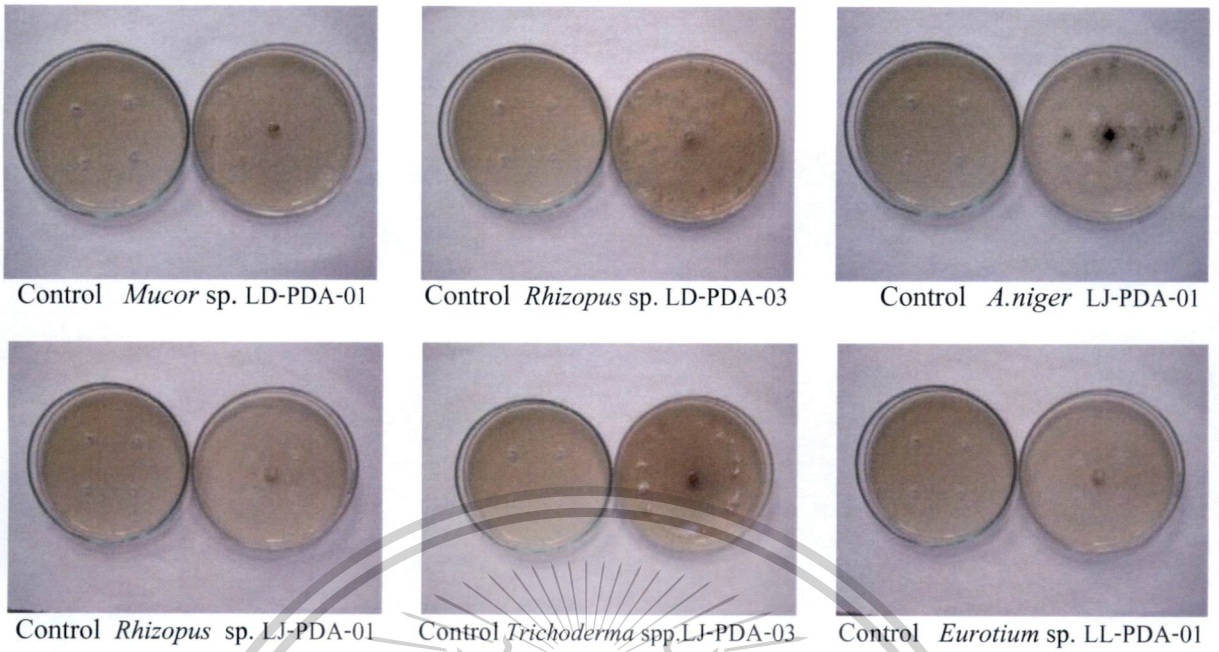
เชื้อราที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ ligninase จะไม่เกิดการเปลี่ยนสี ได้แก่ *Mucor* sp. LD-PDA-01 , *Rhizopus* sp. LD-PDA-03 , *A.niger* LJ-PDA-01 , *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01 , *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03 และ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 ดังแสดงในภาพที่ 24

ภาพที่ 23 การสร้างเอนไซม์ ligninase ของเชื้อ *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 และ *Mucor* sp. LC-PDA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร Corn Meal Agar

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

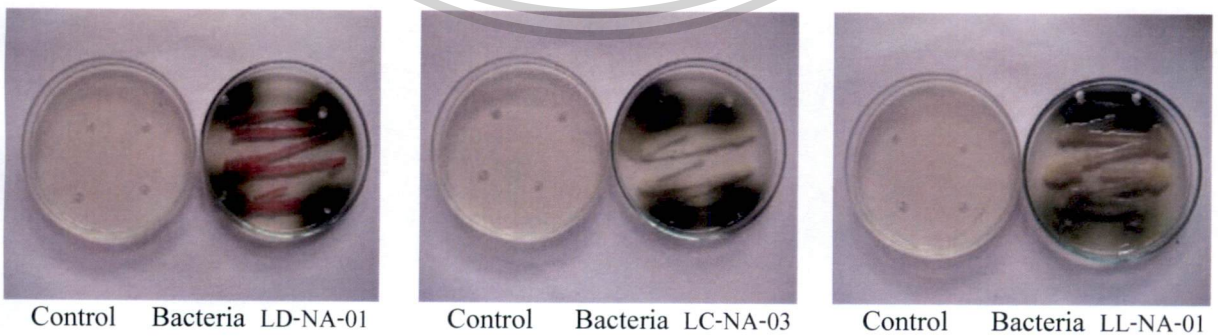
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



