

ผลของเอนไซม์ย่อยเยื่อใยโดยรวมจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมต่อ ค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและการใช้ประโยชน์ได้ของ โภชนะในอาหารไก่เนื้อ

Effects of Crude Fibrolytic Enzymes from *Pleurotus ostreatus* Spent Mushroom Substrate on the *In vitro* Digestibility and Nutrient Utilization of Broiler Diet

วรรณพร ทะพิงค์แก^{1/} สุธีรัตน์ ถือแก้ว^{1/} และ มงคล ยะไชย^{2/}
Wanaporn Tapingkae^{1/}, Sureerat Thuekeaw^{1/} and Mongkol Yachai^{2/}

Abstract: *Pleurotus ostreatus* (oyster mushroom) can grow on agricultural waste with their ability to produce the fibrolytic enzymes including cellulase, hemicellulase, and lignin-degrading enzymes. The objective of this project was to evaluate the effect of spent mushroom substrates (SMS) supplementation on the *in vitro* digestibility and nutrients utilization of broiler diet. The experimental diets were divided to 5 groups including basal diet (CON), basal diet supplemented with commercial fibrolytic enzymes 1 and 2 with endo-glucanase activity at 500 U per kg diet (CFE1 and CFE2) and basal diet supplemented with *Pleurotus ostreatus* spent mushroom substrate with endo-glucanase activity at 250, 500 and 1,000 U per kg diet (SMS 0.5×, SMS 1×, and SMS 2×, respectively). SMS contained various fibrolytic activities including cellulose (549.6 and 615.94 U/g for pH 3.0 and 6.8), xylanase (90.75 and 101.71 U/g for pH 3.0 and 6.8), and endo-glucanase (496.42 and 486.14 U/g for pH 3.0 and 6.8). Besides SMS also showed the laccase and protease activities higher than both commercial fibrolytic enzymes ($P < 0.05$). Fibrolytic enzymes supplementation improved *in vitro* digestibility and nutrients utilization compared with basal diet ($P < 0.05$). SMS 1× and SMS 2× showed higher *in vitro* digestibility and nutrients utilization compared with CFE1 and CFE2 ($P < 0.05$). It can be summarized that SMS of *P. ostreatus* have the potential for a source of enzyme supplement in animal feed.

Keywords: Crude fibrolytic, *Pleurotus ostreatus* spent, *in vitro* digestibility, *in vivo* digestibility, broiler

^{1/} ภาควิชาสัตวศาสตร์และสัตว์น้ำ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50200

^{1/} Department of Animal and Aquatic Sciences, Faculty of Agriculture, Chang Mai University, Chiang Mai 50200

^{2/} สาขาวิชาเทคโนโลยีและพัฒนากาเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ จ.เชียงใหม่ 50300

^{2/} Department of Agricultural Technology and Development, Faculty of Agricultural Technology, Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai 50300

บทคัดย่อ: เหน็ดสกุลนางรมสามารถเจริญได้ดีบนวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร ด้วยความสามารถในการผลิตเอนไซม์ย่อยเยื่อใยต่าง ๆ ได้แก่ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเอนไซม์ย่อยลิกนิน งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมวัสดุเหลือใช้จากการเพาะเห็ดนางรมต่อค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหารไก่เนื้อ อาหารทดลองแบ่งเป็น 5 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่ม 1 อาหารพื้นฐาน (CON) กลุ่ม 2-3 อาหารพื้นฐานเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าชนิดที่ 1 และ 2 ที่ระดับกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสเท่ากับ 500 ยูนิตต่อกิโลกรัมอาหาร (CFE1 และ CFE2) กลุ่ม 4-6 อาหารพื้นฐานเสริมวัสดุเพาะเห็ดนางรมที่ระดับกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนส 250, 500, และ 1,000 ยูนิตต่อเอนโดกลูคาเนสต่อกิโลกรัมอาหาร (SMS 0.5×, SMS 1×, และ SMS 2×) วัสดุเพาะเห็ดมีกิจกรรมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยหลายชนิด ได้แก่ เซลลูโลส (549.6 และ 615.94 ยูนิตต่อกรัม สำหรับ pH 3.0 และ 6.8) ไสแลนเนส (90.75 และ 101.71 ยูนิตต่อกรัม สำหรับ pH 3.0 และ 6.8) และ เอนโดกลูคาเนส (496.42 และ 486.14 ยูนิตต่อกรัม สำหรับ pH 3.0 และ 6.8) อีกทั้งวัสดุเพาะเห็ดยังมีกิจกรรมของแลคเคสและโปรตีเอสมากกว่าเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าทั้ง 2 ชนิด ($P < 0.05$) การเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยปรับปรุงค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะเมื่อเทียบกับอาหารสูตรพื้นฐาน ($P < 0.05$) อาหารสูตร SMS 1× และ SMS 2× มีค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะสูงกว่าอาหารสูตร CFE1 และ CFE2 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) สามารถสรุปได้ว่าวัสดุเหลือใช้จากการเพาะเห็ดนางรมมีศักยภาพสำหรับเป็นแหล่งของเอนไซม์ที่เสริมในอาหารสัตว์

คำสำคัญ: เอนไซม์ย่อยเยื่อใย วัสดุเพาะเห็ดนางรม ค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง ค่าการย่อยได้ในตัวสัตว์ ไก่เนื้อ

คำนำ

จากการขยายตัวของอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์ ทำให้เกษตรกรขยายพื้นที่ปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เพิ่มขึ้น ซึ่งเห็นได้ชัดเจนจากพื้นที่ป่าที่ถูกเปิดเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว การปลูกข้าวโพดเลี้ยงสัตว์และข้าวโพดถนอมที่นำไปเป็นเมล็ดพันธุ์ ในอำเภอแม่แจ่ม จังหวัดเชียงใหม่ มีพื้นที่เพาะปลูกกว่า 8 หมื่นไร่ ฤดูเพาะปลูกเริ่มตั้งแต่ต้นเดือนพฤษภาคมเป็นต้นไป ซึ่งเป็นช่วงต้นฤดูฝน และเก็บเกี่ยวตั้งแต่เดือนกันยายนเป็นต้นไป การเพาะปลูกต้องอาศัยน้ำฝนตามธรรมชาติเพียงอย่างเดียว เนื่องจากพื้นที่ส่วนใหญ่มีสภาพลาดชันตามแนวภูเขา เกษตรกรจะนำฝักข้าวโพดที่เก็บได้ไปรวมกันที่จุดสำหรับการกะเทาะเมล็ดเปลือกและซังข้าวโพดที่เหลือถูกกองทิ้งไว้รวมกันและเผาทิ้งในช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงธันวาคมของทุกปี ส่วนต่อซังต้นข้าวโพดที่แห้งในแปลงถูกเผาส่งสำหรับการเตรียมพื้นที่เพาะปลูกในช่วงเดือนมกราคมถึงเดือนเมษายน ซึ่งถือเป็นวิธีที่สะดวกรวดเร็วและประหยัดต้นทุน (ศุทธิณี และ คณะ, 2554) อย่างไรก็ตาม การถนอมรักษาเกี่ยวกับปัญหาหมอกควันจากการเผา เกษตรกรบางส่วนเริ่มตระหนักถึงผลเสียจากการเผาและพยายามหลีกเลี่ยงมาก

ขึ้น แต่เนื่องจากการเผาเป็นวิธีชีวิต/วิธีปฏิบัติที่ดำเนินมาอย่างยาวนาน และปัญหาหมอกควันที่มีแนวโน้มรุนแรงมากขึ้น แม้ว่าหลายหน่วยงานทั้งภาครัฐและเอกชนดำเนินการแก้ปัญหาดังกล่าวอย่างต่อเนื่อง เช่น การใช้วัสดุเศษเหลือทางการเกษตร โดยเฉพาะต้นและซังข้าวโพดในการเพิ่มมูลค่าเป็นอาหารสัตว์ และ/หรือนำไปแปรรูปเป็นปุ๋ยและเป็นพลังงานชีวมวล ต้นข้าวโพดหลังการเก็บเกี่ยวประกอบด้วยเถ้า เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ร้อยละ 10.8, 61.2, 19.3, และ 6.9 ตามลำดับ หรือคิดเป็นน้ำตาลทั้งหมด คาร์บอนทั้งหมดและไนโตรเจนทั้งหมดร้อยละ 0.22, 50.3, และ 1.05 ตามลำดับ (El-Tayeb *et al.*, 2012) ในการศึกษาครั้งนี้เป็นอีกแนวทางหนึ่งในการแก้ไขปัญหา โดยการใช้วัสดุเศษเหลือของข้าวโพดเลี้ยงสัตว์เป็นวัสดุสำหรับการเพาะเห็ด เป็นวิธีหนึ่งที่จะช่วยลดการเผาวัสดุเศษเหลือ อีกทั้งยังช่วยให้เกษตรกรมีแหล่งอาหารภายในชุมชน อันจะส่งผลถึงการเป็นอยู่ที่ดีขึ้น เมื่อพิจารณาเห็ดชนิดต่าง ๆ ที่สำคัญในประเทศไทย ได้แก่ เห็ดฟาง เห็ดสกุลนางรม เห็ดหูหนู เห็ดหอม เห็ดแชมปิญอง เป็นต้น เห็ดสกุลนางรมจัดเป็นเห็ดที่นิยมรับประทานกันมาก เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง รสชาติหอมหวาน และเนื้อไม่เหนียว อีกทั้งเห็ด

สกุลนางรมยังถือเป็นกลุ่มเห็ดที่สามารถเจริญได้ดีบนวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร (Silvana *et al.*, 2006) ซึ่งสอดคล้องกับกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเยื่อใย เช่น เซลลูเลส เฮมิเซลลูเลส และเอนไซม์ย่อยลิพิน (Kurt and Buyukalaca, 2010) นอกจากนี้ยังพบกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเยื่อใยดังกล่าวในวัสดุเพาะเห็ดที่ใช้แล้วด้วย เนื่องจากสัตว์กระเพาะเดี่ยวไม่สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยเยื่อใยได้ จึงจำเป็นต้องเสริมเอนไซม์ดังกล่าวในอาหารเพื่อให้สัตว์สามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพ หรือแม้แต่ในสัตว์กระเพาะรวมการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยในอาหารหยาบสามารถช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพการผลิตและคุณภาพผลิตภัณฑ์ของสัตว์ได้ (Beauchemin *et al.*, 2003) สุวีรัตน์ และคณะ (2556) ชี้ให้เห็นว่าสามารถใช้ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เก็บฝักเป็นวัสดุสำหรับการเพาะเห็ดนางรม อีกทั้งวัสดุเพาะเห็ดที่เหลือมีกิจกรรมของเอนไซม์กลุ่มย่อยเยื่อใยในปริมาณที่สูง อย่างไรก็ตามการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตสัตว์อื่น ๆ เช่น อะไมเลสและโปรตีเอสยังไม่ถูกศึกษา อีกทั้งควรศึกษาถึงประสิทธิภาพในการย่อยอาหารสัตว์เพื่อเป็นแนวทางในการประยุกต์ใช้อาหารสัตว์ต่อไป งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยโดยรวมจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมต่อค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและค่าการย่อยได้ในไก่เนื้อ

อุปกรณ์และวิธีการ

การเพาะเห็ด

เตรียมวัสดุเพาะเห็ดโดยใช้ต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ที่เก็บฝักแล้ว ตามวิธีของ สุวีรัตน์ และคณะ (2556) หั่นต้นข้าวโพดเลี้ยงสัตว์ให้มีขนาด 2-3 นิ้ว หมักกับปุ๋ยยูเรีย (ปุ๋ยยูเรีย 10 กรัม ต่อ วัสดุเพาะเห็ด 100 กิโลกรัม) ให้มีความชื้นประมาณร้อยละ 60 หมักไว้เป็นระยะเวลา 1-2 วัน บรรจุใส่ถุงสำหรับเพาะเห็ด (ขนาด 7 × 11 นิ้ว) น้ำหนักประมาณ 800 กรัม สวมคอขวดและปิดจุกด้วยสำลี จากนั้นนำไปนึ่งด้วยหม้อนึ่งเป็นระยะเวลา 3-4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาปล่อยให้เย็นก่อนวัสดุเพาะเห็ดลงที่อุณหภูมิห้อง เตรียมขยายเชื้อ โดยแช่เส้นใยเห็ดลงใน

ขวดเมล็ดข้าวฟ่างที่ผ่านการฆ่าเชื้อ ปล่อยให้เส้นใยเจริญเต็มเมล็ดข้าวฟ่าง (1-2 สัปดาห์) นำเชื้อขยายใส่ในถุงก้อนก่อนวัสดุเพาะเห็ด นำไปบ่มในโรงเพาะเห็ดเป็นเวลาประมาณ 25-30 วัน เมื่อเก็บเห็ดนางรมแล้ว นำวัสดุเพาะที่เหลือจากการเพาะเห็ดไปอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมง บดผ่านตะแกรงร่อนขนาด 1 มิลลิเมตร และเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

การวัดกิจกรรมเอนไซม์โดยรวม

วัดกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส เอนโดกลูคาเนส เบต้า-กลูคาเนส ไสแลนเนส อะไมเลส และโปรตีเอส ของตัวอย่างวัสดุเพาะ จำนวน 3 ซ้ำ ตามวิธีที่อ้างอิงใน Tapingkae *et al.* (2008) และแลคเคสตามวิธีของ Ardon *et al.* (1996) โดยวัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3.0 (กระเพาะอาหาร) และ 6.8 (ลำไส้เล็ก) อุณหภูมิ 39.5 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิร่างกายสัตว์)

การวัดค่าย่อยได้ในหลอดทดลอง

ศึกษาผลของการเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยต่อค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของอาหารไก่เนื้อ แบ่งอาหารทดลองออกเป็น 6 สูตร ได้แก่ สูตรที่ 1 อาหารควบคุม ไม่เสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใย (Control; CON) สูตรที่ 2 และ 3 อาหารควบคุมเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าชนิดที่ 1 และ 2 ที่ระดับกิจกรรมของเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสเท่ากับ 500 ยูนิตต่อกิโลกรัมอาหาร (Commercial fibrolytic enzyme 1 และ 2; CFE1 และ CFE2) สูตรที่ 4, 5, และ 6 อาหารควบคุมเสริมวัสดุเพาะเห็ดนางรมที่ระดับ 250, 500, และ 1,000 ยูนิตต่อกิโลกรัมอาหาร (SMS 0.5×, SMS 1×, และ SMS 2×) สูตรอาหารและองค์ประกอบทางเคมีแสดงในตารางที่ 1

วัดค่าการย่อยได้ตามวิธีของ Boisen (1993) โดยจำลองสภาวะในการย่อยโภชนาในกระเพาะและลำไส้ โดยใช้ทริปซินและแพนครีเอตินตามลำดับ จากนั้นนำอาหารที่เหลือจากการย่อยไปวิเคราะห์ปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีนโดยรวม เยื่อใยโดยรวม ไขมันโดยรวม และเถ้า ของอาหารก่อนและหลังจากการวัดค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองโดยวิธีของ Association of Official Analytical

$$\text{Chemists (AOAC, 1995) ทำการวัดค่าการย่อยได้ของอาหารแต่ละสูตรจำนวน 5 ซ้ำ โดยคำนวณค่าการย่อยได้ดังสมการ}$$

$$\text{ค่าการย่อยได้ในหลอด} = \frac{\text{โภชนะในอาหารก่อน - หลังจากการวัดค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง}}{\text{โภชนะในอาหารก่อนการวัดค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง}} \times 100$$

Table 1 Composition and chemical analysis of the diets for the *in vitro* and *in vivo* digestibilities experiment (as fed basis)^a

Ingredient	(g/kg)
Yellow corn Thai B	578.1
Spent malt	80.3
Acid soybean oil	40.0
Full fat soya	50.1
Argentine SBM (High)	190.3
Pork meal (50-55% CP)	40.0
Salt (dry)	1.6
Monocalcium phosphate (Biofoss P 21%)	5.9
Calcium carbonate	5.6
Betaine Hydrochloride 96%	1.0
DL-Methionine (Alimet 88%)	1.1
L-lysine 98.5%	0.7
Sodium bicarbonate	2.0
Mineral Complex (poultry)	0.6
Copper sulfate 25%	0.5
Vitamins (BT 1-1)	0.2
Choline chloride liquid	0.9
Monensin (Elancoban G200)	0.5
Antioxidants (Luctanok 2072-Z)	0.1
Antimold agent (Luctamold 1491 Z)	0.5
Analytical nutrient components (g/kg)	
Dry matter	892.6
Crude protein	190.0
Crude fibre	36.3
Ether extract	85.0
Ash	51.5
AME (MJ/kg)	20.4

^a SMS 250, 500, and 1,000 U of endo-glucanase/kg diet were added as each treatment

สัมประสิทธิ์ค่าการย่อยได้ปรากฏในสัตว์

ใช้ไก่เนื้อเพศผู้อายุ 21 วัน จำนวน 180 ตัว เลี้ยงในกรงสำหรับวัดเมแทบอลิซึม (metabolic cage) ขนาด $45 \times 70 \times 55$ เซนติเมตร ที่มีถาดสำหรับเก็บมูลด้านล่าง จำนวน 60 กรง ๆ ละ 3 ตัว สุ่มให้ไก่ได้รับอาหารทดลอง 6 สูตร เช่นเดียวกับการทดลองการวัดค่าย่อยได้ในหลอดทดลองสูตรละ 10 กรง ให้อาหารและน้ำอย่างไม่จำกัด (*ad libitum*) แบ่งการทดลองออกเป็น 2 ช่วง คือ ช่วงที่ 1 (วันที่ 21-28) และช่วงที่ 2 (วันที่ 35-42) โดยแบ่งเป็นระยะปรับตัว 4 วัน (วันที่ 21-24 และ 35-38) และระยะเก็บตัวอย่าง 3 วัน (25-28 และ 39-42) เก็บมูลไก่ทั้งหมดของแต่ละช่วงที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการหมักของจุลินทรีย์จนกระทั่งทำการวิเคราะห์ ศึกษาค่าการย่อยได้ในสัตว์ 2 รุ่น

วิเคราะห์ปริมาณวัตถุแห้ง โปรตีนโดยรวม เยื่อใยโดยรวม ไขมันโดยรวม เถ้า และพลังงาน ของอาหารและมูล โดยวิธีของ Association of Official Analytical Chemists (AOAC, 1995) คำนวณสัมประสิทธิ์ค่าการย่อยได้ปรากฏในสัตว์ (Coefficient of total tract apparent digestibility; CTTAD) และ ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้โดยประมาณ ((apparent metabolizable energy; AME) ดังสมการ

$$\text{สัมประสิทธิ์ค่าการย่อยได้ปรากฏในสัตว์} = \frac{\text{โภชนะที่กิน} - \text{โภชนะที่ขับถ่าย}}{\text{โภชนะที่กิน}}$$

$$\text{ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้โดยประมาณ} = \left[\begin{array}{cc} \text{ปริมาณอาหารที่กิน} & \times & \text{พลังงานรวมในอาหาร} \\ \text{ปริมาณมูลและปัสสาวะ} & \times & \text{พลังงานรวมในมูลและปัสสาวะ} \end{array} \right] - \text{ปริมาณอาหารที่กิน}$$

การวิเคราะห์สถิติ

วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและค่าการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะของอาหารไก่เนื้อที่วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์

และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ผลการทดลอง

กิจกรรมของเอนไซม์โดยรวม

กิจกรรมของเอนไซม์ต่าง ๆ ในวัสดุเพาะเห็ดนางรมเปรียบเทียบกับเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้า 2 ชนิด ที่ pH 3.0 และ 6.8 แสดงในภาพที่ 1 วัสดุเพาะเห็ดนางรมมีกิจกรรมของเอนไซม์กลุ่มย่อยเยื่อใย (เซลลูเลส เอนโดกลูคาเนส เบต้า-กลูคาเนส และไซแลนเนส) น้อยกว่าเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าทั้ง 2 ชนิด ($P < 0.05$) อย่างไรก็ตาม วัสดุเพาะเห็ดนางรมมีกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส (44.41 และ 47.85 ยูนิตต่อกรัม สำหรับ pH 3.0 และ 6.8) มากกว่าเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าทั้ง 2 ชนิด ($P < 0.05$) อีกทั้งวัสดุเพาะเห็ดนางรมยังมีกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส (526.75 และ 545.38 ยูนิตต่อกรัม สำหรับ pH 3.0 และ 6.8) มากกว่าเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทางการค้าทั้ง 2 ชนิด ($P < 0.05$)

การประเมินค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง

การเสริมเอนไซม์ย่อยเยื่อใยทั้งจากทางการค้าและจากวัสดุเพาะเห็ดช่วยเพิ่มค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของโภชนะที่ศึกษาเมื่อเทียบกับอาหารกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 2) เมื่อพิจารณาค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของโปรตีน พบว่ากลุ่ม SMS 0.5× มีประสิทธิภาพในการย่อยโปรตีนเพิ่มขึ้นร้อยละ 70 เท่ากับกลุ่ม CFE1 และ CFE2 เมื่อเทียบกับกลุ่ม CON อีกทั้งกลุ่ม SMS 1× และ SMS 2× ยังมีค่าการย่อยได้ของโปรตีนสูงสุด ($P < 0.05$) เพิ่มขึ้นร้อยละ 100 เมื่อเทียบกับกลุ่ม CON นอกจากนี้กลุ่ม SMS 0.5× SMS 1× และ SMS 2× ยังมีค่าการย่อยได้ของเยื่อใยเพิ่มขึ้นร้อยละ 50 เมื่อเทียบกับกลุ่ม CON

สัมประสิทธิ์ค่าการย่อยได้ปรากฏในสัตว์

การย่อยได้ของโภชนะในไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารเสริมเอนไซม์ทุกกลุ่ม มีค่าสูงกว่าไก่กลุ่มที่ได้รับอาหารควบคุม (ไม่เสริมเอนไซม์) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

($P < 0.05$) (ตารางที่ 3) การย่อยได้ของอาหารที่เสริมด้วยเอนไซม์ทางการค้าทั้ง 2 ชนิด มีค่าแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) ในขณะที่ไก่ที่ได้รับอาหาร

เสริมด้วยวัสดุเพาะเห็ดทั้ง 3 ระดับ มีค่าการย่อยได้ของวัตถุดิบ โปรตีนโดยรวม เยื่อใยโดยรวม ไขมันโดยรวม ถั่ว และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ สูงกว่าไก่ที่ได้รับอาหาร

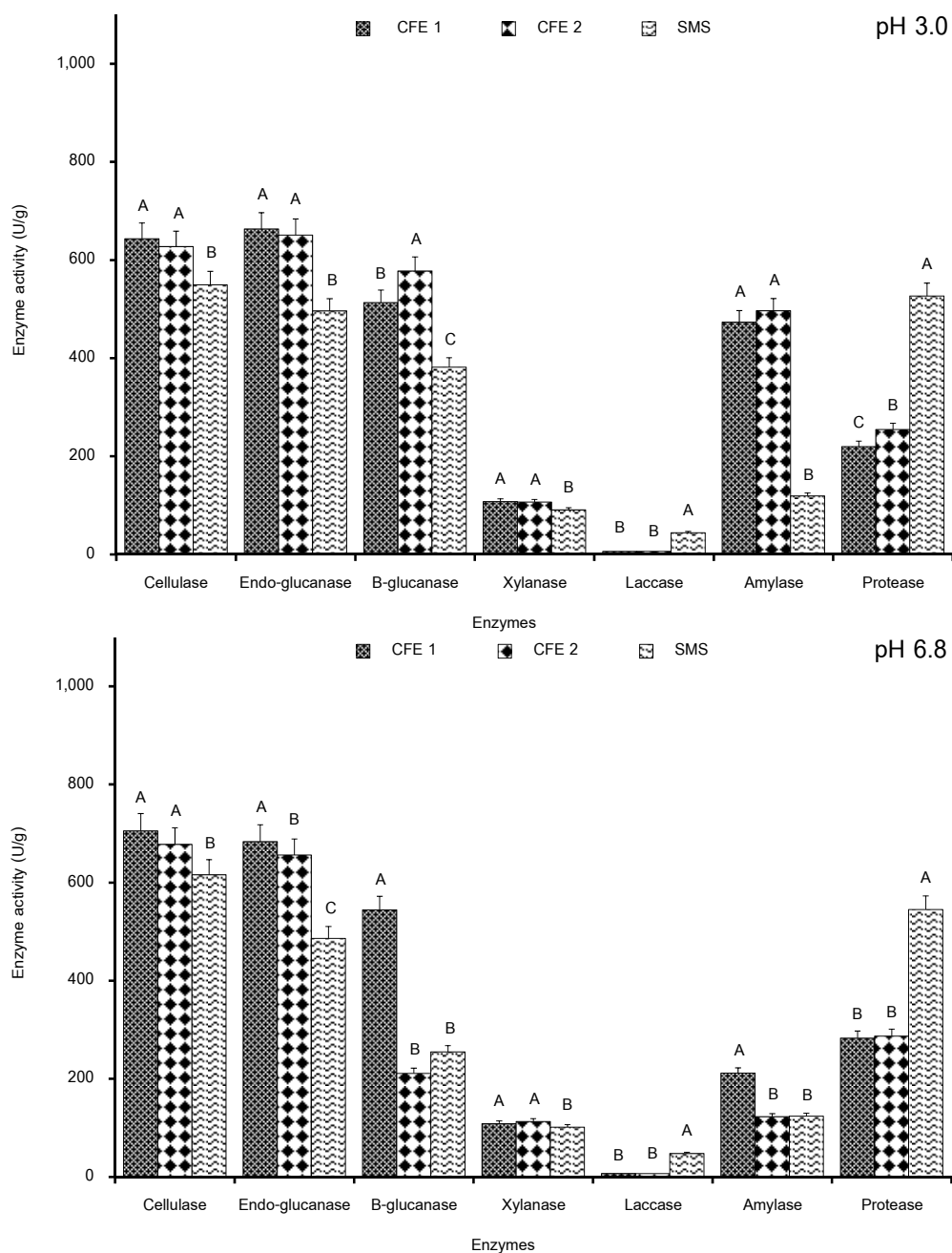


Figure 1 Activity profiles (U/g enzyme) at pH 3.0 and 6.8 of spent mushroom substrate (SMS) produced by *P. ostreatus*, commercial crude enzyme 1 (CFE1), and commercial crude enzyme 2 (CFE2). Mean values with different letters in the same parameter indicate significant differences ($P < 0.05$)

**ผลของเอนไซม์ย่อยเชื้อใยโดยรวมจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมต่อค่าการย่อยได้ในหลอดทดลอง
และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนะในอาหารไก่เนื้อ**

เสริมด้วยเอนไซม์ทางการค้าทั้ง 2 ชนิด และกลุ่มควบคุม 1 เท่า มีค่าการย่อยได้ของโภชนะแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับการเสริมที่ระดับ 2 เท่า ($P < 0.05$) การเสริมวัสดุเพาะเห็ดนางรมในอาหารที่ระดับ

Table 2 *In vitro* digestibility (%) of dry matter (DM), crude protein (CP), crude fibre (CF), ether extract (EE), and ash in broiler diets supplemented with and without enzymes

Parameter	Treatment ^A					
	CON	CFE1	CFE2	SMS 0.5×	SMS 1×	SMS 2×
DM	39.38 ±1.37 ^d	42.37 ±1.83 ^b	43.32 ±2.40 ^b	45.38 ±1.34 ^a	44.13 ±1.64 ^a	45.35 ±2.24 ^a
CP	22.12 ±1.29 ^c	37.58 ±3.38 ^b	37.68 ±1.52 ^b	38.42 ±1.23 ^b	44.56 ±1.53 ^a	44.64 ±2.47 ^a
CF	24.02 ±2.92 ^c	32.29 ±3.47 ^{ab}	31.20 ±1.35 ^b	35.45 ±3.23 ^{ab}	35.64 ±3.24 ^{ab}	37.24 ±3.16 ^a
Ash	24.32 ±1.74 ^c	29.38 ±3.67 ^b	30.42 ±2.32 ^{ab}	30.74 ±2.42 ^{ab}	32.46 ±3.27 ^{ab}	34.63 ±3.02 ^a
EE	22.37 ±1.27 ^b	25.27 ±2.73 ^b	29.57 ±2.47 ^a	28.03 ±2.27 ^a	28.12 ±1.78 ^a	28.78 ±3.93 ^a

Mean values with different letters (^{a-d}) in the same row indicate significant differences among all treatments tested ($P < 0.05$)

^A CON = control, CFE1 = commercial crude enzyme product 1, CFE2 = commercial crude enzyme product 2 (same fibrolytic activity as CFE1), SMS 0.5×, SMS 1×, and SMS 2× = crude fibrolytic enzymes from *P. ostreatus* at 0.5 times (250 U of endo-glucanase/kg diet), 1.0 times (500 U of endo-glucanase /kg diet), and 2.0 times (1,000 U of endo-glucanase /kg diet) of fibrolytic activity to CFE1, respectively

Table 3 Effect of fibrolytic enzyme on CTTAD and AME of broiler diet

Parameter	Treatment ^A					
	CON	CFE1	CFE2	SMS 0.5×	SMS 1×	SMS 2×
Phase 1 (Day 21-28)						
DM	0.686 ±0.005 ^d	0.702 ±0.005 ^c	0.700 ±0.004 ^c	0.722 ±0.004 ^b	0.741 ±0.005 ^a	0.742 ±0.005 ^a
CP	0.680 ±0.006 ^d	0.697 ±0.008 ^c	0.695 ±0.004 ^c	0.724 ±0.002 ^b	0.731 ±0.007 ^{ab}	0.734 ±0.003 ^a
CF	0.233 ±0.019 ^d	0.333 ±1.462 ^c	0.343 ±0.003 ^{bc}	0.362 ±1.061 ^{ab}	0.379 ±0.008 ^a	0.374 ±0.005 ^a
Ash	0.233 ±0.017 ^d	0.264 ±1.383 ^c	0.266 ±1.202 ^c	0.292 ±0.005 ^b	0.332 ±1.162 ^a	0.324 ±1.222 ^a
EE	0.589 ±0.006 ^d	0.617 ±0.006 ^c	0.608 ±0.005 ^c	0.628 ±0.008 ^b	0.642 ±0.004 ^a	0.646 ±0.001 ^a
AME (MJ/Kg)	10.46 ±0.002 ^c	0.121 ±0.26 ^b	12.06 ±0.27 ^b	12.26 ±0.30 ^b	13.25 ±0.17 ^a	13.01 ±0.18 ^a
Phase 2 (Day 35-42)						
DM	0.700 ±0.002 ^d	0.727 ±0.001 ^c	0.729 ±0.005 ^c	0.739 ±0.005 ^b	0.756 ±0.001 ^a	0.757 ±0.004 ^a
CP	0.685 ±0.003 ^e	0.697 ±0.003 ^d	0.718 ±0.003 ^c	0.740 ±0.007 ^b	0.758 ±0.008 ^a	0.753 ±0.006 ^a
CF	0.315 ±0.011 ^c	0.356 ±0.006 ^b	0.353 ±0.006 ^b	0.364 ±0.006 ^b	0.381 ±0.002 ^a	0.386 ±0.015 ^a
Ash	0.262 ±0.004 ^d	0.286 ±0.009 ^c	0.292 ±0.006 ^c	0.317 ±0.009 ^b	0.347 ±0.002 ^a	0.347 ±0.006 ^a
EE	0.608 ±1.291 ^c	0.627 ±0.007 ^c	0.619 ±1.651 ^c	0.646 ±1.332 ^b	0.680 ±0.005 ^a	0.679 ±0.001 ^a
AME (MJ/Kg)	11.03 ±0.15 ^e	12.00 ±0.15 ^d	11.73 ±0.23 ^d	12.99 ±0.26 ^c	14.07 ±0.11 ^a	13.64 ±0.09 ^b

Mean values with different letters (^{a-e}) in the same row indicate significant differences among all treatments tested ($P < 0.05$).

^A CON = control, CFE1 = commercial crude enzyme product 1, CFE2 = commercial crude enzyme product 2 (same fibrolytic enzymes activity as CFE1), SMS 0.5×, SMS 1×, and SMS 2× = crude fibrolytic enzymes from *P. ostreatus* at 0.5 times (250 U/kg diet), 1.0 times (500 U/kg diet), and 2.0 times (1,000 U/kg diet) of fibrolytic activity to CFE1, respectively

วิจารณ์ผล

เชื้อราและเห็ดถือเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้หลายชนิดและผลิตได้ปริมาณที่มาก เอนไซม์ที่ผลิตได้นั้นมีกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิดรวมกัน (Tapingkae *et al.*, 2008) Téllez-Téllez *et al.* (2013) ชี้ให้เห็นว่าเห็ดสกุลนางรม (*Pleurotus* sp.) เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ย่อยเยื่อใยที่มีประสิทธิภาพ กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเยื่อใยที่พบในวัสดุเพาะเห็ดนางรมสอดคล้องกับการศึกษาของ Ko *et al.* (2005) ที่พบกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลส เซลลูเลส เบต้า-กลูคาเนส แลคเคส และไซแลนเนส ในวัสดุเพาะที่เหลือจากการเพาะเห็ดนางรมเช่นกัน เอนไซม์กลุ่มย่อยคาร์โบไฮเดรต (เซลลูเลส เบต้า-กลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส ไซแลนเนส และอะไมเลส) ทำหน้าที่ร่วมกันในการย่อยวัตถุดิบอาหารสัตว์ทั้งส่วนของแป้งและคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่แป้งได้ (Partridge, 2000) การอบตัวอย่างวัสดุเพาะที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 18 ชั่วโมงเป็นกระบวนการแปรรูปที่เหมาะสม กิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเยื่อใยชนิดต่าง ๆ ในตัวอย่างวัสดุเพาะเห็ดไม่เปลี่ยนแปลงระหว่างการอบแห้ง (ผลการทดลองไม่แสดง) เอนไซม์รวม (complex enzymes) จึงเหมาะสมสำหรับการประยุกต์ใช้ในอาหารสัตว์ จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า การเสริมเอนไซม์ย่อยจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมในอาหารไก่เนื้อช่วยปรับปรุงค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองและค่าการย่อยได้ในตัวไก่เป็นผลจากการทำงานร่วมกันของเอนไซม์ย่อยเยื่อใย เริ่มจากเอนไซม์แลคเคสย่อยสลายลิกนินที่เป็นส่วนที่ยึดติดกับเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในส่วนของเปลือกนอกของวัตถุดิบอาหารสัตว์ ทำให้เอนไซม์ย่อยเยื่อใยชนิดอื่นสามารถย่อยผนังเซลล์ของวัตถุดิบอาหารสัตว์ซึ่งส่วนใหญ่เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ไม่ใช่แป้ง ส่งผลให้ลดความหนืดในลำไส้ลดลง ช่วยให้เอนไซม์จากตัวสัตว์สามารถย่อยองค์ประกอบอาหารสัตว์ที่อยู่ภายในได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งยังช่วยลดการหลุดลอกของโปรตีนในลำไส้ การทดสอบค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองมีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับค่าการย่อยได้ในตัวสัตว์ แต่ค่าการย่อยได้ในตัวสัตว์มีผลที่ค่อนข้างดีกว่า สอดคล้องกับการศึกษาของ Meng and Slominski (2005) ที่พบว่า

การเสริมเอนไซม์ย่อยกลุ่มคาร์โบไฮเดรตรวม (multicarbohydrase) ที่ประกอบด้วยเซลลูเลส เพคตินเนส แมนแนนเนส ไซแลนเนส กลูแคนเนส อะไมเลส และโปรตีเอส ในอาหารไก่เนื้อช่วยปรับปรุงค่าการย่อยได้ในตัวสัตว์ (total tract digestibility) ของแป้ง (96.0 vs 97.2%) โปรตีน (79.6 vs 84.0%) และพลังงาน (3,114 vs 3,186 kcal/kg of diet) การเสริมเอนไซม์เซลลูเลสและเฮมิเซลลูเลสช่วยเพิ่มค่าการย่อยได้ในลำไส้เล็กของโปรตีนประมาณร้อยละ 4 (Saleh *et al.*, 2005) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zanella *et al.* (1999) ที่พบว่าการเสริมเอนไซม์รวมที่ประกอบด้วยเอนไซม์ไซแลนเนส อะไมเลส และเอนไซม์โปรตีเอสช่วยปรับปรุงค่าการย่อยได้ในลำไส้เล็กของโปรตีนในไก่เนื้อ กลไกความเกี่ยวข้องระหว่างการเพิ่มขึ้นของค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้กับการเสริมเอนไซม์ยังไม่ชัดเจน อย่างไรก็ตาม Meng and Slominski (2005) ได้อธิบายว่าคาร์โบไฮเดรตที่ถูกย่อยได้โดยเอนไซม์ย่อยเยื่อใยโดยรวมที่มีกิจกรรมของเอนไซม์หลายชนิดทำให้เกิดน้ำตาลอิสระหรือโพลิโกแซคคาไรด์ที่สามารถถูกนำมาใช้สำหรับการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในลำไส้ได้ กรดไขมันระเหยได้ที่เกิดขึ้นถูกใช้โดยไก่และทำให้ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ที่เพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนน่าจะมาจากการย่อยได้และการใช้ประโยชน์ได้ของโภชนาการ การประยุกต์ใช้วัสดุเศษเหลือจากการเพาะเห็ดเป็นเอนไซม์เสริมในอาหารสัตว์กระเพาะเดียวเป็นทางเลือกที่น่าสนใจ นอกจากจะช่วยเพิ่มมูลค่าของวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร ลดต้นทุนการใช้เอนไซม์เสริมในอาหารเหมาะสำหรับเกษตรกร ลดการนำเข้าเอนไซม์จากต่างประเทศ นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงคุณภาพอากาศได้อีกทางหนึ่ง

