

## กากถั่วดาวอินคาเพื่อเป็นแหล่งโปรตีนจากพืชชนิดใหม่ในอาหารปลาไน (*Cyprinus carpio*)

### Sacha inchi meal as a novel plant protein source in common carp diet (*Cyprinus carpio*)

นารีรัตน์ สิงห์โต<sup>1</sup>, อนรรักษ์ เขียวขจรเขต<sup>1,2\*</sup>, พัชรกร ทัดพงษ์<sup>1</sup> และ วรณพร คลังเพชร<sup>1</sup>

Nareerat Singto<sup>1</sup>, Anurak Khieokhajonkhet<sup>1,2\*</sup>, Pattaraporn Tatsapong<sup>1</sup> and Wannapom Klangpetch<sup>1</sup>

<sup>1</sup> คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

<sup>1</sup> Faculty of Agriculture, Natural Resources and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

<sup>2</sup> ศูนย์เทคโนโลยีชีวภาพทางการเกษตร คณะเกษตรศาสตร์ ทรัพยากรธรรมชาติและสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยนเรศวร อ.เมือง จ.พิษณุโลก 65000

<sup>2</sup> Center for Agriculture Biotechnology, Faculty of Agriculture, Natural Resources, and Environment, Naresuan University, Phitsanulok 65000, Thailand

**บทคัดย่อ :** กากถั่วดาวอินคา (sacha inchi meal, SIM) เป็นวัตถุดิบพลอยได้จากการบีบอัดน้ำมันแบบเย็นจากถั่วดาวอินคา และเป็นเศษเหลือได้ที่ยังคงมีสารอาหารที่สำคัญ ดังนั้นจึงเป็นที่มาของการวิจัยครั้งนี้ การศึกษาการทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยกากถั่วดาวอินคา ในอาหารปลาไนต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้สารอาหาร การเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อวิทยา และต้นทุนค่าอาหาร การทดลองนี้ กำหนดให้อาหารสูตรควบคุมมีแหล่งโปรตีนหลักจากกากถั่วเหลือง เปรียบเทียบกับอาหารที่ทดแทนด้วยแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลือง ด้วยโปรตีนจากกากถั่วดาวอินคาในระดับที่เท่ากัน โดยกำหนดให้อาหารทดลองทั้งหมดมีโปรตีนในระดับที่ใกล้เคียงกัน 30 % (isonitrogenous diets) และระดับไขมัน 10 % (isolipidic diets) เพื่อทดสอบในปลาไนที่มีน้ำหนักเริ่มต้นเฉลี่ยเริ่มต้น  $7.01 \pm 0.01$  กรัม/ตัว เป็นเวลา 10 สัปดาห์ จากการศึกษาพบว่าปลาไนที่ได้รับอาหารที่ใช้กากถั่วดาวอินคาเป็นหลักมีอัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นตัววัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการกินอาหาร ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ การเก็บรักษา โปรตีน และไขมันสูงกว่าอาหารสูตรควบคุมแต่ไม่มีความแตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) ในขณะที่ดัชนีดัชนีค่าที่สูงกว่า ( $P < 0.05$ ) อาหารสูตรควบคุม ส่วนปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม พบการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา โดยแวกคิวโอลของเซลล์ตับมีขนาดใหญ่แต่ไม่พบการเปลี่ยนแปลงในปลาที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลัก นอกจากนี้ปลาที่ได้รับอาหารที่มีกากถั่วดาวอินคาเป็นหลักมีความยาวของไมโครวิลโลสของลำไส้ส่วนต้นที่ยาวกว่าปลาที่ได้รับอาหารสูตรควบคุม ( $P < 0.05$ ) แต่ไม่มีความแตกต่างกันของไมโครวิลโลสในลำไส้ส่วนท้าย ( $P > 0.05$ ) ในขณะที่เนื้อเยื่อไตไม่พบการเปลี่ยนแปลงของปลาทั้งสองกลุ่ม การทดลองนี้แสดงให้เห็นว่ากากถั่วดาวอินคาสามารถทดแทนโปรตีนจากกากถั่วเหลืองได้ทั้งหมดโดยไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา และนอกจากนี้ยังส่งเสริมการเจริญเติบโต การใช้สารอาหาร และสามารถลดต้นทุนการผลิตอาหาร

**คำสำคัญ:** กากถั่วดาวอินคา; การทดแทน; กากถั่วเหลือง; ปลาไน; การเจริญเติบโต

**ABSTRACT:** Sacha inchi meal (SIM) is a by-product of sacha inchi oil cold pressed extraction method. SIM contains important nutritional values which could improve growth performance in fish. It is, therefore, to investigate the replacement of soybean meal (SBM) by SIM for common carp on growth performance, feed utilization, histological changes, and economic efficiency. The experimental diets consisted of two feed formulation in the comparison between high SBM based diet (diet 1) and high SIM based diet (diet 2) and fed to common carp with approximately

\* Corresponding author: [anurakk@nu.ac.th](mailto:anurakk@nu.ac.th)

7.01±0.01 g/fish for 10 weeks. The results showed that fish fed high SIM based diet exhibited higher final body weight, average daily gain (ADG), specific growth rate (SGR), protein efficiency ratio (PER) and protein productive value (PPV) than the control group, but not significant difference ( $P > 0.05$ ). Hepatosomatic index of the fish fed SIM based diet showed significantly higher than the control group ( $P < 0.05$ ). Tissue sectioning of the liver showed vacuoles enlargement in the fish fed control diet, but not observed in SIM based diet. In addition, the microvilli height in the duodenum of fish fed SIM based diet was significantly longer than the fish fed control group ( $P < 0.05$ ). While villi height and thickness of ileum of both groups were not a significant difference. In addition, there were no histological changes in the kidney. Taken together with these results, the present study indicated that SIM could totally replace SBM without the histological changes, and further improve growth performance and reduce the cost of feeding.

