Thesis Title β-Glucanase Production for Animal Feed

Author Mr. Patipat Udomsamuthirun

Degree Master of Science (Agriculture) Animal Science

Thesis Advisory Committee Assoc. Prof. Puntipa Pongpiachan Chairperson
Dr. Pongsuda Pongtanya Member
Dr. Wonnop Visessanguan Member

ABSTRACT

β–Glucan is a non-starch polysaccharide found in endosperm and aleurone layers of some cereal grains that are used as animal feed. This substance can be increased in digesta viscosity and affect the animal in two aspects. Firstly, it reduces the digestion and absorption of nutrients and secondly, it causes the disturbance of microbial equivalence in the gut. As a result, production performance is reduced. However, this problem can be solved by the addition of the β–glucanase to diets. At present, this enzyme is imported and hence, feed cost is increased. Thus, the purpose of this study is to develop the process of β-glucanase production from microorganisms by using feed ingredients which are cheap and generally available within the country. Of the total 11 fungal strains, *Aspergillus sp*. KPFC 277 was found to be the most suitable strain for β-glucanase production. Crude β-glucanase of *Aspergillus sp.* KPFC 277 was active at pH 3.0 to 7.0, non-toxic to animal cells (a baby hamster kidney cell line and a human liver hepatocyte cell line) and contained aflatoxin (3.55 ppb) and ochratoxin (14.76 ppb) which were less than the allowable amounts. Furthermore, it was stable to gastrointestinal tract condition, high temperature in pelleting process (75 °C) and after incubation at low and high pH with proteolytic enzymes (pepsin and pancreatin).

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

For medium optimization, rice bran (solvent extract) was found to be suitable for β-glucanase production with 96 hours of incubation period and has shown 297,880 U/g of activity. The medium compositions were: 1 gram of rice bran (solvent extract) + 1.5 ml distilled water + 10^4 spores. Then β-glucanase was made to powder form by mixing with tapioca flour which was the best carrier. After drying at 40 °C for 6 hours, the residual activity (assay at pH 3.0) was 79.78 %. Effect of shelf life study has shown that after keeping at 4, 30 and 45 °C for 3 months, the residual activity was 79.98 %, 70.10 % and 66.98 %, respectively and there was no effect of air exposure. Moreover, *Aspergillus sp*. KPFC 277 also produced amylase, cellulase, xylanase and protease.

Finally, when supplementing the crude β-glucanase (KPFC 277) in piglet diets compared with imported enzyme, the average daily gain (ADG) of piglets of both treatments tended to be higher than without enzyme treatment (0.337, 0.342 and 0.323 kg/d, respectively). However, the feed conversion ratios (FCR) of both enzyme treatments were lower than without enzyme treatment significantly ($P<0.05$) which were 2.00, 1.97 and 2.14, respectively. The overall results of these experiments indicated that supplementation of piglet diets with crude β-glucanase (KPFC 277) definitely has the potential to improve piglet performance and has comparable quality to imported enzyme.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การผลิตเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสเพื่อใช้ในอาหารสัตว์

ผู้เขียน นายปฏิพัทธ์ อุดมสมุทรหิรัญ

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เกษตรศาสตร์) สัตวศาสตร์

คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์

รศ. พันทิพา พงษ์เพียจันทร์	ประธานกรรมการ
ดร. พงษ์สุดา ผ่องธัญญา	กรรมการ
ดร. วรรณพ วิเศษสงวน	กรรมการ

บทคัดย่อ

เบต้ากลูแคนเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง (Non-starch polysaccharide, NSP) ที่พบในธัญพืชชั้นเอนโดสเปิร์ม และแอลิวโรน ซึ่งใช้เป็นวัตถุดิบอาหารสัตว์บางชนิด สารดังกล่าวทำให้เกิดความหนืดในระบบทางเดินอาหารซึ่งมีผลกระทบต่อสัตว์ 2 ประการคือ ขัดขวางการย่อยการดูดซึมของโภชนะ และทำให้เกิดความไม่สมดุลของจุลินทรีย์ในลำไส้เล็ก ด้วยเหตุนี้จึงส่งผลให้อัตราการเจริญเติบโตของสัตว์ไม่ดีเท่าที่ควร แต่อย่างไรก็ตามปัญหาดังกล่าวสามารถแก้ไขโดยการเติมเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสในอาหารสัตว์ แต่ในปัจจุบันเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสต้องนำเข้าจากต่างประเทศส่งผลให้ต้นทุนค่าอาหารสูงขึ้น ดังนั้นการวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาวิธีการผลิตเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสจากเชื้อจุลินทรีย์โดยใช้วัตถุดิบอาหารสัตว์ในประเทศเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการศึกษาเชื้อราทั้งหมด 11 สายพันธุ์พบว่าเชื้อราสายพันธุ์ *Aspergillus sp.* KPFC 277 ผลิตเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสได้สูง โดยสามารถทำงานได้ดีที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.0 ถึง 7.0 นอกจากนี้ยังไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ (เซลล์ไตของหนูแฮมสเตอร์และเซลล์ตับของมนุษย์) และมีสารพิษอะฟลา (3.55 ppb) และสารพิษออครา (14.76 ppb) ในระดับต่ำกว่าที่อนุญาตให้ตรวจพบได้ในอาหาร เอนไซม์ที่ผลิตได้มีความทนต่อสภาวะในระบบทางเดินอาหารสัตว์ อุณหภูมิระหว่างการอัดเม็ดอาหาร (75 °ซ) และภายใต้การบ่มร่วมกับเอนไซม์ย่อยโปรตีน (เพปซินและแพนครีเอติน) ในสภาวะที่ค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำและสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับการหาอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมพบว่ารำสกัดน้ำมันเหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสเมื่อทำการบ่มที่ 96 ชั่วโมง โดยมีค่ากิจกรรมเป็น 297,880 หน่วยต่อกรัม อาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วยรำสกัดน้ำมัน 1 กรัม + น้ำกลั่น 1.5 มิลลิลิตร + เชื้อ 10^4 สปอร์ จากนั้นเอนไซม์เบต้ากลูคาเนสถูกนำมาทำให้เป็นผงโดยผสมกับแป้งมันสำปะหลังซึ่งเป็นสื่อที่ดีที่สุด หลังจากอบที่ 40 °ซ เป็นเวลา 6 ชั่วโมงพบว่าค่ากิจกรรมที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.0 จะเหลือ 79.98 % และเมื่อนำมาศึกษาเรื่องระยะเวลาและอุณหภูมิในการเก็บรักษาพบว่า ที่การเก็บระยะเวลา 3 เดือนที่อุณหภูมิ 4, 30 และ 45 °ซ ค่ากิจกรรมยังคงเหลือเป็น 79.98 %, 70.10 % และ 66.98 %ตามลำดับ ทั้งนี้ไม่ได้รับผลกระทบจากการสัมผัสอากาศ นอกจากนี้พบว่า *Aspergillus sp*. KPFC 277 ยังผลิตเอนไซม์ แอมีเลส, เซลลูเลส, ไซแลนเนส และโปรตีเอส

ท้ายสุดเมื่อนำเอนไซม์เบต้ากลูคาเนส (KPFC 277) ไปเติมในอาหารลูกสุกรเปรียบเทียบกับเอนไซม์นำเข้า อัตราเพิ่มน้ำหนักตัวต่อวันของทั้ง 2 การทดลองมีแนวโน้มให้น้ำหนักตัวสูงกว่าการไม่เสริมเอนไซม์ (0.337, 0.342 และ 0.323 กิโลกรัมต่อวัน ตามลำดับ) แต่อัตราแลกเนื้อของอาหารที่เสริมเอนไซม์ทั้งสองมีค่าต่ำกว่าไม่เสริมเอนไซม์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยมีค่าเป็น 2.00, 1.97 และ 2.14 ตามลำดับ กล่าวโดยสรุปการเสริมเอนไซม์ KPFC 277 ในอาหารลูกสุกรสามารถปรับปรุงสมรรถภาพการผลิตของลูกสุกรและมีคุณภาพใกล้เคียงกับเอนไซม์นำเข้า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved