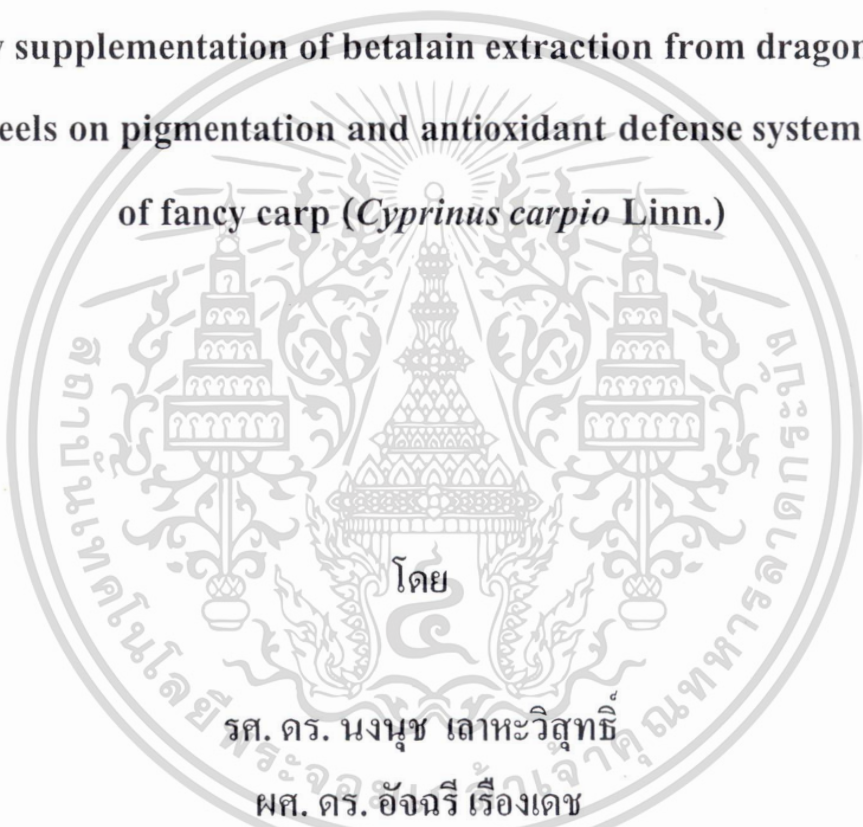


รายงานการวิจัย

เรื่อง

อาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรเพื่อเร่งสีและระบบต้านอนุมูลอิสระในปลาแฟนซีคาร์ป

Dietary supplementation of betalain extraction from dragon fruit peels on pigmentation and antioxidant defense system of fancy carp (*Cyprinus carpio* Linn.)



โดย

รศ. ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ

ผศ. ดร. อัจฉรี เรืองเดช

RCH.

SF

458

• K64

น 1390

ด. 1

เลขทะเบียน 115522

วันเดือนปี 15 ส.ค. 2554

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

นางสาวลำพิ่ง พุ่มจันทร์

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2552

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มี

12/11/54
i.....

ชื่อโครงการวิจัย

อาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรเพื่อเร่งสีและระบบต้านอนุมูลอิสระในปลาแฟนซีคาร์ป

Dietary supplementation of betalain extraction from dragon fruit peels on pigmentation and antioxidant defense system of fancy carp (*Cyprinus carpio* Linn.)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก

งบประมาณแผ่นดิน ประจำปี 2552

จำนวนเงิน

200,000 บาท

ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

เดือนตุลาคม 2551 – เดือนกันยายน 2552

หน่วยงานและผู้ดำเนินการการวิจัย

รศ.ดร.นางนงนุช เลาหะวิสุทธิ E-mail: klnongnu@kmitl.ac.th

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิตการประมง

สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ถนนลาดกองกรุง เขตลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร 10520

โทร. 0-2329-8517 โทรสาร 0-2329-8517

อาหารเสริมสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรเพื่อเร่งสีและระบบต้านอนุมูลอิสระในปลาแฟนซีคาร์ป

นงนุช เลาหะวิสุทธิ อัจฉรี เรืองเดช และลำพิ่ง พุ่มจันทร์

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้ประโยชน์ของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร (*Hylocereus undatus* Haw Britt. & Rose) ในปลาแฟนซีคาร์ป (*Cyprinus carpio* Linn.) โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษาสารเบตาเลนจากผลเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้ง โดยเก็บสารเบตาเลนในสภาวะการบรรจุ 2 แบบ ได้แก่ การบรรจุแบบสุญญากาศและแบบบรรยากาศปกติ ร่วมกับอุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ -20, 4, 15 และ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 10 เดือน พบว่าสารเบตาเลนที่เก็บในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มีความเสถียรมากที่สุด ซึ่งค่ามุมสี (Hue angle; H°) เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยที่สุดเท่ากับ 358.700 ± 0.26 ($P < 0.05$) ปริมาณสารเบตาเลนมากที่สุดเท่ากับ 85.92 ± 0.11 มก./100 ก. น้ำหนักแห้งผลเปลือกแก้วมังกร ($P < 0.05$) มีปริมาณสารประกอบ โพลีฟีนอลมากที่สุด คือ 272.8 ± 5.84 มก.กรดแกลลิก/กก. ($P < 0.05$) และมีความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ (radical

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และเฝ้าระวังถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

scavenging activity ; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)) มากที่สุด เท่ากับ 46.76 ± 0.62 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05) การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่เหมาะสมต่อการเร่งสี การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อ ค่าโลหิตวิทยา และประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการต้านสารอนุมูลอิสระในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป โดยมีปริมาณสารเบตาเลนที่ผสมในอาหารปลาที่ต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0 15 30 45 และ 60 มก./กก. เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ พบว่าอัตราการเจริญเติบโต และค่าโลหิตวิทยา ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) ส่วนการศึกษาค่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของผิวปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 5 ระดับ พบว่าปลาแฟนซีคาร์ปทุกชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนในระดับความเข้มข้นต่างๆ มีแนวโน้มของค่าความเข้มข้นแดงเพิ่มมากขึ้น (P<0.05) ส่วนมีค่า TBARS ต่ำที่สุด คือ $0.96 \pm 0.02 (\times 10^{-3} \mu\text{mol MDA/มล.})$ (P<0.05) ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ต่ำที่สุดเท่ากับ $1.13 \pm 0.09 (\times 10^{-2} \text{ มล. H}_2\text{O}_2)$ (P<0.05) และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระคือ 59.02 ± 0.22 เปอร์เซ็นต์ (P<0.05) ส่วนลักษณะเนื้อเยื่อปลาแฟนซีคาร์ป พบว่าเกล็ดปลาแฟนซีคาร์ปที่กินอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความเข้มข้น 60 มก./กก. มีการสะสมของรงควัตถุสีส้มแดงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับปลาแฟนซีคาร์ปที่ไม่ได้กินอาหารผสมสารเบตาเลน เนื้อเยื่อตับไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อได้รับสารเบตาเลน นอกจากนี้ยังพบว่าปลาแฟนซีคาร์ปที่กินอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความเข้มข้น 60 มก./กก. มีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาของเซลล์สืบพันธุ์ของปลามากที่สุด

Dietary supplementation of betalain extraction from dragon fruit peels on pigmentation and antioxidant defense system of fancy carp (*Cyprinus carpio* Linn.)

Nongnuch Laohavisuti, Uscharee Ruangdej and Lamphung Phumjan

Abstract

The present study aimed to study the preservation of betalain powder from dragon fruit (*Hylocereus undatus* Haw Britt. & Rose) peel and its utilization by fancy carp (*Cyprinus carpio* Linn.). Two experiments were conducted. The first experiment aimed to determine optimum packaging condition and storage temperature for betalain preservation. The pigment stability was examined on hue angle values (H°). The antioxidant and radical scavenging activities of preserved samples were expressed as polyphenol and ; 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) values. The experiment was designed as 2 x 4 factorial in CRD. There were two packaging conditions applied; non-vacuum and vacuum in combination with 4 levels of temperature at -20, 4, 15 and 25 °C. After 10 months, it was found that the best condition for betalain storage stability was kept

in vacuum under $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($P<0.05$) which had a lowest angle values (H°) of betalain powder of 358.70 ± 0.26 and showed a highest-betalain concentration of $85.92\pm 0.11\text{ mg}/100\text{ g}$. The maximum content of phenolic compounds and percent inhibiting DPPH value were $272.8\pm 5.84\text{ mg gallic acid}/100\text{ g}$ and $46.76\pm 0.62\%$, respectively. The second experiment aimed to study the effects of using different concentrations of betalain on fish skin pigmentation, TBARS value, activities of enzyme catalase, percent inhibition of DPPH, histology of skin, gonad and liver in fancy carp. The series of diets containing 0, 15, 30, 45 and 60 mg betalain/kg After 3 months, Eventhough there were no significant differences in growth performance among treatments ($P>0.05$), it was found that the fish skin of red color significantly showed increased as the concentrations of betalain increased ($P<0.05$). Fish fed with feed containing 60 mg betalain/kg showed the lowest TBARS value of $0.96\pm 0.02 \times 10^{-3}\text{ }\mu\text{mol MDA}/\text{ml blood}$ and activities of enzyme catalase value of $1.13\pm 0.09 \times 10^{-2}\text{ mg H}_2\text{O}_2$ ($P<0.05$) DPPH value of blood serum showed highest in blood serum of fancy carp ($59.02\pm 0.22\%$) value showed that fed containing 60 mg betalain/kg ($P<0.05$). Histological results revealed that fish fed with the diets containing betalain showed in enhancing scale pigment accumulation than fish fed without betalain. The result of feed betalain showed that no effect on containing liver. Gonad development in fish feed containing 60 mg betalain/kg, provide significant development in female eggs.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	4
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	10
บทที่ 4 ผลการทดลอง	15
บทที่ 5 วิเคราะห์ผลการทดลอง	32
บทที่ 6 สรุปผล เอกสารอ้างอิง	39 40



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร	4
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	10
บทที่ 4 ผลการทดลอง	15
บทที่ 5 วิเคราะห์ผลการทดลอง	32
บทที่ 6 สรุปผล	39
เอกสารอ้างอิง	40



สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
4.1	16
4.2	17
4.3	18
4.4	19
4.5	20
4.6	21
4.7	22
4.8	24
4.9	25
4.10	25
4.11	26
4.12	27
4.13	28
4.14	29
4.15	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1 บทนำ

ในปัจจุบันธุรกิจปลาสวยงามเป็นหนึ่งในสินค้าเกษตรที่ยังมีช่องทางในการขยายตลาดส่งออก เนื่องจากความต้องการในตลาดโลกยังคงมีแนวโน้มขยายตัวอย่างต่อเนื่อง โดยประเทศไทยมีปัจจัยพื้นฐานในเรื่องความพร้อมทางศักยภาพการเลี้ยงและการพัฒนาสายพันธุ์ จึงทำให้ปลาสวยงามของไทยได้รับการยอมรับมากขึ้นทั้งในด้านความหลากหลายของสายพันธุ์ ความสวยงาม ราคาไม่แพง เมื่อเปรียบเทียบกับคู่แข่ง และมีการพัฒนามาตรฐานการเลี้ยงรวมทั้งการควบคุมคุณภาพ และการกักกันโรคของปลา ซึ่งการค้าปลาสวยงามในตลาดโลกนั้นมีผลผลิตกว่าร้อยละ 50 มาจากตลาดทางเอเชีย โดยสิงคโปร์จัดเป็นผู้นำอันดับหนึ่งในการส่งออกปลาสวยงามของโลก โดยมีส่วนแบ่งในตลาดการค้าปลาสวยงามร้อยละ 21.5 รองลงมาคือมาเลเซียร้อยละ 8.9 สาธารณรัฐเช็กร้อยละ 7.8 สเปนร้อยละ 7.0 ญี่ปุ่นร้อยละ 6.7 และอินโดนีเซียร้อยละ 5.7 ส่วนไทยนั้นอยู่ในอันดับที่ 7 มีส่วนแบ่งในตลาดโลกร้อยละ 5.0 (นิรนาม, 2551) ซึ่งปลาสวยงามที่ได้รับความนิยมมากมักคือสีตันสวยงามเลี้ยงง่าย โดยเฉพาะปลาแฟนซีคาร์ป (*Cyprinus carpio* Linn.) เป็นอีกชนิดหนึ่งที่ได้รับการนิยมนจากผู้เลี้ยงมาเป็นเวลานาน ปลาแฟนซีคาร์ปที่มีสีตันสวยงาม และรูปร่างที่ได้มาตรฐานจะมีราคาสูงเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งใน และต่างประเทศ ถึงแม้ว่าประเทศไทยจะมีศักยภาพในการผลิตปลาแฟนซีคาร์ปเพื่อการส่งออกแต่ก็ยังมีอุปสรรคคือ ปลาแฟนซีคาร์ปที่เพาะเลี้ยงมีสีตันไม่สดใสซึ่งส่งผลให้มีราคาต่ำรวมทั้งปัญหาการเลี้ยงของผู้เลี้ยงเองที่พบคือ สีของปลาแฟนซีคาร์ปจะซีดลงเมื่อเลี้ยงไประยะหนึ่งทั้งนี้เนื่องมาจากสีที่แสดงออกบนตัวปลาแฟนซีคาร์ปเป็นสารสีชนิดคาโรทีนอยด์ ซึ่งไม่สามารถที่จะสังเคราะห์ได้เองจำเป็นที่จะต้องได้รับจากอาหารโดยตรง นอกจากนี้ยังอธิบายว่าชนิดของคาโรทีนอยด์ที่บริเวณผิวหนัง ส่วนใหญ่จะเป็นคาโรทีนอยด์ชนิด keto-carotenoids เช่น astaxanthin ester และ 4-keto-lutein ester ดังนั้นในกระบวนการสังเคราะห์คาโรทีนอยด์ชนิด keto-carotenoids เป็นคาโรทีนอยด์ที่สำคัญการแสดงออกของสี ปลาแฟนซีคาร์ปจะได้มาจากอาหารที่เป็นแหล่งของ keto-carotenoids โดยตรง และได้จากคาโรทีนอยด์ชนิดเบตาคาโรทีนอยด์ (Goodwin, 1984) ซึ่งสีจากคาโรทีนอยด์จะแสดงออกในเฉดสีเหลือง ส้ม และแดง โดยการแสดงออกของสีแดงในปลาแฟนซีคาร์ปเป็นคาโรทีนอยด์ชนิดแอสตาแซนทิน ซึ่งในสัตว์ต่างชนิดกันจะมีความสามารถในการเปลี่ยนและสะสมคาโรทีนอยด์ได้ต่างกัน (Katayama *et al.*, 1973) มีการทดลองใช้สารแอสตาแซนทินผสมในอาหารสัตว์น้ำกันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ ปลาแฟนซีคาร์ป (Hanzs *et al.*, 2003; Gouveia, 2003) ปลานิลแดง (ชลธิชา โชติสิทธิพงษ์, 2541) ปลาทอง (Paripatananont *et al.*, 1999) เมื่อกินเข้าไปจะทำให้มีการสะสมคาโรทีนอยด์ และสีแดงเพิ่มขึ้น นอกจากคาโรทีนอยด์เป็นสารเร่งสีแล้ว ยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งทำหน้าที่ในการไปยับยั้งขบวนการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) และยังมีผลต่อระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ช่วยควบคุมระบบการทำงานของภูมิคุ้มกันโรคให้อยู่ในระดับปกติ (วีรศักดิ์ สามิ, 2005) แต่สารสีกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาโรทีนอยด์ที่ใช้ในปลาสวยงามนำเข้าจากต่างประเทศ และมีราคาแพงจึงได้มีการศึกษาค้นคว้าสารสีในกลุ่มอื่นๆ ที่จะนำมาใช้ทดแทน โดยสารสีในกลุ่มของเบตาเลน (betalain) เป็นอีกทางเลือกหนึ่ง ที่ถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายเนื่องจากมีประโยชน์ต่อผู้บริโภค เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม สามารถพบได้ทั่วไปในพืช ผัก และผลไม้ เช่นในตระกูล *Hylocereus*, *Amaranthus*, *Celosia*, *Gomphrena* และ *Iresine* เป็นต้น (Cai *et al.*, 2005) ดังนั้นแก้วมังกร *Hylocereus undatus* Haw Britt. & Rose) จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่จะนำมาใช้เป็นสารเร่งสี เนื่องจากเปลือกผลแก้วมังกรเป็นวัสดุที่เหลือใช้จากธรรมชาติ มีสีแดงบานเย็น มีสารประกอบในกลุ่มของเบตาเลน เป็นแหล่งของรงควัตถุ โดยรงควัตถุหลักในเปลือกผลแก้วมังกรที่สำคัญ คือ เบตาไซยานินเป็นรงควัตถุสีม่วง และเบตาแซนทินเป็นรงควัตถุสีเหลืองส้ม (Castellar *et al.*, 2003) นอกจากนี้สารเบตาเลนยังมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเช่น สารประกอบฟีนอลิก วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน เป็นต้น โดยสารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับจากภายนอก พบได้มากตามธรรมชาติ มีคุณสมบัติอื่นๆ เช่น ช่วยขยายหลอดเลือด ลดการอักเสบ กระตุ้นให้สร้างภูมิคุ้มกัน ต้านมะเร็ง ต้านโรคมะเร็ง ทำลายเชื้อโรคที่เข้าสู่ร่างกาย ฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส เป็นต้น (นันทน์ภัส เต็มวงศ์, 2551; วาริน แสงกิตติโกมล, 2546; ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์, 2546; โอภา วัชรระคุปต์, 2549) เช่นเดียวกับสารสีกลุ่มคาโรทีนอยด์ โดยมีรายงานว่ามนุษย์ที่บริโภคพืช sicilian cactus pear ติดกันเป็นเวลา 2 สัปดาห์ จะส่งผลให้ระดับของ oxidative stress และ lipid hydroperoxide ในเลือดลดลง โดยจะเป็นการลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจเรื้อรัง มะเร็งและการสะสมปริมาณไขมันในหลอดเลือด เป็นต้น (Tesoriere *et al.*, 2005) แต่การใช้สารสีจากธรรมชาติมีข้อจำกัดเกี่ยวกับการสลายตัวง่าย การสลายตัวเร็วหรือช้าของสารขึ้นอยู่กับแสง อุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง (Cai *et al.*, 2005; Stintzing and Carle, 2006)

ดังนั้นการศึกษาดังกล่าวการเก็บรักษาสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร และการใช้สารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่เหมาะสมต่อการเร่งสี ค่าโลหิตวิทยา ประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการต้านอนุมูลอิสระ และการเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อเยื่อในปลาแฟนซีคาร์ป เพื่อเป็นแนวทางการใช้สารสีจากธรรมชาติในการผสมอาหารทดแทนสารสีสังเคราะห์จากต่างประเทศ และไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตและสิ่งแวดล้อม นอกจากนี้ยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของวัสดุที่เหลือใช้ อีกทั้งเป็นการลดต้นทุนการผลิตปลาสวยงาม

1.1 วัตถุประสงค์

1.1.1 เพื่อศึกษาผลของสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสี และปริมาณสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร

1.1.2 เพื่อศึกษาผลของสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณ โพลีฟีนอล และความสามารถ ในการทำลายสารต้านอนุมูลอิสระ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl, radical scavenging activity (DPPH) ของ สารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร

1.1.3 เพื่อศึกษาระดับของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่เหมาะสมต่อการเร่งสีปลา แพนซีคาร์ป

1.1.4 เพื่อศึกษาผลของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของ เนื้อเยื่อ ค่าโลหิตวิทยา และประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการต้านสารอนุมูลอิสระในเลือดปลา แพนซีคาร์ป

1.1.5 เพื่อศึกษาผลของสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรต่อการพัฒนาเซลล์สืบพันธุ์ปลา แพนซีคาร์ป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2 ตรวจสอบเอกสาร

2.1 ปลาแฟนซีคาร์ป

ปลาแฟนซีคาร์ป (fancy carp) เป็นชื่อที่ใช้เรียกปลาในสกุลเดียวกันกับปลาไน (crucian carp) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Cyprinus carpio* Linn. ชื่อสามัญเรียกว่า กอย (koi) หรือนิชิกิกอย (nishikigoi) เป็นปลาน้ำจืดที่มีแหล่งดั้งเดิมอยู่ในประเทศอิหร่านในปัจจุบัน เป็นปลาที่สามารถปรับตัวดำรงชีวิตอยู่ในแหล่งน้ำจืดที่มีอุณหภูมิที่แตกต่างกันได้มาก แม้ในสภาพอากาศที่หนาวเหน็บถึงขนาดมีหิมะปกคลุม หรือสภาพอากาศร้อน ปลาชนิดนี้ก็สามารถปรับตัวให้เข้ากับสภาพอากาศได้ จึงแพร่ขยายพันธุ์ออกไปได้ทั่วโลก ลักษณะของปลาแฟนซีคาร์ปจะมีครีบบนหลัง ครีบท้อง ครีบอก ครีบก้น และครีบทง ตามลำตัวจะปกคลุมไปด้วยเกล็ดเล็กๆ จำนวนมาก สีสันทองผิวหนังจะมีสีที่แตกต่างกัน โดยขึ้นอยู่กับเซลล์ที่มีสารสี (chromatophore) ที่อยู่ในชั้นผิวหนัง โดยปกติแล้วเซลล์ที่มีสารสีในปลา มีอยู่ 3 ชนิด คือ melanophores, xanthophores และ iridophores วิธีการสังเกตเพศของปลา คือ ปลาเพศเมียมีความกว้างของลำตัวมากกว่าปลาเพศผู้ บริเวณส่วนท้องจะใหญ่ นิม ส่วนท้องขยายกว้างใหญ่ออกจนเกือบจะเป็นรูปสามเหลี่ยม และช่องเพศจะสังเกตเห็นช่องเพศใหญ่ และนูนออกเป็นรูปกลม การวางไข่อยู่ในช่วงเดือนพฤษภาคม และมิถุนายน ตัวเมียจะวางไข่ประมาณ 400,000 ฟอง ในช่วงผสมพันธุ์ (ปรกรณ์ ชินไพศาล, 2545)

2.2 แก้วมังกร (dragon fruit)

เป็นพืชในตระกูลกระบองเพชร มีถิ่นกำเนิดมาจากทวีปแอฟริกากลาง ได้แก่ เวสต์อินดีส โคลัมเบีย กัวเตมาลา เวเนซุเอลา เป็นต้น ซึ่งมีการปลูกกันอย่างแพร่หลายในเวียดนาม สำหรับในประเทศไทยพบว่า มีผู้นำเข้ามาปลูกกว่ากึ่งศตวรรษ เนื่องมาจากผลไม้ชนิดนี้มีรูปร่างคล้ายกับลูกแก้ว ซึ่งอยู่ตรงกลางระหว่างพญามังกรสองตัวที่เผชิญหน้า จึงได้ชื่อว่า “แก้วมังกร” (สุรพงษ์ โกสิยะจินดา, 2545) ต้นแก้วมังกรเป็นพืชในวงศ์ Cactaceae มีลักษณะเป็นกระบองเพชร มีชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Hylocereus undatus* (Haw) Britt. & Rose ลำต้นมีลักษณะเป็น 3 แฉกสีเขียว อวบน้ำ ซึ่งแท้จริงแล้วส่วนนั้นเป็นใบที่เปลี่ยนรูปไป เป็นหยักคล้ายครีบบังกร บริเวณตาข้างมีหนาม 1-5 หนาม ส่วนลำต้นที่แท้จริงอยู่ในตำแหน่งที่เป็นศูนย์กลางของแฉกทั้ง 3 เมื่อต้นสมบูรณ์มีอายุราว 2 ปี จากกิ่งปักชำ ต้นแก้วมังกรจะออกดอกที่มีขนาดใหญ่และยาวราวหนึ่งคืบ ดอกเริ่มบานตอนย่ำค่ำ ที่จุดเกิดหนามทำหน้าที่เป็นตาข้าง มีคุณสมบัติเป็นเนื้อเยื่อเจริญ โดยสีของเปลือกผลแก้วมังกรมีสีแดงบานเย็น (Stintizing *et al.*, 2002) ซึ่งแก้วมังกรเป็นพืชชนิดหนึ่งซึ่งมีรงควัตถุเบตาเลนที่สูงโดยนิยมนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารกันอย่างแพร่หลาย เช่น ผสมเครื่องดื่ม แต่งสีขนม และไอศกรีม เป็นต้น (Rebecca *et al.*, 2008)

2.3 สารเบตาเลน

2.3.1 แหล่งของสารเบตาเลน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเบตาเลนพบในพืชชั้นสูง โดยสารเบตาเลนนั้นจะอยู่ในพืช Order Caryophyllales ซึ่งสารเบตาเลนนั้นสามารถแบ่งได้โดยโครงสร้างหลักได้เป็น 2 กลุ่ม คือ เบตาไซยานินเป็นรงควัตถุสีม่วง และเบตาแซนทินเป็นรงควัตถุสีเหลืองส้ม โดยเบตาไซยานินสามารถจัดจำแนกตามโครงสร้างทางเคมีได้เป็น 4 ชนิด คือ betalain-type, amaranthin-type, gomphrenin-type, และ bougainvillein-type ในธรรมชาติพบรงควัตถุเบตาไซยานินประมาณ 50 ชนิด และรงควัตถุเบตาแซนทินประมาณ 20 ชนิดซึ่งชนิดของพืชที่สามารถพบสารเบตาเลนได้ เช่น *Hylocereus*, *Amaranthus*, *Celosia*, *Gomphrena* และ *Iresine* (Cai *et al.*, 2005) นอกจากนี้สารเบตาเลนมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดี เมื่อได้รับสารเบตาเลนเข้าไปจะช่วยป้องกันการทำลายเซลล์จากสารอนุมูลอิสระ (free radical) (Cai *et al.*, 2003)

2.3.2 คุณสมบัติของสารเบตาเลนในการต้านอนุมูลอิสระ

จากการทดลองของ Cai *et al.* (2003) ศึกษาความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH ในสารเบตาเลนจากพืชตระกูล Amaranthaceae พบว่าพืชสายพันธุ์ *Gomphrena* มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระได้มากที่สุดโดยความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามจำนวนของ hydroxyl และ imino groups และยิ่งขึ้นอยู่กับตำแหน่งของ hydroxyl group ในโมเลกุลของเบตาเลน นอกจากนี้ยังพบอีกว่าสารเบตาเลน และเบตาแซนทินจาก beet root มีสารต้านอนุมูลอิสระ โดยจะช่วยในการยับยั้งปริมาณความเข้มข้นของสาร linoleate peroxidation

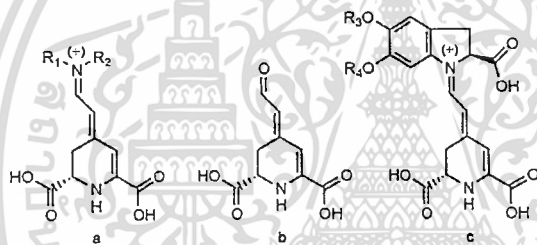
Mahattanatawee *et al.* (2006) ได้ศึกษาถึง total antioxidant activity โดยตรวจสอบจากปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ total soluble phenolics, total ascorbic acid, total dietary fiber และ pectin ในผลไม้เขตร้อน 16 ชนิด ที่ South Florida พบว่าผลไม้ชนิดมะเฟือง และฝรั่งมีปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระ, phenolic, total ascorbic acid มากที่สุด ถ้าได้รับเข้าไปในร่างกายจะช่วยในเรื่องของการป้องกันเสื่อมสภาพของเซลล์ ในขณะที่จะช่วยสร้างความสมดุลให้กับระบบย่อยอาหาร การควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ในขณะที่ผลไม้ ละมุด และมะละกอ มีปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุด

Wu *et al.* (2006) ได้ศึกษาถึงความสามารถในการยับยั้งการเพิ่มจำนวนของเซลล์ที่ก่อให้เกิดโรคมะเร็ง (antiproliferative activities) ปริมาณของสารประกอบ total phenolic และความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH ในผล และเปลือกของแก้วมังกร (*Hylocereus polyrhizus*) พบว่า ปริมาณของสารประกอบ total phenolic ในเนื้อของผลแก้วมังกรสดจะมีปริมาณ 42.4 ± 0.04 มิลลิกรัมต่อกรดแกลลิก 100 กรัม ซึ่งมากกว่าส่วนเปลือกของแก้วมังกรซึ่งมีปริมาณสารประกอบ total phenolic 39.7 ± 5.39 มิลลิกรัมต่อกรดแกลลิก 100 กรัม ส่วนความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระในส่วนของเปลือกจะสูงกว่าในเนื้อ จากการศึกษานี้พบว่าในเปลือกและเนื้อของผลของแก้วมังกรมีปริมาณของสารประกอบ total phenolic ที่สูง และยังเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระเป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุมูลอิสระได้ดีอีกด้วย นอกจากนี้ยังตรวจพบอีกว่าเปลือกของผลของแก้วมังกรมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ B16F10 melanoma ซึ่งเป็นสาเหตุก่อให้เกิดโรคมะเร็งได้

2.3.3 โครงสร้างทางเคมีของสารเบตาเลน

สารเบตาเลนมีโครงสร้างของไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ สามารถละลายน้ำได้ดี โครงสร้างหลักสามารถจำแนกออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ เบตาไซยานินเป็นรงควัตถุสีม่วง และเบตาแซนทินเป็นรงควัตถุสีเหลืองส้ม เขียนสูตรโครงสร้างแบบง่ายคือ R1-N-R2 โดย R1 และ R2 อาจเป็น H⁺ หรือ กลุ่มของอะโรมาติก (aromatic) หรือสารอื่นๆ (ภาพที่ 2.1) โครงสร้างของ betacyanin นั้นมีหลายรูปแบบ ตามหมู่เอซิล (acyl group) และน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบ และบางโครงสร้างอาจมีหมู่อะมิโนเป็นองค์ประกอบ (Stintzing and Carle, 2004) นอกจากนี้ยังพบว่าสารเบตาเลนที่สกัดได้ว่ามีโทนสีตั้งแต่ สีเหลืองอ่อน เหลืองเข้ม ส้ม แดง จนถึงม่วงแดง โดยสีที่เห็นนั้นเกิดจากคุณสมบัติเรโซแนนซ์ (resonance) ของพันธะคู่ โดยมีโครงสร้างหลัก 2 โครงสร้างดังนี้ betaxanthins (สีเหลือง) และ betacyanin (สีน้ำเงิน) ที่มีองค์ประกอบสารประกอบกรด betalamic กับ cyclo-DOPA (cyclo-3,4-dihydroxy-phenylalanine) (Herrero *et al.*, 2005)



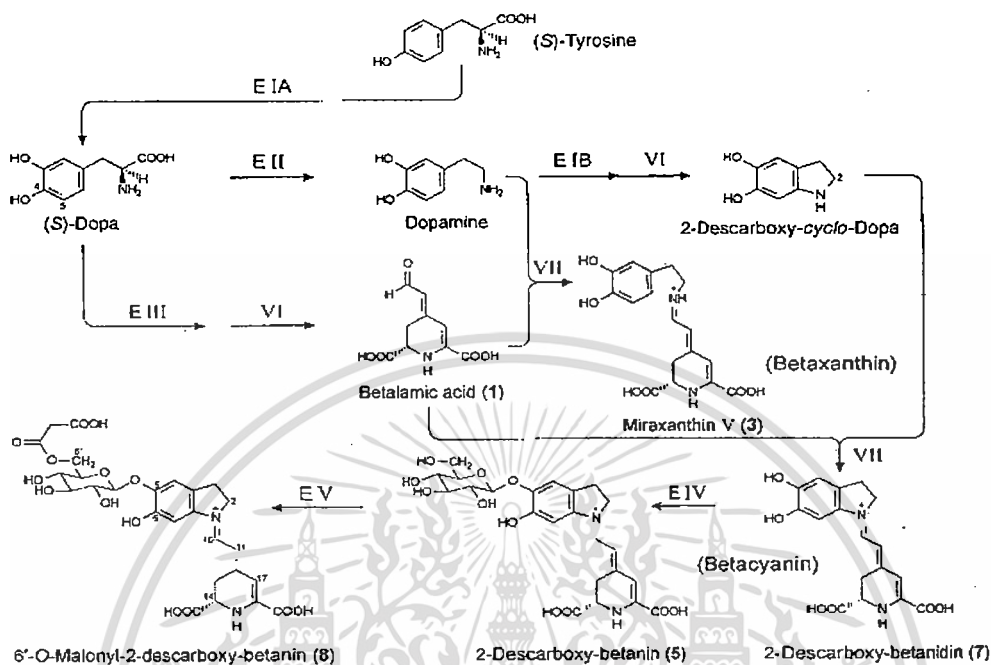
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของ (a) betaxanthins, (b) betalamic และ (c) สารประกอบกรด betalamic เชื่อมกับ cyclo- DOPA (cyclo-3,4-dihydroxy – phenylalanine)

ที่มา: Herrero *et al.* (2005)

2.3.4 การสังเคราะห์เบตาเลน

กลไกปฏิกิริยาในการสังเคราะห์เบตาเลนในพืช เริ่มจากกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) เป็นสารตั้งต้นซึ่งมีโครงสร้างหลักเป็น phenyl group ซึ่งจะไฮโดรไลซ์ (hydrolyze) กับเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ให้ 3,4-dihydroxyphenylalanine (ภาพที่ 2.2) โดยเอนไซม์ไทโรซิเนสจะไปรวมตัวกับ cyclo-DOPA โดยผ่านโดปาคิวโนน (dopaquinone) เป็นสารตัวกลาง (intermediate) โครงสร้างที่เป็นวงแหวนของ DOPA ตรงตำแหน่งพันธะที่ 4, 5 จะแตกออกได้สารตัวกลางเป็น seco-DOPA แต่จะไม่เสถียร และจัดเรียงตัวใหม่เป็นกรดเบตาแลมิก (betalamic acid) ซึ่งเป็นสารให้สีในสารเบตาเลน ซึ่งในขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์ DOPA-4,5 dioxygenase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา หลังจากนั้นกรดเบตาแลมิกจะรวมตัวกับ dopamine กลายเป็นสารประกอบสีเหลืองที่เรียกว่า betaxanthin ซึ่งดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 480 นาโนเมตร โดยสารนี้จะเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติแต่กรดเบตาแลมิกจะไม่ไปรวมตัวกับกรดอะมิโน เนื่องจากถูกเอนไซม์ในพืชยับยั้งการรวมตัวกันของเอกซารีนเป็นเอกซารินที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยามให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบนี้ สารประกอบจึงมีอยู่ในพืชแต่ละชนิดในปริมาณที่แตกต่างกัน หรืออาจรวมตัวกับ cyclo- DOPA ให้สารสีม่วงแดงที่เรียกว่า betacyanin ซึ่งดูดกลืนคลื่นแสงที่มีความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร (Mobhammer *et al.*, 2005)



ภาพที่ 2.2 กระบวนการสังเคราะห์สารเบตาเลน ในบีทรูท *Beta vulgaris*

ที่มา: Kobayashi *et al.* (2000, 2001)

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อความเสถียรของสารเบตาเลน

Cai *et al.* (1998) รายงานว่าสารเบตาเลนมีความเสถียรต่ำ และเสื่อมสภาพได้ง่ายถ้าอยู่ในอุณหภูมิที่สูงเกินไป ถูกแสงแดด หรืออยู่ในสภาวะความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ไม่เหมาะสม ซึ่งสามารถอธิบายปัจจัยหลักที่ส่งผลต่อการเสื่อมสภาพได้ดังนี้

2.4.1 ความเป็น pH

สารเบตาเลนจะมีความเสถียรมากถ้าอยู่ในสภาวะค่า pH อยู่ที่ 3.5-7 หาก pH ลดลงต่ำกว่า 3.5 จะส่งผลให้ปริมาณรงควัตถุเบตาแซนทิน และเบตาไซยานินที่ตรวจพบจะมีปริมาณลดลง หากค่า pH สูงกว่า 7 ปริมาณสารเบตาเลนที่ตรวจพบก็จะมีปริมาณลดลงเช่นกัน (Stüntzing and Carle, 2004) โดยสอดคล้องกับ Cai *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาความเสถียรของรงควัตถุเบตาแซนทิน ในพืชสายพันธุ์ Amaranthaceae ที่สกัดด้วยเอทานอล 80% พบว่ารงควัตถุเบตาแซนทินที่เก็บไว้ที่ pH 5.5 มีความเสถียรมากที่สุด นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับ Mobhammer *et al.* (2005) ได้ศึกษาความเสถียรของรงควัตถุเบตาไซยานิน กับเบตาแซนทิน ในพืชสายพันธุ์ *Opuntia* และ *Hylocereus* โดยสกัด

ด้วยเอทานอล 96% พบว่ารงควัตถุเบตาไซยานิน และเบตาแซนทิน ที่เก็บไว้ที่ pH เท่ากับ 5 มีความเสถียรมากที่สุด เมื่อเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่นที่ pH เท่ากับ 3 และ 7

2.4.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิส่งผลโดยตรงกับปริมาณของสารเบตาซิน โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะทำให้สีของสารเบตาเลนลดลง Lopez and Almeda., (2001) ทำการศึกษาความเสถียรของสารเบตาเลนในผลของ prickly pear fruits โดยนำเปลือกมาสกัดด้วยเมทานอล และนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิที่ต่างกันคือ 25, 50, 70 และ 90 °C พบว่าหลังจากเก็บไว้ 30 นาที นำสารสกัดเบตาไซยานินมาวัดความยาวคลื่นแสง ซึ่งสารที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 25 °C มีความเสถียรมากที่สุด โดยสูญเสียรงควัตถุเบตาไซยานินไป 75% ซึ่งสอดคล้องกับ Cai *et al.* (2005) ศึกษาถึงความเสถียรของรงควัตถุเบตาไซยานิน และเบตาแซนทินในพืชสายพันธุ์ Amaranthaceae พบว่ารงควัตถุเบตาไซยานิน และเบตาแซนทินจะมีความเสถียรมากที่สุด เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C Herbach *et al.* (2006) ศึกษาโครงสร้างและความเสถียรของรงควัตถุเบตาไซยานินที่สกัดจากเปลือกผลแก้วมังกร (*Hylocereus polyrhizus*) โดยเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 และ 6 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่ารงควัตถุเบตาไซยานินที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิที่ 4 °C มีปริมาณรงควัตถุเบตาไซยานินที่เหลือมากกว่าเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 6 °C

2.5 การใช้สารสีในปลาสวยงาม

2.5.1 การใช้สารสีกลุ่มคาโรทีนอยด์เพื่อเร่งสีในปลาสวยงาม

Paripatananont *et al.* (1999) ทดลองให้อาหารที่ผสมแอสตาแซนทินลงในอาหารปลาทอง (*Carassius auratus*) ความเข้มข้น ระดับต่างๆ คือ 0, 25, 50, 75-และ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (มก./กก.) พบว่าปลาทองที่ให้กินอาหารผสมแอสตาแซนทินที่ระดับ 50, 75 และ 100 มก./กก. มีค่าเม็ดสีเพิ่มขึ้น (ค่าความเข้มสีสูง) และไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$)

พูน เพ่งเข็น และทิพยวรรณ ปริพัฒนานนท์ (2546) พบว่าปลาทองกินอาหารผสมสารแอสตาแซนทินที่ความเข้มข้น 36 มก./กก.ทำให้ปลาทองมีเม็ดสีเพิ่มขึ้นสูงที่สุด ซึ่งจำนวนเม็ดสีที่เพิ่มขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มสีที่ผิวหนังของปลา

Hanzs *et al.* (2003) พบว่าปลาแฟนซีคาร์ป (*Cyprinus carpio* Linn.) ที่ได้รับอาหารที่ใช้ paprika ซึ่งมีคาโรทีนอยด์รวมในอาหาร 171 มก./กก. เทียบกับอาหารควบคุมที่มีคาโรทีนอยด์รวมต่ำ 5.4 มก./กก. เป็นเวลา 4 สัปดาห์ สามารถทำให้ปลาแฟนซีคาร์ปมีสีแดงเพิ่มขึ้น ปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารที่มีการใช้ *Chlorella vulgaris*, *Haematococcus pluvialis*, และ *Spirulina* เปรียบเทียบกับอาหารที่ใช้สารแอสตาแซนทินสังเคราะห์ โดยอาหารทั้ง 4 สูตร มีคาโรทีนอยด์รวม 80 มก./กก. พบว่าปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารที่ใช้ *Chlorella vulgaris* จะมีการสะสมคาโรทีนอยด์บริเวณผิวหนัง และมีสีแดงสูงสุด เมื่อเลี้ยงในระยะเวลา 10 สัปดาห์ (Gouveia *et al.*, 2003)

อรพินท์ จินตสถาพร และคณะ (2548) ทดลองให้อาหารปลาแฟนซีคาร์ป (*Cyprinus carpio* Linn.) ที่มีปริมาณคาโรทีนอยด์จากสารสังเคราะห์ที่ต่างกัน คือ 5.37, 15.9, 43.2, 76.2, 96.2 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ 103.9 ไมโครกรัมต่อกรัม พบว่าปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารผสมสารคาโรทีนอยด์รวม 96.2 และ 103.9 ไมโครกรัมต่อกรัม มีการตอบสนองต่อการเพิ่มขึ้นของสีแดงมากที่สุด เมื่อเทียบกับกลุ่ม การทดลองอื่น และพบว่าเมื่อหยุดการให้อาหารเร่งสีเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ปลาแฟนซีคาร์ปยัง รักษาระดับความเข้มของสีแดงให้เข้มเหมือนเดิม

นงนุช เลหาะวิสุทธิ และคณะ (2549) ทดลองให้อาหารที่ผสมสารแอสตาแซนทินสกัด จากสาหร่าย *Haematococcus sp.* ที่เหมาะสมต่อการเร่งสีปลาทอง (*Carassius auratus*) โดยใช้ อาหารผสมสารสีจากสาหร่ายตามความเข้มข้นที่ต่างกัน คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. เป็น เวลา 8 สัปดาห์ พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาทองที่ได้รับอาหารที่ผสมสารแอสตาแซนทินที่ ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่าความเข้มของสีแดงมากที่สุด ซึ่งมากกว่าปลาทองที่ได้รับ อาหารผสมแอสตาแซนทิน 0 มก./กก. และ 25 มก./กก. แต่ไม่มีความแตกต่างกับปลาทองที่เลี้ยงด้วย 50 มก./กก. และ 75 มก./กก.

อัจฉรี เรืองเดช และคณะ (2549) ทดลองให้อาหารที่ผสมแอสตาแซนทินที่เหมาะสมต่อ การเร่งสีปลาหมอสีพันธุ์ซันบราเรด (*Pseudotropheus estherae*) โดยใช้อาหารผสมแอสตาแซนทิน ความเข้มข้น 0, 10, 30, 50 และ 70 มก./กก. พบว่าปลาหมอสีที่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทิน ความเข้มข้น 70 มก./กก. มีค่ามูมิสีน้อยกว่าปลาหมอสีที่ไม่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทิน นอกจากนี้เมื่อสิ้นสุดการทดลองได้ทำการวิเคราะห์ความเข้มข้นของคาโรทีนอยด์ในเนื้อของปลา หมอสี พบว่าความเข้มข้นของคาโรทีนอยด์ในเนื้อปลาหมอสีที่ได้รับอาหารผสมแอสตาแซนทิน ความเข้มข้น 70 มก./กก. มากที่สุด

2.5.2 การใช้สารสีกลุ่มเบตาเลนเพื่อเร่งสีในปลาสวยงาม

Phumjan and Laohavisuti (2007) ทดลองให้อาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้ว มังกรที่มีความเข้มข้นต่างกัน คือ 0, 15, 22.5, 30 และ 37.5 มก./กก. เพื่อใช้ในการเร่งสีปลา red platy (*Xiphophorus maculatus*) พบว่าปลา red platy ที่ได้รับอาหารที่ผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้ว มังกรความเข้มข้น 37.5 มก./กก. มีความเข้มของสีแดงสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น

อัจฉรี เรืองเดช และคณะ (2551) ทดลองใช้สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร ด้วยแอลกอฮอล์ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเปลือกต่อสารสกัด โดย นำมาฉีดเคลือบบนอาหารเลี้ยงปลาหมอคอนวีกเผือก (*Archocentrus nigrofasciatus*) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า ปลาหมอคอนวีกเผือกที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ไม่มีผลทำให้สีของปลาหมอคอนวีกเผือกมีสีเข้มขึ้น แม้ว่าจะทดลองใน ระยะเวลาที่ยาวนานขึ้นเป็นเวลา 16 สัปดาห์หรือใช้ร่วมกับอาหารเสริมแอสตาแซนทิน ทั้งนี้ เนื่องมาจากการปรากฏของสีเผือกบนตัวปลามาจากเม็ดสีชื่อเอริโดฟออร์ (iridophore) ที่แสดงออก ของความสว่างของพิวรีน แต่เม็ดสีที่ทำให้ปรากฏสีแดงคืออีริโทรฟออร์ (erythrophore) ซึ่งปลาหมอ คอนวีกเผือกจะขาดเม็ดสีชนิดนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วิธีดำเนินการทดลอง

3.1.1 การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสี ปริมาณสารเบตาเลน ปริมาณสาร โพลีฟีนอล และความสามารถในการทำลายสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร

3.1.1.1 จัดชุดการทดลองแบบ 2x4 factorial experiment in CRD โดยศึกษา 2 ปัจจัย ปัจจัยที่ 1 คือ สภาวะการบรรจุ 2 แบบ ได้แก่ การบรรจุแบบสุญญากาศ และแบบบรรยากาศปกติ ร่วมกับปัจจัยที่ 2 คือ อุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ -20, 4, 15 และ 25 °C เป็นระยะเวลา 40 สัปดาห์

3.1.1.2 การเตรียมเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้ง คัดเลือกผลแก้วมังกรสดที่อยู่ในสภาพดี ผิวเรียบเป็นสีแดง กลีบเลี้ยง นำมาล้างน้ำให้สะอาด หลังจากนั้นตัดส่วนกลีบเลี้ยง ขั้วด้านหัวท้าย และส่วนที่เป็นตำหนิออก นำผลแก้วมังกรตามยาวออกเป็น 4 ส่วน ลอกเปลือกออก ขูดส่วนที่มีเนื้อติดอยู่กับเปลือกด้านในออก ต่อมานำเปลือกแก้วมังกรมาหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และเมื่ออบจนแห้ง นำมาบดด้วยเครื่องปั่นอาหาร (blender) ให้เป็นผงละเอียด และนำไปผ่านตะแกรงร่อนขนาด 0.63 มิลลิเมตร

3.1.1.3 นำเปลือกผลแก้วมังกรบดละเอียดแล้วมาชั่ง 5.0 กรัม และบรรจุลงในถุงพลาสติก และเก็บไว้ในที่มืดโดยบรรจุแบบสุญญากาศ และแบบบรรยากาศปกติแล้วนำไปเก็บไว้ในที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน คือ -20, 4, 15 และ 25 °C เป็นเวลา 40 สัปดาห์

3.1.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่เหมาะสมต่อการเร่งสี การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อ ค่าโลหิตวิทยา และประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการต้านสารอนุมูลอิสระในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป

3.1.2.1 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design โดยมีปริมาณสารเบตาเลนที่ผสมในอาหารปลาที่แตกต่างกัน 5 ระดับ ได้แก่ 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. แบ่งชุดการทดลองออกเป็น 5 ชุดการทดลองๆละ 3 ซ้ำๆละ 15 ตัว

3.1.2.2 การเตรียมเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้ง ทำตามวิธีข้อ 3.1.1.2

3.1.2.3 การเตรียมอาหาร ชั่งอาหาร 3% ของน้ำหนักตัวปลา นำไปผสมกับสารเบตาเลนจากผลเปลือกแก้วมังกรตามความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. เติมน้ำกลั่นลงไป 600 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปเข้าเครื่องผสมอาหาร หลังจากนั้นนำอาหารที่ได้ไปเข้าเครื่องอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่ออาหารแห้งดีแล้วให้ห่อกระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ให้มิดชิด และนำไปเก็บไว้ในตู้เย็น เพื่อรอการนำไปให้ปลาต่อไป

3.1.2.4 การเตรียมปลาทดลอง นำปลาแฟนซีคาร์ปที่ซื้อมาจากตลาดจตุจักรมีนบุรี อายุประมาณ 8 สัปดาห์ มาเลี้ยงในถังพลาสติกปริมาตร 100 ลิตร เป็นเวลา 2 สัปดาห์ เพื่อให้ปลามีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปรับตัว หลังจากนั้นนำมาเลี้ยงในตู้ขนาด 36x18x18 นิ้ว ให้อาหารวันละ 3% ของน้ำหนักตัวปลา โดยให้อาหารวันละ 2 ครั้ง (เช้า-เย็น) คูดตะกอนที่พื้นตู้ทุก 3 วัน เปลี่ยนถ่ายน้ำ 70 % ทุกสัปดาห์

3.1.2.5 บันทึกผลการเจริญเติบโต และวัดสีผิวของปลาแฟนซีคาร์ปก่อนการทดลองและทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 16 สัปดาห์ โดยการวัดการเจริญเติบโตของปลาแฟนซีคาร์ปด้วยการชั่งน้ำหนัก และวัดสีผิวของปลาแฟนซีคาร์ปเพื่อการเปลี่ยนแปลงของสีโดยใช้เครื่องวัดสีรุ่น Konica Minolta CR-10 ตามวิธีของ ซึ่งอ่านค่าในระบบ CIE L*a*b*

(1) บันทึกการเจริญเติบโตของปลาแฟนซีคาร์ป สุ่มตัวอย่างปลาแฟนซีคาร์ปมาชั่งน้ำหนักตู้ละ 3 ตัว ก่อนการทดลองและทุกๆ 2 สัปดาห์จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง เพื่อนำมาคำนวณอัตราการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (Feed conversion ratio, FCR) และอัตราการรอดตาย

(2) การวัดสีผิวของปลาเพื่อการเปลี่ยนแปลงของสีผิวปลาแฟนซีคาร์ปก่อนการทดลองและทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นเวลา 12 สัปดาห์ จากนั้นเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ปโดยไม่ผสมสารเบตาเลนินในอาหารเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และวัดสีผิวของปลาโดยใช้เครื่องวัดสี ทำการสุ่มปลาตู้ละ 3 ตัว เพื่อหาค่าของสีที่เปลี่ยนแปลงซึ่งอ่านค่าในระบบแบบ CIE L*a*b*

3.1.2.6 โดยการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา และประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการต้านอนุมูลอิสระในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป เมื่อครบ 12 สัปดาห์ และเมื่อสิ้นสุด 16 สัปดาห์ ทำการเก็บตัวอย่างเลือดปลาเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา ชุดการทดลองละ 3 ซ้ำๆ ละ 3 ตัว ตามวิธีการดังนี้

(1) สลบปลาค้วย quinaldine เก็บตัวอย่างเลือดปลาทันทีที่ปลานิ่งด้วยวิธีการดูดเลือดจากเส้นเลือดบริเวณหาง (caudal blood vessels puncture) โดยเกลือบ heparin ในกระบอกฉีดยาเพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นแบ่งเลือดปลาใส่ใน microhaematocrit tube เพื่อใช้ในการวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา ได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ปริมาณเม็ดเลือดแดง เม็ดเลือดขาว (Vazquez and Guerrero, 2007) ส่วนเลือดที่เหลือนำไปใส่ใน eppendorf แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 รอบ/นาทีที่ 4 °C เป็นเวลา 10 นาที แยกพลาสมาไว้ใน eppendorf แล้วนำไปเก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาใช้ในการวิเคราะห์หาค่ากรดไทโอบาร์บิวทริก (Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ในเลือด (AOCS, 1971) หากความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในเลือดโดยใช้ DPPH ตามวิธีของ Sanchez-Mereno (1998) ส่วนตะกอนเม็ดเลือดหลังจากนำพลาสมาออกแล้วจะนำไปวิเคราะห์การวิเคราะห์หาเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ catalase ในเลือด (Rudneva, 1997) มีรายละเอียดดังนี้

(1) การวิเคราะห์ค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต นำตัวอย่างเลือดใส่ใน microhaematocrit tube จากข้อ 3.1.2.6 อุดปลายด้านหนึ่งด้วยดินน้ำมันขาว นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบ/

นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 15 นาที (Vazquez and Guerrero, 2007) แล้วทำการคำนวณค่าออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์ ดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ค่าฮีมาโตคริต} = \frac{\text{ความยาวชั้นเม็ดเลือดแดงใน microhaematocrit tube} \times 100}{\text{ความยาวของเลือดทั้งหมด microhaematocrit tube}}$$

(2) การวิเคราะห์เพื่อแยกชนิดของเม็ดเลือดขาว โดยการนำ blood smear นำเลือดจาก microhaematocrit tube จากข้อ 3.1.2.6 มาหยดลง ที่ด้านหนึ่งของแผ่นสไลด์ ใช้สไลด์อีกแผ่นวางทำมุม 45 องศา กับสไลด์แผ่นแรก ค่อยๆ ดึงสไลด์ถอยหลังมาแตะที่เลือดแล้วเกลี่ยให้กระจายทั่วแผ่นสไลด์ ปล่อยให้เลือดให้แห้งบนสไลด์ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นจึงนำไปย้อมด้วยสีย้อม Wright & Giemsa

(3) การวิเคราะห์ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวนำเลือดจาก microhaematocrit tube จากข้อ 3.1.2.6 มาถ่ายลงใน diluting pipette ให้ถึงขีด 0.5 เซ็ดเลือดที่ปลายออกให้หมด ก่อนจุ่มลงในน้ำยา Yokoyama's white cell fluid จนถึงขีด 101 จะได้เลือดที่มีความเจือจางเท่ากับ 1:200 ใช้หัวดูดปลายทั้งสองด้านพลิกไปมาช้าๆ ประมาณ 2 นาที ปล่อยให้เลือดจากปิเปต 2 -3 หยดแรกทิ้งไปเพื่อกำจัดน้ำยาส่วนที่ไม่ได้ผสมกับเลือดทิ้งไป จากนั้นนำส่วนปลายด้านล่างมาแตะระหว่าง counting chamber และ cover glass ของเหลวจะไหลเข้าไปในช่องว่างโดย capillary attraction นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยใช้กำลังขยายต่ำหาตารางสี่เหลี่ยมจัตุรัสตรงกลาง 25 ช่อง ให้ได้ก่อน จากนั้นนับจำนวนเม็ดเลือดแดงใน 5 ช่อง โดยใช้กำลังขยายสูง ส่วนการนับจำนวนเม็ดเลือดขาว นับเฉพาะสี่เหลี่ยมจัตุรัสใหญ่ (16 ช่อง) ที่ตำแหน่งมุมทั้ง 4 แล้วนำไปคำนวณตามสูตร ดังนี้

$$\begin{aligned} \text{จำนวนเม็ดเลือดแดง} &= \text{จำนวนที่นับได้ 5 ช่อง} \times \frac{5 \times 10^4 \times 200}{16} \\ &= \text{cell / mm}^3 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{จำนวนเม็ดเลือดขาว} &= \text{จำนวนเม็ดเลือดที่นับได้ 16 ช่อง} \times 10 \times 200 \\ &= \text{cell / mm}^3 \end{aligned}$$

(4) การวิเคราะห์ค่า TBARS นำพลาสมาที่ได้จากข้อ 3.1.3.6 คูณพลาสมาขึ้นมา 0.1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองมีฝาปิด เติม 50 mM Potassium phosphate buffer pH 7.4 ลงไป 0.5 มิลลิลิตร แล้วเติม thiobarbituric acid (TBA) 0.2 มิลลิลิตร เติม trichloroacetic acid (TCA) 1 มิลลิลิตร เติม butylated hydroxytoluene (BHT) 0.01 มิลลิลิตร นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พอครบเวลาทำให้เย็นทันทีโดยการแช่น้ำแข็ง นำสารในหลอดทดลองถ่ายใส่ลงใน eppendorf แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1500 รอบ/นาที ที่ 4 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลล์เชียส เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร และนำค่าไปแทนในสมการเส้นตรงมาตรฐานของมัลติไลน์ไฮดรอกซีไลต์ต่อมิลลิกรัมของพลาสมา

(5) การทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระในเลือดโดยใช้ DPPH นำพลาสมาที่ได้จากข้อ 3.1.2.6 คูณขึ้นมา 0.1 มิลลิลิตร แล้วเติม DPPH ลงไป 3.9 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันโดยใช้ vortex ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 12,000 รอบ/นาที ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้มาแทนในสมการดังนี้ เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

$$\% \text{ Inhibition DPPH} = 1 - (\text{absorbance}_{\text{experiment}} / \text{absorbance}_{\text{control}}) \times 100$$

(6) การวิเคราะห์หากิจกรรมเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระ catalase ในเลือด นำตะกอนของเม็ดเลือดที่ได้จากข้อ 3.1.2.6 ล้างตะกอนด้วย 0.85% NaCl แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3000 รอบ/นาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที (ทำซ้ำ 3 ครั้ง) เมื่อล้างเม็ดเลือดแดงเสร็จให้เติมน้ำกลั่นลงไป แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 0-4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากครบ 24 ชั่วโมง คือดตัวอย่างนำเลือด 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นลงไป 7.5 มิลลิลิตร แล้วเติม 1% H₂O₂ ลงไป 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที หลังจากนั้นเติม 10% H₂SO₄ แล้วไตเตรทด้วย KMnO₄ 1 N จนตัวอย่างเป็นสีชมพูนำปริมาตรที่ไตเตรทหาประสิทธิภาพของเอนไซม์ catalase ในการลดปริมาณ H₂O₂ reduction ซึ่งคำนวณได้จากสูตร

$$A, \text{ mg H}_2\text{O}_2 = \frac{1.7(V_{\text{control}} - V_{\text{experiment}})}{30 \times 0.5}$$

$$30 \times 0.5$$

A = activity of enzyme catalase (mg H₂O₂)

V = ปริมาตรของสารละลาย 1 N KMnO₄

30 = ระยะเวลาในการต้ม 30 นาที

0.5 = ปริมาตรของตัวอย่าง

(7) การศึกษาการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อ ผิวหนัง ตับ และเซลล์สืบพันธุ์ โดยนำตัวอย่างปลาแฟนซีคาร์ปชุดการทดลองละ 2 ตัว (เพศผู้ และเพศเมีย) นำปลาตัวอย่างมาทำการสลบและผ่าเปิดช่อง ทำการแช่ในน้ำยา buffer formalin 10 % นาน 24 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำยาแล้วแช่ซ้ำ ตัดชิ้นเนื้อแบ่งออกเป็น ส่วนผิวหนัง และอวัยวะสืบพันธุ์ นำใส่ตลับใส่เนื้อเยื่อ ทำการล้างน้ำโดยให้น้ำไหลผ่านอย่างช้าๆ นาน 2-4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างเนื้อเยื่อ ไปทำการขจัดน้ำ (dehydration) โดยผ่านขั้นตอนตามวิธีมาตรฐานของ Humason (1979) นำแท่งพาราฟินที่มีเนื้อเยื่อปลาแฟนซีคาร์ปไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อที่ความหนา 4-5 ไมครอน และวางบนแผ่นสไลด์ นำแผ่นสไลด์ดังกล่าวไปย้อมสีตามขั้นตอนของเทคนิคการย้อมสี hematoxylin และ eosin (H&E) ตามวิธีของ Humason (1979)

น้ำหนักสดเนื้อเยื่อมาต่อคู่ลักษณะเนื้อเยื่อผิวหนัง ตับ และเซตัสทีปพันธุ์ (testis และ ovary) ภายใต้กล้องจุลทรรศน์ โดยเนื้อเยื่อเซตัสทีปจะนำมาคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ของไข่แต่ละระยะ ตามวิธีของ Weber (2003)

3.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง ได้แก่ ปริมาณสารเบตาเลน ปริมาณโพลีฟีนอล ความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH ค่า TBARS ในอาหาร ค่าไลหิตวิตยา การเจริญเติบโต และการเปลี่ยนแปลงของสีผิวปลา มาวิเคราะห์โดยใช้ general linear model ด้วยด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3.3 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการปลาสวยงาม หลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



บทที่ 4 ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาผลของสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสี ปริมาณสารเบตาเลน ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล และความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH ของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร

4.1.1 ผลของสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิต่อค่ามุมสี (Hue angle ; H°)

จากการทดลองนำผงเปลือกแก้วมังกรอบแห้งที่มีการเก็บรักษาในสภาวะการบรรจุ 2 แบบ ได้แก่ การบรรจุแบบสุญญากาศ และแบบบรรยากาศปกติร่วมกับอุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ -20, 4, 15 และ 25±1 °C เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าเมื่อเริ่มต้นการทดลองผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งมีค่ามุมสีเฉลี่ย เท่ากับ 359.42±0.00 และหลังจากเก็บรักษาผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งนาน 10 เดือน ค่ามุมสีของผงเปลือกแก้วมังกรอบแห้งที่เก็บในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C มีค่ามุมสีลดลงน้อยที่สุด มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 358.70±0.26 (ตารางที่ 4.1 และภาพที่ 4.1) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติพบว่า สภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาสารเบตาเลน ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่าง 2 ปัจจัย (non-interaction) ต่อค่ามุมสีจากผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้ง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสภาวะการบรรจุ พบว่าสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ มีผลต่อค่ามุมสีของผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งมากที่สุดเท่ากับ 273.60±0.14 และรองลงมาคือการบรรจุแบบบรรยากาศปกติมีค่าเท่ากับ 273.16±0.24 ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาสารเบตาเลนจากผงเปลือกผลแก้วมังกรที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่อุณหภูมิ -20 °C มีผลต่อค่ามุมสีลดลงน้อยที่สุด ระดับอุณหภูมิที่รองลงมาคือ 4, 15, และ 25 °C มีค่ามุมสีเท่ากับ 358.49±0.09, 355.01±0.21, 353.96±0.08 และ 25.21±0.26 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

4.1.2 ผลของสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิต่อปริมาณสารเบตาเลน

จากการทดลองนำผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่มีการเก็บรักษาในสภาวะการบรรจุ 2 แบบ ได้แก่ การบรรจุแบบสุญญากาศ และแบบบรรยากาศปกติ ร่วมกับอุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ 20, 4, 15 และ 25 °C เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าปริมาณสารเบตาเลนของผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งก่อนการทดลองเท่ากับ 153±0.00 มก./100 ก.น้ำหนักแห้ง และหลังจากเก็บรักษาผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งนาน 10 เดือน ปริมาณสารเบตาเลนของผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่เก็บในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C มีปริมาณมากที่สุด คือ 85.92±0.11 มก./100 ก.น้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 4.2) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าสภาวะการบรรจุและอุณหภูมิ

ที่ใช้เก็บรักษาสารเบตาเลน ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่าง 2 ปัจจัย (ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน) ต่อปริมาณสารเบตาเลนจากผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

ตารางที่ 4.1 ค่าเฉลี่ยของผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่เก็บรักษาในสภาวะการบรรจุร่วมกับอุณหภูมิที่ต่างกัน

สภาวะการบรรจุ	อุณหภูมิที่ใช้เก็บ (องศาเซลเซียส)				Mean±SE
	-20	4	15	25	
แบบสุญญากาศ	358.70±0.06	355.07±0.51	354.42±0.03	26.24±25	273.60±0.14 ^a
แบบบรรยากาศปกติ	358.27±0.17	354.05±0.46	353.27±0.20	25.18±16	273.16±0.24 ^a
Mean±SE	358.49±0.09 ^a	355.01±0.21 ^b	353.96±0.08 ^c	25.21±0.26 ^d	

อักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงสีของผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่เก็บรักษาในสภาวะการบรรจุร่วมกับอุณหภูมิที่ต่างกัน (1) บรรจุแบบสุญญากาศ (2) บรรจุแบบบรรยากาศปกติ

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสภาวะการบรรจุ พบว่าสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ มีผลต่อปริมาณสารเบตาเลนของผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งมากที่สุดเท่ากับ 69.49 ± 0.88 และรองลงมาคือ การบรรจุแบบบรรยากาศปกติมีค่าเท่ากับ 65.88 ± 0.33 มก./100 ก.น้ำหนักแห้ง ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่ระดับอุณหภูมิ -20°C มีปริมาณสารเบตาเลนมากที่สุด ระดับอุณหภูมิที่รองลงมาคือ 4, 15 และ 25°C โดยมีปริมาณสารเบตาเลนเท่ากับ

84.45±0.51, 82.29±0.38, 72.54±0.38 และ 32.35±1.01 มก./100 ก. น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลองที่ระดับอุณหภูมิ -20 และ 4 °C ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แต่มีความแตกต่างกับชุดการทดลองที่ระดับอุณหภูมิ 15 และ 25 °C

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารเบตาเลนของผลเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้ง (มก./100 ก.) ที่เก็บรักษาในสถานะการบรรจุร่วมกับอุณหภูมิที่ต่างกัน

สถานะการบรรจุ	อุณหภูมิที่ใช้เก็บ (องศาเซลเซียส)				Mean±SE
	-20	4	15	25	
แบบสุญญากาศ	85.92±0.11	83.48±0.19	73.72±0.24	34.79±0.16	69.49±0.88 ^a
แบบบรรยากาศปกติ	82.92±0.46	81.10±0.20	71.37±0.17	28.45±0.21	65.88±0.33 ^b
Mean±SE	84.45±0.51 ^a	82.29±0.38 ^a	72.54±0.38 ^b	32.35±1.01 ^c	

*อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

4.1.3 ผลของสถานะการบรรจุและอุณหภูมิต่อปริมาณโพลีฟีนอล

จากการทดลองนำผลเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่มีการเก็บรักษาในสถานะการบรรจุ 2 แบบ ได้แก่ การบรรจุแบบสุญญากาศ และแบบบรรยากาศปกติ ร่วมกับอุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ -20, 4, 15 และ 25±1 °C เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าปริมาณสาร โพลีฟีนอลก่อนการทดลองเท่ากับ 370.23±0.00 มก.แกลติก/ 100 ก. และหลังจากเก็บรักษาผลเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งนาน 10 เดือน ปริมาณสารโพลีฟีนอลของผลเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่เก็บในสถานะการบรรจุแบบสุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C มีปริมาณมากที่สุด คือ 272.8±5.84 มก.แกลติก/ 100 ก. (ตารางที่ 4.3) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า สถานะการบรรจุ และอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาสารเบตาเลน ไม่มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่าง 2 ปัจจัย (ไม่มีอิทธิพลร่วมกัน) ต่อปริมาณโพลีฟีนอลจากผลเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสถานะการบรรจุ พบว่าสถานะการบรรจุแบบสุญญากาศ มีผลต่อปริมาณโพลีฟีนอลของผลเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งน้อยที่สุดเท่ากับ 214.72±3.08 และรองลงมาคือการบรรจุแบบบรรยากาศปกติ มีค่าเท่ากับ 215.51±1.90 มก.แกลติก/ 100 ก. ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่ระดับอุณหภูมิ -20 °C มีปริมาณโพลีฟีนอลมากที่สุด ระดับอุณหภูมิที่รองลงมาคือ 4, 15 และ 25 °C โดยมีปริมาณโพลีฟีนอลเท่ากับ 272.35±2.53, 253.40±1.55, 252.72±2.22 และ 82.00±2.49 มก.แกลติก/ 100 ก. ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลองที่ระดับอุณหภูมิ 4 และ 15 °C ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แต่มีความแตกต่างกับชุดการทดลองที่ระดับอุณหภูมิ -20 และ 25 °C

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลจากผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้ง (มก.แกลลิก/ 100ก.)
ที่เก็บรักษาใน สภาวะการบรรจุร่วมกับอุณหภูมิที่ต่างกัน

สภาวะการบรรจุ	อุณหภูมิที่ใช้เก็บ (องศาเซลเซียส)				Mean±SE
	-20	4	15	25	
แบบสุญญากาศ	272.80±5.84	252.05±3.17	252.05±5.02	82.90±3.07	214.72±3.08 ^a
แบบบรรยากาศปกติ	271.89±1.80	254.75±1.80	253.40±1.90	81.1±5.15	215.51±1.90 ^a
Mean±SE	272.35±2.53 ^a	253.40±1.55 ^b	252.72±2.22 ^b	82.00±2.49 ^c	

อักษรที่ต่างกัน ในแนวเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.1.4 ผลของสภาวะการบรรจุและอุณหภูมิต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH

จากการทดลองนำผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่มีการเก็บรักษาในสภาวะการบรรจุ 2 แบบ ได้แก่ การบรรจุแบบสุญญากาศ และแบบบรรยากาศปกติ ร่วมกับอุณหภูมิ 4 ระดับ ได้แก่ -20, 4, 15 และ 25 °C เป็นเวลา 10 เดือน พบว่าความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ก่อนการทดลองเท่ากับ 52.42 ± 0.00 เปอร์เซ็นต์ และหลังจากเก็บรักษาผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งนาน 10 เดือน ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ของผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่เก็บในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระมากที่สุด เท่ากับ 46.79 ± 0.62 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.4) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า สภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาสารเบตาเลน มีปฏิสัมพันธ์กันระหว่าง 2 ปัจจัย (มีอิทธิพลร่วมกัน) ต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ จากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของสภาวะการบรรจุ พบว่าสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ จากผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งน้อยที่สุดเท่ากับ 42.03 ± 0.23 และรองลงมาคือ การบรรจุแบบบรรยากาศปกติมีค่า เท่ากับ 40.78 ± 0.15 เปอร์เซ็นต์ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของอุณหภูมิที่ใช้ในการเก็บรักษาสารเบตาเลนจากผงเปลือกผลแก้วมังกรที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ พบว่าที่ระดับอุณหภูมิ -20 °C มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระมากที่สุด ระดับอุณหภูมิที่รองลงมาคือ 4, 15 และ 25 °C โดยมีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ เท่ากับ 46.00 ± 0.25 , 42.24 ± 0.30 , 43.02 ± 0.17 และ 34.36 ± 0.48 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งชุดการทดลองที่ระดับอุณหภูมิ 4 และ 15 °C ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) แต่มีความแตกต่างกับชุดการทดลองที่ระดับอุณหภูมิ -20 และ 25 °C

ตารางที่ 4.4 ความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระจากเปลือกผลแก้วม้งกรอบแห้งที่เก็บรักษาในสภาวะการบรรจุร่วมกับอุณหภูมิที่ต่างกัน

สภาวะการบรรจุ	อุณหภูมิที่ใช้เก็บ (องศาเซลเซียส)				Mean±SE
	-20	4	15	25	
แบบสุญญากาศ	46.79±0.62	42.92±0.56	43.40±0.09	35.03±0.28	42.03±0.23 ^a
แบบบรรยากาศปกติ	45.23±0.85	41.57±0.19	42.65±0.33	33.70±0.14	40.78±0.15 ^a
Mean±SE	46.00±0.25 ^a	42.24±0.30 ^b	43.02±0.17 ^b	34.36±0.48 ^c	

อักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

4.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาระดับของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วม้งกรอบที่หมาะสมต่อการเร่งสี การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อ ค่าโลหิตวิทยา และประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการต้านสารอนุมูลอิสระในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป

4.2.1 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อการเจริญเติบโตของปลาแฟนซีคาร์ป

การศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตราการรอดตายของปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วม้งกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก.พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

เมื่อครบ 12 สัปดาห์ น้ำหนักสุดท้ายเฉลี่ยของปลาแฟนซีคาร์ปเท่ากับ 31.33±0.15, 31.15±0.17, 31.53±0.13, 31.6±0.06 และ 31.13±0.13 กรัม/ตัว ตามลำดับ น้ำหนักเพิ่มเฉลี่ยต่อวันทุกชุดการทดลองเท่ากับ 0.11±0.00 กรัม/ตัว อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักของปลาแฟนซีคาร์ปทุกชุดการทดลองเท่ากับ 2.03±0.01 2.05±0.01, 2.03±0.01, 2.00±0.04 และ 2.05±0.02 ตามลำดับ และอัตราการรอดตายทุกชุดการทดลองมีค่าเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.5)

4.2.2 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อสีผิวปลาแฟนซีคาร์ป

จากการศึกษาค่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มสีของผิวปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วม้งกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. โดยวัดค่าการเปลี่ยนแปลงของสีผิวบริเวณลำตัวด้วยเครื่องวัดสีผิว ซึ่งวัดทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 12 สัปดาห์ หลังจากนั้นหยุดให้อาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อไปอีก 4 สัปดาห์

4.2.2.1 ค่าความสว่าง (L*) บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์ป

ค่าความสว่างของบริเวณลำตัวปลาแฟนซีคาร์ป พบว่าปลาที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนในทุกชุดการทดลอง มีแนวโน้มของค่าความสว่างลดลง โดยเริ่มมีความสว่างลดลงใน

สัปดาห์ที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลอง ซึ่งเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) (ตารางที่ 4.6)

ตารางที่ 4.5 การเจริญเติบโตของปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผล แก้วมังกรอบแห้งในความเข้มข้นต่างกัน

อาหารผสมเบตาเลน (มก./กก.)	น้ำหนักเฉลี่ย เริ่มต้น (กรัม)	น้ำหนักเฉลี่ย สิ้นสุด (กรัม)	น้ำหนักเพิ่มขึ้นเฉลี่ย (กรัม/ตัว/วัน)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็น น้ำหนัก	อัตราการรอด (%)
0	11.33±0.00 ^a	31.33±0.15 ^a	0.11±0.00 ^a	2.03±0.01 ^a	100±0.00 ^a
15	11.33±0.00 ^a	31.15±0.17 ^a	0.11±0.00 ^a	2.05±0.01 ^a	100±0.00 ^a
30	11.33±0.00 ^a	31.53±0.13 ^a	0.11±0.00 ^a	2.03±0.01 ^a	100±0.00 ^a
45	11.33±0.00 ^a	31.60±0.06 ^a	0.11±0.00 ^a	2.00±0.04 ^a	100±0.00 ^a
60	11.33±0.00 ^a	31.13±0.13 ^a	0.11±0.00 ^a	2.05±0.02 ^a	100±0.00 ^a

*อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

สัปดาห์ที่ 2 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีค่าความสว่างน้อยที่สุด คือ $52.57±0.19$ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 0, 15, 30 และ 45 มก./กก. เท่ากับ $59.34±0.24$, $58.34±0.60$, $56.78±0.21$ และ $53.88±0.17$ ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 4 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีค่าความสว่างน้อยที่สุด คือ $50.37±0.19$ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 0, 15, 30 และ 45 มก./กก. เท่ากับ $59.18±0.18$, $56.96±0.53$, $55.28±0.21$ และ $52.68±0.17$.ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 6 ถึง 12 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่ได้รับสารเบตาเลนมีแนวโน้มของค่าความสว่างลดลง ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) และเมื่อครบ 12 สัปดาห์ ปลาแฟนซีคาร์ปที่ให้อาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีค่าความสว่างน้อยที่สุด คือ $46.13±0.10$ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 0, 15, 30 และ 45 มก./กก. ซึ่งมีค่าเท่ากับ $61.29±0.42$, $52.91±0.28$, $51.64±0.28$ และ $50.76±0.12$ ตามลำดับ แต่ในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 30 และ 45 มก./กก. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

หลังจากเลี้ยงครบ 12 สัปดาห์ ให้อาหารสูตรพื้นฐาน (ไม่มีสารเบตาเลน) ต่ออีก 4 สัปดาห์ ซึ่งในสัปดาห์ที่ 14 และ 16 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดลอกเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารเบตาเลน 60 มก./กก. ยังคงมีค่าความสว่างน้อยที่สุด คือ 45.46 ± 0.19 และ 45.31 ± 0.33 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 0, 15, 30 และ 45 มก./กก. แต่ในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 30 และ 45 มก./กก. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ตารางที่ 4.6 ค่าความสว่าง (L^*) ของสีผิวปลาแฟนซีคาร์ปที่ให้อาหารผสมสารเบตาเลนในความเข้มข้นต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ความเข้มข้นของสารเบตาเลนที่ผสมในอาหาร (มก./กก.)				
	0	15	30	45	60
0	59.30 ± 0.00^a	59.30 ± 0.00^a	59.30 ± 0.00^a	59.30 ± 0.00^a	59.30 ± 0.00^a
2	59.34 ± 0.24^a	58.34 ± 0.60^b	56.78 ± 0.14^c	53.88 ± 0.42^d	52.57 ± 0.10^e
4	59.18 ± 0.18^a	56.96 ± 0.33^b	55.28 ± 0.34^c	52.68 ± 0.21^d	50.37 ± 0.19^e
6	58.71 ± 0.32^a	55.16 ± 0.13^b	53.21 ± 0.25^c	52.33 ± 0.17^c	48.41 ± 0.14^d
8	58.92 ± 0.34^a	55.00 ± 0.51^b	53.05 ± 0.36^c	52.17 ± 0.19^c	48.25 ± 0.43^d
10	60.29 ± 0.31^a	53.95 ± 1.24^b	52.68 ± 0.12^c	52.68 ± 0.30^c	47.14 ± 0.36^d
12	61.29 ± 0.42^a	52.91 ± 0.28^b	51.64 ± 0.28^c	50.76 ± 0.12^c	46.13 ± 0.10^d
14*	60.25 ± 0.22^a	52.32 ± 0.53^b	51.05 ± 0.14^c	50.17 ± 0.24^c	45.46 ± 0.14^d
16*	60.48 ± 0.42^a	52.19 ± 0.14^b	50.92 ± 0.39^c	50.04 ± 0.37^c	45.31 ± 0.33^d

* หมายถึง สัปดาห์ที่ให้อาหารพื้นฐานที่ไม่มีการผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร อักษรที่ต่างกัน ในแนวเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.2.2.2 ค่าความเข้มสีแดง (a^*) บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์ป

ผลของค่าความเข้มสีแดงของบริเวณลำตัวปลาแฟนซีคาร์ป พบว่าปลาทุกชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนในระดับความเข้มข้นต่างๆ มีแนวโน้มของค่าความเข้มสีแดงเพิ่มมากขึ้น โดยจะเริ่มมีความเข้มสีแดงเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 จนถึงสิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 4.2) ซึ่งเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4.7)

สัปดาห์ที่ 2 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีค่าความเข้มสีแดงมากที่สุด คือ 17.18 ± 0.23 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนความเข้มข้น 0, 15, 30 และ 45 มก./กก. เท่ากับ 13.39 ± 0.08 , 13.88 ± 0.14 , 14.39 ± 0.08 และ 15.93 ± 0.26 ตามลำดับ แต่ในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 0 และ 15 มก./กก. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

สัปดาห์ที่ 4 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีค่าความเข้มสีแดงมากที่สุด คือ 19.21 ± 0.23 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 0, 15, 30 และ 45 มก./กก.เท่ากับ 13.34 ± 0.10 , 14.85 ± 0.18 , 15.62 ± 0.13 และ 17.83 ± 0.26 ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 6 ถึง 12 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่ได้รับสารเบตาเลนมีแนวโน้มของค่าสีแดงเพิ่มขึ้น ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และเมื่อครบ 12 สัปดาห์ ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีค่าความเข้มสีแดงมากที่สุด คือ 25.46 ± 0.13 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 0, 15, 30 และ 45 มก./กก. มีค่าเท่ากับ 13.34 ± 0.10 , 17.20 ± 0.23 , 20.04 ± 0.21 และ 22.59 ± 0.17^d ตามลำดับ

หลังจากเลี้ยงครบ 12 สัปดาห์ ให้อาหารสูตรพื้นฐาน (ไม่มีสารเบตาเลน) ต่ออีก 4 สัปดาห์ ซึ่งในสัปดาห์ที่ 14 และ 16 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนความเข้มข้น 60 มก./กก. ยังคงมีค่าความเข้มสีแดงมากที่สุด คือ 24.30 ± 0.11 และ 24.36 ± 0.22 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 0, 15, 30 และ 45 มก./กก.

ตารางที่ 4.7 ค่าความเข้มสีแดง (a^*) ของสีผิวปลาแฟนซีคาร์ปที่ให้อาหารผสมสารเบตาเลนใน ความเข้มข้นต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ความเข้มข้นของสารเบตาเลนที่ผสมในอาหาร (มก./กก. อาหาร)				
	0	15	30	45	60
0	13.38 ± 0.00^a	13.38 ± 0.00^a	13.38 ± 0.00^a	13.38 ± 0.00^a	13.38 ± 0.00^a
2	13.39 ± 0.08^a	13.88 ± 0.14^{ab}	14.39 ± 0.08^b	15.93 ± 0.26^c	17.18 ± 0.23^d
4	13.34 ± 0.10^a	14.85 ± 0.18^b	15.62 ± 0.13^c	17.83 ± 0.26^d	19.21 ± 0.23^e
6	13.15 ± 0.01^a	16.28 ± 0.12^b	17.26 ± 0.11^c	19.61 ± 0.18^d	21.08 ± 0.31^e
8	13.98 ± 0.06^a	17.40 ± 0.19^b	18.83 ± 0.25^c	21.59 ± 0.12^d	23.10 ± 0.19^d
10	13.34 ± 0.10^a	17.54 ± 0.53^b	19.63 ± 0.26^c	23.18 ± 0.30^d	24.48 ± 0.24^e
12	13.34 ± 0.10^a	17.20 ± 0.23^b	20.04 ± 0.21^c	22.59 ± 0.17^d	25.46 ± 0.13^e
14*	13.34 ± 0.10^a	17.16 ± 0.52^b	19.32 ± 0.16^c	22.14 ± 0.14^d	25.47 ± 0.11^e
16*	13.34 ± 0.10^a	17.09 ± 0.14^b	19.90 ± 0.33^c	22.07 ± 0.37^d	25.37 ± 0.22^e

* หมายถึง สัปดาห์ที่ให้อาหารพื้นฐานที่ไม่มีการผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร

อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

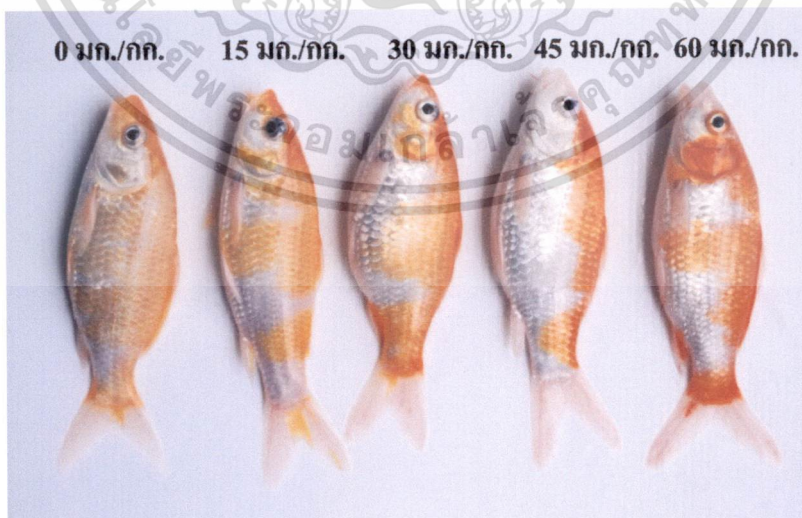
4.3.2.3 ค่าความเข้มสีเหลือง (b*) บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์ป

ผลของค่าความเข้มสีเหลืองของบริเวณลำตัวปลาแฟนซีคาร์ป พบว่าปลาทุกชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลน มีแนวโน้มของค่าความเข้มสีเหลืองเพิ่มมากขึ้น โดยจะเริ่มมีความเข้มสีเหลืองเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 จนถึงสิ้นสุดการทดลอง เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4.8)

สัปดาห์ที่ 2 ปลาแฟนซีคาร์ปทุกชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน มีค่าความเข้มสีเหลืองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

สัปดาห์ที่ 4 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีค่าความเข้มสีเหลืองมากที่สุด คือ 19.80 ± 0.06 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนความเข้มข้น 0, 15, 30 และ 45 มก./กก. เท่ากับ 18.36 ± 0.10 , 18.64 ± 0.09 , 18.76 ± 0.05 และ 18.99 ± 0.08 ตามลำดับ แต่ในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 15 และ 30 มก./กก. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

สัปดาห์ที่ 6 ถึง 12 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่ได้รับสารเบตาเลนมีแนวโน้มของค่าสีเหลืองเพิ่มขึ้นซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) ซึ่งปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีค่าความเข้มสีเหลืองมากที่สุด คือ 25.49 ± 0.13 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 0, 15, 30 และ 45 มก./กก. มีค่าเท่ากับ 18.78 ± 0.04 , 21.78 ± 0.15 , 22.50 ± 0.05 และ 23.09 ± 0.057 ตามลำดับ



ภาพที่ 4.2 ปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ

หลังจากเลี้ยงครบ 12 สัปดาห์ ให้อาหารสูตรพื้นฐาน (ไม่มีสารเบตาเลน) ต่ออีก 4 สัปดาห์ ซึ่งในสัปดาห์ที่ 14 และ 16 ปลาแฟนซีคาร์ปในชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. ยังคงมีค่าความเข้มสีเหลืองมากที่สุด คือ 25.63 ± 0.02 และ 25.42 ± 0.02 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) กับชุดการทดลองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 0, 15, 30 และ 45 มก./กก.

ตารางที่ 4.8 ค่าความเข้มสีเหลือง (b*) ของสีผิวปลาแฟนซีคาร์ปที่ให้อาหารผสมสารเบตาเลน ความเข้มข้นต่างกัน

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ความเข้มข้นของสารเบตาเลนที่ผสมในอาหาร (มก./กก. อาหาร)				
	0	15	30	45	60
0	18.7 ± 0.09^a	18.7 ± 0.09^a	18.7 ± 0.09^a	18.7 ± 0.09^a	18.7 ± 0.09^a
2	18.32 ± 0.08^a	18.50 ± 0.08^a	18.53 ± 0.04^a	18.57 ± 0.07^a	18.75 ± 0.06^a
4	18.36 ± 0.10^a	18.64 ± 0.09^b	18.76 ± 0.05^{bc}	18.99 ± 0.08^d	19.80 ± 0.06^c
6	18.47 ± 0.05^a	19.68 ± 0.09^b	20.09 ± 0.06^c	20.82 ± 0.07^d	21.44 ± 0.07^c
8	18.8 ± 0.06^a	19.87 ± 0.15^b	21.13 ± 0.55^c	21.32 ± 0.76^d	22.36 ± 0.11^c
10	18.67 ± 0.04^a	20.80 ± 0.15^b	21.45 ± 0.05^c	22.16 ± 0.05^d	23.52 ± 0.11^c
12	18.78 ± 0.04^a	21.78 ± 0.15^b	22.50 ± 0.05^c	23.09 ± 0.05^d	25.49 ± 0.13^c
14*	18.81 ± 0.05^a	21.96 ± 0.22^b	22.57 ± 0.05^c	23.46 ± 0.08^d	25.63 ± 0.02^c
16*	18.96 ± 0.108^a	22.18 ± 0.02^b	22.60 ± 0.04^c	23.71 ± 0.09^d	25.42 ± 0.02^c

* หมายถึง สัปดาห์ที่ให้อาหารพื้นฐานที่ไม่มีการผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.3.3 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อค่าโลหิตวิทยาปลาแฟนซีคาร์ป

จากการศึกษาเมื่อสิ้นสุดการทดลองนำเลือดปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. มาวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา ได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ปริมาณเม็ดเลือดแดง และปริมาณเม็ดเลือดขาวพบว่า ค่าโลหิตวิทยาของปลาแฟนซีคาร์ปทุกชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนในระดับ 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

ค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตหลังจากเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ปด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนครบ 12 สัปดาห์ มีค่าเท่ากับ 39.64 ± 1.77 , 40.51 ± 2.20 , 40.25 ± 1.29 , 40.51 ± 1.29 และ 40.26 ± 2.06 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และเมื่อครบ 4 สัปดาห์ หลังจากหยุดให้อาหารผสมสารเบตาเลนพบว่าปลาที่

ให้อาหารผสมสารเบตาเลนมีค่าเท่ากับ 38.17 ± 1.30 , 39.85 ± 1.45 , 40.10 ± 1.81 , 39.80 ± 1.91 และ 39.94 ± 2.83 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.9 เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตของปลาแฟนซีคาร์ปที่กินอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่มีระดับความเข้มข้นต่างกัน

อาหารผสมสารเบตาเลน (มก./กก)	ค่าฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	
	ให้สารเบตาเลน 12 สัปดาห์	หลังจากหยุดสารให้ 4 สัปดาห์
0	39.64 ± 1.77^a	38.17 ± 1.30^a
15	40.51 ± 2.20^a	39.85 ± 1.45^a
30	40.25 ± 1.29^a	40.10 ± 1.81^a
45	40.51 ± 1.29^a	39.80 ± 1.91^a
60	40.26 ± 2.06^a	39.94 ± 2.83^a

*อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ปริมาณเม็ดเลือดแดงหลังจากเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ปด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนครบ 12 สัปดาห์ มีค่าเท่ากับ 2.02 ± 1.83 , 2.19 ± 1.23 , 2.14 ± 1.15 , 2.15 ± 1.76 และ 2.03 ± 1.33 ($\times 10^6$ เซลล์/ลบ.มม.) และเมื่อครบ 4 สัปดาห์ ปริมาณเม็ดเลือดแดงหลังจากหยุดให้อาหารที่ผสมสารเบตาเลนมีค่าเท่ากับ 2.08 ± 1.18 , 2.09 ± 1.06 , 2.21 ± 1.25 , 2.16 ± 1.01 และ 2.14 ± 1.07 ($\times 10^6$ เซลล์/ลบ.มม.) (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.10 ปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลาการ์ปที่กินอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่มีความเข้มข้นต่างกัน

อาหารผสมสารเบตาเลน (มก./กก)	ปริมาณเม็ดเลือดแดง ($\times 10^6$ เซลล์/ลบ.มม.)	
	ให้สารเบตาเลน 12 สัปดาห์	หลังจากหยุดสารให้ 4 สัปดาห์
0	2.02 ± 1.83^a	2.08 ± 1.18^a
15	2.19 ± 1.23^a	2.09 ± 1.06^a
30	2.14 ± 1.15^a	2.21 ± 1.25^a
45	2.15 ± 1.76^a	2.16 ± 1.01^a
60	2.03 ± 1.33^a	2.14 ± 1.07^a

*อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ปริมาณเม็ดเลือดขาวหลังจากเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ปด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนครบ 12 สัปดาห์มีค่าเท่ากับ 2.37 ± 1.04 , 2.34 ± 1.53 , 2.24 ± 2.24 , 2.38 ± 1.35 และ 2.37 ± 1.69 ($\times 10^4$ เซลล์/ลบ.มม.) ตามลำดับ และเมื่อครบ 4 สัปดาห์ ปริมาณเม็ดเลือดขาวหลังจากหยุดให้อาหารที่ผสมสารเบตาเลน มีค่าเท่ากับ 2.43 ± 1.90 , 2.40 ± 1.90 , $2.40 \pm 1.255 \pm 1.32$ และ 2.39 ± 1.24 ($\times 10^4$ เซลล์/ลบ.มม.) (ตารางที่ 4.11) ตามลำดับ

ตารางที่ 4.11 ปริมาณเม็ดเลือดขาวของปลาแฟนซีคาร์ปที่กินอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่มีความเข้มข้นต่างกัน

อาหารผสมสารเบตาเลน (มก./กก)	ปริมาณเม็ดเลือดขาว ($\times 10^4$ เซลล์/ลบ.มม.)	
	ให้สารเบตาเลน 12 สัปดาห์	หลังจากหยุดสารให้ 4 สัปดาห์
0	2.37 ± 1.04^a	2.43 ± 1.90^a
15	2.34 ± 1.53^a	2.40 ± 1.90^a
30	2.24 ± 2.24^a	2.40 ± 1.00^a
45	2.38 ± 1.35^a	2.55 ± 1.32^a
60	2.37 ± 1.69^a	2.39 ± 1.24^a

*อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.3.4 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อค่า TBARS ในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำเลือดของปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก.อาหาร มาวิเคราะห์หาค่า TBARS พบว่าหลังจากเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ปด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนครบ 12 สัปดาห์ ปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับ 60 มก./กก.อาหาร มีค่า TBARS ต่ำที่สุด คือ 0.96 ± 0.02 ($\times 10^{-3}$ μmol MDA/มล.เลือด) ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับปลาที่ให้อาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ความเข้มข้น 0, 15, 30, และ 45 มก./กก.อาหาร ($P < 0.05$) และเมื่อครบ 4 สัปดาห์ หลังจากหยุดให้อาหารผสมสารเบตาเลนพบว่าปลาที่ให้อาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับ 60 มก./กก.อาหาร พบว่า มีค่า TBARS ต่ำที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.06 ± 2.83 ($\times 10^{-3}$ μmol MDA/มล.เลือด) ซึ่งมีค่าแตกต่างกันกับทุกชุดการทดลอง ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4.12)

ตารางที่ 4.12 ค่า TBARS ในเลือดปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ความเข้มข้นต่างกัน

อาหารผสมสารเบตาเลน (มก./กก)	TBARS ในเลือด ($\times 10^{-3}$ $\mu\text{mol MDA/มล.เลือด}$)	
	ให้สารเบตาเลน 12 สัปดาห์	หลังจากหยุดสารให้ 4 สัปดาห์
0	4.28 \pm 0.04 ^a	4.54 \pm 1.30 ^a
15	3.21 \pm 0.00 ^b	3.34 \pm 1.45 ^b
30	2.53 \pm 0.03 ^c	2.63 \pm 1.81 ^c
45	1.72 \pm 0.04 ^d	1.82 \pm 1.91 ^d
60	0.96 \pm 0.02 ^e	1.06 \pm 2.83 ^e

อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.3.5 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำเลือดของปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก.อาหาร มาศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH ในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป พบว่าหลังจากเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ปด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนครบ 12 สัปดาห์ ปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความเข้มข้น 60 มก./กก. มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ 59.02 \pm 0.22 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองที่ให้อาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, และ 45 มก./กก.อาหาร ตามลำดับ ($P < 0.05$) และเมื่อครบ 4 สัปดาห์ หลังจากหยุดให้อาหารผสมสารเบตาเลน ปลาแฟนซีคาร์ปที่ให้อาหารผสมสารเบตาเลนระดับความเข้มข้น 60 มก./กก.อาหาร พบว่ามีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระ มากที่สุด คือ 52.46 \pm 0.83 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4.13)

4.3.6 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำเอาเลือดของปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก.อาหาร ศึกษาส่วนค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase พบว่าหลังจากเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์ปด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนครบ 12 สัปดาห์ ปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ต่ำที่สุดเท่ากับ 1.13 \pm 0.09 ($\times 10^{-2}$ มก. H_2O_2) ซึ่งมีความแตกต่างกับทุกชุดการ

ทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) แต่ที่ความเข้มข้น 15 และ 30 มก./กก. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) มีค่าเท่ากับ 2.77 ± 0.01 และ 2.02 ± 0.02 ($\times 10^{-2}$ มก. H_2O_2) ตามลำดับ หลังจากหยุดให้อาหารผสมสารเบตาเลนพบว่าที่ความเข้มข้น 60 มก./กก. ยังมีค่ามีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ต่ำที่สุด ซึ่งมีความแตกต่างกับทุกชุดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) มีค่าเท่ากับ 1.64 ± 0.01 ($\times 10^{-2}$ มก. H_2O_2) แต่ที่ความเข้มข้น 15 และ 30 มก./กก. ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P > 0.05$) มีค่าเท่ากับ 3.53 ± 0.01 และ 3.22 ± 0.00 ($\times 10^{-2}$ มก. H_2O_2) ตามลำดับ (ตารางที่ 4.14)

ตารางที่ 4.13 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DPPH ในเลือดปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลไม้แก้วมังกรอบแห้งที่ความเข้มข้นต่างกัน

อาหารผสมสารเบตาเลน (มก./กก)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DPPH ในเลือด	
	ให้สารเบตาเลน 12 สัปดาห์	หลังจากหยุดสารให้ 4 สัปดาห์
0	8.20 ± 0.31^a	8.01 ± 2.50^a
15	31.51 ± 0.25^b	24.59 ± 0.25^b
30	42.62 ± 0.19^c	36.06 ± 0.91^c
45	50.82 ± 0.20^d	44.23 ± 0.94^d
60	59.02 ± 0.22^e	52.46 ± 0.83^e

*อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 4.14 กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเลือดปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลไม้แก้วมังกรอบแห้งที่ความเข้มข้นต่างกัน

อาหารผสมสารเบตาเลน (มก./กก)	กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ($\times 10^{-2}$ มก. H_2O_2)	
	ให้สารเบตาเลน 12 สัปดาห์	หลังจากหยุดสารให้ 4 สัปดาห์
0	4.03 ± 0.12^a	4.28 ± 0.02^a
15	2.77 ± 0.01^b	3.53 ± 0.01^b
30	2.02 ± 0.02^b	3.22 ± 0.00^b
45	1.89 ± 0.00^c	2.77 ± 0.20^c
60	1.13 ± 0.09^d	1.64 ± 0.01^d

*อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$)

4.3.7 ผลของการกินอาหารผสมสารเบตาเลนต่อเนื้อเยื่อของปลาแฟนซีคาร์ป

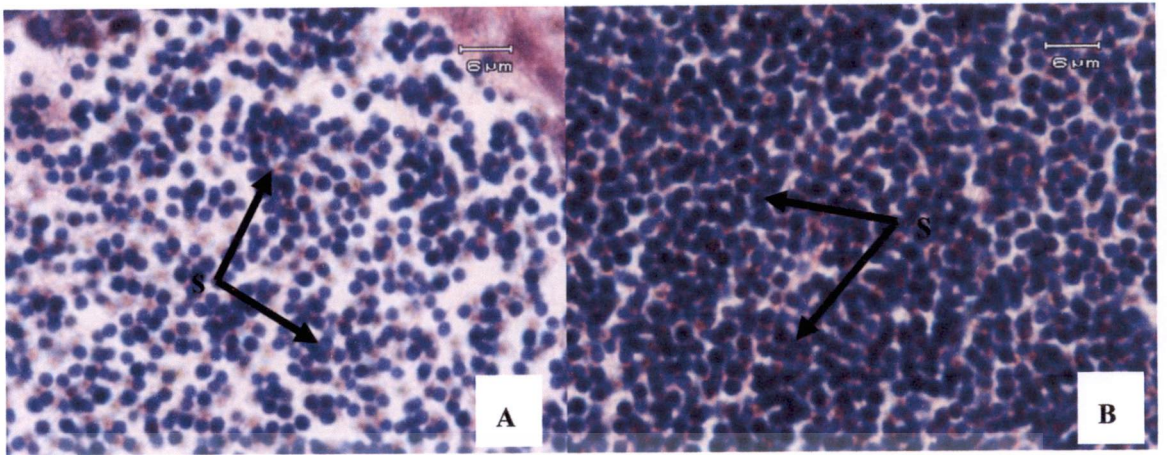
เมื่อสิ้นสุดการทดลองการศึกษาระดับของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่เหมาะสมต่อการเร่งสี การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อในปลาแฟนซีคาร์ป พบว่า ไม่มีรงควัตถุที่บริเวณผิวหนังปลาแฟนซีคาร์ป ซึ่งโครงสร้างของผิวหนังปลาประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ชั้นคือผิวหนังของปลาชั้นนอก (epidermis) และผิวหนังชั้นใน (dermis) โดยเกล็ดปลาจะแทรกอยู่บริเวณชั้น dermis เมื่อนำเกล็ดมาศึกษารงควัตถุ โดยเก็บตัวอย่างเกล็ดบริเวณด้านข้างของลำตัว ซึ่งเกล็ดมีการสะสมของรงควัตถุสีส้มแดงมากที่สุดในปลาแฟนซีคาร์ปที่กินอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. โดยเกล็ดมีลักษณะเป็นแบบเกล็ด cycloid มีลักษณะเป็นขอบเรียบ (ภาพที่ 4.3) และลักษณะเนื้อเยื่ออันจะพบว่า ปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีจำนวนของ sperm ในท่อ seminiferous มากกว่าปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลน 0 มก./กก. (ภาพที่ 4.4) ส่วนลักษณะเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์ปลาแฟนซีคาร์ปเพศเมีย มีการพัฒนาของเซลล์ไข่ 6 ระยะ (ภาพที่ 4.5) พบว่าปลาแฟนซีคาร์ปที่กินอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก. มีเปอร์เซ็นต์ไข่ระยะที่ 1 มากที่สุด ($P < 0.05$) (ตารางที่ 4.15) ส่วนปลาแฟนซีคาร์ปที่กินอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความเข้มข้น 60 มก./กก. มีเปอร์เซ็นต์การพัฒนาไข่ในระยะที่ 6 มากที่สุด (ตารางที่ 4.15) ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($P < 0.05$) เท่ากับ 37.81 ± 2.59 เปอร์เซ็นต์ ส่วน และลักษณะเนื้อเยื่อตับ พบว่า ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเมื่อเปรียบเทียบกับทุกชุดการทดลอง



ภาพที่ 4.3 เกล็ดปลาแฟนซีคาร์ปที่กินอาหารผสมสารเบตาเลนที่ความเข้มข้น 0 และ 60 มก./กก.

พบรงควัตถุสีส้มแดง (P) มากกว่าชุดการทดลองที่กินอาหารผสมสารเบตาเลน 0 มก./กก.

(1.8 X 0.5)

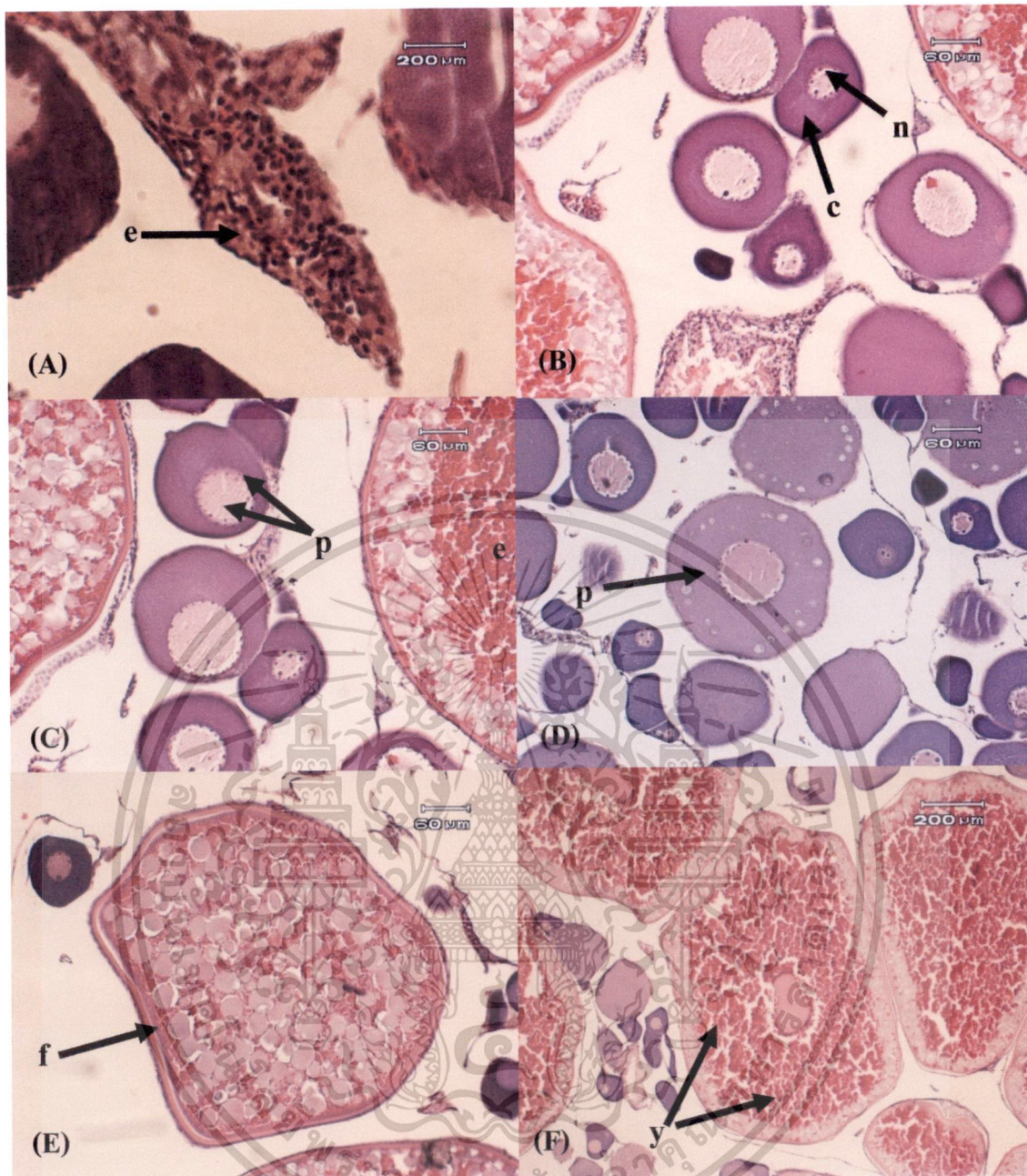


ภาพที่ 4. 4 ภาพตัดตามขวางของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาแฟนซีคาร์ปเพศผู้ (A) ปลาแฟนซีคาร์ปที่ไม่ได้เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลน (B) ปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนเข้มข้น 60 มก./กก.ประกอบด้วย seminiferous tubules จำนวนมาก ภายในท่อมี sperm ในระยะต่างๆ (formalin 10% ; H&E; X 10)

ตารางที่ 4.15 เปอร์เซ็นต์ของการพัฒนาเซลล์ไข่ปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่ความเข้มข้นต่างกัน

ระยะไข่	อาหารผสมสารเบตาเลน(มก./กก.)				
	0	15	30	45	60
ระยะที่ 1	92.04±0.93 ^a	90.58±2.33 ^a	55.54±6.36 ^b	3.43±2.54 ^c	4.89±5.77 ^c
ระยะที่ 2	3.17±0.40 ^a	5.11±1.26 ^a	23.54±4.25 ^b	13.04±4.67 ^{ab}	10.79±7.36 ^{ab}
ระยะที่ 3	1.71±0.34 ^a	2.38±0.78 ^a	10.28±1.33 ^b	10.90±4.53 ^b	13.75±3.85 ^b
ระยะที่ 4	2.65±0.64 ^a	1.26±0.38 ^a	7.96±1.03 ^{ab}	14.99±4.53 ^{bc}	19.84±3.72 ^c
ระยะที่ 5	0.28±0.11 ^a	0.30±0.12 ^a	2.40±0.71 ^a	17.20±7.80 ^b	19.81±7.01 ^b
ระยะที่ 6	0.15±0.04 ^a	0.35±0.11 ^a	0.25±9.09 ^a	33.59±3.07 ^b	37.81±2.59 ^c

*อักษรที่ต่างกันในแต่ละแถว หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.5 การพัฒนาเซลล์ไข่ปลาแพนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนที่ความเข้มข้นต่างกัน แบ่งการพัฒนาเป็น 6 ระยะ ได้แก่ (A) ระยะที่ 1 ไข่อยู่รวมกันเป็นกลุ่ม(e),ระยะที่ 2 cytoplasm ติดสีน้ำเงินเข้ม (c) nucleus ติดสีเทา (n), (C) ระยะที่ 3 nucleus อาจอยู่ด้านใดด้านหนึ่งของ cell เริ่มเห็น provitelline nucleotide (p), (D) ระยะที่ 4 พบ provitelline nucleotide รอบๆ Nucleus, (E)ระยะที่ 5 เห็นขอบ follicular cell ที่รอบขอบนอกชัดเจน (f) และ (F) ระยะที่ 6 ภายใน cytoplasm เต็มไปด้วย yolk granule (y) (formalin 10% ; H&E; X10)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5 วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การศึกษาผลของสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของสี ปริมาณสารเบตาเลน ปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอล และความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH ของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร

ผลการศึกษาสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่มีผลต่อค่ามัมสีสารเบตาเลน พบว่าค่ามัมสีของผงเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่เก็บในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มีการเปลี่ยนแปลงค่ามัมสีเฉลี่ยน้อยที่สุด เมื่อเทียบกับชุดการทดลองอื่น ซึ่งการเปลี่ยนแปลงสีของสารเบตาเลนจะขึ้นอยู่กับ ค่า pH อุณหภูมิ กิจกรรมของเอนไซม์ และอากาศ ผลจากปัจจัยดังกล่าวใน โมเลกุลของสารเบตาเลนมีพลังงานสูงพร้อมจะเกิดปฏิกิริยาได้ง่ายส่งผลให้สารเบตาเลนเกิดการเสื่อมสลาย การเก็บรักษาในสภาวะที่มีอากาศสัมผัสกับออกซิเจน และอุณหภูมิสูงยังทำให้สารเบตาเลนเกิดการเสื่อมสลาย โดยเมื่อสารเบตาเลนสัมผัสกับออกซิเจนจะเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา สารเบตาเลนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของวง (cyclic) ที่เป็นโครงสร้างหลักทำให้วงแตกออกเพื่อเชื่อมกับพันธะคู่กับออกซิเจนแทน ทำให้สารเบตาเลนเกิดการเสื่อมสลาย และมีความเข้มสีลดลง (Thimmaraju *et al.*, 2003) นอกจากนี้อุณหภูมิยังมีผลต่อการลดลงของสารเบตาเลนเนื่องจากอุณหภูมิสูงจะเร่งให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดไลซิสส่งผลทำให้โครงสร้างของสารเบตาเลนเกิดการเปลี่ยนแปลง (Herbach *et al.*, 2006) โดยค่ามัมสีนั้นจะเปลี่ยนแปลงไปตามการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิ นอกจากนี้ยังเกิดขบวนการ decarboxylation และ dehydrogenation โดยขบวนการ decarboxylation และ dehydrogenation ไปดึงหมู่ carboxyl และไฮโดรเจนออกจากโมเลกุลของสารเบตาเลนทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้าง ซึ่งการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนสีจากสีม่วงแดงเป็นสีเหลืองอ่อน (Herbach *et al.*, 2006) ดังนั้นควรเก็บรักษาในสภาวะที่ไม่โดนอากาศและอุณหภูมิต่ำเพื่อเป็นการลดการเสื่อมสลายของสารเบตาเลน (Cai *et al.*, 2005)

ผลการศึกษาสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณสารเบตาเลน พบว่า การเก็บรักษาสารเบตาเลนในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารเบตาเลนมากที่สุด Cai *et al.* (2005) ที่ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเก็บรักษารังควัตถุเบตาแซนทินจากพืชสายพันธุ์ *Celosia* ที่เป็นแหล่งกำเนิดเบตาแซนทินชนิดใหม่ พบว่าหลังจากเก็บรักษาครบ 20 สัปดาห์ เบตาแซนทินชนิดผงที่เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารเหลืออยู่ถึง 76.2 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ Herbach *et al.* (2006) รายงานว่าอุณหภูมิที่ใช้เก็บรักษาสารเบตาเลนนั้นจะมีผลทำให้ปริมาณสารเบตาเลนลดลงในช่วง 50-80 องศาเซลเซียส เมื่ออุณหภูมิที่สูงขึ้นสารเบตาเลนจะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างมีหลายรูปแบบโดยขบวนการ isomerization, decarboxylation และ hydrolysis ซึ่งขบวนการเหล่านี้ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของสารเบตาเลน (Harivaindaran *et al.*, 2008) ทั้งนี้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำร่วมกับบรรจุภัณฑ์ที่มีโอกาสสัมผัสกับออกซิเจนได้น้อยจะ

เป็นการช่วยลดการเสื่อมสลายของสารเบตาเลนจากการเกิดปฏิกิริยาต่างๆที่จะส่งผลให้สารเบตาเลนเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างและเกิดการเสื่อมสลาย และเนื่องจากสารเบตาเลนมีโครงสร้างหลักเป็นวง และมีคุณสมบัติเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนที่มีส่วนประกอบอะโรมาติกในโมเลกุลเดียวกันเมื่อทำปฏิกิริยากับออกซิเจนโดยความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาโมเลกุลของสารเบตาเลนจะเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันอย่างต่อเนื่อง โดยดึงไฮโดรเจนอะตอมออกไปแล้วออกซิเจนเข้าเกาะแทนที่ทำให้โครงสร้างหลักเปลี่ยนไป ส่งผลให้โครงสร้างของสารเบตาเลนเกิดการเปลี่ยนแปลงรวมทั้งความเข้มข้นลดลง และมีปริมาณสารเบตาเลนลดลงด้วย (อุคม กักผล และคณะ, 2543)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลการศึกษาสภาวะการบรรจุ และอุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลจากเปลือกผลแก้วมังกรพบว่าอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสร่วมกับสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ พบว่ามีปริมาณโพลีฟีนอลมากที่สุด ($P < 0.05$) โดยสารประกอบโพลีฟีนอลจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบได้ในธรรมชาติ อาหาร และเครื่องดื่ม ซึ่งสารที่อยู่ในกลุ่มสารประกอบโพลีฟีนอลได้แก่ flavonoids, flavones, gallic acid, ellagic acid, lignin, tannin, anthocyanins, carotenoids และอนุพันธ์ของ cinnamic acid การที่มีปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลมากแสดงว่ามีความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งจะเป็นประโยชน์ในการช่วยกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกัน และลดความเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ (นันทน์ภัส เต็มวงศ์, 2551; วาริน แสงกิตติโกมล, 2546; ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์, 2546; โอภา วัชรชอุปต์, 2549) ทั้งนี้เนื่องจากสภาวะดังกล่าวเป็นสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำ จึงเป็นการช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาต่างๆที่จะทำให้สารประกอบโพลีฟีนอลเกิดการเสื่อมสลายทั้งในด้านปริมาณและโครงสร้างของสารประกอบโพลีฟีนอล เมื่อนำมาวัดปริมาณสารประกอบโพลีฟีนอลจึงพบว่ามีปริมาณสูง ในขณะที่อุณหภูมิที่สูงขึ้นส่งผลทำให้กลุ่มฟีนอลิกเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทำให้ปริมาณกลุ่ม phenolic hydroxyl ลดลงและยังส่งผลต่อคุณสมบัติการเป็น antioxidant ลดลงด้วย

นอกจากนี้จากการศึกษาความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH ของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกร พบว่า การเก็บรักษาสารเบตาเลนในบรรจุแบบสุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส มีความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด อุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ดังกล่าว เป็นสภาวะการเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ ร่วมกับการสัมผัสออกซิเจนน้อย ซึ่งช่วยลดการเกิดปฏิกิริยาต่างๆที่ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของสารเบตาเลนน้อยลง เช่นปฏิกิริยาไฮโดไลซิส และปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีผลให้สารเบตาเลนในสภาวะนี้ไปยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DPPH มีการเสื่อมสลายต่ำ เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ที่สภาวะดังกล่าวจึงสามารถยับยั้งได้สูง ในทางตรงข้ามการเก็บรักษาเปลือกแก้วมังกรที่อุณหภูมิสูงร่วมกับบรรจุภัณฑ์ที่มีโอกาสสัมผัสออกซิเจนสูง ออกซิเจนจะเข้าทำปฏิกิริยากับโครงสร้างของสารเบตาเลน ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างหลักของสารเบตาเลน รวมถึงทำให้ความเอกลักษณะเป็นเอกลักษณะที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มสีและปริมาณสารเบตาเลนลดลง เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH จึงมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่ำ และจากรายงานของ Cai *et al.*, (2003) ศึกษาความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH ในสารเบตาเลนจากพืชตระกูล Amaranthaceae พบว่าสารเบตาเลนที่ได้จากพืชสายพันธุ์ *Gomphrena* มีความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด ซึ่งความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามจำนวนของหมู่ phenolic hydroxyl ในโครงสร้างสารเบตาเลนทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดสัมพันธ์กับโครงสร้างทางเคมีของสารเบตาเลน โดยโครงสร้างทางเคมีของสารเบตาเลนจะมีกลุ่ม phenolic hydroxyl ที่เป็น antioxidant ที่ช่วยกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH โดยจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ DPPH แล้วให้อิเล็กตรอนกับ DPPH ทำให้เกิดการเสถียร และไม่ไปทำปฏิกิริยากับสารตัวอื่น

5.2 การศึกษาระดับของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่เหมาะสมต่อการเร่งสี การเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อ ค่าโลหิตวิทยา และประสิทธิภาพของเอนไซม์ในการต้านสารอนุมูลอิสระในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป (*Cyprinus carpio* Linn.)

5.2.1 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อการเจริญเติบโตของปลาแฟนซีคาร์ป

ผลของการศึกษาเปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตราการรอดตายของปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก.พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกันทางสถิติ ($P>0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับ อังฉวี เรืองเดช และคณะ (2551) ทดลองใช้สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรด้วยแอลกอฮอล์ที่ระดับ 0, 10, 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเปลือกต่อสารสกัด โดยนำมาฉีดเคลือบบนอาหารเลี้ยงปลาหมอคอนวูดเผือก (*Archocentrus nigrofasciatus*) เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย อัตราแลกเนื้อ และอัตราการรอดของปลาหมอกไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกันทางสถิติ ($P>0.05$) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการใช้สารสีในกลุ่มคาร์โรทีนอยด์อื่นๆ ซึ่งนางนุช เลาหะวิสุทธิ และคณะ (2549) ทดลองให้อาหารที่ผสมสารแอสตาแซนทินที่สกัดจากสาหร่าย *Haematococcus* sp. ที่เหมาะสมต่อการเร่งสีปลาทอง โดยใช้อาหารผสมสารสีจากสาหร่ายตามความเข้มข้นที่ต่างกัน คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัม/กิโลกรัมอาหาร เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลองน้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายของปลาทองเฉลี่ย น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นเฉลี่ย อัตราแลกเนื้อ และอัตราการรอดของปลาทองไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกันทางสถิติ ($P>0.05$) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของแอสตาแซนทินต่อการเจริญเติบโตในปลาชนิดต่างๆ พบว่าปลาแฟนซีคาร์ป (Hanzs *et al.*, 2003; Gouveia, 2003) ปลานิลแดง (ชลธิชา โชติสิทธิพงษ์, 2541) ปลาทอง (Paripatananont *et al.*, 1999) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3.2 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อการเปลี่ยนแปลงสีผิวปลาแฟนซีคาร์ป

ผลศึกษาระดับของสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่เหมาะสมต่อการเร่งสีในปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. พบว่าทุกชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนในระดับความเข้มข้นต่างๆ มีแนวโน้มของค่าความสว่างลดลง โดยจะเริ่มมีความสว่างลดลงในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง ส่วนค่าความเข้มสีแดงของบริเวณลำตัวปลาแฟนซีคาร์ป พบว่าปลาแฟนซีคาร์ปทุกชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนในระดับความเข้มข้นต่างๆ มีแนวโน้มของค่าความเข้มสีแดงเพิ่มมากขึ้น โดยจะเริ่มมีความเข้มสีแดงเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 2 ของการทดลอง และผลของค่าความเข้มสีเหลืองของบริเวณลำตัวปลาแฟนซีคาร์ป พบว่าปลาแฟนซีคาร์ปทุกชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนในระดับความเข้มข้นต่างๆ มีแนวโน้มของค่าความเข้มสีเหลืองเพิ่มมากขึ้น โดยจะเริ่มมีความเข้มสีเหลืองเพิ่มขึ้นในสัปดาห์ที่ 4 ของการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับ Phumjan and Laohavisuti (2007) ทดลองให้อาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรที่มีความเข้มข้นต่างกัน คือ 0, 15, 22.5, 30 และ 37.5 มก./กก. เพื่อใช้ในการเร่งสีปลา red platy (*Xiphophorus maculatus*) พบว่าปลา red platy ที่ได้รับอาหารที่ผสมสารเบตาเลนจากผลเปลือกแก้วมังกรความเข้มข้น 37.5 มก./กก. มีความเข้มของสีแดงสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มการทดลองอื่น นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับสุรภี ประชุมพล (2552) ทดลองเลี้ยงปลาทองด้วยอาหารผสมสารสกัดเบตาเลนจากบีทรูทที่ระดับ 0, 20, 40, 60 มก./กก. พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 60 มก./กก. มีค่าความเข้มสีแดงสูงสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดควบคุมที่ไม่ได้รับสารเบตาเลน ($P > 0.05$) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาใช้รงควัตถุตัวอื่นๆ ที่มีคุณสมบัติในการเร่งสีได้ มีการทดลองใช้สารแอสตาแซนทินผสมในอาหารสัตว์น้ำกันอย่างกว้างขวาง ได้แก่ ปลาแฟนซีคาร์ป (Hanzs *et al.*, 2003; Gouveia, 2003) ปลานิลแดง (ชลธิชา โชติสิทธิพงษ์, 2541) ปลาทอง (Paripatananont *et al.*, 1999) ทั้งนี้ความเข้มสีของปลาจะเพิ่มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของปริมาณคาโรทีนอยด์ที่ได้รับจากการผสมลงในอาหาร และระยะเวลาในการกินอาหาร โดยปลานั้นจะดูดซึมสารคาโรทีนอยด์ที่บริเวณทางเดินอาหาร แล้วจะส่งไปตามอวัยวะต่างๆ เช่น กล้ามเนื้อ เกล็ด ตับ เป็นต้น ส่งผลให้อวัยวะต่างๆ นั้นเกิดสีแตกต่างกันไป (Torrisen, 1989; Storebakken and Goswami, 1996; Kiessling *et al.*, 2006)

5.3.3 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อค่าโลหิตวิทยาปลาแฟนซีคาร์ป

จากการศึกษาเมื่อสิ้นสุดการทดลองนำเลือดปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. มาวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยา ได้แก่ ค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ปริมาณเม็ดเลือดแดง และปริมาณเม็ดเลือดขาวพบว่า ค่าโลหิตวิทยาของปลาแฟนซีคาร์ปทุกชุดการทดลองที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนในระดับ 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีความอยู่ในช่วงของค่าโลหิตวิทยาปลาแฟนซีคาร์ปปกติ ได้แก่เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต 32-43.8 ปริมาณเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เม็ดเลือดแดงประมาณ 1.10-2.20 ($\times 10^6$ เซลล์/ลบ.มม.) และปริมาณเม็ดเลือดขาว 1.90-4.70 ($\times 10^4$ เซลล์/ลบ.มม.) (Ghittino, 1983; Svobodova, 1973; Bastami *et al.*, 2009; Radu *et al.*, 2009) ดังนั้น อาจกล่าวได้ว่าปลาแฟนซีคาร์ปที่ใช้ศึกษาในครั้งนี้มีสุขภาพดี ทำให้ไม่มีผลกระทบในเรื่องของ สุขภาพปลา ซึ่งการตรวจวัดค่าโลหิตวิทยานั้นเป็นตัวแปรที่มีความสำคัญที่ใช้ประเมินสภาพทาง กายภาพ และชีวภาพของปลา การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของเลือดขึ้นอยู่กับ ชนิด สายพันธุ์ อายุ ระยะเจริญพันธุ์และสุขภาพของปลา การเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม ไม่ว่าจะเป็นอุณหภูมิ สารพิษ ที่ปนเปื้อน การให้อาหารเสริม หรือความผิดปกติในระบบของร่างกายจะส่งผลกระทบต่อค่าโลหิต วิทยา ดังนั้นค่าโลหิตวิทยาบางลักษณะอาจช่วยพัฒนาด้านการเลี้ยง โภชนศาสตร์ รวมถึงการ ป้องกันรักษาโรคได้ (ขวัญตา พูลสำราญ และคณะ 2551)

5.3.4 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อค่า TBARS ในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป

ค่า TBARS ในเลือดแสดงผลเป็นมิลลิโมลไคแอลกอฮอล์ เป็นผลผลิตที่เกิดจากขบวนการ ไลโปิดเปอร์ออกซิเดชัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำเลือดปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาร เบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก.อาหาร มาวิเคราะห์ค่า TBARS พบว่า ปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความ เข้มข้น 60 มก./กก. อาหาร มีค่า TBARS ต่ำสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการ ทดลอง ($P < 0.05$) ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากที่ระดับความเข้มข้นนี้ปลามีการดูดซึมสารเบตาเลนสะสมใน ร่างกายไว้มาก โดยสารเบตาเลนเมื่ออยู่ในร่างกายจะทำหน้าที่เป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันให้ อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในระหว่างที่เกิดไลโปิดเปอร์ออกซิเดชันภายในเซลล์ เพื่อทำให้อ อนุมูลอิสระมีความคงตัวและไม่ก่อให้เกิดอันตรายแก่เซลล์ ค่า TBARS จึงต่ำ ซึ่งค่านี้จะใช้เป็น ตัวชี้วัดการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในร่างกาย เมื่อปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นและร่างกายมีประสิทธิภาพ การยับยั้งไม่เต็มที่ที่จะทำให้สัตว์น้ำเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ (อนันต์ สกุลกิม, 2551)

5.3.5 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ใน เลือดปลาแฟนซีคาร์ป

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำเลือดของปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาร เบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก.อาหาร มาศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH ในเลือด พบว่า ปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสาร เบตาเลนที่ระดับความเข้มข้น 60 มก./กก. มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งสารอนุมูลอิสระ สูงสุดแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($P < 0.05$) โดยสารเบตาเลนเมื่อถูกดูดซึมเข้าสู่ร่างกาย แล้วจะไปสะสมยังอวัยวะต่างๆของร่างกายในปริมาณสูงกว่าระดับความเข้มข้นอื่นๆ เมื่อถูกสะสม ในร่างกายสารเบตาเลนจะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH แล้วทำให้อนุมูลอิสระ DPPH มีความคงตัว ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH จึงสูง ดังนั้นการ

ลดลงของอนุมูลอิสระ DPPH' จึงเป็นดัชนีที่สามารถวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่ใช้ทดสอบได้ (สุพัตรา ปรศุพัฒนา และ วริมา วงศ์พาณิชย์, 2547)

5.3.6 ผลของอาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่อส่วนค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ในเลือดปลาแฟนซีคาร์ป

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำเลือดของปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. พบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความเข้มข้น 60 มก./กก มีค่าต่ำสุด ซึ่งค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase จะมีค่าสูงเมื่อร่างกายถูกทำลายและมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในร่างกาย โดยเอนไซม์ชนิดนี้จะทำหน้าที่เป็นแอนติออกซิแดนซ์ที่มีการผลิตขึ้นในร่างกาย โดยเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เป็นออกซิเจนและน้ำ ซึ่งจะช่วยลดความเสี่ยงในการเข้าทำอันตรายกับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย นอกจากเอนไซม์ catalase แล้ว ยังมีเอนไซม์อื่นที่มีคุณสมบัติเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ซึ่งถูกผลิตขึ้นในร่างกาย เช่น superoxide dismutase, glutathione peroxidase และ catalase เป็นต้น และสารที่ไม่จัดเป็นเอนไซม์แต่มีในร่างกายเช่น ferritin, ceruloplasmin, transferrin และ uric acid (Halliwell and Gutteridge, 1989; Ames *et al.*, 1993) นอกจากนี้ยังมีสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหารและช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ดีขึ้น ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นสารพฤษเคมีที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระได้ เช่น สารเบต้าแคโรทีน ฟลาโวนอยด์ วิตามินอี สารไลโคปีน รวมทั้งสารเบตาเลน ดังนั้นการให้อาหารผสมสารเบตาเลนกับปลาแฟนซีคาร์ปจึงสามารถช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระรวมทั้งช่วยให้เอนไซม์สามารถทำงานดีขึ้นได้ (วาริน แสงกิตติโกมล, 2546; Halliwell and Gutteridge, 1989; Middleton *et al.*, 2000; Helmja *et al.*, 2007)

5.3.7 ผลของการกินอาหารผสมสารเบตาเลนต่อเนื้อเยื่อของปลาแฟนซีคาร์ป

สำหรับผลผลของการศึกษาการให้อาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะของเนื้อเยื่อปลาแฟนซีคาร์ป ที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. พบว่าเกล็ดปลาแฟนซีคาร์ปที่กินอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความเข้มข้น 60 มก./กก. มีการสะสมของรงควัตถุสีส้มแดงมากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับฟัวน เฟงเซิน และทิพยวรรณ ปริพัฒนานนท์ (2546) พบว่าปลาทองที่กินอาหารที่เสริมแอสตาแซนทินที่ความเข้มข้น 36 มก./กก. ทำให้ปลาทองมีการสะสมรงควัตถุสีที่บริเวณเนื้อเยื่อผิวเพิ่มขึ้นสูงที่สุด ซึ่งจำนวนเม็ดสีที่เพิ่มขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มสีที่ผิวหนังของปลา ซึ่งยังสอดคล้องกับ Yanar *et al.* (2008) ทดลองให้อาหารผสมคาโรทีนอยด์จากผล alfalfa บด ในการเลี้ยงปลาทอง (*Carassius auratus*) ที่มีความเข้มข้นที่ต่างกัน คือ 0, 5, 10, 15, 25 และ 40% alfalfa/กก. และ 0.6% synthetic apo-ester/กิโลกรัมอาหารเป็นเวลา 60 วัน พบว่า เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ปลาทองที่ได้รับอาหารที่ผสมคาโรทีนอยด์จากผล alfalfa บด มีการสะสมของคาโรทีนอยด์ที่บริเวณผิวหนังเพิ่มมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่ม

ควบคุม โดยอาหารที่ผสมคาโรทีนอยด์ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 25 alfalfa/กก. จะทำให้ผิวของปลาทอง
ผสมคาโรทีนอยด์สูงที่สุด Paripatananont *et al.* (1999) ทดลองให้อาหารที่ผสมแอสตาแซนทินลง
ในอาหารปลาทอง (*Carassius auratus*) ตามความเข้มข้น ระดับต่างๆ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100
มก./กก.พบว่าปลาทองที่ให้กินอาหารผสมแอสตาแซนทินที่ระดับ 50, 75 และ 100 มก./กก.มีค่าเม็ด
สีเพิ่มขึ้น (ค่าความเข้มสีสูง) และมีปริมาณ โครมาโทฟอร์ สะสมอยู่มาก ($P < 0.05$) ส่วนการนำ
เนื้อเยื่อบริเวณผิวหนังปลาแฟนซีคาร์ปโดยการตัดตามขวางเพื่อดูลักษณะการสะสมเบตาเลนบริเวณ
ผิวหนังนั้นไม่พบรงควัตถุเบตาเลนที่สะสมอยู่ ทั้งนี้อาจจะเกิดจากขั้นตอนในการทำสไลด์เนื้อเยื่อ
โดยผ่านขบวนการขจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อ (dehydration) ซึ่งขบวนการนี้ต้องใช้แอลกอฮอล์จึงอาจ
ส่งผลต่อการทำลายรงควัตถุของสีที่บริเวณผิวหนังออกไปจนไม่สามารถมองเห็นได้ ส่วนการศึกษา
เนื้อเยื่อที่ตับของปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารที่ผสมสารเบตาเลนความเข้มข้นต่างกัน พบว่า
เนื้อเยื่อตับของปลาแฟนซีคาร์ปทุกการทดลองที่ได้รับสารเบตาเลนไม่มีการผิดปกติ หรือ
เปลี่ยนแปลง จึงกล่าวได้ว่าสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรไม่ส่งผลต่อความผิดปกติต่อเนื้อเยื่อ
ตับ และการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อไขในปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./
กก. พบไขในระยะที่ 6 มากที่สุด ส่วนการศึกษาเนื้อเยื่อ testis ในปลาแฟนซีคาร์ปเพศผู้ที่ได้รับ
อาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีจำนวนของ sperm ในท่อ seminiferous มากกว่าปลาแฟนซีคาร์ป
ที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลน 0 มก./กก. ซึ่งสอดคล้องกับ Christiansen and Torrissen (1997)
พบว่าปลา Atlantic salmon (*Salmo salar*) ที่ได้รับอาหารผสมสารแอสตาแซนทินความเข้มข้น 0 ถึง
14.7 มก./กก. มีการพัฒนาของไข่มากที่สุด โดยเช็คจากเส้นผ่าศูนย์กลางของไข และจำนวนของไข
ที่มีขนาดเพิ่มมากขึ้น และยังทำไขเปลี่ยนสีจากสีเหลือง ไปเป็นสีส้ม ซึ่งสารแอสตาแซนทินที่ปลา
ได้รับนั้นจะไปกระตุ้นฮอร์โมนให้รังไข่มีการพัฒนาให้มีความสมบูรณ์มากกว่าไขของกลุ่มปลาที่
ไม่ได้รับสารแอสตาแซนทิน

บทที่ 6 สรุปผล

1. การเก็บสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งในสภาวะการบรรจุแบบสุญญากาศ ร่วมกับอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ทำให้สารเบตาเลนมีความเสถียรมากที่สุด โดยดูจากค่ามุมสี (Hue angle; H°) เฉลี่ยน้อยที่สุด เท่ากับ 358.70 ± 0.26 และสามารถรักษาปริมาณสารเบตาเลนได้มากที่สุด เท่ากับ 85.92 ± 0.11 มก./กก. น้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังมีความสามารถเป็นสาร antioxidant ซึ่งพบปริมาณสารโพลีฟีนอลมากที่สุดเท่ากับ 272.8 ± 5.84 มก.gallic acid/กก. และยังมีความสามารถในการทำลายสารอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 46.79 ± 0.62 เปอร์เซ็นต์

2. อัตราการเจริญเติบโต น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตราการรอดตายของปลาแฟนซีคาร์ปที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรอบแห้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 15, 30, 45 และ 60 มก./กก. พบว่าทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกัน

3. ปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนที่ระดับความเข้มข้น 60 มก./กก. มีค่าความเข้มสีแดงมากที่สุดเท่ากับ 25.46 ± 0.13 และเมื่อครบ 12 สัปดาห์ จะหยุดให้อาหารที่ผสมสารเบตาเลนต่ออีก 4 สัปดาห์ ซึ่งพบว่าปลาแฟนซีคาร์ปยังสามารถรักษาระดับความเข้มของสีแดงได้เหมือนเดิม ดังนั้นระดับความเข้มข้นของสารเบตาเลนที่เหมาะสมต่อการเร่งสีปลาแฟนซีคาร์ปมากที่สุด เท่ากับ 60 มก./กก.

4. ปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลนทุกระดับความเข้มข้น ไม่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยา นอกจากนี้ปลาแฟนซีคาร์ปที่ได้รับอาหารผสมสารเบตาเลน 60 มก./กก. มีค่า TBARS และกิจกรรมเอนไซม์ catalase ในเลือดเฉลี่ยต่ำที่สุด และยั้งรวมทั้ง สามารถยับยั้งสารอนุมูลอิสระ DPPH ได้สูงที่สุด

5 เมื่อครบ 12 สัปดาห์ อาหารที่ผสมสารเบตาเลนระดับความเข้มข้น 60 มก./กก. มีความเหมาะสมมากที่สุดในการใช้เร่งสีปลา เนื่องจากสามารถทำให้ปลาแฟนซีคาร์ปมีความเข้มของสีแดงมากที่สุด และหลังจาก 4 สัปดาห์ที่หยุดให้อาหารผสมสารเบตาเลน ปลาแฟนซีคาร์ปยังสามารถรักษาระดับของความเข้มของสีแดงไว้ได้เหมือนเดิม

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาการใช้สารเบตาเลนจากเปลือกผลแก้วมังกรต่อการพัฒนาเซลล์สีบัพนธุ์ในปลาแฟนซีคาร์ป ควรจะมีการทดลองการเปรียบเทียบระหว่างการใช้สารเบตาเลน กับฮอร์โมน ในการพัฒนาความสมบูรณ์ของเซลล์สีบัพนธุ์ เพื่อที่จะสามารถเป็นทางเลือกอีกทางหนึ่งในการเร่งการผสมพันธุ์

เอกสารอ้างอิง

- ขวัญตา พูลสำราญ, ทิพสุคนธ์ พิมพ์พิมล, เกรียงศักดิ์ เม่งอำพัน และชนกันต์ จิตมนัส. 2551. “ค่าโลหิตวิทยาของลูกปลาบึก.” *เชียงใหม่สัตวแพทยสาร* 1:6(2):153-163
- ชลธิชา โชติสิทธิพงษ์. 2541. “ผลของแอสตาแซนทินต่อสี การเจริญเติบโต อัตรารอด และความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. ของปลานิลแดง.” *วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัย สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.*
- นงนุช เลาหะวิสุทธิ, ถ้ำพิง พุ่มจันทร์ และอัจฉรี เรืองเดช. 2549. “การเร่งสีปลาทองโดยใช้สารสีจากธรรมชาติ.” หน้า 725-732. *ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยนเรศวร ครั้งที่ 2 พิชญโลก : มหาวิทยาลัยนเรศวร.*
- นันทน์ภัส เต็มวงศ์. 2551. “ความสัมพันธ์ของสารประกอบฟีนอลิกส์ กับความสามารถรวมในการต้านอนุมูลอิสระในพืช.” *บทความวิจัย สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.*
- นิรนาม. 2551. “ปลาสวยงามปี 51.” *วารสารศูนย์วิจัยกสิกรรมไทย.* 14(2272) : 1-10.
- ปกรณ์ ชินไพศาล. 2545. *คู่มือปลาการ์ฟ.* นนทบุรี ; สำนักพิมพ์ฐานเกษตรกรรม.
- พ้วน เฟงเซ้น และ ทิพยวรรณ ปรพัฒนานนท์. 2546. “ระดับความต้องการของโปรตีน และปริมาณสารแอสตาแซนทิน (astaxanthin) ในอาหารปลาสวยงาม, ปลาทอง และปลาสด.” *วารสารเทคโนโลยี สุรนารี.* 10 : 230-243.
- วาริน แสงกิตติโกมล. 2546. “การเปรียบเทียบปริมาณสารโพลีฟีนอลิกส์และปริมาณรวมการต้านสารอนุมูลอิสระในผักและสมุนไพร.” *วารสารสหเวชศาสตร์* 3: 91-99.
- วิมล เหมะจันทร์. 2540. *ชีววิทยาปลา.* กรุงเทพมหานคร,จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- วีรศักดิ์ สามิ. 2005. “แคโรทีนอยด์ : โครงสร้างทางเคมี และกลไกที่มีผลต่อการทำหน้าที่ของร่างกาย.” *Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Science.* 10 : 58-66.
- ศรีจันทร์ พรจิราศิลป์. 2546. *ความก้าวหน้าทางเภสัชวิทยา.* กรุงเทพมหานคร: นิเวศการพิมพ์.
- สุพัตรา ปรศุพัฒนา และ วริมา วงศ์พาณิชย์, 2547. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดพืชสมุนไพร. การประชุมเชิงปฏิบัติการเรื่อง “การตรวจสอบสมุนไพร”, คณะเภสัชศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- สุรพงษ์ โกสิยะจินดา. 2545. *แก้วมังกร พืชเศรษฐกิจ ผลไม้เพื่อสุขภาพ.* กรุงเทพฯ. สมาคมพืชสวนแห่งประเทศไทย.
- สุรภี ประชุมพล. 2552. “ผลของอาหารที่เสริมสารสกัดเบตาเลนจากบรีทรูทต่อสีปลาทอง (*Carassius auratus*)” *ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะ*

เทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 24 หน้า.

อัจฉรี เรืองเดช, ลำพิ่ง พุ่มจันทร์ และนงนุช เลาหะวิสุทธิ. 2549. “การเพิ่มสีของปลาหมอสีโดยใช้ อาหารเสริมแอสตาแซนทิน.” หน้า 290-295. ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยแม่โจ้ ครั้งที่ 7 เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

อัจฉรี เรืองเดช, ลำพิ่ง พุ่มจันทร์ และนงนุช เลาหะวิสุทธิ. 2551. “ลักษณะของปลาหมอคอนวิด เพื่อดูที่เลี้ยงด้วยอาหารเสริมสารเบตาเลนจากธรรมชาติ.” หน้า 597-604. ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยนเรศวร ครั้งที่ 4 พะเยา : มหาวิทยาลัยนเรศวร.

อรพินท์ จินตสถาพร, บัณฑิต ขวงสร้อย, Stoner, G.R., ประเสริฐ สมิตธิวงศ์ และ Gabaudan, J. 2548. “ระดับเหมาะสมของคาโรทีนอยด์รวมต่อความเข้มสีปลาแคร์ฟ (*Cyprinus carpio*).” การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 43 สาขาประมง. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อนันต์ สกุลกิม. 2551. “อนุมูลอิสระ สารอันตรายต่อสุขภาพและร่างกาย.” บทความวิชาการ* สาขาวิชาเทคนิคการแพทย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏบ้านสมเด็จเจ้าพระยา.

อุดม ก๊กผล, โสภณ เรื่องตำราญ และอมร เพชรสม. 2543. อินทรีย์เคมี I. พิมพ์ครั้งที่ 7. กรุงเทพฯ สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัดดีสินทอง. 2549. สารต้านอนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: พี.เอส.พรินท์.

Ames, B.M., Shinena, M.K., and Hagen, T.M. 1993. Oxidants, antioxidants and the degenerative disease of aging. **Proceedings of the National Academy of Sciences.** 90: 7915-22.

AOCS. 1971. “Official and Tentative Method of the America Oil Chemists Society.” 3rd., Association of official chemist society.

Bastami, K.D., Moradlou, A.H., Zaragabadi, A.M., Salehi-Mir, S.V. and Shakiba, M.M. 2009. “Measurement of some haematological characteristics of the wild carp.” **Comparative Clinical Pathology.** 18: 321-323.

Cai, Y.Z., Sun, M. and Corke, H. 1998. “Colorant properties and stability of *Amaranthus* betacyanin pigments.” **Journal Agricultural and Food Chemistry.** 46: 4491-4495.

Cai, Y.Z., Sun, M. and Corke, H. 2003. “Antioxidant Activity of Betalains from Plant of the *Amaranthaceae*.” **Journal Agricultural and Food Chemistry.** 51: 2288-2294.

- Cai, Y.Z., Sun, M. and Corke, H. 2005. "Characterization and application of betalain pigments form plants of the Amaranthaceae." **Trends in Food Science & Technology**. 16: 370-376.
- Castellar, R., Obon, J.M., Alacid, M. and Fernandez-Lopez, J.A. 2003. "Color properties and stability of betacyanins from *Opuntia* fruits." **Journal Agricultural and Food Chemistry**. 51: 2772-2776.
- Christiansen, I. and Torrison, O.J. 1997. "Effects of dietary astaxanthin supplementation on fertilization and egg survival in Atlantic salmon (*Salmo salar* L.)." **Aquaculture**. 153: 51-62.
- Ghittino, P. 1983. **Tecnologia e Patologia in Acquacoltura**, vol I. Tipografia Emillio Bono. : Italy
- Goodwin, T.W. 1984. "The Biochemistry of the Carotenoids." Volume II animals. New York. Chapman A Hall.
- Gouveia, L., Rema, P., Pereira, O. and Empis, J. 2003. "Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio*) and (*Carassius auratus*) with microalgal biomass." **Aquaculture Nutrition**. 9: 123-129.
- Halliwel, B. and Gutteridge, J.M.C. 1989. **Free Radicals in Biology and Medicine**. Oxford Clarendon Press 2nd edition. : 416-94 pp.
- Hanzs, C., Magyary, I., Molanar, T., Sato, S., Horn, P. and Taniguchi, N. 2003. "Evaluation of color intensity enhanced by paprika as feed additive in gold fish and koi carps using computer assisted image analysis." **Fisheries Science**. 69: 1158-1161.
- Harivaindaran, K.V., O.P.S., Rebecca, and S. Chandran. 2008. Study of optimal temperature, pH and stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*) peel for use as potential natural colorant. **Pakistan Journal of Biological Sciences**. 11:2259-2263.
- Helmja, K., Vaher, M., Gorbatoeva, J. and Kaljurand, M. 2007. Characterization of bioactive compounds contained in vegetables of the Solanaceae family by capillary electrophoresis. **Estonian Academy of Sciences Chemistry**. 56: 172-186.
- Herbach, K.M., Stintzing, F.C. and carle, R. 2006. Betaline stability and degradation structural and chromatic aspects *Journal of Food Science*. Vol. 7: 41-50.
- Herbach, K.M., Rohe, M., Stintzing, F.C. and Carle, R. 2006. "Structural and Chromatic stability of purple pitaya (*Hylocereus polyrhizus* [Weber] Britton & Rose) betacyanins

- effected by the juice matrix and selected additives". **Food Research International**. 39: 667-677.
- Herrero, G.F., Garcia-Camona, F. and Escribano, J. 2005. "Fluorescent pigment: New perspectives in betalain research and applications." **Food Research International**. 38: 879-884.
- Humason, G.L. 1979. **Animal Tissue Techniques**. 4th. San Francisco : WH Freeman and Company.
- Katayama, T., Shintani, K. and Chichester, O.C. 1973. "The biosynthesis of astaxanthin." **Comparative Biochemistry and Physiology**. 44: 253-257.
- Kiessling, A., Bakshish, D., Koppe, W. and Higgs, D. 2006. "Relationship between blood and muscle levels of astaxanthin in dorsal aorta cannulated Atlantic salmon." **Aquaculture**. 254: 653-657.
- Kobayashi, N., Schmidt, J., Wray, V., Nimtz, M., Wray, V. and Schliemann, W. 2000. "Betalains from *Christmas cactus*." **Phytochemistry**. 54: 419-426.
- Kobayashi, N., Schmidt, J., Wray, V. and Schliemann, W. 2001. "Formation and occurrence of dopamine-derived betacyanins." **Phytochemistry**. 56: 429-436.
- Lopez, F.J.A. and Almeda, L. 2001. "Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigments in prickly pear fruits." **Journal of Chromatography**. 913: 415-420.
- Mahattanatawee, K., Manthey, J.A., Luzio, G., Talcott, S.T., Goodner, K. and Baldwin, E.A. 2006. "Total antioxidant activity and fiber content of select Florida-Grown Tropical Fruits." **Journal Agricultural and Food Chemistry**. 54: 7355-7363.
- Middleton, E., Jr. Kanaswami C., Theoharides, T.C. 2000. The effects of plant flavonoids on mammalian cells: implications for inflammation, heart disease and cancer. **Pharmacological Reviews** 52: 673-839.
- Mobhammer, M.R., Stintzing, F.C. and Carle, R. 2005. "Colour studies on fruit juice blends from *Opuntia* and *Hylocereus* cacti and betalain-containing model solutions derived therefrom." **Food Research International**. 38: 975-981.
- Murakami, M., Yamaguchi, T., Takamura, H. and Matoba, T. 2004. "A comparative study on the various in vitro assays of active oxygen scavenging activity in food." **Food Science and Technology Research**. 67: 119-125.

- Paripatananont, T., Tangtrongpaioj, J., Sailasuta, A. and Chansue, N. 1999. "Effect of a astaxanthin on pigmentation of goldfish (*Carassius auratus*)."
Journal of World Aquaculture Society. 30: 454-460.
- Phumjan, L., and Laohavisuti, N. 2007. Betalain extraction from peeled dragon fruit for enhancing color in red platy (*Xiphophorus maculatus*).
International Conference on Integration on Science & Technology for Sustainable Development. Bangkok, Thailand. 490-493.
- Radu, D., Lucian, O., Cecilia, B., Mioara, C. and Daniel. O. 2009. "Characteristics of Haematological Parameters for carp culture and koi (*Cyprinus carpio* Linneaus, 1758) reared in an intensive system."
Animal Science and Biotechnologies. 66: 336-342.
- Rebecca, O.P.S., Zuliana, R. Boyce, A.N. and Chandran, S. 2008. "Determining pigment extraction efficiency and pigment stability of dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*)."
Journal of Biological Sciences. 8: 1174-1180.
- Rudneva, I.I. 1997. "Blood antioxidant system of black sea elasmobranch and teleosts."
Comparative Biochemistry and Physiology. 118(2): 225-260.
- Sanchez-Moreno, C., Larrauri, J. and Saura-Calixto, F. 1998. "A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols."
Journal of the Science of Food and Agriculture. 76: 270-276.
- Stintzing, F.C., Schieber, A. and Carle, R. 2002. "Betacyanins in fruits from red-purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (Weber Britton & Rose)."
Food Chemistry. 77: 101-196.
- Stintzing, F.C. and Carle, R. 2004. "Functional properties of anthocyanins in plants, food, and in human nutrition."
Trends in Food Science & Technology. 15: 19-38.
- Stintzing, F.C. and Carle, R. 2006. "Characterisation of anthocyanin-betalain mixtures for food colouring by chromatic and HPLC-DAD-MS analyses."
Food Chemistry. 94: 296-309.
- Storebakken, T. and Goswami, U.C. 1996. "Plasma carotenoid concentration indicates the availability of dietary astaxanthin for Atlantic salmon, *Salmo salar*."
Aquaculture . 146: 147-153.
- Svobodová, Z. 1973. "Influence of sex upon certain haematological indexes of the carp (*Cyprinus carpio*) during the third vegetation period."
Acta Veterinaria (Brno). 42: 257-263.

- Tesoriere, L., Butera, D., Allegra, M. Fazzari, M. and Livrea, M.A. 2005. "Distribution of betalain pigments in red blood cells after consumption of cactus pear fruits and increased resistance of the cells to ex vivo induced oxidative hemolysis in humans." **Journal Agricultural and Food Chemistry**. 53:1266-1270.
- Thimmaraju, R., Bhagyalakshmi, N., Narayan, M. S. and Ravishankar, G. A. 2003. "Kinetics of pigment release from hairy root cultures of *Beta vulgaris* under the influences of pH, sonication, temperature and oxygen stress." **Process Biochemistry**. 38: 1069–1076.
- Torrissen, O.J. 1989. "Pigmentation of salmonids interactions of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout." **Aquaculture**. 79: 363-374.
- Vazquez, G.R. and Guerrero, G.A. 2007. "Characterization of blood cells and hematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes)." **Tissue&Cell**. 39:151-160.
- Weber, L.P., Hill, R.L. and Janz, D.M. "Developmental estrogenic exposure in zebrafish (*Danio rerio*):II. Histological evaluation of gametogenesis and organ toxicity." **Aquatic Toxicology**. 63: 431-446.
- Wu, L., Hsu, H., Chen, Y., Lin, Y. and Ho, Y.A. 2006. "Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya." **Food Chemistry**. 95: 319-327.
- Yanar, M., Ercen, Z., Hunt, A.O. and Buyukcapar, H.M. 2008. "The use of alfalfa, *Medicago sativa* as a natural carotenoid source in diets of goldfish, *Carassius auratus*." **Aquaculture**. 284: 196-200.