**Keywords:** sacha inchi meal; replacement; soybean meal; common carp; growth performance

## บทนำ

อาหารปลาถือเป็นต้นทุนหลักสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ (Mohapatra et al., 2003; Stone, 2003; Fu, 2005; Borba et al., 2006) กากถั่วเหลืองเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการผลิตน้ำมันถั่วเหลือง นิยมนำมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนในอาหารสัตว์น้ำเพื่อใช้ทดแทนการใช้ปลาป่น กากถั่วเหลืองเป็นวัตถุดิบจากพืชที่เป็นแหล่งของโปรตีนและกรดอะมิโนจำเป็นที่เหมาะสม แต่พบว่ามีปริมาณของเมทาโซอิน และไลซีนต่ำ (Sukkasame, 2000) แม้ว่ากากถั่วเหลืองจะมีคุณค่าโปรตีนสูงเหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ แต่มีรายงานว่า การผสมกากถั่วเหลืองลงในอาหารที่มีปริมาณสูงจะมีผลต่อการเจริญเติบโต และประสิทธิภาพการใช้อาหารลดลงในปลา (Sarunya et al., 1997) ปัจจุบันมีการศึกษาและค้นคว้าแหล่งโปรตีนชนิดอื่นๆ เพื่อทดแทนวัตถุดิบที่มีราคาสูงเหล่านี้ อย่างไรก็ตามการนำวัตถุดิบพืชมาใช้เป็นแหล่งโปรตีนทดแทนต้องคำนึงถึงชนิดของสัตว์น้ำแต่ละชนิดที่มีความสามารถในการใช้ประโยชน์ของโปรตีนจากพืชในระดับที่แตกต่างกัน เนื่องจากองค์ประกอบของสารต้านโภชนาการ (anti-nutritional factors) ที่มีในวัตถุดิบพืชแต่ละชนิดมีในปริมาณและชนิดที่ต่างกัน (Sukkasame, 2000)

ถั่วดาวอินคา (*Sacha inchi*, *Plukenetia volubilis* L.) เป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญเนื่องจากเป็นแหล่งของสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Chirinos et al., 2013) โดยพบว่าถั่วดาวอินคามีองค์ประกอบของโปรตีนสูงกว่า 27 เปอร์เซ็นต์ และไขมัน 35 - 60 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักเปียก) นอกจากนี้ในน้ำมันจากถั่วดาวอินคายังประกอบด้วยกรดไขมันจำเป็นชนิดโอเมก้า 3 (45 - 53 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณไขมันทั้งหมด), โอเมก้า 6 (34 - 39 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณไขมันทั้งหมด) และโอเมก้า 9 (6 - 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณไขมันทั้งหมด) เป็นแหล่งของไอโอดีน วิตามินเอ และ วิตามินอี (Hanssen and Hubsch, 2011) และในถั่วดาวอินคามียังกรดอะมิโนที่สำคัญในปริมาณสูงถึง 4 ชนิด คือ cysteine, tyrosine, threonine และ tryptophan (Chirinos et al., 2013) แต่พบว่ามีสารต้านโภชนาการ เช่น trypsin inhibitor 0.16 g/100 g, แทนนิน 1.94 g/100 g และ ซาโปนิน 0.27 g/100 g (Saroat et al., 2016) ปัจจุบันประเทศไทยมีการเพาะปลูกถั่วดาวอินคาในทุกเขตภูมิภาคของประเทศซึ่งมีผลผลิตประมาณ 365 ตันต่อปี (ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร, 2560) ผลิตภัณฑ์ส่วนใหญ่ได้ของถั่วดาวอินคาเป็นน้ำมันที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบเย็น (cold extraction) ที่ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่ยังคงคุณค่าทางโภชนาการ สะดวกต่อการบริโภค และสามารถเพิ่มมูลค่าทางการตลาด อย่างไรก็ตามพบว่า การแปรรูปถั่วดาวอินคานี้ก่อให้เกิดเศษเหลือพลอยได้หรือกากถั่วดาวอินคา ซึ่งมีจำนวนมากกว่า 5 ตันต่อเดือนต่อโรงงาน หรือประมาณ 60 ตันต่อปี (คิดเป็น 70-80% ของปริมาณถั่วดาวอินคา) นอกจากนี้วิธีการสกัดดังกล่าวยังคงสารอาหารในกากถั่วดาวอินคาในปริมาณสูง แต่อย่างไรก็ตามพบว่ากากถั่วดาวอินคามีกลิ่นเฉพาะตัว และรสสัมผัสที่ไม่พึงประสงค์จึงทำให้เศษเหลือพลอยได้ของถั่วดาวอินคายังไม่สามารถถูกนำไปเพื่อการบริโภคเป็นอาหารสำหรับคน ดังนั้นจึงเป็นวัตถุดิบที่มีความเหมาะสมสำหรับการผลิตเป็นอาหารสัตว์น้ำ (วิชมนี และคณะ 2562)

ปลาไน (Common carp; *Cyprinus carpio*) เป็นปลาน้ำจืดที่จัดอยู่ในกลุ่มของปลากินพืช (herbivorous fish) เป็นแหล่งโปรตีนที่สำคัญ และนิยมรับประทานทั่วโลก (Khieokhajonkhet et al., 2019) เลี้ยงง่าย โตเร็ว สามารถเลี้ยงได้ดีในเขตภูมิภาคเขตร้อน อุณหภูมิประมาณ 25 - 28 องศาเซลเซียส และยังคงเป็นสัตว์น้ำเศรษฐกิจของไทยที่มีอันดับติด 1 ใน 8 ของการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำเศรษฐกิจที่ยังคงมีการเพาะเลี้ยงอยู่ในประเทศไทย มีรายงานจากกลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง (2562) พบว่ามีผลผลิตปลาไนในปี.ศ. 2560 มีถึง 1,308 ตัน คิดเป็นมูลค่า 254.2 ล้านบาท นอกจากนี้ปลาไอนี้ยังเป็นปลาต้นแบบ (model fish) หรือเป็นปลาตัว

แทนที่ดีในกลุ่มปลากินพืชที่มีการศึกษาวิจัยในหลากหลายแขนง จนถือได้ว่าเป็นปลาต้นแบบที่เหมาะสมชนิดหนึ่งสำหรับการศึกษาวิจัยทางด้านอาหารปลา ดังนั้นการศึกษากาการใช้โปรตีนจากกากถั่วดาวอินคาเพื่อทดแทนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองในอาหารปลาในที่มีผลต่อการเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อวิทยา และต้นทุนราคาอาหาร โดยคาดว่าผลการศึกษาวิจัยครั้งนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานของการพัฒนาอุตสาหกรรมการผลิตอาหารสำหรับการเพาะเลี้ยงปลาได้ต่อไป