สรุป

วัสดุเพาะเห็ดนางรมนอกจากจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยเยื่อใย (เซลลูเลส เอนโดกลูคาเนส เบต้า-กลูคาเนส ไซแลนเนส และแลคเคส) ยังพบกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสและโปรตีเอส การเสริมวัสดุเพาะเห็ดสามารถปรับปรุงค่าการย่อยได้ในหลอดทดลองของวัตถุ

แห้ง โปรตีนโดยรวม เยื่อใยโดยรวม ไขมันโดยรวม เถ้า และพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ในตัวสัตว์ เอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากวัสดุเพาะเห็ดนางรมมีศักยภาพสำหรับเป็นแหล่งของเอนไซม์ที่เสริมในอาหารสัตว์

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติสำหรับการสนับสนุนงบประมาณในโครงการ “การประยุกต์ใช้วัสดุเหลือใช้จากการเพาะเห็ดเป็นสารเสริมในอาหารไก่เนื้อ” ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2557 บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่สำหรับการสนับสนุนทุนการศึกษาระดับบัณฑิตแก่ นางสาวสุรรัตน์ ถือแก้ว และสุชาดาพาริม สำหรับความอนุเคราะห์สถานที่ทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

ศุทธิณี ดนตรี สัญญา ทุมตะขบ พิภพ ขำนิวิกย์พงศ์ และ ศุภลักษณ์ หน้อยสุยะ. 2554. การจัดลำดับความสำคัญของพื้นที่เผาจากรั้วมูลเชิงพื้นที่หลายแหล่ง เพื่อการเฝ้าระวังและการป้องกันการเผาในที่โล่งในจังหวัดเชียงใหม่. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์โครงการวิจัยจากแผนงานสร้างเสริมนโยบายสาธารณะที่ดี สถาบันศึกษานโยบายสาธารณะ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุรรัตน์ ถือแก้ว วรณพร ทะพิงค์แก และ มงคล ยะไชย. 2556. ประสิทธิภาพการผลิตและการเปลี่ยนแปลงเอนไซม์ย่อยเยื่อใยจากการเพาะเห็ดนางรมโดยใช้เศษเหลือจากข้าวโพด. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 4: 1(พิเศษ): 51-54.

AOAC. 1995. Official Methods of Analysis, 16th ed. Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.

Ardon, O., Z. Kerem and Y. Hadar. 1996. Enhancement of the laccase activity in liquid cultures of the ligninolytic fungus

Pleurotus ostreatus by cotton stalk extract. Journal of Biotechnology 51: 201-207.

Beauchemin, K. A., D. Colombatto, D. P. Morgavi and W. Z. Yang. 2003. Use of exogenous fibrolytic enzymes to improve feed utilization by ruminants. Journal of Animal Science 81 (E. Suppl. 2): E37-E47.

Boisen, S. 1993. A model for feed evaluation based on *In vitro* digestible dry matter and protein. In: M. F. Fuller (ed.) *In vitro* Digestion of Pigs and Poultry. C.A.B. International, Wallingford Oxon, OX108DE, UK. pp. 135-145.

El-Tayeb, T. S., A. A. Abdelhafez, S. H. Ali and E. M. Ramadan. 2012. Effect of acid hydrolysis and fungal biotreatment on agro-industrial wastes for obtainment of free sugars for bioethanol production. Brazilian Journal of Microbiology 43: 1523-1535.

Ko, H. G., S. H. Park, S. H. Kim, P. H. Gu and W. M. Park. 2005. Detection and recovery of hydrolytic enzymes from spent compost of four mushroom species. Folia Microbiologica 50: 103-106.

Kurt, S. and S. Buyukalaca. 2010. Yield performances and changes in enzyme activities of *Pleurotus* spp. (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*) cultivated on different agricultural wastes. Bioresource Technology 101: 3164-3169.

Meng, X. and B. A. Slominski. 2005. The nutritive value of corn, soybean meal, canola meal or peas for broiler chickens as affected by a multi-carbohydrase preparation of cell wall degrading enzymes. Poultry Science 84: 1242-1251.

Partridge, G. G. 2000. The role and efficacy of carbohydrase enzyme in pig nutrition. In:

- Bedford, M. R. and G. G. Partridge, (eds.), Enzyme in Farm Animal Nutrition. CABI publishing. CABI International, Wallingford, UK.
- Saleh, F., A. Ohtsuka and K. Hayashi. 2005. Effect of dietary enzymes on the ileal digestibility and abdominal fat content in broilers. Journal of Animal Science 76: 475-478.
- Silvana, A., M. J. Pianzzola, M. Soubes and M. P. Cerdeiras. 2006. Biodegradation of agroindustrial wastes by *Pleurotus* spp. for its use as ruminant feed. Electronic Journal of Biotechnology 9: 215-220.
- Tapingkae, W., M. Yachai, W. Visessanguan, P. Pongtanya and P. Pongpiachan. 2008. Influence of crude xylanase from *Aspergillus niger* FAS128 on the *in vitro* digestibility and production performance of piglets. Animal Feed Science and Technology 140: 125-138.
- Téllez-Téllez, M., R. Díaz, C. Sánchez and G. Díaz-Godínez. 2013. Hydrolytic enzymes produced by *Pleurotus* species. African Journal of Microbiology Research 7: 276-281.
- Zanella, I., N. K. Sakomura, H. G. Silversides and A. Figueirdo. 1999. Effect of enzyme supplementation of broiler diets based on corn and soybeans. Poultry Science 78: 561-568.
-