

หัวข้อวิทยานิพนธ์

ศักยภาพของวัสดุเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมเกษตรในการ
เป็นสับสเตรตสำหรับผลิตเซลล์จากเชื้อราภายใต้การ
หมักสภาพอาหารแข็ง

ผู้เขียน

นายเมธัส ชูเวช

ปริญญา

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

อาจารย์ที่ปรึกษา

รองศาสตราจารย์ ดร. นวลศรี รักอริยะธรรม

บทคัดย่อ

ในการศึกษานี้ได้นำวัสดุเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมเกษตร 4 ชนิด ได้แก่ ชังข้าวโพด กาบมะพร้าว เปลือกข้าวโพด และเปลือกถั่วลิสง ที่ผ่านการบดละเอียดและปรับสภาพด้วยสารละลายกรดและด่างมาวิเคราะห์องค์ประกอบเส้นใย เพื่อใช้เป็นสับสเตรตสำหรับเชื้อราในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส พบว่าวัสดุเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมเกษตรแต่ละชนิดมีองค์ประกอบ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินแตกต่างกัน โดยเปลือกถั่วลิสงมีปริมาณเซลลูโลสสูงที่สุด 33.82 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเปลือกข้าวโพดและกากมะพร้าวมีปริมาณเซลลูโลสใกล้เคียงกัน 22.94 และ 26.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ชังข้าวโพดมีปริมาณเซลลูโลสน้อยที่สุด 13.87 เปอร์เซ็นต์

เมื่อนำเชื้อราไทร็อท 5 สายพันธุ์ ได้แก่ *Pycnoporus coccineus*, *Pycnoporus sanguineus*, *Trametes pavonia*, *Ganoderma australe* และ *Ganoderma mastoporum* ซึ่งมีศักยภาพในการย่อยสลายคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสในอาหารวุ้น CMC agar โดยนำแต่ละสายพันธุ์มาเลี้ยงบนอาหารแข็งชังข้าวโพด กาบมะพร้าว เปลือกข้าวโพด และเปลือกถั่วลิสงเพื่อให้ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส โดยทำการวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลสได้แก่ เอนไซม์ Filter paper activity (FPase), Carboxymethyl cellulase (CMCase) และเซลโลไบเอส โดยหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสระยะเวลา 12 วัน ปรับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60, 70, 80 และ 90 pH เริ่มต้น 5.5 ผลการทดลองพบว่าเชื้อรา *P. coccineus* และ *P. sanguineus* มีค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุดในวันที่ 9 ของการหมัก โดยใช้ชังข้าวโพดกับเปลือกถั่วลิสงเป็นสับสเตรตที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ดังนั้นในการทดลองถัดไปจึง

เลือกใช้เชื้อรา *P. coccineus* และ *P. sanguineus* ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส โดยใช้อาหาร 2 ชนิด ได้แก่ ช้างข้าวโพดและเปลือกถั่วลิสงที่ผ่านการปรับสภาพด้วยกรด-ด่างเป็นสับสเตรตและศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูเลส (แปรผัน pH เริ่มต้น อุณหภูมิ แหล่งไนโตรเจน และตัวเหนียวน้ำ) ผลจากการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุด คือใช้ระยะเวลาการหมัก 9 วัน pH เริ่มต้น 6.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในอาหารที่มีสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) เป็นแหล่งไนโตรเจน และมีน้ำตาลแลคโตส หรือเวราทริลแอลกอฮอล์เป็นตัวเหนียวน้ำ

