ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การผลิตเอนไซม์โปรตีเอสเพื่อใช้ในอาหารสัตว์กระเพาะเดี่ยว
ชื่อผู้เขียน	นายมงคล ยะไชย
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์)	สาขาวิชาสัตวศาสตร์
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	รศ. พันทิพา พงษ์เพียจันทร์ ประธานกรรมการ ดร. วรรณพ วิเศษสงวน กรรมการ ดร. พงษ์สุดา ผ่องธัญญา กรรมการ

บทคัดย่อ

ทางเลือกหนึ่งของการแก้ปัญหาการย่อยได้ต่ำของวัตถุดิบอาหารสัตว์ที่มีประสิทธิภาพ คือ การเสริมเอนไซม์ลงในอาหารสัตว์ แต่ปัจจุบันเอนไซม์ส่วนใหญ่นำเข้าจากต่างประเทศ ซึ่งนอกจากทำให้ค่าอาหารสูงแล้วเอนไซม์เหล่านั้นมีความจำเพาะต่อวัตถุดิบอาหารสัตว์ในประเทศต่ำ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะพัฒนาวิธีการผลิตเอนไซม์โปรตีเอสโดยรวมจากเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ที่นิยมใช้ในประเทศเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการศึกษาเชื้อ *Bacillus* sp. ทั้งหมด 19 สายพันธุ์ พบว่า *Bacillus* sp. FAS001 เหมาะสำหรับใช้ผลิตเอนไซม์โปรตีเอสมากที่สุด โดยเอนไซม์โดยรวมที่ผลิตได้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่ม metallo-protease สามารถทำงานได้ดีในช่วงความเป็นกรด-ด่าง 3.0-80 และดีที่สุดที่ 6.0 นอกจากนี้ยังทำงานได้ดีภายใต้อุณหภูมิ 35-65°ซ ซึ่งเมื่อบ่มเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 75°ซ นาน 2 นาที ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 80% และลดลงเหลือ 90% ภายใต้สภาวะที่มีทริปซิน อินฮิบิเตอร์

จากการศึกษาหาอาหารและสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. FAS001 พบว่าจะให้ค่าการผลิตเอนไซม์โปรตีเอสโดยรวมสูงสุดถึง 140 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน จากการศึกษาเอนไซม์ผงที่ผลิตโดยใช้แป้งข้าวโพดเป็นสื่อ พบว่ามีเอนไซม์ย่อยคาร์โบไฮเดรตชนิดอื่นๆร่วมด้วย เอนไซม์โปรตีเอสโดยรวมชนิดผงที่ผลิตได้ สามารถคงกิจกรรมได้นานกว่า 12 สัปดาห์ เมื่อเก็บที่เอนไซม์โปรตีเอสโดยรวมชนิดผงที่ผลิตได้ สามารถคงกิจกรรมได้นานกว่า 12 สัปดาห์ เมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 4°ซ หรืออุณหภูมิห้อง โดยพบว่าการสัมผัสอากาศไม่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการศึกษาประสิทธิภาพของเอนไซม์โปรตีเอสโดยรวมชนิดผงจากเชื้อ *Bacillus* sp. FAS001 เทียบกับเอนไซม์ที่นำเข้าชนิดที่ 1 และ 2 ด้วยการวัดค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง และสมรรถภาพการผลิตในลูกสุกร พบว่าการเสริมเอนไซม์โปรตีเอสโดยรวมจากเชื้อ *Bacillus* sp. FAS001 มีค่าการย่อยได้ของวัตถุแห้ง โปรตีนโดยรวม เยื่อใยโดยรวม ไขมันโดยรวมและเถ้าสูงกว่าการเสริมเอนไซม์นำเข้าชนิดที่ 2 ($P<0.05$) แต่แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับเอนไซม์นำเข้าชนิดที่ 1 สำหรับอาหารในทุกช่วงอายุของสุกร และมีแนวโน้มทำให้น้ำหนักตัวเพิ่มเฉลี่ยต่อวันเพิ่มขึ้นสูงสุด (374.36 363.83 และ 359.02 กรัมต่อวัน ตามลำดับ) มีค่าอัตราการแลกเนื้อต่ำที่สุด (1.47 1.51 และ 1.52 ตามลำดับ) อีกทั้งยังทำให้ค่ายูเรียไนโตรเจนในเลือด และอัตราการป่วยของลูกสุกรตลอดช่วงการศึกษาต่ำที่สุด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Protease Production for Monogastric Animal Feed

Author Mr. Mongkol Yarchai

M.S. Agriculture Animal Science

Examining Committee Assoc. Prof. Puntipa Pongpiachan Chairman
Dr. Wonnop Visessanguan Member
Dr. Pongsuda Pongtanya Member