ภาพที่ 24 การไม่สร้างเอนไซม์ ligninase ของเชื้อ *Mucor* sp. LD-PDA-01, *Rhizopus* sp. LD-PDA-03, *A.niger* LJ-PDA-01, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร Corn Meal Agar

4.2 แบคทีเรียที่สร้างเอ็นไซม์ ligninase ทำการทดสอบด้วยการนำแบคทีเรียบนอาหาร PYG steak plate ลงบนอาหาร CMA เจาะอาหารบริเวณโคโลนี 4 หลุม หยด 1%w/vperogallic acid และ 0.4%hydrogenperoxide อย่างละ 1 หยดลงในแต่ละหลุม สังเกตุปฏิกิริยาแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ ligninase จะเกิดสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ได้แก่ Bacteria LD-NA-01 Bacteria LC-NA-02 Bacteria LL-NA-01 ดังแสดงในภาพที่ 25

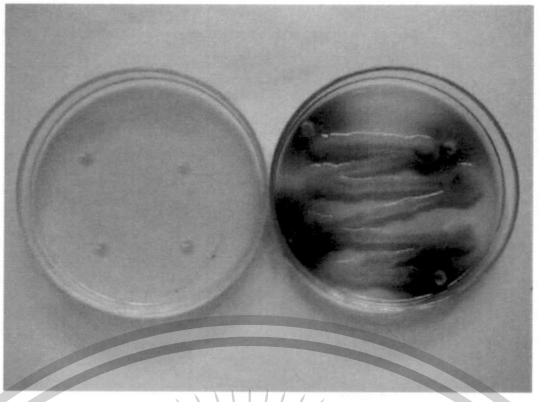


ภาพที่ 25 การสร้างเอนไซม์ lininase ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01, Bacteria LC-NA-03, Bacteria LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร Corn Meal Agar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

4.3 Actinomycetes ที่สามารถสร้างเอนไซม์ ligninase พบว่าบริเวณโคโลนีที่เจาะรูจะเกิดสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลเข้ม ได้แก่ Actinomycetes LL-NA-01 ดังแสดงในภาพที่ 26

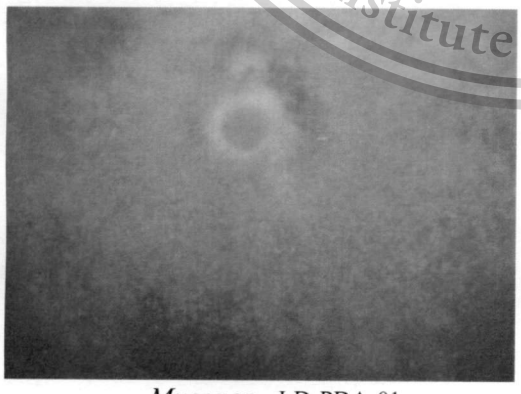


Control Actinomycetes LL-NA-01

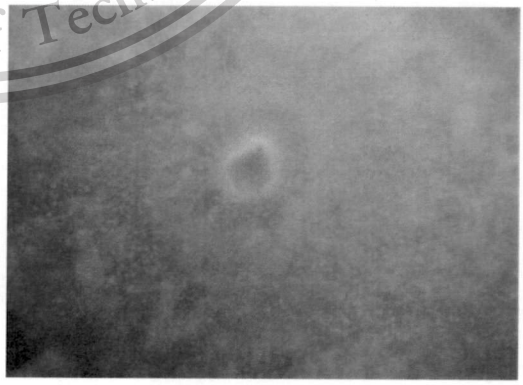
ภาพที่ 26 การสร้างเอนไซม์ lininase ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 เมื่อเปรียบเทียบกับ control บนอาหาร Corn Meal Agar

5. ความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ lipase

5.1 เชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ lipase ทำการตรวจสอบด้วยการเลี้ยงเชื้อราบนอาหาร PYG ใช้ cork borer ตัดชิ้นวุ้นขอบโคโลนีของเชื้อราย้ายลงบนอาหารทดสอบที่เติมไขมัน พบว่า เชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ lipase จะเกิด fatty acid crystals รอบๆโคโลนีบริเวณใต้จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ *Mucor* sp. LD-PDA-01 และ *Mucor* sp. LC-PDA-01 ดังแสดงในภาพที่ 27



Mucor sp. LD-PDA-01



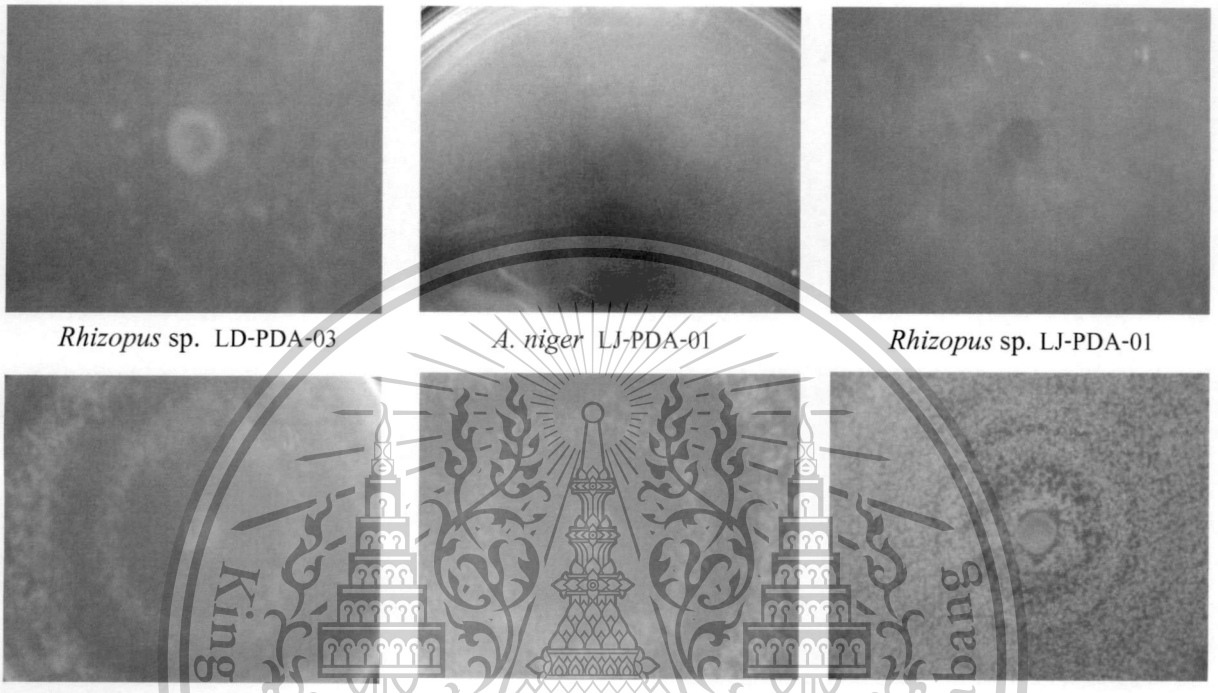
Mucor sp. LC-PDA-01

ภาพที่ 27 การสร้างเอนไซม์ lipase ของเชื้อ *Mucor* sp. LD-PDA-01 และ *Mucor* sp. LC-PDA-01 บนอาหาร PYG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เชื้อราที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ lipase จะไม่เกิด fatty acid crystals รอบๆโคโลนีบริเวณใต้จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ *Rhizopus* sp. LD-PDA-03, *A.niger* LJ-PDA-01, *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03, *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 และ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 (ภาพที่ 28)



