การใช้กากถั่วเหลืองหมักด้วย *Bacillus subtilis* TJ-C9 ในอาหารสุกรอนุบาล

Use of fermented soybean meal with *Bacillus subtilis* TJ-C9 in nursery pigs diets

วรารักษ์ ถาวรนาน[1], อรประพันธ์ ส่งเสริม[1], สุรพันธ์ จิตวิริยนนท์[1] และนวลจันทร์ พารักษา[1*]

Wararak Thavonnan[1], Ornprapan Songserm[1], Surapan Jitviriyanon[1] and Nuanchan Paraksa[1*]

บทคัดย่อ: การศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 ในอาหารสุกรอนุบาล ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงรวมทั้งการใช้ประโยชน์ของสารอาหารหลังการหมัก ผลพบว่ากากถั่วเหลืองหมักมีโปรตีน ไขมัน และพลังงานรวมเพิ่มขึ้น 3.5, 13.59 และ 8.77% ตามลำดับ และปริมาณสารยับยั้งทริปซิน สารเบตา- คอนไกลซินิน สตาไชโอสและราฟฟิโนส ลดลง 81.8, 36.1, 80.0 และ 99.9% ตามลำดับ ส่งผลให้สุกรอนุบาลสามารถใช้ประโยชน์จากสารอาหารได้เพิ่มขึ้น โดยมีค่าการย่อยได้ของโปรตีนเพิ่มขึ้นจาก 73.86 เป็น 78.56% และค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้เพิ่มขึ้นจาก 3,237 เป็น 3,562 กิโลแคลลอรี่/กก. เมื่อเทียบกับกากถั่วเหลืองก่อนการหมัก นอกจากนี้ทำการศึกษาการใช้กากถั่วเหลืองหมักทดแทนแหล่งโปรตีนต่างๆ ในอาหารสุกรอนุบาล โดยใช้สุกรลูกผสม อายุ 4 สัปดาห์ จำนวน 420 ตัว แบ่งเป็น 5 กลุ่มๆ ละ 6 ซ้ำๆ ละ 14 ตัว สุ่มสุกรให้ได้รับอาหารทดลองดังนี้ สูตร 1 อาหารควบคุมใช้ผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง (กากถั่วเหลืองกับถั่วเหลืองอบ) ปลาป่น และกากถั่วเหลืองหมักเอนไซม์ สูตร 2-5 อาหารที่ใช้กากถั่วเหลืองหมักทดแทนโปรตีนจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลือง ปลาป่นที่ระดับ 50% และ 100 % และกากถั่วเหลืองหมักเอนไซม์ ตามลำดับ พบว่าสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสุกรในช่วงอายุ 5-9 สัปดาห์ มีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่างกลุ่มทดลอง แต่การใช้กากถั่วเหลืองหมักทดแทนโปรตีนจากผลิตภัณฑ์ถั่วเหลืองมีผลทำให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของสุกรดีขึ้น 5.3% โดยสรุปการหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 ช่วยปรับปรุงคุณภาพของกากถั่วเหลืองและสามารถใช้ทดแทนแหล่งโปรตีนคุณภาพดีในอาหารสุกรอนุบาลได้

คำสำคัญ: กากถั่วเหลืองหมัก, *Bacillus subtilis*, สารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะ, สุกรอนุบาล

ABSTRACT: The utilization of fermented soybean meal (FSBM) with *B. subtilis* TJ-C9 in nursery-pigs diet, was assessed in this study. Changing of nutritional composition and the anti-nutritive factors (ANFs) content, as well as the nutrients utilization in weaning pigs were investigated. Fermentation with *B. subtilis* TJ-C9 increased the concentration of crude protein, ether extract and gross energy in soybean meal (SBM) by 3.50, 13.59 and 8.77%, respectively, compared with the unfermented SBM. Moreover, the contents of trypsin inhibitors, β-conglycinin, stachyose and raffinose were clearly decreased by

Received July 25, 2019

Accepted October 2, 2019

[1]ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร กำแพงแสน มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน จ.นครปฐม 73140

Department of Animal Science, Faculty of Agriculture at KamphaengSaen, Kasetsart University KamphaengSaen Campus,Nakonpathom, 73140

* Corresponding author: agrnupa@ku.ac.th

81.82, 36.13, 80.00 and 99.93%, respectively. The reduction of ANFs led to the improvement of the protein digestibility from 73.86 to 78.56% and the metabolizable energy (ME) from 3,237 to 3,562 kcal/kg. Furthermore, the effects of replacing dietary different protein sources with FSBM on growth performances of nursery pigs were also studied. A total of 420 piglets aged 4 weeks was divided into five groups and six replicates with 14 pigs per each, which was randomly fed one of these experimental diets; a control diet based on soy protein (SBM and extruded soybean), fish meal and enzyme-treated SBM (diet 1), replacing protein sources in control diet with FSBM; soy proteins(diet 2), 50% fish meal (diet 3), 100% fish meal (diet 4) and enzyme-treated SBM (diet 5), respectively. Results showed that the growth performances in term of the average daily gain, average feed intake and the feed conversion ratio of piglets in period 5-9 weeks of age were not significantly different among groups. However, replacement of FSBM for soy protein provided the better feed conversion ratio by 5.3%. In conclusion, fermentation of soybean meal with *B. subtilis* TJ-C9 improved the nutritional quality of SBM and therefore, fermented SBM can be used as high quality protein source in nursery pigs diet.
Keyword: fermented soybean meal, *Bacillus subtilis*, anti-nutritive factors, nursery pigs

