การปรับปรุงฝุ่นข้าวโพดด้วยเอนไซม์เพื่อใช้เป็นพรีไบโอติกในอาหารสัตว์
Improvement of Pre-treating Corn Dust with Enzyme as Prebiotics in Animal Feed

ณัฐพร จันทร์ฉาย[1] และกรณิการ์ ดิษฐสุวรรณกุล[1]

Received: July, 2015; Accepted: October, 2015

บทคัดย่อ

การศึกษาในครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อปรับปรุงฝุ่นข้าวโพดด้วยเอนไซม์เพื่อใช้เป็นพรีไบโอติกในอาหารสัตว์ จากการศึกษาในครั้งนี้พบว่า ฝุ่นข้าวโพดที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส (ACCELLERASE 1000, Sigma-Aldrich) ที่ระดับร้อยละ 0.8 มีองค์ประกอบทางเคมี คือ ปริมาณเยื่อใยหยาบร้อยละ 22.09 ปริมาณเถ้าร้อยละ 1.57 วัตถุแห้งร้อยละ 24.36 ความชื้นร้อยละ 75.64 มีความแตกต่างจากฝุ่นข้าวโพดที่ถูกย่อยด้วยเอนไซม์ที่ระดับอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นเป็น 6.15 มก./มล. หลังจากนั้นนำมาทำการทดสอบโอลิโกแซคคาไรด์ซึ่งพบว่าเอนไซม์ทุกระดับสามารถย่อยให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลราฟฟิโนส และการทดสอบคุณสมบัติความเป็นพรีไบโอติก (ที่ระดับความเข้มข้น 0.15 0.30 0.45 0.60 และ 0.70 มก./มล.) สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *Lactobacillus acidophilus* ได้ทุกระดับความเข้มข้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.60 มก./มล. มีอัตราการเจริญเติบโตสูงกว่าการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และมีความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *Escherichia coli* ที่ระดับความเข้มข้น 0.70 มก./มล. สูงกว่าการทดลองอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

คำสำคัญ : พรีไบโอติก; ฝุ่นข้าวโพด; เอนไซม์; *Lactobacillus acidophilus*; *Escherichia coli*

[1] *สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยแม่โจ้-แพร่ เฉลิมพระเกียรติ*
E - mail : nuttapornchanchay@gmail.com

Abstract

The objective of this study is to improve pre-treating corn dust with enzymes as prebiotics in animal feed. This study found that corn dust digested by cellulase enzyme (ACCELLERASE 1000, Sigma Aldrich) that are at a concentration of 0.8 percent resulted in the following reductions of the composition; crude fiber to 22.09 percent, ash content to 1.57 percent, dry matter to 24.36 percent, and moisture to 75.64 percent. Differing enzyme levels were statistically significant ($P<0.05$). Reducing sugar increased to 6.15 mg/ml. The oligosaccharides test found that the enzyme could digest at all levels, ensuring that product is Raffinose sugar. The experiment to examine prebiotics property (on of the concentration of 0.15 0.30 0.45 0.60 and 0.70 mg/ml), a concentration of 0.60 mg/ml produced the optimum growth rate of *Lactobacillus acidophilus* was statistically significant ($P<0.05$), whereas a concentration of 0.70 mg/ml was the optimum level to inhibit the growth of *Escherichia coli* and was statistically significant ($P<0.05$).

