รายงานการวิจัย

การใช้ถั่วเหลืองปรับปรุงคุณภาพด้วยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto ในอาหารเพื่อลดต้นทุนการผลิตปลากะพงขาว

Utilization of Soybean Meal Quality Improved by *Bacillus subtillis* var. natto in Diet for Cost Reduction of Asian Seabass (*Lates culcarifer* Bloch, 1970) Culture

วรวุฒิ เกิดปราง Worawut Koedprang

ปรีดา ภูมี Preeda Phumee

สุพัชชา ชูเสียงแจ้ว Supatcha Chooseanjaew

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล

งบประมาณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

ประจำปี พ.ศ. 2564

รายงานการวิจัย

การใช้ถั่วเหลืองปรับปรุงคุณภาพด้วยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto ในอาหารเพื่อลดต้นทุนการผลิตปลากะพงขาว

Utilization of Soybean Meal Quality Improved by *Bacillus subtillis* var. natto in Diet for Cost Reduction of Asian Seabass (*Lates culcarifer* Bloch, 1970) Culture

วรวุฒิ เกิดปราง Worawut Koedprang

ปรีดา ภูมี Preeda Phumee

สุพัชชา ชูเสียงแจ้ว Supatcha Chooseanjaew

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล

งบประมาณกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

ประจำปี พ.ศ. 2564

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประจำปีพุทธศักราช 2564 ผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ที่สนับสนุนทุนวิจัย และขอขอบคุณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในการสนับสนุนอุปกรณ์และสถานที่ในการวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณ ผู้ช่วยการวิจัย และนักศึกษาสาขาวิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง ที่ให้การสนับสนุนต่าง ๆ จนกระทั่งการวิจัยสำเร็จลุล่วง

วรวุฒิ เกิดปราง
ปรีดา ภูมี
สุพัชชา ชูเสียงแจ้ว
มีนาคม 2565

การใช้ถั่วเหลืองปรับปรุงคุณภาพด้วยแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto ในอาหารเพื่อลดต้นทุนการผลิตปลากะพงขาว

วรวุฒิ เกิดปราง[1] ปรีดา ภูมี[1] และ สุพัชชา ชูเสียงแจ้ว[1]

บทคัดย่อ

การเลี้ยงปลากะพงขาวระยะวัยรุ่นด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* var. natto (NT) ปริมาณโปรตีน 37 เปอร์เซ็นต์ ในกระชัง โดยแหล่งโปรตีนหลักของอาหารมาจากปลาป่น และใช้โปรตีนจากถั่วเหลืองป่นหมักแทนที่ในปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณโปรตีนในอาหาร เปรียบเทียบกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลาสด (TF) ในกระชังขนาดยาว 2 เมตร กว้าง 1.5 เมตร ลึก 2 เมตร อัตราการปล่อยปลาขนาด 10 เซนติเมตร จำนวน 100 ตัวต่อกระชัง ชุดการทดลองละ 4 ซ้ำ บริเวณพื้นที่เลี้ยงสัตว์น้ำกร่อย ชุมชนบ้านแหลม ตำบลวังวน อำเภอกันตัง จังหวัดตรัง เป็นเวลา 160 วัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองพบว่าน้ำหนัก อัตรารอดตาย ผลผลิตต่อกระชัง ของทุกชุดการทดลองไม่ความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ขณะที่ อัตราการเจริญเติบจำเพาะ อัตราการกินอาหาร อัตราการแลกเนื้อ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน ต้นทุนค่าอาหารต่อกระชัง และต้นทุนค่าอาหารต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า ถึงแม้ปลากะพงขาวมีประสิทธิภาพการใช้โปรตีนจากอาหาร NT ต่ำที่สุด แต่ปลามีอัตราแลกเนื้อไม่แตกต่างจากอาหาร CM และดีกว่าอาหาร TF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และอาหาร NT มีต้นทุนการผลิตอาหาร 33.20 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งต่ำกว่าอาหาร CM และ TF ที่มีราคา 50 และ 18 บาทต่อกิโลกรัม ตามลำดับ จึงทำให้ต้นทุนค่าอาหารต่อกระชัง และต้นทุนค่าอาหารต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม ต่ำที่สุด ดังนั้นอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* var. natto สามารถเป็นทางเลือกหนึ่งในการเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนค่าอาหารของเกษตรกรผู้เลี้ยงปลากะพงขาว

คำสำคัญ : เชื้อบาซิลลัส ถั่วเหลืองหมัก การเจริญเติบโต ปลากะพงขาว

[1]สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและผลิตภัณฑ์ประมง คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง

Utilization of Soybean Meal Quality Improved by *Bacillus subtillis* var. natto in Diet for Cost Reduction of Asian Seabass (*Lates culcarifer* Bloch, 1970) Culture

Worawut Koedprang[2] Preeda Phumee[1] and Supatcha Chooseanjaew[1]

Abstract

Cage culture of juvenile Asian seabass fed with *Bacillus subtilis* var. natto fermented soybean meal mixed feed (NT) was studied. The floating pellet diet with 37 percent of protein was produced. The 20 percent of protein from fish meal was replaced by protein of *B. subtilis* var. natto fermented soybean meal. The juvenile Asian seabass with 10 centimeters of length was cultured in cages at Ban Laem community, Wang Won sub-district, Kan Tang district, Trang Province, Thailand. The 2 meters of length and 1.5 meters of width of the net cage was contained 100 juvenile Asian seabass. The experimental feed (NT) was with the commercial pellet for seabass feed (CM) and trash fish (TF) with quadruplicate. Each feed was fed *ad libitum* once a day for 160 days. The results presented that, the final body weight, survival rate and total product per cage were not significant differences ($P>0.05$) while specific growth rate, feed conversion ratio (FCR), protein efficiency ratio (PER) and feed capital per cage and feed capital per kilogram of fish shown significant difference ($P<0.05$). Although, Asian seabass was fed with NT feed present lowest of PER but FCR was not different with CM feed and lower than TF feed ($P<0.05$). The cost of NT feed was 33.20 baht per kilogram which was lower than CM and TF feeds, 50 and 18 baht per kilogram, respectively. Therefore, the feed capital per cage and kilogram of fish were lowest ($P<0.05$). The *Bacillus subtilis* var. natto fermented soybean meal mixed feed can be an alternative feed for product increment and cost reduction of Asian seabass farmers.

Keyword: *Bacillus subtilis* var. natto, Fermented soybean meal, Growth performance, Asian Seabass, *Lates culcarifer*

[2] Department Aquaculture and Fishery Products, Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Trang Campus

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	(ก)
สารบัญตาราง	(ข)
สารบัญภาพ	(ค)
บทนำ	1
วัตถุประสงค์	6
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	6
วิธีดำเนินการวิจัย	7
ผลการวิจัย	11
วิจารณ์ผลการวิจัย	26
สรุปผลการวิจัย	28
เอกสารอ้างอิง	29

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบของวัตถุดิบอาหาร คุณค่าทางโภชนาการ (เปอร์เซ็นต์) และต้นทุนการผลิตของอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF)	8
2	น้ำหนักเริ่มต้น (Initial weight) น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง (Final weight) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตรารอดตาย (SR) ±SE ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน	12
3	อัตราการกินอาหาร (FI) อัตราแลกเนื้อ (FCR) และ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ±SE ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) ในอัตราส่วนที่ต่างกัน เป็นระยะเวลา 160 วัน	17
4	ผลผลิตต่อกระชัง ราคาอาหารปลา ต้นทุนค่าอาหารต่อกระชัง และต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต 1 กิโลกรัม ±SE ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) ในอัตราส่วนที่ต่างกัน เป็นระยะเวลา 160 วัน	22

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	น้ำหนักสิ้นสุดการทดลองเฉลี่ยของกะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน	13
2	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน	14
3	อัตรารอดตาย (SR) เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน	15
4	อัตราการกินอาหาร (FI) ต่อตัว เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน	18
5	อัตราแลกเนื้อ (FCR) เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน	19
6	ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน	20
7	ผลผลิตต่อกระชังเฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพง ขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน	23
8	ต้นทุนค่าอาหารต่อกระชังเฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพง ขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน	24

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
9	ต้นทุนค่าอาหารในการผลิตปลากะพงขาว 1 กิโลกรัม เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลือง ป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพง ขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน	25

บทนำ

ปลากะพงขาวเป็นปลาน้ำกร่อยที่นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายรวมทั้งทางภาคใต้ โดยส่วนใหญ่นิยมเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังบริเวณพื้นที่ติดชายฝั่งทะเล เป็นปลาที่ต้องการของตลาดและมีราคาสูง ประมาณกิโลกรัมละ 140–160 บาท ปัจจุบันได้มีการพัฒนาการผลิตอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาวเพื่อทดแทนการใช้ปลาสด ซึ่งผู้เลี้ยงมักประสบปัญหาปริมาณปลาสดไม่คงที่ตามฤดูกาล รวมทั้งคุณค่าทางโภชนาการของปลาสดที่จะเสื่อมสภาพลงตามวิธีการและระยะเวลาการเก็บรักษา ทำให้อาหารเม็ดสำเร็จรูปเป็นที่นิยมของเกษตรกรผู้เลี้ยงปลากะพงขาวเนื่องจากสะดวกในการให้อาหารและการเก็บรักษาและปลามีการเจริญเติบโตที่ดี อย่างไรก็ตามราคาของอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาวในปัจจุบันมีราคาค่อนข้างสูง ประมาณกิโลกรัมละ 50-60 บาท จึงทำให้ต้นทุนในการเลี้ยงสูงตามด้วย ทั้งนี้ต้นทุนการผลิตสัตว์น้ำประมาณ 50-70 เปอร์เซ็นต์ของทั้งหมดจะเป็นต้นทุนค่าอาหาร

การเลี้ยงปลากะพงขาวในจังหวัดตรังมีการเลี้ยงกระจายอยู่บริเวณพื้นที่ชายฝั่งทะเลปากแม่น้ำลำคลอง โดยชุมชนบ้านแหลม ตำบลวังวน อำเภอกันตัง จังหวัดตรัง เป็นอีกแหล่งที่มีการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังจำนวนมาก และจากการลงพื้นที่สำรวจ และสอบถามจากเกษตรกรผู้เลี้ยงปลากะพงขาว พบว่าเกษตรกรบางส่วนมีการเลี้ยงปลาโดยใช้อาหารสำเร็จรูปที่จำหน่ายในท้องตลาด ถึงแม้จะทำให้ปลามีการเจริญเติบโตที่ดีก็ตาม แต่ก็มักประสบปัญหาราคาอาหารที่แพง ทำให้ได้กำไรจากผลผลิตในอัตราที่ต่ำ ขณะที่เกษตรกรบางรายไม่สามารถแบกรับต้นทุนค่าอาหารสำเร็จรูปซึ่งมีราคาแพงได้ เพราะอาหารสำเร็จรูปอย่างน้อยต้องซื้อครั้งละกระสอบ ซึ่งก็เป็นเงินที่สูงจำนวนหนึ่ง เกษตรกรกลุ่มนี้จึงยังคงใช้วิธีการให้อาหารแบบดั้งเดิม โดยการใช้ปลาสดเป็นอาหารสำหรับปลากะพงขาว สามารถซื้อได้ในแต่ละวันซึ่งมีราคาที่ไม่สูงนักโดยไม่ต้องใช้ต้นทุนล่วงหน้าเช่นเดียวกับการซื้ออาหารเม็ดสำเร็จรูป แต่อย่างไรก็ตามการเจริญเติบโตของปลากะพงขาวดังกล่าวก็ไม่ดีเท่าที่ควร เนื่องจากคุณค่าทางโภชนาการของปลาสดที่แตกต่างกันตามชนิดของปลา การเสื่อมสภาพลงตามวิธีการและระยะเวลาการเก็บรักษา และเมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงและคำนวณต้นทุนค่าอาหาร พบว่าต้นทุนการเลี้ยงก็ยังคงสูงเช่นเดียวกัน

การผลิตอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาวโดยใช้ถั่วเหลืองป่นผ่านการปรับปรุงคุณภาพด้วยเชื้อ *Bacillus. subtilis* var. natto ทดแทนปลาป่นในปริมาณที่เหมาะสม เพื่อเป็นการเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหารให้สูงขึ้น และลดต้นทุนค่าอาหาร ซึ่งจากการศึกษาเบื้องต้นในการใช้ถั่วเหลืองป่นหมักดังกล่าว สามารถเพิ่มการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลากะพงขาวในการเลี้ยงในห้องปฏิบัติการได้ (ข้อมูลยังไม่ตีพิมพ์) ดังนั้นหากสามารถผลิตอาหารที่มีคุณภาพเหมาะสมกับการเจริญเติบโตของปลากะพงขาว แต่มีต้นทุนในการผลิต

ต่ำจะเป็นการช่วยลดต้นทุนในการเลี้ยงและส่งผลให้ผู้เลี้ยงปลากะพงขาวมีผลกำไรจากการเลี้ยงเพิ่มมากขึ้น

ถั่วเหลืองป่นและกากถั่วเหลืองเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชที่นิยมนำมาใช้เป็นวัตถุดิบเพื่อทดแทนปลาป่นในอาหารปลากะพงขาว แต่อย่างไรก็ตามกากถั่วเหลืองมีสารต้านโภชนะ (anti-nutritional factors: ANFs) ได้แก่ protease inhibitors, lectins, saponins, antivitamins และสารอื่น ๆ ที่มีผลต่อการใช้ประโยชน์ของสารอาหารในสัตว์น้ำ ปริมาณการใช้กากถั่วเหลืองในอาหารจึงถูกจำกัด เพราะถ้าผสมในอาหารสัตว์น้ำในปริมาณมากเกินไปจะทำให้การกินอาหารและความสามารถในการย่อยอาหารลดลง ส่งผลให้สัตว์น้ำเจริญเติบโตโตช้าลง ซึ่งการทำลายสารต้านโภชนะในถั่วเหลืองดังกล่าวสามารถกระทำได้หลายวิธี เช่น การใช้ความร้อน รังสีอินฟราเรด สารเคมี แต่วิธีการดังกล่าวอาจทำลายสารอาหารหรือสาร อื่น ๆ ที่เป็นประโยชน์แก่สัตว์น้ำด้วย ขณะที่วิธีการหมักด้วยจุลินทรีย์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่นอกจากสามารถลดหรือทำลายสารต้านโภชนะต่าง ๆ ในถั่วเหลืองแล้ว จุลินทรีย์ยังช่วยในการย่อยโมเลกุลของโปรตีนในกากถั่วเหลืองให้มีขนาดเล็กลงทำให้สัตว์น้ำนำไปใช้ประโยชน์ได้ดีขึ้น รวมทั้งสร้างสารที่ช่วยในการใช้ประโยชน์จากอาหารหรือสารที่เป็นประโยชน์โดยตรงต่อสัตว์น้ำ ซึ่งจุลินทรีย์ที่มีการนำมาใช้ในการย่อยวัตถุดิบอาหาร ได้แก่ จุลินทรีย์กลุ่มแบคทีเรียในสกุล *Bacillus* กลุ่มราในสกุล *Aspergillus*, *Rhizopus* และ *Mucor* เป็นต้น

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto เป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ชนิดหนึ่งที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่นมีการใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในการผลิตถั่วเหลืองหมักนัตโตะ (natto) ซึ่งเป็นอาหารหมักพื้นถิ่นของญี่ปุ่นมาเป็นระยะเวลานาน และปัจจุบันได้มีแพร่หลายในหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทย นัตโตะเป็นอาหารหมักที่มีกลิ่นและรสชาติเฉพาะตัวจากสารไพราซีน (pyrazine) ซึ่งมีกลิ่นคาวคล้ายเนื้อสัตว์ที่ได้จากการหมัก นอกจากนี้ *B. subtilis* var. natto ยังมีคุณสมบัติในการทำลายสารต้านโภชนะ และทำให้โมเลกุลของโปรตีนในถั่วเหลืองมีขนาดเล็กลงเช่นเดียวกับคุณสมบัติของจุลินทรีย์ตามที่ได้กล่าวข้างต้น ดังนั้นจึงได้ศึกษาการใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติของเชื้อ *B. subtilis* var. natto ในการหมักถั่วเหลืองป่นเพื่อเป็นการปรับปรุงคุณภาพของวัตถุดิบอาหารให้มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ของปลากะพงขาว รวมถึงการใช้คุณสมบัติของกลิ่นเฉพาะตัว เป็นส่วนผสมในอาหารเพื่อลดปริมาณการใช้ปลาป่น เพิ่มอัตราการกินอาหาร การเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลากะพงขาว และส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนในการเลี้ยงปลากะพง อีกทั้งยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้กับสัตว์น้ำ อื่น ๆ ต่อไป

การกำจัดสารต่อด้านโภชนะในวัตถุดิบอาหารจึงเป็นแนวทางหนึ่งที่จะทำให้การใช้วัตถุดิบอาหารให้มีประสิทธิภาพและไม่เกิดผลเสียกับสัตว์น้ำ มีด้วยกันหลายวิธี เช่น การให้ความร้อน (Barrows *et al*., 2007) การให้ความร้อนด้วยหม้อนึ่งความดัน 15-30 นาที สามารถลดปริมาณของ trypsin ininbitors ในกากถั่วเหลืองให้ต่ำกว่าระดับวิกฤต (Norton, 1991) การใช้ความร้อนร่วมกับตัวทำละลายเพื่อสกัดเฉพาะโปรตีนข้นจากถั่วเหลือง (Cheeke and Shull, 1985) การใช้รังสีอินฟราเรด (Gomes *et al*., 1995) แต่ Francis *et al.* (2001) กล่าวว่าการใช้ความร้อนควรกระทำอย่างระมัดระวัง เนื่องจากความร้อนนอกจากจะทำลายสารต้านโภชนะต่าง ๆ ยังมีผลต่อคุณภาพของสารอาหารในวัตถุดิบอาหารด้วย เช่น การเสื่อมสภาพของกรดอะมิโนไลซีนส่งผลต่อการนำไปใช้ประโยชน์ได้ลดลง

การหมักด้วยจุลินทรีย์ (fermentation) เป็นอีกวิธีที่สามารถลดปริมาณสารด้านโภชนะกากถั่วเหลืองได้ (Francis *et al*., 2001) โดยแบคทีเรียจะใช้น้ำตาลจากพืชโดยการย่อยเซลลูโลส และคาร์โบไฮเดรตให้มีโมเลกุลเล็กลง เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานและสร้าง volatile fatty acids (VFAs) เช่น กรดอะซีติก กรดแลคติก และกรดโปรปิโอนิค เป็นต้น ที่สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียได้ ช่วยรักษาคุณค่าทางอาหารไม่ให้สูญสลาย และสามารถเก็บอาหารหมักไว้ได้นานโดยไม่ต้องใช้วิธีการถนอมอื่น ๆ (Moran, 2005; Chiba *et al*., 2005) และโปรตีนในวัตถุดิบอาหารจะถูกย่อยกลายเป็นกรดอะมิโน (Allagheny *et al*., 1996) นอกจากนี้แบคทีเรียหลายชนิดที่ใช้ในการหมักสามารถสร้างวิตามิน เช่น *Lactobacillus* sp. สร้างกรดโฟลิค และวิตามินบี 3 และการหมักในสภาวะที่เหมาะสมจะช่วยเพิ่มความอยากอาหารและเพิ่มประสิทธิภาพการย่อยอาหารให้แก่สัตว์ได้ การหมักยังช่วยลดสารต้านโภชนะ (antinutritional factors; ANFs) ในวัตถุดิบอาหารจากผลของกรดแลคติก (Cruz *et al*., 2011) รวมทั้งลดความเป็นพิษของสารไนเตรทที่สะสมอยู่ในพืชที่ได้รับการใส่ปุ๋ยมากเกินไป (FAO, n.d.) การศึกษาของ Hong *et al.* (2004) พบว่าทำให้ขนาดโมเลกุลเปปไทด์ (peptide) มีขนาดเล็กลงด้วยการใช้เชื้อรา *Aspegillus oryzea* หมักถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองมีผลทำให้ มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าถั่วเหลืองและกากถั่วเหลืองที่ไม่ผ่านการหมัก 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถกำจัดสาร trypsin inhibitors และทำให้ขนาดของเปปไทด์ที่น้อยกว่า 20 kDa มีปริมาณมากขึ้น และลดปริมาณเปปไทด์ขนาดมากกว่า 60 kDa ขณะที่การหมักวัตถุดิบอาหารด้วย *Bacillus subtilis* พบว่ามีการผลิตสาร protease, amylase และ lipase ซึ่งมีความสำคัญต่อการปรับปรุงการเจริญเติบโตและการป้องกันโรคในสัตว์ (Santoso *et al*., 2001)

ในการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำมีการศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองหมักด้วยแบคทีเรีย *Bacillus spp*. ผสมในอาหารเพื่อทดแทนการใช้ปลาป่น เช่น ในปลา rainbow trout (Yamamoto *et al*., 2010) ปลา red sea bream, *Pagrus major* (Kader *et al*., 2011) และการใช้อาหารผสมกากถั่วเหลืองที่หมักด้วยเชื้อรา *A. oryzae* และอาหารผสมเชื้อราโดยตรง มีผลทำให้ปลามีการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร จำนวนเม็ดเลือดแดง ปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) สูงกว่ากลุ่มควบคุม ในปลานกแก้ว, *Oplegnathus fasciatus* (Kim *et al*., 2009) และปลา flounder, *Paralichthys olivaceus* (Kim *et al*., 2010) เป็นต้น

เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto เป็นแบคทีเรียที่มีประโยชน์ชนิดหนึ่งที่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค โดยเฉพาะในประเทศญี่ปุ่นมีการใช้แบคทีเรียชนิดนี้ในการผลิตถั่วเหลืองหมักนัตโต (natto) ซึ่งเป็นอาหารหมักพื้นถิ่นของญี่ปุ่นมาเป็นระยะเวลานาน และปัจจุบันได้มีแพร่หลายในหลายประเทศ รวมทั้งประเทศไทย นัตโตะเป็นอาหารหมักที่มีกลิ่นและรสชาติเฉพาะตัวจากสารไพราซีน (pyrazine) ซึ่งมีกลิ่นคาวคล้ายเนื้อสัตว์ที่ได้จากการหมัก (นพมณีรัตน์, 2554) นอกจากนี้ *B. subtilis* var. natto ยังมีคุณสมบัติในการทำลายสารต้านโภชน และทำให้โมเลกุลของโปรตีนในถั่วเหลืองมีขนาดเล็กลงเช่นเดียวกับคุณสมบัติของจุลินทรีย์ตามที่ได้กล่าวข้างต้น (Weng and Chen, 2010)

การศึกษาผลการหมักถั่วเหลืองด้วยแบคทีเรีย *B. subtilis* var. natto พบว่ามีการสร้างสารต่าง ๆ เช่น isoflavones, γ-PGA, nattokinase และ oligopeptides สาร proteases ที่สร้างโดย *B. subtilis* var. natto สามารถย่อยโปรตีนถั่วเหลืองให้เป็นโพลีเปบไทด์ (polypeptides) โอลิโกเปบไทด์ (oligopeptides) และกรดอะมิโนอิสระ (Spellman *et al*., 2003) Weng and Chen (2010) กล่าวว่า การหมักโปรตีนถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *B. subtilis* var. natto ทำให้เกิดสาร TCA-N (trichloroacetic acid soluble nitrogen) และค่าระดับการย่อยสลาย (degree of hydrolysis; DH) ของโปรตีนเพิ่มสูงขึ้น และยังทำให้ปริมาณกรดอะมิโนไม่จำเป็น (NAAs) เพิ่มขึ้น ได้แก่ Glu (+0.5%), Ala (+46%), Gly (+50%) และ Pro (+56.2%) และกรดอะมิโนจำเป็น (EAAs) หลายชนิดเพิ่มขึ้นด้วย ได้แก่ Leu (+64.8%), Lys (+64.8%), Ile (+64.8%), Val (+93.6%), Thr (20.6%), Tyr (+69.2%), Phe (+82.9%), Cys (+10%) และ Met (+91.5%) และการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีผลให้โมเลกุลของโปรตีนถูกย่อยเหลือเฉพาะโมเลกุลที่มีขนาดไม่เกิน 20 kDa เท่านั้น นอกจากนี้การหมักถั่วเหลืองด้วย *B. subtilis* var. natto ยังให้สารไพราซีน (pyrazine) ที่มีกลิ่นเฉพาะตัว มีความ

คาวคล้ายเนื้อสัตว์ โดยในอุตสาหกรรมอาหารมีการใช้อนุพันธ์ของไพราซีนในการแต่งกลิ่นเนื้อ และอาหารกลิ่นอบย่าง (นพมณีรัตน์, 2554) มีการใช้เชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* var. natto เป็นโพรไบโอติกในอาหารสัตว์อย่างกว้างขวาง (Giang *et al*., 2011) เช่น ในเป็ด Muscovy, *Cairina moschata* (Sheng *et al*., 2013) ไก่ (Fujiwara *et al*., 2008; Chen *et al*., 2009) สุกร (Sheng *et al*., 2016) ในสัตว์น้ำมีการผสมเชื้อ *B. subtilis* var. natto ในอาหารปลาเฉา (*Ctenopharyngodon idella*) พบว่าปลามีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น ขณะที่อัตราการแลกเนื้อลดต่ำลงเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม (Li *et al*., 2017) และในกุ้งขาวแวนนาไมที่ได้รับอาหารผสมเชื้อ *B. subtilis* var. natto มีการเจริญเติบโตและผลผลิตที่ดีกว่ากลุ่มควบคุม เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ protease ในระบบทางเดินอาหารที่มีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น (Liu *et al*., 2009)

ดังนั้นจึงได้ศึกษาการใช้ประโยชน์จากคุณสมบัติของเชื้อ *Bacillus subtilis* var. natto ในการหมักถั่วเหลืองป่นเพื่อเป็นการปรับปรุงคุณภาพของวัตถุดิบอาหารให้มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการนำไปใช้ประโยชน์ของปลากะพงขาว รวมถึงการใช้คุณสมบัติของกลิ่นเฉพาะตัว เป็นส่วนผสมในอาหารเพื่อลดปริมาณการใช้ปลาป่น เพิ่มอัตราการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลากะพงขาวระยะวัยรุ่น และส่งผลต่อการเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนในการเลี้ยงปลากะพง อีกทั้งยังสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตอาหารสำหรับสัตว์น้ำอื่น ๆ ต่อไป

วัตถุประสงค์

เพื่อศึกษาการเจริญเติบโต อัตรารอดตาย ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และต้นทุนการผลิตปลากะพงขาว ที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto เปรียบเทียบกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว และเศษปลา

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบประสิทธิภาพของอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto ในการเลี้ยงปลากะพงขาว

2. ทราบต้นทุนการผลิตปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยของอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto

3. เป็นแนวทางในการเพิ่มศักยภาพและพัฒนาการเพิ่มผลผลิต ลดต้นทุน ในเพาะเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง และสัตว์น้ำอื่น ๆ ต่อไป

วิธีการดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมถั่วเหลืองป่นหมัก

1.1 เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto

ทำการแยกเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* var. natto โดยดัดแปลงวิธีการของ Weng and Chen (2010) จากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองหมักญี่ปุ่น (natto) ที่จำหน่ายทั่วไปตามห้างสรรพสินค้า เลี้ยงใน brain heart infusion agar (BHIA) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C จนเชื้อเจริญบนอาหาร แล้วเลี้ยงต่อใน brain heart infusion broth (BHIB)) บ่มที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 18 ชั่วโมง นำหัวเชื้อที่เลี้ยงตามเวลาที่กำหนดเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ ที่มีส่วนผสม NaCl 0.85 เปอร์เซ็นต์ และ peptone 1 เปอร์เซ็นต์ ให้มีปริมาณเชื้อ ประมาณ 10^9 cfu/มิลลิลิตร

1.2 การผลิตถั่วเหลืองป่นหมักด้วย *Bacillus subtilis* var. natto

ทำการผลิตถั่วเหลืองป่นหมัก โดยดัดแปลงวิธีการหมักของ Weng and Chen (2010) นำถั่วเหลืองป่นเติมน้ำในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง นึ่งฆ่าเชื้อถั่วเหลืองป่น ที่ 121 °C เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้อุณหภูมิลดลงที่ 40 °C เติมเชื้อแบคทีเรีย *B. subtilis* var. natto ที่เตรียมไว้ในข้อ ปริมาณ 5 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัม บ่มถั่วเหลืองป่นที่ 47 °C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการหยุดกิจกรรมแบคทีเรียโดยการนำถั่วเหลืองหมักแช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส วิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการของถั่วเหลืองหมักและไม่หมัก ได้แก่ ปริมาณโปรตีน ด้วยวิธี Kjeldahl ไขมัน ด้วยวิธี Soxhlet ความชื้น และเถ้า (AOAC, 1990) เพื่อนำไปคำนวณส่วนผสมในการผลิตอาหารปลากะพงขาวต่อไป

2. การศึกษาการใช้อาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto ในการเลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง

2.1 ผลิตอาหารเม็ดชนิดลอยน้ำ ผสมถั่วเหลือป่นหมักด้วยด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) ที่มีปริมาณโปรตีน 40 เปอร์เซ็นต์ โดยใช้ปลาป่นเป็นแหล่งโปรตีนหลักของสูตรอาหาร และใช้ถั่วเหลืองหมักเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto แทนปลาป่น 20 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนในอาหารเพื่อใช้ในการทดสอบการเลี้ยง (ตารางที่ 1)

2.2 เลี้ยงปลากะพงขาวในกระชังขนาดยาว 2 เมตร กว้าง 1.5 เมตร ลึก 2 เมตร อัตราการปล่อยปลาขนาด 10 เซนติเมตร จำนวน 100 ตัวต่อกระชัง (ประมาณ 33 ตัว ต่อตารางเมตร) โดยเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยอาหารเม็ดผสมถั่วเหลืองป่นหมัก (NT) เปรียบเทียบกับอาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลาสด (TF) โดยเกษตรกรผู้เลี้ยงปลากะพงขาวในกระชัง บริเวณชุมชนบ้าน

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของวัตถุดิบอาหาร คุณค่าทางโภชนาการ (เปอร์เซ็นต์) และต้นทุนการผลิตของอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF)

วัตถุดิบ (%)	สูตรอาหาร		
	NT	CM*	TF
ปลาป่น	47	NA	NA
ถั่วเหลืองป่นหมัก	14	NA	NA
รำละเอียด	6.80	NA	NA
ปลายข้าว	20	NA	NA
กากปาล์ม	3	NA	NA
ข้าวโพดป่น	4	NA	NA
แป้งมันสำปะหลัง	1	NA	NA
น้ำมันพืช	3.40	NA	NA
วิตามินรวม[a]	0.40	NA	NA
แร่ธาตุรวม[b]	0.40	NA	NA
โปรตีน	36.79	37.32	11.62
ไขมัน	4.06	10.14	1.74
เถ้า	16.20	7.16	2.05
ความชื้น	5.26	6.94	81.97
พลังงาน (MJ ต่อกิโลกรัม)	16.55	19.20	3.41
ต้นทุน (บาทต่อกิโลกรัม)	33.20	50	18

[a] 1 กิโลกรัมของวิตามินรวมประกอบด้วย vitamin A 10,000,000 IU, D3 2,000,000 IU, E 1,500 IU, thiamine 2 กรัม riboflavin 2.5 กรัม pantothenic acid 14 กรัม pyridoxine 2 กรัม cyanocobalamin 10 มิลลิกรัม folic 0.5 กรัม niacin 12 กรัม K_3 2 กรัม และ C 20 กรัม

[b] 1 กิโลกรัมของแร่ธาตุรวมประกอบด้วย Ca 100,000 มิลลิกรัม P 80,000 มิลลิกรัม Cu 2,500 มิลลิกรัม Fe 1,200 มิลลิกรัม Mn 1,200 มิลลิกรัม Zn 1,540 มิลลิกรัม K 260 มิลลิกรัม I 740 มิลลิกรัม Mg 2,160 มิลลิกรัม Se 10 มิลลิกรัม และ Co 240 มิลลิกรัม

NA หมายถึง ไม่มีข้อมูล

*อาหารสูตร CM มีส่วนผสมของ ปลาป่น เศษเหลือปลาหมึก แป้งสาลี กากถั่วเหลือง น้ำมันปลา วิตามิน แร่ธาตุ และสารถนอมคุณภาพอาหารสัตว์

แหลม ตำบลวังวน อำเภอกันตัง จังหวัดตรัง จำนวนชุดการทดลองละ 4 กระชัง ทำการเลี้ยงเป็นระยะเวลา 160 วัน

2.3 การเก็บข้อมูล

1) การเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ชั่งน้ำหนักของปลาแต่ละตัวเมื่อสิ้นสุดการทดลอง เพื่อใช้คำนวณการเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate; SGR) และบันทึกปริมาณอาหารที่กิน (Feed intake: FI) ของปลาแต่ละหน่วยการทดลอง เพื่อคำนวณอัตราแลกเนื้อ (Feed conversion ratio: FCR) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficiency ratio; PER)

2) ตรวจนับจำนวนปลาแต่ละหน่วยการทดลอง เพื่อหาอัตราการรอดตาย (Survival rate; SR)

3) บันทึกปริมาณผลผลิต และรายได้จากผลผลิต

4) เปรียบเทียบผลกำไรจากการเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักอาหารเม็ดสำเร็จรูป และปลาสด

5) คำนวณค่าต่าง ๆ ข้างต้น โดยใช้สูตร ดังนี้

การเจริญเติบโตจำเพาะ (Specific growth rate: SGR)

$$SGR = \frac{\ln(\text{น้ำหนักปลาสิ้นสุดการทดลอง}) - \ln(\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น}) \times 100}{\text{จำนวนวันที่เลี้ยงปลา}}$$

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficiency ratio: PER)

$$PER = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}{\text{ปริมาณโปรตีนที่ปลากิน}}$$

อัตราการกินอาหาร (Feed intake: FI)

$$FI\ (\text{กรัม/ตัว}) = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด}}{\text{จำนวนปลาทั้งหมด}}$$

อัตราแลกเนื้อ (Feed conversion ratio: FCR)

$$FCR = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กินต่อตัว}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นต่อตัว}}$$

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (Protein efficiency ratio: PER)

$$PER = \frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้นต่อตัว}}{\text{ปริมาณโปรตีนที่ปลากิจต่อตัว}}$$

อัตรารอดตาย (Survival rate: SR)

$$SR\ (\%) = \frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มทดลอง}} \times 100$$

2.4 ทำการวิเคราะห์ข้อมูลน้ำหนัก ความยาว อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อปลา ประสิทธิภาพการใช้อาหาร อัตรารอดตาย และต้นทุนการผลิต โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ 1 ปัจจัย ตามแผนการทดลองแบบ CRD (One-way Analysis of Variance in Complete Randomize Design) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วย DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ผลการวิจัย

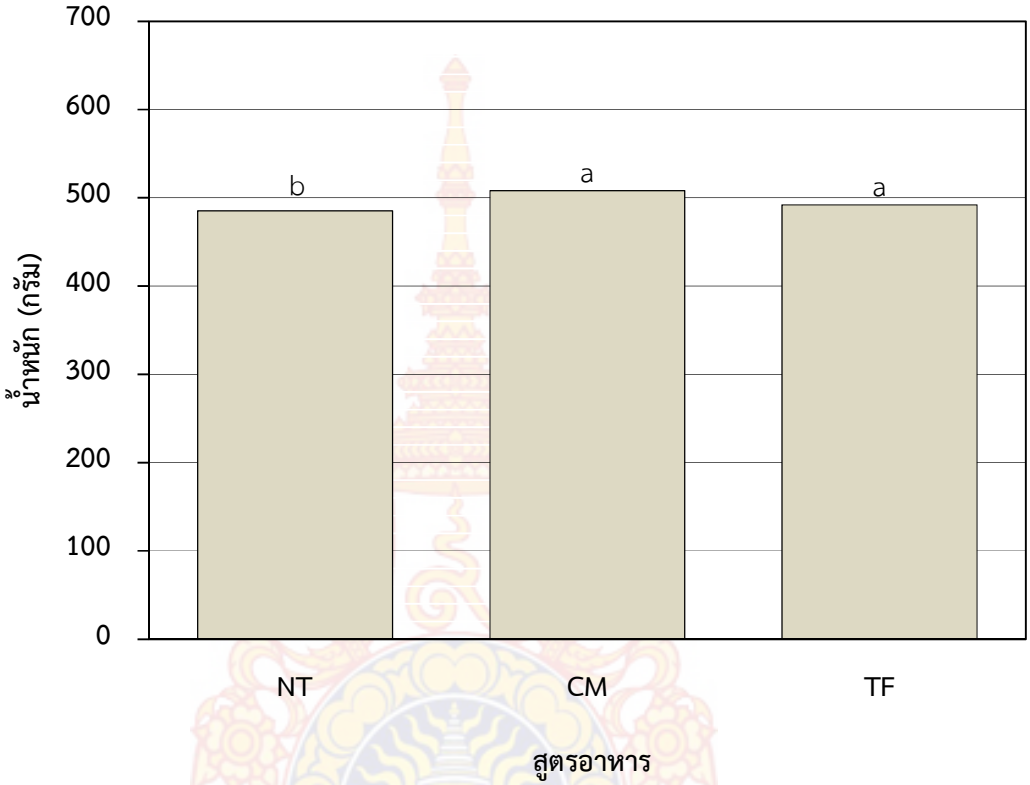
การเจริญเติบโตและอัตรารอดตายของปลากะพงขาว

ปลากะพงขาวเมื่อเริ่มทดลองมีน้ำหนักเฉลี่ย (Initial weight) ระหว่าง 37.00-38..18 กรัม ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเลี้ยงเป็นระยะเวลา 160 วัน พบว่าปลากะพงขาวมีการเจริญเติบโตเพิ่มขึ้น (ตารางที่ 2) โดยมีน้ำหนักเฉลี่ย (Final weight) ระหว่าง 485-508 กรัม (ภาพที่ 1) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ระหว่าง 1.45-1.59 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน (ภาพที่ 2) และอัตรารอดตาย (SR) ระหว่าง 67.83-73.83 เปอร์เซ็นต์ (ภาพที่ 3) โดยเมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลาสด (TF) มีน้ำหนักเฉลี่ย 485, 508 และ 492 กรัม ตามลำดับ และมีอัตรารอดตายเฉลี่ย 67.83, 68.20 และ 73.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ขณะที่อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะมีค่าเฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร CM และ TF มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.59 และ 1.55 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แต่สูงกว่าปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร NT ที่มีค่าเฉลี่ย 1.54 เปอร์เซ็นต์ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 น้ำหนักเริ่มต้น (Initial weight) น้ำหนักสิ้นสุดการทดลอง (Final weight) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และอัตรารอดตาย (SR) ±SE ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน

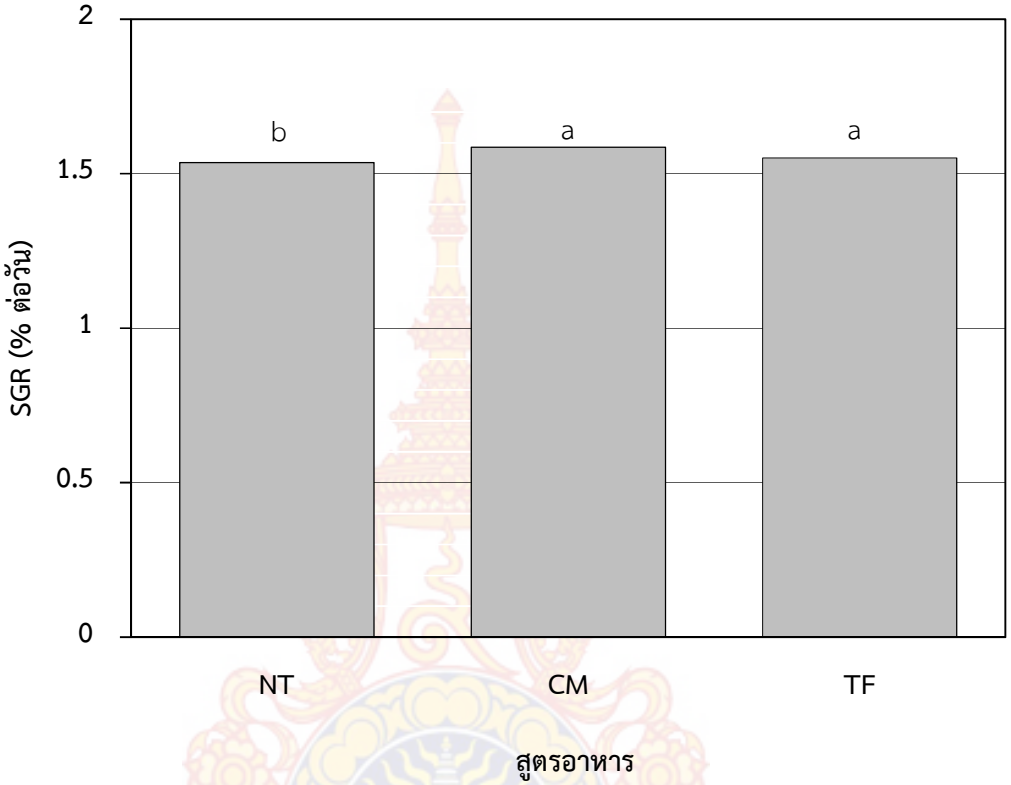
สูตรอาหาร	การเจริญเติบโต			SR (%)
	Initial weight (g)	Final weight (g)	SGR (% day^{-1})	
NT	38.18±0.20[a]	485±14.17[a]	1.54±0.02[b]	67.83±0.31[a]
CM	37.00±0.34[a]	508±23.30[a]	1.59±0.3[a]	68.20±2.27[a]
TF	37.82±0.41[a]	492±18.51[a]	1.55±0.3[a]	73.83±2.21[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันท้ายตัวเลขในสดมภ์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



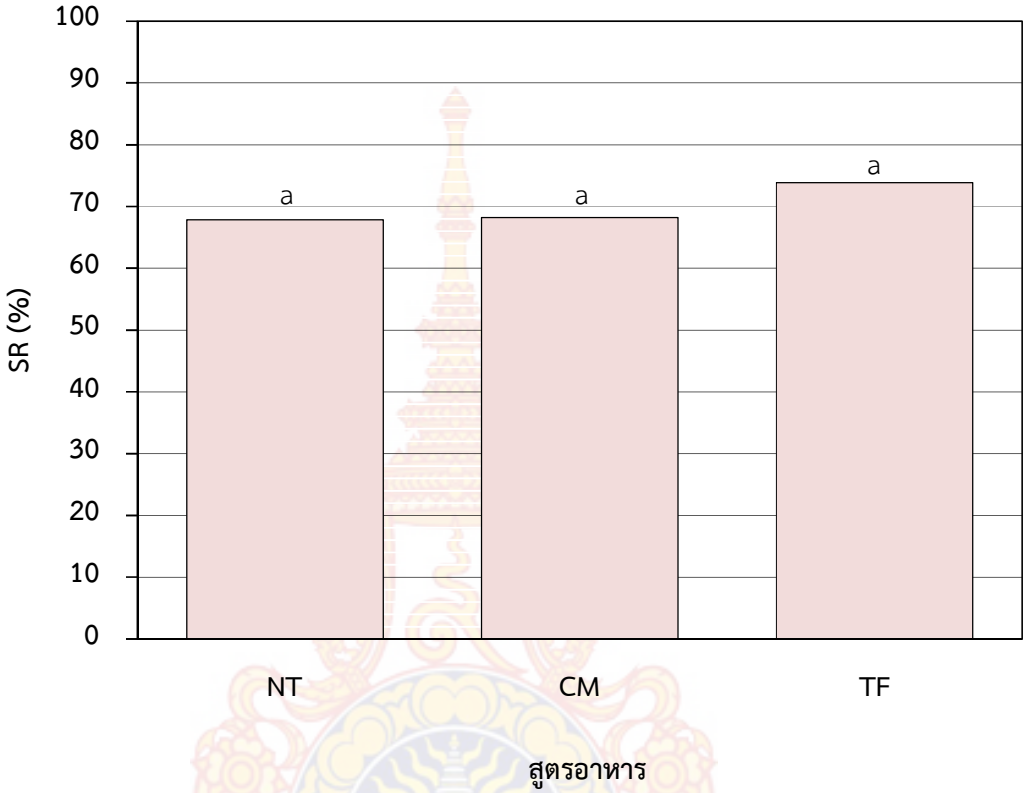
ภาพที่ 1 น้ำหนักสิ้นสุดการทดลองเฉลี่ยของกะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 2 อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 3 อัตรารอดตาย (SR) เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ประสิทธิภาพการใช้อาหารของปลากะพงขาว

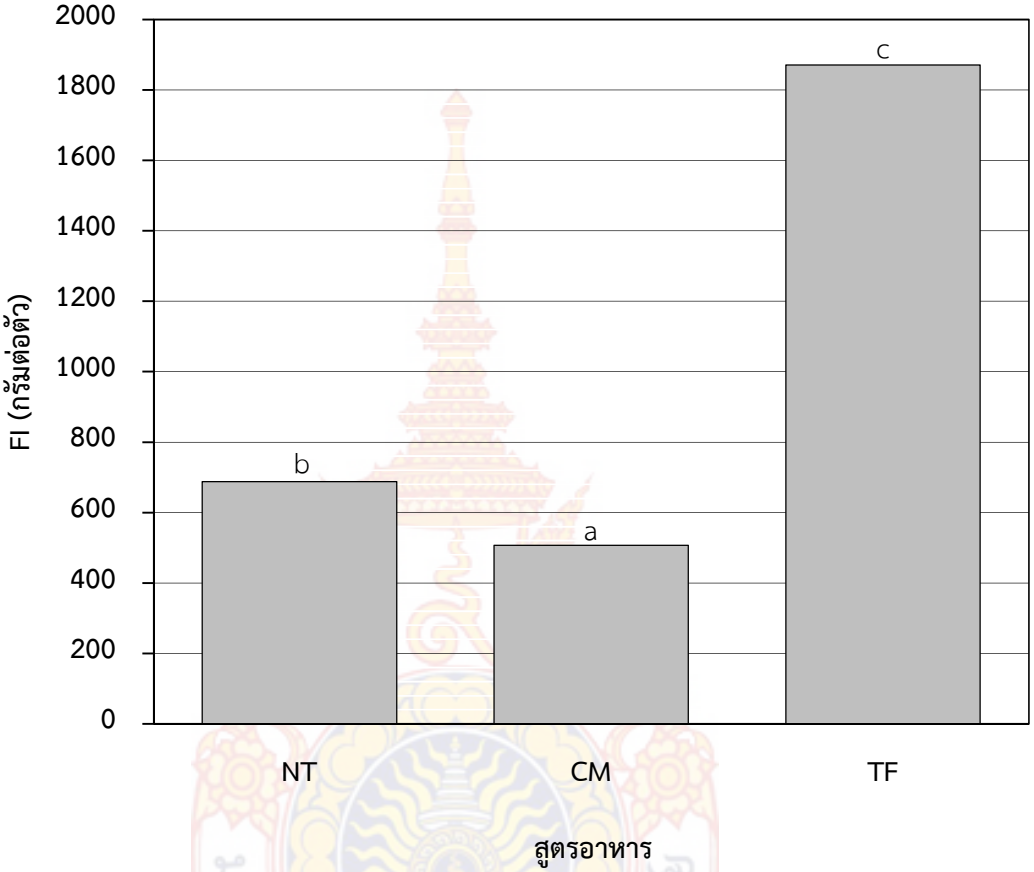
ปลากะพงขาวตลอดการเลี้ยง 160 วัน มีอัตราการกินอาหาร (FI) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ทุกสูตร โดยปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลาสด (TF) มีอัตราการกินอาหารเฉลี่ย 687.64, 506.73 และ 1,870.38 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 3 และภาพที่ 4) และเมื่อคำนวณอัตราแลกเนื้อ (FCR) ปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร NT และ CM มีอัตราแลกเนื้อเฉลี่ย 1.55 และ 1.23 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) แต่ทั้งสองสูตรต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) เมื่อเทียบกับอัตราแลกเนื้อของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร TF ที่มีค่าเฉลี่ย 4.15 (ตารางที่ 3 และภาพที่ 5)

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร NT, CM และ TF มีค่าเฉลี่ย 1.77, 2.21 และ 2.21 ตามลำดับ โดยค่า PER ของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร CM และ TF สูงกว่าปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร NT อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ดังตารางที่ 3 และภาพที่ 6

ตารางที่ 3 อัตราการกินอาหาร (FI) อัตราแลกเนื้อ (FCR) และ ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ±SE ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) ในอัตราส่วนที่ต่างกัน เป็นระยะเวลา 160 วัน

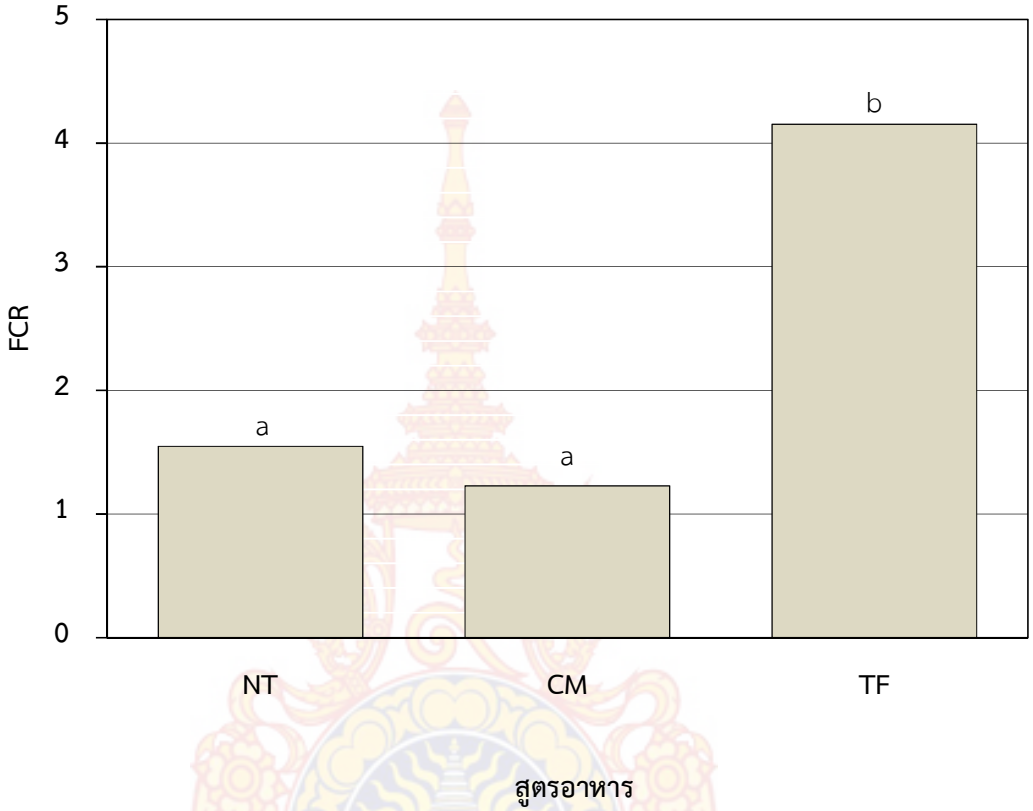
สูตรอาหาร	ประสิทธิภาพการใช้อาหาร		
	FI (กรัมต่อตัว)	FCR	PER
NT	687.64±6.57^{b}	1.55±0.05^{a}	1.77±0.06^{b}
CM	506.73±16.30^{a}	1.23±0.07^{a}	2.21±0.12^{a}
TF	1,870.38±42.80^{c}	4.15±0.19^{b}	2.09±0.09^{a}

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันท้ายตัวเลขในสดมภ์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



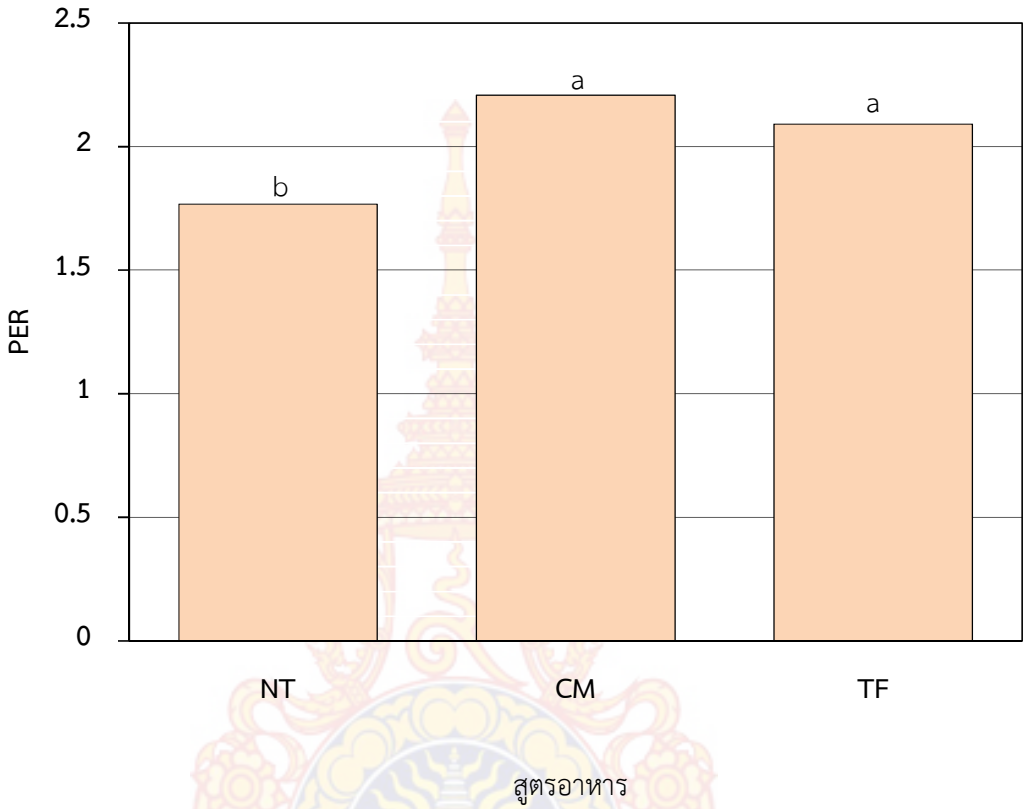
ภาพที่ 4 อัตราการกินอาหาร (FI) ต่อตัว เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 5 อัตราแลกเนื้อ (FCR) เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 6 ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ นัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

ผลผลิตและต้นทุนการผลิต

ปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลาสด (TF) เป็นเวลา 160 วัน มีผลผลิตรวมเฉลี่ย 33.51, 34.65 และ 36.42 กิโลกรัมต่อกระชัง ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ดังตารางที่ 4 และภาพที่ 7 ซึ่งมีต้นทุนค่าอาหารต่อกระชังเฉลี่ย 1,559.63, 1,947,80 และ 2,482.93 บาทต่อกระชัง ตามลำดับ โดยอาหารทุกสูตรมีต้นทุนค่าอาหารต่อกระชังแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) และปลาที่เลี้ยงด้วยอาหาร NT มีต้นทุนต้นค่าอาหารต่อกระชังต่ำที่สุด (ตารางที่ 4 และภาพที่ 8)

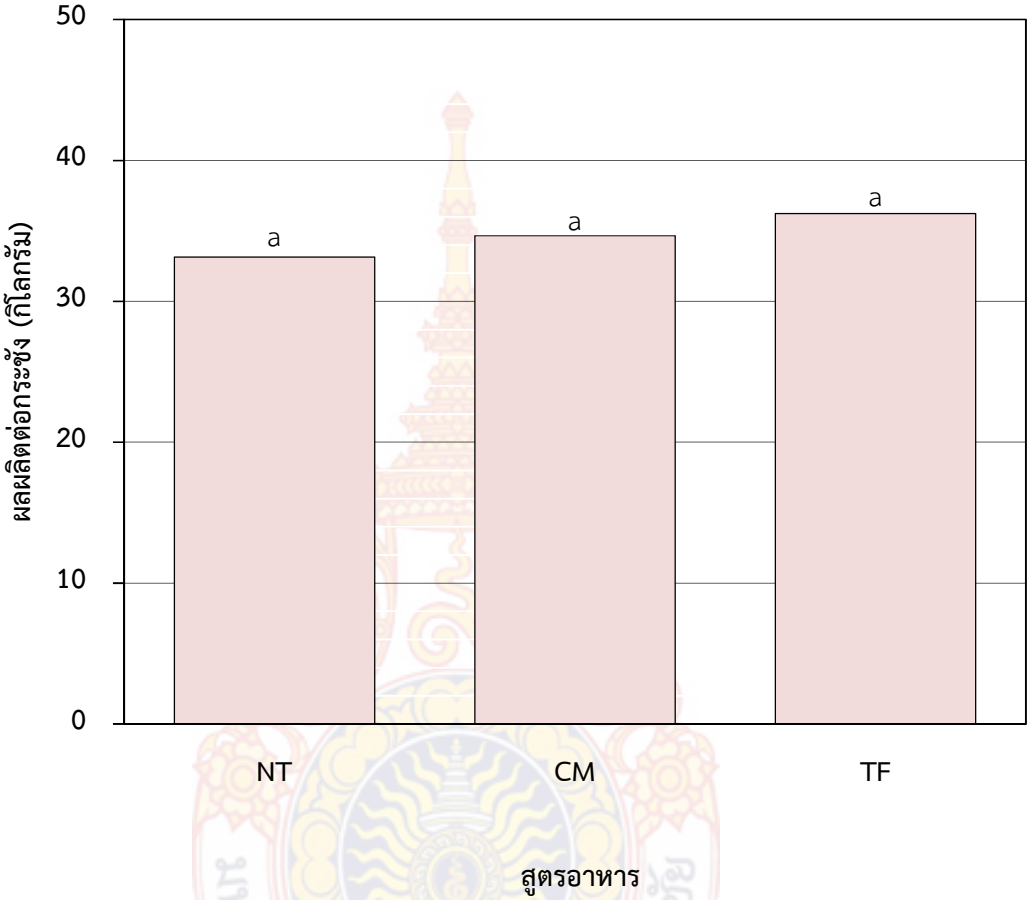
เมื่อคำนวณต้นทุนค่าอาหารในการเลี้ยงปลากะพงขาว โดยคำนวณจากราคาอาหารที่ผลิตและอัตราแลกเนื้อ พบว่า ต้นทุนค่าอาหารในการผลิตปลากะพงขาวน้ำหนัก 1 กิโลกรัม ของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร NT เฉลี่ย 51.36 บาทต่อปลา 1 กิโลกรัม ซึ่งต่ำกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เมื่อเทียบกับต้นทุนค่าอาหารของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร CM และ TF ที่มีต้นทุนค่าอาหารเฉลี่ย 61.44 และ 74.75 บาทต่อปลา 1 กิโลกรัม (ตารางที่ 4 และภาพที่ 9)

ตารางที่ 4 ผลผลิตต่อกระชัง ราคาอาหารปลา ต้นทุนค่าอาหารต่อกระชัง และต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต 1 กิโลกรัม ±SE ของปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) ในอัตราส่วนที่ต่างกัน เป็นระยะเวลา 160 วัน

สูตรอาหาร	ผลผลิตต่อกระชัง (กิโลกรัม)	ต้นทุนค่าอาหาร (บาทต่อกระชัง)	ต้นทุนค่าอาหาร (บาทต่อปลา 1 กิโลกรัม)[1]
NT	33.51±1.06 [a]	1,559.63±13.57[a]	51.36±1.70[a]
CM	34.65±1.95[a]	1,947.80±22.79[b]	61.44±3.48[b]
TF	36.42±1.46 [a]	2,482.93±76.42[c]	74.75±3.34[c]

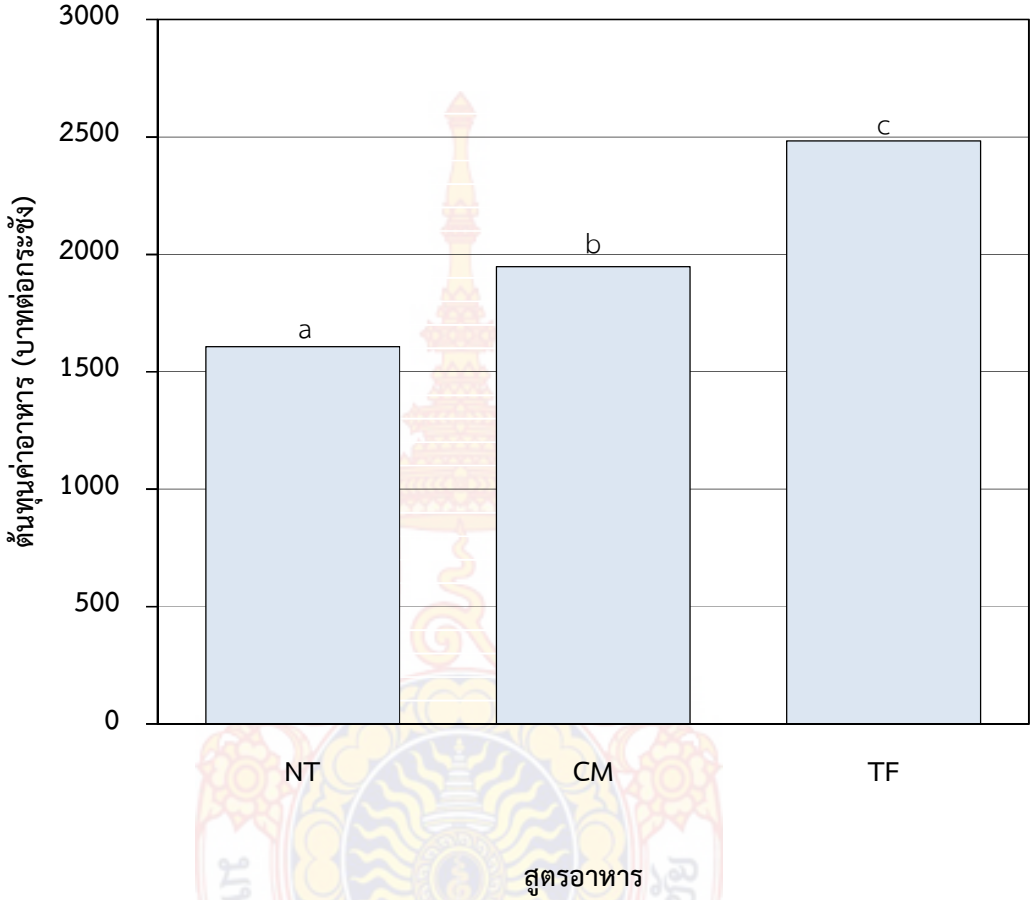
หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันท้ายตัวเลขในสดมภ์เดียวกันแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

[1] ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลา 1 กิโลกรัม คำนวณจากค่า FCR



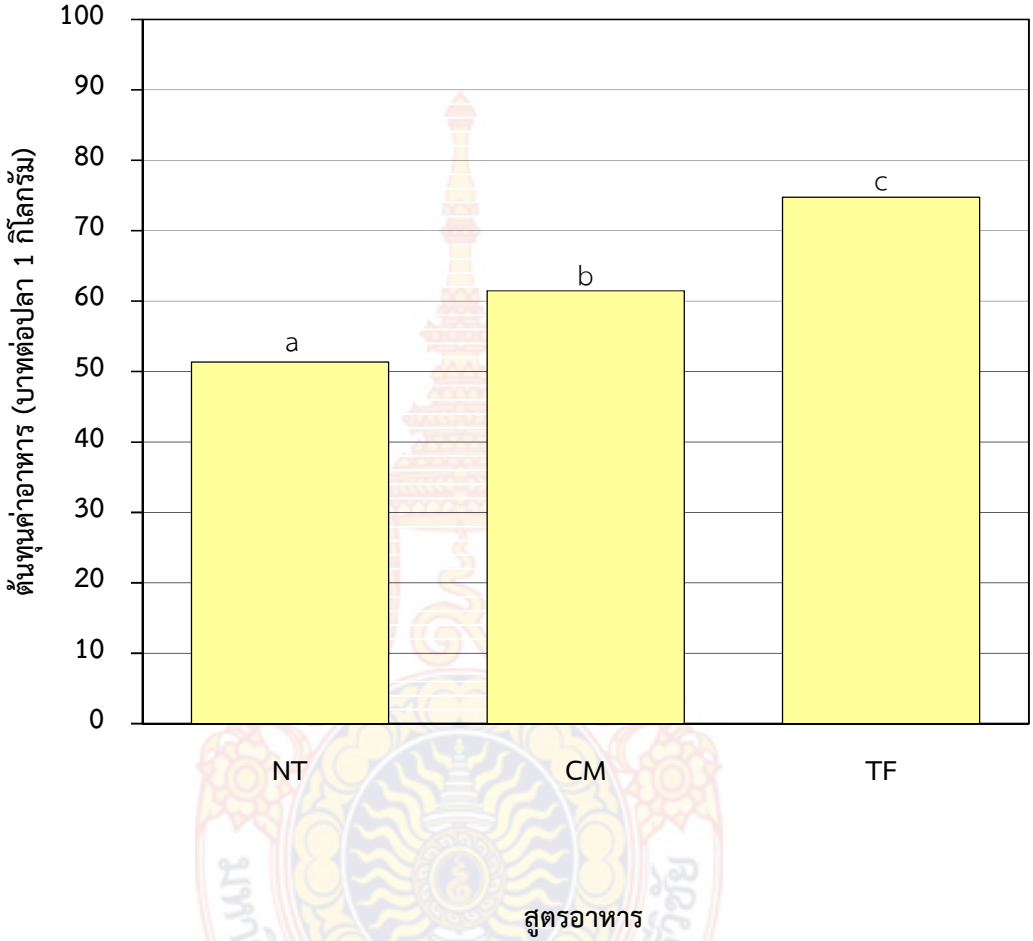
ภาพที่ 7 ผลผลิตต่อกระชังเฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพง ขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 8 ต้นทุนค่าอาหารต่อกระชังเฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพง ขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ นัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 9 ต้นทุนค่าอาหารในการผลิตปลากะพงขาว 1 กิโลกรัม เฉลี่ยของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมถั่วเหลือง ป่นหมักด้วยเชื้อแแบคทีเรีย *Bacillus subtilis* var. natto (NT) อาหารสำเร็จรูปสำหรับปลากะพง ขาว (CM) และเศษปลา (TF) เป็นระยะเวลา 160 วัน

หมายเหตุ ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันบนแท่งกราฟแสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

วิจารณ์ผลการวิจัย

การทดลองเลี้ยงปลากะพงขาวด้วยอาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* var. natto (NT) เปรียบเทียบกับอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) พบว่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะเฉลี่ย (SGR; % ต่อวัน) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) แต่อย่างไรก็ตามน้ำหนักตัวเฉลี่ยเมื่อสิ้นสุดการทดลองของปลากะพงขาวแต่ละกลุ่ม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งรวมถึงอัตรารอดตายที่ไม่มีควาแตกต่างกันทางสถิติเช่นกัน และพบว่าปลากะพงขาวที่กินอาหาร NT มีอัตราการกินอาหารเฉลี่ยต่อตัว สูงกว่าปลากะพงขาวที่กินอาหาร CM แต่ต่ำกว่าปลาที่กินอาหาร TF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ขณะที่อัตราการแลกเนื้อ (FCR) ปลากะพงขาวที่กินอาหาร NT และ CM ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แต่ต่ำกว่าปลาที่กินอาหาร TF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ทั้งนี้เนื่องจากอาหาร NT และ CM มีประมาณโปรตีนรวมในอาหารใกล้เคียงกัน คือ 36.79 และ 37.32 เปอร์เซ็นต์ ขณะที่อาหาร TF เป็นเศษปลาสด มีประมาณโปรตีนรวม 11.62 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 1) จึงทำให้ปลากะพงขาวในระยะการเลี้ยง (grow-out stage) ที่มีความต้องการโปรตีนประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ (Boonyaratpalin and Williams, 2002) ต้องกินอาหารในปริมาณมากขึ้น เพื่อให้ได้ปริมาณโปรตีนตามที่ร่างกายต้องการ จึงส่งผลให้ FCR ของปลาที่กินอาหาร TF สูงขึ้นด้วยเช่นกัน

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) ของปลากะพงขาวในการทดลองครั้งนี้ ปลากะพงขาวที่กินอาหาร NT มีค่า PER ต่ำกว่าปลาที่กินอาหาร CM และ TF อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ทั้งนี้เนื่องจากโดยธรรมชาติปลากะพงขาวเป็นปลาในกลุ่มกินเนื้อ (carnivorous) ที่กินปลาอื่นเป็นอาหารและสามารถย่อยและใช้โปรตีนจากสัตว์ได้ดี (Petersen *et al*., 2011) จึงทำให้ประสิทธิภาพในการใช้โปรตีนจากเศษปลา (TF) ดีกว่าปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร NT ขณะที่ Thompsom *et al*. (2008) พบว่าปลา Sunshine bass ซึ่งเป็นปลากินเนื้อ มีความสามารถในการย่อยอาหารที่มีส่วนประกอบของปลาป่น ได้ดีกว่ากากถั่วเหลืองป่น และเช่นเดียวกัน Mundheim *et al*. (2004) รายงานว่า ปลาแซลมอล (*Salmo salar*) สามารถย่อยโปรตีนจากปลาป่นได้ดีกว่าโปรตีนจากพืช ซึ่งในอาหาร CM ที่ใช้เลี้ยงปลากะพงขาวในการทดลองนี้ แหล่งโปรตีนหลักมากจากปลาป่น และเศษปลาหมึก และกากถั่วเหลือง แต่ในอาหาร NT มีทดแทนปริมาณปลาป่นในสูตรอาหารด้วยกากถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* var. natto ปริมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ของโปรตีนจากปลาป่น และส่วนประกอบจากพืชอื่น ๆ ได้แก่ ปลายข้าว รำข้าว กากเมล็ดปาล์ม และข้าวโพดป่น จึงทำให้

ประสิทธิภาพการใช้โปรตีนจากอาหารของปลากะพงขาวต่ำกว่าอาหารชนิดอื่น ถึงแม้การใช้ถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* var. natto เป็นส่วนประกอบของอาหารปลากะพงขาว และมีผลให้ประสิทธิภาพการการใช้โปรตีนจากอาหารสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุมที่ใช้กากถั่วเหลืองป่นไม่หมักตาม (วรวุฒิ และปรีดา, 2564) แต่ประสิทธิภาพการย่อยและการใช้โปรตีนจากกากถั่วเหลืองป่นก็ยังไม่สูงเท่าปลาป่น

ปลากะพงขาวที่ได้รับอาหารแต่ละกลุ่มจะมีอัตราการกินอาหาร (FI) อัตราการแลกเนื้อ (FCR) และประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (PER) แตกต่างกัน (ตารางที่ 3) แต่เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตต่อกระชังปลากะพงขาวแต่ละกลุ่มมีผลผลิตต่อกระชังไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แต่เมื่อคำนวณต้นทุนค่าอาหารในการผลิตปลากะพงขาวต่อกระชัง และต่อน้ำหนักปลา 1 กิโลกรัม พบว่าต้นทุนค่าอาหารของปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร NT ต่ำกว่าปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร CM และ TF ตามลำดับ (ตารางที่ 4) โดยปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร NT มีต้นทุนค่าอาหารต่ำกว่า ปลากะพงขาวที่เลี้ยงด้วยอาหาร CM และ TF ประมาณ 20 และ 35 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เนื่องจากอาหาร NT มีต้นทุนการผลิตอาหาร 33.20 บาทต่อกิโลกรัม ขณะที่อาหาร CM มีราคา 50 บาทต่อกิโลกรัม และถึงแม้ว่าอาหาร TF จะมีราคาที่ต่ำที่สุด คือ 18 บาทต่อกิโลกรัม แต่อาหาร TF มีปริมาณโปรตีนที่ต่ำกว่า (ตารางที่ 1) ทำให้อัตราการกินอาหาร (FI) และอัตราแลกเนื้อสูง (FCR) ขึ้นด้วย จึงทำให้มีต้นทุนค่าอาหารในการเลี้ยงสูงที่สุดในการทดลองครั้งนี้

สรุปผลการวิจัย

จากผลการวิจัยในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้อาหารผสมถั่วเหลืองป่นหมักด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* var. natto (NT) ในการเลี้ยงปลากะพงขาว ให้ผลผลิตปลากะพงขาวไม่แตกต่างกับการเลี้ยงด้วยอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับปลากะพงขาว (CM) และเศษปลา (TF) แต่ใช้ต้นทุนค่าอาหารตลอดการเลี้ยงต่ำที่สุด จึงน่าจะเป็นอีกทางเลือกที่เกษตรกรผู้เลี้ยงปลากะพงขาวนำมาใช้เลี้ยงปลากะพงขาวเพื่อลดต้นทุน และเพิ่มรายได้ให้สูงขึ้นต่อไป

เอกสารอ้างอิง

นพมณีรัตน์ ลีลาวิวัฒน์. 2554. การผลิตสารให้กลิ่นรสซาโวรี่ด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์บาซิลลัส โดยการหมักในอาหารเหลว. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยศิลปากร.

วรวุฒิ เกิดปราง และ ปรีดา ภูมี. 2564. การเพิ่มประสิทธิภาพการใช้ถั่วเหลืองในอาหารปลากะพงขาวด้วยเชื้อ Bacillus subtilis var. natto. รายงานการวิจัย. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. 31 น.

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.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis (Volume 1). 15th ed. Association of Official Analytical Chemists, Inc. Verginia, USA.

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.

Boonyaratpalin, M. and Williams, K. 2002. Asian Sea Bass, *Lates calcarifer*. *In* Webster, C. D. and Lim, C. E. eds. Nutrient Requirements and Feeding of Finfish for Aquaculture. CABI Publishing. Alabama, USA. 40-50 pp.

Cheeke R. P. and Shull L. R. 1985. Natural Toxicants in Feeds and Poisonous Plants. AVI Publishing Company, Westport, Connecticut. 492 p.

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.

Chen K. L., Kho W. L., You S. H., Yeh R. H., Tang S. W. and Hsieh C. W. 2009. Effects of *Bacillus subtilis* var. natto and *Saccharomyces cerevisiae* mixed fermented feed on the enhanced growth performance of broilers. Poultry Sci. 88: 309–315.

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(11): Article No. 239. [online] http://www.lrrd.org/lrrd23/11/cruz23239.htm (accessed on May 7, 2020)

Food and Agriculture Organization of the United Nations. n.d. Silage making for small scale farmers. United States Agency for International Development. [online] http://pdf.usaid.gov/pdf_docs/PNADQ897.pdf (accessed on May 7, 2020)

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.

Fujiwara K., Miyaguchi Y., Toyoda A., Nakamura Y., Yamazaki M., Nakashima K. and Abe H. 2008. Effect of fermented soybean "Natto" supplement on egg production and qualities. Asian-Aust. J. Anim. Sci. 21(11): 1610–1615.

Giang H. H., Viet T. Q., Ogle B., and Lindberg J. E. 2011. Effects of supplementation of probiotics on the performance, nutrient digestibility and fecal microflora in growing-finishing pigs. Asian Australas J Anim Sci. 24: 655–661.

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. 13: 177-186.

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.

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 J. Anim. Sci. 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.

Li Z. J., Chen Y. H., Zhang J. Z., Zhu X., Zhang J. S., Chen D. X., Wang K. Z., Hu Y., Chu W. Y. 2017. Effects of dietary *Bacillus natto* supplementation on growth performance and the growth related gene microRNA expression in the skeletal muscle of grass carp (*Ctenopharyngodon idella*). Aquaculture Nurtition. 23(1): 46-53.

Liu C.H., Chiu C. H., Ho P. L. and Wang S. W. 2009. Improvement in the growth performance of white shrimp, *Litopenaeus vannamei*, by a protease-producing probiotic, *Bacillus subtilis* E20, from natto. Journal of Applied Microbiology. 107: 1031–1041.

Merrifield D. L., Dimitroglou A., Bradley G., Baker R. T. M., and Davies S. J. 2009. Soybean meal alters autchthonous 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.

Petersen E. H., Chinh D.T.M., Diu N.T., Phuoc V.V., Phuong T.H., Dung N.V., Dat N.K., and Giang P.T. 2011. Bioeconomics of Asian seabass, *Lates calcarifer*, culture in Vietnam. Available at https://www.researchgate.net/publication/265277722.

Santoso U, Tanaka K, Ohaniand S and Saksida M. 2001. Effect of fermented product from *Bacillus subtilis* on feed efficiency, lipid accumulation and ammonia production in broiler chicks. Asian-australasian. J. Anim. Sci. 14: 333-337.

Sheng Q. T., Xiao Y. D., Chun M. J., Jing J. P., Shan S. L. and Jin D. C. 2013. Effect of *Bacillus subtilis* natto on growth performance in Muscovy ducks. Brazilian J. Poultry Sci. 15(3): 169-286.

Sheng Q. K., Zhou K. F., Hu H. M., Zhao H. B., Zhang Y. and Ying W. 2016. Effect of *Bacillus subtilis* natto on meat quality and skatole content in TOPIGS Pigs. Asian-Australasian J. Anim. Sci. 29(5): 716-721.

Spellman, D., McEvoy, E., O'Cuinn, G. and FitzGerald, R. J. 2003. Proteinase and exopeptidase hydrolysis of whey protein: Comparison of the TNBS, OPA, and pH stat methods for quantification of degree of hydrolysis. Int. Dairy J. 13: 447-453.

Thompson, K. R., Rawles, S. D., Metts, L. S., Smith, R. G., Wimsatt, A., Gannam, A. L., Twibell, R. G., Johnson, R. B., Brady, Y. J. and Webster, C. D. 2008. J. World Aquaculture. Society. 39(3): 352-363.

Weng T. M. and Chen M. T. 2010. Changes of protein in natto (a fermented soybean food) affected by fermenting time. Food Sci. Technol. Res. 16(6): 537-542.

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.* Aquaculture 309(1): 173-180.