

ประสิทธิภาพของถั่วเหลืองป่นหมักเชื้อราท้องถิ่น *Aspergillus niger*

ในอาหารผสมต่อการเจริญเติบโตของปลานิลแดง

Efficiency of Fermented Soybean meal by Indigenous Fungi *Aspergillus niger*

In Formulated Diets on Growth Performances in Red Tilapia

(*Oreochromis niloticus mossambicus*)

วรวิฑูฒิ เกิดปราง* และปรีดา ภูมิ

Worawut Koedprang and Preeda Phumee

สาขาเทคโนโลยีการประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง
Department of Fisheries Technology, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology
Srivijaya, Trang Campus

*Corresponding author E-mail: worawut2000@hotmail.com

บทคัดย่อ

เชื้อรา *Aspergillus niger* เป็นราที่พบได้โดยทั่วไปในสภาพแวดล้อม และมีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับเชื้อรา *A. oryzae* ซึ่งสามารถทำลายสารต้านโภชนะในวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำได้ จึงมีแนวความคิดที่จะนำเชื้อรา *A. niger* ท้องถิ่นที่รวบรวมได้จากพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมาใช้ในการหมักถั่วเหลืองป่นเพื่อลดปริมาณสารต้านโภชนะและผสมในอาหารปลานิลแดง โดยผลิตอาหารเม็ดชนิดจมน้ำปริมาณโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้โปรตีนจากปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์ และถั่วเหลืองป่น 15 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารสูตรควบคุม (D1) และแทนที่โปรตีนจากถั่วเหลืองป่นด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมัก 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ (D2-D5) เลี้ยงปลานิลแดงขนาดเริ่มต้น 12.33-12.45 กรัม ในถังทรงกลมปริมาณน้ำ 350 ลิตร จำนวนถังละ 10 ตัว ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ ให้อาหารจนอิ่มวันละ 2 ครั้ง เป็นเวลา 8 สัปดาห์ เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่า น้ำหนักความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน สัดส่วนที่บริโภคได้ ดัชนีตับ และต้นทุนการผลิตปลาต่อกิโลกรัม ของทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ขณะที่พบความแตกต่างของอัตราการกินอาหาร และการใช้โปรตีนสุทธิ ระหว่างชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยพบว่าอาหารที่ใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมัก 100 เปอร์เซ็นต์ (D5) มีต้นทุนการผลิตที่ต่ำที่สุดถึงแม้ว่าจะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นการใช้ถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อรา *A. niger* สามารถทดแทนถั่วเหลืองป่นในอาหารปลานิลแดงได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลานิลแดง แต่ส่งผลให้ต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตปลา 1 กิโลกรัมลดลง จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะช่วยให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลานิลแดงลดต้นทุนการผลิตปลาได้

คำสำคัญ : เชื้อราท้องถิ่น ถั่วเหลืองป่นหมัก ปลานิลแดง

Abstract

Aspergillus niger is a fungus and commonly found in environment. Its property is similar to *A. oryzae*, which can reduce antinutritional substances. The utilization of indigenous *A. niger* from aquaculture area to improve the quality of soybean meal by fermentation and replacement in Red tilapia diet was studied. Tilapia sinking diets with 35% of protein were formulated. Sources of protein in diets were composed of 20% of protein from fish meal (FM) and 15% of protein from soybean meal (SM) in control diet (D1). The SM was replaced by fermented soybean meal (FSM) at 25, 50, 75 and 100% of SM protein (D2-D5). An initial weight of juvenile Red tilapia was 12.33-12.45 g. The 10 fish were stocked in 350 L cylinder container with triplicate groups. Each diet was fed *ad libitum* twice a day for 8 weeks. The results presented that, the final weight, total length, specific growth rate, survival rate, feed conversion ratio, protein efficiency ratio, carcass percentage, hepatosomatic index and product capital showed no significant differences ($P>0.05$) while the significant differences ($P<0.05$) were found on feed intake and net protein utilization of Red tilapia. The level of 100% of fermented soybean meal protein replacement performed the lowest product capital, although it was not statistically significant difference. Therefore, 100% of *A. niger* fermented soybean meal can replace soybean meal in Red tilapia diet without reduction of growth and survival rates while product capital (baht/kg of fish) was reduced. The *A. niger* fermented soybean meal is alternative protein source for cost reduction of Red tilapia farmer.

Keywords: Indigenous *Aspergillus niger*, Fermented soybean meal, Red tilapia

คำนำ

ปลานิลเป็นปลาเศรษฐกิจที่ได้รับความนิยมของผู้บริโภคและได้มีการเพาะเลี้ยงกันอย่างแพร่หลาย ผลผลิตจากการเลี้ยงปลานิลซึ่งรวมถึงปลานิลแดง ในปี 2557 มีปริมาณ 189,900 ตัน คิดเป็น 45.70 เปอร์เซ็นต์ของการผลิตสัตว์น้ำจืดของประเทศไทย (DOF, 2016) โดยปัจจัยที่สำคัญในการเลี้ยงปลานิลแดงประการหนึ่งคืออาหาร คิดเป็นต้นทุนประมาณ 50-70 เปอร์เซ็นต์ของทุนการผลิต ซึ่งมีการใช้ปลาป่นเป็นวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนหลักในอาหาร สภาวะปัจจุบันปริมาณการผลิตปลาป่นมีไม่เพียงพอต่อความต้องการใช้ปลาป่นในอุตสาหกรรมการเลี้ยงสัตว์และการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำส่งผลให้ปลาป่นขาดแคลนและทำให้ราคาของปลาป่นเพิ่มสูงขึ้นตามความต้องการของตลาด อาหารสัตว์น้ำจึงมีราคาสูงขึ้นตามไปด้วย (Hardy, 2010) กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบที่เป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่นิยมนำมาใช้ทดแทนการใช้ปลาป่นอย่างกว้างขวาง แต่เนื่องจากกากถั่วเหลืองมีสารต้านโภชนะ (antinutritional factors; ANFs) หลายชนิด ได้แก่ trypsin inhibitors, lectins, phytic acid, saponins, phytoestrogens, antivitamins, allergens (Francis *et al.*, 2001) และสาร oligosaccharides ที่มีผลต่อการลดอัตราการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้สารอาหารในสัตว์

(Anderson *et al.*, 1979) ทำให้ใช้กากถั่วเหลืองในอาหารสัตว์ได้ในปริมาณจำกัด ดังเช่นการศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองในอาหารสัตว์น้ำ ได้แก่ Wee and Shu (1989) ใช้กากถั่วเหลืองทดแทนปลาป่นในอัตรา 55 เปอร์เซ็นต์ในอาหารปลานิล มีผลให้การเจริญเติบโตลดลง Reigh and Ellis (1992) ใช้กากถั่วเหลืองที่สกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายทดแทนปลาป่น 53 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารปลา Red drum มีผลให้อัตรากារกินอาหารและการเจริญเติบโตลดลง อัตราการตายสูงขึ้น ขณะที่ Romarheim *et al.* (2008) และ Merrifield *et al.* (2009) รายงานการใช้กากถั่วเหลืองในอาหารปลาเรนโบว์เทราท์ (Rainbow trout) มีผลให้สัณฐานวิทยาของลำไส้เปลี่ยนแปลงไป เช่นเดียวกับที่ Bakke-McKellep *et al.* (2007) รายงานการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อของลำไส้ในปลาแอตแลนติกแซลมอน (Atlantic salmon)

การกำจัดสารต่อต้านโภชนะในวัตถุดิบอาหารมีด้วยกันหลายวิธี เช่น การให้ความร้อน (Barrows *et al.*, 2007) การให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งความดัน 15-30 นาที สามารถลดปริมาณของ trypsin inhibitors ในกากถั่วเหลืองให้ต่ำกว่าระดับวิกฤตได้ (Norton, 1991) การใช้ความร้อนร่วมกับตัวทำละลายเพื่อสกัดเฉพาะโปรตีนชั้นจากถั่วเหลือง (Cheeke and Shull, 1985) การใช้รังสีอินฟราเรด (Gomes *et al.*, 1995) แต่ Francis *et al.* (2001) กล่าวว่าการใช้ความร้อนควรกระทำอย่างระมัดระวัง เนื่องจากความร้อนนอกจากจะทำลายสารต้านโภชนะต่าง ๆ แล้ว ยังมีผลต่อคุณภาพของสารอาหารในวัตถุดิบอาหารด้วย เช่น การทำให้โปรตีนเสียสภาพและการเสื่อมสภาพของกรดอะมิโนไลซีนส่งผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้ลดลง นอกจากการกำจัดสารต้านโภชนะด้วยวิธีที่กล่าวข้างต้นแล้ว การหมักด้วยจุลินทรีย์ (fermentation) เป็นอีกวิธีที่สามารถลดปริมาณสารต้านโภชนะจากถั่วเหลืองได้ (Francis *et al.*, 2001) แบคทีเรียจะใช้น้ำตาลจากพืชโดยการย่อยเซลลูโลสและคาร์โบไฮเดรตให้มีโมเลกุลเล็กลงเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานและสร้าง volatile fatty acids (VFAs) เช่น กรดอะซิติก กรดแลคติก และกรดโปรปิโอนิก เป็นต้น (Moran, 2005; Chiba *et al.*, 2005) โปรตีนจะถูกย่อยกลายเป็นกรดอะมิโน (Allagheny *et al.*, 1996) และช่วยลดสารต้านโภชนะในวัตถุดิบอาหารจากผลของกรดแลคติก (Cruz *et al.*, 2011: online) การศึกษาของ Hong *et al.* (2004) พบว่าการใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* หมักถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองทำให้ขนาดโมเลกุลเปปไทด์ (peptide) มีขนาดเล็กลง ส่งผลทำให้มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถกำจัดสาร trypsin inhibitors และทำให้ขนาดของเปปไทด์ที่น้อยกว่า 20 kDa มีปริมาณมากขึ้น และลดปริมาณเปปไทด์ขนาดมากกว่า 60 kDa นอกจากนี้เชื้อรา *A. oryzae* สามารถใช้ในการหมักกากถั่วเหลืองเพื่อใช้ในการเลี้ยงสัตว์น้ำแล้ว เชื้อรา *A. niger* เป็นเชื้อราอีกชนิดหนึ่งที่มีคุณสมบัติคล้ายคลึงกับ *A. oryzae* ดังรายงานคุณสมบัติในการสร้างสารต่าง ๆ ของ *A. niger* ได้แก่ protease (Yang and Lin, 1998; Couri *et al.*, 2000) cellulase (Couri *et al.*, 2000; Kang *et al.*, 2004) hemicellulases (Kang *et al.*, 2004) lipase (Mahadik *et al.*, 2002) phytase (Ahmad *et al.*, 2000; Mandviwala and Khire, 2000; Casey and Walsh, 2003) และ tannase (Aguilar *et al.*, 2001) เป็นต้น และเชื้อรา *A. niger* ยังเป็นเชื้อราที่มีความปลอดภัย มีการนำมาใช้ในการผลิต extracellular เอนไซม์ และกรดซิตริก เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร และได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาของสหรัฐอเมริกา (Schuster *et al.*, 2002)

ขณะที่พื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมงมีการสำรวจชนิดของจุลินทรีย์ท้องถิ่น เพื่อการนำมาใช้ประโยชน์ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำตามหลักเกษตรธรรมชาติซึ่งยึดหลักการใช้ประโยชน์จากทรัพยากรในท้องถิ่น ลดการนำเข้าวัตถุดิบในการผลิตจากภายนอก รวมถึงการใช้จุลินทรีย์ที่พบในพื้นที่เพื่อประโยชน์ที่ยั่งยืน ป้องกันการปนเปื้อนหรือการรุกรานจากจุลินทรีย์ต่างถิ่น พบเชื้อรา *A. niger* กระจายอยู่ในบริเวณพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Koedprang and Chalad, 2015) จากคุณสมบัติของเชื้อรา *A. niger* ที่กล่าวข้างต้น จึงได้ศึกษาการนำเชื้อรา *A. niger* ท้องถิ่นในการหมักถั่วเหลืองสำหรับเป็นวัตถุดิบในการผลิตอาหารศึกษาการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลานิลแดง เพื่อเป็นการปรับปรุงคุณภาพของวัตถุดิบอาหารให้มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ของปลานิลแดง และส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตปลานิลแดง อีกทั้งยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับสัตว์น้ำอื่น ๆ ต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

การเตรียมถั่วเหลืองป่นหมักโดยใช้เชื้อรา *Aspergillus niger* ที่เก็บได้จากพื้นที่เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจัด คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง จังหวัดตรัง ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ให้เส้นใยเจริญเต็มอาหารเลี้ยงเชื้อและการสร้างสปอร์เพียงพอสำหรับการหมักถั่วเหลือง จากนั้นผลิตหัวเชื้อถั่วเหลืองป่นหมัก โดยดัดแปลงวิธีการหมักของ Yamamoto *et al.* (2010) และ Kim *et al.* (2009) โดยบดถั่วเหลืองให้ละเอียด เติมน้ำกลั่น 30 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนัก เพื่อเพิ่มความชื้นในถั่วเหลืองป่น ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 30 นาที นึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ทิ้งให้เย็นและเติมเชื้อรา *A. niger* บ่มที่อุณหภูมิห้องจนเส้นใยเจริญเต็ม นำไปใช้เป็นหัวเชื้อสำหรับหมักถั่วเหลืองป่นต่อไป การหมักถั่วเหลืองป่นเพื่อใช้ในการผลิตอาหารปลานิลแดง โดยใช้หัวเชื้อต่อถั่วเหลืองป่นในอัตรา 1:9 บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง หยุดกิจกรรมของเชื้อราโดยการนำถั่วเหลืองป่นหมักแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองป่นหมักและไม่หมักได้แก่ ปริมาณโปรตีน ด้วยวิธี Kjeldahl ไขมัน ด้วยวิธี Soxhlet ความชื้น และเถ้า (AOAC, 1990) คำนวณสูตรและผลิตอาหารผสมชนิดจมน้ำที่มีปริมาณโปรตีน 35 เปอร์เซ็นต์ ใช้โปรตีนจากปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์ และถั่วเหลืองป่นที่ไม่ผ่านการสกัดน้ำมัน 15 เปอร์เซ็นต์ในสูตรอาหารควบคุม (D1) และทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมัก ที่ระดับ 25, 50, 75 และ 100 เปอร์เซ็นต์ ในสูตรอาหาร D2-D5 (Table 1) อาหารที่ผลิตได้เก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณค่าทางอาหารของอาหารแต่ละสูตรตามวิธีการของ AOAC (1990)

ทดสอบประสิทธิภาพของอาหารโดยเลี้ยงปลานิลแดงในถังทรงกลม ปริมาตรน้ำ 350 ลิตร และให้อากาศตลอดเวลา คัดเลือกปลานิลแดงขนาดประมาณ 8 เซนติเมตร จำนวนหน่วยการทดลองละ 10 ตัว ซึ่งน้ำหนักของปลาแต่ละหน่วยการทดลอง โดยแบ่งเป็น 5 ชุดการทดลอง ๆ ละ 3 ตัว ให้อาหารวันละ 2 เวลา เช้าและเย็น โดยให้ปลากินอาหารจนอิ่มและเหลือเศษอาหารน้อยที่สุด ดูตะกอนก้นถังก่อนให้อาหารมื้อเช้าและเปลี่ยนถ่ายน้ำทุก 2 วัน เพื่อควบคุมการเปลี่ยนแปลงคุณภาพน้ำ เลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ทำการชั่งน้ำหนักทุก 2 สัปดาห์ และบันทึกปริมาณอาหารที่ปลากิน เพื่อใช้คำนวณการเจริญเติบโตจำเพาะ

(specific growth rate; SGR) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio; PER) และคำนวณ อัตราการกินอาหาร (feed intake; FI) และอัตราแลกเนื้อ (feed conversion ratio; FCR) ตรวจนับจำนวนปลา เพื่อหาอัตราการรอดตาย (survival rate; SR) วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลาก่อนและหลังการทดลองเพื่อ คำนวณการใช้โปรตีนสุทธิ (net protein utilization; NPU) เก็บตัวอย่างปลาจำนวน 5 ตัว จากแต่ละหน่วย ทดลอง เพื่อชั่งน้ำหนักของเนื้อปลาและตับเปรียบเทียบกับน้ำหนักตัว เพื่อคำนวณค่าสัดส่วนที่บริโภคได้ (carcass percentage) และค่าดัชนีตับ (hepatosomatic index; HSI) นำตัวอย่างเนื้อปลามาเพาะเชื้อบน อาหาร PDA เพื่อดูปริมาณเชื้อราในเนื้อปลา ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดด้วยการวิเคราะห์ความแปรปรวน แบบ 1 ปัจจัย ตามแผนการทดลอง แบบ CRD (One-way Analysis of Variance in Complete Randomize Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

Table 1 Composition, proximate analysis and cost of the experimental Red tilapia diets

Ingredients (%)	Experimental diets				
	D1(0)	D2(25)	D3(50)	D4(75)	D5(100)
FM (73% CP)	27.40	27.40	27.40	27.40	27.40
SM (50% CP)	30	22.50	15.00	7.50	0.00
FSM (45% CP)	0	8.33	16.67	25.00	33.33
Rice Bran	12	12	12	12	12
Palm oil	4	4	4	4	4
Rice Starch	22.60	21.77	20.93	20.10	19.27
Vitamin Mix	1	1	1	1	1
Mineral Mix	1	1	1	1	1
CMC	2	2	2	2	2
Proximate composition (% dry matter)					
Protein	35.51	35.53	35.59	35.56	35.52
Lipid	13.36	13.22	13.35	13.22	13.23
Ash	12.66	12.68	12.73	12.73	12.71
Moisture	6.58	6.53	6.60	6.68	6.58
Energy (MJ/Kg)	18.43	18.49	18.40	18.43	18.59
Diet Cost (Baht/kg)	29.69	29.32	28.95	28.58	28.21

Remark : In 1 kg of Vitamin Mix consist of vitamin A 10,000,000 IU, D3 2,000,000 IU, E 1,500 IU, thiamine 2 gm, riboflavin 2.5 gm, pantothenic acid 14 gm, pyridoxine 2 gm, cyanocobalamin 10 mg, folic 0.5gm, niacin 12 gm, K₂ 2 gm and C 20 gm. In 1 kg of Mineral Mix consist of Ca 100,000 mg, P 80,000 mg, Cu 2,500 mg, Fe 1,200 mg, Mn 1,200 mg, Zn 1,540 mg, K 260 mg, I 740 mg, Mg 2,160 mg, Se 10 mg and Co 240 mg.

ผลการวิจัย

ผลการเลี้ยงปลานิลแดงด้วยอาหารผสมที่ใช้ถั่วเหลืองปนหมักแทนถั่วเหลืองปนปกติ พบว่าเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงระยะเวลา 8 สัปดาห์ ค่าการเจริญเติบโตเฉลี่ย ประกอบด้วย น้ำหนักระหว่าง 59.57-60.80 กรัม (Table 2) ความยาวระหว่าง 14.70-15.27 เซนติเมตร และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ระหว่าง 2.80-2.82 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน (Table 2) และค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารเฉลี่ย ประกอบด้วย อัตราการกินอาหาร (FI) ระหว่าง 68.03-76.11 กรัมต่อตัว อัตราแลกเนื้อ (FCR) ระหว่าง 1.42-1.61 ประสิทธิภาพการใช้อาหาร (PER) ระหว่าง 1.74-1.97 และการใช้โปรตีนสุทธิ (NPU) ระหว่าง 28.43-31.31 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) ปริมาณโปรตีนในเนื้อปลา เฉลี่ยระหว่าง 94.16-94.42 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้ง ค่าสัดส่วนที่บริโภคได้ (carcass) เฉลี่ยระหว่าง 35.19-35.99 เปอร์เซ็นต์ และดัชนีตับ (HSI) เฉลี่ยระหว่าง 2.00-2.08 เปอร์เซ็นต์ (Table 2) ซึ่งพบว่าน้ำหนัก ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตรารอดตาย อัตราแลกเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้อาหาร โปรตีน สัดส่วนที่บริโภคได้ และดัชนีตับ ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ในทุกสูตรอาหาร แต่พบว่าปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่ใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองปนหมักในสูตรอาหาร 50-100 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากถั่วเหลืองปนปกติ (D3-D5) มีอัตราการกินอาหาร (FI) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่ได้ผสมด้วยถั่วเหลืองปนหมัก (D1) และทดแทนถั่วเหลืองปนหมัก 25 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากถั่วเหลืองปกติ (D2) และค่าการใช้โปรตีนสุทธิ (NPU) ของปลานิลแดงที่ได้รับอาหารที่ทดแทนด้วยถั่วเหลืองมีหมัก 100 เปอร์เซ็นต์ (D5) มีค่าประสิทธิภาพการใช้อาหารโปรตีนสูงที่สุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น (Table 2) เมื่อคำนวณราคาอาหาร (diet cost) มีราคาระหว่าง 28.21-30.05 บาทต่อกิโลกรัม โดยราคาอาหารลดลงตามสัดส่วนการทดแทนด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองปนหมักที่เพิ่มขึ้น และต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลานิลแดง 1 กิโลกรัม (product capital) มีราคาระหว่าง 40.13-47.80 บาท โดยต้นทุนค่าอาหารลดลงตามสัดส่วนการทดแทนด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองปนหมักที่เพิ่มขึ้น แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตปลานิลแดง 1 กิโลกรัมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ดังแสดงใน Table 2 และไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อรา *A. niger* ในเนื้อปลานิลแดงที่ได้เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองปนหมัก

Table 2 Growth performance, survival rate, feed utilization, product capital (\pm SE) of Red tilapia affected by proportion of fermented soybean meal in the diets at 8th week

Performances	D1	D2	D3	D4	D5
Initial weight (g)	12.45 \pm 0.01a	12.34 \pm 0.02a	12.42 \pm 0.04a	12.37 \pm 0.03a	12.38 \pm 0.06a
Final weight (g)	60.80 \pm 2.48a	59.57 \pm 3.06a	60.34 \pm 1.61a	59.90 \pm 1.37a	60.03 \pm 2.38a
Initial length (cm)	8.97 \pm 0.07a	8.88 \pm 0.08a	8.97 \pm 0.10a	8.89 \pm 0.09a	8.76 \pm 0.08a
Final length (cm)	15.16 \pm 0.16a	15.27 \pm 0.39a	14.81 \pm 0.23a	14.70 \pm 0.27a	14.95 \pm 0.18a
SGR (%/day)	2.80 \pm 0.05a	2.81 \pm 0.09a	2.82 \pm 0.04a	2.81 \pm 0.04a	2.82 \pm 0.06a
SR (%)	100	100	100	100	100
FI (g/fish)	76.11 \pm 0.44a	70.53 \pm 0.42a	68.23 \pm 1.12b	68.03 \pm 0.52b	67.49 \pm 0.68b
FCR	1.61 \pm 0.04a	1.50 \pm 0.09a	1.42 \pm 0.06a	1.43 \pm 0.04a	1.42 \pm 0.07a
PER	1.74 \pm 0.05a	1.86 \pm 0.11a	1.96 \pm 0.07a	1.96 \pm 0.05a	1.97 \pm 0.09a
NPU (%)	28.43 \pm 0.17a	30.85 \pm 0.19a	31.17 \pm 0.52a	30.87 \pm 0.23a	31.31 \pm 0.31b
Fish meat protein (%dry weight)	94.42 \pm 0.02a	94.39 \pm 0.15a	94.26 \pm 0.06a	94.16 \pm 0.36a	94.26 \pm 0.62a
Carcass (%)	35.79 \pm 0.51a	35.99 \pm 0.20a	35.95 \pm 0.34a	35.21 \pm 0.14a	35.19 \pm 0.43a
HSI (%)	2.08 \pm 0.03a	2.00 \pm 0.12a	2.03 \pm 0.07a	2.05 \pm 0.09a	2.02 \pm 0.11a
Product capital (Baht/kg of	47.80 \pm 1.27a	44.14 \pm 2.78a	41.29 \pm 1.82a	40.96 \pm 1.06a	40.13 \pm 1.92a

Remark : The difference alphabet in the same row indicated statistical significant difference ($P < 0.05$).

วิจารณ์ผล

จากผลการทดลองพบว่าการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย สัดส่วนที่บริโภคได้ และค่าดัชนีตัวของปลานิลแดงที่เลี้ยงด้วยอาหารที่ทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นด้วยโปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมัก ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) เมื่อเทียบกับอาหารสูตรควบคุมที่ใช้ถั่วเหลืองป่นปกติ ขณะที่อัตราการกินอาหารของปลานิลแดงลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลืองป่น ตั้งแต่ 50-100 เปอร์เซ็นต์ และอัตราแลกเนื้อของปลามีแนวโน้มลดลง ส่วนประสิทธิภาพการใช้โปรตีนมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามลำดับ ถึงแม้จะไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ขณะที่ใช้โปรตีนสุทธิของปลานิลแดงเพิ่มขึ้นตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อใช้ถั่วเหลืองป่นหมักในอาหาร 100 เปอร์เซ็นต์ ซึ่ง Cruz *et al.* (2011: online) ให้เหตุผลว่าการใช้แบคทีเรียในการหมักวัตถุดิบอาหารในสภาวะที่เหมาะสม นอกจากช่วยลดสารต้านโภชนา (antinutritional substances) แล้วยังช่วยเพิ่มความอยากอาหารและเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหารให้แก่สัตว์ เช่นเดียวกับการใช้กากถั่วเหลืองหมักด้วยแบคทีเรีย *Bacillus spp.* ผสมในอาหารเพื่อทดแทนการใช้ปลาป่น ในปลา rainbow trout (Yamamoto *et al.*, 2010) ปลา red sea bream, *Pagrus major* (Kader *et al.*, 2011) และการใช้อาหารผสมกากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* และอาหารผสมเชื้อราโดยตรงในปลานกแก้ว, *Oplegnathus fasciatus* (Kim *et al.*, 2009) และ ปลา flounder, *Paralichthys olivaceus* (Kim *et al.*, 2010) มีผลทำให้ปลามีการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารสูงกว่ากลุ่มควบคุม ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าการใช้เชื้อรา *A. niger* หมักถั่วเหลืองป่นในครั้งนี้อาจเพิ่ม

ประสิทธิภาพของถั่วเหลืองปนได้ โดยดูได้จากอัตราการกินอาหารที่ลดลงในขณะที่การเจริญเติบโตไม่มีความแตกต่างจากอาหารสูตรควบคุม และการใช้โปรตีนสุทธิของปลาชนิดแดงเพิ่มสูงขึ้น

เมื่อคำนวณราคาอาหารปลาชนิดแดงต่อกิโลกรัม พบว่าราคาอาหารจะลดลงตามปริมาณการเพิ่มขึ้นของถั่วเหลืองปนหมักในอาหารแต่ละสูตร (Table 1) ถึงแม้ว่าจะใช้ปริมาณถั่วเหลืองปนหมักในปริมาณที่มากกว่าถั่วเหลืองปกติ เนื่องจากปริมาณความชื้นในถั่วเหลืองปนหมักมีสูงกว่าถั่วเหลืองปนปกติ ซึ่งเกิดจากกระบวนการหมักที่ต้องเพิ่มความชื้นในถั่วเหลืองปนก่อนการหมัก และอาจรวมถึงการลดลงของปริมาณโปรตีนจากการย่อยสลายของเชื้อรา เพอร์ซิเนตโปรตีนในถั่วเหลืองปนหมักจึงมีน้อยกว่าถั่วเหลืองปนปกติ (Table 1) ทำให้ต้องใช้ถั่วเหลืองปนหมักในปริมาณที่มากกว่าเล็กน้อย อย่างไรก็ตามเมื่อคำนวณราคาถั่วเหลืองปนหมักซึ่งมีความชื้นสูงกว่า โดยใช้ราคาของถั่วเหลืองปนปกติ ถั่วเหลืองปนหมักจะมีราคาต่อกิโลกรัมที่ถูกกว่า และเมื่อเปรียบเทียบต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลาปลาชนิดแดง 1 กิโลกรัม พบว่าอาหารที่ใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองปนหมัก 100 เปอร์เซ็นต์ (D5) มีต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม เท่ากับ 40.13 บาท ซึ่งต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น (Table 2) ถึงแม้ว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารสูตรอื่น โดยเฉพาะสูตรควบคุม (D1) ที่มีต้นทุนต่างกันประมาณกิโลกรัมละ 7.50 บาท เนื่องจากอัตราการกินอาหารและอัตราแลกเปลี่ยนของปลาชนิดแดงที่ลดลงเมื่อใช้ถั่วเหลืองปนหมักในอาหาร และเมื่อนำเนื้อปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองปนหมักมาเพาะเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อก็ไม่พบการปนเปื้อนของเชื้อรา ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการลดต้นทุนการผลิตปลาชนิดแดง และความปลอดภัยในการบริโภค ดังนั้นการใช้ถั่วเหลืองปนหมักด้วยเชื้อรา *A. niger* สามารถทดแทนถั่วเหลืองปนในอาหารปลาชนิดแดงได้ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตและอัตราการรอดตายของปลาชนิดแดง แต่มีผลให้ต้นทุนค่าอาหารต่อการผลิตปลาลดลง จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่ช่วยให้เกษตรกรผู้เลี้ยงปลาชนิดแดงลดต้นทุนการผลิตปลาได้

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในการสนับสนุนงบประมาณการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณนักศึกษาสาขาวิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ และเจ้าหน้าที่ ที่ช่วยการวิจัยสำเร็จลุล่วงด้วยดี และขอขอบคุณผู้ทรงคุณวุฒิที่ให้คำแนะนำเพื่อความสมบูรณ์ของรายงานการวิจัยนี้

เอกสารอ้างอิง

- Aguilar, C. N., Augur, C., Favela-Torres, E., and Viniegra-González, G. 2001. Production of tannase by *Aspergillus niger* Aa-20. In submerged and solid-state fermentation: influence of glucose and tannic acid. J. Industrial Microbiology and Biotechnol. 26: 296-302.
- Ahmad, T., Rasool, S., Sarwar, M., Haq, A., and Hasan, Z. 2000. Effect of microbial phytase produced from a fungus *Aspergillus niger* on bioavailability of phosphorus and calcium in broiler chickens. Animal Feed Sci. and Technol. 83: 103-114.
- Allagheny, N., Obanu, Z. A., Campbell-Platt, G., and Owens, J.D. 1996. Control of ammonia formation during *Bacillus subtilis* fermentation of legume. Food Microbiol. 29 : 321-333.
- Anderson, R. L., Rackis, J. J., and Tallent, W. H. 1979. Biologically active substances in soy products. In: Wilcke H. L., Hopkins, D. T., and Waggle, D. H. (Eds.). Soy Protein and Human Nutrition. Academic Press New York. pp. 209-133.
- AOAC. 1990. Official Method of Analysis. 15th Ed. Association of Official Analytical Chemists (AOAC), Washington, DC., USA.
- Bakke-McKellep, A. M., Penn, M. H., Salas, P. M., Refstie, S., Sperstad, S., Landsverk, T., Ringo, E., and Krogdahl, Å. 2007. Effects of dietary soyabean meal, inulin and oxytetracycline on intestinal microbiota and epithelial stress, apoptosis and proliferation in the teleost Atlantic salmon (*Salmo salar* L.). British J. of Nutrition. 97: 699-713.
- Barrows, F. T., Stone, D. A. J., and Hardy, R. W. 2007. The effects of extrusion conditions on the nutritional value of soybean meal for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture . 265: 244-252.
- Casey, A. , and Walsh, G. 2003. Purification and characterization of extracellular phytase from *Asperillus niger* ATCC 9142. Bioresource Technol. 86: 183-188.
- Cheeke, P. R. , and Shull, L. R. 1985. Natural Toxicants in Feeds and Poisonous Plants. AVI Publishing Company, Inc. Westport, Connecticut.
- Chiba, S. , Chiba, H. , and Yagi, M. 2005. A Guide for Silage Making and Utilization in the Tropical Regions. Japan Livestock Technology Association. Japan. 29 p.
- Couri, S. , Terzi, S. C. , Pinto, G. S. , Freitas, S. P. , and Costa, A. C. A. 2000. Hydrolytic enzyme production in solid-state fermentation by *Aspergillus niger* 3T5B8. Process Biochemistry. 36: 255-261.