เมื่อนำเชื้อ *P. sanguineus* มาผลิตเอนไซม์เซลลูเลสภายใต้สภาวะการหมักที่เหมาะสม (ใช้ช้างข้าวโพดเป็นสับสเตรต ระยะเวลาหมัก 9 วัน pH เริ่มต้น 6.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้เวราทริลแอลกอฮอล์เป็นตัวเหนียวน้ำ) และทำการตรวจวัดกิจกรรมเอนไซม์ และภายหลังผลการทดลองพบว่าเอนไซม์เซลลูเลสที่สกัดได้มีกิจกรรมเอนไซม์ Filter paper activity (FPase), Carboxymethyl cellulase (CMCase) และเซลโลไบโอะสเฟสสูงที่สุดเท่ากับ 8.492 ± 0.702 , 14.141 ± 1.177 และ 4.255 ± 0.405 ยูนิต์ต่อกรัมสับสเตรต (U/gds) ตามลำดับ และเมื่อนำสารละลายเอนไซม์ที่ได้มาย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางอุตสาหกรรมเกษตร คือ ช้างข้าวโพด กาบมะพร้าว เปลือกข้าวโพด และเปลือกถั่วลิสงที่ผ่านการเตรียมโดยการบดและปรับสภาพด้วยสารละลายกรด-ด่าง ปริมาณ 1.50 กรัม โดยติดตามผลการย่อยสลายที่เวลาต่างๆ (0-96 ชั่วโมง) โดยใช้เอนไซม์ปริมาตร 10 มิลลิลิตร (11.326 FPA/กรัม สับสเตรต) ในสารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ pH 4.8 ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส อัตราการเขย่า 160 รอบต่อนาที พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยเปลือกถั่วลิสงมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มากที่สุด (11.68 ± 0.37 กรัมต่อลิตร) รองลงมาเป็นช้างข้าวโพด (10.15 ± 0.43 กรัมต่อลิตร) เปลือกข้าวโพด (8.35 ± 0.12 กรัมต่อลิตร) และก้ามมะพร้าว (5.45 ± 0.47 กรัมต่อลิตร) ตามลำดับที่เวลาย่อย 96 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Potential of Agro-industrial By-products as Substrates for Fungal Cellulase Production Through Solid-State Fermentation
Author	Mr. Methus Chuwech
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nuansri Rakariyatham

ABSTRACT

Four agro-industrial by-products, including corn-cobs, coconut hulls, corn-husks and peanut hulls, were selected as substrates in the production of cellulase enzymes. These biomass substances were ground and pretreated with diluted acid and alkali. The cellulose content was found to be the highest in the peanut hulls (33.82 percent), followed by corn husks, coconut hulls and corn-cobs which were 22.94, 26.29 and 13.87 percent, respectively.

In this study, 5 white-rot fungi, *Pycnoporus coccineus*, *Pycnoporus sanguineus*, *Trametes pavonia*, *Ganoderma australe* and *Ganoderma mastoporum*, which exhibited potential for carboxymethyl cellulose degradation on CMC agar were cultured by solid state fermentation using corn-cobs, coconut hulls, corn husks and peanut hulls as substrates for cellulase production. The cellulase activity, filter paper activity (FPase), carboxymethyl cellulase (CMCase) and cellobiase activities were analyzed after solid state fermentation (SSF) under static conditions at 25 °C for 12 days with an initial moisture content of 60-90% and an initial pH value of 5.5. The results showed that *P. coccineus* and *P. sanguineus* provided the highest enzyme activity over 9 days of fermentation when using corn-cobs and peanut hulls as substrates at 70 percent initial moisture content. Therefore, the optimal conditions (initial pH value, incubation temperature, nitrogen sources and inducer) for cellulase production from *P. coccineus* and *P. sanguineus* using corn-cobs and peanut hulls as substrates were evaluated. The results showed that the optimal conditions to produce cellulase included a 9-day fermentation period, an initial pH value of 6.0 at 30 °C, a medium

containing yeast extract as the nitrogen source. The inducer consisted of lactose or veratryl alcohol as the inducer. These conditions resulted in the highest level of enzyme activity.

The production of cellulase was successfully achieved from *P. sanguineus* under optimal conditions (using corn-cobs as substrate, incubation at 30°C for 9 days with an initial pH value of 6.0, and containing yeast extract and veratryl alcohol). The results presented that FPase, CMCase and cellobiase activities of the crude enzyme were 8.492 ± 0.702 , 14.141 ± 1.177 and 4.255 ± 0.405 units per gram of substrate (U/gds), respectively. The crude enzyme was used to hydrolyze corn-cobs, coconut hulls, corn husks and peanut hulls (1.50 grams) by monitoring the decay at various times (0-96 h) using an enzyme volume of 10 ml (11.326 FPU/g substrate) in a solution of citrate buffer, a pH value of 4.8 at 50°C, a rate of shaking 160 rpm. Consequently, the amount of reducing sugars from the peanut hulls was highest (11.68 ± 0.37 grams per liter), followed by corn cobs (10.15 ± 0.43 g per liter) corn husks (8.35 ± 0.12 g per liter) and coconut hulls, which displayed the lowest amount (5.45 ± 0.47 g per liter), respectively, at 96 hours.