### วิธีการศึกษา

**การเตรียมสัตว์ทดลอง** ปลาไนน้ำหนักเฉลี่ย 3-4 กรัมต่อตัว จากฟาร์มเอกชนในจังหวัดพิษณุโลก นำมาอนุบาลและปรับสภาพเพื่อให้คุ้นเคยกับระบบการเลี้ยงในรูปแบบของห้องปฏิบัติการ ในถังไฟเบอร์ขนาด 500 ลิตร ที่มีให้อากาศตลอดเวลา กำหนดให้เปลี่ยนถ่ายน้ำ 75% ทุกวัน ด้วยน้ำที่ปราศจากคลอรีน ลูกปลาได้รับอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่มีโปรตีนไม่ต่ำกว่า 25% และมีไขมันไม่ต่ำกว่า 7% วันละ 2 เวลา คือ 9.00 และ 15.30 นาฬิกา โดยให้ปลากินจนอิ่ม (apparent satiation) เมื่อปลาไม่มีน้ำหนักเฉลี่ยประมาณ 7 กรัม/ตัว จึงทำการสุ่มปลา โดยแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 2 ชุด นำปลาใส่ตู้ทดลองจำนวน 20 ตัวต่อตู้ ตู้ละ 4 ซ้ำจำนวนทั้งหมด 8 ตู้ทดลอง ในแต่ละตู้บรรจุน้ำปริมาตร 100 ลิตร และปิดด้วยพลาสติกสามด้านเพื่อป้องกันการรบกวน พร้อมติดตั้งอุปกรณ์ให้อากาศ

การทดลองนี้ใช้ปลาไนเป็นสัตว์นำทดลอง ได้รับการพิจารณาและอนุมัติจากคณะกรรมการสัตว์ทดลองของมหาวิทยาลัยนเรศวร (รหัสข้อเสนอโครงการเลขที่ NU-AQ610503 ออกให้ ณ วันที่ 31 มกราคม 2562) นอกจากนี้สัตว์ทดลองยังได้รับการดูแลตามขั้นตอนการใช้สัตว์ทดลอง และสิทธิขั้นพื้นฐานที่สัตว์ทดลองที่ควรจะได้รับตั้งแต่ต้นจนถึงสิ้นสุดการทดลอง

**การเตรียมวัตถุดิบ** กากถั่วดาวอินคาได้รับมาจากห้างหุ้นส่วนจำกัด ดี อัลติเมท แบงค์ค็อก มาทำการร่อนผ่านตะแกรงขนาดตา 30 เมช (595 ไมโครเมตร) จากนั้นนำกากถั่วดาวอินคาผ่านกระบวนการเอกซ์ทรูชัน (extrusion) โดยกำหนดให้มีความชื้น 12% อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (โดยอุณหภูมิตลอดการเอกซ์ทรูชันจะไม่เกิน 100 องศาเซลเซียส) และนำไปอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง จึงนำมาผ่านตะแกรงร่อนและเก็บวัตถุดิบอาหารที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส รวบรวมวัตถุดิบอาหารทั่วไปตามที่แสดงใน **Table 1** นำวัตถุดิบอาหารทั้งหมดร่อนผ่านตะแกรง และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส และแบ่งวัตถุดิบอาหารบางส่วนเพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีตามวิธีการของ AOAC (1990) เพื่อเตรียมสำหรับการประกอบสูตรอาหารต่อไป

**การเตรียมอาหารทดลอง** การทดลองครั้งนี้กำหนดอาหารทดลองจำนวนทั้งหมด 2 สูตรประกอบด้วย อาหารที่มีกากถั่วเหลืองเป็นหลัก (สูตรควบคุมหรือ SBM based diet) และอาหารที่มีกากถั่วดาวอินคาเป็นหลัก (SIM based diet) โดยกำหนดให้อาหารทดลองทั้งหมดมีระดับโปรตีน 30% (isonitrogenous diets) และระดับไขมัน 10% (isolipidic diets) ใกล้เคียงกัน ผสมวัตถุดิบอาหารทั้งหมดตามสัดส่วนที่แสดงใน **Table 1** ด้วยเครื่องผสมอาหาร และอัดเม็ดให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 3 มิลลิเมตร จากนั้นนำไปอบที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส

### การเก็บรวบรวมข้อมูล

ในระหว่างการเลี้ยงปลาทดลองกำหนดให้มีการประเมินการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพการใช้สารอาหารของปลาในทุกๆ 2 สัปดาห์ โดยทำการชั่งน้ำหนักปลาทั้งหมด น้ำหนักอาหารที่ปลากิน และจำนวนปลาที่เหลือตลอดระยะเวลา 10 สัปดาห์ เพื่อคำนวณค่าการเจริญเติบโตประกอบด้วย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain, %) =  $\frac{[\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย (กรัม)} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม)}] \times 100}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม)}}$ , น้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อตัวต่อวัน (average daily gain, กรัมต่อวัน) =  $\frac{[\text{น้ำหนักปลาสุดท้าย (กรัม)} - \text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม)}]}{\text{ระยะเวลา (วัน)}}$ , อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate, เปอร์เซ็นต์) =  $\frac{[\ln \text{น้ำหนักสุดท้าย (กรัม)} - \ln \text{น้ำหนักเริ่มต้น (กรัม)}]}{\text{น้ำหนักปลาเริ่มต้น (กรัม)} \times 100}$ , ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน (protein efficiency ratio) =  $\frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{ปริมาณโปรตีนที่ปลากิน (กรัม)}}$ , ประสิทธิภาพการใช้ไขมัน (lipid efficiency ratio, %) =  $\frac{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}{\text{ปริมาณไขมันที่ปลากิน (กรัม)} \times 100}$ , โปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์ (protein productive value, %) =  $\frac{[\text{โปรตีนปลาสุดท้าย (กรัม)} - \text{โปรตีนเริ่มต้น (กรัม)}]}{\text{ปริมาณโปรตีนตลอดการทดลอง (กรัม)}}$  และอัตราการรอดตาย (survival rate, %) =  $\frac{[\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง (กรัม)} \times 100]}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มต้น (กรัม)}}$

เมื่อครบ 10 สัปดาห์ ทำการสุ่มปลาจำนวนตู้ละ 2 ตัว เพื่อชั่งน้ำหนัก วัดความยาว ชั่งน้ำหนักอวัยวะภายในทั้งหมด และน้ำหนักตับเพื่อคำนวณหาค่าดัชนีต่าง ๆ ดังต่อไปนี้คือ ค่าปัจจัยของน้ำหนักต่อความยาว (condition factor, %) = น้ำหนักปลา (กรัม) / ความยาว (ลูกบาศก์เซนติเมตร) × 100, ดัชนีน้ำหนักปลาต่อน้ำหนักตับ (hepatosomatic index, %) = น้ำหนักปลา (กรัม) / น้ำหนักตับ × 100, ดัชนีน้ำหนักปลาต่อน้ำหนักอวัยวะภายใน (viscerosomatic index, %) = น้ำหนักปลา (กรัม) / น้ำหนักตับ × 100 จากนั้นเก็บตัวอย่าง ได้แก่ ตับ ลำไส้ส่วนต้นและลำไส้ส่วนท้าย มาแช่สารละลาย Bouin's Solution ก่อนนำไปผ่านกรรมวิธีการเตรียมเนื้อเยื่อของ Humason (1972) แล้วนำไปตัดให้มีขนาด 3- 4 ไมโครเมตร ทำการย้อมด้วย Hematoxylin และ Eosin (H&E) แล้วนำตัวอย่างที่ได้ไปศึกษาด้วยกล้องถ่ายภาพและกล้องจุลทรรศน์ เพื่อศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเนื้อเยื่อวิทยา และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของซากปลาทั้งตัวตามวิธีการมาตรฐาน (AOAC, 1990) การคำนวณราคาอาหาร เพื่อทราบถึงราคาต้นทุนราคาอาหารของทั้งสองชุดการทดลอง (Table 1) คำนวณราคาของวัตถุดิบอาหารแต่ละชนิด และศึกษาราคาอาหารต่อการทำให้ปลา มีน้ำหนักเพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม (incident cost หรือ feeding cost) ดังต่อไปนี้ ราคาอาหาร (total cost, บาท/กิโลกรัม) = ราคาวัตถุดิบอาหารต่อน้ำหนักวัตถุดิบอาหารที่กำหนดในสูตรอาหาร, ราคาอาหารต่อน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น (feeding cost) = [ราคาอาหาร / น้ำหนักอาหารที่ปลากิน] / น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น × 1,000

**การวิเคราะห์ข้อมูล** วิเคราะห์ข้อมูลประกอบด้วย การเจริญเติบโต ประสิทธิภาพการใช้อาหาร และโปรตีน เพื่อวิเคราะห์ค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยด้วยวิธี T-test โดยโปรแกรม SPSS (Statistical Packages for Social Science) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

**Table 1** Ingredients and chemical composition of experimental diets (g/100 g)

Ingredients (%)	Experimental diets	
	High SBM based diet	High SIM based diet
Fish meal (67.65%CP <sup>1</sup> )	11	11
Soybean meal (46.39%CP)	36.5	0
Sacha inchi meal (56.94%CP)	0	29.75
Corn gluten (26.39%CP)	20	20
Corn meal	11.2	11.2
Rice bran	8.5	8.5
Rice flour	2	12.55
Vitamin mix <sup>2</sup>	1	1
Mineral min <sup>3</sup>	1	1
Fish oil	5.1	1
DL-Methionine	0.75	0.7
L-Lysine HCl	1.7	2
Dicalcium phosphate	1.25	1.3
Total	100	100
Chemical composition (%)		
Moisture	3.55 ± 0.33	2.99 ± 0.14
Crude protein	30.62 ± 0.71	30.89 ± 0.11
Crude fat	9.97 ± 0.27	10.85 ± 0.67
Crude fiber	3.87 ± 0.13	3.86 ± 0.36
Ash	4.11 ± 0.23	4.18 ± 0.21

<sup>1</sup>Abbreviation; CP, crude protein; <sup>2</sup>Vitamin mixture (mg or IU/kg diet): A, 5,000 IU; D3, 1,000 IU; E, 5,000 mg; K, 2,000; B1, 2,500 mg; B2, 1,000 mg; B6, 1,000 mg; B12, 10 mg; inositol, 1000 mg; pantothenic acid, 3,000 mg; niacin acid, 3,000 mg; C, 10,000 mg; folic acid, 300 mg; biotin, 10 mg, <sup>3</sup>Mineral mixture (g/kg feed); calcium phosphate, 80; calcium lactate, 100; ferrous sulphate, 1.24; potassium chloride,

0.23; potassium iodine, 0.23; copper sulphate, 1.2; manganese oxide, 1.2; cobalt carbonate, 0.2; zinc oxide, 1.6; magnesium chloride, 2.16; sodium selenite, 0.10

**ผลการศึกษา**

การศึกษาทดแทนกากถั่วเหลืองด้วยกากถั่วดาวอินคาในอาหารปลาในที่เลี้ยงด้วยอาหารสูตรควบคุมเป็นแหล่งโปรตีนหลักจากกากถั่วเหลือง เปรียบเทียบกับอาหารที่ทดแทนด้วยแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองด้วยกากถั่วดาวอินคาในระดับที่เท่ากัน เป็นระยะเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าอัตราการเจริญเติบโตมีแนวโน้มสูงขึ้นตามระยะเวลาทดลอง (Figure 1) เมื่อสิ้นสุดการทดลอง พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลัก มีน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น น้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ยต่อตัวต่อวัน อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุด แต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ( $10.98 \pm 0.22$ ,  $54.46 \pm 5.79$ ,  $0.06 \pm 0.00$  และ  $0.62 \pm 0.05$  ตามลำดับ) อัตราการรอดตาย ดัชนีอวัยวะภายในและค่าความยาวต่อน้ำหนัก พบว่ามีค่าไม่แตกต่างกัน ( $P > 0.05$ ) ปลาที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลักมีค่าดัชนีตับสูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลือง ( $1.14 \pm 0.33$  และ  $0.80 \pm 0.25$  ตามลำดับ) และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 2) รวมถึงปลาที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลัก พบว่าปริมาณการกินอาหาร อัตราการกินอาหาร ประสิทธิภาพการใช้อาหาร อัตราประสิทธิภาพการใช้อาหาร (Table 3) ประสิทธิภาพการใช้โปรตีน และโปรตีนที่นำไปใช้ประโยชน์สูงที่สุด (Table 4) แต่ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) ส่วนประสิทธิภาพการใช้น้ำมันในปลาที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลัก พบมีค่าต่ำกว่าแต่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ( $P > 0.05$ , Table 4)

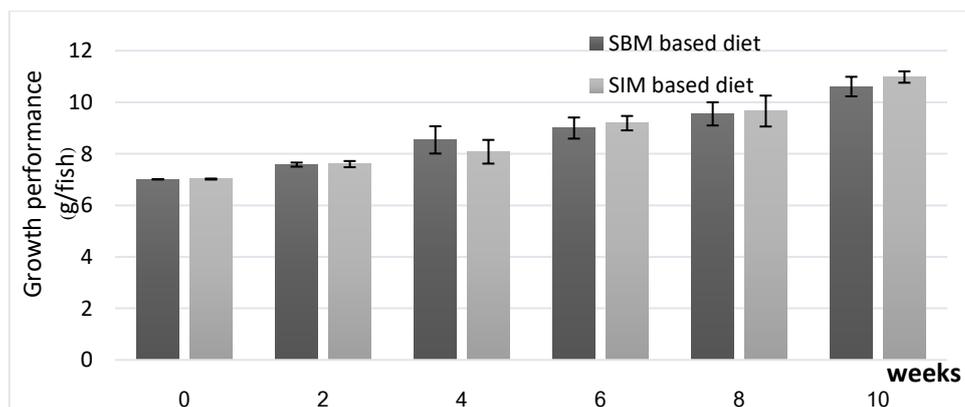


Figure 1 Growth performance of common carp fed experimental diets for 10 weeks

Table 2 Growth performance of common carp fed experimental diets for 10 weeks

Growth performance	Experimental diets	
	High SBM based diet	High SIM based diet
IBW (g/fish)	7.01 ± 0.01	7.02 ± 0.02
FBW (g/fish)	10.61 ± 0.37	10.98 ± 0.22
Weight gain (%)	51.27 ± 5.43	54.46 ± 5.79
Average daily gain (g/day)	0.05 ± 0.00	0.06 ± 0.00
Specific growth rate (%)	0.59 ± 0.05	0.62 ± 0.05
Survival rate (%)	100 ± 0.00	98.75 ± 2.50
Hepatosomatic index (%)	0.80 ± 0.25 <sup>b</sup>	1.14 ± 0.33 <sup>a</sup>
Viscerosomatic index (%)	12.77 ± 2.56	11.35 ± 1.00
Condition factor (%)	1.93 ± 0.41	1.98 ± 0.17

Values are means ± S.D. of four replicates and values within the same row with different letters are significant difference ( $P < 0.05$ , n=4)

**Table 3** Feed utilization of common carp fed high SBM based diet and SIM based diet for 10 weeks

Feed utilization	Experimental diets	
	High SBM based diet	High SIM based diet
Feed intake (g)	0.87 ± 0.84	0.89 ± 1.60
Feed conversion ratio (%)	2.50 ± 0.47	2.77 ± 0.49
Rate of feed intake (%)	0.07 ± 0.01	0.09 ± 0.01
Feed efficiency (%)	41.12 ± 8.29	37.04 ± 6.75
Feed efficiency ratio (%)	5.32 ± 0.59	5.62 ± 0.83

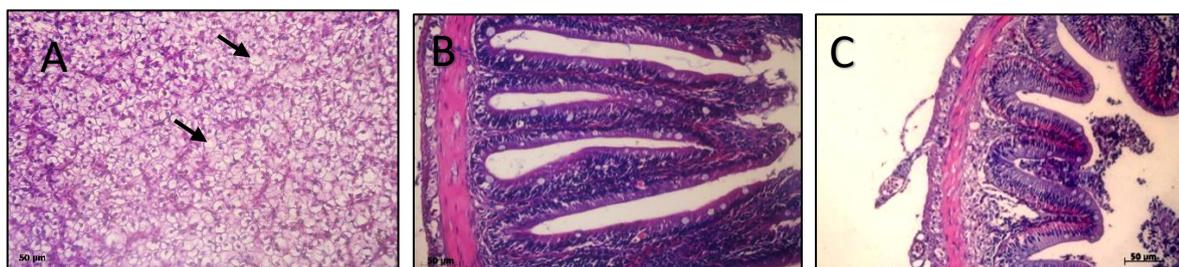
Values are means ± S.D. of four replicates and values within the same row with different letters are significant difference ( $P < 0.05$ ,  $n=4$ )

**Table 4** Nutrient utilization of common carp fed high SBM based diet and SIM based diet for 10 weeks

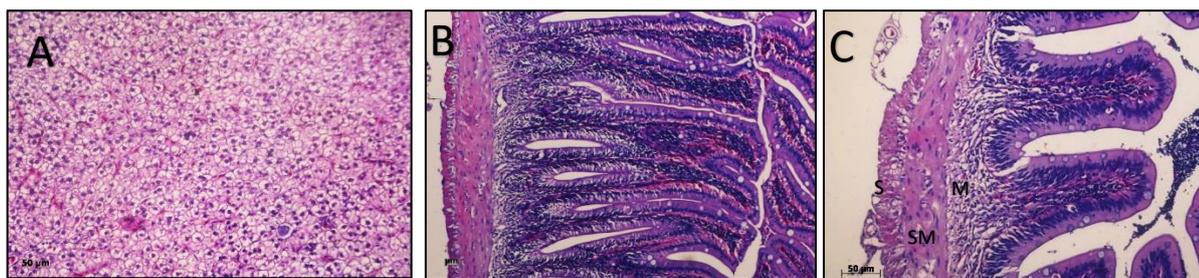
Nutrient utilization	Experimental diets	
	High SBM based diet	High SIM based diet
Protein efficiency ratio	1.67 ± 0.18	1.76 ± 0.09
Protein productive value (%)	39.03 ± 1.65	39.34 ± 0.65
Lipid efficiency ratio (%)	5.14 ± 0.27	5.01 ± 0.27

Values are means ± S.D. of four replicates and values within the same row with different letters are significant differences ( $P < 0.05$ ,  $n=4$ )

การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางเนื้อเยื่อวิทยาของตับ ลำไส้ส่วนต้น และลำไส้ส่วนท้าย ของปลาไนที่ได้รับอาหารทดลอง เมื่อครบ 10 สัปดาห์ พบว่าปลาไนที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองเป็นหลักมีแวกคิวโอลที่มีขนาดใหญ่ (vacuole enlargement) (Figure 2A) แต่ปลาไนที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลักไม่พบการเปลี่ยนแปลงพยาธิสภาพของเซลล์ตับ พยาธิสภาพของลำไส้ส่วนต้นของปลาไนที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลักพบว่ามี ความยาวของวิลไลที่มากกว่าปลาไนที่รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองเป็นหลัก (Figure 2B and 3B) และสอดคล้องกับความยาวของ ไมโครวิลไลของปลาไนที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลักอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Table 5) ในขณะที่พยาธิสภาพของลำไส้ส่วนท้ายไม่มีความแตกต่างกัน (Table 5)



**Figure 2** Tissue sectioning of liver (A), duodenum (B), and ilium (C) of fish fed high soybean meal based diet (H&E, 40X Bar = 50 µm)



**Figure 3** Tissue sectioning of liver (A), duodenum (B), and ileum (C) of fish fed high sachal meal based diet (H&E, 40 x Bar = 50 µm)

**Table 5** Duodenum and ileum morphology of common carp experimental diets for 10 weeks

Morphology	Experimental diets		
	High SBM based diet	High SIM based diet	
Duodenum	Villus height (µm)	417.75 ± 1.58 <sup>b</sup>	556.70 ± 6.24 <sup>a</sup>
	Villus thickness (µm)	55.35 ± 1.75	59.07 ± 0.49
Ileum	Villus height (µm)	152.18 ± 6.19	237.55 ± 6.68
	Villus thickness (µm)	67.75 ± 0.18	99.05 ± 2.89

Values are means ± S.D. of four replicates and values within the same row with different letters are significant differences ( $P < 0.05$ , n=4)

ราคาอาหารที่ผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลัก พบว่ามีแนวโน้มลดลง โดยราคาอาหารที่ผสมกากถั่วเหลืองเป็นหลักมีค่า 18.01 บาท/กิโลกรัม แต่อาหารที่ผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลักมีค่า 12.49 บาท/กิโลกรัม (โดยกำหนดให้ต้นทุนการผลิตกากถั่วดาวอินคา มีค่า 4.5 บาท/กิโลกรัม) และราคาอาหารต่อน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม พบว่ามีราคาที่ลดลงเช่นกัน ต้นทุนค่าอาหารที่ให้ปลา น้ำหนักเพิ่มขึ้น 1 กิโลกรัม ในอาหารผสมกากถั่วเหลืองเป็นหลักมีค่า 45.03 บาท/กิโลกรัม และ 34.60 บาท/กิโลกรัมในอาหารผสมกากถั่วดาวเป็นหลัก (Table 6)

**Table 6** Feeding cost of common carp experimental diets for 10 weeks

Feeding cost	Experimental diets	
	High SBM based diet	High SIM based diet
Total cost (Baht/kg diet)	18.01	12.49
Feeding cost (Baht/kg fish gain)	45.03	34.60

**วิจารณ์**

การศึกษาการใช้ประโยชน์จากกากถั่วดาวอินคาในอาหารปลาในครั้งนี้ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลักมีการเจริญเติบโตที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่เมื่อพิจารณาค่าของน้ำหนักสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วดาวอินคาเป็นหลัก มีแนวโน้มที่สูงกว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมกากถั่วเหลืองเป็นหลัก (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับประสิทธิภาพการใช้สารอาหาร และการเก็บรักษาโปรตีน (Table 3, 4) จึงแสดงให้เห็นทราบว่าปลาสามารถใช้โปรตีนจากกากถั่วดาวอินคาเพื่อทดแทนแหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองได้เป็นอย่างดี โดยถั่วดาวอินคามีกรดอะมิโนที่สำคัญในปริมาณสูงกว่าถั่วเหลืองจำนวน 4 ชนิดประกอบด้วย cysteine, tyrosine, threonine และ tryptophan (Chirinos et al., 2013) และยังอุดมไปด้วยกรดไขมัน วิตามินและแร่ธาตุ ซึ่งมีผลคล้ายไปในทิศทางเดียวกันกับการทดลองของ Robinson (1991) ที่

ทำการศึกษากาการใช้กากเมล็ดฝ้ายป่นมาเป็นส่วนประกอบทดแทนกากถั่วเหลืองในอาหารปลากดออเมริกัน (*Ictalurus punctatus*) ที่เสริมด้วยกรดอะมิโนไลซีนที่สามารถใช้ได้ถึง 100% โดยไม่ส่งผลกระทบต่อปลา จากรายงานกาการใช้กากถั่วดาวอินคาของ Araujo-Dairiki et al., (2018) ที่ศึกษาเมล็ดถั่วดาวอินคาชนิดไขมันเต็มในอาหารปลา Brycon (*Brycon amazonicus*) และปลาคู้ดำ (*Colossoma macropomum*) พบว่าสามารถใช้กากถั่วดาวอินคาได้ 30% และ 15% ตามลำดับ ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำกว่าการศึกษาในครั้งนี้อาจเนื่องจากงานวิจัยนี้เป็นกากถั่วดาวอินคาที่ผ่านการบีบอัดน้ำมันออกแล้ว นอกจากนี้กากถั่วดาวอินคาที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้อาจได้ใช้กระบวนการให้ความร้อนที่สามารถลดปริมาณสารต้านโภชนาการลงได้ (Liener, 1980) เช่น trypsin inhibitor, แทนนิน และ ซาโปนิน เป็นต้น (Saroat et al., 2016) โดยทั่วไปปลาสามารถทนต่อระดับของ trypsin inhibitor ประมาณ 3 mg/g แทนนิน 2-4 g/100 g และซาโปนิน 0.1 mg/g (Hertrampf and Piedad-Pascual, 2000) ถ้าค่าสารต้านโภชนาการสูงกว่านี้จะทำให้การเจริญเติบโตลดลง อันนำไปสู่การตายได้ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าการทดลองนี้มีค่าอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักค่อนข้างสูง เนื่องจากในการทดลองครั้งนี้ใช้ระดับของปลาป่นในสูตรอาหารที่มีปริมาณต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Yueming (1992); Rumsey et al., (1993; 1994) และ Deyab and Magdy (2003) ที่ได้กล่าวไว้ว่า อาหารที่มีระดับปลาป่นลดลงและมีวัตถุดิบพืชที่สูง จะทำให้อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักสูงขึ้น เนื่องจากอาหารมีวัตถุดิบพืชผสมในปริมาณมาก มีผลต่อความอยากกินอาหารของปลาลดลง (palatability) การดึงดูดจะน้อยกว่าอาหารที่มีวัตถุดิบที่มาจากสัตว์ และมีสารต้านการใช้ประโยชน์ของโภชนะหรือมีพิษ ซึ่งสัตว์น้ำสามารถรับสารจำพวกนี้ได้ปริมาณน้อย อีกทั้งวัตถุดิบจากพืชยังมีเยื่อใยสูง ส่งผลให้มีประสิทธิภาพการย่อยที่ไม่ดีหรือย่อยยากกว่าวัตถุดิบจากสัตว์ นอกจากนี้คุณค่าทางโภชนาการในอาหารที่ไม่สมดุลของกรดอะมิโนจำเป็นชนิดเมธไทโอนีน และไลซีน ซึ่งมีผลทำให้สัตว์น้ำมีการเจริญเติบโตที่ต่ำลง (Watanabe and Pongmaneerat, 1993) เพราะเมธไทโอนีนเป็นกรดอะมิโนที่มีความสำคัญต่อการสังเคราะห์โปรตีน ดังนั้นอาหารที่มีวัตถุดิบพืชสูงควรเสริมกรดอะมิโนเมธไทโอนีน และไลซีนในสูตรอาหารให้เหมาะสมกับความต้องการของสัตว์น้ำชนิดนั้นๆ เพื่อสนับสนุนการเจริญเติบโตในปลา

การศึกษาลักษณะของเนื้อเยื่อวิทยาของตับที่ได้รับอาหารที่มีระดับกากถั่วเหลืองเป็นหลักพบ vacuole enlargement ใหญ่ขึ้น (Figure 2A) อาจเป็นผลเนื่องมาจากปริมาณของไขมัน และหรือ glycogen ที่ถูกเก็บสะสมไว้ที่เซลล์ตับสูงขึ้น (Lopez et al., 2015) แต่ไม่พบว่าการเปลี่ยนแปลงในปลาที่ได้รับกากถั่วดาวอินคาเป็นหลัก การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อในลำไส้ส่วนต้นของปลาที่ได้รับอาหารที่มีระดับกากถั่วดาวอินคาเป็นหลัก มีความยาวของไมโครวิลโลสเพิ่มขึ้น ทำให้สามารถเพิ่มพื้นที่ในกระบวนการย่อยและดูดซึมสารอาหารมากขึ้น จึงแสดงให้ทราบถึงการพัฒนาในทิศทางที่ดี เนื่องจากลำไส้ส่วนต้นทำหน้าที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยและดูดซึมสารอาหารเป็นหลัก (Mumford et al., 2007) ในขณะที่ปลาที่ได้รับอาหารจากกากถั่วเหลืองเป็นหลักพบความยาวและความกว้างของไมโครวิลโลสที่ต่ำกว่า (Table 5) Boonyaratpalin et al. (1998) พบว่าการทดแทนปลาป่นด้วยกากถั่วเหลืองในอาหารปลากะพงขาว ที่มีการใช้กากถั่วเหลืองแช่น้ำ พบว่าไมโครวิลโลสของเยื่อผนังลำไส้หดหายไป มีการเพิ่มจำนวนของเซลล์อย่างผิดปกติในชั้น lamina propria และเกิด vacuoles จำนวนมากที่ผนังลำไส้ชั้น mucosa เพราะกากถั่วเหลืองยังคงมีสารต้านโภชนาการ ซึ่งต่างจากงานวิจัยที่ใช้กากถั่วดาวอินคาที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนสูงในการเตรียมวัตถุดิบ (Liener, 1980) ยังสอดคล้องกับการทดลองในปลาชลมอน ที่ได้รับอาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วเหลืองในปริมาณสูง พบว่ามีพื้นที่ผิวสัมผัสในกระบวนการย่อยและดูดซึมสารอาหารลดน้อยลงเช่นกัน (Van den Ingh et al., 1991) การคำนวณราคาต้นทุนการผลิตอาหารในการทดลองครั้งนี้พบว่าราคาอาหารที่มีส่วนผสมของกากถั่วดาวอินคาสามารถลดต้นทุนการผลิตปลาใน 1 กิโลกรัมได้ถึง 10.43 บาท (Table 6)

## สรุป

ปลาสามารถใช้ประโยชน์จากโปรตีนของกากถั่วดาวอินคาทดแทนการใช้แหล่งโปรตีนจากกากถั่วเหลืองเพื่อการเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี โดยไม่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการเปลี่ยนแปลงของเนื้อเยื่อวิทยา และยังสามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิตสัตว์น้ำให้ต่ำลง นอกจากนี้ยังเป็นการใช้วัสดุเหลือจากโรงงานอุตสาหกรรมให้เกิดประโยชน์สูงสุด และยังสามารถเพิ่มมูลค่าได้อีกด้วย ดังนั้นกากถั่วดาวอินคาที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนแบบ extrusion จึงเป็นวัตถุดิบที่มีความเหมาะสมและสามารถพัฒนาศักยภาพการใช้ประโยชน์ในอาหารสำหรับปลาได้

## คำขอบคุณ

ผู้วิจัยขอขอบคุณ โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ. เลขที่ MSD61I0047 ประจำปีงบประมาณ 2561) ภายใต้การดำเนินการของ สกว. และ ห้างหุ้นส่วนจำกัด ดี อัลติเมท แบงก์คอกที่สนับสนุนทุนในการศึกษาวิจัย และวัดฤติบภาค ถั่วดาวอินคาตลอดการศึกษารววิจัย