บทนำ

ลูกสุกรในช่วงหย่านมเป็นช่วงเวลาที่เกิดความเครียดเนื่องจากปัจจัยต่างๆ ส่งผลทำให้การกินอาหารและอัตราการเจริญเติบโตต่อวันลดลง (Pluske et al., 1997) ซึ่งปริมาณการกินอาหารต่อวันถูกจำกัดด้วยประสิทธิภาพการย่อยอาหารของลูกสุกร การเลือกใช้วัตถุดิบที่ย่อยง่ายในสูตรอาหารจึงเป็นสิ่งสำคัญในการดูแลลูกสุกรระยะนี้ (Whittemore, 1993) การใช้แหล่งโปรตีนจากสัตว์แม้ว่าจะมีคุณภาพดี แต่อาจพบการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *Escherichia coli* หรือ *Salmonella* spp. ซึ่งสามารถก่อให้เกิดโรคระบบทางเดินอาหารในสุกร ส่งผลให้สัตว์มีการเจริญเติบโตลดลง (สีทอง, 2540) ในขณะที่วัตถุดิบกลุ่มโปรตีนจากพืชโดยเฉพาะกลุ่มผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลือง มักพบปัญหาการมีสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะ (anti-nutritive factors) จึงเป็นข้อจำกัดในการใช้ในอาหารสุกรหลังหย่านม (Qin et al., 1996) เนื่องจากสุกรระยะนี้มีการพัฒนาของระบบทางเดินอาหารยังไม่สมบูรณ์ ส่งผลให้มีการเจริญเติบโตต่ำลงและเกิดโรคในระบบทางเดินอาหาร (Lalles, 1993) การลดปริมาณสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะในผลิตภัณฑ์จากถั่วเหลืองสามารถกระทำได้หลายวิธี อาทิ การผ่านความร้อนที่เหมาะสม (Baker, 2000) หรือการใช้เอนไซม์ (Cervantes-pahm and Stein, 2010) เป็นต้น การหมักกากถั่วเหลืองด้วยจุลินทรีย์เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถลดสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะได้ (Jones et al., 2010) อีกทั้งช่วยเพิ่มเปปไทด์ขนาดเล็ก (small peptide) (Hong et al., 2004) ปรับปรุงสัณฐานวิทยาและการทำงานของเอนไซม์ภายในลำไส้ให้ดีขึ้นกว่าการใช้กากถั่วเหลือง (Feng et al., 2007a) และมีการรายงานว่าสามารถใช้ทดแทนโปรตีนจากเนื้อไก่ป่น และผลพลอยได้จากสัตว์ปีก โดยไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิต (Rojas and Stein, 2015) ทั้งนี้จุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักกากถั่วเหลืองมีหลายชนิด ทั้ง แบคทีเรีย เชื้อรา และยีสต์ ซึ่งส่งผลให้กากถั่วเหลืองหมักที่ได้มีคุณค่าทางโภชนะแตกต่างกัน (Cervantes-pahm and Stein, 2010; Chen et al.,2010) เชื้อ *Bacillus subtilis* เป็นแบคทีเรียที่สามารถสร้างสปอร์ได้ทำให้ทนต่อความเป็นกรดและสภาวะภายในกระเพาะอาหาร (Barbosa et al., 2005) ช่วยเพิ่มการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในกลุ่ม Lactobacilli (Hosoi et al., 2000) และลดปริมาณจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น *E. coli* (Hu et al., 2014) การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 ซึ่งเป็นสายพันธุ์หนึ่งที่ได้รับการพัฒนาจากสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ เพื่อต้องการปรับปรุงคุณภาพของกากถั่วเหลืองให้ดีขึ้น การทดลองนี้จึงมีวัตถุประสงค์ในการศึกษาการใช้ประโยชน์ของกากถั่วเหลืองที่หมักด้วย *B. subtilis* TJ-C9 เพื่อเป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสำหรับสุกรอนุบาล

อุปกรณ์และวิธีการ

การศึกษาการใช้ประโยชน์ของกากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารลูกสุกรอนุบาลได้แบ่งการดำเนินการเป็น 3 ส่วนคือ 1) การเปลี่ยนแปลงของสารอาหารและปริมาณสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะภายหลังการหมัก 2) ค่าการใช้ประโยชน์ของสารอาหารในกากถั่วเหลืองหมัก และ 3) ผลการใช้กากถั่วเหลืองหมักทดแทนแหล่งโปรตีนคุณภาพดีในอาหารสุกรอนุบาล

การเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางอาหารและสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะ

ทำการตรวจวัดคุณค่าทางโภชนะและสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะของกากถั่วเหลืองทั้งก่อนและหลังการหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 โดยการวิเคราะห์องค์ประกอบทางโภชนะของกากถั่วเหลือง คือ วัตถุแห้ง, ความชื้น,โปรตีน, ไขมัน, เยื่อใย, เถ้า, แคลเซียม และฟอสฟอรัสรวม (AOAC, 1990) พลังงานรวมโดยใช้ Bomb calorimeter (อังคณา และ ดวงสมร, 2532) นอกจากนี้ทำการวัดปริมาณสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (AOCS Ba 12-75, 1998), เบตา-คอนไกลซินิน (Van Biert and Hessing, 1993) และโอลิโกแซคคาร์ไรด์ (Rocklin et al., 1998)

ค่าการย่อยได้ของโปรตีนและค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของกากถั่วเหลืองหมัก

การศึกษาค่าการย่อยได้แบบปรากฏตลอดระบบทางเดินอาหาร (Apparent total tract digestibility) ของโปรตีนและค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของกากถั่วเหลืองก่อนและหลังการหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 ใช้สุกรลูกผสม (พันธุ์ดูรอค x เพียร์เทรน x ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ) เพศผู้ตอน อายุ 4 สัปดาห์ น้ำหนักเฉลี่ย 7.3 ± 0.1 กิโลกรัม จำนวน 12 ตัว โดยแบ่งลูกสุกรเป็น 3 กลุ่ม กลุ่มละ 4 ซ้ำ ซ้ำละ 1 ตัว สุ่มสุกรให้ได้รับอาหารทดลองดังนี้ สูตรที่ 1 อาหารควบคุม มีสารอาหารตามความต้องการของลูกสุกรที่แนะนำโดย NRC (2012) สูตรที่ 2 ส่วนผสมของอาหารควบคุม 95% และกากถั่วเหลือง 5 % และสูตรที่ 3 ส่วนผสมของอาหารควบคุม 95% และกากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 5% สุกรแต่ละตัวแยกเลี้ยงเดี่ยวในกรงศึกษาการย่อยได้ (metabolism cages) ที่สามารถเก็บมูลและปัสสาวะเป็นรายตัวได้ การทดลองแบ่งเป็น 2 ระยะ คือระยะก่อนการทดลอง (preliminary period) โดยใช้เวลา 7 วันเพื่อปรับให้สุกรเกิดความคุ้นเคยอาหาร และปรับสภาพของระบบทางเดินอาหาร ส่วนระยะที่ 2 เป็นระยะเก็บข้อมูล (collection period) มีการให้อาหารทดลองที่ผสมโครมิกซ์ออกไซด์เป็นสารบ่งชี้ที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 วัน ทำการเก็บมูลและปัสสาวะตามวิธีการของ Adeola (2001) การวิเคราะห์สารอาหารในมูลและปัสสาวะใช้วิธีการของ AOAC (1990) และการคำนวณค่าการย่อยได้แบบปรากฏตลอดระบบทางเดินอาหารและค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ตามวิธีการของ Kong and Adeola (2014)

การใช้กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ B. *subtilis* TJ-C9 ต่อสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสุกรอนุบาล

ใช้สุกรลูกผสม (พันธุ์ดูรอค x เพียร์เทรน x ลาร์จไวท์ x แลนด์เรซ) หย่านมที่อายุ 4 สัปดาห์ น้ำหนักตัวเฉลี่ย 6.44±0.86 กิโลกรัม จำนวน 420 ตัว ในแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ แบ่งสุกรออกเป็น 5 กลุ่ม กลุ่มละ 6 ซ้ำ ซ้ำละ 14 ตัว (เพศผู้ตอน 7 ตัว, เพศเมีย 7 ตัว) เลี้ยงสุกรในโรงเรือนปิดที่มีระบบการระบายอากาศด้วยระบบระเหยไอน้ำและมีระบบการให้น้ำอัตโนมัติ สุ่มสุกรให้ได้รับอาหารทดลองดังนี้ สูตรที่ 1 อาหารควบคุมที่มีการใช้โปรตีนจากถั่วเหลือง (กากถั่วเหลืองกับถั่วเหลืองไขมันเต็ม) ปลาป่น และกากถั่วเหลืองหมักเอนไซม์ เป็นแหล่งโปรตีนหลัก และอาหารที่มีการใช้กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 ทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลือง (สูตร 2) ปลาป่น 50% (สูตร 3) ปลาป่น 100% (สูตร 4) และกากถั่วเหลืองหมักเอนไซม์ (สูตร 5) ตามลำดับ ทำการศึกษาสมรรถภาพการเจริญเติบโตของสุกรอนุบาลใน 2 ช่วงระยะการเจริญเติบโต (อายุ 5-6 และ 7-9 สัปดาห์) ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนะจากการวิเคราะห์ของสูตรอาหารทดลองในแต่ละระยะการเจริญเติบโต ได้แสดงไว้ใน **Table1 และ Table 2** ตามลำดับ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ข้อมูลการใช้ประโยชน์ได้ของสารอาหารในกากถั่วเหลืองก่อนและหลังการหมักนำมาวิเคราะห์ความแตกต่างด้วย t-test ส่วนการวิเคราะห์ความแตกต่างของกลุ่มทดลองสำหรับข้อมูลสมรรถภาพการเจริญเติบโตใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test โดยความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อค่า $p< 0.05$

Table1 Feed ingredients composition and analytical nutrients component of experimental diets for piglets aged 5-6 weeks

Ingredient (%)	Experimental diets[1/]				
	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5
Broken rice	56.50	58.80	55.53	54.46	55.62
Soybean meal (46% CP)	10.20	-	10.20	10.20	10.20
Full-fat soybean (35% CP)	5.00	-	5.00	5.00	5.00
Fish meal (55% CP)	6.67	6.67	3.33	-	6.67
Whey permeate	10.00	10.00	10.00	10.00	10.00
Fermented SBM with *B. subtilis* TJ-C9	-	13.00	3.83	7.67	9.33
Enzyme-treated SBM	8.33	8.33	8.33	8.33	-
Monodicalcium phosphate	0.77	0.77	1.15	1.46	0.83
Limestone	0.74	0.78	0.93	1.12	0.67
L-Lysine	0.52	0.50	0.55	0.59	0.53
DL-Methionine	0.20	0.20	0.20	0.21	0.20
L-Threonine	0.20	0.20	0.20	0.21	0.20
Vitamins/minerals premix	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
Analytical nutrients component (%)					
Moisture	10.05	10.05	10.10	10.00	10.15
Crude protein	20.59	20.28	20.42	20.25	20.27
Ether extract	1.64	1.35	1.70	1.56	1.56
Crude fiber	2.20	1.89	2.29	2.45	2.00
Calcium	1.15	1.10	1.10	1.15	1.05
Total phosphorus	0.71	0.69	0.65	0.74	0.63

[1/]Diet 1= control diet; diet 2-5= replacement of fermented SBM for soy protein, 50% fish meal, 100% fish meal and enzyme-treated soybean meal in control diet, respectively.

Table 2 Feed ingredients composition and analytical nutrient component of experimental diets for pigs aged 7-9 weeks

Ingredient (%)	Experimental diets[1/]				
	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5
Broken rice	60.83	65.06	60.25	59.55	59.96
Rice bran	4.00	4.00	4.00	4.00	4.00
Soybean meal (46% CP)	11.00	-	11.00	11.00	11.00
Full-fat soybean (35% CP)	5.00	-	5.00	5.00	5.00
Fish meal (55% CP)	3.33	3.33	1.67	-	3.33
Whey permeate	5.83	3.83	5.83	5.83	5.83
Fermented SBM with *B. subtilis* TJ-C9	-	13.60	2.00	4.00	7.50
Enzyme-treated SBM	6.67	6.67	6.67	6.67	-
Monodicalcium phosphate	0.90	0.92	1.04	1.25	0.92
Limestone	0.86	0.92	0.94	1.07	0.85
L-Lysine	0.48	0.56	0.50	0.53	0.51
DL-Methionine	0.17	0.17	0.17	0.17	0.17
L-Threonine	0.18	0.19	0.18	0.18	0.18
Vitamins/minerals premix	0.75	0.75	0.75	0.75	0.75
Analytical nutrients component (%)					
Moisture	11.10	11.45	11.10	10.90	10.85
Crude protein	19.07	19.38	19.08	19.31	19.06
Ether extract	1.98	1.61	1.66	1.44	1.63
Crude fiber	2.16	2.09	2.28	2.49	2.49
Calcium	1.03	1.00	0.93	0.98	1.08
Total phosphorus	0.56	0.59	0.52	0.54	0.57

[1/]Diet 1= control diet; diet 2-5= replacement of fermented SBM for soy protein, 50% fish meal, 100% fish meal and enzyme-treated soybean meal in control diet, respectively.

ผลการศึกษาและวิจารณ์

คุณค่าทางโภชนะและสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะ

การเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนะของกากถั่วเหลืองก่อนและหลังผ่านกระบวนการหมักได้แสดงใน **Table 3** จะเห็นได้ว่าการหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 มีผลทำให้ค่าโภชนะของกากถั่วเหลืองหมักอาทิ ค่าโปรตีน ไขมัน เถ้า ฟอสฟอรัส และพลังงานรวม เพิ่มสูงขึ้น 3.50%, 13.59%, 7.31%, 3.27% และ 8.77% ตามลำดับ ในขณะที่สัดส่วนของเยื่อใยและแคลเซียมลดลง 5.26% และ 20.09% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนกระบวนการหมัก การเพิ่มขึ้นของโภชนะหลังการหมักนี้ อาจจะเกิดจากการลดลงของคาร์โบไฮเดรทที่มีในกากถั่วเหลือง เนื่องจากเชื้อ *B. subtilis* สามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส และอัลฟา-กาแลคโตซิเดส (Bradley et al., 1991) ส่งผลให้สัดส่วนของเยื่อใยลดลง ซึ่งมีผลให้สัดส่วนของโภชนะอื่นเพิ่มสูงขึ้น (Rojas and Stein, 2013) ผลดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของ Kook et al. (2014)

