

ผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยน้ำคั้นจากสับปะรดในสูตรอาหารปลานิลต่อการเจริญเติบโต ความทนทานต่อสภาพเครียด และเชื้อก่อโรค

Effect of using soybean meal hydrolysate with pineapple juice in diet on growth performance, stress tolerance and disease resistance

ทรงทรัพย์ อรุณกมล¹, นราวุธ ระพันธ์คำ² และ นพรัตน์ พัทธชัย¹

Songsub Arungamol¹, Narawut Rapankum² and Nopparat Patchanee¹

บทคัดย่อ: การศึกษาผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยน้ำคั้นสับปะรดทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารปลานิลต่อการเจริญเติบโต ความทนทานต่อสภาพเครียด และเชื้อก่อโรค วางแผนการวิจัยแบบสุ่มทดลอง โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 4 กลุ่มการทดลอง โดยใช้กากถั่วเหลืองย่อยด้วยน้ำคั้นสับปะรดอัตราส่วน 1:2 เป็นเวลา 90 นาที และนำมาทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารในอัตรา 0, 25, 50 และ 75% ที่ระดับโปรตีน 31% และระดับพลังงานเฉลี่ย 284 kcal/100g ใช้ปลานิลมีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 0.33 กรัม ทดลองเป็นเวลา 45 วัน หลังจากนั้นนำปลามาทดสอบความทนทานต่อสภาพเครียดบางประการ โดยการแช่ฟอร์มาลิน 500 ppm นาน 2 ชั่วโมง แอมโมเนียที่ละลายในน้ำ 1.5 ppm และความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคชนิด *A. hydrophila* ผลการทดลองพบว่า ปลานิลในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารโดยใช้กากถั่วเหลืองย่อยด้วยน้ำคั้นสับปะรดทดแทนปลาป่นในอัตรา 0, 25 และ 50% มีประสิทธิภาพการเจริญเติบโตไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนการทดสอบความทนทานต่อสภาพเครียดบางประการโดยการทดสอบกับฟอร์มาลิน และแอมโมเนียพบว่า กลุ่มการทดลองที่ใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยแล้วในสูตรอาหารทดแทนปลาป่นในอัตรา 0 และ 25% มีอัตราการตายสะสมที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ทดแทนปลาป่นในอัตรา 50 และ 75% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ส่วนความต้านทานเชื้อก่อโรค *A. hydrophila* พบว่ามีอัตราการตายสะสมไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) จากการทดลองสามารถสรุปได้ว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองย่อยด้วยน้ำคั้นสับปะรดทดแทนปลาป่นได้สูงสุดที่ระดับ 25% โดยไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต ความทนทานต่อสภาพเครียด และเชื้อก่อโรค

คำสำคัญ: กากถั่วเหลืองย่อยด้วยน้ำคั้นสับปะรด, ปลานิล, ความทนทานต่อสภาพเครียด

ABSTRACT: Effect of using soybean hydrolysate through pineapple juice to replace fish meal in Nile tilapia on Growth performance stress tolerance and disease resistance. Soybean meal was digested with pineapple juice at 1:2 for 90 minutes and replaced with fish meal in diet formula. The experiment was assigned into 4 groups in each randomly by mixing soybean hydrolysate in diet at the rank of 0%, 25%, 50% and 75% which contained 31% protein and average energy level 284 kcal/100g. Tilapia with an average initial weight was 0.33 grams cultured for 45 days. The end of feeding experimental diet, fish were tested for tolerance to certain stress conditions by soaking 500 ppm formalin for 2 hours, 1.5 ppm of ammonia dissolved in water and the resistance to bacteria *A. hydrophila*. The results showed that fish fed with soybean meal digested with pineapple juice instead of fish meal at rate 0, 25 and 50% the effective growth were not different ($P>0.05$). In some stress tolerance tests by testing with formalin and ammonia indicated that accumulated mortality rate of experimental group using soybean hydrolysate in fish meal diet formula at the rate of 0 and 25% was lower than the fish meal replacement group at the rate 50 and 75% were significant ($P<0.05$). The accumulated mortality rate of resistance to bacteria *A. hydrophila* were not different ($P>0.05$). It can be concluded that soybean hydrolysate can be digested with pineapple juice would be highly at 25% without affecting growth rate, stress tolerance and disease resistance.

Keywords: Soybean meal hydrolysate, Nile tilapia, Stress tolerance test, Challenge Test

¹ สาขาวิชาการประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร

Fisheries Program, Faculty of Agricultural technology, Sakonkakhon Rajabhat University

² สาขาบริหารธุรกิจเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยราชภัฏสกลนคร

Agribusiness Administration Program, Faculty of Agricultural technology, SakonkakhonRajabhat University