## เอกสารอ้างอิง

- กลุ่มวิจัยและวิเคราะห์สถิติการประมง. 2562. สถิติการประมงแห่งประเทศไทย พ.ศ. 2560. กองนโยบายและยุทธศาสตร์ พัฒนาการประมงกรมประมง กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรุงเทพฯ.
- วิชมนี ยืนยงพุทธกาล, สิริมา ชินสาร และนิสานารถ กระแสร์ชล. 2562. ผลของสภาวะการอบต่อการคงอยู่ของกลิ่นถั่ว และสมบัติทางเคมีของแป้งถั่วดาวอินคา. พระจอมเกล้าพระนครเหนือ. 29: 135-144
- ศูนย์เทคโนโลยีสารสนเทศและการสื่อสาร. 2560. ระบบสารสนเทศการผลิตทางด้านเกษตร Online. แหล่งข้อมูล: <http://production.doae.go.th/8hog>, ค้นเมื่อ 27 กรกฎาคม 2563.
- AOAC 1990. Official Methods of Analysis. Washington. DC: AOAC (Association of Official Analytical Chemists).
- Araujo-Dairiki, T., F. Chaves, and J. Dairik. 2018. Seeds of sacha inchi (*Plukenetia volubilis*, Euphorbiaceae) as a feed ingredient for juvenile tambaqui, *Colossoma macropomum*, and matrinxã, *Brycon amazonicus* (Characidae). Acta Amazonica. 48: 32-37.
- Boonyaratpalin, M., P. Suraneiranat, and T. Tumpibal. 1998. Replacement of fish meal with various types of soybean products in diets for the Asian Seabass, *Lates calcarifer*. Aquaculture. 161: 67-78.
- Borba, M., D. Fracalossi, and L. Pezzato. 2006. Dietary energy requirement of piracanjuba fingerlings, *Brycon orbignyanus*, and relative utilization of dietary carbohydrate and lipid. Aquaculture Nutrition. 12: 183-191.
- Chirinos, R., G. Zuloeta, R. Pedreschi, E. Mignolet, Y. Larondelle, and D. Campos. 2013. Sacha inchi (*Plukenetia volubilis*): A seed source of polyunsaturated fatty acids, tocopherols, phytosterols, phenolic compounds and antioxidant capacity. Food Chemistry. 141: 1732-1739.
- Deyab, M., and M. Magdy. 2003. Replacement of fish meal with a mixture of different plant protein sources in juvenile Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (L.) diets. Aquaculture Research. 34: 1119-1127.
- Fu, S. 2005. The growth performance of southern catfish fed diets with raw, precooked cornstarch and glucose at two levels. Aquaculture Nutrition. 11: 257-261.
- Hanssen, H., and M. Hubsch. 2011. Sacha Inchi (*Plukenetia volubilis* L.) nut oil and its therapeutic and nutritional uses. Academic Press, San Diego.
- Hertrampf, J., and F. Piedad- Pascual. 2000. Handbook on Ingredients for Aquaculture Feeds. Kluwer Academic Publishers, London.
- Humason, G. 1972. Animal Tissue Technique. Freeman and Company. San Francisco.
- Khieokhajonkhet, A., S. Klongchai, O. Maphum, and G. Kaneko. 2019. Lipid distribution patterns of nine commercial fish in Thailand. Aquaculture Research. 50(4): 1348-1360.
- Liener, I. 1980. Factors affecting the nutritional quality of soya products. Journal of the American Oil Chemists' Society. 58: 406-415.
- Lopez L. M., M. Flores-Ibarra., I. Banuelos-Vargas, M. A. Galaviz, and C. True. 2015. Effect of fishmeal replacement by soy protein concentrate with taurine supplementation on growth performance, hematological and

- biochemical status, and liver histology of totoaba juveniles (*Totoaba macdonaldi*). *Fish Physiology and Biochemistry*. 41(4): 921-936.
- Mohapatra, M., N. Sahu, and A. Chaudhari. 2003. Utilization of gelatinized carbohydrate in diets of *Labeo rohita* fry. *Aquaculture Nutrition*. 9: 189–196.
- Mumford, S., J. Heidel, C. Smith, J. Morrison, B. MacConnell, and V. Blazer. 2007. *Fish histology and histopathology*. U.S. Fish and Wildlife Service. National Conservation Training Center, U.S.A.
- Robinson, E. 1991. Improvement of cottonseed meal protein with supplemental lysine in feeds for channel catfish. *Journal of Applied Aquaculture*. 1: 1-4.
- Rumsey, G., S. Hughes, and R. Winfree. 1993. Chemical and nutritional evaluation of soya protein preparations as primary nitrogen sources for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Feed Science and Technology*. 40: 135-151.
- Rumsey, G., A. Siwicki, D. Anderson, and P. Bowser. 1994. Effect of soybean protein on serological response non-specific defense mechanism, growth and protein utilization in rainbow trout. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 41: 323-339.
- Saroat R., M. Dena, K. Sunantha, and P. Suphat. 2016. Chemical properties and nutritional factors of presse cake from tea and sacha inchi seeds. *Food Bioscience*. 15: 64-71.
- Sarunya P., W. Tinnungwattana and W. Chuapoehuk. 1997. Pond feeding of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus* (Linn.) with irradiated and dried activated sludge from the beer industry. *Thai Journal of Agricultural Science*. 30(3): 389-397.
- Stone, D. 2003. Dietary carbohydrate utilization by fish. *Reviews in Fisheries Science*. 11: 337–369.
- Sukkasame, N. 2000. Effects of palm kernel cake levels on growth performance of Nile tilapia (*Oreochromis niloticus* Linn.) M.S. Thesis. Songkla University, Songkhla.
- Van den Ingh, T., A. Kroghdahl, J. Olli, H. Hendriks, and J. Koninkx. 1991. Effects of Soybean containing diets on the proximal and distal intestine in Atlantic salmon (*Salmo salar*): a morphological study. *Aquaculture*. 94: 297-305.
- Watanabe, T., and J. Pongmaneerat. 1993. Potential of soybean meal as a protein sources in extruded pellets for rainbow trout. *Nippon Suisan Gakkaishi*. 59: 1415-1423.
- Yueming, D. 1992. The use of soy bean protein in aqua feed. Netherlands: ADM Specialty Ingredients Division Stationsstraat.