ใบรับรองปัญหาพิเศษ
ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

เรื่อง การสกัดสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรเพื่อใช้ในการเร่งสีปลากุหลาบแดง *(Xiphophorus maculatus)*
Betalain extraction from dragon fruit skin for enhancing colour in red platy*(Xiphophorus maculatus)* .

ชื่อนักศึกษา นางสาวดวงใจ พวงแก้ว **รหัสประจำตัว** 44040576
ชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา ผู้ช่วยศาตราจารย์นงนุช เลาหะวิสุทธิ์
ชื่อที่ปรึกษาร่วม นางสาวลำพึง พุ่มจันทร์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษา.....
(ผู้ช่วยศาตราจารย์นงนุช เลาหะวิสุทธิ์)

ภาควิชารับรองแล้ว
.....
(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ซูโซติ)
หัวหน้าภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง
วันที่.....เดือน.....พ.ศ.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การสกัดสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรเพื่อใช้ในการเร่งสีปลากุหลาบแดง *(Xiphophorus maculatus)*

Betalain extraction from dragon fruit skin for enhancing colour in red platy *(Xiphophorus maculatus)*

T099347

โดย

นางสาวดวงใจ พวงแก้ว

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพมหานคร 10520

ปีการศึกษา 2547

ปพ.
ด 1647
2547

เลขทะเบียน 98547

วัน.เดือน.ปี

การเผยแพร่เอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การสกัดสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรเพื่อใช้ในการเร่งสีปลากุหลาบแดง
(Xiphophorus maculatus)
Betalain extraction from dragon fruit skin for enhancing colour in red platy
(Xiphophorus maculatus)

การศึกษาสารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรเพื่อใช้ในการเร่งสีปลากุหลาบแดง ได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร โดยได้ทำการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุด คือ เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ และในการศึกษาการใช้สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรในการเร่งสีปลากุหลาบแดง โดยทำการเปรียบเทียบสารสกัด 2 ชนิดที่ใช้เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลาย ได้แก่ สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรสด และสารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรอบแห้งแบบผง ที่ความเข้มข้น 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปลาที่ได้รับสารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรสด มีค่าการเปลี่ยนแปลงสีที่เพิ่มขึ้นสูงกว่าปลาที่ได้รับสารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรอบแห้งแบบผง ในขณะที่ปลาที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าการเปลี่ยนแปลงสีเพิ่มขึ้นสูงที่สุด รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 40, 30 และ20 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

นอกจากนี้เมื่อได้ทำการศึกษาอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด – ด่างที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลน พบว่า เบตาเลนจะมีความเสถียรสูงสุดที่อุณหภูมิต่ำ คือ อุณหภูมิห้อง รองลงมาคือ อุณหภูมิ 72, 100 และ120 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยมีความเสถียรสูงสุดเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 5 และ 6 รองลงมาคือ 3, 4 และ 7 ตามลำดับ

ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่าชนิดและปริมาณของสารสกัดเบตาเลนที่เหมาะสมที่สุดในการเร่งสีให้แก่ปลากุหลาบแดง คือ สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรสดที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ความสำเร็จของปัญหาพิเศษในครั้งนี้ เกิดมาจากแรงผลักดันสำคัญของบุคคล 2 ท่านคือ ผู้ช่วยศาตราจารย์ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และคุณลำพึง พุ่มจันทร์ ที่ช่วยเหลือจนปัญหาพิเศษฉบับนี้ผ่านพ้นไปได้ด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์นงนุช และพี่แจ๋ว ที่ให้ความกรุณา ให้เวลา ให้ความรู้ ให้คำปรึกษา ให้เงินทุน (อันนี้สำคัญ) พร้อมทั้งให้อะไรอีกหลายๆ อย่าง ที่ส่งผลให้ปัญหาพิเศษฉบับนี้ผ่านลุล่วงไปได้ด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณค่ะ และปัญหาพิเศษฉบับนี้จะไม่สมบูรณ์เลย หากขาดบุคคลเหล่านี้ ได้แก่

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ของภาควิชาทุกท่าน อาจารย์ศักดิ์ชัย, อาจารย์ปวีณา, อาจารย์สมชาย, อาจารย์อัจฉรี, อาจารย์อนัญญา, อาจารย์สุนีรัตน์ และอาจารย์รุ่งตะวัน ที่ให้คำแนะนำ และคำปรึกษาที่ดีในการทดลอง นอกจากนั้นยังช่วยส่งให้หนูผ่านพ้นขึ้นปี 4 จนได้ทำปัญหาพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณพี่ๆ เจ้าหน้าที่ภาคทุกท่าน พี่แสง, พี่มอญ, พี่ดาว, พี่นิพนธ์ และพี่อ๊อด ที่ให้ความช่วยเหลือด้านอุปกรณ์ และคำแนะนำดีๆ ที่มาพร้อมรอยยิ้ม

ขอขอบคุณรุ่นพี่ทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือปลามาโดยตลอด พี่บอล รุ่น 5, พี่ยะ รุ่น 7, พี่น้อย รุ่น 7 และรุ่นพี่อีกหลายๆ ท่านที่ยังไม่ได้เอ่ยนาม ขอบคุณจริงๆ ค่ะ

ขอขอบคุณเพื่อนๆ รุ่น 8 ทุกคน ที่เป็นเพื่อนที่ดี คอยช่วยเหลือ เป็นกำลังใจ และแบ่งปันความเครียดไปจากเราในภาวะที่ Project ยังไม่เสร็จ ขอบคุณ และขอบใจในน้ำใจของน้องๆ ชุมนุมเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำฯ ทุกคนที่ช่วยในด้านแรงงาน และกำลังใจที่ดี

สุดท้ายขอขอบคุณพ่อแม่ พี่ชาย และแอมที่เป็นครอบครัวที่เข้าใจปลามากที่สุด ให้กำลังใจ ให้กำลังเงิน และให้หลายสิ่งหลายอย่างจนทำให้มีวันนี้

หากปัญหาพิเศษฉบับนี้เป็นประโยชน์แก่ผู้ใด ปลาขอความดีส่วนนี้ให้แก่บุคคลที่กล่าวมาทั้งหมด ส่วนความผิดพลาดประการใด ขอรับไว้แต่เพียงผู้เดียว

นางสาวดวงใจ พวงแก้ว

วันที่ 29 เมษายน พ.ศ. 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญ	I
สารบัญตาราง	II
สารบัญภาพ	III
คำนำ	1
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	18
ผลการทดลองและวิจารณ์	25
สรุปและข้อเสนอแนะ	36
เอกสารอ้างอิง	38
ภาคผนวก	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	เปรียบเทียบปริมาณเบตาเลนที่สกัดได้โดยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์	25
2	แสดงเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตรารอด อัตราแลกเนื้อ (FCR) และค่าการเปลี่ยนแปลงสีที่เพิ่มขึ้น (H^0) ของแต่ละหน่วยทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง	34
3	เปรียบเทียบค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไป (H0) ของปลาในแต่ละทรีดเมนท์ที่เพิ่มขึ้นในการวัดแต่ละครั้ง	35

ตารางผนวกที่

1	ปริมาณเบตาไซยานินที่เหลืออยู่ในสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ที่อยู่ในสภาวะ และค่าความเป็นกรด – ด่างที่แตกต่างกัน	41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะทั่วไปของปลากุหลาบแดง	3
2	ลักษณะทั่วไปของของผลแก้วมังกร	4
3	ลักษณะทั่วไปของต้นแก้วมังกร	5
4	ชนิดของพืชที่เป็นแหล่งของคลอโรฟิลด์ (Chiorophylls)	7
5	ชนิดของพืชที่เป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ (Carotenoids)	8
6	ชนิดของพืชที่เป็นแหล่งของแอนโทไซยานิน (Anthocyanin)	9
7	สีของรงควัตถุที่ได้จากแอนโทไซยานิน (Anthocyanin)	9
8	ชนิดของพืชที่เป็นแหล่งของแอนโทแซนทิน (Anthoxanthins)	10
9	บีทรูทซึ่งเป็นพืชชนิดหนึ่งที่เป็นแหล่งของเบตาเลน	11
10	ความเป็นกรด-ด่างที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีและความเสถียรของเบตาไซยานิน	14
11	อุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสีและความเสถียรของเบตาไซยานิน	15
12	เปรียบเทียบสีของตัวทำละลาย 2 ชนิด ในขั้นตอนการแช่ เพื่อทำการสกัดสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร โดยตัวทำละลายตัวแรก คือ น้ำกลั่น และตัวที่สอง คือ เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์	26
13	เปรียบเทียบสีของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายต่างชนิดกัน โดยชนิดแรก คือ เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ และชนิดที่สอง คือ น้ำกลั่น	26
14	เปรียบเทียบกากเหลือที่ได้จากการสกัด โดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน โดยชนิดแรก คือ เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ละชนิดที่สอง คือ น้ำกลั่น	27
15	แนวโน้มความเสถียรของรงควัตถุเบตาเลน เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์	28
16	แนวโน้มความเสถียรของรงควัตถุเบตาเลน เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
17	แนวโน้มความเสถียรของรงควัตถุเบตาเลน เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์	29
18	เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆกัน ที่อุณหภูมิห้อง	29
19	เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆกัน ที่อุณหภูมิห้อง	30
20	เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆกัน ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส	30
21	เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆกัน ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส	31
22	เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆกัน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	31
23	เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆกัน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	32
24	เปรียบเทียบสีผิวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

ปัจจุบันตลาดการค้าปลาสวยงามมีการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว มีผู้นิยมเลี้ยงปลาสวยงามแพร่หลายมากขึ้น สาเหตุหนึ่งอันเนื่องมาจากปลาสวยงามส่วนใหญ่มีสีสันที่สะดุดตา เลี้ยงง่าย และบางชนิดมีราคาไม่สูงนักจึงสามารถซื้อหามาเลี้ยงได้ง่าย ได้แก่ ปลาออกลูกเป็นตัว เช่น ปลาหางนกยูง ปลาเซลฟิน ปลากุหลาบแดง (Red platy) สีสันของปลาเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการกระตุ้นให้ผู้ซื้อตัดสินใจเลือกซื้อปลาสวยงาม นอกจากนี้สีสันของปลายังเป็นสิ่งที่ช่วยเพิ่มมูลค่าของสินค้าได้อีกด้วย ทำให้มีการคิดค้นสารเร่งสีในตัวปลากันอย่างแพร่หลาย โดยส่วนใหญ่เป็นสารเร่งสีที่ได้จากการสังเคราะห์ ซึ่งอาจจะส่งผลข้างเคียงหรือทำอันตรายให้แก่ตัวปลาเมื่อมีการใช้ในปริมาณที่ไม่เหมาะสม ดังนั้นจึงมีผู้เริ่มหันมาให้ความสนใจสารเร่งสีที่สกัดจากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น โดยสารเร่งสีจากธรรมชาติส่วนใหญ่ได้มาจากรงควัตถุที่อยู่ในพืช ซึ่งมีอยู่ด้วยกันหลายกลุ่ม และพืชหลายชนิดก็มีรงควัตถุเหล่านี้อยู่เป็นจำนวนมาก และได้ทำการศึกษาถึงรงควัตถุที่อยู่ในพืชเหล่านี้ เพื่อนำมาสกัดเป็นสารเร่งสีธรรมชาติทดแทนสารเร่งสีสังเคราะห์ให้แก่ปลาสวยงามได้

แก้วมังกร (Dragon fruit) เป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมจากผู้บริโภค เนื่องจากแก้วมังกรมีคุณค่าทางโภชนาการสูง และมีสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งจากการที่มีผู้นิยมบริโภคนี้เอง ทำให้มีส่วนเหลือจากการบริโภคและใช้ประโยชน์ไม่ได้ เช่น เปลือกของแก้วมังกรอยู่เป็นจำนวนมาก โดยพบว่า เปลือกของแก้วมังกรที่มีสีแดงบานเย็นเป็นแหล่งของรงควัตถุสีแดงในปริมาณสูง สามารถนำมาสกัดเป็นสารเร่งสีธรรมชาติเพื่อใช้กับปลาสวยงามทดแทนสารเร่งสีสังเคราะห์ได้ โดยรงควัตถุสีแดงของเปลือกแก้วมังกรที่สำคัญคือ เบตาไซยานิน (Betacyanin) ซึ่งเป็นสารประกอบในกลุ่มของเบตาเลน (Betalein) (Castellar *et. al.*, 2003)

เบตาเลน (Betalein) เป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีในรงควัตถุของพืชที่ทำให้พืชมีสีแตกต่างกัน มีสูตรโครงสร้างหลักคือ 1, 7 - Diazoheptamethin โดยหมู่ R และR' ที่เปลี่ยนไปจะเป็นตัวกำหนดชนิดของสีที่ต่างกัน ซึ่งเกิดจากคุณสมบัติของการเรโซแนนส์ (Resonance) ของโครงสร้างโมเลกุลของเบตาเลน

ดังนั้นการศึกษาถึงวิธีการสกัดรงควัตถุธรรมชาติที่ได้จากเปลือกแก้วมังกร และการนำสารสกัดที่ได้มาใช้เป็นสารเร่งสีธรรมชาติให้แก่ปลากุหลาบแดง ซึ่งเป็นตัวแทนของปลาออกลูกเป็นตัวทดแทนการใช้สารเร่งสีสังเคราะห์ เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้แก่วัตถุดิบจากธรรมชาติที่เหลือใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุดอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

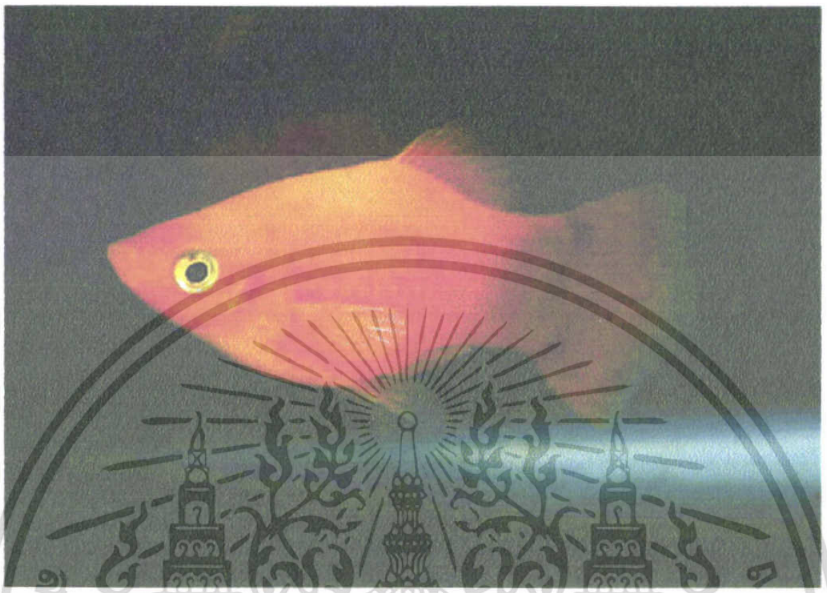
วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาวิธีการสกัดรงควัตถุจากเปลือกแก้วมังกรที่เหมาะสม
2. เพื่อศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดรงควัตถุจากเปลือกแก้วมังกร
3. เพื่อศึกษาปัจจัยของอุณหภูมิ และความเป็นกรด-ด่าง ที่มีผลต่อความเสถียรของรงควัตถุจากเปลือกแก้วมังกร
4. เพื่อศึกษาปริมาณของสารสกัดรงควัตถุจากเปลือกแก้วมังกรที่เหมาะสม ในการเร่งสีปลากุหลาบแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

อนุกรมวิธานของปลากุหลาบแดง

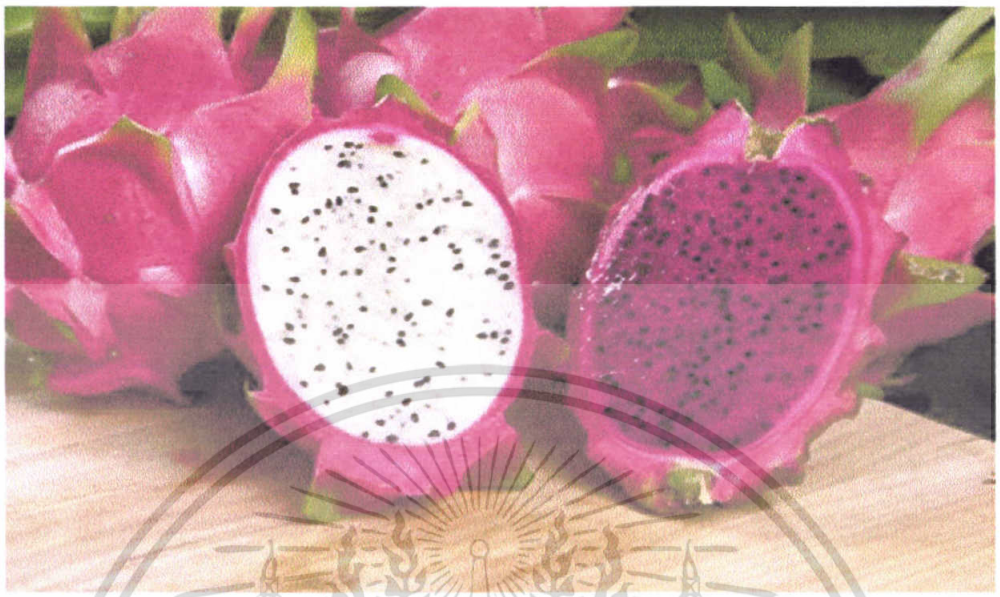


ภาพที่ 1 ลักษณะทั่วไปของปลากุหลาบแดง
ที่มา : www.google.com

ปลากุหลาบแดง หรือปลาแพลทตี้ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Xiphophorus maculates* ชื่อสามัญคือ platy มีถิ่นกำเนิดในประเทศกัวเตมาลา เม็กซิโกและฮอนดูรัส ในทวีปอเมริกาใต้ ปลากุหลาบแดงเป็นปลาที่มีรูปร่างลักษณะลำตัวเพรียวแบนข้างเล็กน้อย สีลำตัวเป็นพื้นแดง เหลือง ส้ม เขียวมะกอกตามแต่ชนิดของปลา ด้านข้างมีสีเหลือบคล้ายสีรุ้ง ขนาดโตเต็มที่ประมาณ 5 เซนติเมตร ปลาตัวผู้จะมีขนาดเล็กและเพรียวบางกว่าปลาตัวเมีย ปลายหางด้านล่างจะมีก้านครีบยื่นชี้แหลมออกมาเล็กน้อย ที่ใต้ครีบท้องมีอวัยวะเพศยื่นออกมาชัดเจน ปลากุหลาบแดงมีอุปนิสัยรักสงบไม่ก้าวร้าว อาศัยอยู่รวมกันเป็นฝูงใหญ่บริเวณที่มีน้ำสะอาดตามธรรมชาติ เป็นปลาที่เลี้ยงง่ายสามารถเลี้ยงรวมกับปลาอื่นได้แต่ควรมีพันธุ์ไม้น้ำสำหรับการหลบซ่อน กินอาหารได้ทุกชนิดทั้งอาหารสดและอาหารสำเร็จรูป สำหรับการแพร่พันธุ์ของปลากุหลาบแดงนั้น ปลาตัวผู้จะไล่ต้อนปลาตัวเมียเพื่อสอดอวัยวะเพศเข้าไปในอวัยวะเพศของปลาตัวเมีย และฉีดน้ำเชื้อเข้าไปผสมกับไข่ ปลาจะออกลูกเป็นตัวครั้งละประมาณ 10 - 80 ตัว และจะมีลูกอีก 4 - 6 ครั้งโดยต้องได้รับการผสมจากตัวผู้ และควรจะแยกลูกปลาไปเลี้ยงต่างหากเพราะพ่อและแม่ปลาจะกินลูกเป็นอาหาร (สุทธิลักษณ์, 2545)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อนุกรมวิธานของแก้วมังกร



ภาพที่ 2 ลักษณะทั่วไปของผลแก้วมังกร
ที่มา : www.google.com

แก้วมังกร (Dragon fruit) เป็นพืชในตระกูลกระบองเพชร มีถิ่นกำเนิดจากทวีปอเมริกากลาง ได้แก่ เวสท์อินดีส โคลัมเบีย กัวเตมาลา เวเนซูเอล่า และอื่นๆ มีปลูกอย่างแพร่หลาย และยาวนานในเวียดนาม สำหรับในประเทศไทยพบว่า มีผู้นำเข้ามาปลูกนานมากกว่ากึ่งศตวรรษ และพบพืชประเภทนี้ในธรรมชาติ ซึ่งเป็นผลไม้ท้องถิ่นในท้องถิ่นต่างๆ เช่น หุบเขาบอน ชลบุรี พนมทวน กาญจนบุรี สระบุรี และสมุทรสงคราม รวมทั้งลำพูนด้วย เนื่องจากผลไม้ชนิดนี้มีรูปร่างคล้ายลูกแก้ว จึงได้ชื่อว่า "แก้วมังกร" (สุรพงษ์, 2545) ต้นแก้วมังกรเป็นพืชในวงศ์ Cactaceae สกุล *Hylocareus* เป็นพืชกระบองเพชรประเภทเลื้อย มีทั้งหมด 18 ชนิด ซึ่งชนิดที่นำมาใช้ในการทดลองปัญหาพิเศษครั้งนี้ คือ แก้วมังกรพันธุ์เนื้อขาวเปลือกแดง ชื่อวิทยาศาสตร์คือ *Hylocereus undatus* (Haw) Britt. and Rose มีถิ่นกำเนิดจากทวีปอเมริกาเขตร้อน ลำต้นเป็นท่อนๆ หรือข้อยาวสีเขียว มี 3 แฉกเป็นส่วนใหญ่ ลำต้นมีขนาดใหญ่ 4 – 7.5 เซนติเมตร สันของแฉกแข็งและเป็นหยัก ระหว่างหยักห่างกัน 3 – 5 เซนติเมตร ตรงหยักมีโหนก ส่วนโคนโหนกเป็นแอ่ง และมีกลุ่มปุยขนสีขาวล้อมรอบหนามแข็งและแหลม ซึ่งเป็นรูปกรวยสีน้ำตาลเทาขนาดเล็ก จำนวน 1 – 3 หนาม โดยแต่ละหนามยาว 3 – 6 มิลลิเมตร ที่จุดเกิดหนามทำหน้าที่คล้ายตาข้าง มีคุณสมบัติเป็นเนื้อเยื่อเจริญ นอกจากกำเนิดหนามแล้วยังสามารถกำเนิดดอกและกิ่งใหม่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3 ลักษณะทั่วไปของต้นแก้วมังกร
ที่มา : www.google.com

ผลแก้วมังกรมีทรงกลมรี หรือรูปไข่ ผิวสีแดงบานเย็น โดยบางส่วนถูกปกคลุมด้วยกลีบผลสีเขียวเรียวยาว 2.5 เซนติเมตร เนื้อมีสีขาวคล้ายไอศกรีมกะทิ ในเนื้อผลมีเมล็ดซึ่งแลดูคล้ายงา หรือแมงลักฝังกระจายอยู่ทั่วไป ผลอาจจะมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางถึง 12 เซนติเมตร พบในอเมริกาเขตร้อนและปลูกกันในประเทศเขตร้อนเพื่อกินผล (สุรพงษ์, 2545)

1. ลักษณะของผลแก้วมังกรที่มีคุณภาพดี

ลักษณะภายนอกของผลแก้วมังกรที่มีคุณภาพดีควรมีรูปร่างทรวดทรงตามพันธุ์ ผลแก่ได้ที่แลดูสดและผลแน่น ทรงผลอาจเป็นทรงรูปไข่ สีของผลควรเป็นสีแดงบานเย็นเกือบทั้งผล ยกเว้นกลีบบนมีสีเขียว แต่โคนกลีบมีสีแดงบานเย็น กลีบผลสมสัดส่วนไม่รกรุงรัง ผิวด้านล่างจะมีสีเข้มกว่าผิวด้านบน ผลที่เก็บเกี่ยวมาใหม่ หรือหลังเก็บเกี่ยวไม่เกิน 3 วัน และเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องปกติ กลีบผลจะยังคงมีสีเขียว กลีบผลที่เหลืองเร็ว และเหี่ยวเร็วจะเป็นลักษณะที่ไม่ดี ขนาดของผลควรอยู่ระหว่าง 0.3 – 0.6 กิโลกรัม ผิวผลและกลีบผลควรจะเรียบมัน นอกจากนี้ ผลต้องไม่มีรอยบุ๋ม หรือมีลักษณะนิ่มเหลว

ลักษณะภายในของผลแก้วมังกร เมื่อผ่าผลออกตามยาวเนื้อจะมีสีขาวขุ่นคล้ายน้ำกะทิ มีเมล็ดสีดำฝังตัวกระจายทั่วไป เนื้อแน่น รสชาติหวานอมเปรี้ยว เนื้อแก้วมังกรมีความหวานสูงสุดบริเวณส่วนกลางผล โดยความหวานของเนื้อแก้วมังกรในประเทศไทยอยู่ระหว่าง 13 – 16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์ ปริมาณกรด 0.2 – 0.3 เปอร์เซ็นต์ หากมีกลิ่นหมักหรือกลิ่นแอลกอฮอล์ หวานซีด แสดงว่าเป็นลักษณะที่ไม่ดี (สุรพงษ์, 2545)

2. การใช้ประโยชน์จากผลแก้วมังกร

ผลแก้วมังกรมีคุณค่าทางอาหารสูง โดยอุดมไปด้วยแร่ธาตุต่างๆ มากมาย จึงนิยมบริโภคโดยการรับประทานในรูปของเนื้อแก้วมังกรสด แต่เมื่อมีผลผลิตมากเกินความต้องการของตลาด จึงมีการนำผลแก้วมังกรมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์รูปแบบต่างๆ มากมาย ส่งผลให้มีส่วนเหลือของผลแก้วมังกรที่ใช้ประโยชน์ไม่ได้ เช่น เปลือก เหลืออยู่มากมาย

Stintizing *et. al.* (2002) พบว่า สีของเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงมีลักษณะที่เหมือนสีของหัวบีท โดยเปลือกของแก้วมังกรที่มีสีแดงบานเย็นนี้เป็นแหล่งของรงควัตถุสีแดงธรรมชาติที่มีปริมาณสูง ซึ่งสามารถสกัดออกมาใช้เป็นสารให้สีธรรมชาติในการเร่งสีปลาแทนการใช้สีสังเคราะห์ได้ โดยรงควัตถุสีแดงในเปลือกแก้วมังกรที่สำคัญ คือ เบตาไซยานิน ซึ่งเป็นสารประกอบของเบตาเลน (Betalain) (Castellar *et. al.*,2003)

รงควัตถุที่พบในพืช

รงควัตถุในพืชแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่คือ รงควัตถุที่ละลายในไขมันและแคโรทีนอยด์ ส่วนอีกกลุ่มคือรงควัตถุที่ละลายในน้ำ เช่น ฟลาโวนอยด์ต่างๆ แอนโทไซยานิน เบตาไซยานิน โดยรงควัตถุกลุ่มแรกที่ละลายในไขมันและแคโรทีนอยด์ ได้แก่

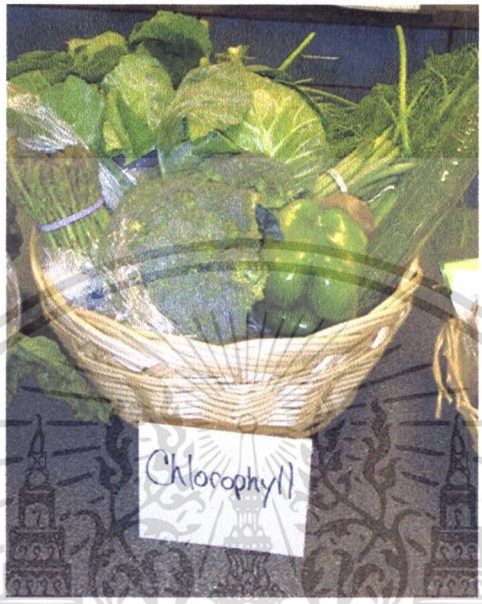
1. คลอโรฟิลล์ (Chlorophylls) เป็นรงควัตถุซึ่งละลายในไขมันและตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ เช่น อะซีโตน และเบนซีน คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุสีเขียวซึ่งพบทั่วไปในพืช และมีบทบาทสำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสง มีอยู่ประมาณ 0.1 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักสดของพืช ในพืชชั้นสูงจะพบคลอโรฟิลล์ 2 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บี ซึ่งมักจะพบเกิดอยู่รวมกันในอัตราส่วน 2.5 ต่อ 1 นอกจากคลอโรฟิลล์ทั้งสองชนิดแล้วยังพบแคโรทีนอยด์อีก 2 ชนิด คือ แคโรทีน และแซนโทฟิล

2. แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) เป็นรงควัตถุที่มีสีเหลือง ส้ม หรือสีแดง โมเลกุลจะมีโครงสร้างแกนหลักเป็นไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว (Unsaturated hydrocarbon) แบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

2.1 กลุ่มแคโรทีน (Carotenes) เช่น แอลฟาแคโรทีน เบตาแคโรทีน หรือแกมมาแคโรทีน รวมทั้งไลโคพีน (Lycopene) แคโรทีนจะมีมากในฟักทอง มันเทศ และแครอท ซึ่งให้สารสีเหลือง หรือสีส้มแดงในพืชเหล่านี้ ไลโคพีนจะมีมากในมะเขือเทศ คือ มีถึง 90 เปอร์เซ็นต์ของแคโรทีนอยด์ทั้งหมด นอกจากนั้นยังพบไลโคพีนมากในแตงโมและแอปริคอท ไลโคพีนจะมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีค่อนข้างแดง ทำให้ผลไม้เหล่านี้เมื่อสุกจะมีสีค่อนข้างไปทางสีแดง สารในกลุ่มนี้จะละลายได้ดีในตัวทำละลายไขมัน



ภาพที่ 4 ชนิดของพืชที่เป็นแหล่งของคลอโรฟิลล์ (Chlorophylls)
ที่มา : www.google.com

2.2 กลุ่มของแซนโทฟิล (Xanthophyll) เป็นอนุพันธุ์ซึ่งมีออกซิเจนเพิ่มขึ้นในโมเลกุล ทำให้สามารถละลายในตัวทำละลายที่มีขั้วมากกว่าตัวทำละลายสำหรับแคโรทีน โดยแซนโทฟิลที่พบมาก คือ ซีแซนทิน (Zeaxanthin) หรือเบตาแซนโทฟิล (β - xanthophyll) หรือลิวทีน (leutein) ซึ่งพบมากในข้าวโพดหวาน ฟักทอง และผักผลไม้ชนิดอื่น แคปแซนทิน (Capsanthin) พบมากในพริกหวาน สารนี้มีสีแดงในพืชตระกูลส้มจะพบคริพโตแซนทิน (Cryptoxanthin)

สารแคโรทีนอยด์นี้บางชนิดจะมีความสำคัญทางโภชนาการ คือ เป็นแหล่งวิตามินเอโดยพืชจะมีแคโรทีนประมาณ 0.005 เปอร์เซ็นต์ และมีแซนโทฟิล 0.008 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักสด ซึ่งนับเป็นปริมาณน้อยมาก รงควัตถุทั้งสองชนิดนี้มักเกิดรวมกับคลอโรฟิลล์ในคลอโรพลาส จึงไม่เห็นสีของแคโรทีนและแซนโทฟิล แต่เมื่อคลอโรฟิลล์ถูกทำลาย เช่น ในเนื้อเยื่อที่มีอายุมาก หรือที่ผิวผลไม้สุก จึงจะสังเกตเห็นสีเหลืองของแคโรทีนและแซนโทฟิลส่วนกลุ่มที่สองเป็นรงควัตถุที่ละลายในน้ำ ได้แก่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นกลุ่มของรงควัตถุที่สำคัญในผักผลไม้อีกกลุ่มหนึ่ง โดยฟลาโวนอยด์อาจแบ่งออกเป็นกลุ่ม คือ

ภาพที่ 5 ชนิดของพืชที่เป็นแหล่งของแคโรทีนอยด์ (Carotenoids)
ที่มา : www.google.com

1.1 แอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นรงควัตถุซึ่งให้สีแดง น้ำเงิน หรือม่วง ในผักผลไม้หลายชนิด ซึ่งสีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงโดยขึ้นอยู่กับปัจจัย คือ ความเป็นกรด - ด่าง โดยในสภาวะด่างแอนโทไซยานินจะมีสีน้ำเงิน แต่ในสภาวะกรดจะเป็นสีแดง ที่ความเป็นกรดด่างสูง เกลือออกโซเนียมจะถูกเปลี่ยนให้อยู่ในรูปซูโดเบส (Pseudobase) ซึ่งไม่มีสี ดังนั้นเมื่อความเป็นกรด - ด่างสูงขึ้น ความลึกของสีจะลดลงด้วย นอกจากนี้สีของแอนโทไซยานินยังขึ้นอยู่กับความเข้มข้น เช่น เดลฟินิดิน (Delphinidin) เมื่อเจือจางจะมีสีน้ำเงิน แต่เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะมีสีแดง และถ้าความเข้มข้นเพิ่มขึ้นอีกจะมีสีม่วง นอกจากนั้นแล้วสีของแอนโทไซยานินยังขึ้นอยู่กับสารอื่นในระบบ เช่น ถ้ามีแทนนินร่วมอยู่ด้วยจะทำให้มีสีเข้มขึ้น โดยแอนโทไซยานินที่พบมากในผลไม้จากไม้ยืนต้นหรือไม้พุ่ม จะเป็นพวกที่มีอะไกลโคนเป็นไซยานิดิน ส่วนในพืชล้มลุกจะพบ อะไกลโคนชนิดอื่น โดยสีของแอนโทไซยานินจะไม่เสถียร เพราะถูกไฮโดรไลซ์โดยเอนไซม์ในผักผลไม้ได้แอนโทไซยานินอิสระ ซึ่งจะถูกออกซิไดส์ต่อโดยเอนไซม์ในเนื้อเยื่อ คือ ฟีนอลออกซิเดส (Phenol – Oxidases) ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสีน้ำตาล ปฏิกิริยานี้จะถูกยับยั้งด้วยกรดแอสคอร์บิก ดังนั้นเมื่อผักผลไม้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลจะแสดงให้รู้ว่ากรดแอสคอร์บิกในผักผลไม้ถูกทำลายหมดแล้ว นอกจากนี้ปริมาณแอนโทไซยานินในผักผลไม้จะขึ้นกับสภาวะการปลูกด้วย โดยการปลูกพืชในดินที่มีไนโตรเจนต่ำจะทำให้พืชนั้นมีแอนโทไซยานินสูง ซึ่งนอกจากแอนโทไซยานิที่มีสีแล้ว สารฟลาโวนอยด์อื่นซึ่งอาจมีสีอ่อนหรือไม่มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สี แต่สามารถถูกออกซิไดส์ได้สารสีน้ำตาล หรือสามารถเกิดปฏิกิริยากับโลหะได้สารที่มีสีเช่นเดียวกับแอนโทไซยานินได้

1.2 แอนโทแซนทิน (Anthoxanthins) ความแตกต่างที่สำคัญระหว่างแอนโทแซนทินกับแอนโทไซยานิน คือ แอนโทแซนทินจะมีกลุ่มคีโตน คือมีอะตอมออกซิเจนเกิดพันธะคู่กับคาร์บอนในตำแหน่งที่ 4 และไม่มีประจุที่ตำแหน่งที่ 1 แอนโทแซนทินจะมีสีเหลืองไปจนไม่มีสี โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่ม คือ ฟลาโวนอล และฟลาโวน โดยแอนโทแซนทินที่พบมากคือ Quercetin พบในข้าวโพด ผักโขม หอมหัวใหญ่ หน่อไม้ฝรั่ง แอปเปิล ส้ม และองุ่น

ภาพที่ 6 ชนิดของพืชที่เป็นแหล่งของแอนโทไซยานิน (Anthocyanin)
ที่มา : www.google.com

ภาพที่ 7 สีของรงควัตุที่ได้จากแอนโทไซยานิน (Anthocyanin)
ที่มา : www.google.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 8 ชนิดของพืชที่เป็นแหล่งของแอนโทแซนทิน (Anthoxanthins)
ที่มา : www.google.com

1.3 ลิวโคแอนโทแซนทิน (Leuco – anthocyanin) และเคทิชิน (Catechins) จะพบสารทั้งสองนี้มากในพืชยืนต้น ในพืชล้มลุกใบเลี้ยงคู่จะพบน้อย โดยสารประกอบเหล่านี้ไม่มีสี และมักพบลิวโคแอนโทแซนทินมากกว่าเคทิชิน โดยจะพบในแอปเปิล แพร์ พลัม พีช องุ่น ถั่วบางชนิด และคาดว่ายังอาจจะพบในผักผลไม้ชนิดอื่นๆ อีก โดยจะเกิดอยู่ในรูปของสารที่ละลายน้ำได้ หรือเป็นโพลีเมอร์ที่ไม่ละลายน้ำ

1.4 สารประกอบอื่นที่เกี่ยวข้องกับฟลาโวนอยด์ สารเหล่านี้ส่วนมากมีสภาวะเป็นกรดซึ่งมักจะมีวงแหวนเบนซีน และหมู่ไฮดรอกซิลคล้ายกับส่วนหนึ่งของสารฟลาโวนอยด์ สารเหล่านี้อาจเกิดการรวมตัวกันในสภาวะที่เหมาะสมเกิดเป็นสารที่มีสีเข้ม

เบตาเลน (Betalains)

พืชในธรรมชาติมีสีที่แตกต่างกันมากมาย เนื่องจากรงควัตถุเป็นองค์ประกอบของพืชซึ่งรงควัตถุบางชนิดเป็นส่วนประกอบที่จำเป็นต่อปฏิกิริยาที่สำคัญของพืช เช่น การสังเคราะห์แสง โดยมีรงควัตถุที่เกี่ยวข้องคือ คลอโรฟิลล์ และแคโรทีนอยด์ นอกจากนี้ สีที่มาจากรงควัตถุยังเป็นส่วนประกอบหนึ่งที่ทำให้เกิดการขยายพันธุ์ โดยสีที่เกิดขึ้นในพืชเหล่านี้จะทำหน้าที่ดึงดูดแมลงและนกให้เข้ามาช่วยในการผสมพันธุ์พืช ซึ่งรงควัตถุที่สำคัญ คือ แอนโทไซยานิน และเบตาเลน ทั้งสองชนิดนี้จะมีลักษณะบางชนิดที่คล้ายคลึงกัน มีช่วงของการให้สีที่แตกต่างกันเพียงเล็กน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ แอนโทไซยานิน จะมีช่วงสีจากสีเหลือง ส้ม ไปจนถึงแดงและน้ำเงิน ในขณะที่เบตาเลนมีช่วงสี เหลือง ส้ม แดง ม่วง แต่ไม่มีสีน้ำเงิน ซึ่งสีต่างๆ จะขึ้นอยู่กับสารประกอบที่มาเกาะกับโครงสร้าง หลัก ทั้งแอนโทไซยานิน และเบตาเลน ไม่เคยมีรายงานว่า พบอยู่ในเนื้อเยื่อของพืชที่มีสายพันธุ์ เดียวกัน และไม่พบในสัตว์

ภาพที่ 9 บีทรูทซึ่งเป็นพืชชนิดหนึ่งที่เป็นแหล่งของเบตาเลน
ที่มา : www.google.com

เบตาเลน คือ กลุ่มของสารประกอบที่อยู่ในรงควัตถุของพืช ซึ่งเป็นสารที่เป็นส่วนประกอบ สำคัญในการทำให้พืชมีสีที่แตกต่างกัน มีสูตรโครงสร้างหลักคือ 1,7-Diazoheptamethin ซึ่งหมู่ R และ R' ที่เปลี่ยนไปจะเป็นตัวกำหนดชนิดสีที่ต่างกันเกิดจากคุณสมบัติการเรโซแนนซ์ (resonance) ของโครงสร้างของโมเลกุลเบตาเลน โดยรงควัตถุชนิดนี้สามารถนำไปใช้เป็นสี ผสมอาหารแทนการใช้สีสังเคราะห์ได้ เนื่องจากไม่เป็นอันตราย แต่เบตาเลนจะสลายตัวได้ง่าย หากถูกความร้อน ดังนั้น จึงทำให้มีข้อจำกัดหลายอย่างในการนำไปใช้ (Cai *et. al.*, 1998)

ชีวสังเคราะห์ของเบตาเลน (Biosynthesis of betalains)

กลไกปฏิกิริยาในการสังเคราะห์เบตาเลน เริ่มจากกรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine) เป็นตัว ตั้งต้นของปฏิกิริยา ซึ่งจะไฮโดรไลส์โดยเอนไซม์ไทโรซิเนส (tyrosinase) ให้ 3,4-dihydroxyphenyalanine เอนไซม์ชนิดนี้ยังรวมตัวกับ cyclo-DOPA โดยผ่านโดป้าควิโนน (dopaquinone) โครงสร้างที่เป็นวงแหวนของ DOPA พันธะที่ 4,5 จะแตกออกได้สารตัวกลาง คือ seco-DOPA แต่ seco-DOPA นั้นไม่เสถียร จึงมีการจัดเรียงตัวใหม่จะได้กรดเบตาลามิค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(betalamic acid) ซึ่งเป็นสารที่ให้สีในเบตาเลน ซึ่งในขั้นตอนนี้จะใช้เอนไซม์ DOPA-4,5-dioxygenase เป็นเอนไซม์ที่สำคัญในการเกิดปฏิกิริยานี้

จากนั้นกรดเบต้าลามิคสามารถรวมตัวกับกรดอะมิโนทั้งที่เป็นโปรตีนและไม่ใช่โปรตีนได้ให้สารประกอบสีเหลือง เรียกว่า เบตาแซนธิน (Betaxanthins) หรือรวมตัวกับ cyclo-DOPA ให้สารสีม่วงแดง เรียกว่า เบตาไซยานิน และจะมีปฏิกิริยาไกลโคไซต์เกิดขึ้นหลังกระบวนการนี้ จากกลไกของปฏิกิริยาการสังเคราะห์เบตาเลนนี้ จึงสามารถจำแนกเบตาเลนออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. เบตาแซนธิน เป็นรงควัตถุที่มีสีเหลือง เกิดจากกรดเบตาลามิครวมตัวกับกรดอะมิโนที่เป็นโปรตีน และกรดอะมิโนที่ไม่ใช่โปรตีน โดยเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติแต่กรดเบตาลามิคจะไม่ไปรวมตัวกับกรดอะมิโนทั้งหมด เนื่องจากถูกเอนไซม์ในพืชยับยั้งการรวมตัวกันของสารประกอบนี้ สารประกอบชนิดนี้จึงมีอยู่ในพืชแต่ละชนิดในปริมาณที่แตกต่างกัน เนื่องจากองค์ประกอบ และการเกิดปฏิกิริยาที่แตกต่างกันในพืชชนิดต่างๆ รงควัตถุเบตาแซนธินจะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นประมาณ 480 นาโนเมตร นอกจากนี้โครงสร้างที่เกิดขึ้นของเบตาแซนธิน ไม่สามารถเกิดการเรโซแนนซ์ (resonance) ได้ (Piattelli, 1981)

2. เบตาไซยานิน เกิดจากการรวมตัวระหว่างกรดเบตาลามิค และ cyclo-DOPA ให้สารประกอบที่มีสีม่วงแดง ซึ่งจะดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นประมาณ 540 นาโนเมตร โดยชนิดของเบตาไซยานินที่พบมากที่สุด คือ 5-O-β-glycoside ที่ติดกับโครงสร้างของเบตานิดิน (betanidin) (เบตานิดินเป็นอะไกลคอลของเบตาไซยานิน) จะสามารถเกิดการเรโซแนนซ์ได้ (Piattelli, 1981)

สำหรับพืชที่อยู่ในวงศ์ Cactaceae ซึ่งเป็นพืชกระบองเพชรประเภทเลื้อย (Cacti) มีรงควัตถุที่สำคัญ 2 ชนิด คือ เบตาไซยานิน และเบตาแซนธิน (Gibson and Nobel, 1986) โดยชนิดของรงควัตถุในเปลือกแก้วมังกร รวมทั้งรงควัตถุในเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อแดงเปลือกแดง คือ เบตาไซยานิน (Stintzing, 2002)

Stintzing *et. al.* (2002) พบว่า องค์ประกอบของเบตาเลนในสารสกัดจากเนื้อ และเปลือกของแก้วมังกรพันธุ์ *Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britt. and Rose (เนื้อและเปลือกมีสีแดง) ที่สกัดด้วยเอทานอล มีองค์ประกอบที่ไม่แตกต่างกัน โดยมีเบตาไซยานินชนิดต่างๆ ถึง 10 ชนิด ซึ่งเบตาไซยานินทุกชนิดมีค่าการดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่นเดียวกันคือ 536 นาโนเมตร ดังนั้น เบตาไซยานินที่ชนิดต่างกันจะไม่มีผลต่อค่าความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัจจัยที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาไซยานิน

รงควัตถุเบตาไซยานินจะเสื่อมสภาพได้ง่ายเมื่ออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสม โดยเบตาไซยานินจะมีความไวต่อปัจจัยต่างๆ ซึ่งมีผลต่อความเสถียร หรือความคงตัวของเบตาไซยานิน (Cai *et. al.*, 1998) ดังนี้

1. แสง เบตาไซยานินจะเสื่อมสภาพได้ง่าย เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีแสง
2. ออกซิเจน เบตาไซยานินจะมีความเสถียรต่ำ เมื่ออยู่ในสภาวะที่ขาดออกซิเจน
3. ความชื้น
4. อุณหภูมิ เบตาไซยานินจะเสถียรได้ดี เมื่ออยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิต่ำกว่า 14 องศาเซลเซียส
5. ค่าความเป็นกรด-ด่าง หรือค่าพีเอช เบตาไซยานินจะมีความเสถียรสูงสุดเมื่อมีความเป็นกรด – ด่างที่ 5 – 6

โดย Cai *et. al.* (1998) ได้ทำการศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อความเสถียรของรงควัตถุเบตาไซยานินในพืชสายพันธุ์ *Amaranthus* พบว่า รงควัตถุเบตาไซยานินจะมีความเสถียรที่สุดเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 5.6

ในขณะที่ Jose' *et. al.* (2001) ทำการศึกษารงควัตถุเบตาเลนในผล prickly pear fruits พบว่า รงควัตถุเบตาไซยานินจะมีความเสถียรที่สุด เมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 25 – 90 องศาเซลเซียส และเริ่มเสื่อมสภาพเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียสขึ้นไป

นอกจากนี้ Stintzing *et. al.* (2004) ได้ทำการศึกษาโครงสร้างของรงควัตถุเบตาไซยานินด้วยวิธี LC MNR and 2D NMR spectroscopy พบว่า รงควัตถุเบตาเลนจะมีความเสถียรมากที่สุดเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 5 – 7 และจะมีความเสถียรมากขึ้นเมื่อมีค่าความเป็นกรด – ด่าง ใกล้ความเป็นกลาง

ในขณะที่ Merin *et. al.* (1987) ทำการศึกษาถึงการลดลงของรงควัตถุเบตาไซยานินเนื่องจากความร้อนในการสกัด prickly pear fruit ซึ่งสกัดโดยเอทานอล พบว่า ความเสถียรของเบตาไซยานินจะมีแนวโน้มที่ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น นอกจากนี้ผลกระทบจากการขาดออกซิเจน หรือมีกรดแอสคอร์บิกในสารสกัดตัวอย่างจะไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออโต้ออกซิเดชั่น ซึ่งปฏิกิริยานี้จะส่งผลให้เกิดการสูญเสียปริมาณเบตาไซยานินในสารสกัดตัวอย่าง

Castellar *et. al.* (2003) ทำการศึกษาสมบัติด้านสี และความคงตัวของเบตาไซยานินในผลไม้ที่ได้จากตระกูลกระบองเพชร (*Opuntia* fruit) พบว่า สารสกัดจากผลไม้ตัวอย่างที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอล และซิเตรทฟอสเฟสบัฟเฟอร์ที่ค่าความเป็นกรด – ด่างเท่ากับ 5.5 มีปริมาณเบตาไซยานินที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งการสกัดด้วยน้ำจะได้ปริมาณเบตาไซยานินสูงสุด เมื่อทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเสถียรของเบตาไซยานินในสารสกัดตัวอย่างในสภาวะที่อุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด - ด่างที่ต่างกัน พบว่า เบตาไซยานินมีความเสถียรสูงสุดในสภาวะที่มีอุณหภูมิต่ำ และค่าความเป็นกรด – ด่างอยู่ในช่วง 4 - 6

การสกัดสารสีออกจากวัสดุธรรมชาติ

1. วิธีการสกัดสารสีออกจากวัสดุธรรมชาติ

โดยทั่วไปในการสกัดสารออกจากวัสดุธรรมชาติ มีปัจจัยสำคัญในการเลือกวิธีการ ได้แก่ ลักษณะเนื้อเยื่อของวัสดุ ปริมาณน้ำ คุณสมบัติของสารในการทนต่อความร้อน ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ และชนิดของสารที่ต้องการสกัดออกมา โดยวิธีที่นิยมใช้ในการสกัดสารออกจากวัสดุธรรมชาติ (นพพร, 2539) มีดังนี้

ภาพที่ 10 ความเป็นกรด – ด่างที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสี และความเสถียรของเบตาไซยานิน
ที่มา : www.google.com

1.1 Maceration เป็นวิธีการสกัดโดยการหมักวัสดุธรรมชาติกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด เช่น ขวดปากกว้าง ขวดรูปกรวย โดยปกติจะทิ้งไว้ 7 วัน โดยหมั่นเขย่าหรือคนบ่อยๆ เมื่อครบกำหนดเวลาจะค่อยๆ รินสารออกและพยายามบีบเอาสารละลายออกจากกากให้มากที่สุด รวบรวมสารที่ได้นำไปกรอง ถ้าต้องการสกัดให้หมดอาจจำเป็นต้องทำสกัดหลายๆ ครั้ง ข้อดีของวิธีนี้ คือ สารไม่ถูกความร้อน แต่ข้อเสียคือสิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก และเนื่องจากวิธีนี้ช้าจึงมีการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พัฒนาดัดแปลงใช้ Mixer หรือ Homoginizer มาช่วยทำให้เซลล์พืชแตกออก การสกัดจึงเร็วขึ้น เรียกวิธีนี้ "Vortical (turbo) extraction"

1.2 Percolation เป็นวิธีการสกัดแบบต่อเนื่องโดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า "Percolator" โดยนำวัสดุธรรมชาติมาหมักกับตัวทำละลายพอชื้น ทิ้งไว้ 1 ชั่วโมง เพื่อให้พองตัวเต็มที่ แล้วค่อยๆ บรรจุลงใน Percolator ทีละน้อยเป็นชั้นๆ แล้วเติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับตัวทำละลายสูงเหนือชั้นของวัสดุธรรมชาติ ประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง แล้วจึงเริ่มไขเอาสารที่สกัดออก โดยคอยเติมตัวทำละลายให้เหนือชั้นของวัสดุธรรมชาติ อย่าให้แห้ง เก็บสารที่สกัดได้จนการสกัดเกิดสมบูรณ์ บีบกากเอาสารสกัดให้ได้มากที่สุด แล้วเก็บรวบรวมไปกรอง

ภาพที่ 11 อุณหภูมิที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสี และความเสถียรของเบตาไซยานิน
ที่มา : www.google.com

1.3 การสกัดด้วย Soxhlet Extractor วิธีนี้ไม่เหมาะกับสารที่สามารถสลายตัวได้เนื่องจากความร้อน

1.4 Liquid-liquid Extraction

1.5 Resorption เป็นวิธีที่ใช้สกัดน้ำมันหอมระเหยโดยวิธีดูดซับ มักใช้สกัดสารจากกลีบดอกไม้

1.6 Steam Distillation มักใช้ในการสกัดน้ำมันหอมระเหย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.7 Water Distillation เป็นวิธีการกลั่นน้ำมันหอมระเหยโดยต้มกับน้ำ โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่า "Cleveneaur's apparatus"

1.8 Extraction by Thermomicrodistillation เป็นการสกัดสารโดยใช้เครื่อง "Thermomicro Analysis and Separation Ovens ; TAS Oven" ใช้ในการสกัดสารขนาดน้อยมาก โดยนำวัสดุธรรมชาติใส่ลงใน Cartridge ซึ่งข้างหนึ่ง Seal ไว้ ส่วนอีกข้างหนึ่งเป็น Capillaries เมื่อใส่เข้าในตู้อบความร้อน (Oven) ความร้อนจะทำให้สารระเหย หรือระเหิดออกทาง Capillaries และรองรับสารที่ระเหยหรือระเหิดออกมาด้วยแผ่น TLC แล้วนำไปตรวจสอบ

สำหรับในการทดลองนี้ เนื่องด้วยสารที่ต้องการสกัดเป็นสารสีเบต้าเลนที่มีความไวต่อความร้อน และแสง ดังนั้นจึงทำให้มีข้อจำกัดในการเลือกใช้วิธีในการสกัด โดยได้เลือกใช้วิธี Maceration แบบประยุกต์ โดยนำเปลือกแก้วมังกรที่หั่นเป็นชิ้นเล็กๆ แล้ว มาแช่ลงในตัวทำละลาย จากนั้นนำไปปั่นให้ละเอียดพร้อมตัวทำละลายด้วยเครื่องปั่นอาหาร (Blender) เพื่อให้เซลล์แตกตัวออกทำให้ง่ายต่อการสกัดสาร ซึ่งวิธีนี้มีข้อดีคือ ประหยัดเวลาและตัวทำละลาย

2. ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดเบตาไซยานินจากเปลือกแก้วมังกร

รงควัตถุเบตาไซยานินเป็นรงควัตถุที่อยู่ในกลุ่มที่สามารถละลายน้ำได้ ดังนั้นตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดควรเป็นตัวทำละลายที่มีขั้ว ซึ่งโดยปกติแล้วในการสกัดวัสดุธรรมชาติสารพวกแอลกอฮอล์จัดได้ว่าเป็นตัวทำละลายเอนกประสงค์ที่ดีสำหรับ Preliminary Extraction วัสดุธรรมชาติที่ต้องการสกัดจะถูกทำลายเนื้อเยื่อโดยตัด สับ หั่น หรือบดให้เป็นชิ้นเล็กๆ ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเกิดออกซิเดชันโดยเอนไซม์ หรือเกิดไฮโดรไลซิสขึ้น แล้วทำการแช่ในตัวทำละลายซึ่งบรรจุอยู่ในเครื่องปั่นอาหาร (Blender) จากนั้นทำการกรองโดยผ่าน Celite บน Water pump และทำให้เข้มขึ้นโดยมักจะใช้ Rotary evaporator (นพพร, 2539) ซึ่งทศพร และคณะ (2547) ทำการศึกษาตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำกลั่น, เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ และซิเตรทฟอสเฟสบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ที่ค่าความเป็นกรด – ด่างเท่ากับ 5.5 พบว่าสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิด จะมีปริมาณเบตาไซยานินที่ใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณอยู่ในช่วง 8.97 - 9.24 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมเปลือกแก้วมังกรสด

นพพร (2539) ได้มีการรายงานถึงการเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่จะให้ประสิทธิภาพในการสกัดสารแอนโทไซยานินสูงที่สุด โดยพบว่าการใช้เมทานอลจะให้ปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดมากที่สุด รองลงมาคือเอทานอล และน้ำตามลำดับ โดยเมทานอลจะให้ประสิทธิภาพในการสกัดได้ดีกว่าเอทานอลและน้ำ 20 และ73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นอกจากนี้ ยังพบว่ามีการใช้กรดแอซิติกในน้ำ, กรดแร่, กรดซิตริก, กรดทาร์ทาริก และกรดไฮโดรคลอริกในการสกัดด้วยแต่สำหรับในการทดลองนี้ จะเลือกทดสอบตัวทำละลายที่เหมาะสมเพียงน้ำกลั่น และเอทานอลเท่านั้น เนื่องจากเพื่อความสะดวกในการนำไปใช้งาน และสารสกัดเบตาเลนที่ได้จากการทดลองนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต้องนำไปผสมลงในอาหารปลาเพื่อใช้ในการเร่งสีปลากุหลาบแดง หากใช้เมทานอลจะส่งผลให้เกิดความเป็นพิษได้

3. การใช้สารสีในการเร่งสีปลา

ในปัจจุบันมีความนิยมในการเร่งสีปลาเพื่อตอบสนองความต้องการของตลาดเพิ่มมากขึ้น โดยแหล่งของสารสีที่ใช้ในการเร่งสีปลาส่วนใหญ่เป็นสารสีที่สังเคราะห์ขึ้น และเป็นสารสีที่ได้จากแพลงก์ตอน หรือสาหร่าย โดยสารสีที่สังเคราะห์ขึ้นนี้มีผู้นิยมใช้อย่างแพร่หลายเนื่องจากหาง่าย และสะดวก แต่มีข้อเสียคือ อาจส่งผลข้างเคียง และเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำได้ จึงมีผู้ริเริ่มทำการศึกษาเพื่อหาแหล่งของสารสีจากธรรมชาติเพื่อมาใช้ทดแทนสารสีสังเคราะห์นี้

Boonyaratpalin and Unprasert (1989) ได้ทำการศึกษาแหล่งของสารสีที่แตกต่างกันในการเร่งสีปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยให้อาหารซึ่งเป็นแหล่งของสารสี 4 ชนิด ได้แก่ สาหร่ายสไปรูลิน่า, อาหารที่มีส่วนผสมของกลีบดอกดาวเรือง, อาหารจากหัวกุ้ง และขมิ้น โดยให้ 10, 5, 15 และ5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าปลาที่ได้รับสาหร่ายสไปรูลิน่า, อาหารที่มีส่วนผสมของกลีบดอกดาวเรือง, อาหารจากหัวกุ้ง และขมิ้น จะทำให้มีสีลำตัวเป็นสีแดง, สีแดงทอง, สีแดงเพลิง และสีส้มตามลำดับ ในขณะที่อาหารจากหัวกุ้งจะไปช่วยเร่งอัตราการเจริญเติบโต แต่ขมิ้นจะยับยั้งอัตราการเจริญเติบโต ส่วนอัตราแลกเนื้อของปลาที่ได้รับอาหารทั้ง 4 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแต่อย่างใด

ในขณะที่ Yew *et. al.* (1992) ทำการศึกษาการเร่งสีในกุ้งคุรุม่า (*Penaeus japonicus*) โดยให้แหล่งของสารสี และระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน โดยให้แอสตาแซนทินที่ความเข้มข้น 50, 100 และ200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 100 กรัม ให้เบตาแคโรทีนที่ความเข้มข้น 50, 100 และ200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 100 กรัม และให้อาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่าย (*Dunaliella salina*) ที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 100 กรัม โดยให้สารสีแต่ละชนิดเป็นเวลา 1, 2 หรือ 3 สัปดาห์ โดยพบว่า กุ้งที่ได้รับเบตาแคโรทีน และอาหารที่มีส่วนผสมของสาหร่ายไม่มีความแตกต่างกัน ส่วนกุ้งที่ได้รับแอสตาแซนทินที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 100 กรัม จะมีสีน้อยกว่ากุ้งที่ได้รับแอสตาแซนทินที่ความเข้มข้น 100 และ200 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 100 กรัม นอกจากนี้ยังพบว่ากุ้งที่ได้รับแอสตาแซนทิน จะมีอัตราสูงที่สุด และควรได้รับแอสตาแซนทินที่ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักอาหาร 100 กรัม ดีที่สุด

สำหรับสารสีกลุ่มเบตาเลนนี้ ยังไม่พบว่ามีผู้นำมาใช้ในการเร่งสีสัตว์น้ำแต่อย่างใด ดังนั้นในการทดลองนี้ จึงได้ทำการศึกษาการใช้สารสีเบตาเลนที่สกัดจากเปลือกแก้วมังกรมาใช้ในการเร่งสีปลากุหลาบแดง เพื่อในอนาคตจะสามารถนำมาใช้ทดแทนสารสีสังเคราะห์ในการเร่งสีสัตว์น้ำ เพื่อลดผลข้างเคียงที่อาจเกิดจากการใช้สารเร่งสีสังเคราะห์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุ

1. ปลากุหลาบแดง (Red platy)
2. เปลือกแก้วมังกรชนิดเนื้อขาวเปลือกแดง
3. อาหารเม็ดลอยน้ำ

อุปกรณ์

1. ตู้กระจก และถังพลาสติก
2. อุปกรณ์ให้อากาศ
3. อาหารเม็ดลอยน้ำ
4. เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง
5. เครื่องวัดสี (Chromameter)
6. อุปกรณ์ต้มน้ำ (หม้อสแตนเลส, Hot Plate)
7. หม้อนึ่งความดันไอ (Autoclave)
8. เครื่องปั่นอาหารแบบแก้ว (Blender)
9. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuged) CENTRIKON T-42K Milano,Italy
10. เครื่อง pH Meter
11. ปิเปตอัตโนมัติ (Micropipette) ขนาด 1 และ 10 มิลลิลิตร
12. เครื่องกวนสาร (sterrier)
13. เครื่องบดละเอียด (pin mill)
14. เครื่องมือวัดความยาวคลื่นแสง (Spectrophotometer)
15. มีด,เขียง
16. กระดาษอะลูมิเนียมฟลอยด์
17. ผ้าขาวบาง
18. คิวเวต
19. เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)
20. เทอร์โมมิเตอร์

เครื่องแก้ว

1. กระบอกตวงขนาด 100 และ 250 มิลลิลิตร
2. บิกเกอร์ขนาด 250, 400 และ 1000 มิลลิลิตร
3. แท่งแก้วคนสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. **ขวดสีชา ขนาด 500 มิลลิลิตร**
5. **กระบอกน้ำกลั่น**
6. **หลอดทดลอง**
7. **ลูกแก้ว**
8. **ขวดปรับปริมาตร** (Volumetric flask)
9. **ช้อนตักสาร**
10. **ที่ใส่หลอดทดลอง**

สารเคมี

1. น้ำกลั่น
2. เอทานอล 80%
3. กรดซิตริก
4. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟส ($Na_2HPO_4.12H_2O$)

วิธีการ

แผนการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาตัวทำละลายในการสกัดสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร

วางแผนการทดลองแบบ CRD โดยมีปัจจัย คือ ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

การทดลองที่ 2 การศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร

วางแผนการทดลองแบบ 2 x 3 factorial in CRD โดยปัจจัยแรก คือตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ส่วนปัจจัยที่สอง คือ อุณหภูมิ ได้แก่ อุณหภูมิของพลาสเจอร์ไรซ์ (อ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิของน้ำเดือด (อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิของสเตอริไลส์ (หม้อนึ่งความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส)

การทดลองที่ 3 การศึกษาความเป็นกรด - ด่าง (pH) ที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลนจากเปลือกมังกร

วางแผนการทดลองแบบ 2 x 3 x 5 factorial in CRD มีปัจจัยทั้งหมด 3 ปัจจัยโดยปัจจัยแรก คือตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ได้แก่ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ส่วนปัจจัยที่สอง คือ อุณหภูมิ ได้แก่ อุณหภูมิของพลาสเจอร์ไรซ์ (อ่างน้ำร้อนอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิของน้ำเดือด (อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิห้อง และปัจจัยที่สาม คือ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ได้แก่ 3, 4, 5, 6 และ 7

การทดลองที่ 4 การใช้สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรในการเร่งสีปลากุหลาบแดง

วางแผนการทดลองแบบ 2 x 5 factorial in CRD โดยปัจจัยแรก คือ ชนิดของสารสกัด ได้แก่ สารสกัดที่ได้จากการสกัดเปลือกแก้วมังกรสด, สารสกัดที่ได้จากการสกัดเปลือกแก้วมังกรอบแห้ง (ผง) ส่วนปัจจัยที่สอง คือ ความเข้มข้นของสารสกัด 5 ระดับ ได้แก่ 0, 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์

วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 ศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร

1.1 คัดเลือกผลแก้วมังกรสดที่อยู่ในสภาพดี ผิวเรียบเป็นสีแดงและกลีบเลี้ยงยังไม่เหี่ยว นำมาล้างให้สะอาด ตัดส่วนกลีบเลี้ยง ขั้วด้านหัวท้ายและส่วนที่เป็นตำหนิออก

1.2 ผ่าผลแก้วมังกรตามยาวออกเป็น 4 ส่วน ลอกเปลือกออกและขูดส่วนที่มีเนื้อติดอยู่กับเปลือกด้านในออกไป

1.3 นำเปลือกที่ได้มาหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ นำไปสกัดด้วยตัวทำละลาย ได้แก่ น้ำ และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของตัวทำละลายในอัตราส่วนน้ำหนักเปลือกสด 100 กรัมต่อปริมาตรตัวทำละลาย 500 มิลลิลิตร

1.4 ใส่เปลือกและตัวทำละลายในเครื่องปั่นอาหารปั่นให้ละเอียด จากนั้นกรองส่วนเหลือของเปลือกออกด้วยผ้าขาวบาง นำกากไปปั่นซ้ำจนกากเหลือที่ได้ไม่มีสี

1.5 นำสารสกัดที่ได้ในข้อ 4 ไปทำการหมุนเหวี่ยงด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยง ที่ความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

1.6 เก็บส่วนบนที่เป็นน้ำไว้เพื่อนำไปวัดหาค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (Absorbance) ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร (Formi *et. al.*, 1992) ด้วยเครื่องวัดความยาวคลื่นแสง (Spectrophotometer) ค่าที่ได้จะนำไปคำนวณหาค่า Extriction Coefficien ของเบตาไซยานิน E538 (1%) = 1120 จากนั้นเก็บสารสกัดที่เหลือไว้ในภาชนะทึบแสงหรือภาชนะที่ห่อด้วยอะลูมิเนียมฟลอยด์เพื่อป้องกันไม่ให้ถูกแสงและเก็บรักษาไว้ในตู้เย็นที่ช่องแช่เย็นปกติ (Casteller *et.* al., 2003) เพื่อรอนำไปวิเคราะห์ต่อไป

การทดลองที่ 2 ศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลน

ทำการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลนที่อุณหภูมิต่างๆ กัน ได้แก่ อุณหภูมิของพลาสเจอร์ไรซ์ (อ่างน้ำร้อน อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิของน้ำเดือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) อุณหภูมิของสเตอริไลส์ (หม้อนึ่งความดันไอ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส)

2.1 นำสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่สกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด คือ น้ำ และเอทานอล 80% มาทดสอบโดยนำมาเจือจางด้วยตัวทำละลายเดิมอีกครั้งในอัตราส่วนสารสกัดต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1 ต่อ 9

2.2 นำสารสกัดที่เจือจางแล้วไปทำการต้มที่อุณหภูมิต่างๆ ในช่วงเวลาที่แตกต่างกัน ได้แก่ 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 และ 60 นาที

2.3 เมื่อครบเวลาที่กำหนดแล้ว ให้ทำการหยุดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยการแช่ในน้ำเย็น จากนั้นทำการเปรียบเทียบปริมาณของสารที่เหลืออยู่ โดยนำไปวัดหาค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่องวัดความยาวคลื่น ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร (Formi *et. al.*, 1992) เพื่อนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณเบตาเลนที่เหลืออยู่ต่อไป

การทดลองที่ 3 ศึกษาความเป็นกรด - ด่าง (pH) ที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลนจากเปลือกมังกร

3.1 สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด คือ น้ำ และเอทานอล 80% มาทำการทดสอบความเสถียรด้วยซิเตรทฟอสเฟสบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ ที่ความเป็นกรด - ด่างเท่ากับ 3, 4, 5, 6 และ 7 ในอัตราส่วน สารสกัดต่อบัฟเฟอร์เท่ากับ 1 ต่อ 9

3.2 จากนั้นนำมาทดสอบโดยการต้มในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 72 และ100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1, 2, 3, 4, 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55 และ 60 นาที

3.3 จากนั้นทำหยุดปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยการแช่ในน้ำเย็น และเปรียบเทียบกับสารตัวอย่างที่อุณหภูมิห้อง

3.4 ทำการเปรียบเทียบหาปริมาณของเบตาเลนที่เหลืออยู่ โดยนำไปวัดหาค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่องวัดความยาวคลื่นที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร (Formi *et. al.*, 1992) เพื่อนำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณเบตาเลนที่เหลืออยู่ต่อไป

การทดลองที่ 4 การใช้สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรในการเร่งสีปลากุหลาบแดง

การทดลองที่ 4.1 การเตรียมเปลือกแก้วมังกรอบแห้งแบบผง

4.1.1 คัดเลือกผลแก้วมังกรสดที่อยู่ในสภาพดี ผิวเรียบเป็นสีแดงและกลีบเลี้ยงยังไม่เหี่ยว นำมาล้างให้สะอาด ตัดส่วนกลีบเลี้ยง ขั้วด้านหัวท้ายและส่วนที่เป็นตำหนิออก

4.1.2 จากนั้นผ่าผลแก้วมังกรตามยาวออกเป็น 4 ส่วน ลอกเปลือกออกและขูดส่วนที่มีเนื้อติดอยู่กับเปลือกด้านในออกไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
วิทยาเขตเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครใต้ อาคารกะปิ

4.1.3 นำเปลือกที่ได้มาหั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมเล็กๆ ขนาด 1X 2 เซนติเมตร จากนั้นนำไปอบที่ตู้อบความร้อน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และความชื้นต่ำกว่า 10 เปอร์เซ็นต์

4.1.4 เมื่ออบจนแห้งแล้วจึงนำมาบดให้เป็นผงด้วยเครื่องบดละเอียด (pin mill) และเก็บรักษาไว้ในภาชนะที่แห้งและมีดปิดสนิท เพื่อรอนำมาใช้ต่อไป

การทดลองที่ 4.2 การเตรียมอาหาร

4.2.1 ชั่งอาหารปลาในกระดาษอะลูมิเนียมฟลอยด์ให้แต่ละห่อมีน้ำหนักเท่ากับ 3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักปลา

4.2.2 นำอาหารปลาที่ได้มาทำการฉีดพ่นด้วยสารสกัด 2 ชนิด ที่ใช้เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลาย ได้แก่ สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรสด, สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรอบแห้งแบบผง

4.2.3 จากนั้นผึ่งให้แห้งในตู้มืดเพื่อให้เอทานอลระเหยออกให้หมด

4.2.4 เมื่ออาหารแห้งดีแล้วจึงฉีดพ่นอีกครั้งด้วยแป้งมันละลายน้ำในอัตราส่วนแป้งมัน 1.5 กรัมต่อน้ำ 100 มิลลิลิตร และผึ่งให้แห้งอีกครั้ง

4.2.5 เมื่อแห้งดีแล้วจึงห่อกระดาษอะลูมิเนียมฟลอยด์ให้มิดชิด และนำไปเก็บรักษาในตู้เย็นช่องแช่เย็นปกติ เพื่อรอนำไปให้เป็นอาหารปลาต่อไป

การทดลองที่ 4.3 การให้อาหารปลา

การให้อาหารปลาจะให้ในปริมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ต่อน้ำหนักตัวต่อวัน โดยให้วันละ 3 เวลา ได้แก่ เวลาประมาณ 9.00 น., 12.00 น. และ 16.00 น. ของทุกวัน โดยแบ่งปลาออกเป็น 9 ชุดทดลอง ชุดทดลองละ 3 ซ้ำ ได้แก่

ชุดทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่ได้เสริมสารเบตาเลน)

ชุดทดลองที่ 2 ให้อาหารปลาที่เสริมเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรสด 20% (น้ำหนักเปลือกสด 100 กรัม ต่อปริมาตรเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ชุดทดลองที่ 3 ให้อาหารปลาที่เสริมเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรสด 30% (น้ำหนักเปลือกสด 150 กรัม ต่อปริมาตรเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ชุดทดลองที่ 4 ให้อาหารปลาที่เสริมเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรสด 40% (น้ำหนักเปลือกสด 200 กรัม ต่อปริมาตรเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ชุดทดลองที่ 5 ให้อาหารปลาที่เสริมเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรสด 50% (น้ำหนักเปลือกสด 250 กรัม ต่อปริมาตรเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ชุดทดลองที่ 6 ให้อาหารปลาเสริมเบตาเลนจากผงเปลือกแก้วมังกรอบแห้ง 20% (น้ำหนักเปลือกสด 100 กรัม ต่อปริมาตรเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดทดลองที่ 7 ให้อาหารปลาเสริมเบตาเลนจากผงเปลือกแก้วมังกรอบแห้ง 30% (น้ำหนักเปลือกสด 150 กรัม ต่อปริมาตรเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ชุดทดลองที่ 8 ให้อาหารปลาเสริมเบตาเลนจากผงเปลือกแก้วมังกรอบแห้ง 40% (น้ำหนักเปลือกสด 200 กรัม ต่อปริมาตรเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ชุดทดลองที่ 9 ให้อาหารปลาเสริมเบตาเลนจากผงเปลือกแก้วมังกรอบแห้ง 50% (น้ำหนักเปลือกสด 250 กรัม ต่อปริมาตรเอทานอล 500 มิลลิลิตร)

ในแต่ละซ้ำจะมีปลากุหลาบแดงทั้งหมด 15 ตัว เพศผู้ 5 ตัว เพศเมีย 10 ตัว (ในอัตราส่วนเพศผู้ต่อเพศเมีย 2 ต่อ 5) ทำการเลี้ยงทั้งหมด 84 วัน หรือ 12 อาทิตย์

การบันทึกข้อมูล

ทำการชั่งน้ำหนัก, วัดความยาวปลา และวัดสีผิวปลาที่เปลี่ยนแปลงไปทุกๆ 3 อาทิตย์ เป็นจำนวน 4 ครั้ง ซึ่งการวัดสีจะทำการวัดด้วยเครื่องวัดสี (Chromameter) ด้วยระบบ L*a*b* เพื่อนำค่าที่ได้มาทำการคำนวณหาเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตรารอด อัตราแลกเนื้อ (FCR) (วีรพงศ์, 2536) และค่าของสีที่เปลี่ยนแปลงไป (H° : Hue angle) (ธีรศักดิ์. 2544) ด้วยสมการดังต่อไปนี้

$$\Delta E^*ab = \sqrt{(\Delta L^*)^2+(\Delta a^*)^2+(\Delta b^*)^2}$$

เมื่อ ΔE^*ab = ค่าการเปลี่ยนแปลงสี (H° : Hue angle)

L^* = ค่า lightness variable

a^* and b^* = ค่า chromaticity coordinates

$$\text{เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น} = \frac{\text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}}{\text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}} \times 100$$

$$\text{อัตราแลกเนื้อ (FCR)} = \frac{\text{ปริมาณอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น}}$$

$$\text{อัตรารอด} = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือ} \times 100}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้น}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลอัตราแลกเนื้อ อัตรารอด เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และค่าการเปลี่ยนแปลงสี (H°) ที่ได้ไปวิเคราะห์ทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS 11.0 for Window เพื่อหาความสัมพันธ์ และความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแต่ละทรีตเมนต์ โดยทำการวิเคราะห์แบบ General linear model : Univariate

สถานที่ทำการทดลอง

ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร

ระยะเวลาในการทดลอง

วันที่ 13 มกราคม 2548 – 7 เมษายน 2548 รวมระยะเวลาทดลองทั้งสิ้น 84 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและวิจารณ์

การศึกษาตัวทำละลายในการสกัดสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร

จากการทดลองศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ปริมาณเบตาเลนที่สกัดได้โดยใช้เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์เป็นตัวทำละลายมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ กับ ปริมาณเบตาเลนที่สกัดได้โดยน้ำกลั่น ซึ่งสารสกัดที่ได้จากเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์มีปริมาณเบตาเลนเฉลี่ยเท่ากับ 2.74 มิลลิกรัม/ น้ำหนักเปลือก 100 กรัม ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากน้ำกลั่นมีปริมาณเบตาเลนเฉลี่ยเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัม/ น้ำหนักเปลือก 100 กรัม ดังตารางที่ 1

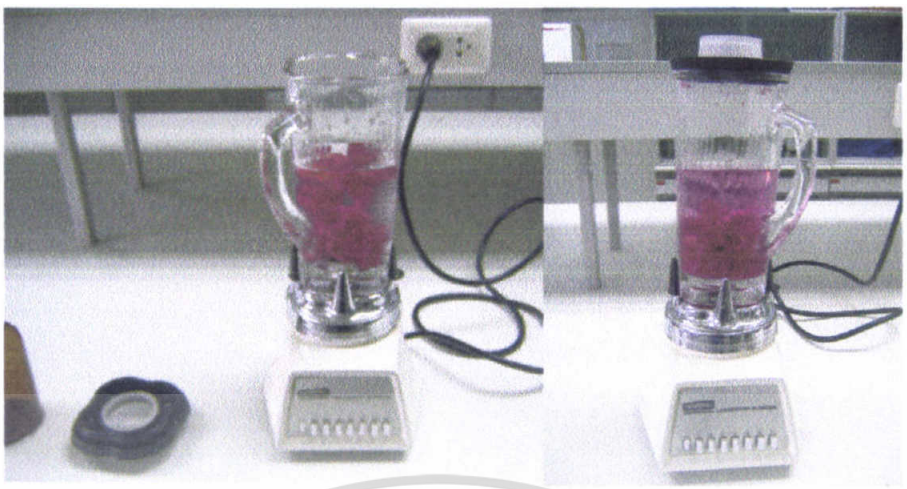
ตารางที่ 1 เปรียบเทียบปริมาณเบตาเลนที่สกัดได้โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

Treatment	น้ำกลั่น	เอทานอล
1	1.90 ± 0.0001^{a}	2.57 ± 0.0002^{b}
2	2.03 ± 0.0002^{a}	2.77 ± 0.0001^{b}
3	2.09 ± 0.0001^{a}	2.88 ± 0.0002^{b}

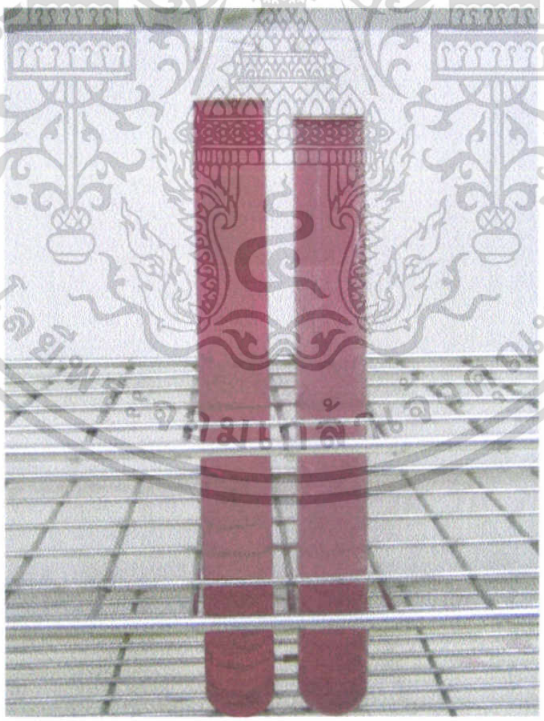
นอกจากนี้ ในขั้นตอนการแช่ พบว่า จากการสังเกตสีของตัวทำละลายเมื่อทำการแช่เปลือกแก้วมังกรสด (ภาพที่ 12) นั้น ตัวทำละลายเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์จะมีสีชมพูเข้ม ในขณะที่น้ำกลั่นจะมีสีใส แสดงให้เห็นว่าเอทานอลสามารถดึงรงควัตถุออกจากเนื้อเยื่อของเปลือกแก้วมังกรได้ดีกว่าน้ำกลั่น

ในขณะที่สีของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด มีสีที่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด คือ สารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายเอทานอลมีสีแดงเข้ม ในขณะที่สารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายน้ำกลั่นมีสีชมพูอ่อน (ภาพที่ 13) นอกจากนี้กากเหลือที่ได้จากการสกัดยังมีลักษณะที่ต่างกัน โดยกากที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลจะมีลักษณะเป็นเยื่อใยแห้ง ในขณะที่กากที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำกลั่นจะมีลักษณะเป็นเมือกเหนียวมาก และทำการสกัดได้ยากกว่าเอทานอล (ภาพที่ 14)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

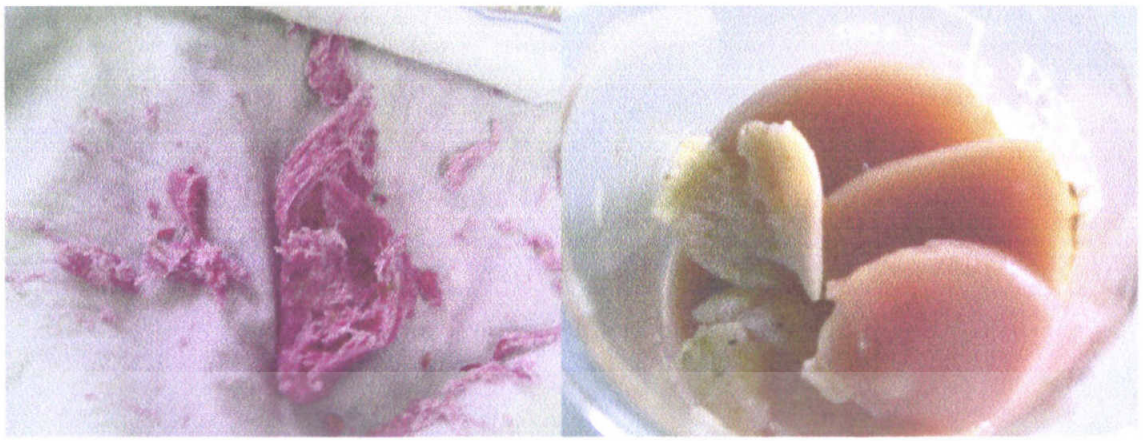


ภาพที่ 12 เปรียบเทียบสีของตัวทำละลาย 2 ชนิดในขั้นตอนการแช่ เพื่อทำการสกัดสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร โดยตัวทำละลายตัวแรก คือ น้ำกลั่น และตัวที่สอง คือ เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 13 เปรียบเทียบสีของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายต่างชนิดกัน โดยชนิดแรก คือ เอทานอล80 เปอร์เซ็นต์ และชนิดที่สอง คือ น้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 14 เปรียบเทียบกากเหลือที่ได้จากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกัน โดยชนิดแรก คือ เอทานอล80 เปอร์เซ็นต์ และชนิดที่สอง คือ น้ำกลั่น

จากผลที่ได้ แสดงให้เห็นว่า ตัวทำละลายที่มีประสิทธิภาพ และเหมาะสมในการสกัดสารเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร คือ เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับ นพพร (2539) ที่ได้มีการรายงานถึงการเลือกใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ ในการสกัดสารแอนโทไซยานิน โดยพบว่า เอทานอลมีประสิทธิภาพในการสกัดแอนโทไซยานินได้ดีกว่าน้ำกลั่น

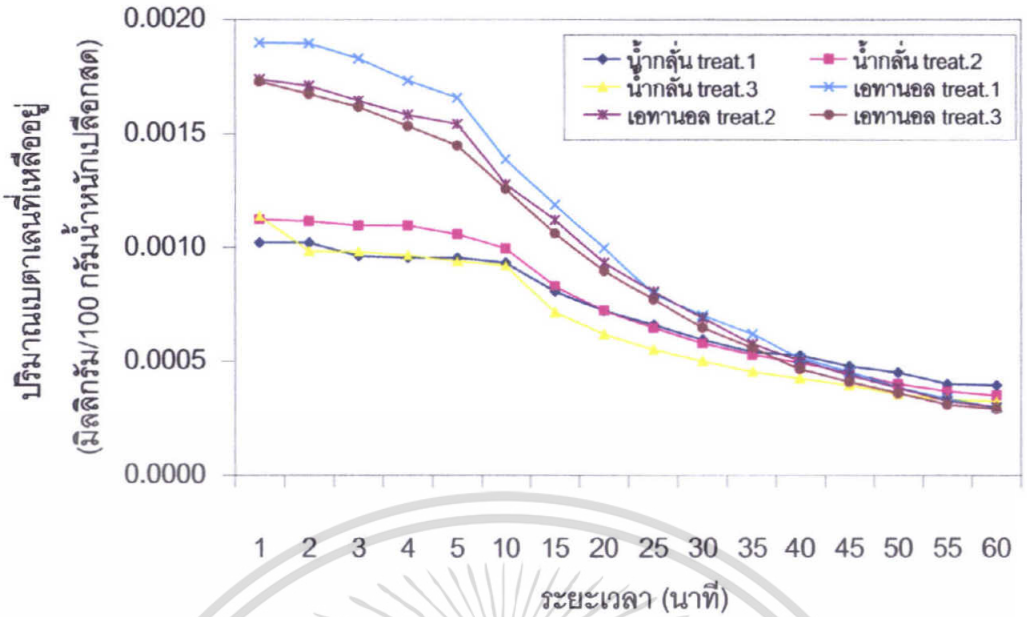
การศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลน

จากการทดลองศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลน ผลที่ได้ พบว่าความเสถียรของเบตาเลนจะมีค่าลดลงเมื่ออยู่ในสภาวะที่อุณหภูมิสูงขึ้น ดังภาพที่ 15-17 โดยจากภาพ แสดงให้เห็นว่าเบตาเลนจะมีความเสถียรมากที่สุดที่อุณหภูมิต่ำ คือ อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส รองลงมา คือ 100 และ 120 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Merin และคณะ (1987) ซึ่งได้ทำการศึกษาถึงการลดลงของรงควัตถุสีแดง หรือเบตาไซยานินเนื่องจากความร้อนในการสกัด prickly pear fruit ที่สกัดโดยเอทานอล พบว่า ความเสถียรของเบตาไซยานินจะมีแนวโน้มที่ลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น

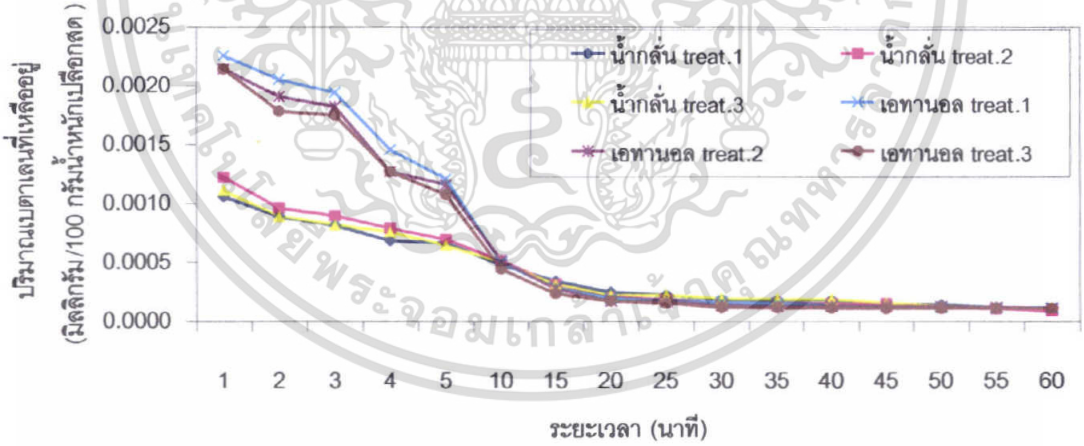
การศึกษาความเป็นกรด - ด่าง (pH) ที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลนจากเปลือกมังกร

จากการทดลองศึกษาความเป็นกรด - ด่าง (pH) ที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลนจากเปลือกมังกร พบว่าเบตาเลนจะมีความเสถียรมากที่สุดที่อุณหภูมิต่ำ คือ อุณหภูมิห้อง รองลงมา คือ อุณหภูมิ 72 และ 100 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในขณะที่ ที่ค่าความเป็นกรด – ด่างเบตาเลนจะมีความเสถียรมากที่สุด เมื่อมีค่าความเป็นกรด – ด่าง ที่มีความเป็นกรดอ่อน คือ ที่ pH 5 และ 6 รองลงมา คือ ที่ 3, 4 และ 7 ตามลำดับ ดังภาพที่ 18-23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

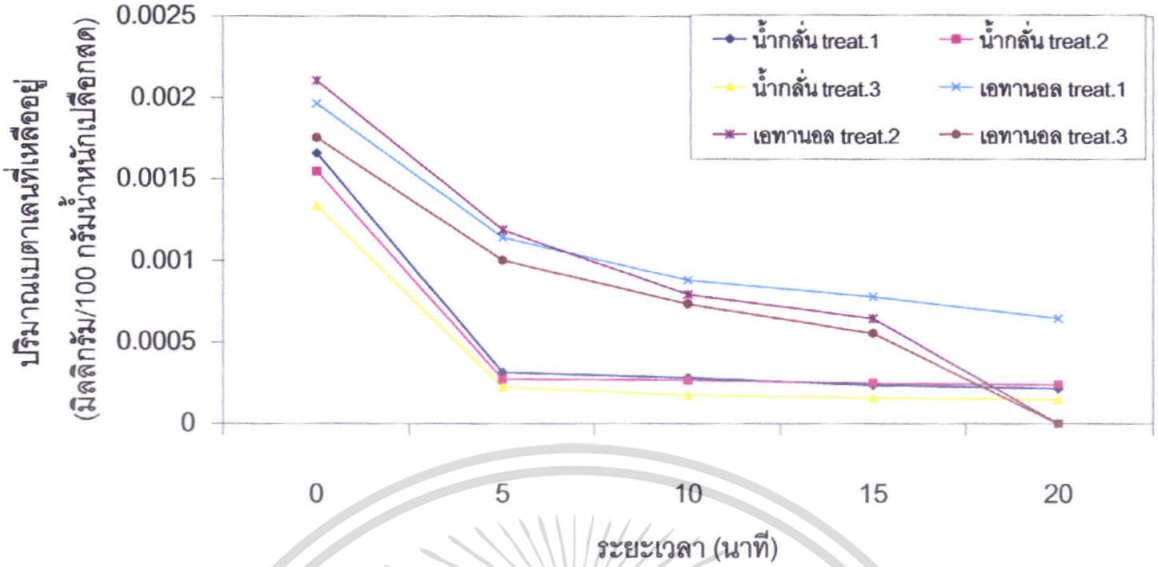


ภาพที่ 15 แนวโน้มความเสถียรของรงควัตถุเบตาเลนเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

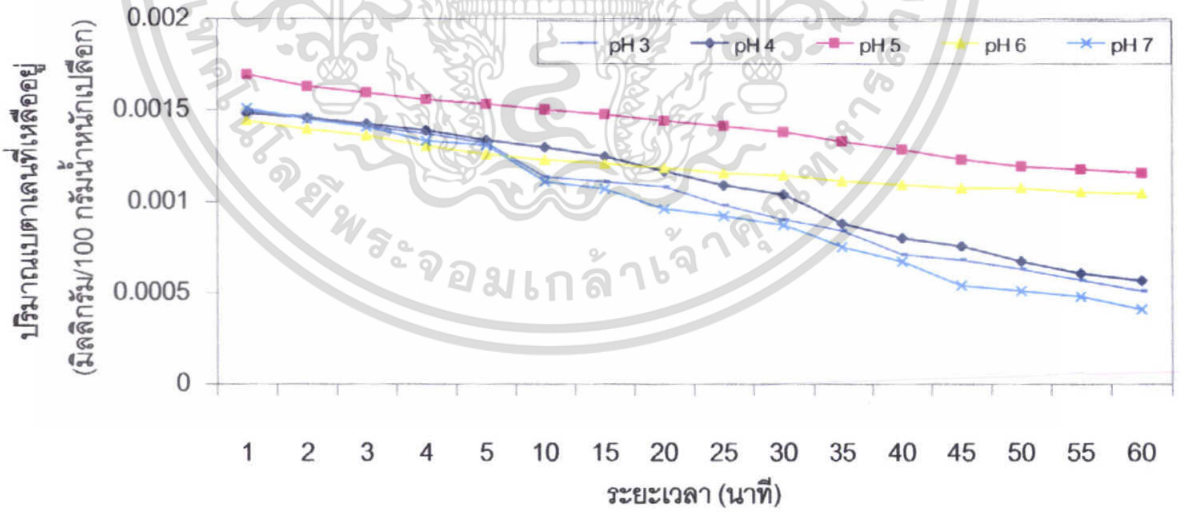


ภาพที่ 16 แนวโน้มความเสถียรของรงควัตถุเบตาเลนเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

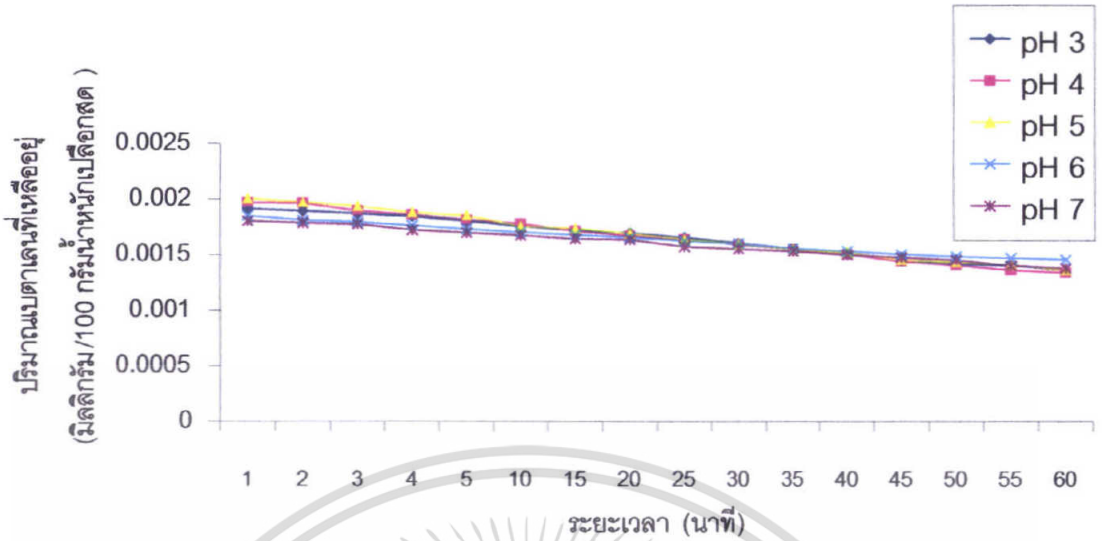


ภาพที่ 17 แนวโน้มความเสถียรของรงควัตถุเบตาเลนเมื่ออยู่ในสภาวะที่มีอุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส โดยเปรียบเทียบสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์

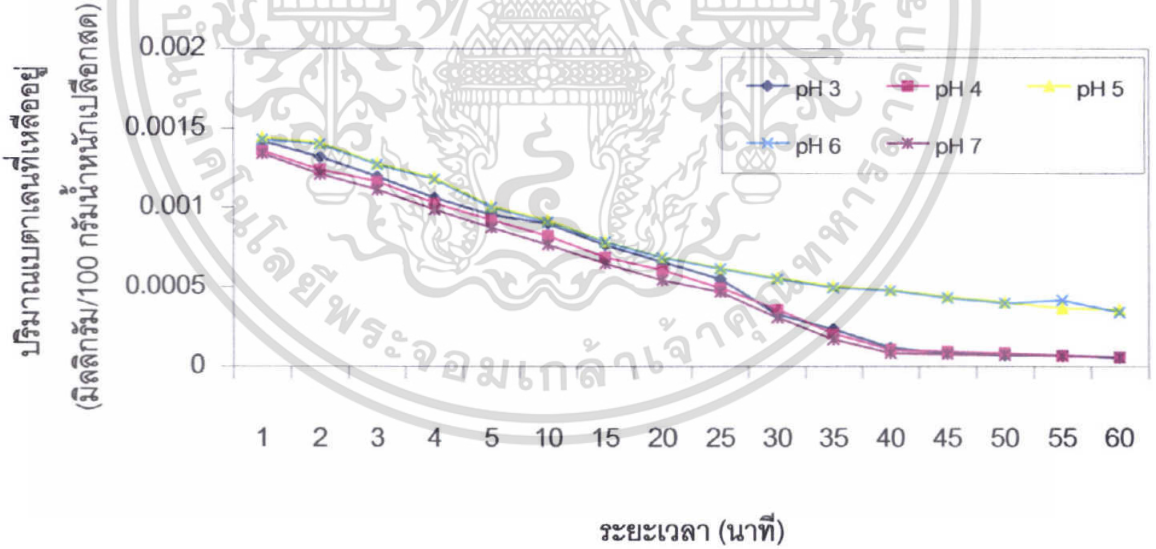


ภาพที่ 18 เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆ กัน ที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

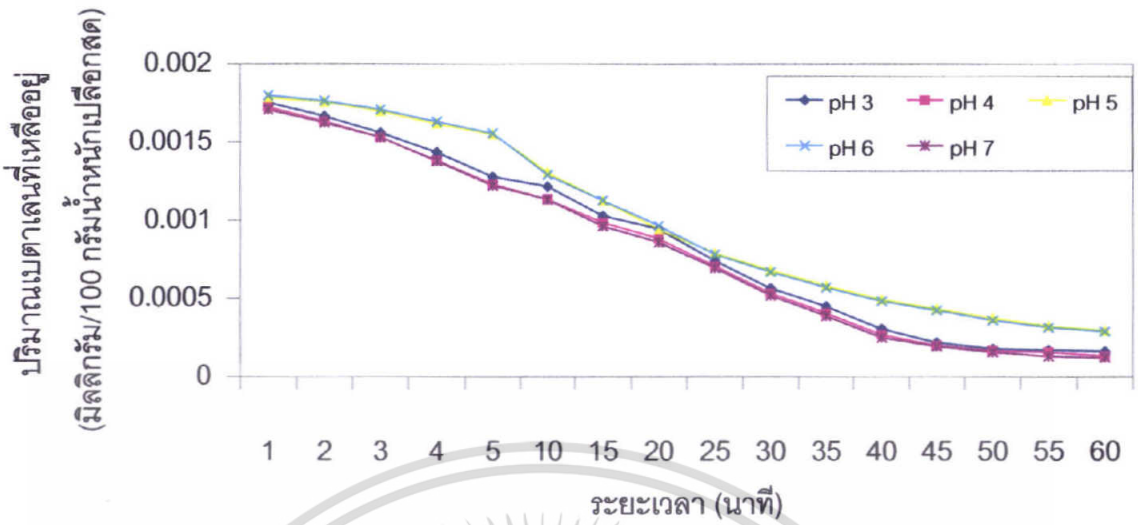


ภาพที่ 19 เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆ กัน ที่อุณหภูมิห้อง

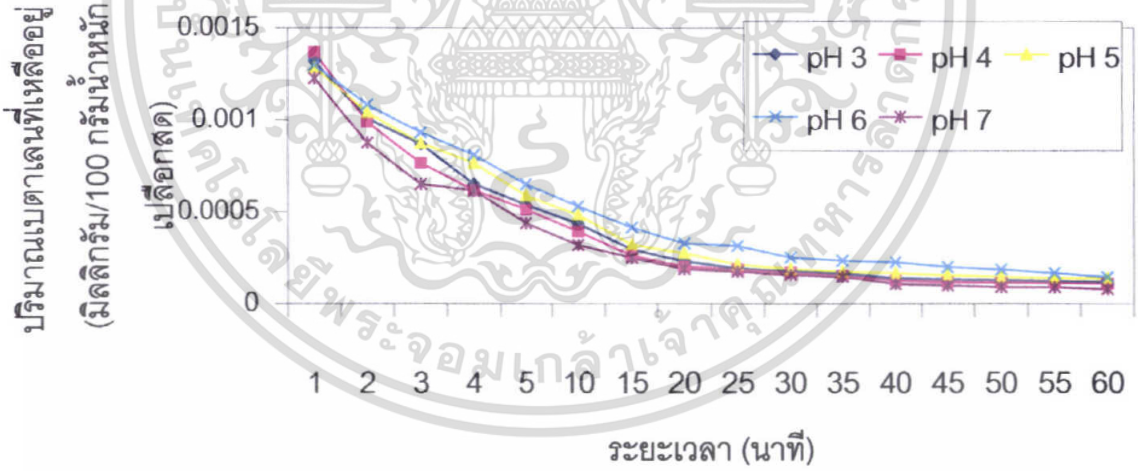


ภาพที่ 20 เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆ กัน ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

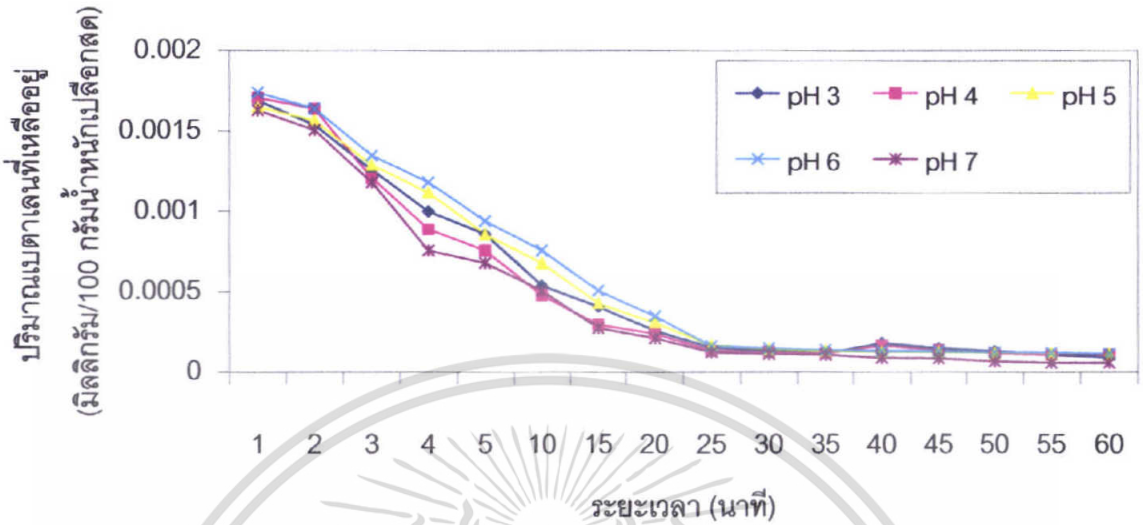


ภาพที่ 21 เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆ กัน ที่อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 22 เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำกลั่น ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆ กัน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 23 เปรียบเทียบความเสถียรของเบตาเลนที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล ในสภาวะที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่างๆ กัน ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

การใช้สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรในการเร่งสีปลากุหลาบแดง

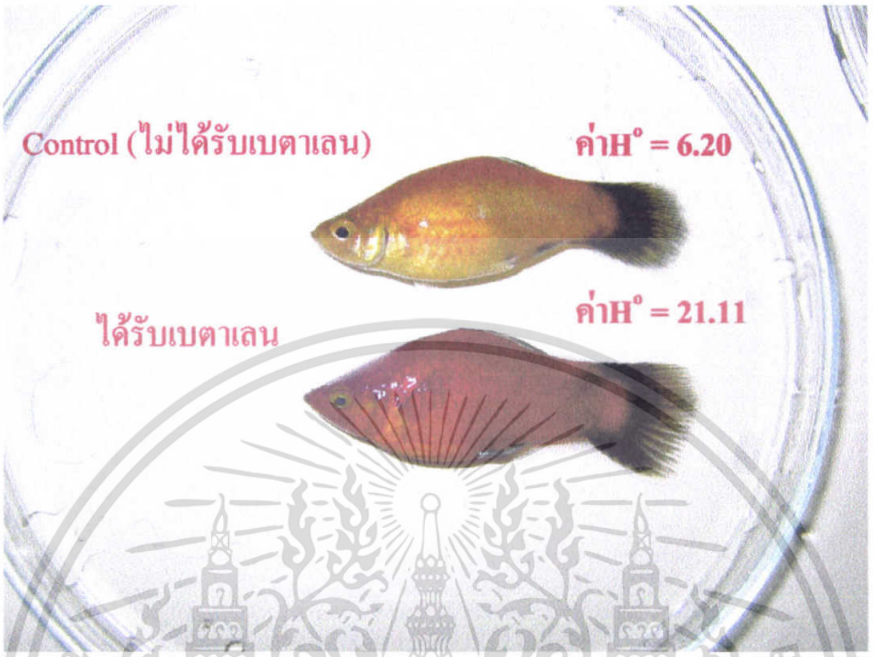
จากการทดลองใช้สารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรในการเร่งสีปลากุหลาบแดง ซึ่งได้ทำการศึกษาผลของสารสกัดที่มีผลต่อ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตรารอด อัตราแลกเนื้อ (FCR) และค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไป (H°) พบว่า ได้ผลดังตารางที่ 2

จากตารางที่ 2 จะเห็นได้ว่าสารสกัดเบตาเลนที่ได้จากเปลือกแก้วมังกรสด และสารสกัดเบตาเลนที่ได้จากเปลือกแก้วมังกรอบแห้ง ที่ความเข้มข้น 20, 30, 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีผลต่ออัตราแลกเนื้อ (FCR) และเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นแต่อย่างใด ในขณะที่ ปลาที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกสดมีอัตรารอดสูงกว่าปลาในกลุ่มควบคุม และปลาที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกแห้งแบบผง โดยปลาที่รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 20, 30 และ40 เปอร์เซ็นต์ มีอัตรารอดสูงกว่าปลาที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และปลาที่ไม่ได้รับสารสกัดเบตาเลน

ส่วนค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไป (H°) ของปลาในแต่ละทรีตเมนท์ เมื่อทำการวัดทุกๆ 3 อาทิตย์ เป็นจำนวน 4 ครั้งพบว่า มีการเพิ่มขึ้นทุกๆ ครั้ง ดังตารางที่ 3 เมื่อหาค่าความเปลี่ยนแปลงของสีจากเริ่มต้น จนถึงสิ้นสุดการทดลองพบว่า ปลาที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรสดจะมีค่าความเปลี่ยนแปลงของสีผิวปลาสูงสุด รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรผงอบแห้ง และปลาในกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ในขณะที่ปลาที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์มีค่าความเปลี่ยนแปลงของสีผิวปลาสูงสุด รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับสารสกัดความเข้มข้น 40, 30, 20 เปอร์เซ็นต์ และปลากลุ่มควบคุม ตามลำดับ



ภาพที่ 24 เปรียบเทียบสีผิวปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง โดยปลาตัวแรกเป็นตัวแทนที่สุ่มมาจากปลาที่ไม่ได้รับสารสกัดเบตาเลน (กลุ่มควบคุม) ซึ่งมีค่าH° เท่ากับ 6.20 ในขณะที่ปลาตัวที่สองเป็นตัวแทนของปลาที่ได้รับสารสกัดเบตาเลน ถูกสุ่มมาจากหน่วยทดลองที่ 5 (T5) ซึ่งได้รับสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรสด ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ โดยมีค่าH° เท่ากับ 21.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แสดงเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น, อัตรารอด, อัตราแลกเนื้อ (FCR) และค่าการเปลี่ยนแปลงสีที่เพิ่มขึ้น (H°) ของแต่ละหน่วยทดลอง เมื่อสิ้นสุดการทดลอง

ชุดการทดลอง	อัตราแลกเนื้อ	อัตรารอด	เปอรเซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น	ค่าวัดสี H°
ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่เสริมเบตาเลน)	21.4 ± 1.62^{Aa}	88.89 ± 2.22^{Aa}	1.03 ± 0.06^{Aa}	7.57 ± 0.28^{Aa}
ชุดการทดลองที่ 2 สารสกัดเปลือกสด ความเข้มข้น 20 %	20.7 ± 1.78^{Aa}	97.78 ± 2.22^{Bb}	1.24 ± 0.08^{ABa}	11.29 ± 0.34^{Bc}
ชุดการทดลองที่ 3 สารสกัดเปลือกสด ความเข้มข้น 30 %	$18.6 \pm .0.93^{Aa}$	100 ± 0^{Bb}	1.33 ± 0.05^{ABa}	17.79 ± 0.18^{Cc}
ชุดการทดลองที่ 4 สารสกัดเปลือกสด ความเข้มข้น 40 %	19.8 ± 1.67^{Aa}	97.78 ± 2.22^{Bb}	1.31 ± 0.06^{ABa}	20.05 ± 0.70^{Dc}
ชุดการทดลองที่ 5 สารสกัดเปลือกสด ความเข้มข้น 50 %	19.1 ± 1.15^{Aa}	97.78 ± 2.22^{Bab}	1.26 ± 0.02^{ABa}	22.07 ± 0.48^{Ec}
ชุดการทดลองที่ 6 สารสกัดเปลือกแห้งแบบผง ความเข้มข้น 20 %	20.3 ± 1.03^{Aa}	91.11 ± 2.22^{Ab}	1.20 ± 0.01^{Ba}	9.15 ± 0.22^{Bb}
ชุดการทดลองที่ 7 สารสกัดเปลือกแห้งแบบผง ความเข้มข้น 30 %	23.2 ± 0.13^{Aa}	95.56 ± 2.22^{Ab}	1.20 ± 0.02^{Ba}	12.61 ± 0.12^{Cb}
ชุดการทดลองที่ 8 สารสกัดเปลือกแห้งแบบผง ความเข้มข้น 40 %	20.7 ± 0.37^{Aa}	93.33 ± 3.84^{Ab}	1.19 ± 0.06^{Ba}	14.88 ± 0.76^{Db}
ชุดการทดลองที่ 9 สารสกัดเปลือกแห้งแบบผง ความเข้มข้น 50 %	$20.2 \pm .031^{Aa}$	88.89 ± 2.22^{Aab}	1.18 ± 0.01^{Ba}	18.37 ± 0.03^{Eb}

ตารางที่ 3 เปรียบเทียบค่าสีที่เปลี่ยนแปลงไป (H°) ของปลาในแต่ละทรีตเมนท์ ที่เพิ่มขึ้นในการวัดแต่ละครั้ง

ชุดการทดลอง	ครั้งที่ 1	2	3	4	5
ชุดการทดลองที่ 1 กลุ่มควบคุม (ไม่เสริมเบตาเลน)	54.69 ± 1.66	57.43 ± 0.32	58.76 ± 0.39	59.93 ± 1.29	62.26 ± 1.43
ชุดการทดลองที่ 2 สารสกัดเปลือกสด ความเข้มข้น 20 %	50.58 ± 0.43	55.35 ± 1.05	57.89 ± 0.3	60.44 ± 1.11	61.87 ± 0.95
ชุดการทดลองที่ 3 สารสกัดเปลือกสด ความเข้มข้น 30 %	46.81 ± 0.07	56.39 ± 3.22	59.56 ± 0.33	61.62 ± 0.42	64.6 ± 0.95
ชุดการทดลองที่ 4 สารสกัดเปลือกสด ความเข้มข้น 40 %	43.64 ± 1.9	56.31 ± 1.06	59.31 ± 0.47	61.57 ± 1.48	63.7 ± 0.6
ชุดการทดลองที่ 5 สารสกัดเปลือกสด ความเข้มข้น 50 %	41.61 ± 0.98	55.98 ± 1.36	58.31 ± 1.26	60.32 ± 1.26	63.69 ± 0.86
ชุดการทดลองที่ 6 สารสกัดเปลือกแห้งแบบผง ความเข้มข้น 20 %	54.24 ± 0.88	55.69 ± 1.47	57.51 ± 2.13	60.19 ± 1.12	63.4 ± 1.42
ชุดการทดลองที่ 7 สารสกัดเปลือกแห้งแบบผง ความเข้มข้น 30 %	50.42 ± 1.54	55.83 ± 1.83	58 ± 2.7	60.83 ± 1.17	63.04 ± 0.61
ชุดการทดลองที่ 8 สารสกัดเปลือกแห้งแบบผง ความเข้มข้น 40 %	49.93 ± 2.14	57.02 ± 1.2	58.5 ± 2.51	60.21 ± 1.66	64.81 ± 2.18
ชุดการทดลองที่ 9 สารสกัดเปลือกแห้งแบบผง ความเข้มข้น 50 %	45.88 ± 0.95	56.68 ± 1.52	57.75 ± 1.68	61.83 ± 2.17	64.25 ± 2.25

สรุป

จากการศึกษาผลของสารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรในการเร่งสีปลากุหลาบแดง โดยเริ่มทำการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร ซึ่งจากการศึกษาในตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำกลั่น และเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณเบตาเลนที่ตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิดสามารถสกัดได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยสารสกัดจากเอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเบตาเลนเฉลี่ยเท่ากับ 2.74 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักเปลือก 100 กรัม ในขณะที่ สารสกัดจากตัวทำละลายน้ำกลั่นมีปริมาณเบตาเลนเฉลี่ยเท่ากับ 2.0 มิลลิกรัมต่อน้ำหนักเปลือก 100 กรัม แสดงว่า เอทานอล 80 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดในการสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกร

นอกจากนี้ ได้ทำการศึกษาอุณหภูมิ และความเป็นกรด – ด่าง ที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลน ซึ่งได้ทำการศึกษาที่อุณหภูมิ 72 100 และ 121 องศาเซลเซียส โดยนำไปเปรียบเทียบกับอุณหภูมิห้อง พบว่า ที่อุณหภูมิทั้งสามอุณหภูมิมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยอุณหภูมิที่เบตาเลนมีความเสถียรมากที่สุด คือ ที่อุณหภูมิต่ำ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง รองลงมา คือ ที่อุณหภูมิ 72 100 และ 120 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ในขณะที่เมื่อทำการศึกษาความเป็นกรด – ด่างที่มีผลต่อความเสถียรของเบตาเลน ซึ่งได้ทำการศึกษาที่ความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 3 4 5 6 และ 7 พบว่า เบตาเลนมีความเสถียรมากที่สุดเมื่อมีค่าความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 5 และ 6 ซึ่งเป็นกรดอ่อน รองลงมาคือ ที่ความเป็นกรด – ด่าง เท่ากับ 3 4 และ 7 ตามลำดับ

จากการศึกษาผลของสารสกัดเบตาเลนจากเปลือกแก้วมังกรในการเร่งสีปลากุหลาบแดง โดยการเปรียบเทียบสารสกัดสองชนิด ได้แก่ สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรสด และสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรผง โดยให้ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 0 20 30 40 และ 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดทั้ง 2 ชนิด คือ สารสกัดจากเปลือกสด และสารสกัดจากเปลือกอบแห้ง รวมถึงที่ความเข้มข้นทั้ง 5 ระดับ ไม่มีผลต่อเปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น และอัตราแลกเนื้อของปลากุหลาบแดง แต่ปลาที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกสดมีอัตรารอดสูงกว่าปลาในกลุ่มควบคุม และปลาที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกแห้งแบบผง โดยปลาที่รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 20 30 และ40 เปอร์เซ็นต์ มีอัตรารอดสูงกว่าปลาที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ และปลาที่ไม่ได้รับสารสกัดเบตาเลน

ในขณะที่ค่าการวัดสีที่เพิ่มขึ้น (H°) ของปลาที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกสด มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับปลาที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกอบแห้ง และกลุ่มควบคุม โดยปลาที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกสดจะมีค่าการวัดสีที่เพิ่มขึ้น (H°) สูงสุด รองลงมา คือ ปลาที่สารสกัดจากเปลือกอบแห้ง และกลุ่มควบคุม ตามลำดับ ในขณะที่ ปลาที่ได้รับสารสกัดที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นทั้ง 5 ระดับ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติอย่างสิ้นเชิง โดยปลาที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าการวัดสีที่เพิ่มขึ้น (H°) สูงสุด รองลงมา คือ ปลาที่ได้รับสารสกัดที่ความเข้มข้น 40 30 20 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับกลุ่มควบคุมตามลำดับ ตามลำดับ

ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่าปลากุหลาบแดงที่ได้รับสารสกัดจากเปลือกสด ที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่าการวัดสีที่เพิ่มขึ้น (H°) สูงสุด

ข้อเสนอแนะ

ในการเก็บรักษาสารสกัด สำหรับการใช้งานนั้น ควรเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส และเก็บไว้ในขวดทึบเพื่อป้องกันแสงและความร้อน เพื่อช่วยยืดอายุให้แก่สารสกัด และไม่ควรเก็บไว้เกิน 2 เดือน เนื่องจากสารสกัดสามารถเสื่อมสภาพได้ตามอายุ หากต้องการนำสารสกัดไปใช้ในการผลิตอาหารปลา คุณสมบัติของอาหารปลาควรมีความเป็นกรด - ด่าง อยู่ในช่วง 5 - 6 และไม่ควรใช้ความร้อนสูงในการเตรียมอาหาร เนื่องจากจะส่งผลให้สารสกัดเสื่อมสภาพได้ง่าย

สิ่งที่ควรศึกษาเพิ่มเติม

ศึกษาการเตรียมสารสกัดแบบผง และคุณสมบัติของสารสกัด

ศึกษาผลในระยะยาวของสารสกัดเบตาเลน ที่มีผลต่อปลา

ศึกษาระยะเวลาที่สั้นที่สุด ในการเสริมสารสกัดเบตาเลนที่มีผลต่อการเพิ่มสีของปลาสูงที่สุด

ศึกษาปัจจัยที่มีผลทำให้สารสกัดเบตาเลนมีอายุการใช้งานได้นานขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ทศพร เกษมภักดี ปิยพร เลิศธนะแสงธรรม และอรนาฏ พัฒนกุลพงศ์. 2547. **สมบัติทางด้านสีและการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นของสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร, โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.**

ธีระศักดิ์ วิเชียรเกื้อ. 2544. **ผลของแสงต่อการสะสมแอสตาแซนทินในปลาทอง. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.**

นพพร สงค์อิ่ม. 2539. **การสกัดและการประยุกต์ใช้ของสารประกอบแอนโทไซยานิน. โครงงานพิเศษ. ภาควิชาเคมีอุตสาหกรรม, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร.**

วีรพงศ์ วุฒิพันธุ์ชัย. 2536. **อาหารปลา. ภาควิชาวาริชศาสตร์, คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา, ชลบุรี.**

สิรินาถ ตัณฑเกษม. 2545. **การศึกษาสมบัติและความคงตัวของรงควัตถุแอนโทไซยานินจากดอกกระเจี๊ยบแดงในเยลลี่. อาหาร.** 32(2) : 124-130.

สุทธิลักษณ์ วัฒนกุล. 2545. **ปลาสวยงาม. สารานุกรมปลาน้ำจืด. โรงเรียนหาดใหญ่รัฐประชาสรรค์**

สุรพงษ์ โกสิยะจินดา. 2545. **แก้วมังกร พืชเศรษฐกิจ ผลไม้เพื่อสุขภาพ. สมาคมพืชสวนแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ.**

Boonyaratpalin, M., N. Unprasert. 1989. Effect of pigment from different sources on colour changes and growth of red *Oreochromis niloticus*. Aquaculture.79 (1-4) : 375-380.

Cai, Y., M. Sun and H. Corke. 1998. Colorant Properties and stability of *Amaranthus* Betacyanin pigment. J. Agric. Food Chem. 46 : 4491-4495.

Castellar, R., Obon, J.M., Alacid, M., Fernandez-Lopez, J.A. 2003. Color properties and stability of betacyanins from Opuntia fruit. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51 : 2772-2776.

Forni, E., Polesello, A., Maestrelli, A. 1992. HPLC analysis the pigment of blood-red prickly pear (*Opuntia ficus-indica*). Journal of Chromatography. 593 : 177-183.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gibson, A.C., Nobel, P.S. 1986. The cactus primer. Harvard University Press, Cambridge.

Jose' A.F.L. and L. Almela. 2001. Application of high-performance liquid chromatography to the characterization of the betalain pigment in prickly pear fruits. Journal of Chromatography A. 913 (1-2) : 415-420.

Merin, U., Gagel, S., popel, G. Bernstein, S. and Rosenthal, I. 1987. Thermal degradation kinetics of prickly-pear-fruit red pigment. Journal of Food Science. 52 : 485-486.

Piatteli, M. 1981. The betalains : Structure, biosynthesis and chemical taxonomy. The Biochemistry of plants. 7 : 557-573.

Stintzing, F.C., Schieber, A., Carle, R. 2002. Betacyanins in fruits from red-purple pitaya *Hylocereus polyrhizus (Weber) Britton and Rose*. Food Chemistry. 77 : 101-106.

Stintizing, F.C., J. conrad, I. Klaiber, U. Beifuss and R. Carle. 2004. Structural investigations on betacyanin pigments by LC NMR an 2D NMR spectroscopy. Phytochemistry. 65 (4) : 415-422.

Yew, H.C. and S.C. Jeng. 1992. Pigmentation of kuruma prawn, *Penaeus japonicus* Bate, by various pigment sources and levels and feeding regimes. Aquaculture.102 (4) : 333-346.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- **การเตรียมสารละลายซิเตรทฟอสเฟตบัฟเฟอร์ ที่ค่าความเป็นกรด – ด่าง ต่างๆ**

สารละลาย A :

ละลายกรดซิตริก (Citric acid) 96.10 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จะได้สารละลาย A ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

สารละลาย B :

ละลาย $Na_2HPO_4.12H_2O$ 179 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร จะได้สารละลาย B ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์

ภาคผนวก ข.
การคำนวณปริมาณเบตาไซยานินในสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร

- สูตรในการคำนวณปริมารเบตาไซยานิน

$$A = abc$$

เมื่อ A = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง ที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร

a = ค่า Extriction coefficient ของเบตาไซยานินที่ 538 นาโนเมตร เท่ากับ 1120

b = ความกว้างเซลล์ (คิวเวต) 1 เซนติเมตร

c = ปริมาณเบตาไวยานินในสารสกัดตัวอย่าง (กรัม)

ตัวอย่าง

สารสกัดจากเปลือกแก้วมังกรที่ระดับการเจือจาง 10 เท่า มีค่าการดูดกลืนแสง เท่ากับ 0.298

แทนค่าสูตร $0.298 = 1120 \times 1 \times c$

$c = 2.66 \times 10^{-4}$ กรัม

สารสกัดตัวอย่างมีระดับการเจือจาง 10 เท่า มีปริมาณเบตาไซยานิน $= 2.66 \times 10^{-4}$ กรัม

สารสกัดตัวอย่างมีระดับความเข้มข้นปกติ มีปริมาณเบตาไซยานิน $= 2.66 \times 10^{-3}$ กรัม

(ระดับความเข้มข้นปกติของสารสกัด ได้จากเปลือกแก้วมังกร 100 กรัมต่อตัวทำละลาย 500 มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

ปริมาณเบตาไซยานินที่เหลืออยู่ในสารสกัดจากเปลือกแก้วมังกร ที่อยู่สภาวะของอุณหภูมิ และค่าความเป็นกรด - ด่างที่แตกต่างกัน

	อุณหภูมิห้อง									
	น้ำกลั่น					เอทานอล				
เวลา	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7
1	0.001496	0.00148313	0.00169841	0.00144444	0.00151	0.00191766	0.00197222	0.00200694	0.00185317	0.00180754
2	0.001463	0.00145933	0.00163194	0.00139683	0.001452	0.00189881	0.00197024	0.00197817	0.00181448	0.00179067
3	0.001412	0.0014256	0.00159722	0.00136111	0.001408	0.00187302	0.00190179	0.00194048	0.00179762	0.00178075
4	0.001372	0.00139087	0.00155952	0.00130655	0.001332	0.0018502	0.00186607	0.0018869	0.00176885	0.00172817
5	0.001321	0.00133631	0.00153274	0.00125893	0.001309	0.00180853	0.00181845	0.00186012	0.00173611	0.00170437
10	0.001135	0.00129563	0.001502	0.00122817	0.00111	0.0017629	0.00178373	0.0017629	0.00170635	0.00167857
15	0.00111	0.00124802	0.001477	0.00121032	0.00107	0.00172321	0.00172024	0.00174008	0.00168254	0.00164683
20	0.00108	0.00116468	0.001443	0.00118353	0.00096	0.0016994	0.00167758	0.00169444	0.00166071	0.00164187
25	0.00098	0.00109127	0.001413	0.001156	0.00092	0.00165873	0.00164484	0.00164385	0.00162698	0.00157837
30	0.0009	0.00103869	0.001382	0.001144	0.00087	0.00160813	0.00159821	0.0016002	0.00160516	0.00155655
35	0.00084	0.00087996	0.001329	0.001113	0.00075	0.00155952	0.00155754	0.00155655	0.00155952	0.00153671
40	0.00071	0.00079861	0.001284	0.001093	0.00067	0.00150992	0.00150893	0.00152381	0.00153869	0.00150397
45	0.00068	0.00075397	0.001232	0.001075	0.00054	0.00144742	0.00144643	0.00145635	0.00150992	0.00148313
50	0.00063	0.00067361	0.001194	0.0010754	0.00051	0.00142163	0.00140873	0.0014375	0.00148909	0.00145734
55	0.00057	0.00060615	0.001178	0.00105357	0.00048	0.00140972	0.00136508	0.0014127	0.00147817	0.00140774
60	0.00051	0.00056746	0.00115774	0.00104663	0.00041	0.00136508	0.00134226	0.00136706	0.00146131	0.00138294

	อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส									
	น้ำกลั่น					เอทานอล				
เวลา	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7
1	0.001418651	0.001357143	0.001444444	0.001428571	0.001339286	0.001753968	0.001725198	0.00178869	0.001800595	0.001710317
2	0.001318452	0.001238095	0.001409722	0.001397817	0.00121131	0.001666667	0.001632937	0.001760913	0.001765873	0.001625992
3	0.001194444	0.001165675	0.001277778	0.001268849	0.001112103	0.001561508	0.001531746	0.001698413	0.001709325	0.001530754
4	0.001060516	0.00102877	0.001190476	0.001176587	0.000989087	0.001435516	0.001384921	0.001617063	0.001631944	0.001376984
5	0.000955357	0.000924603	0.001007937	0.001000992	0.000875	0.00127877	0.001231151	0.001550595	0.001555556	0.001222222
10	0.000899802	0.000821429	0.000923611	0.000909722	0.000768849	0.001217262	0.001134921	0.00130754	0.001289683	0.001131944
15	0.000763889	0.000689484	0.000785714	0.000781746	0.000649802	0.001030754	0.000987103	0.001124008	0.001127976	0.000963294
20	0.000657738	0.000609127	0.000688492	0.000685516	0.000544643	0.000948413	0.000886905	0.000944444	0.00096627	0.000861111
25	0.000549603	0.000494048	0.000621032	0.000616071	0.000467262	0.000743056	0.000708333	0.000792659	0.00078373	0.000698413
30	0.000327381	0.000357143	0.000559524	0.000551587	0.000309524	0.000564484	0.000534722	0.000680556	0.000670635	0.000518849
35	0.000235119	0.000207341	0.000508929	0.000494048	0.000172619	0.000451389	0.00040873	0.000585317	0.000569444	0.000390873
40	0.00012004	0.000108135	0.000483135	0.00047619	8.53175E-05	0.000305556	0.000272817	0.000496032	0.000485119	0.000253968
45	8.51190E-05	9.4246E-05	0.000441468	0.000430556	7.93651E-05	0.000220238	0.000201389	0.000435516	0.000425595	0.000196429
50	6.96429E-05	8.4623E-05	0.00040377	0.000396825	7.34127E-05	0.000179563	0.000168651	0.000376984	0.000360119	0.000159722
55	7.04365E-05	7.12302E-05	0.000368056	0.000416667	6.64683E-05	0.000172619	0.000157738	0.000324405	0.000314484	0.000131944
60	5.46627E-05	5.9127E-05	0.000358135	0.000340278	5.75397E-05	0.00016369	0.000135913	0.000296627	0.000289683	0.000124008

	อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส									
	น้ำกลั่น					เอทาอนอล				
เวลา	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7	pH 3	pH 4	pH 5	pH 6	pH 7
1	0.001321	0.00137	0.001289	0.001301	0.00123	0.00169	0.00171	0.001654	0.00174	0.00163
2	0.00101	0.00099	0.001042	0.001084	0.000876	0.00154	0.00164	0.00157	0.00164	0.00151
3	0.000868	0.000767	0.000878	0.000933	0.000654	0.00126	0.00121	0.00129	0.00135	0.00118
4	0.000654	0.000621	0.000767	0.000811	0.000616	0.001	0.00089	0.00112	0.00118	0.00076
5	0.000541	0.000515	0.000589	0.000649	0.000439	0.00086	0.00076	0.00086	0.00094	0.00068
10	0.000436	0.000396	0.000485	0.000531	0.000321	0.00054	0.00048	0.00068	0.00076	0.00051
15	0.000297	0.000264	0.000324	0.000414	0.000251	0.00041	0.000298	0.00043	0.00051	0.000274
20	0.000232	0.000206	0.000276	0.000329	0.000191	0.00026	0.000241	0.00031	0.00035	0.000214
25	0.000195	0.000187	0.000215	0.000315	0.000176	0.000152	0.000135	0.000167659	0.000164	0.000125
30	0.000178	0.000171	0.00019	0.000251	0.000159	0.000135	0.000127	0.000142857	0.000151	0.000116
35	0.000167	0.000156	0.000176	0.000235	0.000147	0.00012	0.000119	0.000134921	0.00014	0.00011
40	0.000141	0.000126	0.000169	0.000226	0.000108	0.00018	0.00017	0.000128968	0.000132	0.00009
45	0.000132	0.000119	0.000157	0.000202	0.0001	0.00015	0.00014	0.000126984	0.00013	0.000089
50	0.000129	0.000117	0.00015	0.000187	0.00009	0.00013	0.00012	0.000122024	0.000124	0.00007
55	0.000125	0.000115	0.000145	0.000169	0.00009	0.00011	0.00011	0.000119048	0.000121	0.00006
60	0.000121	0.000111	0.000142	0.000148	0.00008	0.00009	0.00011	0.000114087	0.000116	0.00006