* Corresponding author: songsub.a@snru.ac.th

บทนำ

ปลานิล (*Oreochromis niloticus*) เป็นปลาน้ำจืดในครอบครัว Cichlidae มีลักษณะเด่นเป็นที่นิยมในการเลี้ยงและแพร่กระจายทั่วโลกคือ มีอัตราการเจริญเติบโตสูง สามารถกินอาหารได้หลากหลายประเภท แข็งแรง สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อมการเลี้ยงแบบต่างๆ ในแต่ละประเทศได้ดี โดยมีการรายงานข้อมูลการเลี้ยงทั้งในบ่อดิน กระชัง การเลี้ยงระบบไบโอฟลอค (Biofloc system) และบ่อแบบเรสเวย์ (Race way) เพาะพันธุ์ชายและวางไข่ได้ตลอดทั้งปี (El-Sayed, 2006) โดยมีผลผลิตจากการเพาะเลี้ยงประมาณ 700,000 ตันทั่วโลก (Food and Agricultural Organization, 2014) สำหรับประเทศไทยปัจจุบันมีการเพาะเลี้ยงอย่างกว้างขวางโดยมีผลผลิตประมาณ 45% ของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำจืดทั้งหมดมวลรวมภายในประเทศ และมีปริมาณผลผลิตทั้งหมดทั่วประเทศไม่ต่ำกว่าปีละ 200,000 ตัน ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 เป็นต้นมา (กรมประมง, 2556) แต่อย่างไรก็ตาม การเลี้ยงปลานิลในประเทศไทยในปัจจุบันพบกับปัญหาหลายประการ อาทิ ด้านโรคระบาดของปลานิลพบตามฤดูกาล โดยเฉพาะอย่างยิ่งโรค Streptococcosis และโรคที่เกิดจากเชื้อ *Aeromonas hydrophila* ซึ่งมีรายงานการระบาดเป็นประจำทุกปี ด้านสภาพสิ่งแวดล้อมที่เกิดความเสื่อมโทรมและภาวะโลกร้อน ปัญหาด้านการตลาดที่ไม่สามารถควบคุมราคากลางได้ และต้นทุนการผลิตที่ยังคงสูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยเฉพาะอย่างยิ่งต้นทุนในส่วนของอาหาร โดยพบว่า มีต้นทุนประมาณ 55-80% ของต้นทุนการผลิตทั้งหมด (เกตุณภัส และคณะ, 2558) การหาวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำเพื่อลดต้นทุนด้านอาหารปลาเป็นปัจจัยหนึ่งที่จะทำให้การเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีกำไรสูงสุด จากการศึกษาของนักวิจัยในปัจจุบันมุ่งเน้นการศึกษาการทดแทนโปรตีนจากปลาป่นในสูตรอาหารที่มีแนวโน้มปริมาณการผลิตที่น้อยลง และราคาที่สูงขึ้นอย่างต่อเนื่อง โดยใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองในอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนคุณภาพสูงที่เป็นผลผลิตได้จากพืช มีปริมาณ

การผลิตที่แน่นอนในแต่ละปี แต่อย่างไรก็ตามการใช้กากถั่วเหลืองเป็นอาหารสัตว์น้ำมีข้อจำกัดด้านปริมาณการใช้เป็นวัตถุดิบทำอาหารสัตว์น้ำ เนื่องจากมีสารต้านโภชนาการ (Antinutrition factors) ซึ่งสารที่สำคัญขัดขวางการใช้ประโยชน์คือ สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin inhibitor) ดังนั้นการปรับปรุงคุณภาพของกากถั่วเหลืองก่อนนำไปเป็นวัตถุดิบในอาหารสัตว์น้ำจึงเป็นสิ่งสำคัญ การนำน้ำคั้นจากสับปะรดที่มีเอนไซม์โบรมิเลน (Bromelain) ซึ่งเป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Cysteine proteinase มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์ที่ไม่เจาะเพาะเจาะจงกับตำแหน่ง ทำให้สามารถทำหน้าที่ในการย่อยได้เทียบเท่ากับเอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อน เช่นเอนไซม์ทริปซิน และโคโมทริปซิน ซึ่งสามารถย่อยพันธะเปปไทด์ของโปรตีนให้เป็นเปปไทด์สายสั้นๆ และกรดอะมิโนอิสระ (free α amino nitrogen) มากขึ้น ส่งเสริมการใช้ประโยชน์ของโปรตีนที่ได้จากกากถั่วเหลืองให้ดียิ่งขึ้น ซึ่งสามารถลดปริมาณการใช้โปรตีนจากปลาป่นอันจะเป็นการลดต้นทุนด้านค่าอาหารปลาได้ในอนาคต (दारुंग และ ฉานานิกา, 2558: รุ่งกานต์ และ บุญปฏิบัติ, 2558)

ในการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้จึงต้องการศึกษาผลของการใช้น้ำคั้นจากสับปะรดที่มีเอนไซม์โบรมิเลน (Bromelain) เพื่อปรับปรุงคุณภาพของโปรตีนจากกากถั่วเหลืองโดยการนำไปย่อยและนำไปทดสอบประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์ของปลานิล โดยการลดปริมาณการใช้ปลาป่นในสูตรอาหาร เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของปลาที่ได้รับอาหารทดลอง

วิธีการศึกษา

1. การวางแผนการทดลอง การเก็บข้อมูล และการวิเคราะห์ข้อมูล

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยทำการทดลองเลี้ยงลูกปลานิลขนาด 2-3 เซนติเมตร ด้วยสูตรอาหารทดแทนปริมาณปลาป่นในสัดส่วนที่ 0 (T0), 25(T25), 50(T50), และ 75% (T75) จากปริมาณอาหารสูตร

ควบคุมซึ่งดัดแปลงสูตรอาหารปลานิลมาจาก Thongrod (2007) ที่ระดับโปรตีนประมาณ 31% และระดับพลังงานเฉลี่ย 284 kcal/100g ในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3 และ 4 ตามลำดับ

2. การเตรียมสัตว์ทดลองและอาหารทดลอง

เตรียมลูกปลานิลขนาด 2-3 เซนติเมตร น้ำหนักเฉลี่ยที่ 0.3 กรัมต่อตัว จากฟาร์มเอกชนในจังหวัดสกลนคร ทดสอบในตู้กระจกขนาด 24 นิ้ว ความหนาแน่นที่เลี้ยง 1 ตัวต่อน้ำ 1 ลิตร ปรับสภาพเป็นเวลา 7 วัน และงดอาหาร 24 ชั่วโมงก่อนทำการทดลอง ใช้สูตรอาหารทดลองดัดแปลงจาก Thongrod (2007) แสดงไว้ใน Table 1 ทำอาหารทดลองโดยการย่อยกากถั่วเหลือง ด้วยน้ำคั้นจากสับปะรดโดยดัดแปลงตามวิธีการของ วราพันธุ์ (2546) ใช้สับปะรดสายพันธุ์ภูเก็ต สับและคั้นน้ำกรองแยกกากออกด้วยผ้าขาวบาง หลังจากนั้นนำไปนึ่งสับปะรดย่อยกากถั่วเหลืองบดที่ผ่าน

การฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ ในอัตราส่วนคือกากถั่วเหลือง 1 ส่วนต่อน้ำสับปะรดคั้น 2 ส่วนเป็นเวลา 90 นาที จากนั้นนำไปอบที่ 70 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำวัตถุดิบ บดให้ละเอียด ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติมน้ำประมาณ 25-30% ของน้ำหนักอาหาร อัดเม็ดด้วยเครื่องอัดเม็ดอาหารลอยน้ำ (Extruder) ใช้ความร้อนไม่เกิน 120 องศาเซลเซียส ขนาดเม็ดประมาณ 1.4-1.6 มิลลิเมตร นำมาผึ่งลมร้อนอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้ความชื้นไม่เกิน 10% เก็บที่อุณหภูมิ -4 องศาเซลเซียส สุ่มอาหารที่ผ่านการอัดเม็ดจำนวน 250 กรัม ในแต่ละชุดการทดลอง นำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของอาหาร ได้แก่ โปรตีน ไขมัน กาก ใย ความชื้น และพลังงานรวม (gross energy, GE) ตามวิธีการของ AOAC (1990) ส่วนค่าปริมาณคาร์โบไฮเดรตที่ละลายได้ (NFE) และค่าพลังงานที่ย่อยได้ (Digestible energy, DE) คำนวณตามวิธีของ NRC (1993)

Table 1 Ingredient composition and Chemical composition of 4 dietary protein levels

Ingredients	Experimental diets (%)			
	0	25	50	75
Fish meal	25	18.5	12.5	6.25
SBM- H	30	36.5	42.5	48.75
Broken rice	15	15	15	15
Rice bran	23	23	23	23
Fish oil	4	4	4	4
Dicalcium Phosphate	1	1	1	1
Mineral premix	1	1	1	1
Vitamin premix	1	1	1	1
Total	100	100	100	100
Proximate Chemical composition by analysis (% dry weight on basis)				
Crude Protein	31.32±0.55	31.96±0.77	31.64±0.68	31.30±0.71
Crude Lipid	9.83±0.93	9.79±0.70	9.96±0.96	9.94±0.94
Crude Fiber	4.23±0.62	4.49±0.82	4.59±0.69	4.42±0.93
Total Ash	10.59±0.19	11.09±0.98	10.78±0.79	10.99±0.79
GE (kcal/kgDM)	2,878.62	2,906.90	2,971.54	2,736.72
NEF (%)	36.45	35.08	35.46	36.65
DE (kcal/100g)	278.92	289.69	288.61	279.89
DE:P ratio (kcal/g protein)	8.91	9.06	9.12	8.94

Note: SBM- H = Soybean meal Hydrolysate, NFE = 100-(Crude protein - Crude lipid - Crude fiber-total ash-moisture) (NRC, 1993), DE (kcal/100g) = (%Protein x3.5) + (%Lipid x 8.0) + (%NFE x2.5) (NRC, 1993)

3. วิธีการและขั้นตอนการทดลอง

ให้อาหารทดลองตามสูตรอาหารและการวางแผนการทดลองตามข้อ 1 โดยให้ลูกปลานิลทดลองกินจุนอิม จำนวน 4 มื้อต่อวัน เวลา 8.00, 12.00, 16.00 และ 20.00 น. เปลี่ยนถ่ายน้ำ 50% ของปริมาณน้ำทั้งหมด ทุกๆ 7 วัน ทำทดลองเป็นเวลา 45 วัน ตรวจวัดคุณภาพน้ำและความคุ้มให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของลูกปลา เก็บข้อมูลโดยการชั่งน้ำหนักลูกปลาเพื่อนำมาวิเคราะห์ข้อมูลดังนี้

1). เก็บและวิเคราะห์ข้อมูลด้านการเจริญเติบโต โดยการชั่งน้ำหนักเริ่มต้น และน้ำหนักสุดท้ายทุกชุดการเพื่อนำค่าที่ได้คำนวณหา น้ำหนักเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (Final weight ;g/fish) ร้อยละน้ำหนักเพิ่มขึ้น (Weight gain ;%) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR: %/day) ประสิทธิภาพของโปรตีนในอาหาร (Protein efficiency ratio; PER) อัตราแลกเนื้อ (Feed conversion ratio; FCR) และอัตราการรอด (Survival rate; SR%)

2). การทดสอบความทนทานต่อสภาพเครียดบางประการ

2.1) ทดสอบความทนทานต่อความเครียดบางประการโดยการแช่ฟอร์มาลิน 500 ppm นาน 2 ชั่วโมง (Formalin stress test) โดยดัดแปลงวิธีการทดสอบจาก MacNiven and Little (2001) วิธีการคือนำลูกปลานิลที่ผ่านการทดสอบให้อาหารทดลองแต่ละชุดการทดลองจากการทดลองที่ 1 งดอาหารก่อนทำการทดลองเป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำลูกปลาเลี้ยงในตู้ทดลองขนาด 24 นิ้ว ตู้ละ 20 ตัว หลังจากนั้นใส่ฟอร์มาลิน (37% formaldehyde) ความเข้มข้น 500 ppm ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ทดสอบมาก่อนแล้วว่าทำให้ลูกปลานิลตายประมาณ 50% ภายใน 2 ชั่วโมง และบันทึกอัตราการตายสะสมเปรียบเทียบระหว่างชุดการทดลอง

2.2) ทดสอบความทนทานต่อความเครียดบางประการโดยการแช่แอมโมเนียที่ละลายในน้ำ โดยดัดแปลงวิธีการจาก ทศนีย์ และ สุวรรณ (2559) นำลูกปลาเลี้ยงในตู้ทดลองขนาด 24 นิ้ว ตู้ละ 20 ตัว ปรับค่าพีเอชของน้ำให้ได้ 9 โดยใช้ 50% NaOH ในการเพิ่ม

ระดับพีเอช เมื่อได้ค่า pH ตามที่ต้องการแล้วปรับปริมาณแอมโมเนียรวมให้อยู่ที่ 1.5 ppm โดยใช้สาร NH_4Cl (Ammonium chloride) ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ดังกล่าวทดสอบมาก่อนแล้วว่าทำให้ลูกปลานิลตายประมาณ 50% ภายใน 48 ชั่วโมง

3). การทดสอบความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรียก่อโรคชนิด *Aeromonas hydrophila* โดยดัดแปลงวิธีการจาก ทองทรัพย์ (2552) โดยการนำลูกปลาที่ผ่านการทดลองตามวิธีการข้อ 1 แล้ว มาเลี้ยงในโหลแก้วขนาด 5 ลิตร แซ่ด้วยเชื้อก่อโรค *A. hydrophila* ความเข้มข้นที่ทดสอบมาก่อนแล้วว่าทำให้ลูกปลานิลตายประมาณ 50% ภายใน 7 วัน และบันทึกอัตราการตายของปลาทุกๆ 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 7 วัน และนำลูกปลาที่ตายไปแยกเชื้อเพื่อยืนยันสาเหตุการตาย

4). การวิเคราะห์ข้อมูล นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variances) เปรียบเทียบความต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการศึกษาและวิจารณ์

การใช้กากถั่วเหลืองเพื่อทดแทนแหล่งโปรตีนจากปลาป่นในวัตถุดิบอาหารสัตว์น้ำมีความพยายามทดแทนเพื่อลดปริมาณการใช้ปลาป่นในอาหารสัตว์น้ำ ซึ่งงานวิจัยส่วนใหญ่มุ่งเน้นไปที่การทดแทนด้วยโปรตีนจากพืชคือกากถั่วเหลือง ซึ่งสามารถทดแทนได้โดยแปรผันตามช่วงวัย รูปแบบการผลิตวัตถุดิบ และชนิดของสัตว์น้ำ แต่อย่างไรก็ตามการใช้กากถั่วเหลืองมีข้อจำกัดในการใช้คือสารต้านโภชนาการ (Antinutrition factors) เช่น สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (Trypsin inhibitor) ไฟเตท (Phytates) และสารที่ทำให้เม็ดเลือดตกตะกอน (Hemagglutinin) (Adeyemo and Onilude, 2013) ซึ่งการนำกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยน้ำคั้นสับปะรดมีเอนไซม์โบรมิเลนที่เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Cysteine proteinase มีคุณสมบัติเป็นเอนไซม์ที่ไม่เจาะเพาะเจาะจง

กับตำแหน่ง มีความสามารถในการย่อยได้เทียบเท่ากับ เอนไซม์ที่ผลิตจากตับอ่อน เช่นเอนไซม์ทริปซิน และโคโมทริปซิน โดยสามารถย่อยพันธะเปปไทด์ของโปรตีน ทำให้เป็นเปปไทด์สายสั้นๆ และมีกรดอะมิโนอิสระ (free α amino nitrogen) มากขึ้น และจะช่วยลดความเป็นพิษของสารยับยั้งการทำงานของทริปซิน (Trypsin inhibitor) จากกระบวนการย่อยโดยน้ำคั้นสับประรดก่อนในขั้นแรก เมื่อนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์จะสามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนรูปแบบดังกล่าวได้ดียิ่งขึ้น ซึ่งประสบผลสำเร็จในสัตว์เศรษฐกิจหลายชนิด อาทิ ลูกสุกร สุกรขุน ไก่เนื้อ และกบนา (ดาวรุ่ง และ ฉานิกา, 2558; นฤพล และคณะ, 2556 ; รุ่งกานต์ และ บุญญิตติ, 2558; วิมล และคณะ 2556) ส่วนการศึกษาในครั้งนี้ ใช้การย่อยกากถั่วเหลืองด้วยน้ำคั้นจากสับประรดตามวิธีการของวราพันธุ์ (2546) พบว่าหลังจากการย่อยแล้ว มีองค์ประกอบทางเคมีคือโปรตีนหยาบ 51.42 ± 0.98 % ไขมัน 1.62 ± 0.18 เยื่อใย 7.33 ± 0.22 และเถ้า 8.11 ± 0.57 % โดยทดลองในลูกปลาน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ย 0.33 ± 0.34 กรัมต่อตัว ทดลองเป็นเวลา 45 วัน ผลการทดลองพบว่าน้ำหนักของปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง กลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 0, 25 และ 50 มีน้ำหนักเฉลี่ยที่ 2.93 ± 0.86 , 2.99 ± 0.93 และ 2.98 ± 0.86 กรัม โดยมีค่าเฉลี่ยสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 75% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่มีค่าเฉลี่ยน้ำหนักต่อตัวเท่ากับ 2.51 ± 1.02 กรัม ค่าร้อยละน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (Weight Gain) มีแนวโน้มเช่นเดียวกับน้ำหนักสุดท้ายคือในกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนสัดส่วนของปลาป่นที่ 0, 25 และ 50 มีค่าร้อยละน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเท่ากับ 797.88 ± 79.99 , 806.06 ± 45.94 และ 803.03 ± 36.88 % และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 75% โดยมีค่าเท่ากับ 660.61 ± 109.01 % (Table 2) และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate) พบว่าในกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนสัดส่วนของปลาป่นที่ 0, 25 และ 50 มีค่าสูงกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทน

สัดส่วนของปลาป่นที่ 75% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เช่นกัน โดยมีค่าเท่ากับ 2.43 ± 0.93 , 2.45 ± 1.01 และ 2.45 ± 0.88 % ต่อวัน ในชุดการทดลองที่ทดแทนสัดส่วนของปลาป่นที่ 0, 25 และ 50 ตามลำดับ ในส่วนของประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein Efficiency Ratio : PER) พบว่าในกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 75% มีค่าเท่ากับ 1.81 ± 0.49 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เมื่อเทียบกับกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 0, 25 และ 50 %

จากข้อมูลด้านการเจริญเติบโตโดยรวมแล้วพบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยน้ำคั้นสับประรดทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารได้ถึง 50% ซึ่งให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการศึกษาของ Hassaan et al. (2015) ที่ได้ศึกษาผลของการทดแทนปลาป่นด้วยการใช้กากถั่วเหลืองที่ผ่านการปรับปรุงคุณภาพโดยการหมักด้วยยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae*) โดยใช้วิธีหมักบนอาหารแข็ง (Solid state fermented) ซึ่งทดสอบกับปลานิลขนาดตั้งแต่ 3.5 กรัม โดยผลการทดสอบพบว่าสามารถทดแทนได้ 37.4% และยิ่งไปกว่านั้นพบว่าการใช้กากถั่วเหลืองที่ผ่านกระบวนการหมักเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ประโยชน์สามารถทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารของสัตว์น้ำได้หลายชนิด อาทิ Kim et al. (2009) ใช้กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* นำไปทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารของปลานกแก้ว (*Oplegnathus fasciatus*) ซึ่งสามารถทดแทนได้ 50% เช่นกันกับการทดลองครั้งนี้ นอกจากนั้นแล้วยังพบว่าสามารถเพิ่มระดับภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะ โดยพิจารณาปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) และ Chiu et al. (2015) ใช้กากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียชนิด *B. subtilis* เพื่อทดแทนปลาป่นในสูตรอาหารกุ้งขาว (*Litopenaeus vannamei*) ซึ่งพบว่าสามารถทดแทนได้ถึง 80% แต่อย่างไรก็ตามอัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอดในการทดลองครั้งนี้ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ($P > 0.05$) ในทุกชุดการทดลอง โดยมีอัตราการแลกเนื้อเท่ากับ 3.46 ± 0.89 , 3.50 ± 0.99 , 3.49 ± 0.86 และ 3.48 ± 1.59

ในกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 0, 25, 50 และ 75% และมีอัตราการรอดเท่ากับ 84.25 ± 5.30 , 83.50 ± 4.14 , 85.83 ± 2.89 และ $83.83 \pm 5.77\%$ ในกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 0, 25, 50 และ 75% ตามลำดับ จากผลการศึกษาด้านการเจริญเติบโตสรุปได้ว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยน้ำคั้นสับประรดทดแทนสัดส่วนการใช้ปลาป่นในสูตรอาหารผสมได้ 50% โดยไม่ส่งผลกระทบต่ออัตราการเจริญเติบโต อัตราการแลกเนื้อ และอัตราการรอด เมื่อเปรียบเทียบกับสูตรอาหารมาตรฐานที่ใช้ระดับปลาป่นในสูตรอาหารควบคุม ทั้งนี้ อาจเนื่องมาจากการลดปริมาณปลาป่นในสูตรอาหารทดลอง ซึ่งเป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญที่สำคัญ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกรดอะมิโนเมทาไทโอนิน จะส่งผลโดยตรงต่ออัตราการเจริญเติบโต แม้ว่าการปรับปรุงคุณภาพของกากถั่วเหลืองให้ดูดซึมและย่อยได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการปรับปรุงคุณภาพนั้นไม่สามารถเพิ่มปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายของปลาได้ด้วยเหตุนี้จึงยังคงปริมาณปลาป่นไว้ในสูตรอาหารที่สามารถทดแทนได้เพียง 50% ของปริมาณปลาป่น

จากสูตรอาหารควบคุม

เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ 1 นำปลาที่ผ่านการทดสอบข้างต้นมาทดสอบสภาพเครียดบางประการ ซึ่งผลการทดสอบพบว่า เมื่อนำลูกปลาทดสอบสภาพเครียดโดยการแช่ฟอร์มาลิน 500 ppm นาน 2 ชั่วโมง โดยเก็บข้อมูลอัตราการตายสะสม ในกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 0 และ 25% มีอัตราการตายสะสมอยู่ที่ 69.33 ± 4.55 และ $66.67 \pm 2.99\%$ ซึ่งมีอัตราการตายสะสมน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 50 และ 75% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่มีค่าเท่ากับ 89.93 ± 9.88 และ $92.88 \pm 2.11\%$ โดยมีแนวโน้มคล้ายคลึงกับการทดสอบสภาพเครียดบางประการโดยการแช่แอมโมเนีย 1.5 ppm นาน 48 ชั่วโมง คือในกลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 0 และ 25% มีอัตราการตายสะสมอยู่ที่ 19.57 ± 2.11 และ $20.43 \pm 5.89\%$ ซึ่งมีอัตราการตายสะสมน้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับอาหารสูตรทดแทนระดับของปลาป่นที่ 50 และ 75% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ที่มีค่าเท่ากับ 28.45 ± 3.44 และ $27.56 \pm 6.11\%$

Table 2 Growth performance and feed utilization of Nile Tilapia fed 4 different formulas replace fishmeal

Parameter	Treatment				P-value
	T0	T25	T50	T75	
IW (g/fish)	0.33±0.34	0.33±0.34	0.33±0.34	0.33±0.34	-
FW (g/fish)	2.93±0.86 ^a	2.99±0.93 ^a	2.98±0.86 ^a	2.51±1.02 ^b	0.0212
WG (%)	797.88±79.99 ^a	806.06±45.94 ^a	803.03±36.88 ^a	660.61±109.01 ^b	0.0063
SGR (%/day)	2.43±0.93 ^a	2.45±1.01 ^a	2.45±0.88 ^a	2.25±0.45 ^b	0.0075
PER	1.98±0.19 ^a	1.95±0.39 ^a	1.99±0.89 ^a	1.81±0.49 ^b	0.0092
FCR	3.46±0.89	3.50±0.99	3.49±0.86	3.48±1.59	0.834
SR (%)	84.25±5.30	83.50±4.14	85.83±2.89	83.83±5.77	0.712

Means within a row having different superscripts are significantly different ($P < 0.05$).

IW = Initial weight, FW = Final weight, WG = Weight gain, SGR = Specific growth rate, PER = Protein efficiency ratio, FCR = Feed conversion ratio, SR = Survival rate

ส่วนทางด้าน การทดสอบความทนทานต่อเชื้อก่อโรคโดยการนำปลาที่ต้องการทดสอบแช่ด้วยเชื้อแบคทีเรียก่อโรคชนิด *A. hydrophila* โดยดัดแปลงวิธี

การจาก ทรงทรัพย์ (2552) ความเข้มข้นที่ 1×10^5 cfu/ml ซึ่งเป็นความเข้มข้นที่ทดสอบมาก่อนหน้าแล้วว่าทำให้ลูกปลานิลตายประมาณ 50% ภายใน 7 วัน โดย

บันทึกอัตราการตายของปลาทดลอง ทุกวัน เป็นเวลา 7 วัน ซึ่งผลการทดสอบพบว่า อัตราการตายสะสมเมื่อครบ 7 วัน ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ ($P>0.05$) ในทุกชุดการทดลอง

การทดสอบความทนทานต่อสภาพเครียดบางประการของปลาเป็นการประเมินความแข็งแรงเบื้องต้นเพื่อสร้างความเชื่อมั่นในการเลี้ยง ใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการพิจารณาในการคัดเลือกปลาจากแหล่งต่างๆ ซึ่งมีรูปแบบการเลี้ยงและอนุบาลที่แตกต่างกัน โดยการจำลองสภาพสิ่งแวดล้อมที่ปลาอาจได้รับในการเลี้ยงกลางแจ้งทั้งในรูปแบบบ่อดินและในกระชัง ซึ่งมีการทดสอบหลายวิธี อาทิ การแช่ด้วยสารเคมีคือ แอมโมเนีย และฟอร์มาลิน การเพิ่มหรือลดความเค็มอย่างเฉียบพลัน การจำกัดปริมาณออกซิเจน และการทดสอบโดยการสัมผัสเชื้อก่อโรคโดยตรง (ทรงทรัพย์, 2552; ทศนีย์ และสุวรรณ, 2559; Luz et al., 2012; MacNiven and Little, 2001) จากการทดลองครั้งนี้พบว่า การทดสอบความทนทานต่อความเครียดโดยการแช่

ลูกปลาทดลองด้วยสารเคมีทั้งการแช่ด้วยแอมโมเนีย และฟอร์มาลิน พบว่าในกลุ่มที่ได้รับกากถั่วเหลืองย่อยด้วยน้ำคั้นสับปะรดทดแทนปลาป่นที่ 0 และ 25% มีอัตราการตายสะสมที่ต่ำกว่ากลุ่มที่ทดแทนปลาป่น 50 และ 75% ซึ่งอาจมีสาเหตุจากคุณภาพอาหารที่ได้รับ ส่งผลโดยตรงต่อสุขภาพและความแข็งแรงของปลาซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Luz et al. (2012) ที่ได้ทำการทดลองผลของระดับโปรตีนที่ได้รับในอาหารต่อการเจริญเติบโตและความแข็งแรงของปลานิล ซึ่งพบว่าปริมาณโปรตีนและคุณภาพของอาหารส่งผลโดยตรงต่อสุขภาพและความทนทานต่อความเครียดของปลานิล ส่วนการใช้เชื้อก่อโรคสัมผัสกับลูกปลา โดยตรงพบว่าอัตราการตายสะสมที่ไม่แตกต่างกัน โดยมีอัตราการตายเฉลี่ย 79.93% สามารถสรุปได้ว่าอาหารทดลองทั้งสูตรควบคุมและอาหารสูตรทดลองไม่ส่งผลต่อระบบภูมิคุ้มกันแบบไม่จำเพาะของปลานิลทดลอง

Table 3 Mortality rate of Stress test and Challenge test of Nile tilapia fed 4 different formulas replace Fishmeal

Stress test and Challenge test	Mortality rate (%)				P-value
	T0	T25	T50	T75	
Formalin stress test	69.33±4.55 ^b	66.67±2.99 ^b	89.93±9.88 ^a	92.88±2.11 ^a	0.028
Ammonia stress test	19.57±2.11 ^b	20.43±5.89 ^b	28.45±3.44 ^a	27.56±6.11 ^a	0.013
Challenge test	79.01±4.66	80.31±8.42	79.34±5.89	81.09±8.98	0.915

Challenge test with *Aeromonas hydrophila* 10⁵ cfu/ml

คุณภาพน้ำในการทดลองครั้งนี้พบว่ามีค่าเหมาะสมและไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ในทุกชุดการทดลอง โดยมีค่าดังนี้คือ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ อยู่ในช่วง 4.4-5.9 มิลลิกรัม/ลิตร ค่าพีเอช อยู่ระหว่าง 7.5-8.8 และอุณหภูมิ น้ำ อยู่ระหว่าง 27.3-30.8 องศาเซลเซียส

สรุป

จากการศึกษาผลของการใช้กากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยน้ำคั้นสับปะรดทดแทนปลาป่นที่ระดับ 0, 25, 50

และ 75% ในสูตรอาหารปลานิลต่อการเจริญเติบโต ความทนทานต่อความเครียด และเชื้อก่อโรค พบว่าสามารถใช้กากถั่วเหลืองย่อยด้วยน้ำคั้นสับปะรดทดแทนปลาป่นได้สูงสุดที่ระดับ 50% เมื่อพิจารณาจากประสิทธิภาพการเจริญเติบโต แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาด้านความทนทานต่อความเครียด และเชื้อก่อโรค พบว่าลูกปลามีประสิทธิภาพความทนทานต่อสภาพเครียด และเชื้อก่อโรค สูงสุดเมื่อได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองที่ย่อยด้วยน้ำคั้นสับปะรดทดแทนปลาป่นที่ระดับไม่เกิน 25%

เอกสารอ้างอิง

- กรมประมง. 2556. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2556. ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. เอกสารฉบับที่ 7 / 2558. กรมประมง. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ. 81 หน้า
- เกตุณภัต ศรีไพโรจน์, ณรงค์ กมลรัตน์, วิจิตรา ชัยมงคล และวิชาญ อิงศรีสว่าง. 2558. ต้นทุน และผลตอบแทนการเลี้ยงปลานิลในกระชังในจังหวัดสกลนคร. แก่นเกษตร. 43(ฉบับพิเศษ 1): 558-594.
- ทรงทรัพย์ อรุณกมล. 2552. การใช้ *Schizochytrium limacinum* ในการอนุบาลลูกกุ้งขาวแวนนาไม (*Litopenaeus vannamei*, Boone) และผลที่มีต่อระบบ ภูมิคุ้มกันและความทนทานต่อความเครียด. วิทยานิพนธ์ ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- ดาวรุ่ง ศิลาอ่อน และ ฉานิกา จันทสระ. 2558. ผลของกากถั่วเหลืองหมักน้ำคั้นจากเปลือกสับปะรดในอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตของลูกสุกรหยานม. แก่นเกษตร. 43(ฉบับพิเศษ 1): 433-438.
- ณฤพล ทรัพย์จอเพชร, สาลินี สาลิวงษ์ และ ดาวรุ่ง ศิลาอ่อน. 2556. ผลของการใช้กากถั่วเหลืองหมักในสูตรอาหารต่อสมรรถนะการเจริญเติบโตในสุกรรุ่น ว. วิทย. กษ. 44: 1 (พิเศษ): 311-314.
- รุ่งกานต์ กล้าหาญ และ บัญญัติ ศิริธนาวงศ์. 2558. ประสิทธิภาพการย่อยได้ของโปรตีนแบบ *in vitro* โดยเอนไซม์bromelain จากสับปะรดและเอนไซม์ในกระเพาะเดินอาหารกบนา. แก่นเกษตร. 43(ฉบับพิเศษ 1): 521-528.
- วราพันธุ์ จินตณวิชัย. 2546. การศึกษาปริมาณเอนไซม์โบรมิเลน องค์ประกอบทางเคมีจากน้ำคั้นสับปะรดและการนำไปใช้ประโยชน์ย่อยโปรตีนในกากถั่วเหลือง. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- วิมล แสนท้าว, กมลพร ชมภูพันธ์, ภรณีภา โพธิ์ศิริ และ ดาวรุ่ง ศิลาอ่อน. 2556. ผลของการใช้กากถั่วเหลืองหมักในสูตรอาหารต่อประสิทธิภาพการย่อยได้ของโภชนะในไก่เนื้อ. ว. วิทย.กษ. 44: 1 (พิเศษ): 287-290
- Adeyemo, S. M., and A. A. Onilude. 2013. Enzymatic Reduction of Anti-nutritional Factors in Fermenting Soybeans by *Lactobacillus plantarum* Isolates from Fermenting Cereals. Nigerian Food Journal. 31(2): 84-90.
- AOAC. 1990. Official Methods of Analysis, 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Virginia. 1141 pp.
- Chiu, S. T., Wong, S. L., Shiu, Y. L., Chiu, C. H., Guei, W. C., and Liu, C. H. 2016. Using a fermented mixture of soybean meal and earthworm meal to replace fish meal in the diet of white shrimp, *Penaeus vannamei* (Boone). Aquaculture Research. 47: 3,489-3,500.
- El-Sayed, A. F. M. 2006. Tilapia culture. CABI Publishing.
- Food and Agricultural Organization. 2014. Fishery and Aquaculture Statistics. Food and Agricultural Organization, Rome.
- Hassaan, M. S., Soltan, M. A., and A. M. Abdel-Moez. 2015. Nutritive value of soybean meal after solid state fermentation with *Saccharomyces cerevisiae* for Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. Animal Feed Science and Technology. 201: 89-98.
- 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 a meju, fermented soybean meal, and *Aspergillus oryzae* for juvenile parrot fish (*Oplegnathus fasciatus*). Asian-Australasian Journal of Animal Sciences. 22(6): 849-856.
- Luz, R. K., Ribeiro, P. A. P., Ikeda, A. L., Santos, A. E. H., Melillo Filho, R., Turra, E. M., and Teixeira, E. D. A. 2012. Performance and stress resistance of Nile tilapias fed different crude protein levels. Revista Brasileira de Zootecnia. 41(2): 457-461.
- MacNiven, A. M., and D. C. Little. 2001. Development and evaluation of a stress challenge testing methodology for assessment of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*, Linn.) fry quality. Aquaculture Research. 32(9): 671-679.
- Nation Reseach Concl (NRC). 1993. Nutrient Requirement of Fish. National Academy Press, Washington. DC. 114 pp.
- Thongrod, S. 2007. Analysis of feeds and fertilizers for sustainable aquaculture development in Thailand. FAO Fisheries Technical Paper. 497: 309-330.