Table 3 Nutritional composition of soybean meal before and after fermentation with *B. subtilis* TJ-C9 (% as dry matter basis)

Nutrients	Soybean meal	Fermented soybean meal with *B. subtilis* TJ-C9
Dry matter (%)	89.20	89.30
Crude protein (%)	54.87	56.79
Ether extract (%)	1.96	2.23
Crude fiber (%)	5.44	5.15
Crude Ash (%)	6.78	7.28
Calcium (%)	0.28	0.22
Total phosphorus (%)	0.66	0.68
GE (Kcal/kg DM)	4174	4540

ที่รายงานว่าการหมักกากถั่วเหลืองด้วย *B. subtilis* TP6 ทำให้สัดส่วนโปรตีนเพิ่มขึ้น 16.25% เมื่อเทียบกับก่อนการหมัก เช่นเดียวกับกรณีการหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อรา *Aspergillus oryzae* มีผลทำให้ค่าโปรตีน ไขมัน และฟอสฟอรัสเพิ่มสูงขึ้น 8.76%, 17.85%, 53.84% ตามลำดับ และแคลเซียมลดลง 1.85% เมื่อเปรียบเทียบกับกากถั่วเหลืองก่อนการหมัก (Feng et al., 2007b) ผลการศึกษาปริมาณสารยับยั้งการใช้โภชนะของกากถั่วเหลืองก่อนและหลังการหมักด้วย *Bacillus subtilis* TJ-C9 **(Table 4)** พบว่าการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์สามารถลดปริมาณสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะที่สำคัญของกากถั่วเหลือง โดยปริมาณสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ทริปซิน (trypsin inhibitor) ลดลงจาก 9.9 เหลือเพียง 1.8 มิลลิกรัม/กรัม สารเบตา-คอนไกลซินิน ลดลงจาก 84.54 เหลือ 54.00 มิลลิกรัม/กรัม และสารในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ คือ ซูโครส สแตคีโอส (stachyose) และราฟฟิโนส (raffinose) มีปริมาณลดลง 99.99%, 80% และ 99.93% ตามลำดับ การลดลงของโอลิโกแซคคาไรด์เกิดจากเชื้อ *B. subtilis* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์อัลฟากาแลคโตซิเดส (Bradley et.al., 1991) ที่ใช้ในการตัดพันธะไกลโคไซด์ที่เชื่อมต่อพันธะของโอลิโกแซคคาไรด์ ได้เป็นน้ำตาลที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง (Kwon et al., 2010) ซึ่งนอกจากจะช่วยลดผลกระทบของโอลิโกแซคคาไรด์เหล่านี้แล้ว น้ำตาลที่ได้จากการย่อยยังสามารถใช้เป็นแหล่งพลังงานให้กับสัตว์ได้ง่ายมากขึ้นด้วย และทำให้คาร์โบไฮเดรตในกากถั่วเหลืองหมักลดลง (Cervantes-pahm and Stein, 2010; Rojas and Stein, 2013)

ค่าการย่อยได้แบบปรากฏตลอดระบบทางเดินอาหารของโปรตีนและค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของกากถั่วเหลืองหมัก

การหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 มีผลช่วยให้ค่าการย่อยได้แบบปรากฏของโปรตีนในกากถั่วเหลืองสูงขึ้น (78.56%) เมื่อเปรียบเทียบกับก่อนหมักซึ่งมีค่าเท่ากับ 73.86% (**Table 5**) ทั้งนี้เกิดจากการลดลงของปริมาณสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ทริปซินและโปรติเอสภายในลำไส้ส่วนต้นและส่วนกลางเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังทำให้ระบบทางเดินอาหารของลูกสุกรอนุบาลดีขึ้นโดยเพิ่มความสูงของวิลไลภายในลำไส้ส่วนต้น ส่วนกลาง และส่วนปลาย (Feng et al., 2007a) อีกทั้ง B. *subtilis* สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอส ทำให้ขนาดโปรตีนในกากถั่วเหลืองเล็กลง (Van Dil and Hecker, 2013) ส่งผลให้สัตว์ย่อยโปรตีนได้ง่ายขึ้น พิมพ์ชนกและสุภาวี (2561) รายงานว่าการหมักกากถั่วเหลืองด้วย *B. subtilis* ATCC 6633 สามารถลดขนาดโปรตีนในกากถั่วเหลืองจาก 50-130 กิโลดาลตัน เหลือ ขนาด 20-50 กิโลดาลตัน

Table 4 The anti-nutritional factors content in soybean meal before and after fermentation with *B. subtilis* TJ-C9 (as-fed basis).