Rhizopus sp. LD-PDA-03 *A. niger* LJ-PDA-01 *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01

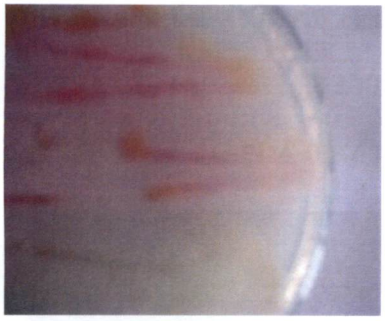
Trichoderma spp. LJ-PDA-03 *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 *Eurotium* sp. LL-PDA-01

ภาพที่ 28 การไม่สร้างเอนไซม์ lipase ของเชื้อ *Rhizopus* sp. LD-PDA-03, *A.niger* LJ-PDA-01 *Rhizopus* sp. LJ-PDA-01, *Trichoderma* spp. LJ-PDA-03, *Trichoderma* spp. LI-PDA-02 และ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 บนอาหาร PYG

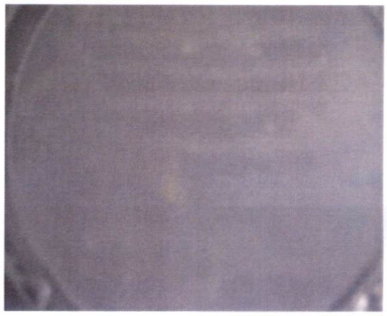
5.2 การทดสอบแบคทีเรียในการสร้างเอนไซม์ lipase ไม่พบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์ lipase แบคทีเรียที่ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ lipase จะไม่เกิด fatty acid crystals รอบๆโคโลนีบริเวณใต้จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Bacteria LD-NA-01 , Bacteria LC-NA-02 และ Bacteria LL-NA-01 ดังแสดงในภาพที่ 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.



Bacteria LD-NA-01

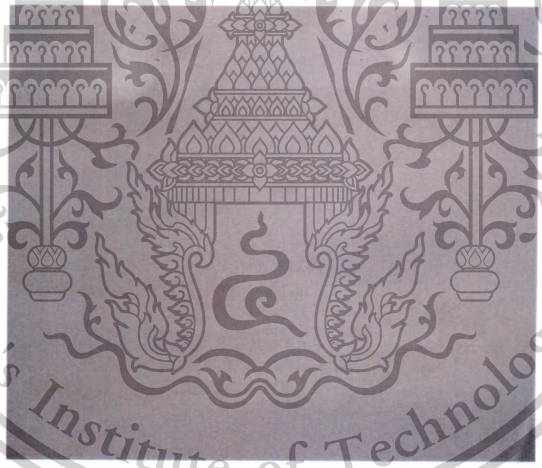


Bacteria LC-NA-02

Bacteria LL-NA-01

ภาพที่ 29 การไม่สร้างเอนไซม์ lipase ของเชื้อ Bacteria LD-NA-01, Bacteria LC-NA-02 และ Bacteria LL-NA-01 บนอาหาร PYG

5.3 การทดสอบการสร้างเอนไซม์ lipase ของ Actinomycetes พบว่า Actinomycetes ไม่สามารถสร้างเอนไซม์ lipase จากการทดสอบไม่เกิด fatty acid crystals รอบๆโคโลนีบริเวณใต้จานอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ Actinomycetes LL-NA-01



Actinomycetes LL-NA-01

ภาพที่ 30 การไม่สร้างเอนไซม์ lipase ของเชื้อ Actinomycetes LL-NA-01 บนอาหาร PYG

6. ความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์ protease

6.1 การทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ protease ของเชื้อรา ทำการย้ายเชื้อราลงบนอาหารทดสอบ casein hydrolysis medium เชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ protease จะเกิด clear zone รอบๆโคโลนี ได้แก่ *A.niger* LJ-PDA-01 01 และ *Eurotium* sp. LL-PDA-01 ดังแสดงในภาพที่ 31 เชื้อราที่ไม่สามารถสร้าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.

Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์ จากการแยกเชื้อจุลินทรีย์ในระบบทางเดินอาหารของไก่ พบว่า เชื้อราในส่วน Duodenum (LD) ได้แก่ *Mucor* sp. (LD-PDA-01) และ *Rhizopus* sp. (LD-PDA-03) เชื้อราในส่วน Jejunum (LJ) ได้แก่ *Aspergillus niger* (LJ-PDA-01), *Rhizopus* sp.(LJ-PDA-01) และ*Trichoderma* sp.(LJ-PDA-03) เชื้อราในส่วน Ilium (LI) ได้แก่ *Trichoderma* sp. (LI-PDA-02) เชื้อราในส่วน Ceacum (LC) ได้แก่ *Mucor* sp. (LC-PDA-01) เชื้อราในส่วน Large intestine (LL) ได้แก่ *Eurotium* sp. (LL-PDA-01) ในส่วนของแบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Duodenum ได้แก่ LD-NA-01 แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Ceacum ได้แก่ LC-NA-01 แบคทีเรียในลำไส้จากส่วน Large intestine ได้แก่ LL-NA-01 ในส่วนของ Actinomycetes จากระบบทางเดินอาหารของไก่ พบเพียงในลำไส้จากส่วน Large intestine คือ LL-NA-01

การทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ amylase พบว่า เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ amylase มีดังนี้ *Aspergillus niger* LJ-PDA-01, *Mucor sp.* LD-PDA-01, *Mucor sp.* LC-PDA-01, *Rhizopus sp.* LD-PDA-03, *Rhizopus sp.* LJ-PDA-01 และ *Trichoderma* sp. LI-PDA-02

การทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ hemicellulase พบว่า เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ hemicellulase มีดังนี้ *Aspergillus niger* LJ-PDA-01, *Mucor sp.* LD-PDA-01. *Mucor sp.* LC-PDA-01, *Eurotium* sp.LL-PDA-01, *Rhizopus sp.* LD-PDA-03, *Rhizopus sp.* LJ-PDA-01, *Trichoderma* sp. LI-PDA-02, *Trichoderma* sp. LJ-PDA-03

การทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ Cellulase พบว่า เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ Cellulase ได้แก่ *Rhizopus sp.* LJ-PDA-01

การทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ lipase พบว่า เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ lipase ได้แก่ *Mucor sp.* LD-PDA-01 และ *Mucor sp.* LC-PDA-01

การทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ protease พบว่า เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ protease ได้แก่ *Aspergillus niger* LJ-PDA-01, *Eurotium* sp. LL-PDA-01, *Trichoderma* sp. LI-PDA-02 และ *Trichoderma* sp. LJ-PDA-03

การทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ ligninase พบว่า เชื้อราที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ ligninase ได้แก่ *Mucor sp.* LC-PDA-01 และ*Trichoderma* sp. LI-PDA-02

การทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ของแบคทีเรีย พบว่า Bacteria LD – NA – 01, Bacteria LC – NA- 02 และ Bacteria LL – NA – 01 สามารถสร้างเอ็นไซม์ hemicellulase และ ligninase ส่วนแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ amylase ได้แก่ Bacteria LD – NA – 01 และ Bacteria LL – NA – 01 ในการทดสอบการสร้างเอ็นไซม์ cellulase พบว่ามีเพียง Bacteria LD – NA – 01 เท่านั้นที่สามารถสร้าง cellulase ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