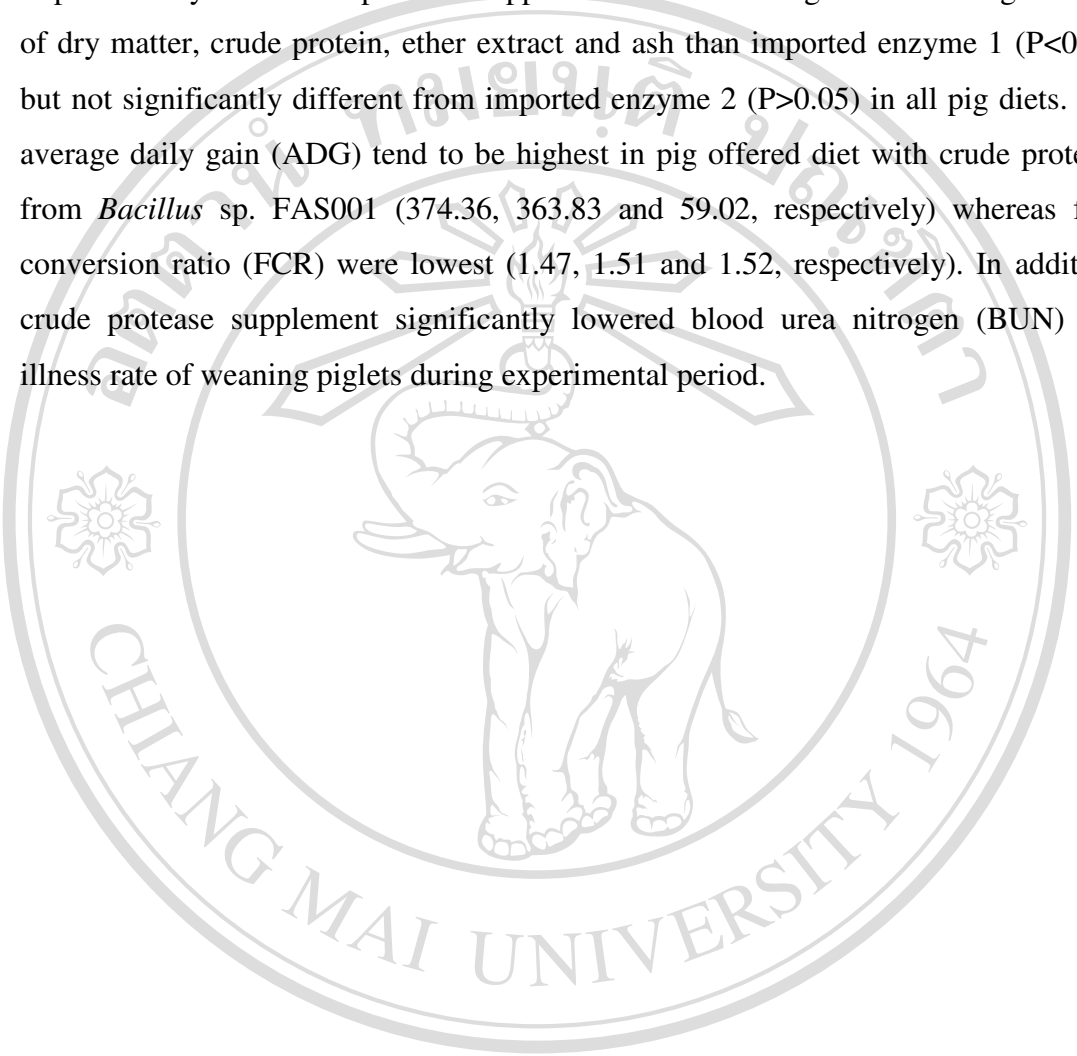
ABSTRACT

Utilization of feed enzyme has become one of potential means to increase digestibility of feed ingredients. Since enzymes commonly used have to be imported, this results in not only higher feed cost but also low specificity to local feed ingredients. The project was aimed to develop crude microbial protease production by using local feed ingredients. Of the total 19 isolates of *Bacillus* sp., *Bacillus* sp. FAS001 was the most favorable strain for protease production. Crude protease of *Bacillus* sp. FAS001 were predominantly metallo-enzyme that can act either at pH 3.0 to 8.0 with maximum at pH 6.0 or at 35-65°C. Furthermore, incubation for 2 min at 75°C, the residual activity of protease was about 80% compared to control (without heat treatment) and the residual activity was about 90% after incubation with soybean trypsin inhibitor compared with the control.

Through optimization of media and cultivation conditions, maximum protease production of *Bacillus* sp. FAS001 was as high as 140 U/mg protein. The crude protease powder, used corn flour as carrier, contained other carbohydrase and phytase activities. Crude protease powder was stable (>12 weeks) during storage at 4°C or ambient temperature, with no effect of air exposure.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

The efficacy of crude protease powder supplement was studied by both *in vitro* digestibility and field trials by using weaning piglets, in comparison with imported enzymes. Crude protease supplement resulted in higher *in vitro* digestibility of dry matter, crude protein, ether extract and ash than imported enzyme 1 ($P<0.05$) but not significantly different from imported enzyme 2 ($P>0.05$) in all pig diets. The average daily gain (ADG) tend to be highest in pig offered diet with crude protease from *Bacillus* sp. FAS001 (374.36, 363.83 and 59.02, respectively) whereas feed conversion ratio (FCR) were lowest (1.47, 1.51 and 1.52, respectively). In addition, crude protease supplement significantly lowered blood urea nitrogen (BUN) and illness rate of weaning piglets during experimental period.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved