การหมักกากรำข้าวด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าเป็นอาหารเสริมปลานิล

Fermentation of de-oil rice bran by *Pleurotus sajor-caju* for feed supplement in Nile Tilapia

วารีรัตน์ แสนมาโนช

Wareerat Sanmanoch

สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี 34000

Program in Microbiology, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University, Ubon Ratchathani, 34000

Corresponding author: wareerat.s@ubru.ac.th

บทคัดย่อ

การใช้กากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าเป็นอาหารเสริมปลานิล โดยเลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนกากรำข้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อ บ่มที่อุณหภูมิ 35±2 ºC เป็นเวลา 15 วัน และอบแห้งที่ 55 ºC พบว่ากากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้ามีปริมาณโปรตีนละลายและน้ำตาลรีดิวซ์ 89.44±4.33 และ 48.25±1.57 mg/ml ส่วนกากรำข้าวที่ไม่ได้หมักด้วยเส้นใยเห็ดมี 42.82±2.00 และ 136.00±3.19 mg/ml ตามลำดับ เมื่อนำกากรำข้าวทั้งสองชนิดไปทดลองเลี้ยงปลานิล อายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น 80 กรัม โดยแบ่งเป็น 3 กลุ่มทดลอง คือ (T1) อาหารสำเร็จรูปปลาดุกเล็ก (โปรตีน 30%) เสริมด้วยกากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้า 50% (T2) อาหารสำเร็จรูปปลาดุกเสริมด้วยกากรำข้าวที่ไม่ได้หมัก 50% (T3) อาหารสำเร็จรูปปลาดุก เลี้ยงปลาเป็นเวลา 45 วัน พบว่า ปลานิลที่กินอาหาร T1 (31.46±2.48 กรัม) มีน้ำหนักเพิ่มสูงกว่า T2 (12.72±1.07 กรัม) และ T3 (16.43±1.57 กรัม) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อและอัตราการเจริญเติบโตต่อวันของปลานิลที่กินอาหาร T1 วัดได้ 1.36±0.13 และ 0.75±0.07 กรัม/ตัว/วัน ซึ่งให้ผลดีที่สุด ($p<0.05$) เมื่อเทียบกับ T2 และ T3 นอกจากนี้ปลานิลที่กินอาหารทดลอง T1 และ T2 มีอัตราการรอดสูงกว่า T3 ($p<0.05$) ในการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่าการหมักกากรำข้าวด้วยเห็ดนางฟ้าสามารถใช้เป็นอาหารเสริมเลี้ยงปลานิลทำให้ปลามีการเจริญเติบโตดีกว่าการเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว

คำสำคัญ: กากรำข้าว อาหารเสริมปลา เห็ดนางฟ้าภูฐาน ปลานิล

Abstract

The utilization of de-oil rice bran fermented with mycelium of *Pleurotus sajor-caju* for feed supplement in Nile Tilapia was investigated. Mushroom's mycelium was cultured on de-oil rice bran, incubated at 35±2 ºC for 15 days and dried in oven at 55 ºC. The fermented de-oil rice bran with *P. sajor-caju* was evaluated and a result found that soluble protein and reducing sugar were 89.44±4.33 mg/ml and 48.25±1.57 mg/ml, respectively, while those in de-oil rice bran without fermentation were 42.82±2.00 and 136.00±3.19 mg/ml, respectively. After that, two conditions of de-oil rice bran treatment were used to feed Nile Tilapia, 2 months old, with an average weight 80 gram for 60 days. The samples were assigned to three treatments, (T1) commercial catfish feed (30%

protein) combine fermented de-oil rice bran 50%, (T2) commercial catfish feed combine de-oil rice bran 50% and (T3) only commercial catfish feed. The result revealed that body weight of T1 was 31.46±2.48 gram which was significantly ($p<0.05$) higher than T2 (12.72±1.07 gram), and T3 (16.43±1.57 gram). Feed conversion ratio and average daily growth of fish fed T1 treatment were 1.36±0.13 and 0.75±0.07 gram/day which were better ($p<0.05$) than T2 and T3. Moreover, fish from T1 and T2 treatment showed higher survival rate than T3 treatment. In conclusion, de-oil rice bran fermentation with *P. sajor-caju* provided the alternative supplement diet to Nile Tilapia which was better than feeding only commercial feed.

Key words: De-oil rice bran, Feed supplement of fish, Oyster mushroom, Nile Tilapia

บทนำ

กากรำข้าวเป็นผลพลอยได้มาจากการสกัดน้ำมันรำข้าวซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีราคาถูก และในกากรำข้าวมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์มาก เช่น โปรตีน ใยอาหาร วิตามิน เป็นต้น กากรำข้าวยังมีคาร์โบไฮเดรตและเยื่อใยอยู่มากที่ประกอบไปด้วยอะราบิโนไซแลน เฮมิเซลลูโลส (Arabinoxylan Hemicellulose) ซึ่งสามารถนำไปใช้ประโยชน์และผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงได้ (Wongpiyachon and Sukviwat, 2009) ปัจจุบันนิยมนำกากรำข้าวมาใช้ประโยชน์เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงสัตว์เพื่อการเจริญเติบโตที่ดีขึ้น อย่างไรก็ตามอะราบิโนไซแลน เฮมิเซลลูโลส ที่อยู่ในกากรำเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ (polysaccharide) ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่ม heteropolysaccharide ที่ประกอบด้วยน้ำตาลหลายชนิด นอกจากนี้เฮมิเซลลูโลสจัดเป็นเส้นใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ไม่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์และสัตว์กระเพาะเดี่ยว เมื่อนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์คุณค่าทางโภชนะของกากรำข้าวจึงยังไม่ได้ประโยชน์สูงสุด ดังนั้นถ้านำกากรำมาหมักด้วยจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์ย่อยโครงสร้างขององค์ประกอบในกากรำข้าวให้เป็นน้ำตาลและยังได้โปรตีนเพิ่มจากเซลล์จุลินทรีย์ที่เจริญร่วมด้วย เพื่อให้สัตว์สามารถนำสารอาหารเหล่านี้ดูดซึมใช้ในการเจริญต่อไป

เห็ดนอกจากใช้เป็นอาหารแล้ว ยังมีความสำคัญต่อกระบวนการย่อยสลายทางชีวภาพ เนื่องจากเห็ดสามารถผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยสลายโครงสร้างที่ซับซ้อน เช่น เอนไซม์เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ไซลาเนส ลิกนินเนส (Reddy *et al*., 2003) เห็ดนางฟ้า *Pleurotus sajor-caju* (Fr.) Sing. เป็นเห็ดกินได้ที่จัดเป็นเห็ดเศรษฐกิจที่สำคัญที่นิยมรับประทานเป็นอาหารเพื่อสุขภาพ เพราะมีไขมันต่ำ โปรตีนสูงและมีสารสำคัญ เช่น polysaccharide, β-glucan ช่วยในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและยังสามารถใช้เป็นพรีไบโอติก (prebiotic) ในอาหารมนุษย์และอาหารสัตว์ (Chirinang and Intarapichet, 2009; Jabir *et al.* 2012; Ahmed *et al.* 2017) และสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายโครงสร้างที่ซับซ้อนในองค์ประกอบหลักของก้อนเพาะเห็ดได้ เช่น ขี้เลื่อย และรำข้าว เป็นต้น เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตสร้างเส้นใยเป็นดอกเห็ด (fruiting body) ดังนั้นการหมักกากรำข้าวด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าจึงเป็นวิธีที่น่าสนใจในด้านกระบวนการย่ อยสลาย

คาร์โบไฮเดรตกลุ่ม heteropolysaccharide ในกากรำข้าวเพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนะให้กับกากรำข้าว ซึ่งเหมาะสมต่อการนำมาเป็นอาหารสัตว์ต่อไป

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดเศรษฐกิจที่สำคัญของไทย เนื่องจากเป็นที่นิยมในการบริโภคสูงถึงร้อยละ 30 ของการบริโภคปลาทั้งหมดและมีแนวโน้มการบริโภคที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง ปลานิลเป็นอาหารโปรตีนที่มีคุณค่าทางอาหารสูง ไขมันต่ำ เลี้ยงง่าย เจริญเติบโตเร็ว จึงทำให้ปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย ทำให้การเลี้ยงปลานิลมีอัตราการขยายตัวเพิ่มมากขึ้นทุกปี รูปแบบการเลี้ยงในปัจจุบันเริ่มเปลี่ยนเป็นการเลี้ยงแบบหนาแน่นสูง ซึ่งการเลี้ยงรูปแบบนี้มากกว่าร้อยละ 50 ของต้นทุนทั้งหมดมาจากต้นทุนค่าอาหาร (Bureau of agricultural economics research, 2009) ในปัจจุบันราคาอาหารปลามีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้นเนื่องจากปลาป่นที่เป็นวัตถุดิบหลักในสูตรอาหารมีราคาสูงขึ้นและผลิตได้ลดลง จึงมีความพยายามที่จะลดการใช้ปลาป่นในสูตรอาหารสำหรับสัตว์น้ำแทบทุกชนิดลงให้ได้มากที่สุด และใช้อาหารอย่างอื่นทดแทน ซึ่งต้องเป็นอาหารเสริมที่มีราคาถูก ผลิตได้ปริมาณมาก และส่งเสริมการเจริญของปลาได้ดี

ดังนั้นคณะผู้วิจัยได้เห็นความสำคัญในคุณค่าของสารอาหารที่มีอยู่จำนวนมากในกากรำข้าว การนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าให้สูงขึ้นโดยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้มากขึ้นด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน เพื่อนำมาใช้เป็นอาหารเสริมปลานิล เพิ่มทางเลือกที่ดีให้กับเกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิล

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. สถานที่ทดลองเพาะเลี้ยงปลานิลและตัวอย่างปลานิล

Site I สถานที่รับตัวอย่างปลานิลอายุ 2 เดือน จากฟาร์มเลี้ยงปลานิล 1). ประจิม ฟาร์มปลา 104 หมู่ 6 บ้านตำแย ตำบลม่วงสามสิบ อำเภอม่วงสามสิบ จังหวัดอุบลราชธานี 2). อุทัยพันธุ์ปลา 47 หมู่ 11 บ้านตำแย ตำบลม่วงสามสิบ อำเภอม่วงสามสิบ จังหวัดอุบลราชธานี 3). น้องตองฟาร์มปลา 136 หมู่ 6 บ้านตำแย ตำบลม่วงสามสิบ อำเภอม่วงสามสิบจังหวัดอุบลราชธานี

Site II สถานที่ทดลองเพาะเลี้ยงลูกปลานิล ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา สาขาวิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี อำเภอเมือง จังหวัดอุบลราชธานี

2. การเตรียมเส้นใยเห็ดนางฟ้าและกากรำข้าว

2.1 การแยกเส้นใยเห็ดนางฟ้า โดยนำดอกเห็ดนางฟ้าภูฐานมาเช็ดทำความสะอาด 70% ethyl alcohol จากนั้นใช้มือฉีกดอกเห็ดออกเป็น 2 ส่วน แล้วใช้เข็มเขี่ยเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อตัดชิ้นส่วนของเนื้อเยื่อภายในดอกโดยเลือกเนื้อเยื่อระหว่างก้านดอกกับหมวกเห็ด ใช้เข็มเขี่ยเชื้อตัดเนื้อเยื่อติดมาเพียงเล็กน้อย แล้ววางลงในอาหาร Potato dextrose agar (PDA) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นแยกเส้นใยของเห็ดนางฟ้าที่บริสุทธิ์ลงในอาหารหลอดอาหารเอียง PDA

2.2 การเตรียมกากรำข้าวสำหรับกระบวนการหมัก ซึ่งได้กากรำข้าวจากบริษัทสยามฮาร์ทออยล์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด เพื่อหาความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานที่ดีที่สุด โดยชั่งกากรำข้าว 30 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น โดยคิดเป็นร้อยละของน้ำต่อกากรำข้าว 40, 60, 80, 100, 120 และ 140 บรรจุกากรำข้าวลงในขวดขนาด 16 ออนซ์ ปิดขวดบรรจุ แล้วนำไปฆ่าเชื้อด้วยการนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส (ºC) เป็นเวลา 15 นาที

3. การศึกษาการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าบนกากรำข้าว

เลี้ยงเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน โดยนำเส้นใยเชื้อเห็ดเลี้ยงบนจานอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน จากนั้นเจาะชิ้นวุ้นเชื้อเห็ดให้มีเส้นผ่านศูนย์ 8 มิลลิเมตร จำนวน 5 ชิ้น ลงบนกากรำข้าวผสมกับน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 (ความชื้นที่เส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานเจริญบนกากรำได้ดีที่สุด) ที่ฆ่าเชื้อแล้วในข้อ 2.2 บ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 15 วัน เมื่อครบเวลานำกากรำข้าวและเส้นใยเห็ดที่ได้จากการหมักไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 55 ºC เพื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนละลายและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนละลาย ด้วยวิธี Biuret method

ชั่งตัวอย่างกากรำข้าว 5 กรัม ลงใน erlenmeyer flask จากนั้นเติมน้ำกลั่น 95 มิลลิลิตร ปรับพีเอชเป็น 9.5 ด้วย 2 N NaOH ผสมด้วยเครื่อง Magnetic & Stirrer ที่ 600 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาเฉพาะส่วนใส 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติม Biuret solution 4 มิลลิลิตร เขย่าผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 30 นาที ให้ปฏิกิริยาเกิดสมบูรณ์ นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

3.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ วิธี 3,5-dinitrosalicylic acid

ชั่งตัวอย่างกากรำข้าว 1 กรัม บดให้เป็นเนื้อเดียวกัน จากนั้นเติมน้ำกลั่น 9 มิลลิลิตร พักทิ้งไว้ 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาเฉพาะส่วนใส 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 3, 5-dinitrosalicylic acid 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปต้มเป็นเวลา 10 นาที เติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร แช่ในน้ำเย็นทันที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 470 นาโนเมตร

4. การเลี้ยงปลานิลโดยใช้กากรำข้าวหมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน

4.1 การเตรียมสถานที่ เลี้ยงปลานิลในห้องปฏิบัติการ โดยใช้ถังน้ำสแตนเลสขนาด 250 ลิตร จำนวน 9 ถัง น้ำเลี้ยงใช้น้ำประปาที่ระเหยคลอรีนแล้ว เติมน้ำให้มีระดับความสูงของน้ำ 40 เซนติเมตร ให้อากาศโดยใช้แอร์ปั๊มให้มากพอ เปลี่ยนน้ำใหม่วันเว้นวันโดยเหลือน้ำเดิมไว้ร้อยละ 30

4.2 การเตรียมสัตว์ทดลอง นำปลานิล อายุ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 80 กรัมต่อตัว จากฟาร์ม (Site I) จำนวน 140 ตัว แต่เนื่องจากลูกปลามีแหล่งกำเนิดที่ต่างกัน จึงจัดการกระจายลูกปลาแบบสุ่มคละรวมกันให้แต่ละถังโดยไม่กำหนดแหล่งที่มา ด้วยความหนาแน่น 15 ตัวต่อถัง เพื่อมาพักปรับสภาพในถังทดลองเป็นเวลา 2 สัปดาห์ ปรับสภาพให้คุ้นเคยกับอาหารและสถานที่

4.3 การจัดการด้านอาหาร ใช้อาหารปลาดุกเล็ก (ยี่ห้อฟิชเฟิร์ส) เพื่อให้เหมาะต่อการกินอาหารของปลาช่วงอายุ 2-4 เดือน โดยมีระดับโปรตีนในอาหารทดลองประมาณร้อยละ 30 ให้อาหารร้อยละ 2 ของน้ำหนักตัวต่อวัน วันละ 2 ครั้งต่อวัน คือ 09.00 น. และ 16.00 น. ให้ปลาปรับสภาพเป็นระยะเวลา 14 วัน ก่อนเริ่มการทดลอง

4.4 การใช้กากรำหมักเป็นอาหารเสริมในปลานิล ซึ่งอาหารเสริมกากรำข้าวหมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานจะอยู่ในรูปแบบบดผงหยาบให้คล้ายกับการให้กากรำข้าวปกติ เมื่อครบระยะเวลาการปรับตัวจากข้อ 4.3 ปลาจะถูกอดอาหารเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แบ่งกลุ่มการทดลองออกเป็น 3 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ๆ ละ 12 ตัว ดังนี้

กลุ่ม T1 ให้อาหารสำเร็จรูปปลาดุกร้อยละ 50+กากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าร้อยละ 50

กลุ่ม T2 ให้อาหารสำเร็จรูปปลาดุกร้อยละ 50+กากรำข้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อแต่ไม่ได้หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าร้อยละ 50

กลุ่ม T3 ให้อาหารสำเร็จรูปปลาดุก (ชุดควบคุม)

โดยให้อาหารปลานิลร้อยละ 2 ของน้ำหนักปลา วันละ 2 เวลา เลี้ยงปลาเป็นเวลา 45 วัน เมื่อครบกำหนดตรวจวัดดังนี้

1) อัตราการเจริญ อัตราการรอดชีวิตของปลานิล อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (Feed conversion ratio) และอัตราการเจริญเติบโตต่อวันมีหน่วยเป็นกรัมต่อวัน (Average daily growth; gram/days; g/d)

2) ร้อยละของค่าไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียแอบนอมัลลิตีในเม็ดเลือดแดง (Ali *et al.* 2008)

การคำนวณต้นทุนในสูตรอาหารแต่ละสูตรแตกต่างกัน เมื่อกากรำข้าว 2-4 บาทต่อกิโลกรัม หัวเชื้อเห็ดนางฟ้าภูฐานในเมล็ดข้าวฟ่างขวดละ 10 บาท (ใช้เพาะเลี้ยงบนกากรำข้าว 2 กิโลกรัมต่อ 1 ขวด) อาหารสำเร็จรูปปลาดุก 25 บาทต่อกิโลกรัม ดังนั้นอาหารสูตร T1 ใช้ต้นทุนประมาณ 18-20 บาทต่อกิโลกรัม อาหารสูตร T2 มีต้นทุนประมาณ 15-17 บาทต่อกิโลกรัม

4.5 วิเคราะห์ผลการทดลองด้วยวิธีทางสถิติ โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชั่น 20 ตามแบบวิธีการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางเดียว (one-way ANOVA)

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. ผลการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานบนกากรำข้าว

การทดสอบความชื้นของกากรำข้าวที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน โดย คิดเป็นร้อยละของน้ำต่อกากรำข้าว 40, 60, 80, 100, 120 และ 140 และเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 35±2 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วัน พบว่าอัตราส่วนของกากรำข้าวต่อน้ำ 1:1 มีผลต่อการเจริญของเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐานใน กากรำข้าวได้ดีที่สุด เมื่อนำกากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าภูฐาน (อัตราส่วนของกากรำข้าวต่อน้ำ 1:1) มาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนละลายด้วยวิธี Biuret method และวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ด้วยวิธี 3,5-dinitrosalicylic acid พบว่า กากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้ามีปริมาณโปรตีนละลาย เท่ากับ 89.44± 4.33 mg/ml และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 48.25± 1.57 mg/ml ส่วนกากรำข้าวที่นึ่งฆ่าเชื้อแต่ยังไม่ผ่านกระบวนการหมัก (ชุดควบคุม) มีปริมาณโปรตีนละลายเท่ากับ 42.82± 2.00 mg/ml และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 136.00± 3.19 mg/ml ขณะที่อาหารปลาสำเร็จรูปและกากรำข้าว (ไม่ได้นึ่งฆ่าเชื้อ) มีปริมาณโปรตีนละลาย เท่ากับ 127.61±3.08 mg/ml และ 36.47±2.10 mg/ml ตามลำดับ และมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 9.93±0.56 mg/ml และ 16.46±9.06 mg/ml ตามลำดับ (Table 1) ดังนั้นในการหมักกากรำข้าวด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนละลายแต่ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลง ทั้งนี้เมื่อกากรำข้าวมีการปรับสภาพด้วยความร้อนโดยการนึ่งร่วมกับความดันไอน้ำ ซึ่งวัสดุหมักจำเป็นต้องมีการปรับสภาพหรือการไฮโดรไลเสทเพื่อกำจัดลิกนินออกก่อน (Thancharoen, 2014) และช่วยปรับปรุงโครงสร้างซับซ้อนของกากรำข้าวให้หลวมขึ้นและหลุดออกมาในรูปแบบของน้ำตาลรีดิวส์ ส่งผลให้ปริมาณของน้ำตาลรีดิวส์ของกา

กรำข้าวที่นึ่งด้วยความร้อนมีปริมาณเพิ่มขึ้น แต่เมื่อนำมาหมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ลดลงเพราะน้ำตาลรีดิวส์บางส่วนถูกนำไปใช้ในการเจริญของเส้นใยเห็ด

ส่วนปริมาณโปรตีนละลายที่วัดได้อาจเกิดจากเส้นใยเห็ดนางฟ้าและเอนไซม์ที่สร้างขึ้นจากจุลินทรีย์ซึ่งมีส่วนช่วยย่อยสลายโครงสร้างของกากรำข้าว ดังงานวิจัยของ Ranjan *et al.* (2018) ศึกษาการเติมเอนไซม์กลุ่ม exogenous คือ xylanase และ phytase ในการหมักกากรำข้าวเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมของปลายี่สกเทศ (*Labeo rohita*) พบว่าเอนไซม์ดังกล่าวมีผลต่อการสลายโครงสร้างที่ซับซ้อนของกากรำข้าวได้โปรตีนและสารอาหารสำคัญเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปลามีอัตราการเจริญสูงกว่าปลาที่ให้อาหารเสริมกากรำข้าวที่ไม่มีการเติมเอนไซม์ เช่นเดียวกันนี้การเจริญเส้นใยเห็ดบนกากรำข้าวถือเป็นกระบวนการหมักที่ใช้เอนไซม์จากเส้นใยเห็ดที่สร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของการเจริญซึ่งส่งผลให้ปริมาณโปรตีนละลายในกากรำข้าวเพิ่มขึ้นได้ และ Nopparatmaitree *et al.* (2017) รายงานว่าเศษวัสดุเหลือทิ้งเมื่อผ่านกระบวนการเพาะเห็ดมีไขมันรวม พลังงานรวม โปรตีนหยาบ อินทรียวัตถุ แคลเซียมรวม ฟอสฟอรัสรวม และเฮมิเซลลูโลสเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Saenthaweesuk *et al.* (2017) พบว่าไก่ลูกผสมพื้นเมืองไทยกลุ่มที่ได้รับก้อนเห็ดสกุลนางรมเหลือทิ้งที่ร้อยละ 5 มีสมรรถนะต่างๆ ได้แก่ ปริมาณอาหารที่กิน น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น แม้ว่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไม่แตกต่างจากกลุ่มควบคุม จึงมีความสอดคล้องกับงานวิจัยในครั้งนี้เนื่องจากเห็ดที่เจริญในเศษวัสดุสามารถสร้างเอนไซม์ต่าง ๆ มาย่อยสลายเศษวัสดุทำให้เห็ดเจริญเติบโตและเพิ่มปริมาณโปรตีน ทำให้เพิ่มคุณค่าที่จำเป็นต่อการเจริญของสัตว์ได้

Table 1 Total soluble protein and reducing sugar of treatment conditions

Treatment conditions	Total soluble protein (mg/ml)	Reducing sugar (mg/ml)
De-oil rice bran (before streaming)	36.47±2.10 ^{d}	16.46±9.06 ^{c}
De-oil rice bran (after streaming)	42.82± 2.00 ^{c}	136.00± 3.19^{a}
Fermented de-oil rice bran	89.44± 4.33^{b}	48.25± 1.57^{b}
Commercial catfish feed	127.61±3.08 ^{a}	9.93±0.56 ^{d}

^{abc} Mean(+SD) in the same row with a different superscript letter are significantly different ($p<0.05$).

2. ผลของการใช้กากรำข้าวหมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าต่อการเจริญของปลานิล

การตรวจวัดค่าอัตราการเจริญ อัตราการรอด อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน ค่าไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอบนอมัลลิตีในเม็ดเลือดแดง ในกลุ่มการทดลอง (T1) อาหารปลาดุกสำเร็จรูป+กากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าร้อยละ 50, (T2) อาหารดุกสำเร็จรูป+กากรำข้าวที่ไม่ได้หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าร้อยละ 50 และ (T3) ให้อาหารปลาดุกสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว พบว่า T1 มีอัตราการเจริญที่สูงกว่า T2 และ T3 แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) มีอัตราการเจริญโดยวัดได้ 31.46±2.84 กรัม, 12.72±1.07 กรัม และ 16.43±1.57 กรัม ตามลำดับ (Table 2) อัตราการรอดพบว่า T1 T2 และ T3 มีอัตราการรอดร้อยละ 76.67±15.28, 86.67±5.77 และ 36.67±30.55 อีกทั้งอัตราการเปลี่ยนอาหาร

เป็นเนื้อ T1 ให้ผลดีที่สุด รองลงมา T2 และ T3 โดยวัดได้ 1.36±0.13, 3.31±0.29 และ 3.61±0.35 ตามลำดับ (Table 2) อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน T1 มีค่า 0.75±0.07 กรัม/ตัว/วัน ขณะที่ T2 วัดได้เพียง 0.39±0.04 และ T3 วัดได้ 0.30±0.03 กรัม/ตัว/วัน ทั้งนี้ผลของการเจริญเติบโต อัตราการรอดและอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อของปลาที่เลี้ยงด้วยกากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้า (T1) มีผลที่ดีสอดคล้องกัน เพราะปลานิลเป็นปลากลุ่ม omnivorous สามารถกินได้ทั้งพืชและสัตว์และสามารถใช้กลูโคสได้ดี ทำให้ปลากลุ่มนี้สามารถทดแทนพลังงานจากโปรตีนบางส่วนด้วยคาร์โบไฮเดรตในอาหารต่อการเจริญเติบโต (Thepnarong and Phromkunthong, 2018; Singh *et al*., 2006) โดยปลาได้รับพลังงานจากคาร์โบไฮเดรตและไขมันเพียงพอ เป็นการช่วยสงวนการใช้โปรตีนและจะใช้โปรตีนในหน้าที่สำคัญอื่น ๆ ที่สารอาหารคาร์โบไฮเดรตและไขมันทำไม่ได้ นอกจากนี้เส้นใยเห็ดที่มีโปรตีนและสารสำคัญ คือ polysaccharide และ β-glucan ช่วยในการกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและมีคุณสมบัติเป็นพรีไบโอติก (Ahmed *et al.* 2017) ส่งเสริมให้ปลานิลแข็งแรงทนต่อการบาดเจ็บต่อแผลที่เกิดจากการกัดกันในถังเลี้ยง ส่งผลให้ปลาที่กินอาหารเสริมใน T1 มีผลที่ดีกว่าปลาที่ให้อาหารด้วย T2 และ T3 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากงานวิจัยของ Sartori *et al.* (2015) ศึกษาการผลิตเส้นใยเห็ดในกลุ่มเห็ดนางฟ้านางรม *Pleurotus* sp. โดยใช้กากส่าเป็นแหล่งสารอาหารเพื่อเพาะเลี้ยงเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงปลาม้าลาย (*Danio rerio*) พบว่าเส้นใยเห็ด *Pleurotus* sp. สามารถใช้เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงปลาม้าลายได้ ซึ่งเส้นใยเห็ดที่เพาะเลี้ยงจากกากส่ามีการเจริญได้ดีและไม่เป็นพิษต่อปลาม้าลายเมื่อถูกนำไปใช้เป็นอาหารเสริมปลาได้ดีเท่ากับอาหารเสริมปลาชนิดอื่น ๆ ดังนั้นการใช้เส้นใยเห็ดนางฟ้าเป็นอาหารเสริมปลาจึงมีการศึกษาและเป็นที่ยอมรับด้านการส่งเสริมการเจริญของปลาขึ้นอยู่กับวัสดุที่นำมาใช้ในการเลี้ยงเส้นใยเห็ด นอกจากนี้ได้ตรวจค่าการเกิดไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอบนอมัลลิตีในเม็ดแดงอยู่ในระดับปกติทุกชุดการทดลอง ซึ่งวัดได้ร้อยละ 2.06±0.23, 1.94±0.54 และ 4.04±0.77 ตามลำดับ (Table 2) นั่นหมายถึงอาหารเสริมที่ใช้ในการทดลองไม่เป็นสารก่อกลายพันธุ์และไม่มีความเป็นพิษต่อปลานิล โดยค่าการเกิดไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอบนอมัลลิตีในเม็ดแดงที่วัดได้ต้องไม่เกินร้อยละ 10 เมื่อเทียบกับเม็ดเลือดแดงของปลานิลที่กินอาหารปลาปกติ จากงานวิจัยสัตว์น้ำที่ได้รับสารโลหะหนักหรือสารก่อกลายพันธุ์บางชนิด (Kousar and Javed, 2015; Chantharasophon *et al*., 2017) จะส่งผลให้เกิดไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอบนอมัลลิตีในเม็ดแดงของสัตว์น้ำ โดยลักษณะของเม็ดเลือดแดงที่เกิดความผิดปกตินั้นมีลักษณะที่ทำให้เกิดการกลายพันธุ์ทำลายโครโมโซมให้ขาดออกจากกันได้หรือมีลักษณะที่ผิดปกติไปจากเดิมปริมาณมาก ดังนั้นกากรำข้าวที่หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าจึงไม่มีผลในการเหนี่ยวนำให้เกิดนิวเคลียสแอบนอมัลลิตีในเม็ดเลือดแดงของปลานิลไม่ส่งผลให้เกิดการกลายพันธุ์ในปลานิล

Table 2 Growth performances including total weight gain, survival rate, average daily growth and micronucleus & nuclear abnormalities in red blood cells of Nile Tilapia fed with de-oil rice bran fermented with mushroom after 60 days

Treatment*	T1	T2	T3
Weight gain (g)	31.46±2.84[a]	12.72±1.07[b]	16.43±1.57[b]
Survival Rate (%)	76.67±15.28[a]	86.67±5.77[a]	36.67±30.55[b]
Feed conversion ratio	1.36±0.13[a]	3.31±0.29[b]	3.61±0.35[b]
Average daily growth (g/d)	0.75±0.07[a]	0.30±0.03[b]	0.39±0.04[b]
Micronucleus & Nuclear abnormalities (%)	2.06±0.23[a]	1.94±0.54[a]	4.04±0.77[b]

[abc] Mean(±SD) in the same row with a different superscript letter are significantly different ($P<0.05$)

*T1 = Commercial catfish feed 50%+ fermented de-oil rice bran 50%

T2 = Commercial catfish feed+ de-oil rice bran (after streaming)

T3 = Commercial catfish feed (control)

สรุปผลการทดลอง

การหมักกากรำข้าวด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้า ทำให้ได้ผลผลิตที่มีปริมาณโปรตีนละลายสูงกว่ากากรำข้าวที่ไม่ได้ผ่านการหมักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อนำกากรำข้าวทั้งสองชนิดที่หมักและไม่ได้หมักด้วยเส้นใยเห็ดนางฟ้าเสริมร่วมกับอาหารปลาดุกสำเร็จรูปร้อยละ 50 ไปทดลองเลี้ยงปลานิลอายุ 2 เดือน พบว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมกากรำข้าวหมักด้วยเส้นใยเห็ด มีน้ำหนักเพิ่ม อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อดีกว่าปลานิลที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมกากรำข้าวที่ไม่ได้ผ่านการหมัก และอาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และไม่ก่อการกลายพันธุ์ ไม่ทำให้เกิดไมโครนิวเคลียสและนิวเคลียสแอบนอมัลลิตีในเม็ดเลือดแดงของปลานิล ดังนั้นเส้นใยของเห็ดนางฟ้าที่เจริญบนกากรำข้าวสามารถใช้เป็นอาหารเสริมในการเลี้ยงปลานิลได้ดีกว่าการใช้อาหารสำเร็จรูปเพียงอย่างเดียว