Keywords: Prebiotics; Corn Dust; Enzyme; *Lactobacillus acidophilus*; *Escherichia coli*

บทนำ

ปัจจุบันพบว่าการเพาะเลี้ยงสัตว์มีการพบสารตกค้างจากการใช้สารเคมีก่อให้เกิดปัญหากับสิ่งแวดล้อม และในตัวของสัตว์ ทำให้เกิดการดื้อยาจากการใช้สารปฏิชีวนะ จึงได้มีการศึกษาถึงการใช้โปรไบโอติกในการผลิตเป็นอาหารสัตว์แทนการใช้สารปฏิชีวนะต่าง ๆ ที่มีต้นทุนการผลิตที่สูง ถึงแม้ว่าโปรไบโอติกจะมีประสิทธิภาพ และมีประโยชน์ต่อสัตว์ในด้านของการเจริญเติบโต และการรักษาโรค แต่โปรไบโอติกก็จะถูกย่อยสลายในระบบทางเดินอาหาร และส่วนใหญ่จะถูกย่อยในกระเพาะอาหารของสัตว์ทั้งหมด จึงต้องมีพรีไบโอติกมาช่วยส่งเสริมการทำงานของโปรไบโอติกด้วย ซึ่งพรีไบโอติกเป็นสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่จะไม่ถูกย่อย และไม่ถูกดูดซึมในระบบทางเดินอาหาร แต่แบคทีเรียที่อาศัยอยู่ในลำไส้ใหญ่สามารถใช้สารเหล่านี้ในการเจริญเติบโต

ดังนั้นการใช้โปรไบโอติกและพรีไบโอติกเสริมลงไปในอาหารสัตว์เพื่อทดแทนสารปฏิชีวนะและสารเคมี สามารถลดปัญหาของสารตกค้างในสิ่งแวดล้อม และในตัวของสัตว์ ซึ่งเป็นอีกทางเลือกหนึ่งของการเพาะเลี้ยงสัตว์ในแบบเกษตรอินทรีย์ที่เกษตรกรควรหันมาใส่ใจมากขึ้น แต่พรีไบโอติกที่ได้บางครั้งยังมีราคาสูง ของเสียทางการเกษตรเป็นทางเลือกหนึ่งที่น่าสนใจในการนำมาใช้ประโยชน์

จากองค์ประกอบทางเคมีของฝุ่นข้าวโพดจะเห็นว่าประกอบไปด้วยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม Non-Starch Polysaccharides (NSPs) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่สามารถย่อยได้ในสัตว์กระเพาะเดี่ยว แต่อย่างไรก็ตามองค์ประกอบเหล่านี้สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์จนเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก การย่อยสลายเซลลูโลสจะได้ผลิตภัณฑ์เป็น Cello-Oligosaccahrides

และ Raffinose ซึ่งผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยขึ้นอยู่กับชนิดของน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่ย่อยด้วยเอนไซม์พบว่า มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (Sukon, T. et al., 2012) ซึ่งจากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่าพรีไบโอติกต่างชนิดกันมีผลต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของไก่เนื้อ ปลา และสัตว์เศรษฐกิจอื่น ๆ แตกต่างกัน อีกทั้งฝุ่นข้าวโพดในเบื้องต้นยังอาจมีคุณสมบัติไม่เหมาะสมต่อการนำมาใช้เป็นพรีไบโอติก ดังนั้นวัตถุประสงค์ในการศึกษาครั้งนี้เพื่อปรับปรุงฝุ่นข้าวโพดด้วยเอนไซม์เพื่อใช้เป็นพรีไบโอติกในอาหารสัตว์ ตลอดจนเป็นการเพิ่มมูลค่าของเศษเหลือทางการเกษตรให้เกิดประโยชน์สูงสุด และช่วยลดต้นทุนในการผลิตอาหารสัตว์ได้อีกด้วย

วิธีการศึกษา

การทดลองที่ 1 การศึกษาระดับเอนไซม์ที่เหมาะสมในการปรับปรุงฝุ่นข้าวโพด

1. **วิธีการทดลอง**

1.1 การเตรียมตัวอย่างวัตถุดิบ

เก็บตัวอย่างฝุ่นข้าวโพดที่เหลือจากการสีเมล็ดข้าวโพดในบริเวณ อ.ร้องกวาง จ.แพร่ โดยนำตัวอย่างฝุ่นข้าวโพดไปอบที่ 60°C นาน 8 - 10 ชั่วโมง แล้วนำตัวอย่างฝุ่นข้าวโพดไปศึกษาในขั้นต่อไป

