ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ แบคทีเรียในกระเพาะหมักของโคพื้นเมืองและการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลส

ชื่อผู้เขียน นางสาวระพีพรรณ อินปั๋นแก้ว

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการตรวจสอบวิทยานิพนธ์

ผศ.สายสมร ลำยอง ประธานกรรมการ

อ.นิรันดร โพธิกานนท์ กรรมการ

ผศ.กำเนิด สุภัณวงษ์ กรรมการ

บทคัดย่อ

เมื่อนำของเหลวจากกระเพาะหมักของโคพื้นเมืองที่เจาะไว้ในเวลาก่อนกินอาหารและหลังกินอาหารโดยการเพาะเลี้ยงในอาหาร rumen fluid glucose cellobiose agar บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 °ซ ใน anaerobic jar ใช้ Gas Pak เป็นตัวทำสภาพไร้ออกซิเจนเป็นเวลา 3 วัน พบว่าแบคทีเรียในกระเพาะหมักของโคพื้นเมืองหลังกินอาหาร (11.00 น.) มีจำนวนมากกว่าก่อนกินอาหาร (8.30 น.) อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) เมื่อให้โคพื้นเมืองกินอาหารที่มีส่วนผสมของฟางข้าว : หญ้าแห้ง : อาหารข้นในอัตรา 2:2:1 กิโลกรัม/วัน และเมื่อปล่อยให้กินหญ้าตามธรรมชาติ แบคทีเรียที่ตรวจพบส่วนใหญ่มีลักษณะเซลรูปกลมกรัมบวก ทำการแยกแบคทีเรียที่สลายเซลลูโลสด้วยอาหาร cellulose agar ที่อุณหภูมิ 37 °ซ ในสภาพไร้ออกซิเจนได้แบคทีเรียที่เป็น strictly anaerobe จำนวน 101 isolates นำแบคทีเรียทั้งหมดนี้มาตรวจสอบความสามารถในการสลายเซลลูโลสโดยวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นเมื่อเพาะเลี้ยงใน cellulose

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

broth ในสภาพไร้ออกซิเจน พบว่าแบคทีเรียจำนวน 31 isolates มีความสามารถในการสลายเซลลูโลสสูง ในจำนวนนี้มี 5 isolates ที่มีความสามารถในการสลายเซลลูโลสได้สูงมาก เมื่อทำการตรวจสอบเพื่อบ่งบอกชนิดพบว่าเป็น Ruminococcus albus และ R. flavefaciens การศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสโดยวิธี filter paper assay ใน R. albus isolate 21Aa พบว่าเชื้อนี้ผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสสูงสุดในอาหารที่มี Whatman No.1 filter paper pulp เป็นแหล่งของคาร์บอน และ tryptone เป็นแหล่งอินทรีย์ไนโตรเจน pH 6.8 ที่อุณหภูมิ 37 °ซ เมื่อเพาะเลี้ยงไว้ 72 ชั่วโมง สามารถผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสได้ 0.0166 unit/ml โดยอุณหภูมิ 37 °ซ และ pH 6.8 เหมาะสมต่อการทำงานของเอ็นไซม์ เชื้อนี้สามารถผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสได้ดีในอาหารที่มีแหล่งเซลลูโลสจากธรรมชาติคือ ใบกระถินแห้ง ต้นข้าวโพดแห้ง หญ้าแห้ง ฟางข้าว ผักตบชวาแห้ง และแกลบผสมรำในอัตราส่วน 1:1 โดยผลิตเอ็นไซม์เซลลูเลสได้ 0.0188, 0.0173, 0.0159, 0.0156, 0.0123 และ 0.0101 unit/ml. ในชั่วโมงที่ 72 ของการเพาะเลี้ยงตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title Rumen Bacteria from Native Cattle and Cellulase Production

Author Ms.Rapeepun Inpunkaew

M.S. Biology

Examining Committee

Asst.Prof.Saisamorn Lumyong Chairman

Lecturer Nirandorn Potiganont Member

Asst.Prof.Kamnird Supunwong Member

Abstract

Rumen fluid was collected from fistulated before and after feeding and the number of bacteria counted using rumen fluid glucose cellobiose agar, incubated in an anaerobic jar with Gas Pak to provide anaerobic conditions. The rusult indicated that the number of bacteria after feeding (11.00 A.M.) with both rice straw : hay : concentrate in a proportion of 2:2:1 Kg/day and grazing of native vegetation was significantly higher ($P < 0.05$) than the number present before feeding (8.30 A.M.). The majority of bacteria were gram-positive cocci. The cellolytic bacteria were isolated using cellulose agar under anaerobic conditions, incubated at 37°C. One hundred and one isolates of strictly anaerobic bacteria were cultured. The ability to degrade cellulose of these isolates was tested in

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

cellulose broth under anaerobic conditions by measuring the amount of reducing sugar liberated. The results showed that 31 isolates have a high ability to degrade cellulose. Five isolates with very high cellulolytic activity were identified as Ruminococcus albus and R. flavefaciens. The ability of R. albus 21Aa to produced cellulase was tested on filter paper. The maximum cellulase production after 72 hr incubation at 37°C and pH 6.8, was 0.0166 unit/ml using a medium containing Whatman No.1 filter paper pulp as C-source and tryptone as organic N-source. The optimum pH and temperature for cellulase activity were found to be 6.8 and 37°C respectively. Cellulase production in different media containing the following native cellulose ; dried lucaena leaf, corn stover, hay, rice straw, dried water hyacinth and rice bran mixed with rice husk in a proportion of 1:1 was 0.0188, 0.0173, 0.0159, 0.0156, 0.0123 and 0.0101 respectively.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved