การใช้ประโยชน์ของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ (*Lycopersicon esculentum* Mill.) เป็นสารยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารปลาแฟนซีคาร์พ (*Cyprinus carpio* Linn.)

UTILIZATION OF LYCOPENE FROM TOMATO (*Lycopersicon esculentum* Mill.) AS NATURAL ANTIOXIDANT IN FANCY CARP (*Cyprinus carpio* Linn.) FEED

กันยนา ตงศิริ

KANYANA TONGSIRI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2553

KMITL-2010-AG-M-081-050

การใช้ประโยชน์ของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ (*Lycopersicon esculentum* Mill) เป็นสารยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารปลาแฟนซีคาร์พ (*Cyprinus carpio* Linn.)

UTILIZATION OF LYCOPENE FROM TOMATO (*Lycopersicon esculentum* Mill) AS NATURAL ANTIOXIDANT IN FANCY CARP (*Cyprinus carpio* Linn.) FEED

กันยนา ตงศิริ

KANYANA TONGSIRI

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การประมง

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2553

KMITL-2010-AG-M-081-050

UTILIZATION OF LYCOPENE FROM TOMATO (*Lycopersicon esculentum* Mill) AS NATURAL ANTIOXIDANT IN FANCY CARP (*Cyprinus carpio* Linn.) FEED

KANYANA TONGSIRI

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FISHERIES SCIENCE
FACULTY OF AGRICULTURAL TECHNOLOGY
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2010

KMITL-2010-AG-M-081-050

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้ประโยชน์ของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ (*Lycopersicon esculentum* Mill) เป็นสารยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารปลาแฟนซีคาร์พ (*Cyprinus carpio* Linn.) Utilization of Lycopene from Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) as Natural Antioxidant in Fancy Carp (*Cyprinus carpio* Linn.) Feed
นักศึกษา	นางสาวกันยนา ตงศิริ
รหัสประจำตัว	50065951
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมง
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		**ลายมือชื่อ**
รศ.ดร.สมชาย	หวังวิบูลย์กิจ	
ดร.สมศรี	งามวงศ์ชน	
รศ.ดร.นงนุช	เลาหะวิสุทธิ	
ดร.จตุพร	บัณฑิต	
ผศ.ดร.อัจฉรี	เรืองเดช	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ วันที่ 6 พฤษภาคม 2553 เวลา 09.00-12.00 น.

สถานที่สอบ ณ ห้องประชุม A 209 (ชั้น 2 อาคารเจ้าคุณทหาร)

คณบดีรับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ศักดิ์ชัย ชูโชติ)

คณบดีคณะเทคโนโลยีการเกษตร

วันที่ 26 **เดือน พฤษภาคม พ.ศ. 2553**

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การใช้ประโยชน์ของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ (*Lycopersicon esculentum* Mill) เป็นสารยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารปลาแฟนซีคาร์พ (*Cyprinus carpio* Linn.)
นักศึกษา	นางสาวกันยนา ตงศิริ
รหัสประจำตัว	50065951
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์การประมง
พ.ศ.	2553
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.นงนุช เลาหะวิสุทธิ์

บทคัดย่อ

การศึกษาการใช้ประโยชน์ของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ (*Lycopersicon esculentum* Mill) เป็นสารยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารปลาแฟนซีคาร์พ (*Cyprinus carpio* Linn.) แบ่งเป็น 3 การทดลอง การทดลองที่ 1 ศึกษาวิธีการเก็บรักษาต่อปริมาณสารไลโคปีน เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารไลโคปีน และความเข้มสีผงมะเขือเทศ โดยนำผงมะเขือเทศเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ 4 แบบ ได้แก่ ถุงพลาสติกสุญญากาศ ถุงพลาสติกไล่อากาศ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ ร่วมกับอุณหภูมิ 3 ระดับ ที่อุณหภูมิห้อง 25±3 °C, 4 °C และ -20 °C เก็บรักษาเป็นระยะเวลา 40 สัปดาห์ พบว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C มีปริมาณสารไลโคปีนสูงสุด ($P<0.05$) เท่ากับ 83.56±0.11 มก./100 ก.น้ำหนักแห้ง ส่วนผลการศึกษาอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าผงมะเขือเทศที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH มากกว่าสภาวะการเก็บรักษาอื่นๆ ($P<0.05$) และผลการศึกษาสีผงมะเขือเทศ วัดโดยเครื่องวัดสี (Chromameter) อ่านค่าในระบบ CIE L*a*b* (L* - ค่าความสว่าง, a* - ค่าสีแดง และ b* - ค่าสีเหลือง) พบว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C มีค่าความสว่าง 44.17±0.04 และค่าความเข้มสีเหลืองต่ำสุด 12.10±0.00 ในขณะที่ค่าความเข้มสีแดงมีค่าสูงสุดเฉลี่ย 12.27±0.07 การทดลองที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารกันหืนของสารไลโคปีนในอาหาร โดยนำอาหารมาผสมสารไลโคปีนที่มีระดับความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. ร่วมกับการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไม่ไล่อากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ นำอาหารเก็บในอุณหภูมิห้อง 25±3 °C เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์ พบว่า ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับระดับ

ความเข้มข้นของสารไลโคปีน 100 มก./กก. มีค่า TBARS ต่ำสุดเฉลี่ย 0.33±0.06 มก.MDA /กก. อาหาร และถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนตั้งแต่ 25-100 มก./กก. มีปริมาณสารไลโคปีนในอาหารสูงกว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ชนิดไล่อากาศ การทดลองที่ 3 ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนที่เหมาะสมในอาหารต่อปลาแฟนซีคาร์พ โดยผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. เป็นระยะเวลา 14 สัปดาห์ ซึ่งการศึกษาประกอบด้วย การเจริญเติบโต ค่าความเข้มสี ค่าโลหิตวิทยา ค่า TBARS กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และลักษณะเนื้อเยื่อผิวหนัง อวัยวะสืบพันธุ์และตับ พบว่า การเจริญเติบโตและค่าโลหิตวิทยาในทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนความเข้มสีผิวบริเวณลำตัว พบว่าหลังจากเลี้ยงปลาด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. ปลามีค่าความเข้มสีแดงเพิ่มขึ้นแตกต่างกัน ($P<0.05$) โดยค่าความเข้มสีแดงจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหาร ส่วนค่า TBARS กิจกรรมของเอนไซม์ catalase และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่า TBARS และค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ต่ำสุด การศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH ในเลือดปลาแฟนซีคาร์พ ที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก.มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH มากกว่าชุดการทดลองอื่นๆ ($P<0.05$) สำหรับการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อพบว่า ปลาที่กินอาหารผสมสารไลโคปีนมีรงควัตถุบริเวณเกล็ดมากกว่าปลาที่ไม่กินอาหารผมสารไลโคปีน ส่วนเนื้อเยื่อตับไม่พบการเปลี่ยนแปลงเมื่อให้ปลากินอาหารเสริมสารไลโคปีน และระดับความเข้มข้นสารไลโคปีน100 มก./กก.พบว่ามีการพัฒนาของอวัยวะสืบพันธุ์สูงสุด

Thesis	Utilization of Lycopene from Tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) as Natural Antioxidant in Fancy Carp (*Cyprinus carpio* Linn.) Feed
Student	Miss Kanyana Tongsiri
Student ID.	50065951
Degree	Master of Science
Program	Fisheries Science
Year	2010
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Dr. Nongnuch Laohavisuti

ABSTRACT

The study aimed to evaluate the utilization of lycopene from tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) as natural antioxidant in fancy carp (*Cyprinus carpio* Linn.) feed. Three experiments were conducted. The first experiment aimed to assess effects of different storage methods on lycopene content, percentage of inhibition 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), colour appearance of tomato powder. The tomato powder was kept by applying 4 different types of packages : vacuum aluminium foil bag, airless aluminium foil bag, vacuum plastic bag, airless plastic bag. Those are conducted in 3 levels of storage temperatures : room temperature 25±3 °C, 4 °C and -20 °C. After 40 weeks, tomato powder which was stored in the vacuum aluminium foil bag at -20 °C showed the highest lycopene content of 83.56±0.11 mg/100 g dry weight ($P<0.05$). The analysis results of inhibition DPPH of lycopene from tomato powder showed that the highest percentage of inhibition DPPH value was storage in vacuum aluminium foil bag at -20 °C more than in other condition ($P<0.05$). The colour of tomato powder was measured by using chromameter with the system of CIE L*a*b* (L* - lightness, a* - redness and b* - yellowness), tomato powder which was stored in the vacuum aluminium foil bag at -20°C showed the lowest lightness (44.17±0.04) and yellowness values (12.10±0.00) but had highest redness value (12.27±0.07). The second experiment was conducted to evaluate the efficiency of lycopene from tomato as natural antioxidant in feed. Feed was kept at room temperature in 2 type packages : vacuum aluminium foil bag and airless aluminium foil bag. Series of feed contains 0, 25, 50, 75 and 100 mg/kg. After 24 weeks, the feed containing 100 mg lycopene/kg feed which was stored in vacuum aluminium foil bag showed the lowest TBARS ($P<0.05$), 0.33±0.06 mg MDA/kg feed.

The analysis results of lycopene content in feed showed that feed which was stored in vacuum aluminium foil bag and contained 25-100 mg/kg had more lycopene content than that in airless aluminium foil bag. The last experiment aimed to determine the optimal dosage of lycopene in feed on growth, skin pigmentation, TBARS value, activities of enzyme catalase, percentage of inhibition DPPH and histology of skin, gonad and liver in fancy carp. The feed were added with different concentration of lycopene : 0, 25, 50, 75 and 100 mg/kg, the experimental period was 14 weeks. No significant differences of growth and hematology were detected ($P>0.05$). Those feed containing 25, 50, 75 and 100 mg/kg could significantly enhance the pigmentation ($P<0.05$). The skin redness was significantly increased as the concentration of lycopene increased ($P<0.05$). Feed containing 100 mg lycopene/kg feed showed the lowest TBARS value and activities of enzyme catalase. The analysis result of percentage of the inhibition DPPH in blood serum of fancy carp showed that feed containing 100 mg /kg had higher percentage of inhibition DPPH than other groups ($P<0.05$). In addition, for histological study, fish fed with feed lycopene showed more increasing scale of pigment accumulation than fish fed without lycopene. Even though liver had no change, as fish were fed with 100 mg /kg, their gonads were exceptionally developed.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จสมบูรณ์ได้อย่างดีด้วยความกรุณาของ รศ.ดร. นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รวมทั้งกรุณาให้ความรู้ คำแนะนำ ข้อคิดเห็นต่างๆและดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดีตลอดระยะเวลาที่ศึกษาทดลอง ตลอดจนช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนถูกต้องสมบูรณ์เรียบร้อย

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.สมชาย หวังวิบูลย์กิจ ผศ.ดร.อัจฉรี เรืองเดช ดร.จตุพร บัณฑิต และ ดร.สมศรี งามวงศ์ชน สำหรับการให้คำแนะนำและตรวจแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้สมบูรณ์ ตลอดจนคณาจารย์ในหลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมงทุกท่านที่ได้แนะแนวทางในการศึกษารวมทั้งให้ความรู้และคำแนะนำต่างๆอันเป็นประโยชน์ยิ่ง

ขอขอบคุณ คุณบุปผา จงพัฒน์ คุณลำพึง พุ่มจันทร์ คุณแสง ฟักหอม คุณนภพล เผ่ามนัสและคุณชิดชนก สวัสดิ์ศรี ที่ช่วยอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆ และคำแนะนำที่ดีตลอดมา

ขอขอบคุณ คุณเทียมพงศ์ ชมสุวรรณ คุณธนิกานต์ บัวจันทร์ คุณวรางคณา กาซัม และคุณสุรภี ประชุมพล รวมทั้งพี่ๆ เพื่อนๆและน้องๆ ปริญญาโทและตรี ที่คอยช่วยเหลือ เป็นกำลังใจและให้คำปรึกษาเสมอมา

สุดท้ายนี้ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา รวมทั้งพี่ชาย ผู้เป็นที่เคารพรักยิ่ง ที่ให้ความรักและกำลังใจรวมถึงให้การสนับสนุนช่วยเหลือทุกด้านตลอดมา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

กันยนา ตงศิริ

สารบัญ

สารบัญ(ต่อ)

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

สารบัญตาราง

สารบัญตาราง(ต่อ)

สารบัญภาพ

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันธุรกิจการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามมีการขยายตัวเพิ่มมากขึ้น โดยอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญในการเพาะเลี้ยงและพบเสมอว่าหากอาหารมีการเก็บไว้ใช้เป็นเวลานานมักจะเกิดการเสื่อมคุณภาพของโภชนะในอาหาร ซึ่งโดยทั่วไปการเสื่อมคุณภาพของโภชนะในอาหารสัตว์น้ำมักมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์และปฏิกิริยาทางเคมีต่างๆ โดยปฏิกิริยาทางเคมีที่สำคัญคือ ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) อันเป็นผลมาจากปัจจัยต่างๆ อาทิ เช่น ชนิดของกรดไขมัน แสง อุณหภูมิ ออกซิเจน รังสี และโลหะ จากปฏิกิริยาดังกล่าวจะทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพ มีกลิ่นหืน เปลี่ยนสี สูญเสียคุณค่าทางอาหาร โดยเฉพาะวิตามินกลุ่มที่ละลายในไขมันได้แก่ วิตามิน A, D, E และ K ซึ่งจะถูกทำลายไปพร้อมกรดไขมัน รวมถึงการเกิดสารที่เป็นพิษนำไปสู่การเกิดสภาวะที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ (oxidative stress) ส่งผลให้สัตว์น้ำเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคกล้ามเนื้อเสื่อม (muscular dystrophy) การแตกตัวของเม็ดเลือด (hemolysis) รวมไปถึงโรคดีซ่าน (jaundice) (Nakano *et al.* 1999) จากที่กล่าวมาการเก็บรักษาอาหารให้อยู่ในสภาวะที่เหมาะสมมีส่วนสำคัญในการลดการเกิดปฏิกิริยาซึ่งโดยทั่วไปมักใช้วิธีการแช่แข็งหรือแช่เย็นแต่ก็ไม่สามารถชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เท่าที่ควร จึงได้มีความพยายามที่จะใช้สารยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารสัตว์น้ำเพื่อชะลอการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวให้ช้าลง โดยสารยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันในทางการค้าที่นิยมใช้ส่วนใหญ่เป็นสารสังเคราะห์ เช่น butylated hydroxyl anisole (BHA) butylated hydroxyl toluene (BHT) propyl gallate (PG) และ tertiary butyl hydroquinone (TBHQ) แม้สารสังเคราะห์เหล่านี้จะมีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่ก็สามารถก่อให้เกิดสารพิษในคนและในสัตว์ได้หากใช้ในปริมาณที่มากเกินจากที่กฎหมายกำหนด (ศิวาพร ศิวเวช. 2546) นอกจากนี้ในกระบวนการผลิตสารเหล่านี้ยังต้องใช้ต้นทุนสูง ด้วยเหตุผลดังกล่าวนักวิทยาศาสตร์จึงหันมาให้ความสนใจกับสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้จากธรรมชาติมากขึ้น โดยเฉพาะสารสกัดจากผักและผลไม้ ทั้งนี้จากข้อเท็จจริงที่ว่าผักและผลไม้เป็นแหล่งของสารพฤกษเคมี (phytochemical) ที่มีคุณสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ดี โดยเฉพาะในผักผลไม้ที่มีสีต่างๆ เช่น แครอท มะเขือเทศ องุ่นแดง และผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ต่างๆ ซึ่งหนึ่งในผักผลไม้ทั้งหลายที่กล่าวมา มะเขือเทศ ถือได้ว่าค่อนข้างมีสารที่สำคัญสูง อีกทั้งยังเป็นพืชผลทางการเกษตรที่มีการปลูกกันอย่างแพร่หลายและนิยมบริโภคกันทั่วโลก โดยสารสำคัญที่พบในมะเขือเทศนอกจาก วิตามินซี วิตามินเอ ฟลาโวนอยด์ สารฟีโนลิค กรดมาลิก โฟเลท โพแทสเซียม

และเบตาแคโรทีนแล้วยังมีสารไลโคปีนซึ่งเป็นรงควัตถุที่พบว่ามีปริมาณมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ของรงควัตถุทั้งหมดในมะเขือเทศสดและผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ (Rao *et al.* 1998) โดยสารไลโคปีนนี้มีคุณสมบัติในการเร่งสีได้รวมทั้งเป็นสารพฤกษเคมีที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เป็นอย่างดี โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดจากขบวนการเมตาบอลิซึมภายในร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ จัดว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจำพวกเดียวกับเบต้าแคโรทีน แต่มีประสิทธิภาพสูงกว่าเบต้าแคโรทีนถึง 2 เท่าและสูงกว่าแอลฟาโทโคฟีรอลถึง 10 เท่า (Shi and Maguer. 2000) อย่างไรก็ตามสารไลโคปีนก็ยังมีข้อจำกัดในการใช้ประโยชน์คือสามารถเปลี่ยนรูปและสลายตัวได้ง่ายในระหว่างกระบวนการแปรรูป หรือเมื่อสัมผัสความร้อน แสง ปฏิกิริยาเคมี สภาพความเป็นกรดและไอออนของโลหะหนัก (Ribeiro and Schubert. 2003)

ดังนั้นการศึกษาวิธีการเก็บรักษาจึงคาดว่าจะเป็นแนวทางในการช่วยลดการเสื่อมสภาพของสารไลโคปีน และระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารไลโคปีนในอาหารน่าจะเป็นประโยชน์ในด้านการเจริญเติบโต การพัฒนาสีผิว ค่าโลหิตวิทยาและประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของปลาแฟนซีคาร์พ นอกจากนี้การศึกษาความสามารถในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) ของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศในอาหารสัตว์น้ำคาดว่าจะเป็นแนวทางใหม่ในการใช้ประโยชน์จากมะเขือเทศซึ่งเป็นวัตถุดิบทางการเกษตรที่สามารถปลูกได้ดีทั่วทุกภาคของไทยในด้านการช่วยป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารสัตว์น้ำ เพื่อให้อายุการเก็บรักษาอาหารสัตว์น้ำยาวนานขึ้น และช่วยลดภาวะเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ ของสัตว์น้ำอันเป็นผลจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอาหารที่กินรวมทั้งใช้ทดแทนสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วย

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาวิธีการเก็บรักษาและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ

1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารกันหืนของสารไลโคปีนในอาหารสัตว์น้ำ

1.2.3 เพื่อศึกษาระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนที่เหมาะสมในอาหารต่อการพัฒนาสีผิว การเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อเยื่อ ค่าโลหิตวิทยาและประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของปลาแฟนซีคาร์พ

1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ทราบวิธีการเก็บรักษาสารไลโคปีนจากมะเขือเทศในสภาวะที่เหมาะสมรวมถึงประสิทธิภาพการเป็นสารยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารไลโคปีน

1.3.2 ทราบประสิทธิภาพการเป็นสารกันหืนของสารไลโคปีนในอาหาร เพื่อช่วยลดการเสื่อมคุณภาพของโภชนะในอาหารและลดต้นทุนในการผลิตอาหารสำหรับเกษตรกรผู้เพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและเป็นแนวทางในการใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่ามะเขือเทศให้มีมากยิ่งขึ้น

1.3.3 ทราบระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนที่เหมาะสมในอาหารต่อการพัฒนาสีผิว การเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อเยื่อ ค่าโลหิตวิทยาและประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของปลาแฟนซีคาร์พ

บทที่ 2
งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ปลาแฟนซีคาร์พ

ปลาแฟนซีคาร์พ (*Cyprinus carpio* Linn.) หรือปลาไนสวยงาม เป็นปลาน้ำจืดในกลุ่มปลาตะเพียน (carp) มีถิ่นกำเนิดในประเทศอิหร่าน นิยมเลี้ยงกันอย่างแพร่หลายทั่วโลกเนื่องจากสามารถปรับตัวเพื่อดำรงชีวิตในแหล่งน้ำจืดที่มีอุณหภูมิแตกต่างกันได้ดี ในธรรมชาติตัวผู้มีสีเข้มส่วนตัวเมียมีขนาดเล็กและมีสีซีดกว่า โดยลักษณะทั่วไปของปลาแฟนซีคาร์พ คือ ลำตัวเรียวยาว หัวและนัยน์ตาเล็ก สีของลำตัวมีหลายสี อาทิ เช่น สีแดง สีขาว สีส้ม และสีเหลือง เป็นต้น ความแตกต่างระหว่างเพศคือในปลาเพศเมียจะมีความกว้างของลำตัวมากกว่าปลาเพศผู้ บริเวณส่วนท้องจะใหญ่ นิ่ม ช่วงหัวจะกลมและป้านกว่าเพศผู้ ในฤดูสืบพันธุ์ปลาเพศเมียที่มีไข่แก่สมบูรณ์ จะมีส่วนท้องขยายกว้างใหญ่ออกจนถึงเกือบจะเป็นรูปสามเหลี่ยม เมื่อจับหงายท้องดูที่ช่องเพศจะสังเกตเห็นช่องเพศใหญ่และนูนออกเป็นรูปกลม ส่วนปลาเพศผู้ช่องเพศมีลักษณะเล็กเรียวกว่า และเว้าข้างในเล็กน้อย เมื่อจับรีดท้องเพียงเบา ๆ จะมีน้ำเชื้อสีขาวไหลออกมา และเมื่อเอามือลูบบริเวณแก้มหรือครีบหูจะรู้สึกสากมือ พฤติกรรมในการผสมพันธุ์วางไข่ มีลักษณะเช่นเดียวกันกับปลาในตระกูลคาร์พชนิดอื่น ๆ คือ ปลาตัวผู้จะใช้ส่วนหัวดุนที่ส่วนท้องของตัวเมียเพื่อกระตุ้นให้แม่ปลาวางไข่ แม่ปลาจะว่ายไปใกล้ผิวน้ำแล้วกลับตัวเพื่อปล่อยไข่ ขณะเดียวกันปลาตัวผู้จะปล่อยน้ำเชื้อออกมาผสมไข่ที่ได้รับการผสมแล้วจะติดกับวัสดุ โดยแม่ปลาความยาว 40 เซนติเมตร น้ำหนักประมาณ 2 กิโลกรัม จะมีไข่ประมาณ 7-8 หมื่นฟอง ไข่ปลาแฟนซีคาร์พมีสีเหลืองอ่อน เส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.7มิลลิเมตร ไข่ที่ผสมแล้วมีลักษณะโปร่งใสใช้เวลาฟักเป็นตัวประมาณ 45 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28-29 องศาเซลเซียส เมื่อฟักเป็นตัวใหม่ ๆ ตัวอ่อนจะเกาะติดกับวัสดุใต้น้ำ ลูกปลาวัยอ่อนจะกินอาหารจากไข่แดง (yolk sac) ที่ติดอยู่ที่ตัวปลา และประมาณ 2-3 วันถุงไข่แดงจะยุบ แล้วปลาจะเริ่มว่ายน้ำและหาอาหารธรรมชาติ โดยลูกปลาเริ่มเกิดครีบหางและครีบหูเมื่ออายุ 6 วัน เริ่มมีเกล็ดเมื่ออายุ 12 วัน และจะเจริญเติบโตจนมีรูปร่างและอวัยวะต่าง ๆ ครบเหมือนปลาตัวเต็มวัยเมื่ออายุ 15 วัน ซึ่งในระยะนี้ลูกปลาจะมีความยาวเฉลี่ย1.7 เซนติเมตร (ยุพินท์ วิวัฒน์ชัยเศรษฐ์. 2548)

2.2 มะเขือเทศ (*Lycopersicon esculentum* Mill)

มะเขือเทศเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ มีความต้องการของตลาดตลอดทั้งปี โดยมะเขือเทศที่ปลูกในปัจจุบัน แบ่งออกเป็น มะเขือเทศรับประทานผลสดและมะเขือเทศอุตสาหกรรมซึ่งจะถูกนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์มะเขือเทศ อาทิเช่น มะเขือเทศเข้มข้น ซอสมะเขือเทศ และน้ำมะเขือเทศ เป็น

ต้น โดยมะเขือเทศที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรม คือ มะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ เนื่องจากมีลักษณะที่สำคัญหลายประการ เช่น ผลสุกแก่ในเวลาใกล้เคียงกันทั้งต้น ขั้วผลหลุดจากผลได้ง่าย ผลสุกสีแดงจัด มีเนื้อมาก และผลแข็งทนทานต่อการขนส่ง ซึ่งพื้นที่เพาะปลูกมะเขือเทศอุตสาหกรรมส่วนใหญ่อยู่ในจังหวัดเชียงใหม่ เชียงราย หนองคาย สกลนคร นครพนม และ กาฬสินธุ์ ส่วนมะเขือเทศรับประทานสด มีพื้นที่เพาะปลูกที่สำคัญคือจังหวัดนครปฐม ราชบุรี กาญจนบุรี เชียงใหม่ เชียงราย และนครราชสีมา (สมภพ ฐิตะวสันต์. 2530; กรุง สีตะธนี. 2537; ธวัส ลวะเปารยะ. 2542) มะเขือเทศเป็นพืชผักที่อยู่ในวงศ์ Solanaceae มีลักษณะทางพฤกษศาสตร์ดังนี้ คือ เป็นพืชล้มลุกอายุประมาณ 1 ปี ลำต้นสีเขียว มีขนนุ่มปกคลุม มีเมือกเหนียวมือและมีกลิ่นเฉพาะตัว เป็นไม้พุ่มเตี้ยกึ่งเลื้อย ความสูง 50-150 เซนติเมตร ใบหยักเว้าลึกคล้ายฟันเลื่อยมีขนอ่อนๆบริเวณซอกใบดอกเกิดเป็นช่อบนลำต้นระหว่างข้อ (วีณา จิรัจฉริยากูล. 2543) ผลเป็นผลเดี่ยว รูปทรงของผลมีตั้งแต่กลมจนถึงรี ผลในระยะที่ยังอ่อนหรือดิบจะมีสีเขียวของรงควัตถุคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) เมื่อเริ่มสุกสีเขียวของมะเขือเทศจะหายไปกลายเป็นสีขาว และต่อมาเปลี่ยนเป็นสีเหลืองหรือสีส้มอ่อนของรงควัตถุแคโรทีน (carotene) และแซนโทฟิลล์ (xanthophyll) เมื่อมะเขือเทศเริ่มแก่หรือสุกจะมีสีแดงของสารไลโคปีนปรากฏขึ้นและสีเหลืองจะลดลง (Watada *et al.* 1976) ในมะเขือเทศอุดมไปด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะสารไลโคปีนซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (free radicals) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Stahl and Sies. 1996) ดังนั้นการบริโภคมะเขือเทศหรือผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศจึงมีผลดีที่จะช่วยป้องกันร่างกายจากการทำลายของอนุมูลอิสระและช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคต่างๆได้

2.2 สารไลโคปีน

2.2.1 แหล่งของสารไลโคปีน

สารไลโคปีน (lycopene) เป็นรงควัตถุ (pigment) ในกลุ่มแคโรทีนอยด์ มีสีส้มถึงแดง พบมากในมะเขือเทศสดและผลิตภัณฑ์จากมะเขือเทศ โดยจะพบในปริมาณสูงช่วงที่มีการสุกของมะเขือเทศ (พอใจ ถามากร. 2543) ในผลิตภัณฑ์แปรรูปจากมะเขือเทศและผลิตภัณฑ์อื่นที่มีมะเขือเทศเป็นองค์ประกอบหลักจะมีสารไลโคปีนปริมาณสูงโดยเฉพาะผลิตภัณฑ์มะเขือเทศเข้มข้นพบว่ามีสารไลโคปีนมากที่สุดในจำนวนผลิตภัณฑ์มะเขือเทศทั้งหมด (Giovannucci *et al.* 1995) ส่วนในผลมะเขือเทศสดพบสารไลโคปีนระดับสูงถึง 40 มก./100 ก.น้ำหนักสด คิดเป็น 95-100 เปอร์เซ็นต์ของแคโรทีนอยด์ทั้งหมดในมะเขือเทศ นอกจากนี้สารไลโคปีนยังพบได้ใน องุ่น พริก แอปริคอท ฝรั่ง มะละกอ และแตงโม (Nguyen and Schwartz. 1999) โดยปริมาณสารไลโคปีนในผักและผลไม้แสดงในตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 แสดงปริมาณสารไลโคปีนในผักและผลไม้

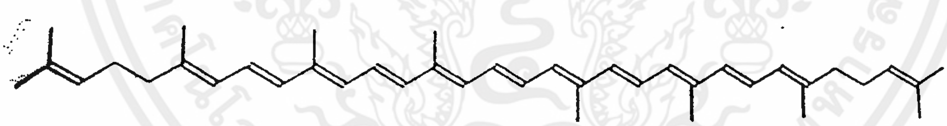
แหล่งของไลโคปีน	ปริมาณไลโคปีน (มก./100 ก. น้ำหนักสด)	อ้างอิง
Fresh Apricots	4.1	Mangels *et al.* 1993
Fresh Pink Grapefruit	3.36	Mangels *et al.* 1993
Fresh Guava	5.4	Mangels *et al.* 1993
Red Papaya	2.0-5.3	Nguyen and Schwatrz. 1998
Fresh Red Tomatoes	3.1-7.7	Nguyen and Schwatrz. 1998
Canned Red Tomatoes	11.2	Nguyen and Schwatrz. 1998
Canned Red Tomato Paste	30.1	Nguyen and Schwatrz. 1998
Fresh Red Watermelon	4.1	Nguyen and Schwatrz. 1998

Toor and Savage (2005) รายงานว่าส่วนของผิวมะเขือเทศมีสารไลโคปีนมากกว่าส่วนที่เป็นเนื้อและเมล็ดโดยในผิวมะเขือเทศมีสารไลโคปีน 8.7 มก./100 ก.น้ำหนักสด ส่วนในเนื้อและเมล็ดพบว่ามีสารไลโคปีน 2.8 และ 1.6 มก./100 ก.น้ำหนักสด ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Sharma and Maguer (1996) รายงานว่าผิวของมะเขือเทศมีสารไลโคปีนมากกว่าเนื้อมะเขือเทศทั้งผลโดยในผิวมะเขือเทศมีสารไลโคปีน 53.9 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักสด ส่วนในผลมี 11 มก./100 ก.น้ำหนักสด นอกจากนี้รายงานของ Al-Wandawi *et al.* (1985); George *et al.* (2004) และ Topal *et al.* (2006) ให้ผลที่สอดคล้องเช่นเดียวกันคือพบสารไลโคปีนปริมาณสูงในผิวของมะเขือเทศโดยมีปริมาณ 12, 14.1 และ 11.3 มก./100 ก.น้ำหนักสด ตามลำดับ

Heinonen *et al.* (1989) รายงานว่ามะเขือเทศที่ปลูกในฤดูร้อนมีความเข้มข้นของสารไลโคปีนสูงกว่าในฤดูหนาวและ Gould (1992) รายงานว่ามะเขือเทศเก็บเกี่ยวขณะผลแก่สีเขียวแล้วนำมาบ่มให้สุกจะมีสารไลโคปีนต่ำกว่ามะเขือเทศที่สุกจนเป็นสีแดงบนต้นซึ่งสอดคล้องกับGautier *et al.* (2008) รายงานว่าในช่วงที่มะเขือเทศยังไม่สุกจะไม่พบสารไลโคปีนแต่ระหว่างที่มะเขือเทศสุกจากสีเขียวกลายเป็นสีแดงจะพบสารไลโคปีนมากถึง 52.8 มก./100 ก.น้ำหนักสด นอกจากนี้รายงานของ Tadmor *et al.* (2005) ให้ผลที่สอดคล้องกันคือพบปริมาณสารไลโคปีนในมะเขือเทศสีแดงมากกว่ามะเขือเทศสีส้มและสีเหลือง โดยมีปริมาณสารไลโคปีนมากที่สุด 63.6 มก./100 ก.น้ำหนักสด ซึ่งแสดงให้เห็นว่าสีแดงของมะเขือเทศเมื่อสุกจะมีความสัมพันธ์กันอย่างมากกับปริมาณสารไลโคปีนในมะเขือเทศ โดยมะเขือเทศที่มีสีแดงมากเมื่อสุกจะมีปริมาณสารไลโคปีนมากตามไปด้วย

2.2.2 โครงสร้างของสารไลโคปีน

สารไลโคปีนในมะเขือเทศสดมีโครงสร้างเป็นสายยาว (trans form) สำหรับสีแดงของมะเขือเทศเป็นผลจากรงควัตถุในกลุ่มแคโรทีนอยด์หลายชนิด ส่วนใหญ่คือสารไลโคปีน ซึ่งพบว่ามีปริมาณมากกว่า 80 เปอร์เซ็นต์ ของรงควัตถุทั้งหมดในมะเขือเทศ โดยสารไลโคปีนสามารถละลายได้ดีในน้ำมัน มีความสามารถละลายได้ประมาณ 0.2 กรัม/ลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (Ribeiro and Schubert. 2003) และสามารละลายได้ในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เฮกเซน (hexane) คลอโรฟอร์ม (chloroform) เมทธิลีนคลอไรด์ (methylene chloride) เป็นต้นโดยโครงสร้างของสารไลโคปีน (สูตรโมเลกุล $C_{40}H_{56}$) เป็นสายไฮโดรคาร์บอนที่ปลายทั้งสองข้างเป็นแบบเปิด ประกอบด้วยพันธะคู่จำนวน 13 พันธะซึ่งมี 11 พันธะเชื่อมต่อกัน (Cadoni *et al.* 2000 ; Nguyen and Schwartz. 1999) ดังแสดงในภาพที่ 2.1 โดยในธรรมชาติสารไลโคปีนมีโครงสร้างเป็นสายยาว และมีพันธะคู่จำนวนมาก จึงสามารถเปลี่ยนรูปและสลายตัวได้ง่ายจากการเกิดไอโซเมอไรเซชัน (isomerization) และจากปฏิกิริยาออโตออกซิเดชัน (autoxidation) อันมีสาเหตุมาจาก ความร้อน แสง หรือปฏิกิริยาเคมี สภาพความเป็นกรดและไอออนของโลหะหนัก ทำให้สารไลโคปีนมีการเปลี่ยนโครงสร้างจาก trans form เป็น cis form โดยจะทำให้มีคุณสมบัติแตกต่างจากรูป trans isomers ไม่ว่าจะเป็น ความคงตัว การดูดกลืนแสง และความแตกต่างทางด้านรูปร่าง ซึ่งโครงสร้างแบบ cis isomers จะเป็นโครงสร้างที่มีความว่องไวสูงในการทำปฏิกิริยาการเปลี่ยนไอโซเมอร์จาก trans isomer ไปเป็น cis isomers นี้จึงทำให้สารไลโคปีนมีสีอ่อนลงและมีค่าความยาวคลื่นการดูดกลืนแสงที่เปลี่ยนไป (พอใจ ถามากร. 2543)



$C_{40}H_{56}$ Lycopene

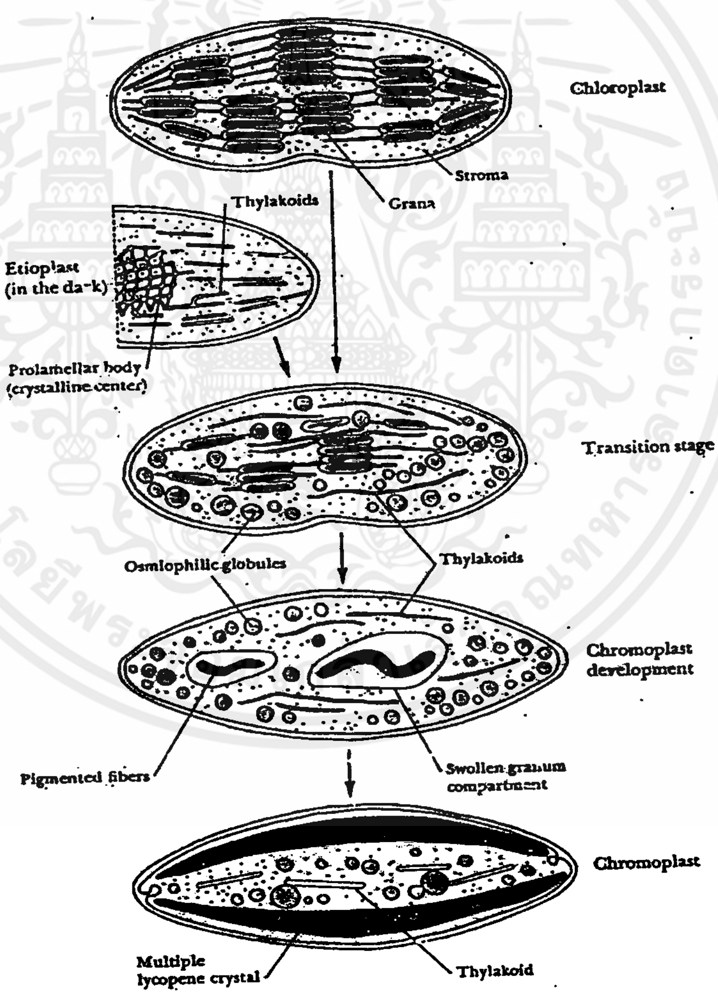
ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของสารไลโคปีน

ที่มา : Nguyen and Schwartz (1999)

2.2.3 การสังเคราะห์สารไลโคปีนในเซลล์พืช

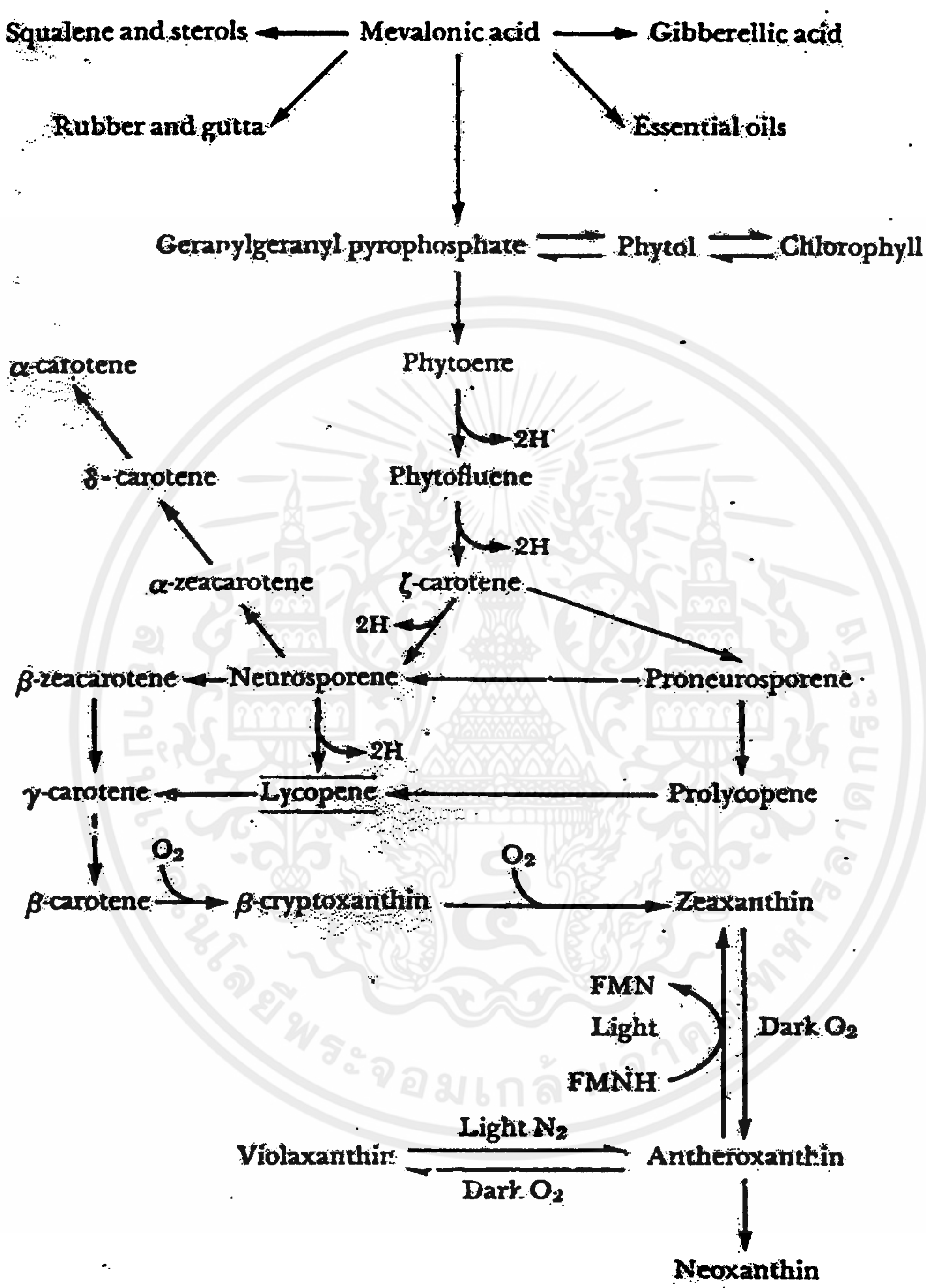
สารไลโคปีนในเซลล์พืชจะอยู่ในคลอโรพลาสต์ (chloroplast) ระหว่างช่วงที่มะเขือเทศสุกคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นสารสีในคลอโรพลาสต์จะเสื่อมสลาย มะเขือเทศจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นสีขาว สีเหลือง สีส้ม สีส้มแดง และสีแดง ตามลำดับ ซึ่งการเปลี่ยนสีดังกล่าวเป็นผลจากการลดลงของคลอโรฟิลล์แล้วเกิดการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ขึ้น โดยขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงของคลอโรพลาสต์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างภายในบริเวณเยื่อหุ้มด้านนอกของคลอโรพลาสต์ (outer double membrane) ซึ่งเรียกว่ากระบวนการเมตามอโฟซิส (metamorphosis) เป็นการเปลี่ยนคลอโรพลาสต์ไปเป็นโครโมพลาสต์ ทำให้เกิดการเสื่อมสลายของคลอโรฟิลล์และสูญเสียกรานา (grana)

จากนั้นจะมีการสร้างออสไมโอฟิลิกโกลบูล (osmiophilic globule) และไทลาคอยด์ (thylacoid) ซึ่งในขั้นตอนนี้จะมีกรานาเหลืออยู่เพียงเล็กน้อยแล้วเกิดแคโรทีนอยด์ขึ้นและมีจำนวนมากขึ้นเรื่อยๆในขั้นที่จะพัฒนาไปเป็นโครโมพลาสต์ เมื่อถึงขั้นตอนนี้กรานุม (granum) จะเกิดการบวมและไม่พบกรานาเหลืออยู่ แคโรทีนอยด์จะมีรูปร่างขดไปมาซึ่งพบว่าอยู่ในช่วงที่มะเขือเทศสุกมีสีส้มแดง โดยจะมีการสร้างผลึกของสารไลโคปีนจำนวนมากเกิดขึ้น ดังภาพที่ 2.2 (Khudairi. 1972) และ Porter and Anderson (1997) รายงานว่าการสังเคราะห์แคโรทีนอยด์ในมะเขือเทศจะมีกรดเมวาโลนิก (mevalonic acid) ทำให้เกิดเจอรานิลเจอรานิลไพโรฟอสเฟต (geranylgeranyl pyrophosphate) ซึ่งจะเปลี่ยนไปเป็นไฟโทอีน (phytoene) จากนั้นจะเกิดการสูญเสียไฮโดรเจน 2 อะตอมในแต่ละลำดับโดยการดึงน้ำออก ได้ไฟโทฟลูอีน (phytofluene) ζ- แคโรทีน (ζ- carotene) นิวโนสปอรีน (neurosporene) และสารไลโคปีน ตามลำดับ ดังภาพที่ 2.3



ภาพที่ 2.2 การเปลี่ยนคลอโรพลาสต์เป็นโครโมพลาสต์

ที่มา : Khudairi (1972)



ภาพที่ 2.3 การสังเคราะห์แคโรทีนอยด์

ที่มา : Khudairi (1972)

2.2.4 ความคงตัวของสารไลโคปีน

ในธรรมชาติสารไลโคปีนจะมีโครงสร้างเป็นสายยาว (trans form) และมีพันธะคู่จำนวนมาก จึงสามารถเปลี่ยนรูปและสลายตัวได้ง่ายจากการเกิดไอโซเมอไรเซชัน และจากปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นได้เอง (autoxidation) ในระหว่างกระบวนการแปรรูป หรือเมื่อสัมผัสความร้อน แสง ปฏิกิริยาเคมี สภาพความเป็นกรดและไอออนของโลหะหนัก ทำให้สารไลโคปีนมีการเปลี่ยนโครงสร้างจาก trans form เป็น cis form (พอใจ ถามากร. 2543) และจากการที่สารไลโคปีนมีโมเลกุลเป็นไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัวสูง จึงง่ายต่อการทำให้เกิดออกซิเดชัน (Ribeiro and Schubert. 2003) ดังนั้นในกระบวนการต่างๆ เช่น การวิเคราะห์ปริมาณ การทำให้บริสุทธิ์ การสกัด รวมทั้งสภาวะในการเก็บสารไลโคปีน จึงอาจเป็นสาเหตุการเสื่อมสภาพของสารไลโคปีนได้

พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์ และคณะ (2550) ศึกษาผลของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2 °C, 25±2 °C และ 29±2 °C ต่อการเสื่อมสภาพของสารไลโคปีนจากกากมะเขือเทศอบแห้งที่เก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากากมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 29±2 °C มีการเสื่อมสภาพของสารไลโคปีนมากกว่ากากมะเขือเทศที่เก็บรักษาในสภาวะอื่น โดยกากมะเขือเทศมีการเสื่อมสภาพของสารไลโคปีนร้อยละ 30.07, 35.57 และ 39.31 เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4±2 °C, 25±2 °C และ 29±2 °C ตามลำดับ

Lisiewska and Kmiecik (2000) รายงานว่ามะเขือเทศที่หั่นแล้วเก็บรักษาไว้นาน 12 เดือนที่ -20 °C และ -30 °C มีปริมาณวิตามินซีรวมถึงเบต้าแคโรทีนและสารไลโคปีน แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.2 ซึ่งจากการทดลองพบว่าอุณหภูมิต่ำมีผลยับยั้งเอนไซม์เพอร์ออกซิเดส (peroxidase) แคทตาเลส (catalase) และไลเปส (lipase) ซึ่งเป็นสาเหตุของการสูญเสียคุณค่าทางโภชนาการของมะเขือเทศ เป็นผลให้สารดังกล่าวไม่เปลี่ยนแปลงในสภาวะการเก็บที่ -20 และ -30 °C

ตารางที่ 2.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแคโรทีนอยด์ในมะเขือเทศ

รงควัตถุ	ร้อยละการเปลี่ยนแปลงหลังเก็บ 12 เดือน	
	-20 °C	-30 °C
แคโรทีนอยด์	36	30
เบต้าแคโรทีน	51	39
สารไลโคปีน	48	43

ที่มา : Lisiewska and Kmiecik (2000)

Sharma and Maguer (1996) รายงานว่ากลไกการเสื่อมสภาพของสารไลโคปีนในเนื้อมะเขือเทศที่แยกเปลือกและเมล็ดแล้ว (tomato pulp) หลังการให้ความร้อน โดยมีการทำแห้งแล้วเก็บที่อุณหภูมิแตกต่างกันซึ่งในการทำแห้งให้ความร้อนที่ 100 °C ที่ความดันบรรยากาศ เป็นเวลา 0, 20, 40,

60, 80, 100 และ 120 นาที พบว่า หลังจากให้ความร้อนเป็นเวลา 120 นาที ปริมาณสารไลโคปีนลดลงจาก 185.5 เป็น 141.5 มก./100 กก. ซึ่งการลดลงของสารไลโคปีนในเนื้อมะเขือเทศนี้อาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารไลโคปีนไปอยู่ในไอโซเมอร์รูปแบบอื่นนอกจากนี้ยังพบว่าปัจจัยด้านแสง อากาศ และอุณหภูมิในการเก็บรักษามีผลต่อการสูญเสียปริมาณสารไลโคปีน โดยที่อุณหภูมิ 25 °C ในสภาวะการเก็บที่มีอากาศและแสง ทำให้เกิดการสูญเสียสารไลโคปีนสูงที่สุดถึง 76 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ -18 °C ในสภาวะสุญญากาศและไม่มีแสง สามารถทำให้เกิดการสูญเสียสารไลโคปีนได้เช่นกัน โดยมีการสูญเสีย 16.2 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเก็บในสภาวะดังกล่าวเป็นระยะเวลา 60 วัน

Shi and Maguer (2001) ศึกษาผลของความร้อนต่อการสูญเสียปริมาณสารไลโคปีนในมะเขือเทศโดยนำเนื้อมะเขือเทศไปผ่านความร้อนในตู้อบที่อุณหภูมิ 90, 110, 120 และ 150 °C เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทำให้แห้งโดยใช้เครื่องทำแห้งแบบแช่แข็ง แล้วบดให้เป็นผงหยาบ พบว่า ความร้อนเนื่องจากอุณหภูมิที่ใช้ในการอบมีผลต่อปริมาณสารไลโคปีน โดยอุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลให้เกิดการสูญเสียสารไลโคปีนเพิ่มขึ้น ทั้งในรูปของ trans isomer และcis isomers อุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นจาก 90 เป็น 150 °C ที่เวลา 1 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณ trans isomers ของสารไลโคปีนลดลง 35 เปอร์เซ็นต์ และเกิดการสูญเสียปริมาณสารไลโคปีนทั้งหมดหลังจากให้ความร้อนเป็นเวลานาน 2 ชั่วโมง

Zanoni *et al.* (1999) ศึกษาการสูญเสียสารไลโคปีนในมะเขือเทศผ่าซีกที่ทำแห้งในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 80 °C และ 110 °C ด้วยความเร็วลม 1.5 m/s จากนั้นนำมะเขือเทศไปเก็บรักษาไว้ในสภาวะมีอากาศในที่มืดที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30, 40, 50, 60 และ 90 วัน แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีน พบว่า ปริมาณสารไลโคปีนมีการสูญเสียมากขึ้นตามระยะเวลาการเก็บรักษาทั้งในมะเขือเทศที่ทำแห้งด้วยอุณหภูมิ 80 °C และ 110 °C โดยที่ปริมาณสารไลโคปีนมีการสูญเสียมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ หลัง 30 วันที่เก็บรักษา และมีการสูญเสียมากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ ที่ 90 วัน โดยไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญของการสูญเสียปริมาณสารไลโคปีนระหว่างตัวอย่างที่ทำแห้งอุณหภูมิ 80 และ 110 °C ทั้งนี้การสูญเสียปริมาณสารไลโคปีนดังกล่าวพบว่าปัจจัยสำคัญที่ทำให้มีการสูญเสียมากเนื่องจากก่อนที่มะเขือเทศจะถูกนำมาเก็บรักษานั้นมะเขือเทศถูกทำแห้งด้วยอุณหภูมิสูงและเป็นการทำแห้งภายใต้สภาวะบรรยากาศส่งผลให้มะเขือเทศได้รับออกซิเจนมากขึ้นเป็นผลให้สารไลโคปีนในเนื้อมะเขือเกิดการเสื่อมสลายเมื่อนำมาเก็บรักษาในสภาวะมีอากาศทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นผลให้สารไลโคปีนถูกทำลายเปลี่ยนจากรูปแบบ trans isomers ไปเป็น cis isomers มากขึ้น ซึ่งทำให้เกิดการสูญเสียสารไลโคปีนในมะเขือเทศได้มากขึ้นเมื่อนำมาเก็บรักษาเป็นระยะเวลานาน

2.3 การเสื่อมคุณภาพของโภชนะในอาหารปลาจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน

โดยทั่วไปการเสื่อมคุณภาพของอาหารมักมีสาเหตุมาจากจุลินทรีย์และจากปฏิกิริยาทางเคมีโดยที่สาเหตุประการหลังจัดว่ามีความสำคัญมาก ทั้งนี้เนื่องจากปฏิกิริยาเคมีต่างๆสามารถเกิดขึ้นได้

ตั้งแต่การเตรียมวัตถุดิบ ระหว่างกระบวนการแปรรูป การเก็บรักษา และระหว่างการขนส่งไปจำหน่าย ตัวอย่างหนึ่งของการเสียของอาหารเนื่องจากปฏิกิริยาเคมีที่สำคัญ คือ การเสียที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวนี้จะเป็นสาเหตุให้อาหารเสื่อมคุณภาพ เกิดการหืน คุณค่าทางอาหารลดลงและมีสารพิษเกิดขึ้นด้วย โดยปัญหาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารนั้น พบได้ในอาหารทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นคาร์โบไฮเดรต ไขมัน หรือโปรตีน ซึ่งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นการเสื่อมเสียจากปฏิกิริยาทางเคมีที่สำคัญและพบบ่อยที่สุดในอาหารประเภทน้ำมันและไขมันรวมทั้งอาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นองค์ประกอบ (ศิวาพร ศิวเวช. 2546) โดยส่วนมากมักเกิดกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว เช่น กรดลิโนลีอิค (linoleic acid) กรดลิโนลินิค (linolenic acid) และกรดอะราชิโดนิค (arachidonic acid) เป็นต้น ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้จะมีจำนวนพันธะคู่มากกว่าหนึ่งพันธะในโครงสร้าง จึงมีความว่องไวสูงสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย ซึ่งจะเป็นข้อจำกัดที่ทำให้ผลิตภัณฑ์อาหารดังกล่าวมีอายุการเก็บสั้นลง (สุริณฎา โพธิดิษฐศิริ. 2547)

การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารเป็นการทำปฏิกิริยาทางเคมีระหว่างออกซิเจนกับกรดไขมันในอาหารซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพ เกิดกลิ่นหืน เปลี่ยนสี สูญเสียคุณค่าทางอาหาร โดยเฉพาะวิตามินกลุ่มที่ละลายในไขมันได้แก่ วิตามิน A, D, E และ K ซึ่งจะถูกทำลายไปพร้อมกรดไขมัน รวมถึงการเกิดสารที่เป็นพิษจากปฏิกิริยา และปฏิกิริยานี้เป็นปฏิกิริยาที่สามารถเกิดขึ้นได้เองเป็นไปอย่างต่อเนื่อง โดยจะเกิดขึ้นที่พันธะคู่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัว ยิ่งมีพันธะคู่มากปฏิกิริยาออกซิเดชันก็จะเกิดเร็วมากขึ้นด้วย ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยาแบบลูกโซ่ของกรดไขมันไม่อิ่มตัวกับออกซิเจน และอนุมูลอิสระ (free radical) เกิดเป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide) ซึ่งสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้จะสลายตัวเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็ก ๆ ที่ทำให้มีกลิ่นหืน และเกิดเป็นอนุมูลอิสระเริ่มต้นของปฏิกิริยาลูกโซ่ต่อไปได้อีก โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันและไขมันในอาหาร สามารถแบ่งเป็นขั้นต่างๆได้ 3 ขั้นตอน (เยาวภา สิริวัฒนานุกูล. 2545) คือ

ขั้นเริ่มต้น (initiation) เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ โดยเกิดจากการแตกสลายของกรดไขมัน (RH) เมื่อกรดไขมันทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอะตอมของไฮโดรเจนจะถูกดึงออกจากโครงสร้างของกรดไขมันเกิดเป็นอนุมูลอิสระอัลคิล (alkyl radical; $R^{\bullet}$) ซึ่งมีความร้อน แสง รังสีอิออนของโลหะ เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังสมการ

$$RH + O_2 \longrightarrow R$$

ขั้นต่อเนื่อง (propagation) เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในปฏิกิริยาขั้นต้น อนุมูลอิสระจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจน เกิดอนุมูลอิสระเปอร์ออกซี (peroxy radical; $ROO^{\bullet}$) และอนุมูลอิสระเปอร์ออกซีที่เกิดขึ้นจะทำปฏิกิริยาต่อกับกรดไขมันไม่อิ่มตัวเกิดเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide; ROOH) และอนุมูลอิสระอัลคิล โดยไฮโดรเปอร์ออกไซด์จะแตกตัวเป็นสารประกอบอื่นที่มีผลต่อกลิ่นรสที่ไม่ดีสำหรับอาหาร ส่วนอนุมูลอิสระอัลคิลจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนเป็นลูกโซ่ต่อเนื่องไปเรื่อยๆ

$$R^{\bullet} + O_2 \longrightarrow ROO^{\bullet}$$

$$ROO^{\bullet} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\bullet}$$

ขั้นสุดท้าย (termination) เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระปริมาณมากพอเกิดการรวมตัวกันเป็นสารประกอบซึ่งไม่ทำปฏิกิริยา (non-free radical) จึงทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่หยุดลงแล้วให้สารประกอบที่มีจำนวนคาร์บอนน้อยลง รวมไปถึงสารจำพวก มัลลัลอัลดีไฮด์ อัลดีไฮด์และคีโตน สารเหล่านี้ทำให้เกิดกลิ่นหืนรวมทั้งเป็นสารพิษในอาหาร

$$\left.\begin{array}{l} R^{\bullet} + R^{\bullet} \\ R^{\bullet} + ROO^{\bullet} \longrightarrow \\ ROO^{\bullet} + ROO^{\bullet} \end{array}\right\} \text{malonaldehydes, aldehyde, ketone, hydrocarbon และ alcohol}$$

จากกลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอาหารข้างต้น จะได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์เป็นผลผลิตเริ่มต้นของปฏิกิริยา สารนี้เป็นสารไม่คงตัวจึงเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้โดยการสลายตัวหรือทำปฏิกิริยากับสารอื่นให้สารประกอบที่มีจำนวนคาร์บอนน้อยลง รวมถึงทำให้เกิดสารประกอบชนิดใหม่ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆกันอันได้แก่ อัลดีไฮด์และคีโตน สารเหล่านี้ระเหยได้ง่ายและทำให้เกิดกลิ่นหืนในอาหารซึ่งเป็นผลให้รสชาดอาหารเสียไป (เพิ่มศักดิ์ ศิริวรรณ. 2533) นอกจากนี้อาหารที่มีความหืนจะเป็นอันตรายต่อสัตว์น้ำอย่างมาก คือ นำไปสู่การเกิดสภาวะ oxidative stress ในสัตว์น้ำ สภาวะดังกล่าวจะทำให้ร่างกายสัตว์น้ำไม่สามารถควบคุมและป้องกันปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ ซึ่งจะทำให้สัตว์น้ำเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคกล้ามเนื้อเสื่อม (muscular dystrophy) การแตกตัวของเม็ดเลือด (hemolysis) รวมไปถึงโรคดีซ่าน (jaundice) เป็นผลให้อัตราการเจริญเติบโตลดลง อัตรารอดต่ำ สีซีด เป็นต้น (Nakano *et al.* 1999 ; สุพิศ ทองรอด. 2535) นอกจากนี้อาหารปลาที่มีไขมันสูงมักมีความหืนเป็นผลจากการเกิดสารอัลดีไฮด์และคีโตนในอาหาร สารนี้จะเป็นพิษต่อปลา ทำให้ปลาเกิดโรค lipoid liver disease โดยมีผลต่อตับทำให้ตับบวมและมีสีน้ำตาลแดง ส่วนเหงือกจะมีสีซีด เมื่อนำตับไปศึกษาทางเนื้อเยื่อวิทยา พบว่าจะมีช่องว่างในไซโตพลาสซึมลดลง (Roberts. 1989) และจากรายงานของ Castell *et al.* (1992) พบว่า ลูกปลา atlantic salmon และ coho salmon เมื่อได้รับอาหารที่มีความหืนจะทำให้อัตรารอดของลูกปลาลดลงและเนื้อเยื่อของปลามีน้ำมากขึ้นรวมถึงมีปริมาณฮีโมโกลบิน (haemoglobin) ลดลง นอกจากนี้การได้รับอาหารที่มีความหืนอันเนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารจะมีผลกระทบต่อค่าโลหิตวิทยา ซึ่ง Klinger *et al.* (1996) รายงานว่าการเลี้ยงปลา channel catfish ด้วยน้ำมันปลาเมนฮาร์เดนที่ระดับ 10 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 90 วัน พบว่ามีผลทำให้ปริมาณฮีมาโตคริต (haematocrit) ลดต่ำลง และการได้รับอาหารที่มีความหืนจะส่งผลกระทบทำให้ตับทำงานผิดปกติซึ่งทำให้องค์ประกอบทางเคมีในเลือดเปลี่ยนแปลงไปและปริมาณโปรตีนในเลือดลดลง รวมถึงเอนไซม์บ่งชี้การทำงานของตับ ได้แก่

aspartate aminotransferase (AST), alanine aminotransferase (ALT), alkaline phosphatase (ALP) และ bilirubin มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น (Kaneko *et al.* 1997)

ในการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่กล่าวมาทั้งหมดข้างต้นนั้น ปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ดังนี้คือ ชนิดกรดไขมัน แสง อุณหภูมิ ออกซิเจน โลหะ และเอนไซม์ ซึ่งในการลดปัญหาการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบสามารถทำได้โดยการเติมสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหาร

2.4 สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant)

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) หรือสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นสารประกอบหรือของผสมของสารประกอบที่สามารถยับยั้งหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน จะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาเริ่มต้น แล้วให้อิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระอยู่ในสภาพที่เสถียรไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อีก

สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่นิยมใช้ในอาหารแบ่งออกเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจากการสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) และอนุญาตให้เติมลงในอาหารได้ เช่น butylated hydroxyanisole (BHA), butylated hydroxytoluene (BHT), tertiary butylhydroquinone (TBHQ) และ propyl gallate เป็นต้น บัณฑิต ยวงสร้อย (2545) รายงานการศึกษาระดับสารกันหืน BHT ที่เหมาะสมในอาหารเมื่อใช้น้ำมันปลาทูน่าในอาหาร 9 เปอร์เซ็นต์ โดยดูการเปลี่ยนแปลงการหืนของอาหาร เมื่อเสริมสารกันหืน BHT ที่ระดับความเข้มข้น 150, 250 และ 300 ส่วนในล้าน ที่ระยะเวลา 0, 2, 4 และ 6 สัปดาห์ พบว่าการเสริมสารกันหืน BHT ที่ระดับ 250 ส่วนในล้าน ในอาหารปลานิลที่ใช้น้ำมันปลาทูน่า 9 เปอร์เซ็นต์ เป็นระดับที่สามารถชะลอการเกิดความหืนได้ดีที่สุด ส่วนสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน อีกชนิด คือ สารที่ได้จากธรรมชาติ (natural antioxidant) นิยมใช้ในอาหาร เช่น วิตามินอี (tocopherols) พบมากในเซลล์พืชมีอยู่ 4 รูปแบบคือ ∝, β, γ และ δ โดยประสิทธิภาพการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน δ > γ > β และ ∝ ตามลำดับ โดยทั่วไปวิตามินอีมีในธรรมชาติไม่ค่อยมีความคงตัวเมื่อได้รับความร้อนจึงมักจะสลายหรือถูกทำลายในกระบวนการแปรรูป การกลั่น การกำจัดกลิ่น และอื่นๆ นอกจากวิตามินอีแล้วยังพบว่ายังมีสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ได้จากธรรมชาติอื่นๆอีก เช่น flavonoids, ascorbic acid, hydroxytyrosol, phytic acid, lignanpherol และ lycopene เป็นต้น (วรรณา ตั้งเจริญชัย. 2530) Tutour (1990) ทำการศึกษาลักษณะของสารเคมีตามธรรมชาติของสาหร่ายทะเลและประสิทธิภาพของสารสกัดธรรมชาติจากสาหร่ายทะเลในการป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยใช้สาหร่ายทะเล 7 ชนิด เป็นสาหร่ายสีน้ำตาล 3 ชนิด ได้แก่ *Himanthalia elongate*, *Laminaria digitata* และ *Undaria pinnatifada* สาหร่ายสีเขียว 2 ชนิด ได้แก่ *Ulva lactuca* และ *Enteromorpha* sp. สาหร่ายสีแดง 2 ชนิด ได้แก่ *Porphyra* sp. และ *Rhodymenia palmate* เพื่อใช้ในการถนอมรักษาน้ำมันเมล็ดทานตะวัน พบว่า

สาหร่าย *Himanthalia elongate* และ *Laminaria digitata* ให้ผลดีที่สุดในการยืดอายุการเก็บรักษาน้ำมันเมล็ดทานตะวัน

คุณสมบัติการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารไลโคปีนนั้นจากการที่สารไลโคปีนมีโครงสร้างทางเคมีที่มีพันธะคู่สลับกัน (conjugated double bond) ทำให้มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่มีประสิทธิภาพสูงสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระและยับยั้งออกซิเจนอะตอมเดี่ยว (singlet oxygen ; $^1O_2$)ได้เป็นอย่างดี (Takeoka *et al.* 2001) ปฏิกิริยาการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารไลโคปีนจะเป็นปฏิกิริยาการถ่ายเทอิเล็กตรอนหรือปฏิกิริยาการเติมไฮโดรเจนโดยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน (AH) จะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระทำให้ในขั้นตอนต่อเนื่องของปฏิกิริยาออกซิเดชันหยุดลง และเกิดอนุมูลอิสระออกซิเดชัน (antioxidant radical หรือ $A^•$) ซึ่งมีความคงตัวไม่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ดังสมการ (Pokorny and Gordon. 2001)

$$ROO^{\bullet} + AH \longrightarrow ROOH + A^{\bullet}$$

นอกจากนี้ยังมีปฏิกิริยาอีกประเภทหนึ่ง เรียกว่า “ene reaction” ซึ่งให้ผลิตภัณฑ์เป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์ โดยการเกิด ene reaction นั้นออกซิเจนจะเข้าจับกันที่อะตอมคาร์บอนของพันธะคู่ ทำให้เกิดการย้ายตำแหน่งของพันธะคู่ ซึ่งเป็นผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างจากรูปแบบ cis isomers เป็น trans isomers โดยไม่มีการเกิดอนุมูลอิสระของออกซิเจนอะตอมเดี่ยวก่อให้เกิด ene reaction โดยออกซิเจนอะตอมเดี่ยวเป็นออกซิเจนที่มี unpaired electron หมุนในทิศทางตรงข้ามกัน (antiparallel spin) ซึ่งอิเล็กตรอนอาจเรียงตัวอยู่ในออบิทอล (orbital) เดียวกันหรือต่างออบิทอลกัน การเรียงตัวแบบนี้ทำให้เกิดแรงผลักระหว่างอิเล็กตรอนส่งผลให้ออกซิเจนอะตอมเดี่ยวอยู่ในสภาวะกระตุ้น (excited state) ซึ่งไวต่อการทำปฏิกิริยากับสารอื่น การควบคุมปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจากออกซิเจนอะตอมเดี่ยวโดยสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเปลี่ยนออกซิเจนอะตอมเดี่ยว ให้เป็น triplet oxygen ($^3O_2$) ซึ่งมีความไวต่อการเกิดปฏิกิริยาต่ำ เนื่องจากเป็นออกซิเจนที่มี unpaired electron อยู่คนละออบิทัล และมีการหมุนในทิศทางเดียวกัน (parallel spin) ทำให้เกิดแรงผลักของอิเล็กตรอนไม่มากนัก (จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล. 2541) ซึ่งสารไลโคปีนสามารถยับยั้งออกซิเจนอะตอมเดี่ยว โดยจะทำปฏิกิริยากับออกซิเจนอะตอมเดี่ยว ได้เป็น triplet oxygen (Edge *et al.* 1997)

บทที่ 3
วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สัตว์และพืชทดลอง

3.1.1 ปลาแฟนซีคาร์พ (*Cyprinus carpio* Linn.) อายุประมาณ 2 เดือน น้ำหนักเฉลี่ย 8-9 กรัม จำนวน 225 ตัว

3.1.2 มะเขือเทศพันธุ์ลูกท้อ (*Lycopersicon esculentum* Mill) เส้นผ่าศูนย์กลาง 4-5 เซนติเมตร และมีสีแดงทั้งผล ซื้อจากตลาดหัวตะเข้ เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์

3.2.1.1 ตู้กระจกขนาด 36x18x18 นิ้ว จำนวน 15 ตู้พร้อมชุดกรองน้ำ

3.2.1.2 เครื่องวัดสี (Chromameter) ยี่ห้อ KONICA MINOTA รุ่น CR-10

3.2.1.3 เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ OHAUS รุ่น ARC 1200

3.2.1.4 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler รุ่น AG 204

3.2.1.5 อาหารผงสำเร็จรูปชื่อทางการค้า แอ็คโค่ฟีด 9000 (โปรตีนไม่น้อยกว่า 40)

3.2.1.6 เครื่องบดอาหาร

3.2.1.7 เครื่องให้ความร้อน (hot plate) ยี่ห้อ E.G.O

3.2.1.8 อ่างน้ำร้อน (water bath) ยี่ห้อ memmert รุ่น WB 14

3.2.1.9 เครื่องแก้ว

3.2.1.10 เครื่องปั่นเหวี่ยง (micro refrigerated centrifuge) ยี่ห้อ Vision รุ่น VS-15000

3.2.1.11 เครื่องปั่นเหวี่ยง (refrigerated centrifuge) ยี่ห้อ Hettich รุ่น Universal 16 R

3.2.1.12 เครื่องปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ยี่ห้อ Hettich รุ่น Roto fix 32

3.2.1.13 ตู้เย็นสำหรับควบคุมอุณหภูมิ -20 °C ยี่ห้อ Brandt

3.2.1.14 ตู้เย็นสำหรับควบคุมอุณหภูมิ 4 °C ยี่ห้อ Tohiba

3.2.1.15 เครื่องระเหยสุญญากาศ (rotary evaporator) รุ่น Heidolph รุ่น Laborat 4003

3.2.1.16 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (UV-vis spectrophotometer) ยี่ห้อ Jasco รุ่นV630 และคิวเวตแบบแก้ว

3.2.1.17 เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) ยี่ห้อ Milton Roy รุ่น Spectronic 401

3.2.1.18 กล้องจุลทรรศน์พร้อมชุดถ่ายภาพดิจิตอล ยี่ห้อ OLYMPUS รุ่น BX 51

3.2.1.19 เครื่องเตรียมเนื้อเยื่อ ยี่ห้อ (tissue processor) Leica รุ่น TP 1020

3.2.1.20 เครื่องตัดชิ้นเนื้อเยื่อ ยี่ห้อ Microm รุ่นHM 335 E

3.2.1.21 อ่างลอยชิ้นเนื้อชนิดควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Bio Optica รุ่น Model 17-2000

3.2.1.22 หม้อต้มพาราฟิน (paraffin bath) ยี่ห้อ Medax รุ่น KV-8372

3.2.1.23 เครื่องอุ่นสไลด์ (slide warmer) ยี่ห้อ Fisher Scientific รุ่น Model 77

3.2.1.24 แท่นทำความเย็น (cold plate) ยี่ห้อ Bio Optica รุ่น PF 100

3.2.2 สารเคมี

3.2.2.1 กรดไทโอบาร์บิวทูริก (triobarbituric acid; TBA)

3.2.2.2 กรดไทคลอโรแอซิติก (trichloroacetic acid; TCA)

3.2.2.3 2,2-ไดฟีนีล-1-ไพคลิวไฮดราซีล (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl; DPPH)

3.2.2.4 กรดแอซิติก (acetic acid)

3.2.2.5 กรดซัลฟูริก (sulfuric acid)

3.2.2.6 โซเดียมคลอไรด์ (sodium chloride)

3.2.2.7 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodiumhydroxide)

3.2.2.8 เอธานอล (ethanol)

3.2.2.9 บิวทิลเลต ไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene; BHT)

3.2.2.10 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric acid)

3.2.2.11 ปิโตรเลียมอีเทอร์ จุดเดือด 40-60 °C (petroleum ether)

3.3 วิธีดำเนินการทดลอง

3.3.1 การทดลองที่ 1 การศึกษาวิธีการเก็บรักษาและความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ

3.3.1.1 จัดชุดการทดลองแบบ 4x3 factorial experiment in CRD จำนวน 3 ซ้ำประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ 4 แบบ ได้แก่ ถุงพลาสติกสุญญากาศ, ถุงพลาสติกไล่อากาศ ,ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ และปัจจัยที่ 2 คือ อุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 25±3 °C, 4 °C และ-20 °C

3.3.1.2 นำมะเขือเทศสดพันธุ์ลูกท้อ ล้างให้สะอาด คว้านเอาเมล็ดและไส้ในออก นำส่วนเนื้อไปสับให้มีขนาดเล็ก จากนั้นนำไปอบด้วยเครื่องอบที่อุณหภูมิ 60 °C เป็นเวลา 2 วัน เมื่อแห้งแล้วนำมาบด ร่อนผ่านตะแกรงขนาด 0.5 มิลลิเมตร ทำให้ได้ผงมะเขือเทศ จากนั้นนำผงมะเขือเทศเก็บใน

บรรจุภัณฑ์ 4 แบบ ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ที่ต้องการศึกษาโดยเก็บรักษาเป็นระยะเวลา 0, 8, 16, 24, 32 และ 40 สัปดาห์

3.3.1.3 สกัดหาปริมาณสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศในข้อ (3.3.1.2) ใช้วิธีดัดแปลงจาก ลักขณา รุจนะไกรกานต์และนิธิยา รัตนาปนนท์ (2533) เพื่อตรวจสอบปริมาณสารไลโคปีนที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเก็บรักษา ก่อนทำการทดลอง และเมื่อครบระยะเวลา 8, 16, 24, 32 และ 40 สัปดาห์ ซึ่งวิธีการสกัดทำโดยชั่งผงมะเขือเทศ 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร เทใส่กรวยแยกขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้นเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้แยกชั้น ไขเอาส่วนของปิโตรเลียมอีเทอร์ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ด้วยเครื่องวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 472 นาโนเมตร และใช้คิวเวตแก้วในการวัดค่าการดูดกลืนแสง โดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นแบลงค์ (blank) และ คำนวณปริมาณสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศโดยการนำค่าการดูดกลืนแสงของสารไลโคปีนแทนในสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานของสารไลโคปีน (กราฟมาตรฐานของสารไลโคปีนแสดงในภาคผนวก ก.) และบันทึกผล

3.3.1.4 ทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารไลโคปีนใช้วิธีดัดแปลงจาก Murakami *et al.* (2004)

(1) เตรียมสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง DPPH 0.0158 กรัม ละลายในเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ ปรับปริมาตรให้เป็น 50 มิลลิลิตร

(2) การทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารไลโคปีน โดยปิเปตสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.8 มิลลิโมลาร์ 0.12 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง และปิเปตสารสกัดไลโคปีนจากข้อ 3.3.1.3 จำนวน 1.08 มิลลิลิตร ปริมาตรของสารละลายที่ทำปฏิกิริยารวมทั้งหมดเป็น 1.2 มิลลิลิตร (หลอดควบคุมใช้สารละลาย DPPH กับ ปิโตรเลียมอีเทอร์) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม (vortex mixer) เก็บในที่มืด เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 511 นาโนเมตร คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH โดยแทนค่าในสมการพร้อมกับบันทึกผล

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

3.3.1.5 วัดการเปลี่ยนแปลงของสีผงมะเขือเทศที่เก็บในบรรจุภัณฑ์ 4 แบบ ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ ตามข้อ 3.3.1.1 โดยใช้เครื่องวัดสี (chromameter) อ่านค่าในระบบ CIE L*a*b* (L* = ค่าความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 - 100, a* = ค่าสีแดง - สีเขียว และ b* = ค่าสีเหลือง - สีน้ำเงิน) โดยวัดก่อนทำการทดลอง และเมื่อครบระยะเวลา 8, 16, 24 และ 32 สัปดาห์ พร้อมกับบันทึกผล

3.3.2 การทดลองที่ 2 การศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารกันหืนของสารไลโคปีนในอาหาร

3.3.2.1 นำผงมะเขือเทศที่ได้จากข้อ 3.3.1.2 ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนตามวิธีการข้อ 3.3.1.3 จากนั้นนำผงมะเขือเทศที่ทราบปริมาณสารไลโคปีนมาผสมในอาหารผงสำเร็จรูปมีชื่อทางการค้าแอ็กโค่ฟีด 9000 (โปรตีน $\geq$ 40 %; ไขมัน = 5 %; กาก = 4 % และ เถ้า = 12 %) โดยมีความเข้มข้นสารไลโคปีน 5 ระดับ

3.3.2.2 จัดชุดการทดลองแบบ 5x2 factorial experiment in CRD ประกอบด้วย 2 ปัจจัย คือ ปัจจัยที่ 1 อาหารผสมสารไลโคปีน ความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (มก./กก.) และปัจจัยที่ 2 เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ 2 แบบโดยเลือกใช้บรรจุภัณฑ์จากการทดลองที่ 1 ที่ให้ผลดีที่สุดในการเก็บรักษา ซึ่งได้แก่ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไม่ไล่อากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ จำนวนชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ (replication) แต่ละซ้ำใช้อาหารจำนวน 250 กรัม เก็บที่อุณหภูมิห้อง 25±3 °C เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์

3.3.2.3 วิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนตามวิธีการในข้อ 3.3.1.3 ก่อนทำการทดลอง และเมื่อครบระยะเวลา 4, 8, 12, 16, 20 และ 24 สัปดาห์ และศึกษาการเปลี่ยนแปลงความหืนของอาหารทดลองโดยวัดค่ากรดไทโอบาร์บิวทูริก (thiobarbituric acid reactive substance : TBARS) ตามวิธีของ Pearson (1976) ซึ่งใช้วัดระดับการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอาหาร (วิธีการวิเคราะห์ TBARS ในอาหารแสดงในภาคผนวก ข.1) นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างอาหารที่วิเคราะห์ TBARS ไปคำนวณหาค่ากรดไทโอบาร์บิวทูริกโดยแทนในสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานของมัลลัลไดแอลดีไฮด์ (malondialdehyde : MDA) แสดงผลเป็นมิลลิกรัมมัลลัลไดแอลดีไฮด์ต่อกิโลกรัมของอาหาร (มก.MDA/กก.อาหาร) (กราฟมาตรฐานของมัลลัลไดแอลดีไฮด์แสดงในภาคผนวก ข.) พร้อมกับบันทึกผล

3.3.3 การทดลองที่ 3 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนที่เหมาะสมในอาหารต่อการพัฒนาสีผิว การเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อเยื่อ ค่าโลหิตวิทยาและประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของปลาแฟนซีคาร์พ

3.3.3.1 วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design : CRD) โดยแบ่งการทดลองเป็น 5 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ใช้ปลา 15 ตัวต่อซ้ำ มีระดับของสารไลโคปีนที่แตกต่างกันคือ

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารควบคุมไม่ผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารควบคุมผสมสารไลโคปีนความเข้มข้น 25 มก./กก.

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารควบคุมผสมสารไลโคปีนความเข้มข้น 50 มก./กก.

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารควบคุมผสมสารไลโคปีนความเข้มข้น 75 มก./กก.

ชุดการทดลองที่ 5 อาหารควบคุมผสมสารไลโคปีนความเข้มข้น 100 มก./กก.

3.3.3.2 การเตรียมอาหารใช้อาหารผงสำเร็จรูปชื่อทางการค้า แอ็คโค่ฟีด 9000 เป็นอาหารสูตรควบคุมโดยนำผงมะเขือเทศที่ได้จากข้อ 3.3.1.2 มาวิเคราะห์หาปริมาณสารไลโคปีนตามวิธีการในข้อ 3.3.1.3 แล้วผสมผงมะเขือเทศให้มีระดับสารไลโคปีนที่ 0, 25, 50, 75, 100 มก./กก. ลงไปในอาหาร แล้วเติมน้ำ 60 เปอร์เซ็นต์ คลุกเคล้าให้ทั่ว จากนั้นนำไปอัดเม็ดแล้วอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 °C แล้วนำอาหารเก็บใส่ถุงพลาสติกให้มิดชิดห่ออะลูมิเนียมฟอยล์และเก็บไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ -20 °C

3.3.3.3 นำปลาแฟนซีคาร์พมีน้ำหนักเริ่มต้นประมาณ 8-9 กรัม/ตัว อายุประมาณ 2 เดือน มาเลี้ยงเพื่อปรับสภาพในตู้กระจก ฝึกให้กินอาหารควบคุม เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ จากนั้นสุ่มปลาลงเลี้ยงในตู้กระจกขนาด 36x18x18 นิ้ว ให้อาหารปลาวันละ 3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักตัว โดยให้อาหารวันละ 2 มื้อ เวลา 10.00 น. และ 16.00 น ระหว่างทำการทดลองคลุมตู้กระจกด้วยพลาสติกสีดำเพื่อไม่ให้ปลาตกใจ เปลี่ยนถ่ายน้ำสัปดาห์ละครั้ง ชั่งน้ำหนักปลาก่อนการทดลอง และบันทึกน้ำหนักทุก 2 สัปดาห์ จนกระทั่งครบ 12 สัปดาห์ แล้วนำมาคำนวณหาน้ำหนักปลาที่เพิ่มขึ้น อัตรารอด และ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก ดังนี้

$$\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น} = \text{น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย} - \text{น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น}$$

$$\text{อัตรารอด} = \frac{\text{จำนวนปลาที่เหลือหลังการทดลอง} \times 100}{\text{จำนวนปลาเริ่มต้นการทดลอง}}$$

$$\text{อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่กิน}}{\text{น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น}}$$

3.3.3.4 สุ่มปลาแฟนซีคาร์พซ้ำละ 3 ตัว จากทุกชุดการทดลองมาวัดการเปลี่ยนแปลงสีผิวบริเวณลำตัวด้วยเครื่องวัดสี (chromameter) โดยวัดก่อนเริ่มการทดลอง และทุก 2 สัปดาห์ จนสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 12 สัปดาห์ จากนั้นทำการศึกษาความคงตัวของสีผิวปลา โดยจะหยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีนแล้วให้อาหารควบคุมอย่างเดียวทุกชุดการทดลองและวัดการเปลี่ยนแปลงของสีผิวทุก 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์

3.3.3.5 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง สุ่มปลาแฟนซีคาร์พชุดการทดลองละ 9 ตัว มาทำการสลบเก็บตัวอย่างเลือดจากเส้นเลือดบริเวณหาง (caudal blood vessels puncture) โดยเคลือบแฮปพารินในกระบอกฉีดยาเพื่อป้องกันการแข็งตัวของเลือด จากนั้นแบ่งเลือดปลาใส่ในไมโครฮีมาโตคริต เพื่อใช้วิเคราะห์หาค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ส่วนเลือดที่เหลือใส่ใน eppendorf ที่มีสาร EDTA นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C แยกพลาสมาไว้ใน eppendorf เก็บที่อุณหภูมิ -20 °C เพื่อนำไปใช้ในการวิเคราะห์ค่า TBARS ในเลือด และทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ในเลือด ส่วนตะกอนเม็ดเลือดหลังจากนำพลาสมาออกแล้วนำไปศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ catalase รายละเอียดดังนี้

(1) เปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริต ตามวิธีของ Vazquez and Guerrero (2007) โดยนำเลือดใน microhaematocrit tube จากข้อ 3.3.3.5 มาอุดปลายด้านหนึ่งด้วยดินน้ำมันขาว นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ที่ความเร็วรอบ 12,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 15 นาที แล้วคำนวณเปอร์เซ็นต์ค่าฮีมาโตคริตดังนี้

$$\text{เปอร์เซ็นต์ค่าฮีมาโตคริต} = \frac{(\text{ความยาวชั้นเม็ดเลือดแดงใน microhaematocrit tube} \times 100)}{\text{ความยาวของเลือดทั้งหมดใน microhaematocrit tube}}$$

(2) ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาว ตามวิธีของ Vazquez and Guerrero (2007) หาโดยนำเลือดใน microhaematocrit tube จากข้อ 3.3.3.5 มาถ่ายลงใน diluting pipette ให้ถึงขีด 0.5 เช็ดเลือดที่ปลายออกให้หมด ก่อนจุ่มลงในน้ำยา Yokoyama's white cell fluid จนถึงขีด 101 จะได้เลือดที่มีความเจือจาง 1:200 ใช้นิ้วอุดที่ปลายทั้งสองด้านพลิกไปมาช้าๆประมาณ 2 นาที ปล่อยน้ำยาจากปิเปต 2-3 หยดแรกทิ้งเพื่อกำจัดน้ำยาที่ไม่ได้ผสมกับเลือดทิ้ง จากนั้นนำส่วนปลายด้านล่างของปิเปตมาแตะระหว่าง counting chamber และ cover glass นำไปส่องภายใต้กล้องจุลทรรศน์หาตารางสี่เหลี่ยมจัตุรัสตรงกลาง 25 ช่องจากนั้นนับจำนวนเม็ดเลือดแดงใน 5 ช่องโดยใช้กำลังขยาย 40 เท่า ส่วนการนับจำนวนเม็ดเลือดขาวนับเฉพาะสี่เหลี่ยมจัตุรัสใหญ่ (16 ช่อง) ที่ตำแหน่งมุมทั้ง 4 แล้วนำไปคำนวณตามสูตร ดังนี้

จำนวนเม็ดเลือดแดง = จำนวนเม็ดเลือดที่นับได้ 5 ช่อง ×5×10×200
= ______________ เซลล์/ลบ.มม.
จำนวนเม็ดเลือดขาว = จำนวนเม็ดเลือดที่นับได้16 ช่อง ×10×200
= ______________ เซลล์/ลบ.มม.

(3) กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ตามวิธีของ Rudneva. (1997) นำตะกอนเม็ดเลือดที่ได้จากข้อ 3.3.3.5 ไปล้างด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 0.85 เปอร์เซ็นต์ นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 3,000 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C (ทำซ้ำ 3 ครั้ง) จากนั้นละลายตะกอนเม็ดเลือดด้วยน้ำกลั่น 5 เท่าของตะกอนเม็ดเลือด เก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วดูดสารละลายเม็ดเลือด 0.5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 7.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย H_2O_2 1 % ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมรวมกันแล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดหยุดปฏิกิริยาของ hydroperoxide reduction โดยเติม 10 % H_2SO_4 ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ไตเตรตด้วยสารละลาย 1 N $KMnO_4$ จนตัวอย่างเป็นสีชมพู เพื่อตรวจสอบปริมาณของ H_2O_2 reduction ทำแบลงค์โดยใช้น้ำกลั่นแทนเลือด และคำนวณหากิจกรรมของเอนไซม์ catalase จากสูตร

$$A, mg\,H_2O_2 = \frac{1.7\,(V_{contr.} - V_{exp.})}{30 \times 0.5}$$

เมื่อA = activity of enzyme catalase (mg H_2O_2)

V = ปริมาตรของสารละลาย 1 N $KMn0_4$ (ml.)

30 = ระยะเวลาในการ incubate 30 นาที

0.5 = ปริมาตรของตัวอย่าง

(4) ค่า TBARS ในเลือด ศึกษาโดยนำพลาสมาที่ได้จากข้อ 3.3.3.5 จำนวน 0.1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองมีฝาปิด เติม 50 mM potassium phosphate buffer pH 7.4 จำนวน 0.5 มิลลิลิตร, triobarbituric acid (TBA) 0.2 มิลลิลิตร, trichloroacetic acid (TCA) 1 มิลลิลิตร และ butylated hydroxytoluene (BHT) 0.01 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 95-100 °C เป็นเวลา 30 นาที เขย่าหลอดทดลองทุกๆ 5 นาที เมื่อครบระยะเวลาทำให้เย็นทันที นำสารในหลอดทดลองถ่ายลงใน eppendorf แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วที่ 1,500 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณหาค่ากรดไทโอบาร์บิวทูริกโดยแทนในสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานของมัลลัลไดแอลดีไฮด์ (MDA) แสดงผลเป็นมิลลิกรัมมัลลัลไดแอลดีไฮด์ต่อมิลลิลิตรของพลาสมา

(5) การทดสอบความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ในเลือด ใช้วิธีดัดแปลงจาก Sanchez-Moreno *et al.* (1998) โดยปิเปตพลาสมาที่ได้จากข้อ 3.3.3.5 จำนวน 0.1 มิลลิลิตร และปิเปตสารละลาย DPPH 3.9 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง (หลอดควบคุมใช้น้ำกลั่นแทนพลาสมา) ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารในหลอดทดลองถ่ายลงใน eppendorf แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วที่ 12,000 g เป็นเวลา 15 นาที ที่อุณหภูมิ 20 °C วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ตามข้อ 3.3.1.4

3.3.3.6 การศึกษาเซลล์เม็ดสีภายนอก นำปลาแฟนซีคาร์พมาดึงเกล็ดบริเวณข้างลำตัว วางบนแผ่นสไลด์ เพื่อศึกษาเซลล์เม็ดสี ภายใต้กล้องจุลทรรศน์พร้อมบันทึกภาพ

3.3.3.7 การศึกษาพยาธิสภาพของเนื้อเยื่อปลา

(1) นำปลาที่เก็บเลือดเรียบร้อยแล้วมาผ่าเปิดช่องท้องเก็บตัวอย่างชิ้นเนื้อแบ่งออกเป็น ส่วนผิวหนัง ตับและอวัยวะสืบพันธุ์ แช่ในน้ำยา buffer formalin 10 % นาน 24 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำยาแล้วแช่ซ้ำ นำใส่ตลับใส่เนื้อเยื่อ โดยให้น้ำไหลผ่านอย่างช้าๆ นาน 2-4 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างเนื้อเยื่อไปทำการขจัดน้ำ (dehydration) โดยผ่านขั้นตอนตามวิธีมาตรฐานของ Humason (1979) (ภาคผนวก ค.)

(2) นำแท่งพาราฟินที่มีเนื้อเยื่อปลาแฟนซีคาร์พไปตัดด้วยเครื่องตัดเนื้อเยื่อที่ความหนา 4-5 ไมครอน และวางบนแผ่นสไลด์ นำแผ่นสไลด์ดังกล่าวไปย้อมสีตามขั้นตอนของเทคนิคการย้อมสี hematoxylin & eosin ตามวิธีของ Humason (1979) (ภาคผนวก ง.) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่อผิวหนัง ตับและอวัยวะสืบพันธุ์ (ตามวิธี Weber *et al.* 2003) ของปลาแฟนซีคาร์พ ภายใต้กล้องจุลทรรศน์จากสไลด์ที่ย้อมสีพร้อมบันทึกผลและถ่ายภาพ

3.4 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง มาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างชุดการทดลองโดยใช้ general linear model ด้วยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป

3.5 สถานที่ทำการวิจัย

ห้องปฏิบัติการหลักสูตรวิทยาศาสตร์การประมง สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์และประมง คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.6 ระยะเวลาดำเนินการ

เดือนมิถุนายน 2551 - เดือนธันวาคม 2552

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การทดลองที่ 1 วิธีการเก็บรักษาต่อปริมาณสารไลโคปีน ความเข้มสีผงมะเขือเทศและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศ

4.1.1 ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อปริมาณสารไลโคปีนในผงมะเขือเทศ

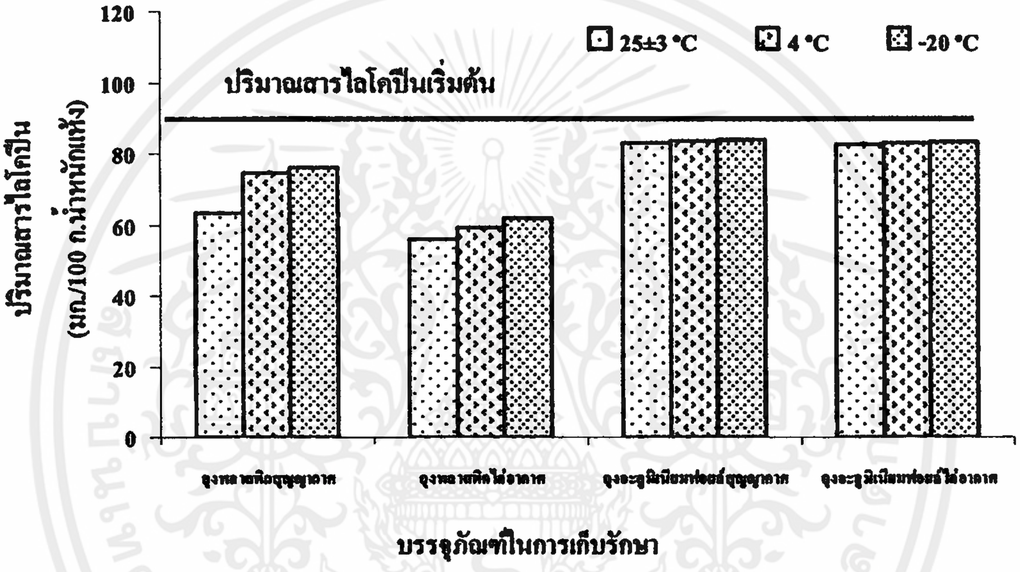
จากการทดลองนำผงมะเขือเทศมาเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ 4 แบบ ได้แก่ ถุงพลาสติกสุญญากาศ ถุงพลาสติกไล่อากาศ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ ร่วมกับอุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 25±3 ℃, 4 ℃ และ-20 ℃ เป็นระยะเวลา 40 สัปดาห์ พบว่า ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ ร่วมกับอุณหภูมิ-20 ℃ มีปริมาณสารไลโคปีนสูงสุด 83.56±0.11 มก./100 ก. น้ำหนักแห้ง (ตารางที่ 4.1) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า บรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและอุณหภูมิมีอิทธิพลร่วมกัน (interaction) ต่อปริมาณสารไลโคปีนในผงมะเขือเทศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ร่วมกับอุณหภูมิ -20 ℃ มีปริมาณสารไลโคปีนสูงสุดในขณะที่ถุงพลาสติกไล่อากาศร่วมกับอุณหภูมิ 25±3 ℃ มีปริมาณสารไลโคปีนต่ำสุด ($P<0.05$) (ภาพที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณสารไลโคปีนในผงมะเขือเทศ (มก./100 ก. น้ำหนักแห้ง)ที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์และอุณหภูมิต่างกันเป็นเวลา 40 สัปดาห์

บรรจุภัณฑ์	อุณหภูมิ (℃)			Mean±SE
	25±3 ℃	4 ℃	-20 ℃	
ถุงพลาสติกสุญญากาศ	63.47±0.03	74.70±0.01	76.27±0.03	71.48±1.77^{b}
ถุงพลาสติกไล่อากาศ	55.90±0.03	59.24±0.06	62.02±0.05	59.06±0.77^{a}
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ	83.09±0.02	83.60±0.01	84.00±0.04	83.56±0.11^{c}
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ	82.57±0.02	82.90±0.01	83.15±0.06	82.87±0.07^{c}
Mean±SE	71.25±3.58^{a}	75.11±2.96^{b}	76.37±2.65^{b}	

อักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสารไลโคปีนในบรรจุภัณฑ์ที่เก็บรักษา พบว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ มีปริมาณสารไลโคปีนสูงสุดเท่ากับ 83.56±0.11 มก./100 ก.น้ำหนักแห้ง ซึ่งต่างกับถุงพลาสติกสุญญากาศ และถุงพลาสติกไล่อากาศ มีปริมาณสารไลโคปีน เท่ากับ 71.48±1.77 มก./100 ก. น้ำหนักแห้งและ 59.06±0.77มก./100 ก.น้ำหนักแห้ง ตามลำดับ ($P<0.05$) แต่ไม่ต่างกับถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสารไลโคปีนที่เก็บรักษาในอุณหภูมิต่างๆ พบว่า อุณหภูมิห้อง -20 °C มีปริมาณสารไลโคปีนสูงสุดเท่ากับ 76.37±2.65 มก./100 ก. น้ำหนักแห้ง ($P<0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 4°C และอุณหภูมิห้อง 25±3 °C ไม่แตกต่างกันมีปริมาณสารไลโคปีน 75.11±2.96 มก./100 ก. น้ำหนักแห้ง และ 71.25±3.58 มก./100 ก. น้ำหนักแห้ง ($P>0.05$)



ภาพที่ 4.1 ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อปริมาณสารไลโคปีนในผงมะเขือเทศ

4.1.2 ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อความเข้มสีผงมะเขือเทศ

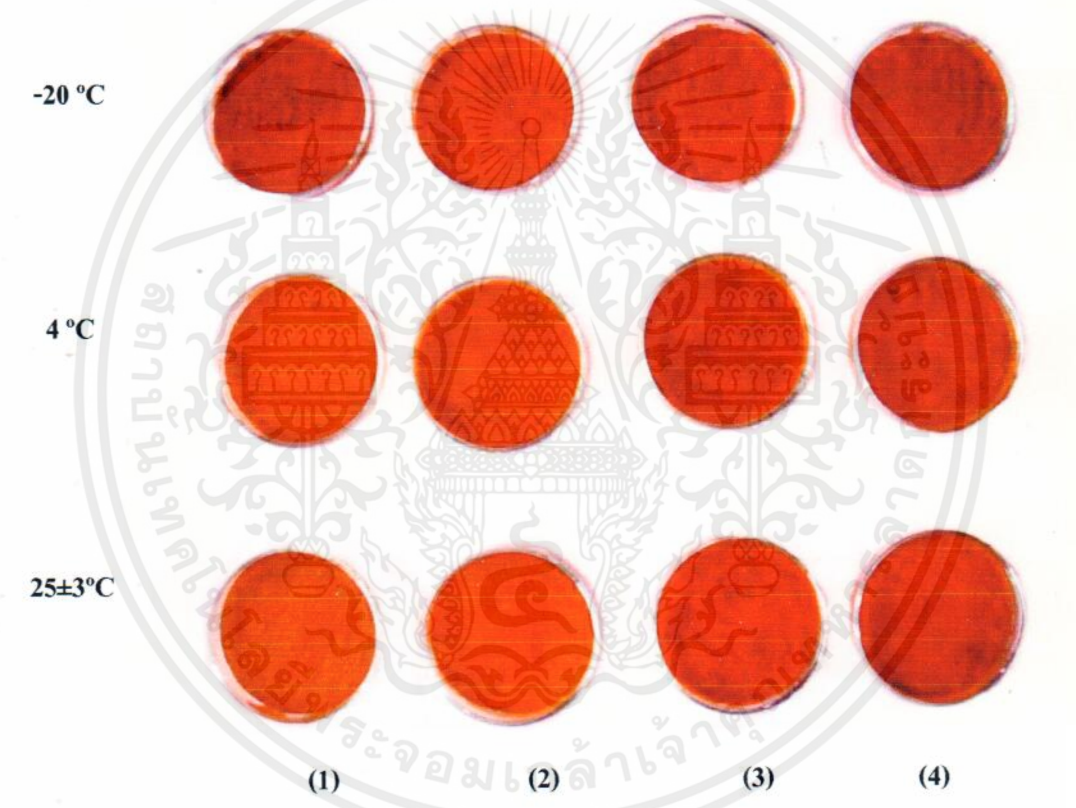
จากการศึกษาค่าความเข้มสีผงมะเขือเทศที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ 4 แบบ ร่วมกับอุณหภูมิ 3 ระดับ เป็นระยะเวลา 40 สัปดาห์ โดยวัดค่าการเปลี่ยนแปลงของสีผงมะเขือเทศด้วยเครื่องวัดสี อ่านค่าในระบบ CIE L*a*b* (CIELAB) (L* = ค่าความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 - 100, a* = ค่าสีแดง - สีเขียว และ b* = ค่าสีเหลือง - สีน้ำเงิน)