2. **กลุ่มการทดลองและการวางแผนการทดลอง**

นำเอนไซม์เซลลูเสส (Cellulase) ซึ่งเป็นเอนไซม์สังเคราะห์จากเชื้อ *Tricoderma reesei* มีชื่อทางการค้าคือ ACCELLERASE 1000 จากบริษัท Sigma-Aldrich (Thailand).Co.,Ltd. หน่วยของเอนไซม์เป็น ยูนิต/ก. มาย่อยฝุ่นข้าวโพดที่เตรียมไว้ โดยแบ่งเป็น 5 กลุ่มการทดลอง กลุ่มละ 3 ซ้ำ ดังนี้

กลุ่มทดลองที่ 1 คือ ฝุ่นข้าวโพดที่ไม่ได้ย่อยด้วยเอนไซม์ (กลุ่มควบคุม)
กลุ่มทดลองที่ 2 คือ ฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ ที่ระดับ 0.2% (น้ำหนัก/ปริมาตร)
กลุ่มทดลองที่ 3 คือ ฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ ที่ระดับ 0.4% (น้ำหนัก/ปริมาตร)
กลุ่มทดลองที่ 4 คือ ฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ ที่ระดับ 0.6% (น้ำหนัก/ปริมาตร)
กลุ่มทดลองที่ 5 คือ ฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ ที่ระดับ 0.8% (น้ำหนัก/ปริมาตร)

โดยใช้อัตราส่วนของเอนไซม์แต่ละระดับนำมาละลายในน้ำกลั่นก่อนจะผสมกับฝุ่นข้าวโพด หลังจากนั้นทำการย่อยที่อุณหภูมิ 40°C นาน 18 ชั่วโมง ภายหลังการย่อย นำตัวอย่างไปปั่นแยก (4,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที) แล้วนำเอาส่วนใสกับส่วนของแข็งไปวิเคราะห์ต่อไป

3. **การวิเคราะห์ตัวอย่าง**

นำตัวอย่างฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี โดยวิธี Proximate Analysis โดยวิเคราะห์หาเยื่อใยหยาบ (Crude Fiber) เถ้า (Ash) ความชื้น (Moisture) โดยใช้วิธีของ AOAC (AOAC, 1990) หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) โดยวิธี Dinitrosalicylic Acid Method (DNS) (Miller, G. L., 1959) และวิเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ โดยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC) (Thanawan, S. et al., 2008) เพื่อเลือกความเข้มข้นของเอนไซม์ที่เหมาะสม และนำไปทดสอบคุณสมบัติการเป็นพรีไบโอติกจากการปรับปรุงฝุ่นข้าวโพดด้วยเอนไซม์ต่อไป

การทดลองที่ 2 การศึกษาความเป็นพรีไบโอติกของฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

1. **วิธีการทดลอง**

ศึกษาการเจริญเติบโตของแบคทีเรียตัวอย่างในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนเปรียบเทียบกับการเจริญเติบโตในอาหารที่มีผลิตภัณฑ์น้ำตาล (Oligosaccharides) ที่ได้จากการย่อยฝุ่นข้าวโพดด้วยเอนไซม์ที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจากผลการทดลองที่ 1

2. **การทดสอบพรีไบโอติก**

การทดสอบพรีไบโอติกจะทำการทดสอบในเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และเชื้อ *L. acidophilus* ซึ่งแบ่งการทดลองเป็นกลุ่ม ๆ ละ 3 ซ้ำ โดยทำการแบ่งเป็น 5 กลุ่มการทดลอง ตามระดับความเข้มข้นของน้ำตาลที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ดังนี้

กลุ่มทดลองที่ 1 คือ การใช้กลูโคสและฝุ่นข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนที่ระดับความเข้มข้น 0.15 มก./มล.

กลุ่มทดลองที่ 2 คือ การใช้กลูโคสและฝุ่นข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนที่ระดับความเข้มข้น 0.30 มก./มล.

กลุ่มทดลองที่ 3 คือ การใช้กลูโคสและฝุ่นข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนที่ระดับความเข้มข้น 0.45 มก./มล.

กลุ่มทดลองที่ 4 คือ การใช้กลูโคสและฝุ่นข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนที่ระดับความเข้มข้น 0.60 มก./มล.

กลุ่มทดลองที่ 5 คือ การใช้กลูโคสและฝุ่นข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนที่ระดับความเข้มข้น 0.70 มก./มล.

แต่ละกลุ่มการทดลองจะใช้กลูโคสเป็นกลุ่มควบคุมนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37°C

3. **การวิเคราะห์ตัวอย่าง**

ในการทดสอบพรีไบโอติกจะทำการทดสอบในเชื้อแบคทีเรีย *E. coli* และเชื้อ *L. acidophilus* ซึ่งในแต่ละกลุ่มการทดลองยังแบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม กลุ่มละ 3 ซ้ำ คือ กลุ่มที่ 1 ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน (กลุ่มควบคุม) และกลุ่มที่ 2 คือ การใช้ผลิตภัณฑ์น้ำตาล (Oligosaccharides) ที่ได้จากกการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นแหล่งคาร์บอน นำเชื้อแบคทีเรียทั้งสองชนิดมาเลี้ยงในอาหารเหลวแล้ววัดการเจริญเติบโตโดยการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร (Taweesak, S. et al., 2008) โดยทำการวัดที่เวลา 0 3 6 9 12 15 และ 18 ชั่วโมง

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำข้อมูลจากทั้งสองการทดลองมาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of variance: ANOVA) โดยใช้แผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มการทดลองโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาระดับเอนไซม์ที่เหมาะสมในการปรับปรุงฝุ่นข้าวโพด โดยทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ระดับต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบทางเคมีของฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ระดับต่าง ๆ

Chemical compositions (%)	Enzyme (%)				
	0	0.2	0.4	0.6	0.8
Moisture	76.18 ± 0.28^{a}	74.30 ± 0.19^{c}	73.17 ± 0.43^{d}	74.91 ± 0.15^{bc}	75.64 ± 0.11^{ab}
Dry matter	23.82 ± 0.28^{d}	25.70 ± 0.19^{b}	26.83 ± 0.43^{a}	25.09 ± 0.15^{bc}	24.36 ± 0.11^{cd}
Ash	1.52 ± 0.02^{a}	1.42 ± 0.02^{b}	1.17 ± 0.01^{d}	1.23 ± 0.00^{c}	1.57 ± 0.01^{a}
Crude fiber	15.22 ± 0.09^{b}	13.40 ± 0.90^{c}	11.49 ± 0.06^{d}	10.66 ± 0.10^{d}	22.09 ± 0.19^{a}

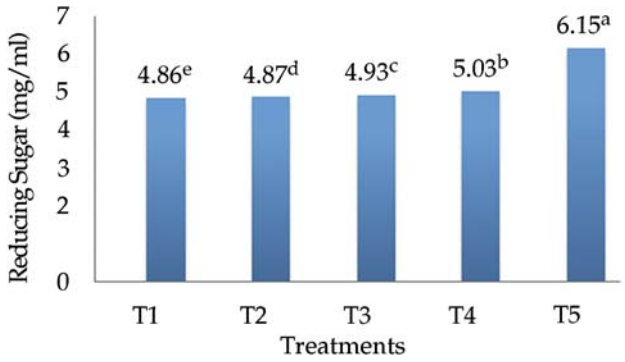
จากตารางที่ 1 การศึกษาปริมาณความชื้นพบว่าแต่ละกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยฝุ่นข้าวโพดที่ไม่ได้ย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณความชื้นสูงกว่าฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ที่ทุกระดับความเข้มข้น คือ ฝุ่นข้าวโพดที่ไม่ได้ย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณความชื้นสูงสุดเท่ากับร้อยละ 76.18 และฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 0.8 และ 0.6 มีปริมาณความชื้นร้อยละ 75.64 และ 74.901 เช่นเดียวกับรายงานของ Pornpan and Suphawadee (Pornpan, S. and Suphawadee, C., 2012) รายงานว่า กากชาที่ไม่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณความชื้นที่สูงกว่ากากชาที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

การศึกษาปริมาณวัตถุแห้งพบว่าแต่ละกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยฝุ่นข้าวโพดที่ไม่ได้ย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณวัตถุแห้งต่ำกว่าฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ที่ทุกระดับความเข้มข้น ซึ่งฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 0.4 มีปริมาณวัตถุแห้งสูงสุดเท่ากับร้อยละ 26.83 และฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 0.2 และ 0.6 มีปริมาณวัตถุแห้งรองลงมาคือ ร้อยละ 25.70 และร้อยละ 25.09 เช่นเดียวกับรายงานของ Pornpan and Suphawadee (Pornpan, S. and Suphawadee, C., 2012) รายงานว่า กากชาที่ไม่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณวัตถุแห้งที่ต่ำกว่ากากชาที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งไม่สอดคล้องกับการศึกษาของ Nipat (Nipat, L., 2004) รายงานว่า การใช้เอนไซม์ย่อยกากชาเขียว และกากกาแฟไม่สามารถทำให้ปริมาณวัตถุแห้งลดลงได้

การศึกษาปริมาณเถ้าพบว่าแต่ละกลุ่มการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยทุกกลุ่มการทดลองมีค่าร้อยละของปริมาณเถ้าที่ใกล้เคียงกัน ซึ่ง Pornpan and Suphawadee (Pornpan, S. and Suphawadee, C., 2012) รายงานว่า กากชาที่ไม่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณเถ้าไม่แตกต่างกับกากชาที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

การศึกษาปริมาณเยื่อใยหยาบพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยฝุ่นข้าวโพดที่ไม่ได้ย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณเยื่อใยหยาบต่ำกว่าฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ ซึ่งฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 0.8 มีปริมาณเยื่อใยหยาบสูงสุดเท่ากับร้อยละ 22.09 ฝุ่นข้าวโพดที่ไม่ได้ย่อยด้วยเอนไซม์ และฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 0.2 มีปริมาณเยื่อใยหยาบร้อยละ 15.22 และ 13.40 ซึ่ง Ng, W. K. et al. (Ng, W. K. et al., 2002) รายงานว่า การใช้เอนไซม์ย่อยกากเนื้อปาล์มไม่สามารถทำให้องค์ประกอบทางเคมีเปลี่ยนแปลง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pornpan, S. and Suphawadee, C. and Suphawadee (Pornpan, S. and Suphawadee, C., 2012) กล่าวว่า กากชาที่ไม่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณเยื่อใยหยาบต่ำกว่ากากชาที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์

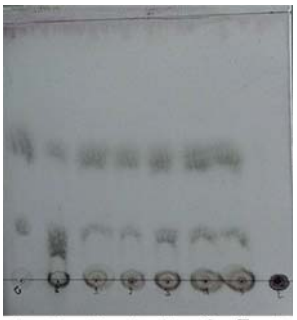
ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของแต่ละกลุ่มการทดลองมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($P<0.05$) โดยฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ที่ระดับร้อยละ 0.8 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดเท่ากับ 6.15 มก./มล. ฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์ที่ระดับร้อยละ 0.6 และ 0.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 5.03 และ 4.93 มก./มล. ดังแสดงในรูปที่ 1 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Miller, G. L. (Miller, G. L., 1959) รายงานว่า เปลือกข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์อะไมเลสสามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ เช่นเดียวกับรายงาน Lawal, T. E. et al. (Lawal, T. E. et al., 2010) พบว่ากากเนื้อในปาล์มที่ย่อยด้วยเอนไซม์จะมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น จากการที่ปริมาณรีดิวซ์เพิ่มขึ้นจากการย่อยด้วยเอนไซม์แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์มีประสิทธิภาพในการย่อยสลาย (Break Down) เยื่อใยและปลดปล่อยน้ำตาลออกมา ส่งผลทำให้วัตถุดิบนั้นมีปริมาณพลังงานเพิ่มขึ้นเช่นกัน และสอดคล้องกับการศึกษาของ Pornpan, S. and Suphawadee, C. (Pornpan, S. and Suphawadee, C., 2012) รายงานว่า กากชาที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มสูงขึ้นจากเดิม



รูปที่ 1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ระดับต่าง ๆ

T1 = ฝุ่นข้าวโพดที่ไม่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ (control)
T2 = ฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 0.2
T3 = ฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 0.4
T4 = ฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 0.6
T5 = ฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ร้อยละ 0.8

หลังจากวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จึงนำมาวิเคราะห์โอลิโกแซคคาไรด์ด้วยวิธี TLC โดยเปรียบเทียบกับน้ำตาลกลูโคสและราฟฟิโนส ดังรูปที่ 2 พบว่าตัวอย่างที่นำมาทดสอบทุกระดับความเข้มข้นมีองค์ประกอบของน้ำตาลกลูโคส และราฟฟิโนส ซึ่งน้ำตาลราฟฟิโนสจัดเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ชนิดหนึ่ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Pornpan, S. and Suphawadee, C. (Pornpan, S. and Suphawadee, C., 2012) รายงานว่า กากชาที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถให้ผลิตภัณฑ์ คือ กลูโคส และโอลิโกแซคคาไรด์ และสอดคล้องกับงานทดลองของ Pichamon, D. et al. (Pichamon, D. et al., 2013) รายงานว่า วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น กากกาแฟ กากชานอ้อย กากถั่วเหลือง กากเนื้อมะพร้าว และเปลือกมันฝรั่งถูกใช้เป็นสับสเตรตสำหรับการผลิตน้ำตาลโอลิโกแซคคาไรด์ด้วยสารละลายเอนไซม์ พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยกากถั่วเหลือง คือ แมนโนส กากชานอ้อย และเปลือกมันฝรั่ง คือ กลูโคส ในขณะที่ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยกากเนื้อมะพร้าวและกากกาแฟ คือน้ำตาลที่ยังไม่ทราบชนิดแน่ชัด

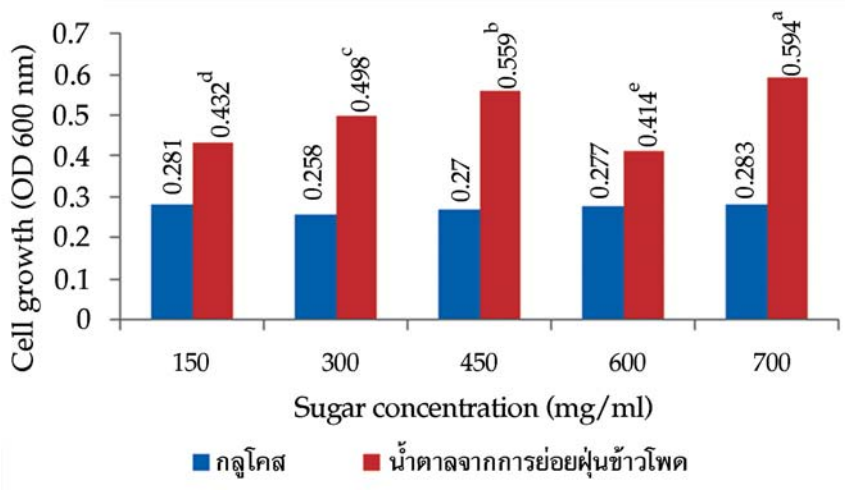


รูปที่ 2 การทดสอบ Oligosaccharides ด้วยวิธี Thin Layer Chromatography (TLC)

