

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG5480257
ชื่อโครงการ : การประยุกต์ใช้เอนไซม์ไลเปสจากเชื้อขอบเค็มร่วมกับน้ำมันที่ประกอบ
ด้วยกรดไขมันสายยาวปานกลางเพื่อทดแทนการให้ยาปฏิชีวนะในอาหาร
สัตว์กระเพาะเดี่ยว
ชื่อนักวิจัย : ผศ.ดร.วรรณพร ทะพิงค์แก มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
อีเมล : wanaporn.t@cmu.ac.th
ระยะเวลาโครงการ : 1 กรกฎาคม 2554 -30 มิถุนายน 2556

จากการแยกเชื้อจากตัวอย่างน้ำปลาที่เก็บจากโรงงานในจังหวัดสมุทรสงคราม และจังหวัด
สิงห์บุรี ดินนาเกลือจังหวัดสมุทรสงคราม ทั้งหมด 15 ตัวอย่าง ได้เชื้อขอบเค็มทั้งหมด 78 ไอโซเลต
จากนั้นพบว่า มีเพียง 5 สายพันธุ์เท่านั้น ได้แก่ HSB1-2 HM709 HM738 SQ1-4 และ SQ1-22
อีกทั้งเชื้อแบคทีเรียจำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ FACF-9 MHS1-4 MHS1-5 MHS-4 และ SBFE-5 ถูก
แยกได้จากมะพร้าว กากมะพร้าว เปลือกมะพร้าว ผลปาล์ม และกากมะพร้าวบ่ม เชื้อ HSB1-2 และ
MHS-4 มีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสโดยรวมสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับระหว่างกลุ่มเชื้ออาศัย และเชื้อ
แบคทีเรีย ตามลำดับ จากการพิสูจน์เอกลักษณ์ของเชื้อ เชื้อ HSB1-2 อยู่ในกลุ่ม *Halobacterium*
และเชื้อ MHS-4 อยู่ในกลุ่ม *Bacillus* เอนไซม์ไลเปสโดยรวมจากเชื้อที่คัดเลือกได้จำเพาะกับการย่อย
ไขมันที่มีกรดไขมันสายยาวปานกลาง อีกเชื้อที่คัดเลือกได้ทั้งหมดไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์กล้ามเนื้อ
ภายในทางเดินอาหารหนู (rat intestine epithelial, IEC6) และเซลล์กล้ามเนื้อของหนู (mouse
fibroblast, L929) และทนต่อสภาวะในการทดสอบทางอาหารสัตว์ได้ดี อีกทั้งเมื่อนำไปการใช้
ส่วนผสมของอิมัลชันน้ำมันมะพร้าวและเอนไซม์ไลเปสรวมจากเชื้อ *B. licheniformis* MHS-4
สามารถลดการเจริญเติบโตของเชื้อ *E.coli*, *Streptococci*, และ total anaerobic ในสภาวะจำลอง
ระบบทางเดินอาหารของสุกรได้ การเสริมเอนไซม์ไลเปสรวมจากเชื้อ *B. licheniformis* MHS-4 ที่
ระดับกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส 2 เท่า ปรับปรุงทำให้ค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบและพลังงานรวม
น้ำหนัที่อายุ 56 วัน อัตราการเจริญเติบโตในช่วงอายุ 28-42 และ 28-56 วัน และน้ำหนักตัวเพิ่มต่อ
อาหารที่กินในช่วงอายุ 28-42 และ 28-56 วัน