Anti-nutritional factors	Soybean meal	Fermented soybean meal with *B. subtilis* TJ-C9
Trypsin inhibitor (mg/g CP)	9.90	1.80
β-conglycinin (mg/kg)	84.54	54.00
Sucrose (g/100g)	8.00	0.001
Stachyose (g/100g)	3.00	0.60
Raffinose (g/100g)	1.50	0.001

นอกจากนั้นกระบวนการหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 ช่วยให้ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ของกากถั่วเหลืองในลูกสุกรมีค่าเพิ่มขึ้น จาก 3,237 กิโลแคลอรี่/กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง เป็น 3,562 กิโลแคลอรี่/กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ในกากถั่วเหลืองหมักที่ได้จากการทดลองนี้มีค่าใกล้เคียงกับการรายงานของ Zhang et al. (2013) และ NRC (2012) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 3,399 และ 3,294 กิโลแคลอรี่/กิโลกรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ เนื่องจากกระบวนการหมักด้วยเชื้อจุลินทรีย์ทำให้ปริมาณสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะและสารกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์ลดลง จากการย่อยด้วยเอนไซม์อัลฟากาแลคโตซิเดสที่เชื้อ *B. subtilis* สร้างขึ้น ทำให้สัตว์สามารถใช้ประโยชน์จากกากถั่วเหลืองหมักได้เพิ่มขึ้น (Chen et al., 2010) นอกจากนี้โอลิโกแซคคาไรด์ที่ถูกย่อยแล้วจะได้น้ำตาลที่สัตว์สามารถเอาไปใช้เป็นแหล่งพลังงานได้มากขึ้นอีกด้วย

ผลการใช้กากถั่วเหลืองหมักต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรอนุบาล

ผลการใช้กากถั่วเหลืองหมักด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 ทดแทนโปรตีนจากแหล่งต่างๆ ในอาหารสุกรอนุบาลได้แสดงใน **Table 6** จะเห็นได้ว่าสมรรถภาพการผลิต ทั้งน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น ปริมาณอาหารที่กิน อัตราการเจริญเติบโตต่อวัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว ของสุกรในช่วงอายุ 5-6 และ 7-9 สัปดาห์ รวมทั้งตลอดการทดลอง (ช่วงอายุ 5-9 สัปดาห์) มีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติในระหว่างกลุ่มทดลอง อย่างไรก็ตามการใช้กากถั่วเหลืองหมักทดแทนโปรตีนจากปลาป่น 100% มีผลทำให้การเจริญเติบโตของสุกรอนุบาลต่ำกว่ากลุ่มควบคุม 5.76% แต่การใช้ทดแทนโปรตีนจากถั่วเหลือง (สูตร 2) และ กากถั่วเหลืองหมักเอนไซม์ (สูตร 5) มีผลทำให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัว (FCR) ของสุกรช่วงอายุ 5-9 สัปดาห์ดีขึ้น 5.33 และ 2.67% ตามลำดับ เนื่องจากปริมาณสารยับยั้งการใช้ประโยชน์ของโภชนะที่มีอยู่ในกากถั่วเหลืองหมัก *B. subtilis* TJ-C9 มีค่าลดลงอย่างชัดเจนเมื่อเทียบกับก่อนการหมัก (**Table 3**) ส่งผลให้ค่าการย่อยได้ของโปรตีนในกากถั่วเหลืองหมักมีค่าเพิ่มขึ้น 4.7 เปอร์เซ็นต์ (**Table 5**) ซึ่งแสดงว่าสัตว์สามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนในกากถั่วเหลืองหมักได้เพิ่มขึ้น ผลดังกล่าวสอดคล้องกับผลการใช้กากถั่วเหลืองหมักด้วย *Aspergillus oryzae* ร่วมกับ *B. subtilis* มีผลทำให้ค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักตัวของสุกรแตกต่างจากกรณีการใช้กากถั่วเหลืองหมักเอนไซม์อย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งค่าการย่อยได้แบบปรากฏตลอดระบบทางเดินอาหารของโปรตีนในกากถั่วเหลืองหมักทั้งสองชนิดมีความแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติอีกด้วย (Yang et al., 2007)

Table 5 The total tract digestibility of protein and metabolizable energy of SBM before and after fermentation with *B. subtilis* TJ-C9

	Digestibility of protein[1/] (%)	Metabolizable energy[1/] (kcal/kg)
Soybean meal	73.86[a]±1.48	3,237[a]±59.9
Fermented soybean meal with *B. subtilis* TJ-C9	78.56[b]±1.15	3,562[b]±124.4
P-value	0.0332	0.0152

[a-b]Means within column with no common superscript differ significantly (P<0.05); [1/] Mean±SD

Table 6 Effects of replacing protein sources by fermented soybean meal on growth performance in piglets.

Growth performances[2/]	Experimental diets[1/]					SEM	P-value
	Diet 1	Diet 2	Diet 3	Diet 4	Diet 5		
Initial weight (kg)	6.47	6.42	6.38	6.41	6.43	0.1298	0.9935
Final weight (kg)	20.02	20.01	20.40	19.00	19.87	0.3159	0.9419
Period 5 - 6 weeks of age							
ADFI (g/d)	291	287	304	277	288	0.0064	0.7897
ADG (g/d)	232	221	242	223	226	0.0051	0.9913
FCR	1.26	1.30	1.26	1.24	1.27	0.0113	0.6716
Period 7 – 9 weeks of age							
ADFI (g/d)	760	711	766	730	745	0.0142	0.9133
ADG (g/d)	484	486	485	450	489	0.0078	0.8845
FCR	1.57	1.46	1.58	1.62	1.52	0.0174	0.1564
Whole period (5 - 9 weeks of age)							
ADFI (g/d)	571	540	578	549	562	0.0099	0.9385
ADG (g/d)	382	379	386	360	384	0.0085	0.9397
FCR	1.50	1.42	1.50	1.53	1.46	0.0133	0.4268

[1/]Diet 1= control diet; diet 2-5= replacement of fermented SBM for soy protein, 50% fish meal, 100% fish meal and enzyme-treated soybean meal in control diet, respectively.

[2/]ADFI = averaged daily feed intake, ADG=averaged daily gain, FCR=feed conversion ratio

สรุป

การหมักกากถั่วเหลืองด้วยเชื้อ *B. subtilis* TJ-C9 สามารถปรับปรุงคุณค่าทางโภชนะ ค่าพลังงานที่ใช้ประโยชน์ได้ และค่าการย่อยได้แบบปรากฏตลอดระบบทางเดินอาหารของโปรตีนในกากถั่วเหลือง จึงทำให้สามารถใช้กากถั่วเหลืองหมักทดแทนแหล่งโปรตีนคุณภาพสูงในอาหารสุกรอนุบาลทั้งปลาป่นและกากถั่วเหลืองหมักเอนไซม์ โดยไม่ส่งผลต่อสมรรถภาพการผลิตของสุกรอนุบาล

คำขอบคุณ

คณะวิจัยขอขอบคุณบริษัท เอส พี เอ็ม อาหารสัตว์ จำกัด ที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัย รวมทั้งผลิตภัณฑ์กากถั่วเหลืองหมักด้วย *B. subtilis* TJ-C9

เอกสารอ้างอิง

พิมพ์ชนก จตุรพิรีย์ และ สุภาวดี ฉิมทอง. 2561. การเพิ่มคุณค่าทางโภชนะของกากถั่วเหลืองหมักสำหรับอาหารสัตว์.สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยศิลปากร, นครปฐม.

สีทอง พิพัคะวงศ์. 2540. การศึกษาพยาธิวิทยา อาการทางคลินิกและผลของอิมมูโนโกลบูลินในการป้องกันโรคท้องร่วงโดยการทดลองให้ติดเชื้อ อี. โคไล ในลูกสุกรแรกเกิดซึ่งให้ขาดน้ำนมเหลือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

อังคณา หาญบรรจง และ ดวงสมร สินเจิมสิริ. 2532. การวิเคราะห์และการประเมินคุณภาพอาหารสัตว์. ภาควิชาสัตวบาล คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Adeola, O. 2001. Digestion and balance techniques in pigs. P. 903-916. In: A.J. Lewis and L.L. Southern. Swine Nutrition. 2nd Edition. CRC Press, Florida.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. 15th Edition. Association of Official Analytical Chemists, Inc., Washington, D.C.

AOCS. 1998. Official Methods and Recommended Practices of the AOCS. 5th Edition. American Oil Chemists' Society, Champaign, IL.

Baker, D.H. 2000. Nutritional constraints to the use of soy products by animals. P.1–12. In: J.K. Drackley. Soy in Animal Nutrition. Federation of Animal Science Societies, Illinois.

Barbosa, T.M., C.R. Serra, R.M.La Ragione, M.J. Woodward, and A.O. Henriques. 2005. Screening for Bacillus isolates in the broiler gastrointestinal tract. Appl. Environ. Microbiol.71: 968–978.

Bradley, M., K. Lindsay, and J.A. Lindsay. 1991. Purification and characterization of a thermostable α-Glucosidase from a *Bacillus subtilis* high-temperature growth transformant. Curr. Microbiol. 22: 273-278.

Cervantes-pahm, S.K., and H.H. Stein. 2010. Ileal digestibility of amino acid in conventional, fermented, and enzyme-treated soybean meal and in soy isolate, fish meal, and casein fed to weanling pigs. J. Anim. Sci. 88: 2674–2683.

Chen, C.C., Y.C. Shih, P.W.S. Chiou, and B. Yu. 2010. Evaluation nutritional quality of single stage- and two stage-fermented soybean meal. Asian-Australas. J. Anim.Sci. 23: 598–606.

Feng, J., X. Liu, Z.R. Xu, Y.R. Lu, and Y.Y. Liu. 2007a. Effect of fermented soybean meal on intestinal morphology and digestive enzyme activity in weaned piglets. Dig. Dis. Sci. 52: 1845–1850.

Feng, J., X. Liu, Z.R. Xu, Y.R. Lu, and Y.Y. Liu. 2007b. The effect of *Aspergillus oryzae* fermented soybean meal on growth performance, digestibility of dietary components and activities of intestinal enzyme in weaned piglets. Anim. Feed Sci. Tech. 134: 295–303.

Hong, K.J., C.H. Lee, and S.W. Kim. 2004. *Aspergillus oryzae* GB-107 fermentation improves nutritional quality of food soybeans and feed soybean meals. J. Med. Food. 7: 430–435.

Hosoi, T., A. Ametani, K. Kiuchi, and S. Kaminogawa. 2000. Improved growth and viability of lactobacilli in the presence of *Bacillus subtilis* (natto), catalase, or subtilisin. Can. J. Microbiol. 46: 892-897.

Hu,Y., Y. Dun, S. Li, S. Zhao, N. Peng, and Y. Liang. 2014. Effects of *Bacillus subtilis* KN-42 on growth performance, diarrhea and faecal bacterial flora of weaned piglets. Asian-Australas. J. Anim.Sci. 27: 1131-1140.

Jones, C.K., J.M. Derouchey, J.L. Nelssen, M.D. Tokach, S.S. Dritz, and R.D. Goodband. 2010. Effect of fermented soybean meal and specialty animal protein sources on nursery pig performance. J. Anim. Sci. 88: 1725–1732.

Kook, M., S. Cho, Y. Hong, and H. Park. 2014. *Bacillus subtilis* fermentation for enhancement of feed nutritive value of soybean meal. J. Appl. Biol. Chem. 57: 183–188.

Kong, C. and O. Adeola. 2014. Evaluation of amino acid and energy utilization in feedstuff for swine and poultry diets. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 27: 917-925.

Kwon, D.Y., W. James, H.J. Kim, and S. Park. 2010. Anti-diabetic effects of fermented soybean products on type 2 diabetes. Nutr. Res. 30: 1–13.

Lalles, J.P. 1993. Soy products as protein sources for pre-ruminant and young pigs. P. 106-125. In: J.K. Drackley. Soy in Animal Nutrition. Federation of Animal Science Societies, Illinois.

NRC. 2012. Nutrient Requirement of Swine. 11th Edition. National Academy Press, Washington, DC.

Pluske, J.R., D.J. Hampson, and I.H. Williams. 1997. Factors influencing the structure and function of the small intestine in the weaned pig: a review. Livest.Sci. 51: 215-236.

Qin, G., E.R. Elst, M.W. Bosch, and A.F.B. van der Poel. 1996. Thermal processing of whole soybeans: studies on the inactivation of anti-nutritional factors and effects on ileal digestibility in piglets. Anim. Feed Sci. Technol. 57: 313–324.

Rocklin, R.D., A.P. Clark, and M. Weitzhandler. 1998. Improved long-term reproducibility for pulsed amperometric detection of carbohydrates via a new quadruple-potential waveform. Anal. Chem. 70: 1496-1501.

Rojas, O.J. and H.H. Stein. 2013. Concentration of digestible, metabolizable, and net energy and digestibility of energy and nutrients in fermented soybean meal, conventional soybean meal, and fish meal fed to weanling pigs. J. Anim. Sci. 91: 4397–4405.

Rojas, O.J. and H.H. Stein. 2015. Effect of replacing fish, chicken, or poultry by- product meal with fermented soybean meal in diets fed to weanling pigs. Rev. Colomb. Cienc. Pecu. 28: 22–41.

Van Biert, M. and M. Hessing. 1993. ELISA procedure for the determination of soya glycin and conglycinin. TNO Nutrition and Food Research, Zeist, Netherlands.

Van Dil, J.M. and M. Hecker. 2013. *Bacillus subtilis*: from soil bacterium to super-secreting cell factory. Microb. Cell. Fact. 12: 1–6.

Whittemore, C.T. 1993. The Science and Practice of Pig Production. Longman Scientific and Technical, Longman Group, UK.

Yang, Y.X., Y.G. Kim, J.D. Lohakare, J.H. Yun, J.K. Lee, M.S. Kwon, J.I. Park, Y.K. Choi, and B.J. Chae. 2007. Comparative efficacy of different soy protein sources on growth performance, nutrient digestibility and intestinal morphology in weaned pigs. Asian-Australas. J. Anim. Sci. 20: 775-783.

Zhang, H. Y., J. Q. Yi, X.S. Piao, P.F. Li, Z.K. Zeng, D. Wang, L. Liu, G.Q. Wang, and X. Han. 2013. The metabolizable energy value, standardized ileal digestibility of amino acids in soybean meal, soy protein concentrate and fermented soybean meal, and the application of these products in early-weaned piglets. Asian- Australas. J. Anim. Sci. 26: 691-699.