การสร้างเอ็นไซม์ของ Actinomycetes พบว่า จากการทดสอบความสามารถในการสร้างเอ็นไซม์มี Actinomycetes LL – NA – 01 ที่สามารถสร้างเอ็นไซม์ amylase, cellulase, hemicellulase และ ligninase ได้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ ได้รับการสนับสนุนทุนการวิจัยจาก งบประมาณเงินรายได้ประจำปี 2556 คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ขอบคุณประธานสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง ที่ให้การสนับสนุนในการทำวิจัย รศ.เศรษฐสิทธิ์ แสงโสภณจิตร ผู้ร่วมการวิจัย ที่ได้เสียสละเวลา และช่วยแก้ไขปัญหาต่างๆในระหว่างการทำวิจัย จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.

เอกสารอ้างอิง

งามนิจ นนทโส, รัตนภรณ์ ลีสิงห์ และเสาวนิต ทองพิมพ์. 2552. การคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่ทนด่างสูงเพื่อการผลิตเอนไซม์ไซลาเนสจากวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร. รายงานการวิจัยมหาวิทยาลัยขอนแก่น. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. 21 น.

จักรพันธ์ สุวรรณพิมพ์ และสุพรรนี แก่นสาร อะโอกิ. 2552 การคัดเลือก *Bacillus* spp. ที่ผลิตเอนไซม์โปรติเอส ไลเปส และอะไมเลส จากดิน. Agric. Sci. J. 40 : 1 (Suppl.) : 389 – 392.

จันทนา จินดา. 2541. การคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสจากผลปาล์มน้ำมันเน่าเสีย. มหาวิทยาลัยมหิดล,กรุงเทพมหานคร. 1048 น.

บุญเสริม ชีวะอิสระกุล และบุญล้อม ชีวะอิสระกุล. 2542. พื้นฐานทางสัตวศาสตร์. ภาควิชาสัตวศาสตร์. คณะเกษตรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 186 น.

ยศนันท์ พรหมโชติกุล, อรุณี วีณิน และธีรวัฒน์ บุญทวีคุณ. 2548. การผลิตเชื้อราที่ผลิตเอ็นไซม์ย่อยสลายลิกนิน เพื่อการใช้ประโยชน์. รายงานการประชุม ความหลากหลายทางชีวภาพด้านป่าไม้และสัตว์ป่า "ความก้าวหน้าของงานวิจัยและกิจกรรม ปี 2548" ณ โรงแรมรีเจ้นท์ ชะอำ เพชรบุรี . 16 น.

Abdel-Raheem, A. and C.A. Shearer. 2002. Extracellular Enzyme Production by Freshwater Ascomycetes. Fungal Diversity. 11:1-19.

Brennan, M., B. Wanismail, and B. Ray. 1993. Prevalence of Viable *Lactobacillus acidophilus* in Dried Commercial Products, J. Food Protection. 46 : 887-892

Dibner, J. J. and Richards, J. D. 2004. "The Digestive System : Challenges and Opportunities". J. Appl. Poult. Res. 13 : 86 – 93.

Fergus, C. L. 1969. The Production of Amylase by Some Thermophilic Fungi. Mycologia. 61 : 1171 – 1175.

Gabriel, I., Lessire M., Mallet S. and Guiltlot, J.F. 2006. "Microflora of the Digestive Tract : Critical Factors and Consequences for Poultry". World's Poult. Sci. J. 62 : 499-551.

Mead, G. C. 2000. Prospects for competitive exclusion treatment to control salmonellas and other foodborane Pathogens in poultry. Vet. J. 159 : 111 – 123.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
This material is reserved for educational use only, not allowed for commercial use.
Forbidden to modify the content, and cite the document when use.