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยเรื่องนี้ได้รับเงินสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการวิจัย สำหรับคณาจารย์และบุคลากร จากงบประมาณเงินรายได้ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบราชธานี ประจำปีงบประมาณ 2560

เอกสารอ้างอิง

Ahmed, M., Abdullah, N., Shuib, A.S., and Razak, S.A. 2017. Influence of raw polysaccharide extract from mushroom stalk waste on growth and pH perturbation induced-stress in Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Aquaculture 468 (1): 60–70.

Ali, D., Nagpure, N.S., Kumar, S., Kumar, R. and Kushwaha, B. 2008. Genotoxicity assessment of acute exposure of chlorpyrifos to freshwater fish *Channa punctatus* (Bloch) using micronucleus assay and alkaline single-cell gel electrophoresis. Chemosphere, 71:1823-1831.

Bureau of Agricultural Economics Research. 2009. Production and marketing potential of Tilapia. Ministry of Agriculture and Cooperatives: Agricultural Economics Research No. 119. Bankok. 53 p. [in Thai]

Chantharasophon, K., Prawottana, S., and Chantharasophon, S. 2017. The use of *Bacillus amyloliquefaciens* KJ720206 and soy as probiotics in Nile tilapia. Journal of Fisheries Technology Research. 11(1): (inpress) [in Thai]

Chirinang, P., and Intarapichet, K. 2009. Amino acids and antioxidant properties of the oyster mushrooms, *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju*. Science Asia 35 (1): 326–331.

Jabir, M.D.A.R., Razak, S.A. and Vikineswary, S. 2012. Effect of Mushroom Supplementation as a Prebiotic Compound in Super Worm Based Diet on Growth Performance of Red Tilapia Fingerlings. Sains Malaysiana 41: 1197-1203.

Kousar, S. and Javed, M. 2015. Studies on Induction of Nuclear Abnormalities in Peripheral Blood Erythrocytes of Fish Exposed to Copper. Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences 15: 879-886

Nopparatmaitree, M., Seanpoom, P., Panthong, A., and Kitpipit, W. 2017. Nutritive Value and Modified Byproduct from Mushroom Cultivation as Feedstuff. Khon Kaen Agiculture Journal. 45(1): 715-721. [in Thai]

Ranjan, A., Sahu, N.P., Deo, A.D., Kumar, H.S., Kumar, S., and Jain, K.K. 2018. Comparative evaluation of fermented and non-fermented de-oiled rice bran with or without exogenous enzymes supplementation in the diet of *Labeo rohita* (Hamilton, 1822). Fish Physiol Biochem. 44:1037-1049.

Reddy, G.V., Babu, P.R., Komaraiah, P., Roy, K.R.R.M., and Kothari, I.L. 2003. Utilization of banana waste for the production of lignolytic and cellulolytic enzymes by solid substrate fermentation using to *Pleurotus* species (*P. ostreatus* and *P. sajor-caju*). Process Biochem. 38: 1457-1462.

Saenthaweesuk, N., Chumpawadee, S., Chaikong, C., Ruangwittayanusorn, K., Thamwan, Chanyuth., Sakwiwatkul, K. and Thumpala, W. 2017. Efficacy of spent oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) substrate in Thai native cross bred chicken diet. Khon Kaen Agiculture Journal. 45(1): 665-670. [in Thai]

Sartori, S.B., Ferreira, L.F.R., Messias, T.G., Souza, G., Pompeu, G.B., and Monteiro, R.T.R. 2015. Pleurotus biomass production on vinasse and its potential use for aquaculture feed. Mycology. 6(1): 28-34.

Singh, R.K., Balange, A.K. and Ghughuskar, M.M. 2006. Protein sparing effect of carbohydrates in the diet of *Cirrhinus mrigala* (Hamilton, 1822) fry. Aquaculture. 258(1-4): 680-684.

Thancharoen, K. 2014. Utilization of Water hyacinth Produced Cellulase from Thermotorelant Bacteria. Pawarun Agriculture Journal. 11(2): 159-166. [in Thai]

Thepnarong, K., and Phromkunthong, W. 2018. Partial energy replacement of protein with carbohydrate in diets of hybrid catfish. Thai Journal of Science and Technology, Thammasat University. 25 (2): 267-277. [in Thai]

Wongpiyachon, S., and Sukviwat, W. 2009. Snack bar of puffed rice with defatted rice bran. Thai Rice Research Journal (Thailand). 3 (2): 48-56. [in Thai]