1 = Raffinose
2 = Glucose
3 = ฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ระดับร้อยละ 0.8
4 = ฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ระดับร้อยละ 0.6
5 = ฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ระดับร้อยละ 0.4
6 = ฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ระดับร้อยละ 0.2
7 = ฝุ่นข้าวโพดที่ไม่ได้ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์
8 = เอนไซม์เซลลูเลส (ACCELLERASE 1000)

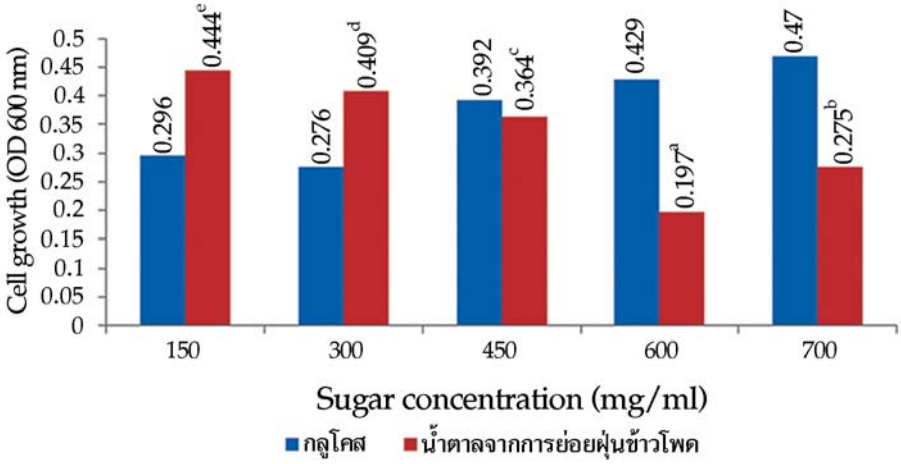
สำหรับการทดสอบความเป็นพรีไบโอติกโดยนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ระดับร้อยละ 0.8 ซึ่งเป็นผลที่ดีที่สุดจากการทดลองที่ 1 เมื่อนำมาเลี้ยงเชื้อ *L. acidophilus* เปรียบเทียบกับกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน (0.15 0.30 0.45 0.60 และ 0.70 มก./มล.) ดังรูปที่ 3 พบว่าฝุ่นข้าวโพดที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ที่ระดับร้อยละ 0.8 สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* ได้ทุกระดับความเข้มข้น โดยที่ระดับความเข้มข้น 0.70 มก./มล. มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด และรองลงมา

ที่ระดับความเข้มข้น 0.45 และ 0.30 มก./มล. โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานศึกษาของ Pornpan, S. and Suphawadee, C. (Pornpan, S. and Suphawadee, C., 2012) รายงานว่า กากชาที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* ได้



รูปที่ 3 อัตราการเจริญเติบโตของ *L. acidophilus* ในน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลจากฝุ่นข้าวโพด

การศึกษาความสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค พบว่า สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ที่ระดับความเข้มข้น 0.60 มก./มล. มีอัตราการเจริญเติบโตสูงสุด และรองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 0.70 และ 0.45 มก./มล. โดยมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) รูปที่ 4 แสดงให้เห็นว่าฝุ่นข้าวโพดที่ย่อยด้วยเอนไซม์มีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก ซึ่งสอดคล้องกับงานศึกษาของ Taweesak, S. et al. (Taweesak, S. et al., 2008) รายงานว่า สารสกัดกากชาที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 20 สามารถลดปริมาณ *E. coli* ได้ สอดคล้องกับงานศึกษาของ Pornpan, S. and Suphawadee, C. (Pornpan, S. and Suphawadee, C., 2012) รายงานว่า กากชาที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ได้



รูปที่ 4 อัตราการเจริญเติบโตของ E. coli ในน้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลจากฝุ่นข้าวโพด

สรุปผล

การปรับปรุงฝุ่นข้าวโพดด้วยเอนไซม์สามารถใช้เป็นพรีไบโอติกในอาหารสัตว์ได้ ซึ่งสามารถส่งเสริมการเจริญเติบโตของเชื้อ *L. acidophilus* และสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ดังนั้นจะเห็นได้ว่าฝุ่นข้าวโพดอาจเป็นทางเลือกหนึ่งในการผลิตพรีไบโอติก เป็นการนำของเสียทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์ และลดปัญหามลพิษทางอากาศจากการเผาไหม้ฝุ่นข้าวโพดของเกษตรกร ซึ่งอาจเป็นการเพิ่มมูลค่าของเศษเหลือทางการเกษตรได้อีกด้วย อีกทั้งการปรับปรุงฝุ่นข้าวโพดด้วยเอนไซม์สามารถทำให้ได้เยื่อใยหยาบมีปริมาณเพิ่มขึ้น อีกทั้งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น และสามารถผลิตโอลิโกแซคคาไรด์ได้ ดังนั้นจึงสามารถใช้ฝุ่นข้าวโพดเป็นพรีไบโอติกเป็นอาหารสัตว์ที่มีราคาถูกได้

References

AOAC. (1990). Official method of analysis. Association of official analytical chemists. Washington, D.C. U.S.A

Lawal, T. E., Iyayi, E. A., Adeniyi, B. A., and Adaramoye O. A. (2010). Biodegradation of palm kernel cake with multienzyme complexes from fungi and its feeding value for broilers. International Journal of Poultry Science. Vol. 9. Number 7. pp. 695-701

Miller, G. L. (1959). Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry. Vol. 31. No. 3. pp. 426-428

Ng, W. K., Lim, H. A., Lim, S. L. and Ibrahim, C. O. (2002). Nutritive value of palm kernel meal pretreated with enzyme or fermented with Trichoderma konningii (Oudemans) as a dietary ingredient for red hybrid tilapia (Oreochromis sp.). Aquaculture Research. Vol. 33. Issue 15. pp. 1199-1207

Nipat, L. (2004). **The extraction process antimicrobial properties of a substance and antioxidants from green tea catechins of Thailand**. Bachelor of Science Thesis Silpakorn University, Nakornpatom

Pichamon, D., Sudathip, J. and Sunee, N. (2013). The influence of the type and quantity of agricultural wastes to produce oligomer Sachs polysaccharide solution with an enzyme extract from Penicllium oxalicum KUB-SN2-1. **KMUTT Research and Development Journal**. Vol. 36. Number 1. pp. 73-84

Pornpan, S. and Suphawadee, C. (2012). **Improvement of pre-treating spent tea leaves with enzyme as prebiotics for animal feed**. Faculty of Animal Science and Agricultural Technology. Silpakorn University Phetchaburi IT Campus

Sukon, T., Tienchai, N. and Petchradaa, D. (2012). Antibacterial activity of the extract from the bark of certain fruits. **KKU Research Journal**. Vol. 17. Issue 6. pp. 880-894

Taweesak, S., Srisamai, W., Churee, P. and Suwanna, T. (2008). **Efficacy in reducing bacteria extracts from tea waste, the series of "herbs in animal tests"**. Thailand Research Fund (TRF) Faculty of Veterinary Science Kasetsart University, Bangkok

Thanawan, S., Jakkrit, T., Kin, L. K. and Kanok, R. (2008). Products from the fermentation of Bacillus sp. strain TW-1 in a corn husk carbon source under conditions where oxygen is limited. **KMUTT Research and Development Journal**. Vol. 31. Number 2. pp. 291-304