4.1.2.1 ค่าความสว่าง (L) ของผงมะเขือเทศ

ผลของค่าความสว่างผงมะเขือเทศ พบว่า ความสว่างมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเก็บที่อุณหภูมิห้อง 25±3 °C ร่วมกับถุงพลาสติก (ภาพที่ 4.2) และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า บรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและอุณหภูมิ ไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่าง 2 ปัจจัย ต่อค่าความสว่างของผงมะเขือเทศอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) โดยถุงพลาสติกสุญญากาศและถุงพลาสติกไล่อากาศที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ 25±3 °C มีค่าความสว่างสูงสุดเท่ากับ 44.93±0.03 และค่าต่ำสุดใน

บรรจุภัณฑ์ชนิดถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศในอุณหภูมิ -20 ºC เท่ากับ 44.17±0.04 (ตารางที่ 4.2 และ ภาพที่ 4.3)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสว่างของผงมะเขือเทศในบรรจุภัณฑ์ที่เก็บรักษา พบว่าถุงพลาสติกไล่อากาศมีค่าความสว่างสูงสุดไม่แตกต่างกับถุงพลาสติกสุญญากาศ เท่ากับ 44.78±0.05 และ 44.70±0.06 ($P<0.05$) ตามลำดับ แต่แตกต่างกับถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ และถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศมีค่าเท่ากับ 44.41±0.08 และ 44.52±0.06 เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยความสว่างของผงมะเขือเทศที่เก็บในอุณหภูมิต่างๆ พบว่า อุณหภูมิ 25±3 ºC มีค่าความสว่างสูงสุดเท่ากับ 44.83±0.04 แตกต่างกับทุกอุณหภูมิ ($P<0.05$)

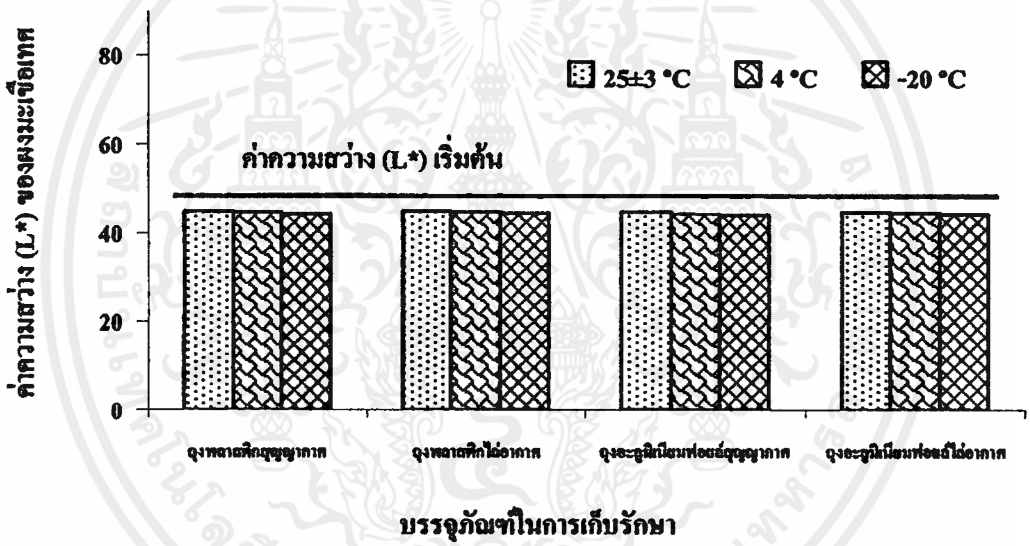


ภาพที่ 4.2 ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อความเข้มสีของผงมะเขือเทศ (1) = ถุงพลาสติกสุญญากาศ (2) = ถุงพลาสติกไล่อากาศ (3) = ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ และ (4)=ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ

ตารางที่ 4.2 ค่าความสว่าง (L*) ของผงมะเขือเทศที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์และอุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลา 40 สัปดาห์

บรรจุภัณฑ์	อุณหภูมิ (°C)			Mean±SE
	25±3 °C	4 °C	-20 °C	
ถุงพลาสติกสุญญากาศ	44.93±0.03	44.70±0.01	44.46±0.03	44.70±0.06[b]
ถุงพลาสติกไล่อากาศ	44.93±0.03	44.83±0.06	44.60±0.05	44.78±0.05[b]
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ	44.70±0.02	44.37±0.01	44.17±0.04	44.41±0.08[a]
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ	44.77±0.02	44.50±0.01	44.30±0.06	44.52±0.06[a]
Mean±SE	44.83±0.04[c]	44.60±0.06[b]	44.38±0.06[a]	

อักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.3 ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อค่าความสว่าง (L*) ของผงมะเขือเทศ

4.1.2.2 ค่าความเข้มสีแดง (a*) ของผงมะเขือเทศ

ผลของค่าความเข้มสีแดงผงมะเขือเทศ พบว่า ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับ อุณหภูมิ -20 °C มีค่าความเข้มสีแดงสูงสุด 12.27±0.07 (ตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.4) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและอุณหภูมิ มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่าความเข้มสีแดงของผงมะเขือเทศ (P<0.05)

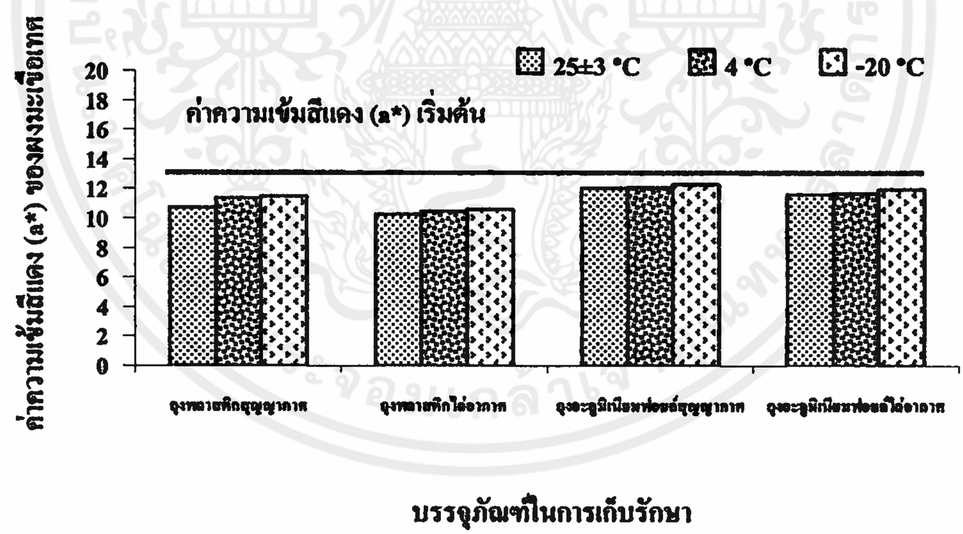
เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยสีแดงของผงมะเขือเทศในบรรจุภัณฑ์ที่เก็บรักษา พบว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ มีค่าความเข้มสีแดงสูงสุด ระดับความเข้มสีแดง รองลงมาคือถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ ถุงพลาสติกสุญญากาศ และถุงพลาสติกไล่อากาศ เท่ากับ 12.11±0.04

11.77±0.05, 11.20±0.11 และ 10.43±0.05 ตามลำดับ ซึ่งทุกบรรจุภัณฑ์มีความแตกต่างกัน (P<0.05) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยสีแดงของผงมะเขือเทศที่เก็บในอุณหภูมิต่างๆ พบว่าอุณหภูมิ -20 °C มีค่าความเข้มสีแดงสูงสุด รองลงมาคือ อุณหภูมิ 4 °C และอุณหภูมิห้อง 25±3 °C มีค่า 11.59±0.19, 11.40±0.18 และ 11.14±0.21 ตามลำดับโดยทุกอุณหภูมิมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

ตารางที่ 4.3 ค่าความเข้มสีแดง (a*) ของผงมะเขือเทศที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์และอุณหภูมิต่างกันเป็นเวลา 40 สัปดาห์

บรรจุภัณฑ์	อุณหภูมิ (°C)			Mean±SE
	25±3 °C	4 °C	-20 °C	
ถุงพลาสติกสุญญากาศ	10.70±0.06	11.36±0.03	11.53±0.09	11.20±0.11[b]
ถุงพลาสติกไล่อากาศ	10.23±0.03	10.47±0.03	10.60±0.00	10.43±0.05[a]
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ	12.00±0.06	12.07±0.03	12.27±0.07	12.11±0.04[d]
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ	11.63±0.03	11.70±0.00	11.97±0.03	11.77±0.05[c]
Mean±SE	11.14±0.21[a]	11.40±0.18[b]	11.59±0.19[c]	

อักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.4 ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อค่าความเข้มสีแดง (a*) ของผงมะเขือเทศ

4.1.2.3 ค่าความเข้มสีเหลือง (b*) ของผงมะเขือเทศ

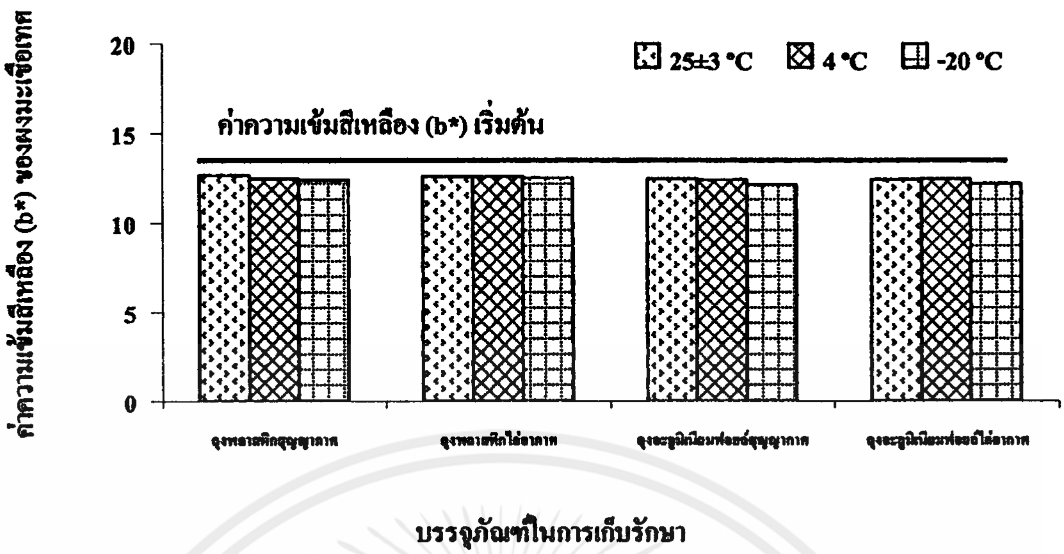
ผลของค่าความเข้มสีเหลืองผงมะเขือเทศ พบว่า ถุงพลาสติกสุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ 25±3 °C มีค่าความเข้มสีเหลืองสูงสุดเฉลี่ย 12.67±0.07 (ตารางที่ 4.4 และภาพที่ 4.5) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและอุณหภูมิ มีอิทธิพลร่วมกันต่อค่าความเข้มสีเหลืองของผงมะเขือเทศ ($P<0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยสีเหลืองของผงมะเขือเทศในบรรจุภัณฑ์ที่เก็บรักษา พบว่า ถุงพลาสติกไล่อากาศ มีค่าความเข้มสีเหลืองสูงสุด รองลงมาคือ ถุงพลาสติกสุญญากาศ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ และ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ มีค่า 12.57±0.01, 12.51±0.04, 12.33±0.04 และ 12.31±0.05 ตามลำดับ ซึ่งถุงพลาสติกไล่อากาศ มีความแตกต่างกันกับทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$) ส่วนถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศและ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศไม่ต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยสีเหลืองของผงมะเขือเทศที่เก็บในอุณหภูมิต่างๆ พบว่า อุณหภูมิห้อง 25±3 °C มีค่าความเข้มสีเหลืองสูงสุด รองลงมาคือ อุณหภูมิ 4 °C และ -20 °C มีค่า 12.53±0.04, 12.48±0.02 และ 12.29±0.05 ตามลำดับ ซึ่งทุกอุณหภูมิมีความแตกต่างกัน ($P<0.05$)

ตารางที่ 4.4 ค่าความเข้มสีเหลือง (b*) ของผงมะเขือเทศที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ต่างกันและอุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลา 40 สัปดาห์

บรรจุภัณฑ์	อุณหภูมิ (°C)			Mean±SE
	25±3 °C	4 °C	-20 °C	
ถุงพลาสติกสุญญากาศ	12.67±0.07	12.47±0.03	12.40±0.06	12.51±0.04^{b}
ถุงพลาสติกไล่อากาศ	12.60±0.00	12.60±0.00	12.50±0.00	12.57±0.01^{c}
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ	12.43±0.03	12.40±0.00	12.10±0.00	12.31±0.05^{a}
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ	12.40±0.00	12.43±0.03	12.17±0.03	12.33±0.04^{a}
Mean±SE	12.53±0.04^{c}	12.48±0.02^{b}	12.29±0.05^{a}	

อักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.5 ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อค่าความเข้มสีเหลือง (b*) ของผงมะเขือเทศ

4.1.3 ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศ

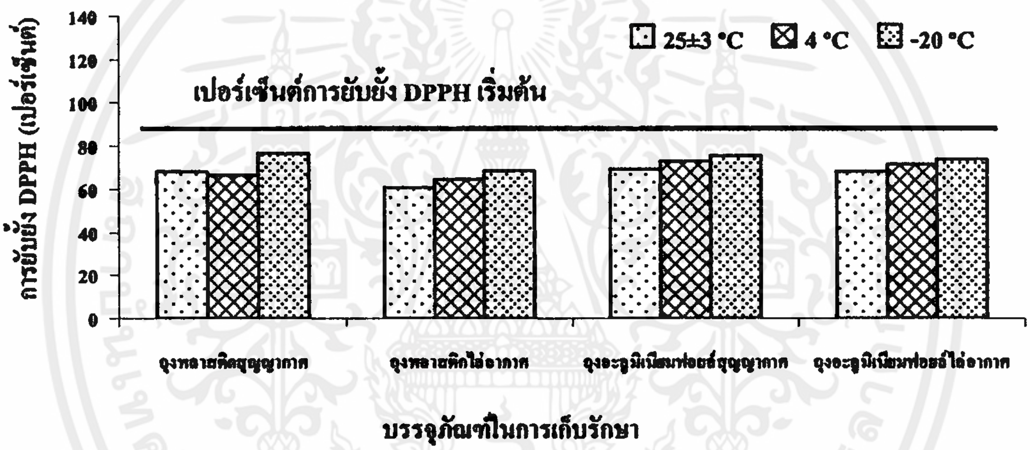
จากการทดลองนำผงมะเขือเทศมาเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ 4 แบบ ร่วมกับอุณหภูมิ 3 ระดับ เป็นระยะเวลา 40 สัปดาห์ พบว่า ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด เท่ากับ 75.50±0.04 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.6) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า บรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและอุณหภูมิ มีอิทธิพลร่วมกันต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ($P<0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศในบรรจุภัณฑ์ที่เก็บรักษา พบว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด รองลงมาคือ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ ถุงพลาสติกสุญญากาศ และถุงพลาสติกไล่อากาศ มีค่า 72.70±0.75, 71.26±0.72, 67.48±0.95 และ 64.67±1.01 ตามลำดับ ซึ่งทุกบรรจุภัณฑ์มีความแตกต่างกัน ($P<0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH ของสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศที่เก็บรักษาในอุณหภูมิต่างๆ พบว่าอุณหภูมิ -20 °C มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด รองลงมาคืออุณหภูมิ 4 °C และอุณหภูมิห้อง 25±3 °C มีค่า 72.43±0.82, 68.94±1.03 และ 65.71±1.05 ตามลำดับ ซึ่งทุกอุณหภูมิมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P<0.05$)

ตารางที่ 4.5 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารไลโคปีนในผงมะเขือเทศที่เก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ต่างกันและอุณหภูมิต่างกัน เป็นเวลา 40 สัปดาห์

บรรจุภัณฑ์	อุณหภูมิ (°C)			Mean±SE
	25±3 °C	4 °C	-20 °C	
ถุงพลาสติกสุญญากาศ	64.18±0.03	66.63±0.01	71.62±0.03	67.48±0.95^{b}
ถุงพลาสติกไล่อากาศ	60.75±0.03	64.66±0.06	68.58±0.05	64.67±1.01^{a}
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ	69.55±0.02	73.04±0.01	75.50±0.04	72.70±0.75^{d}
ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ	68.35±0.02	71.42±0.01	73.99±0.06	71.26±0.72^{c}
Mean±SE	65.71±1.05^{a}	68.94±1.03^{b}	72.43±0.82^{c}	

อักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.6 ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

4.2 การทดลองที่ 2 ศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารกันหืนของสารไลโคปีนในอาหาร

4.2.1 ผลของบรรจุภัณฑ์และระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงค่า thiobarbituric acid reactive substance (TBARS)

การศึกษาระดับการป้องกันการหืนของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่เหมาะสมในอาหาร โดยการเสริมสารไลโคปีนความเข้มข้น 5 ระดับ ได้แก่ 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษา 2 แบบโดยเลือกใช้บรรจุภัณฑ์จากการทดลองที่ 1 ซึ่งให้ผลดีที่สุดในการเก็บรักษา ได้แก่ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไม่ไล่อากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ นำอาหารเก็บในอุณหภูมิห้อง 25±3 °C เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์ พบว่า ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับระดับความเข้มข้นของสาร

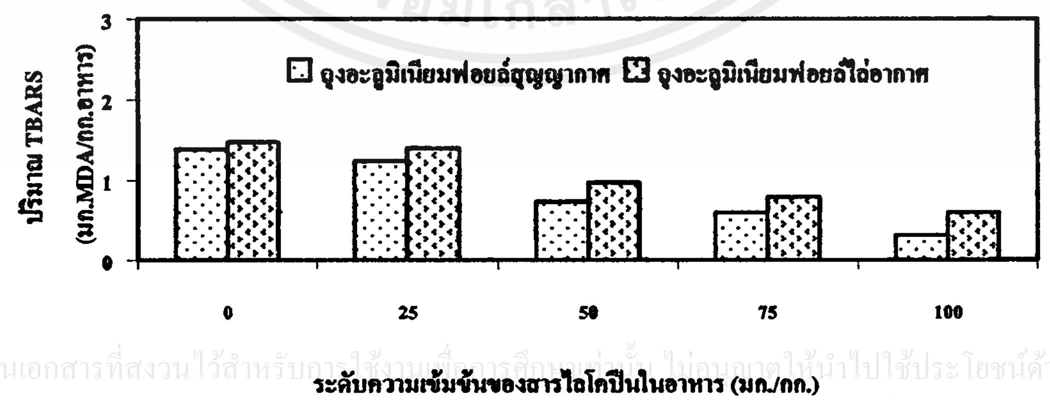
ไลโคปีน 100 มก./กก. มีค่า TBARS ต่ำสุดเฉลี่ย 0.33±0.06 มก.MDA /กก.อาหาร และถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศร่วมกับระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน 0 มก./กก. มีค่า TBARS สูงสุดเฉลี่ย 1.47±0.00 มก. MDA /กก.อาหาร (ตารางที่ 4.6 และภาพที่ 4.7) เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนมีอิทธิพลร่วมกันต่อค่า TBARS ในอาหาร ($P<0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย TBARS ในอาหารของบรรจุภัณฑ์ที่เก็บรักษา พบว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ มีค่า TBARS ต่ำกว่า ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ เท่ากับ 0.86±0.13 มก.MDA /กก. อาหาร และ 1.05±0.11 มก.MDA /กก.อาหาร ($P<0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย TBARS ในอาหารที่มีความเข้มข้นของสารไลโคปีนระดับต่างๆ พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่า TBARS ต่ำสุด รองลงมาคือที่ระดับความเข้มข้น 50, 75, 25, และ 0 มก./กก. มีค่าเท่ากับ 0.47±0.00 มก.MDA /กก.อาหาร ,0.77±0.01 มก.MDA /กก.อาหาร, 0.78±0.00 มก.MDA /กก.อาหาร, 1.30±0.00 มก.MDA /กก.อาหาร และ 1.43±0.00 มก.MDA /กก.อาหาร ตามลำดับ ซึ่งทุกระดับความเข้มข้นมีความแตกต่างกัน ($P<0.05$)

ตารางที่ 4.6 ค่า TBARS สัปดาห์ที่ 24 ในอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆร่วมกับถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศและไล่อากาศ

ถุงอะลูมิเนียม	ระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหาร (มก./กก.)					Mean±SE
ฟอยล์	0	25	50	75	100	
สุญญากาศ	1.38±0.00	1.24±0.00	0.74±0.07	0.60±0.06	0.33±0.06	0.86±0.13^{a}
ไล่อากาศ	1.47±0.00	1.39±0.00	0.97±0.00	0.80±0.02	0.61±0.02	1.05±0.11^{a}
Mean±SE	1.43±0.00^{e}	1.30±0.00^{d}	0.77±0.01^{b}	0.78±0.00^{b}	0.47±0.00^{a}	

อักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.7 ค่า TBARS สัปดาห์ที่ 24 ในอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆร่วมกับถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศและไล่อากาศ

4.2.2 ผลของบรรจุภัณฑ์และระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารไลโคปีนในอาหาร

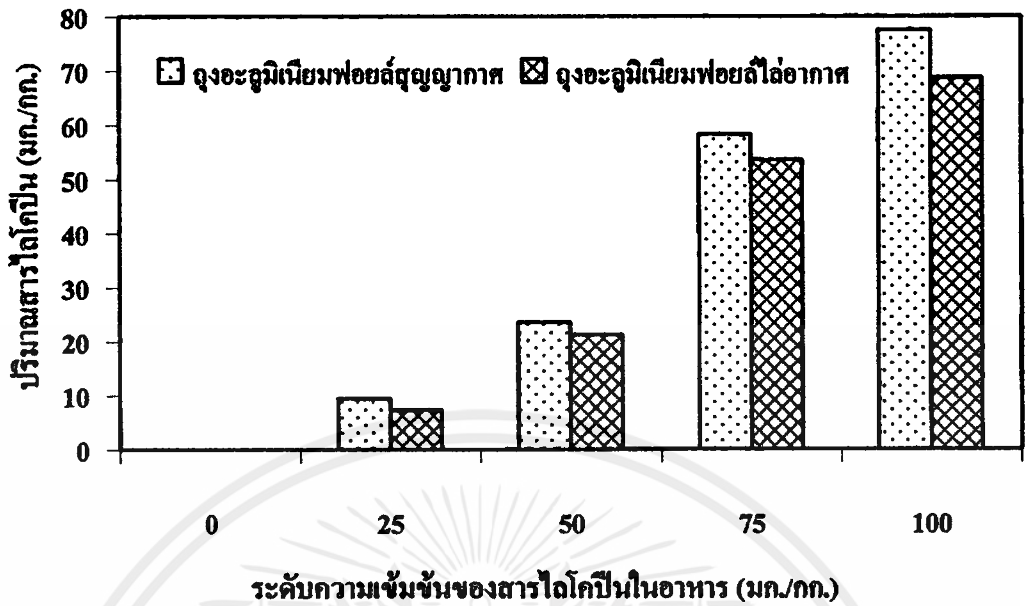
จากการทดลองนำอาหารมาผสมสารไลโคปีนที่มีระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน 5 ระดับ ได้แก่ 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษา 2 แบบ ซึ่งได้แก่ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไม่ไล่อากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ นำอาหารเก็บในอุณหภูมิห้อง 25±3 °C เป็นระยะเวลา 24 สัปดาห์ พบว่า บรรจุภัณฑ์ร่วมระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหารมีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณสารไลโคปีน ($P<0.05$) โดยถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนตั้งแต่ 25-100 มก./กก. สามารถรักษาปริมาณสารไลโคปีนในอาหารได้สูงกว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ชนิดไล่อากาศ (ตารางที่ 4.7 และภาพที่ 4.8)

เมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสารไลโคปีนในอาหารของบรรจุภัณฑ์ที่เก็บรักษา พบว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศสามารถรักษาปริมาณไลโคปีนได้มากกว่า ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ มีค่า 33.77±7.89 มก./กก. และ 30.16±7.11 มก./กก. ตามลำดับ ($P>0.05$) และเมื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยปริมาณสารไลโคปีนในอาหารที่มีความเข้มข้นของสารไลโคปีนระดับต่างๆ พบว่าปริมาณสารไลโคปีนทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกัน ($P<0.05$) เท่ากับ 0.00±0.00, 8.39±0.36, 22.40±0.41, 55.94±0.82 และ 73.13±1.55 มก./กก.ตามลำดับ

ตารางที่ 4.7 ปริมาณสารไลโคปีนสัปดาห์ที่ 24 ในอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศและไล่อากาศ

ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์	ระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหาร (มก./กก.)					Mean±SE
	0	25	50	75	100	
สุญญากาศ	0.00±0.00	9.40±0.01	23.57±0.02	58.31±0.06	77.60±0.06	33.77±7.89[a]
ไล่อากาศ	0.00±0.00	7.37±0.00	21.23±0.00	53.57±0.02	68.67±0.02	30.16±7.11[a]
Mean±SE	0.00±0.00[a]	8.39±0.36[b]	22.40±0.41[c]	55.94±0.82[d]	73.13±1.55[e]	

อักษรที่ต่างกันในแนวเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.8 ปริมาณสารไลโคปีน สัปดาห์ที่ 24 ในอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศและไล่อากาศ

4.3 การทดลองที่ 3 ศึกษาระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนที่เหมาะสมในอาหาร ต่อการพัฒนาสีผิว การเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อเยื่อ ค่าโลหิตวิทยาและประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของปลาแฟนซีคาร์พ

4.3.1 ผลของการให้อาหารผสมสารไลโคปีนต่อการเจริญเติบโตของปลาแฟนซีคาร์พ

จากการทดลองศึกษาระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหาร ต่อการเจริญเติบโตของปลาแฟนซีคาร์พเมื่อได้รับสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. เป็นระยะเวลา 14 สัปดาห์ พบว่า ปลาแฟนซีคาร์พมี น้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้น น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้าย อัตราเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน และอัตราการรอดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) โดยน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 9.22±0.00 กรัม และหลังจาก 14 สัปดาห์ น้ำหนักเฉลี่ยสุดท้ายของปลามีค่า 20.25±0.17, 20.38±0.17,20.68±0.11, 20.40±0.20 และ 20.55±0.14 อัตรารอดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ในทุกชุดการทดลอง น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน มีค่า 0.11±0.00, 0.12±0.00, 0.12±0.00, 0.11±0.00 และ0.12±0.00 กรัม/ตัว/วัน และอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก มีค่า 2.91±0.01, 2.96±0.01, 2.97±0.01, 2.94±0.03 และ 2.95±0.02 (ตารางที่ 4.8)

ตารางที่ 4.8 การเจริญเติบโตของปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศในระดับที่ต่างกัน

อาหารผสมสารไลโคปีน (มก./กก.)	น้ำหนักเฉลี่ย (กรัม/ตัว)		น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (กรัม/ตัว/วัน)	อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก	อัตราการรอดตาย (%)
	เริ่มต้น	สุดท้าย			
0	9.22±0.00^{a}	20.25±0.17^{a}	0.11±0.00^{a}	2.91±0.01^{a}	100±0.00^{a}
25	9.22±0.00^{a}	20.38±0.17^{a}	0.12±0.00^{a}	2.96±0.01^{a}	100±0.00^{a}
50	9.22±0.00^{a}	20.68±0.11^{a}	0.12±0.00^{a}	2.97±0.01^{a}	100±0.00^{a}
75	9.22±0.00^{a}	20.40±0.20^{a}	0.11±0.00^{a}	2.94±0.03^{a}	100±0.00^{a}
100	9.22±0.00^{a}	20.55±0.14^{a}	0.12±0.00^{a}	2.95±0.02^{a}	100±0.00^{a}

อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.3.2 ผลของการให้อาหารผสมสารไลโคปีนต่อความเข้มสีของปลาแฟนซีคาร์พ

จากการศึกษาค่าการเปลี่ยนแปลงความเข้มสีบนผิวปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. โดยวัดค่าการเปลี่ยนแปลงของสีผิวบริเวณลำตัวด้วยเครื่องวัดสี อ่านค่าในระบบ CIE L*a*b* (CIELAB) (L* = ค่าความสว่าง มีค่าตั้งแต่ 0 - 100, a* = ค่าสีแดง - สีเขียว และ b* = ค่าสีเหลือง - สีน้ำเงิน) ทำการวัดทุกๆ 2 สัปดาห์ เป็นระยะเวลา 14 สัปดาห์ จากนั้นให้อาหารสูตรพื้นฐานอย่างเดียวและวัดการเปลี่ยนแปลงสีผิวบริเวณลำตัวต่อไปอีก ทุก 2 สัปดาห์จนสิ้นสุดในสัปดาห์ที่ 18

4.3.2.1 ค่าความสว่าง (L*) บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์พ

ผลของค่าความสว่างบริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์พ พบว่า ค่าความสว่างมีแนวโน้มลดลงเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ยกเว้นที่ความเข้มข้น 0 มก./กก. มีค่าคงที่ ส่วนที่ระดับความเข้มข้นอื่นมีแนวโน้มลดลงตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 4.9) และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าเริ่มการทดลองค่าความสว่างไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง ($P>0.05$) และตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลองค่าความสว่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. (ตารางที่ 4.9) ดังนี้

สัปดาห์ที่ 2 ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 75 และ 100 มก./กก. มีค่าความสว่างต่ำสุด คือ 55.28±0.09 และ 52.25±0.90 ตามลำดับ ($P>0.05$)

และมีค่าต่างกันกับชุดการทดลองที่ให้อาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 0, 25 และ 50 มก./กก. (P<0.05)

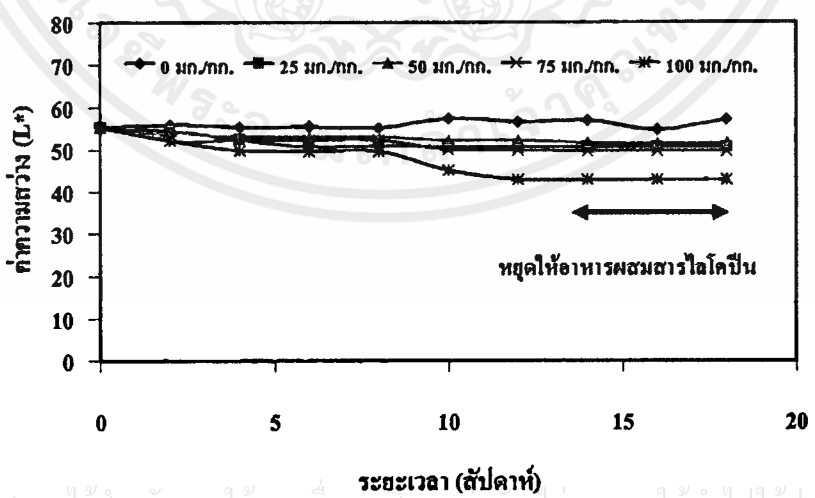
สัปดาห์ที่ 4 ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่าความสว่างต่ำสุด คือ 49.76±0.74 แตกต่างกับชุดการทดลองที่ให้อาหารผสมสารไลโคปีนในระดับความเข้มข้น 0, 25, 50 และ 75 มก./กก. (P<0.05) และที่ความเข้มข้น 0 มก./กก. มีค่าความสว่างสูงสุด คือ 55.26±0.58

สัปดาห์ที่ 6 ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่าความสว่างต่ำสุด (49.59±0.58) ซึ่งมีค่าแตกต่าง กับชุดการทดลองที่ให้อาหารผสมสารไลโคปีนในระดับความเข้มข้น 0, 50 และ 75 มก./กก. (P<0.05) ยกเว้นชุดการทดลองที่ให้อาหารผสมสารไลโคปีนในระดับความเข้มข้น 25 มก./กก (P>0.05)

สัปดาห์ที่ 8,10 และ 12 ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนระดับความเข้มข้น 100 มก./กก.มีค่าความสว่างต่ำสุดเหมือนกันทั้ง 3 สัปดาห์ คือ 46.78±0.15, 45.13±0.08 และ 42.90±0.54 ตามลำดับและแตกต่างกับทุกชุดการทดลอง (P<0.05)

สัปดาห์ที่ 14 ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่าความสว่างต่ำสุด เท่ากับ 42.75±0.30 (P<0.05)

สัปดาห์ที่ 16 และ 18 เป็นการวัดค่าความสว่างของปลาแฟนซีคาร์พหลังจากหยุดอาหารผสมสารไลโคปีนแล้วให้กินอาหารสูตรพื้นฐานแทน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น100 มก./กก. ยังคงมีค่าความสว่างต่ำสุด คือ 42.78±0.36 และ 42.74±0.04 ตามลำดับ (P<0.05) มีความแตกต่างทางสถิติทุกชุดการทดลอง (P<0.05)



ภาพที่ 4.9 ค่าความสว่าง (L*) ของสีผิวปลาแฟนซีคาร์พเมื่อได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก.

ตารางที่ 4.9 ค่าความสว่าง (L*) บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์พเมื่อกินอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

ระยะเวลา	ระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหาร (มก./กก.)				
(สัปดาห์)	0	25	50	75	100
0	55.28±0.09^{a}	55.28±0.09^{a}	55.28±0.09^{a}	55.28±0.09^{a}	55.28±0.09^{a}
2	55.85±0.75^{b}	54.36±0.39^{ab}	53.36±0.55^{ab}	52.25±0.19^{a}	52.25±0.90^{a}
4	55.26±0.58^{c}	52.43±0.43^{b}	53.20±0.84^{b}	52.18±0.43^{b}	49.76±0.74^{a}
6	55.40±0.30^{d}	50.86±0.92^{ab}	53.09±0.19^{c}	52.11±0.07^{bc}	49.59±0.58^{a}
8	55.12±0.11^{d}	50.74±0.14^{b}	53.11±0.08^{c}	51.05±0.54^{b}	46.78±0.15^{a}
10	57.29±0.09^{d}	50.62±0.38^{b}	52.09±0.18^{c}	49.99±0.21^{b}	45.13±0.08^{a}
12	56.42±0.26^{d}	50.59±0.24^{b}	52.17±0.47^{c}	49.79±0.51^{b}	42.90±0.54^{a}
14	56.89±0.10^{e}	50.49±0.17^{c}	51.52±0.06^{d}	49.53±0.29^{b}	42.75±0.30^{a}
16*	54.53±0.29^{c}	50.47±0.05^{bc}	51.42±0.14^{bc}	49.44±0.08^{b}	42.78±0.36^{a}
18*	57.10±0.25^{e}	50.46±0.06^{c}	51.58±0.15^{d}	49.63±0.37^{b}	42.74±0.04^{a}

* หมายถึง หยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีน แล้วให้อาหารสูตรพื้นฐานอย่างเดียว

อักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)

4.3.2.2 ค่าความเข้มสีแดง (a*) บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์พ

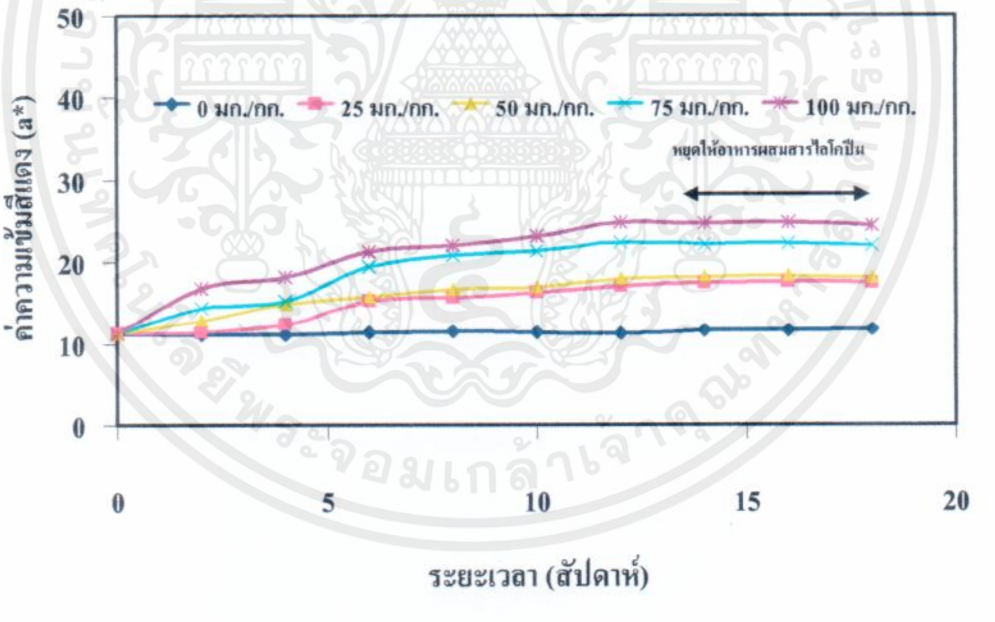
ผลของค่าความเข้มสีแดง บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์พ พบว่า ค่าความเข้มสีแดงมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ยกเว้นที่ความเข้มข้น 0 มก./กก. ที่มีค่าคงที่ ส่วนที่ระดับความเข้มข้นอื่นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 4.10 และ 4.11) และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าระยะเริ่มต้นการทดลองค่าความเข้มสีแดงไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง (P>0.05) และตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลอง ค่าความเข้มสีแดงมีความแตกต่างกัน (P<0.05) ที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. (ตารางที่ 4.10) ดังนี้

สัปดาห์ที่ 2 ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่าความเข้มสีแดงสูงที่สุด คือ 16.82±0.15 (P<0.05) และที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก. มีค่าความเข้มสีแดงต่ำสุด คือ 11.15±0.06 (P<0.05) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 75 มก./กก. มีค่า 14.42±0.02 และ 16.82±0.15ตามลำดับ (P>0.05)

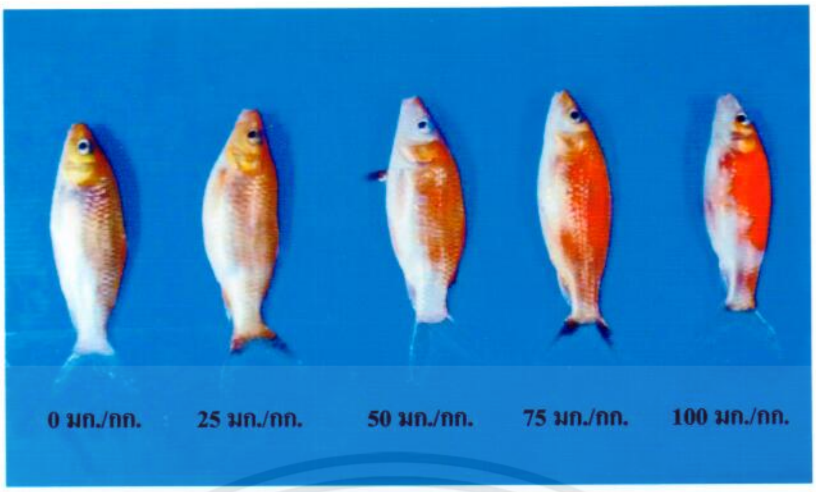
สัปดาห์ที่ 4 ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. ยังคงมีค่าความเข้มสีแดงสูงสุด คือ 18.32±0.17 ($P<0.05$) ส่วนระดับความเข้มข้น 50 (14.98±0.23) และ 75 มก./กก. (15.40±0.14) ไม่แตกต่างกัน ($P>0.05$) แต่ต่างกับระดับความเข้มข้นที่ 0 และ 25 มก./กก. ($P<0.05$) โดยที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก. มีค่าความเข้มสีแดงต่ำสุดเท่ากับ 11.12±0.03

สัปดาห์ที่ 6, 8, 12 และ 14 ปลาแฟนซีคาร์พ มีค่าความเข้มสีแดงแตกต่างกันทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$) โดยที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. สีค่าความเข้มสีแดงสูงสุดเหมือนกันทั้ง 4 สัปดาห์ คือ 21.36±0.13, 22.07±0.22, 24.82±0.32 และ 24.74±0.09 ตามลำดับและพบว่าทั้ง 4 สัปดาห์ ที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก. มีค่าความเข้มสีแดงต่ำสุด แตกต่างกับทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$) มีค่าเท่ากับ 11.38±0.10, 11.60±0.01, 11.26±0.17, 11.72±0.02, 11.63±0.05 และ 11.84±0.06 ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 16 และ 18 เป็นการวัดค่าความเข้มสีแดงของปลาแฟนซีคาร์พหลังจากหยุดอาหารผสมสารไลโคปีนแล้วให้กินอาหารสูตรพื้นฐานแทน พบว่าค่าความเข้มสีแดงให้ผลเช่นเดียวกับช่วงสัปดาห์ที่ 6, 8, 12 และ 14 คือที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. ยังคงมีค่าความเข้มสีแดงสูงสุด เท่ากับ 24.82±0.10 และ 24.44±0.24 ตามลำดับ แตกต่างกันทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$)



ภาพที่ 4.10 ค่าความเข้มสีแดง (a*) ของสีผิวปลาแฟนซีคาร์พเมื่อได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก.



ภาพที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงสีผิวปลาแฟนซีคาร์พเมื่อได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างๆเป็นเวลา 14 สัปดาห์และหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีนอีก 4 สัปดาห์

ตารางที่ 4.10 ค่าความเข้มสีแดง (a*) บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์พเมื่อกินอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกัน

ระยะเวลา	ระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหาร (มก./กก. อาหาร)				
(สัปดาห์)	0	25	50	75	100
0	11.29±0.00^{a}	11.29±0.00^{a}	11.29±0.00^{a}	11.29±0.00^{a}	11.29±0.00^{a}
2	11.15±0.06^{a}	11.45±0.19^{a}	12.90±0.42^{b}	14.42±0.02^{c}	16.82±0.15^{d}
4	11.12±0.03^{a}	12.45±0.12^{b}	14.98±0.23^{c}	15.40±0.14^{c}	18.32±0.17^{d}
6	11.38±0.10^{a}	15.33±0.07^{b}	15.85±0.17^{c}	19.60±0.09^{d}	21.36±0.13^{e}
8	11.60±0.01^{a}	15.77±0.05^{b}	16.70±0.01^{c}	20.99±0.01^{d}	22.07±0.22^{e}
10	11.41±0.33^{a}	16.36±0.16^{b}	16.99±0.20^{b}	21.47±0.33^{c}	23.20±0.26^{d}
12	11.26±0.17^{a}	17.19±0.04^{b}	17.99±0.01^{c}	22.51±0.08^{d}	24.82±0.32^{e}
14	11.72±0.02^{a}	17.45±0.12^{b}	18.21±0.10^{c}	22.21±0.23^{d}	24.74±0.09^{e}
16*	11.63±0.05^{a}	17.68±0.03^{b}	18.45±0.28^{c}	22.27±0.24^{d}	24.82±0.10^{e}
18*	11.84±0.06^{a}	17.45±0.07^{b}	18.15±0.17^{c}	22.10±0.03^{d}	24.44±0.24^{e}

*** หมายถึง หยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีน แล้วให้อาหารสูตรพื้นฐานอย่างเดียว**

อักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.3.2.3 ค่าความเข้มสีเหลือง (b*) บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์พ

ผลของค่าความเข้มสีเหลือง บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์พ พบว่า มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเมื่อเลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ยกเว้นที่ความเข้มข้น 0 มก./กก. ที่มีค่าคงที่ ส่วนที่ระดับความเข้มข้นอื่นมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 4.12) และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติ พบว่าเมื่อเริ่มต้นการทดลอง ค่าความเข้มเหลืองไม่มีความแตกต่างกันในทุกชุดการทดลอง (P>0.05) และตั้งแต่สัปดาห์ที่ 2 จนสิ้นสุดการทดลอง ค่าความเข้มสีเหลืองทุกชุดการทดลองมีความแตกต่างกัน (P<0.05) (ตารางที่ 4.11) ดังนี้

สัปดาห์ที่ 2 ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่าความเข้มสีเหลืองสูงสุด คือ 23.34±0.47 ซึ่งแตกต่างกับระดับความเข้มข้นที่ 0 และ 25 มก./กก.(P<0.05) แต่ไม่ต่างกับความเข้มข้นที่ 50 และ 75 มก./กก.(P>0.05) และที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก. มีค่าความเข้มสีเหลืองต่ำสุด คือ 21.37±0.30 ต่างกับทุกชุดการทดลอง (P<0.05) ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น25 มก./กก. ไม่ต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 50 และ 75 มก./กก. ไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) มีค่า 22.52±0.17 และ 22.83±0.20 ตามลำดับ

สัปดาห์ที่ 4 ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่าความเข้มสีเหลืองสูงสุด คือ 24.75±0.25 (P<0.05) ส่วนระดับความเข้มข้น 0 กับ 25 มก./กก. และ 50 กับ 75 มก./กก. ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) มีค่า 21.75±0.03, 22.36±0.26, 23.44±0.06 และ 23.57±0.42 ตามลำดับ ซึ่งในสัปดาห์นี้ที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก. ยังคงมีค่าความเข้มสีเหลืองต่ำสุด

สัปดาห์ที่ 6 ปลาแฟนซีคาร์พมีค่าความเข้มสีเหลืองสูงสุดที่ระดับความเข้มข้น100 มก./กก. (27.92±0.84) ต่างกับระดับความเข้มข้น 0, 25 และ 50 มก./กก. โดย (P<0.05) ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 50 มก./กก.มีความแตกต่างกับทุกชุดการทดลอง (P<0.05) และที่ระดับความเข้มข้น 0 และ25 มก./กก. ไม่ต่างกัน (P>0.05) มีค่า 21.45±0.06 และ 22.62±0.12 ตามลำดับ

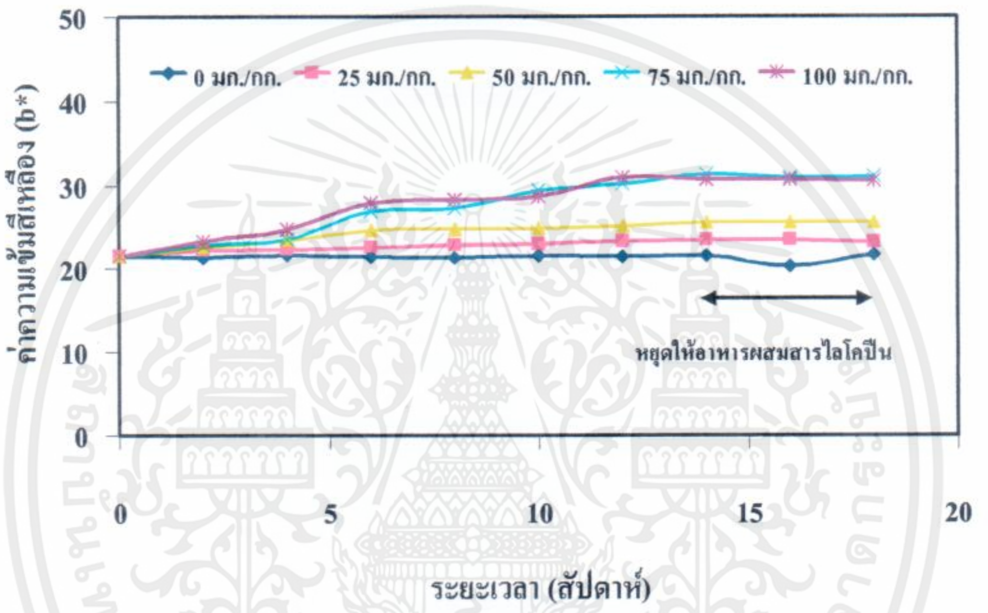
สัปดาห์ที่ 8 ปลาแฟนซีคาร์พที่ระดับความเข้มข้น100 มก./กก. มีค่าความเข้มสีเหลืองต่างกับทุกชุดการทดลอง (P<0.05) มีค่าเท่ากับ 28.30±0.05 และ ที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก. มีค่าความเข้มสีเหลืองต่ำสุด เท่ากับ 21.36±0.14 (P<0.05)

สัปดาห์ที่ 10 ปลาแฟนซีคาร์พมีค่าความเข้มสีเหลืองสูงสุดที่ระดับความเข้มข้น 75 มก./กก. แตกต่างกับระดับความเข้มข้น 0, 25 และ 50 มก./กก.(P<0.05) และที่ระดับความเข้มข้น100 มก./กก. มีค่า 28.62±0.03 ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 0, 25 และ 50 มก./กก. มีค่า 21.60±0.07, 22.98±0.11 และ 24.87±0.02 ตามลำดับ ซึ่งที่ความเข้มข้น 0 และ 50 มก./กก. มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

สัปดาห์ที่ 12 และ14 ปลาแฟนซีคาร์พมีค่าความเข้มสีเหลืองแตกต่างกันในชุดการทดลองที่ระดับความเข้มข้น 0, 25 และ 50 มก./กก. (P<0.05) ซึ่งในสัปดาห์ 12 ความเข้มสีเหลืองสูงสุดที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. ส่วนในสัปดาห์ที่14 ค่าความเข้มสีเหลืองสูงสุด ที่ระดับความเข้มข้น

75 มก./กก. คือ 30.93±0.20 และ 31.37±0.15 ตามลำดับและพบว่าทั้ง 2 สัปดาห์ ที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก. มีค่าความเข้มสีเหลืองต่ำสุดแตกต่างกันทางสถิติกับทุกชุดการทดลอง (P<0.05)

สัปดาห์ที่ 16 และ 18 เป็นการวัดค่าความเข้มสีเหลืองของปลาแฟนซีคาร์พหลังจากหยุดอาหารผสมสารไลโคปีนแล้วให้กินอาหารสูตรพื้นฐานแทน พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก. มีค่าความสว่างต่ำสุด คือ 20.30±0.01 และ 21.66±0.10 ตามลำดับ มีความแตกต่างทางสถิติทุกชุดการทดลอง (P<0.05)



ภาพที่ 4.12 ค่าความเข้มสีเหลือง (b*) ของสีผิวปลาแฟนซีคาร์พเมื่อได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก.

ตารางที่ 4.11 ค่าความเข้มสีเหลือง (b*) บริเวณลำตัวของปลาแฟนซีคาร์พเมื่อกินอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ

ระยะเวลา (สัปดาห์)	ระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหาร (มก./กก.)				
	0	25	50	75	100
0	21.61 ± 0.09^{a}	21.61 ± 0.09^{a}	21.61 ± 0.09^{a}	21.61 ± 0.09^{a}	21.61 ± 0.09^{a}
2	21.37 ± 0.30^{a}	22.24 ± 0.05^{ab}	22.52 ± 0.17^{bc}	22.83 ± 0.20^{bc}	23.34 ± 0.47^{c}
4	21.75 ± 0.03^{a}	22.36 ± 0.26^{a}	23.44 ± 0.06^{b}	23.57 ± 0.42^{b}	24.75 ± 0.25^{c}
6	21.45 ± 0.06^{a}	22.62 ± 0.12^{a}	24.60 ± 0.12^{b}	26.90 ± 0.45^{c}	27.92 ± 0.84^{c}
8	21.36 ± 0.14^{a}	22.80 ± 0.07^{b}	24.78 ± 0.05^{c}	27.30 ± 0.12^{d}	28.30 ± 0.05^{e}
10	21.60 ± 0.07^{a}	22.98 ± 0.11^{ab}	24.87 ± 0.02^{b}	29.41 ± 0.05^{c}	28.62 ± 0.03^{c}
12	21.47 ± 0.07^{a}	23.35 ± 0.21^{b}	25.16 ± 0.08^{c}	30.23 ± 0.01^{d}	30.93 ± 0.20^{d}
14	21.56 ± 0.08^{a}	23.43 ± 0.21^{b}	25.49 ± 0.13^{c}	31.37 ± 0.15^{d}	30.68 ± 0.43^{d}
16*	20.30 ± 0.01^{a}	23.52 ± 0.03^{b}	25.51 ± 0.07^{c}	31.02 ± 0.33^{d}	30.65 ± 0.07^{d}
18*	21.66 ± 0.10^{a}	23.28 ± 0.05^{b}	25.48 ± 0.10^{c}	31.13 ± 0.32^{d}	30.57 ± 0.15^{e}

* หมายถึง หยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีน แล้วให้อาหารสูตรพื้นฐานอย่างเดียว

อักษรที่ต่างกันในแนวนอนเดียวกัน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

4.3.3 ผลของการให้อาหารผสมสารไลโคปีนต่อค่าโลหิตวิทยาปลาแฟนซีคาร์พ

เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำเลือดปลาแฟนซีคาร์พที่ได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. วิเคราะห์หาค่าโลหิตวิทยา ซึ่งประกอบด้วย เม็ดเลือดแดง (red blood cell : RBC) เม็ดเลือดขาว (white blood cell : WBC) และฮีมาโตคริต (haematocrit) ผลการศึกษาแสดงในตารางที่ 4.12 และ 4.13 พบว่าแฟนซีคาร์พที่ได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันไม่มีความแตกต่างกัน ($P>0.05$) โดยปริมาณเม็ดเลือดแดง ก่อนหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีน มีค่า 1.52±0.03, 1.54±0.04, 1.54±0.02, 1.53±0.01 และ 1.56±0.01 ($\times10^{6}$ เซลล์/ลบ.มม.) ตามลำดับ และหลังจากหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีนมีค่า 1.53±0.03, 1.54±0.02, 1.57±0.03, 1.57±0.01 และ 1.58±0.01 ($\times10^{6}$ เซลล์/ลบ.มม.) ตามลำดับ (ภาพที่ 4.13) ส่วนปริมาณเม็ดเลือดขาว 2.11±0.05, 2.06±0.03, 2.03±0.01, 2.09±0.01 และ 2.10±0.04 ($\times10^{4}$ เซลล์/ลบ.มม.) ตามลำดับ และหลังจากหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีนมีค่า 2.11±0.06, 2.18±0.07, 2.05±0.02, 2.08±0.04 และ 2.06±0.03 ($\times10^{4}$เซลล์/ลบ.มม.) ตามลำดับ (ภาพที่ 4.14) และค่าฮีมาโตคริตก่อนหยุดให้อาหารผสม

สารไลโคปีน มีค่า 31.50±0.24, 31.59±0.19, 31.61±0.20, 31.79±0.03 และ 31.89±0.18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และหลังจากหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีนมีค่า 31.49±0.09, 31.54±0.25, 31.69±0.10, 31.69±0.13 และ 31.73±0.24 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ภาพที่ 4.15)

ตารางที่ 4.12 ปริมาณเม็ดเลือดแดงและเม็ดเลือดขาวของปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนระดับความเข้มข้นต่างกัน

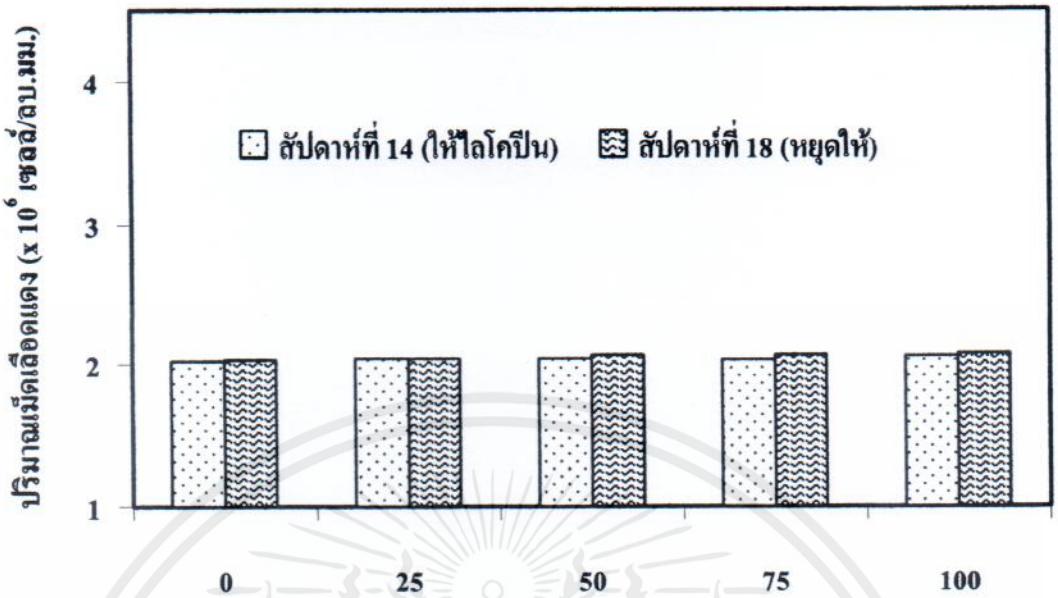
อาหารผสมสารไลโคปีน (มก./กก.)	ปริมาณเม็ดเลือดแดง ($\times10^6$ เซลล์/ลบ.มม.)		ปริมาณเม็ดเลือดขาว ($\times10^4$ เซลล์/ลบ.มม.)	
	ให้สารไลโคปีน	หยุดให้	ให้สารไลโคปีน	หยุดให้
0	1.52±0.03^a	1.53±0.03^a	2.11±0.05^a	2..11±0.06^a
25	1.54±0.04^a	1.54±0.02^a	2.06±0.03^a	2.18±0.07^a
50	1.54±0.02^a	1.57±0.03^a	2.03±0.01^a	2.05±0.02^a
75	1.53±0.01^a	1.57±0.01^a	2.09±0.01^a	2.08±0.04^a
100	1.56±0.01^a	1.58±0.01^a	2.10±0.04^a	2.06±0.03^a

อักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)

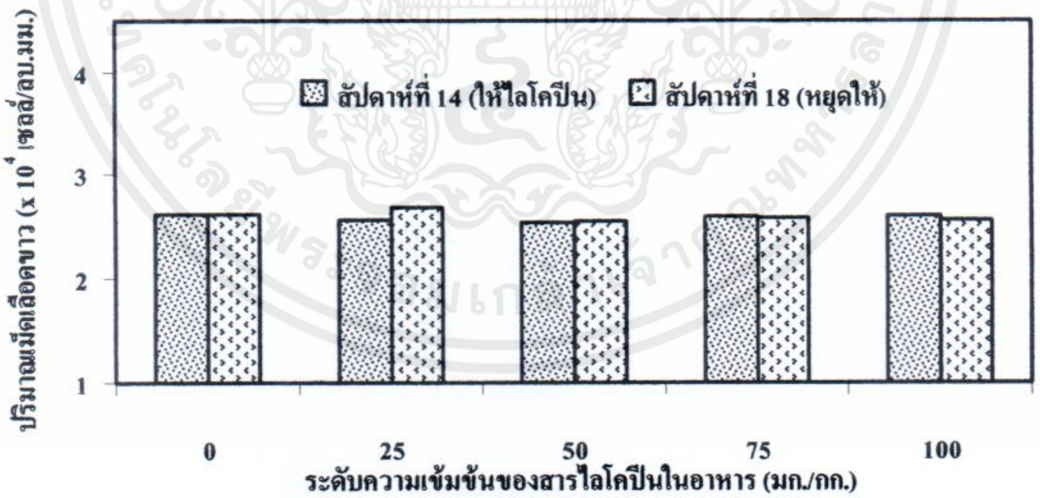
ตารางที่ 4.13 ค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตคริตของปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนระดับความเข้มข้นต่างกัน

อาหารผสมสารไลโคปีน (มก./กก.)	ค่าฮีมาโตคริต (เปอร์เซ็นต์)	
	ให้สารไลโคปีน	หยุดให้
0	31.50±0.24^a	31.49±0.09^a
25	31.59±0.19^a	31.54±0.25^a
50	31.61±0.20^a	31.69±0.10^a
75	31.79±0.03^a	31.69±0.13^a
100	31.89±0.18^a	31.73±0.24^a

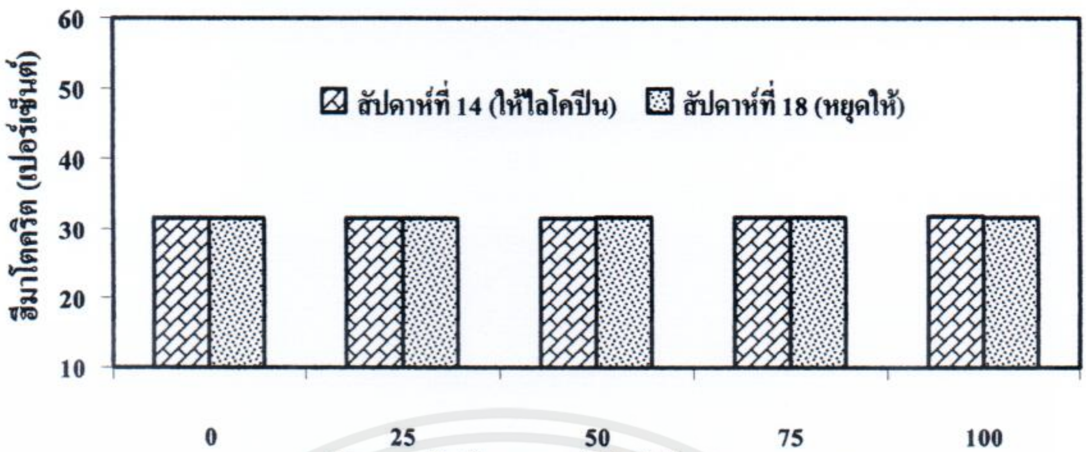
อักษรที่เหมือนกันในแนวตั้ง หมายถึงไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05)



ภาพที่ 4.13 ปริมาณเม็ดเลือดแดงของปลาแฟนซีคาร์พเมื่อได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 14 สัปดาห์ และหลังหยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ อีก 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4.14 ปริมาณเม็ดเลือดขาวของปลาแฟนซีคาร์พเมื่อได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 14 สัปดาห์ และหลังหยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ อีก 4 สัปดาห์



ภาพที่ 4.15 ค่าเปอร์เซ็นต์ฮีมาโตรคริตของปลาแฟนซีคาร์พเมื่อได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างกัน เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 14 สัปดาห์ และหลังหยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ อีก 4 สัปดาห์

4.3.4 ผลของการให้อาหารผสมสารไลโคปีนต่อค่า TBARS, กิจกรรมของเอนไซม์ catalase และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ในเลือด แฟนซีคาร์พ

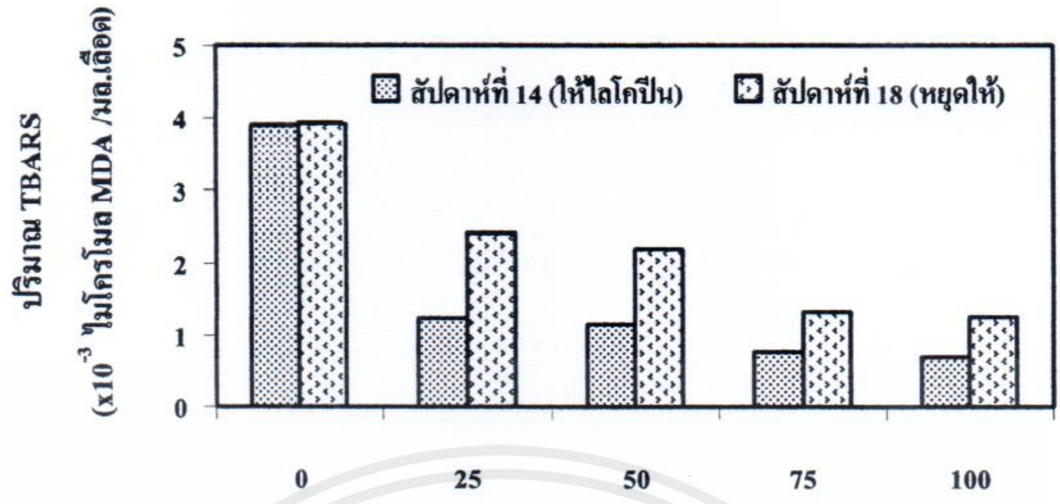
เมื่อสิ้นสุดการทดลองนำเลือดปลาแฟนซีคาร์พที่ได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. วิเคราะห์หาค่า TBARS ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ผลการศึกษาพบว่าก่อนหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีนปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่า TBARS ต่ำสุด คือ 0.70 ± 0.03 ($\times10^{-3}$ ไมโครโมล MDA/มล.เลือด) และให้ผลต่างกันกับชุดการทดลองที่ให้อาหารผสมสารไลโคปีนในระดับความเข้มข้น 0, 25 และ50 มก./กก.($P<0.05$) และหลังจากหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีนแล้วที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก.ยังมีค่า TBARS ต่ำสุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.26 ± 0.03 ($\times10^{-3}$ ไมโครโมล MDA/มล.เลือด) ซึ่งมีค่าแตกต่างกันกับทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$) ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 75 มก./กก. ($P>0.05$) (ตารางที่ 4.14 และ ภาพที่ 4.16) ส่วนค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase ก่อนหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่าต่ำสุดและแตกต่างกับทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$) ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 75 มก./กก.($P>0.05$) โดยมีค่าเท่ากับ 2.37 ± 0.04 ($\times10^{-2}$ มก. H_2O_2) ส่วนอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 0, 25 และ50 มก./กก. ไม่แตกต่างกันและหลังจากหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีนแล้วที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. ยังมีค่าต่ำสุดและแตกต่างกับทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$) มีค่าเท่ากับ 2.68 ± 0.00 ($\times10^{-2}$ มก. H_2O_2) แต่ที่ระดับความเข้มข้น0, 25 และ50 มก./กก.ไม่มี

ความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ยกเว้นที่ระดับความเข้มข้น 75 มก./กก.(P<0.05) มีค่า4.07 ± 0.01, 3.94 ± 0.01, 3.82 ± 0.02 และ 3.19 ± 0.01 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.14 และ ภาพที่ 4.17) ส่วนการศึกษาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH ในเลือดปลาแฟนซีคาร์พ พบว่า ก่อนหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีน เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH มีค่าแตกต่างกันทางสถิติทุกชุดการทดลอง (P<0.05) โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. เท่ากับ 7.58±1.88, 34.03±1.40, 48.48±2.84, 55.18±0.70 และ 61.97±0.29 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ และหลังจากหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีนแล้วที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. แตกต่างกับทุกชุดการทดลอง (P<0.05) โดยมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งเท่ากับ 46.77±0.51 ส่วนที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก. มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH ต่ำสุด เท่ากับ 7.06±1.54 (P<0.05) และที่ระดับความเข้มข้น 25 และ 50 มก./กก.ไม่มีความแตกต่างกันกับทุกชุดการทดลอง มีค่า 27.78±0.16 และ 28.99±0.66 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.15 และภาพที่ 4.18)

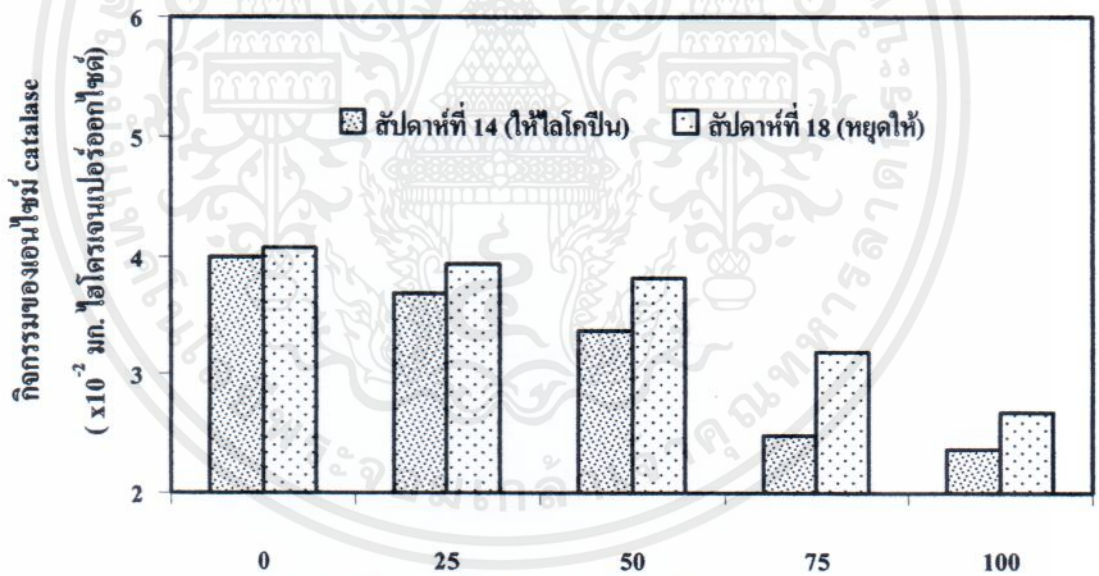
ตารางที่ 4.14 ค่า TBARS และกิจกรรมของเอนไซม์ catalase ของปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนระดับความเข้มข้นต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 14 สัปดาห์ และหลังหยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ อีก 4 สัปดาห์

อาหารผสมสารไลโคปีน (มก./กก.)	TBARS ($\times 10^{-3}$ ไมโครโมล MDA/มล.เลือด)		กิจกรรมของเอนไซม์ catalase ($\times 10^{-2}$ มก. H_2O_2)	
	ให้สารไลโคปีน	หยุดให้	ให้สารไลโคปีน	หยุดให้
0	3.90 ± 0.06^{c}	3.93 ± 0.03^{d}	4.00 ± 0.02^{b}	4.07 ± 0.01^{c}
25	1.24 ± 0.03^{b}	2.43 ± 0.08^{c}	3.61 ± 0.02^{b}	3.94 ± 0.01^{c}
50	1.16 ± 0.03^{b}	2.20 ± 0.05^{b}	3.38 ± 0.01^{b}	3.82 ± 0.02^{c}
75	0.77 ± 0.06^{a}	1.33 ± 0.03^{a}	2.49 ± 0.02^{a}	3.19 ± 0.01^{b}
100	0.70 ± 0.03^{a}	1.26 ± 0.03^{a}	2.37 ± 0.04^{a}	2.68 ± 0.00^{a}

อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



ภาพที่ 4.16 ค่า TBARS ในเลือดปลาแฟนซีคาร์พเมื่อได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 14 สัปดาห์และหลังหยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ อีก 4 สัปดาห์

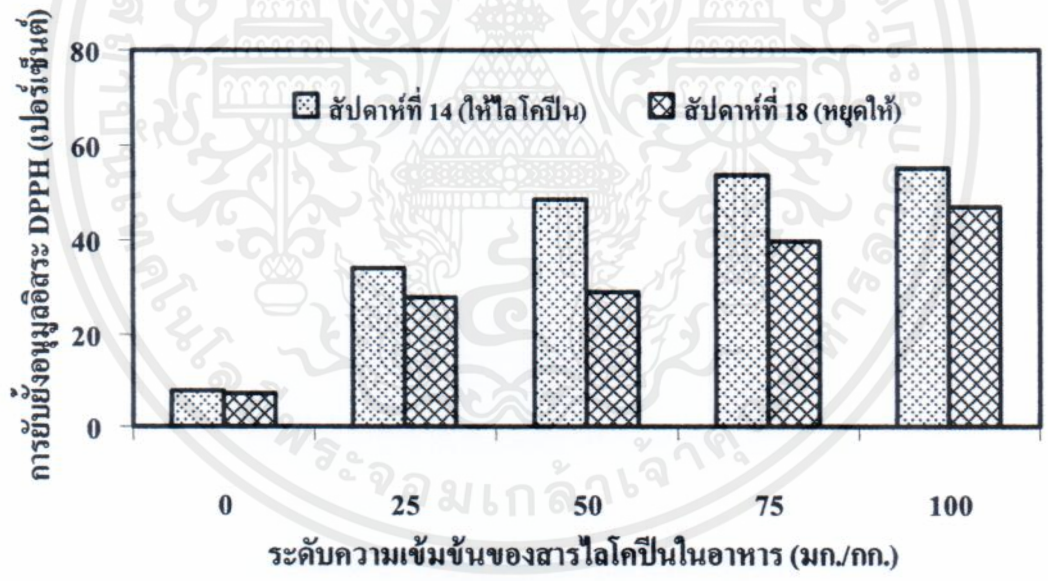


ภาพที่ 4.17 ค่ากิจกรรมเอ็นไซม์ catalaseในเลือดปลาแฟนซีคาร์พเมื่อได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้นต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 14 สัปดาห์และหลังหยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศอีก 4 สัปดาห์

ตารางที่ 4.15 ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH ของปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนระดับความเข้มข้นต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ระยะเวลา 14 สัปดาห์ และหลังหยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ อีก 4 สัปดาห์

อาหารผสมสารไลโคปีน (มก./กก.)	การยับยั้ง DPPH (เปอร์เซ็นต์)	
	ให้สารไลโคปีน	หยุดให้
0	7.58±1.88[a]	7.06±1.54[a]
25	34.03±1.40[b]	27.78±0.16[b]
50	48.48±2.84[c]	28.99±0.66[b]
75	55.18±0.70[d]	39.65±0.38[c]
100	61.97±0.29[e]	46.77±0.51[d]

อักษรที่ต่างกันในแนวตั้ง หมายถึงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