- Cruz, Y., Kijora, C., Wedler, E., Danier, J., and Schulz, C. 2011. Fermentation properties and nutritional quality of selected aquatic macrophytes as alternative fish feed in rural areas of the Neotropics. *Livestock Research for Rural Development*. 23: Article No. 239. [Online] Available from <http://www.lrrd.org/lrrd23/11/cruz23239.htm> [2016, November 22].
- DOF. 2016. Fisheries Statistics of Thailand 2014. Information and Communication Technology Center, Department of Fisheries, Ministry of Agriculture and Cooperatives. Report No. 11. 87 p. [in Thai]
- Francis, G. , Makkar, H. P.S. , and Becker, K. 2001. Antinutritional factors present in plant-derived alternate fish feed ingredients and their effects in fish. *Aquaculture*. 199: 197-227.
- Gomes, E. F., Rema, P., and Kaushik, S. J. 1995. Replacement of fish meal by plant proteins in the diet of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) : digestibility and growth performance. *Aquaculture*. 130: 177-186.
- Hardy,R. W. 2010. Utilization of plant proteins in fish diets: effects of global demand and supplies of fishmeal. *Aquaculture Research*. 41: 770-776.
- Hong, K. J., Lee, C. H., and Kim, S. W. 2004. *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. *J. Medicinal Food*. 7: 403-435.
- Kader, M. A., Koshio, S., Ishikawa, M., Yokoyama, S., Bulbul, M., Honda, Y., Mamauag, R. E., and Laining, A. 2011. Growth, nutrient utilization, oxidative condition, and element composition of juvenile red sea bream *Pagrus major* fed with fermented soybean meal and scallop byproduct blend as fishmeal replacement. *Fisheries Science*. 77: 119-128.
- Kang, S. W., Park, Y. S., Lee, J. S., Hong, S. I., and Kim, S. W. 2004. Production of cellulases and hemicellulases by *Aspergillus niger* KK2 from lignocelulosic biomass. *Bioresource Technology*. 91: 153-156.
- Kim, S. S., Galaz, G. B., Pham, M. A., Jang, J. W., Oh, D. H., Yeo, I. K., and Lee, K. J. 2009. Effects of dietary supplementation of meju, fermented soybean meal, and *Aspergillus oryzae* for juvenile parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). *Asian Australian Journal of Animal Sciences*. 22: 849-856.
- Kim, S. S., Pham, M. A., Kim, K. W., Son, M. H., and Lee, K. J. 2010. Effects of microbial fermentation of soybean on growth performances, phosphorous availability, and antioxidant activity in diets for juvenile olive flounder (*Paralichthys olivaceus*). *Food Science and Biotechnology*. 19:1605-1610.

- Koedprang, W., and Chalad, C. 2015. Indigenous microorganism in aquaculture area based on natural farming principles, Case study: Freshwater aquaculture farm, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang campus. Rajamangala University of Technology Tawan-ok Research Journal. 8(1): 52-57. [in Thai]
- Mahadik, N. D., Puntambekar, U. S., Bastawde, K. B., Khire, J. M., and Gokhale, D. V. 2002. Production of acidic lipase by *Aspergillus niger* in solid state fermentation. Process Biochemistry. 38: 715-721.
- Mandviwala, T. N., and Khire, J. M. 2000. Production of high activity thermostable phytase from thermotolerant *Aspergillus niger* in solid state fermentation. J. Industrial Microbiology and Biotechnol. 24: 237-243.
- Merrifield, D. L., Dimitroglou, A., Bradley, G., Baker, R. T. M., and Davies, S. J.. 2009. Soybean meal alters autochthonous microbial populations, microvilli morphology and compromises intestinal enterocyte integrity of rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* (Walbaum). J. Fish Diseases. 32:755-766.
- Moran, J. 2005. Topical Dairy Farming: Feeding management for small dairy farmers in the humid tropics. Landlinks Press. 312 p.
- Norton, G., 1991. Proteinase inhibitors. In: D'Mello, F. J. P., Duffus, C. M., and Duffus, J. H. (Eds.). Toxic Substances in Crop Plants. The Royal Society of Chemistry, Thomas Graham House, Science Park, Cambridge CB4 4WF, Cambridge. pp. 68–106.
- Reigh, R. C., and Ellis, S. C. 1992. Effects of dietary soybean and fish-protein ratios on growth and body composition of red drum *Sciaenops ocellatus* fed isonitrogenous diets. Aquaculture. 104: 279–292.
- Romarheim, O. H., Skrede, A., Gao, Y., Krogdahl, Å., Denstadli, V., Lilleeng, E., and Storebakken, T. 2008. Comparison of white flakes and toasted soybean meal partly replacing fish meal as protein source in extruded feed for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). Aquaculture. 256: 354-364.
- Schuster, E., Dunn-Coleman, N., and Frisvad, J. C. 2002. On the safety of *Aspergillus niger*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 59: 426-435.
- Wee, K. L., and Shu, S. W. 1989. The nutritive value of boiled full-fat soybean in pelleted feed for Nile tilapia. Aquaculture. 81: 303–314.

- Yamamoto, T. , Iwashita, Y. , Matsunari, H. , Sugita, T. , Furuita, H. , Akimoto, A. , Okamatsu, K. , and Suzuki, N. 2010. Influence of fermentation conditions for soybean meal in a non-fish meal diet on the growth performance and physiological condition of rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Aquaculture*. 309: 173-180.
- Yang, F. C. , and Lin, I. H. 1998. Production of acid protease using thin stillage from a rice spirit distillery by *Aspergillus niger*. *Enz. Microbial Technol.* 23: 397-402.