เมื่อทดสอบการย่อยโดยใช้อาหารแข็ง HM ที่เสริมด้วยน้ำมันมะพร้าว พบว่ามีเพียง 5 สายพันธุ์เท่านั้น และพบว่า สายพันธุ์ HSB1-2 สามารถย่อย **p**NPL ได้ ทั้งในส่วนไลเปสที่อยู่ในเซลล์และไลเปสที่หลั่งออกมานอกเซลล์ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญเติบโตของเชื้อคิดเป็นค่าเท่ากับ 30.7 ± 0.8 units per Log CFU ในช่วงเวลา 48 ถึง 120 ชั่วโมง ไลเปสที่อยู่ในเซลล์ สามารถย่อยได้สูงสุดที่ความเข้มข้นของ NaCl เท่ากับ 1.0 M ส่วนไลเปสที่หลั่งออกมานอกเซลล์ (Extracellular lipase) ย่อยได้ดีที่ความเข้มข้นของ NaCl เท่ากับ 4.0 M เมื่อบ่มไลเปสที่อยู่ในเซลล์ที่ความเข้มข้นเกลือสูงกับทำให้รักษากิจกรรมของเอนไซม์ได้ดีกว่าการบ่มที่ความเข้มข้นเกลือต่ำ ไลเปสที่อยู่ในเซลล์มีกิจกรรมเอนไซม์สูงสุดที่ pH 7.5 ส่วนไลเปสที่หลั่งออกมานอกเซลล์มีกิจกรรมสูงสุดที่ pH ประมาณ 7.0 ไลเปสในเซลล์สามารถทนการเปลี่ยนแปลง pH ได้ดีกว่า

คำสืบค้น : ไลเปส เชื้อขอบเค็ม น้ำมันที่ประกอบด้วยกรดไขมันสายยาวปานกลาง สารทดแทนยาปฏิชีวนะ อาหารสัตว์กระเพาะเดียว

Abstract

Project Code : MRG5480257
Project Title : Application of halophilic archaeal lipase and medium chain triacylglycerols as an antibiotic substitute in monogastric animal feeds
Investigator : Assist. Prof. Dr.Wanaporn Tapingkae
E-mail Address : wanaporn.t@cmu.ac.th
Project Period : 1 July 2012 -1 July 2014

From the isolation of the samples from the fish sauce collected from the factory in Samut Songkhram province and Singburi province and Salted soil from Samut Songkhram. There were only 15 halophilic isolates in Samut Songkhram province. There were only 5 isolates, HSB1-2 HM709 HM738 SQ1-4 and SQ1-22. FACF-9, MHS1-4, MHS1-5, MHS-4 and SBFE-5 were isolated from coconut, coconut pulp, coconut shell, palm fruit and coconut husk. HSB1-2 and MHS-4 exhibited the highest crude lipase activity was observed when compared to that of archaea and bacteria, respectively. In addition, HSB1-2 was in the *Halobacterium* group and MHS-4 in the *Bacillus* group. The lipase profile from selected strains were specific to the lipid containing medium chain fatty acid. All of the selected isolates had no toxicity to rat intestine epithelial cells (IEC6) and mouse fibroblasts (L929), and were well tolerated in animal feed condition testing. Emulsion of coconut oil and lipase from *B. licheniformis* MHS-4 can reduce the growth of *E. coli*, *Streptococci*, and total anaerobic count in the simulative swine digestive tract. Extraction of lipase from *B. licheniformis* MHS-4 at the same level of lipase activity improved the digestibility of dry matter and gross energy. Body weight at 56 days of age, average daily gain at 28-42 and 28-56 days, and gain : feed at 28-42 and 28-56 days of age.

When tested for digestibility using HM medium supplemented with coconut oil, HSB1-2 was the representative species of *Halobacterium*. HSB1-2 was able to digest pNPL in both the cellular and extracellular lipases, which corresponded to the growth, which was consistent with 30.7 ± 0.8 units per log CFU over 48-120 hr. Intracellular lipase has maximum activity at NaCl concentration was 1.0 M. The extracellular lipase was well digested at 4.0 M NaCl concentration, when lipid contained in high-density lipoprotein and enzyme activity was better than that of low salt concentration. Lipases contained in the cell have the highest enzyme activity at pH 7.5. The lipase released from the cell has the highest activity at pH 7.0. The lipase in the cell is more resistant to pH change.

Keywords : lipase, halophilic archaea, medium chain triacylglycerols, antibiotic substitute, monogastric animal feeds