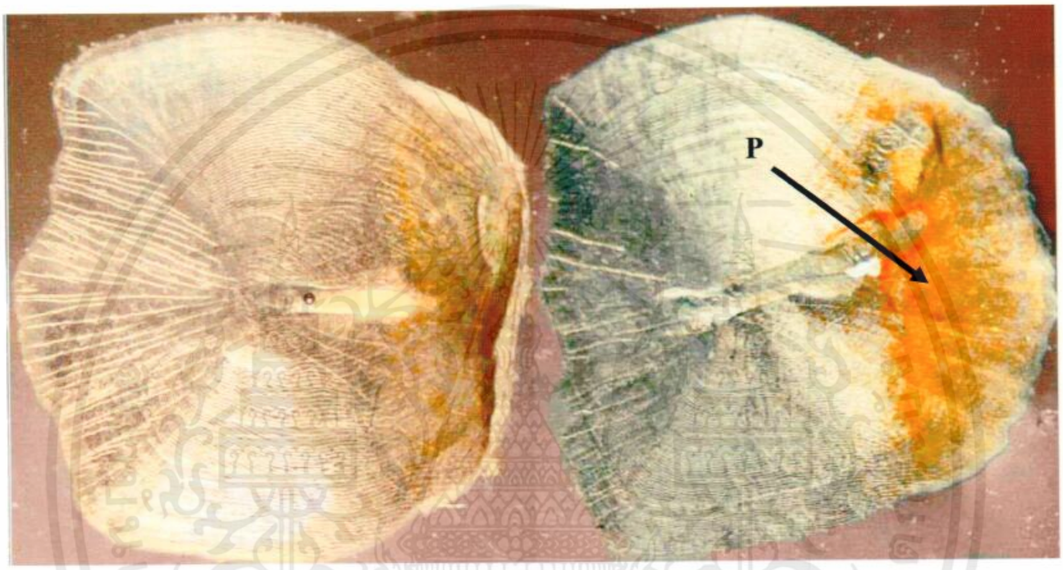


ภาพที่ 4.18 เปอร์เซ็นต์การยับยั้ง DPPH ในเลือดปลาแฟนซีคาร์พที่ได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศในระดับความเข้มข้นต่างกันเมื่อสิ้นสุดการทดลองทีระยะเวลา 14 สัปดาห์ และหลังหยุดให้อาหารที่ผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศ อีก 4 สัปดาห์

4.3.5 ผลของการให้อาหารผสมสารไลโคปีนต่อเนื้อเยื่อของปลาแฟนซีคาร์พ

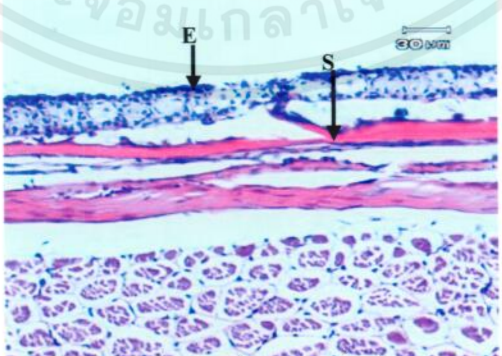
เมื่อสิ้นสุดการทดลองศึกษาระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนที่เหมาะสมในอาหารต่อปลาแฟนซีคาร์พ โดยสุ่มปลาแฟนซีคาร์พชุดการทดลองละ 9 ตัว เพื่อเก็บตัวอย่างเกล็ดบริเวณเส้น

ข้างลำตัวมาศึกษาการสะสมของรงควัตถุในเกล็ดและเก็บตัวอย่างเนื้อเยื่อบริเวณผิวหนัง อวัยวะสืบพันธุ์และตับเพื่อศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อ ซึ่งจากการศึกษาลักษณะเกล็ดพบว่าเกล็ดปลาแฟนซีคาร์พเป็นแบบกลมผิวเรียบ (cycloid scale) โดยปลาที่ให้อาหารผสมสารไลโคปีนมีการสะสมของรงควัตถุในเกล็ดทุกระดับความเข้มข้นซึ่งในระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน 100 มก./กก.อาหาร มีการสะสมรงควัตถุสีส้มแดงมากที่สุด (ภาพที่ 4.19) ส่วนการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อผิวหนังปลาแฟนซีคาร์พ พบว่า ผิวหนังปลาประกอบด้วยชั้น epidermis และ dermis โดยเกล็ดปลาจะแทรกอยู่บริเวณชั้น dermis ซึ่งผิวหนังปลาในภาพตัดตามขวางไม่พบเซลล์รงควัตถุ (ภาพที่ 4.20)



0 มก./กก. **100 มก./กก.**

ภาพที่ 4.19 เปรียบเทียบเกล็ดปลาแฟนซีคาร์พที่ให้อาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับ 100 มก./กก. พบรงควัตถุ (P) มากกว่าชุดการทดลองที่กินอาหารผสมสารไลโคปีน 0 มก./กก.(X 0.9)



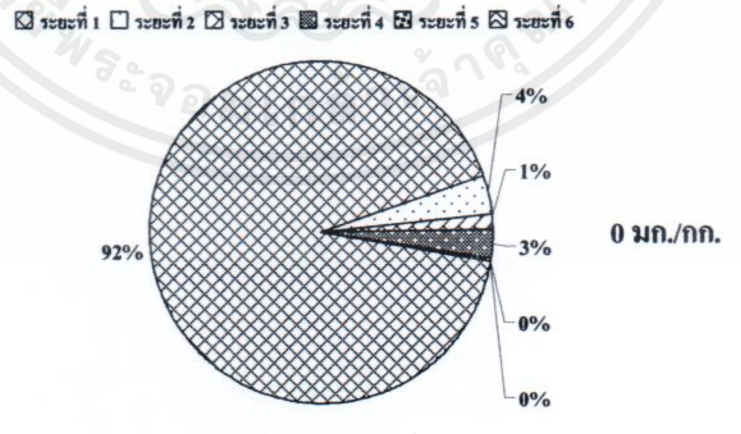
ภาพที่ 4.20 ภาพตัดตามขวางเนื้อเยื่อผิวหนังปลาแฟนซีคาร์พพบเกล็ด (S) อยู่ใต้ชั้น epidermis (E) (formalin 10% ; H&E; X 20)

ส่วนการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาแฟนซีคาร์พ พบว่าเนื้อเยื่อไข่ปลาแฟนซีคาร์พมีการพัฒนา 6 ระยะ โดยเปอร์เซ็นต์การพัฒนาของไข่ในระดับความเข้มข้นต่างๆแสดงในตารางที่ 4.16 ซึ่งที่ระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน 0 มก./กก. พบไข่ระยะที่ 1 มากที่สุด ($P<0.05$) ในขณะที่ระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน 100 มก./กก.พบไข่ระยะที่ 6 มากที่สุด ($P<0.05$) (ภาพที่ 4.21 และ 4.22) โดยระยะต่างๆของไข่ปลาแสดงในภาพที่ 4.23 ส่วนลักษณะเนื้อเยื่ออัณฑะ พบ seminiferous tubules จำนวนมาก ภายในท่อมี sperm ในระยะต่างๆ (ภาพที่ 4.24) และจากการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อตับปลาแฟนซีคาร์พที่ได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับต่างๆ พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเนื้อเยื่อตับ (ภาพที่ 4.25)

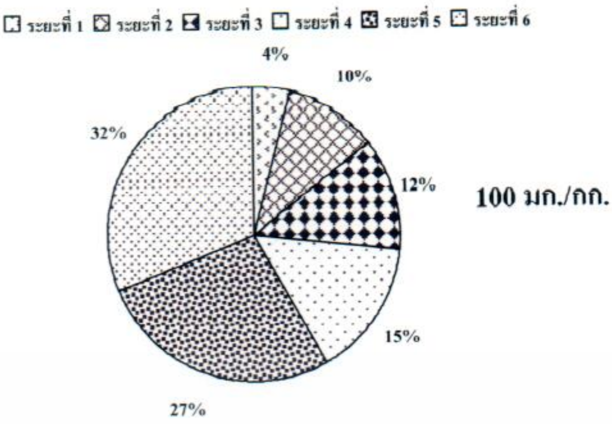
ตารางที่ 4.16 เปอร์เซ็นต์การพัฒนาของเซลล์ไข่ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนระดับความเข้มข้นต่างกัน

ระยะไข่	ความเข้มข้นสารไลโคปีนในอาหาร (มก./กก.)				
	0	25	50	75	100
ระยะที่ 1	91.81±0.86[d]	68.36±7.74[c]	53.15±5.73[b]	18.84±5.67[a]	5.21±2.79[a]
ระยะที่ 2	3.79±0.61[a]	16.34±4.66[a]	14.70±2.04[a]	12.21±4.02[a]	10.75±7.14[a]
ระยะที่ 3	1.36±0.30[a]	3.19±0.99[ab]	9.36±1.11[bc]	10.99±2.57[c]	14.76±4.38[c]
ระยะที่ 4	2.76±0.52[a]	10.09±3.06[ab]	17.64±3.78[b]	16.95±4.64[b]	18.79±3.55[b]
ระยะที่ 5	0.17±0.07[a]	0.50±0.28[a]	2.82±0.64[a]	6.03±1.97[a]	19.99±4.65[b]
ระยะที่ 6	0.11±0.07[a]	1.51±0.09[a]	2.33±0.49[a]	30.50±2.22[b]	34.97±9.79[b]

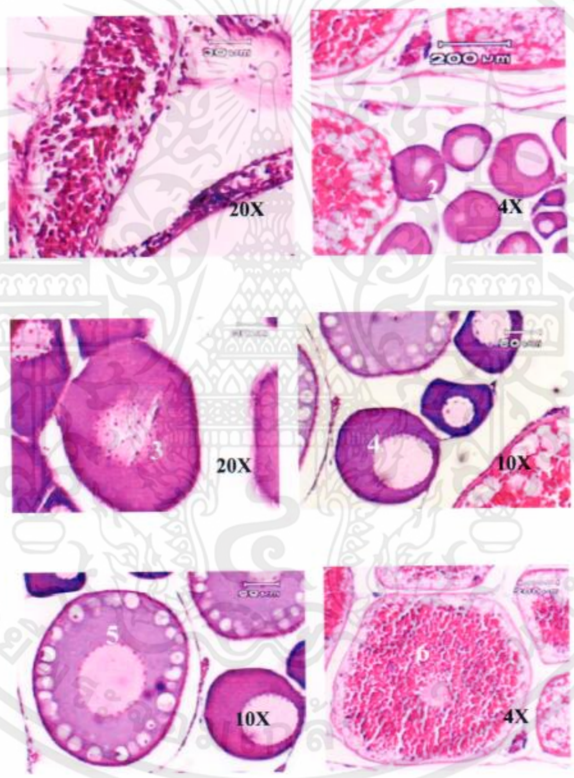
อักษรที่ต่างกันในแนวนอน หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



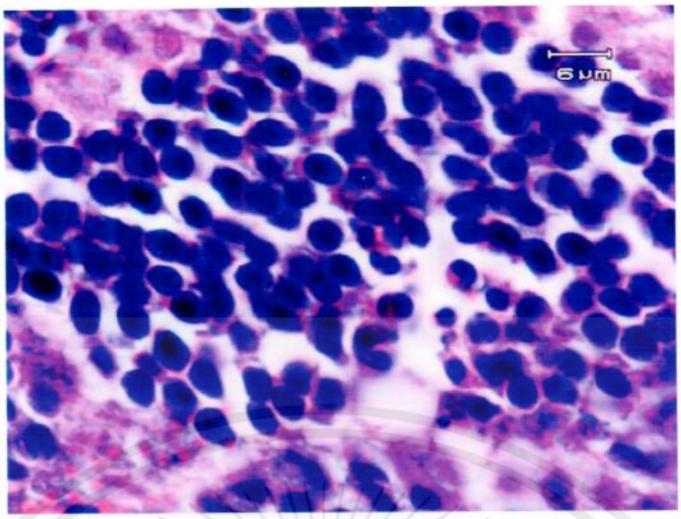
ภาพที่ 4.21 เปอร์เซ็นต์การพัฒนาของไข่ปลาแฟนซีคาร์พ ที่ระดับความเข้มข้น 0 มก./กก.อาหาร



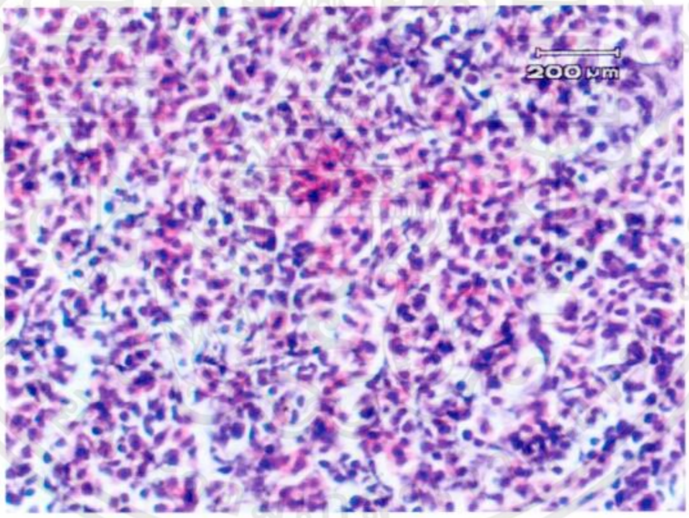
ภาพที่ 4.22 เปอร์เซ็นต์การพัฒนาของไข่ปลาแฟนซีคาร์พ ที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก.



ภาพที่ 4.23 การพัฒนาของเซลล์ไข่ปลาแฟนซีคาร์พที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีน มี 6 ระยะ 1 = ไข่มีขนาดเล็กอยู่รวมกันเป็นกลุ่ม, 2 = ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินเข้ม นิวเคลียสติดสีเทา ไม่พบ provitelline nucleoli, 3 = ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินเข้ม นิวเคลียสติดสีชมพู เริ่มเห็น provitelline nucleoli กระจายในนิวเคลียส, 4 = พบ euvitelline nucleoli ที่ขอบนิวเคลียส, 5 = ไซโตพลาสซึมติดสีน้ำเงินปนเทา พบ yolk granules และyolk vacuole เพิ่มขึ้น, 6 = ไซโตพลาสซึมเต็มไปด้วย yolk granules ขนาดใหญ่ติดสีส้มแดง นิวเคลียสขนาดเล็กสีชมพู (formalin 10 % ; H&E)



ภาพที่ 4.24 ภาพตัดตามขวางของอวัยวะสืบพันธุ์ปลาแฟนซีคาร์พเพศผู้ ประกอบด้วย seminiferous tubules จำนวนมาก ภายในท่อมี sperm (formalin 10% ; H&E; X 10)



ภาพที่ 4.25 เนื้อเยื่อตับปลาแฟนซีคาร์พ (formalin 10 % ; H&E; X 40)

บทที่ 5
วิจารณ์ผลการทดลอง

5.1 การศึกษาวิธีการเก็บรักษาและความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ของสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศ

5.1.1 ผลการศึกษาอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อปริมาณสารไลโคปีน

ผลการศึกษาอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อปริมาณสารไลโคปีนโดยนำผงมะเขือเทศมาเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ 4 แบบ ได้แก่ ถุงพลาสติกสุญญากาศ ถุงพลาสติกไล่อากาศ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ ร่วมกับอุณหภูมิ 3 ระดับ ได้แก่ อุณหภูมิห้อง 25±3 °C, 4 °C และ -20 °C เป็นระยะเวลา 40 สัปดาห์ พบว่าบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและอุณหภูมิมีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณสารไลโคปีน ($P<0.05$) โดยถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20°C สามารถรักษาปริมาณสารไลโคปีนได้สูงสุด และถุงพลาสติกไล่อากาศ ร่วมกับอุณหภูมิห้อง 25±3 °C สามารถรักษาปริมาณสารไลโคปีนได้น้อยสุด ทั้งนี้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำร่วมกับบรรจุภัณฑ์ที่มีโอกาสสัมผัสแสงและออกซิเจนต่ำ จะช่วยชะลอปฏิกิริยาต่างๆ ซึ่งเป็นสาเหตุของการสูญเสียสารไลโคปีนได้เป็นอย่างดี (Cole and Kapur. 1957) ส่วนในการเก็บรักษาถุงพลาสติกไล่อากาศร่วมกับอุณหภูมิห้อง 25±3 °C สามารถรักษาปริมาณสารไลโคปีนได้น้อยสุดเนื่องจากเป็นสภาวะที่เก็บในอุณหภูมิสูงขึ้นรวมทั้งบรรจุภัณฑ์ที่ใช้มีโอกาสสัมผัสแสงและออกซิเจนมากกว่าสภาวะอื่นๆ ปัจจัยดังกล่าวจะกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน แล้วทำให้เกิดการสลายตัวของสารไลโคปีนได้สารประกอบที่มีโมเลกุลเล็กระเหย เช่น แอลดีไฮด์ และคีโตน เป็นต้น (Crouzet and Kanasawud. 1992) ซึ่งเป็นสาเหตุของการสูญเสียสารไลโคปีน นอกจากนี้สารไลโคปีนเป็นสารประกอบไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว มีพันธะคู่จำนวนมากเมื่อถูกเก็บภายใต้สภาวะที่มีโอกาสสัมผัสออกซิเจน แสง และอุณหภูมิ เป็นเวลานานจะเหนี่ยวนำให้เกิดการเสื่อมสลายของสารไลโคปีนจากการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ โดยเฉพาะปฏิกิริยาออกซิเดชันและการเกิดไอโซเมอร์ไรเซชัน ซึ่งออกซิเจนจะทำปฏิกิริยากับสารไลโคปีนบริเวณตำแหน่งพันธะคู่ มีแสงและอุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้เร็วขึ้นผลจากการเกิดปฏิกิริยาจะทำให้สารไลโคปีนมีโครงสร้างเปลี่ยนไป ความเข้มสีลดลง รวมถึงมีปริมาณสารไลโคปีนลดลงและทำให้เสียคุณค่าทางอาหารด้วย (Shi and Maguer. 2001; Shama and Maguer. 1996; Lin and Chen .2005) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sharma and Maguer (1996) ซึ่งรายงานการเก็บรักษาสารไลโคปีนที่อุณหภูมิ 25 °C ในสภาวะที่มีอากาศและแสงพบอัตราการสูญเสียสารไลโคปีนในมะเขือเทศพิวเร่ (tomato puree) สูงกว่าการเก็บรักษาสารไลโคปีนที่อุณหภูมิ 5 °C ถึง 2.7 เท่า ของการเก็บรักษาสารไลโคปีนที่สกัดได้จากกากมะเขือเทศที่

อุณหภูมิ 5 °C และ -20 °C รวมทั้ง Lin and Chen (2005) ที่ศึกษาการเสื่อมสลายของสารไลโคปีนในน้ำมะเขือเทศเมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 12 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิ 4±2, 25±2 และ 35±2 °C พบว่า ปริมาณสารไลโคปีนลดลง 80.1, 83.5 และ 92.1 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และ พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์ และคณะ (2550) ศึกษาผลของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2, 25±2 และ 29±2 °C ต่อการเสื่อมสภาพของสารไลโคปีนจากกากมะเขือเทศอบแห้งที่เก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่ากากมะเขือเทศที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 29±2 °C มีการเสื่อมสภาพของสารไลโคปีนมากกว่ากากมะเขือเทศที่เก็บรักษาในสภาวะอื่น โดยกากมะเขือเทศมีปริมาณสารไลโคปีนเท่ากับ 130.85 ± 1.86, 124.12 ± 6.18 และ 116.91 ± 5.33 มก./100 ก.น้ำหนักแห้ง เมื่อเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4±2, 25±2 และ 29±2 °C ตามลำดับ จากผลการศึกษาดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า ปัจจัยด้านแสง อากาศ และอุณหภูมิในการเก็บรักษานั้นมีผลต่อปริมาณสารไลโคปีน ถ้าตัวอย่างที่ศึกษาได้รับปัจจัยดังกล่าวเป็นระยะเวลานานจะส่งผลให้สารไลโคปีนในมะเขือเทศมีการเปลี่ยนแปลงทั้งโครงสร้าง ความเข้มสี และปริมาณสารไลโคปีน (Sharma and Maguer. 1996)

5.1.2 ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อความเข้มสีผงมะเขือเทศ

ผลของอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อความเข้มสีผงมะเขือเทศ พบว่าบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและอุณหภูมิมีอิทธิพลร่วมกันต่อความเข้มสีผงมะเขือเทศ ($P<0.05$) โดยถุงพลาสติกไล่อากาศที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้อง 25±3 °C มีค่าความสว่าง (L*) และค่าความเข้มสีเหลือง (b*) เพิ่มขึ้นสูงสุดรวมทั้งพบว่าความเข้มสีแดง (a*) มีค่าลดลงส่งผลให้ผงมะเขือเทศซีดจางมากกว่าการเก็บรักษาแบบอื่น และในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศที่เก็บรักษาในอุณหภูมิ -20 °C มีค่าความสว่างและค่าความเข้มสีเหลือง (b*) ต่ำสุด ส่วนค่าความเข้มสีแดง (a*) ไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก ทำให้ผงมะเขือเทศมีการซีดจางลงเล็กน้อย สอดคล้องกับ พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์ และคณะ (2550) ซึ่งศึกษาผลของการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±2, 25±2 และ 29±2 °C ต่อความเข้มสีของกากมะเขือเทศอบแห้งที่เก็บรักษาในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่าที่อุณหภูมิ 29±2 °C มีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นและค่าความเข้มสีของกากมะเขือเทศลดลง และที่อุณหภูมิ 4±2 °C พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงความเข้มสีของกากมะเขือเทศเล็กน้อย และ Macdougall (2002) ศึกษาการเก็บรักษาสารไลโคปีนที่สกัดได้จากกากมะเขือเทศในสภาวะไม่มีออกซิเจนที่อุณหภูมิ -20 °C เป็นสภาวะที่กากมะเขือเทศมีความคงตัวทางด้านสีสูงสุดอุณหภูมิดังกล่าวช่วยลดการซีดจางของกากมะเขือเทศได้ดีที่สุด ทั้งนี้การเก็บรักษาที่อุณหภูมิสูงร่วมกับบรรจุภัณฑ์ที่มีโอกาสสัมผัสแสงและออกซิเจนรวมทั้งอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะเหนี่ยวนำให้เกิดปฏิกิริยาต่างๆ ซึ่งเป็นสาเหตุของการสูญเสียสารไลโคปีน โดยเฉพาะการเกิดปฏิกิริยาไอโซเมอไรเซชัน ซึ่งเมื่อออกซิเจนเข้าทำปฏิกิริยากับสารไลโคปีนตรงตำแหน่งพันธะคู่โดยจะมีแสงและความร้อนเป็นตัวเร่งปฏิกิริยาให้เร็วขึ้น เป็นผลทำให้สารไลโคปีนในผงมะเขือเทศเกิดการเสื่อมสลาย มีการเปลี่ยนโครงสร้างจาก trans form เป็น cis form ซึ่งการ

เปลี่ยนแปลงของโครงสร้างนี้จะทำให้สีส้มแดงของสารไลโคปีนซีดจางลงผงมะเขือเทศจึงมีสีซีดจาง นอกจากนี้สภาวะดังกล่าวยังกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้โครงสร้างสารไลโคปีนสลายตัวและสีส้มแดงของไลโคปีนหายไป เป็นผลให้ผงมะเขือเทศมีสีซีดจางลง (พอใจ ถามากร. 2543)

5.1.3 ผลการศึกษาอุณหภูมิและบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH

บรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและอุณหภูมิมีอิทธิพลร่วมกันต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศ ($P<0.05$) โดยบรรจุภัณฑ์ชนิดถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด และพบว่าถุงพลาสติกแบบไล่อากาศร่วมกับอุณหภูมิห้อง 25±3 °C มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำสุด เนื่องจากสภาวะการเก็บรักษาดังกล่าวมี แสง ออกซิเจนและอุณหภูมิมาเกี่ยวข้อง ซึ่งปัจจัยนี้มีผลต่อการทำให้ปริมาณสารไลโคปีนลดลง (Chang *et al.* 2006) การเก็บรักษาเป็นระเวลานานถึง 40 สัปดาห์โอกาสที่จะสัมผัสกับแสง ออกซิเจนและอุณหภูมิจึงมีมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการสูญเสียสารไลโคปีนมากขึ้นด้วย เมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ประสิทธิภาพการเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์อาจลดลงเนื่องจากสารไลโคปีนจะมีการเสื่อมสลายในระหว่างการเก็บรักษาจึงมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งต่ำกว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C ซึ่งเป็นสภาวะการเก็บรักษาที่มีโอกาสสัมผัสแสง ออกซิเจนและอุณหภูมิมีน้อยกว่า จึงทำให้เกิดการสูญเสียสารไลโคปีนน้อย การเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำร่วมกับบรรจุภัณฑ์ที่มีโอกาสสัมผัสออกซิเจน แสง น้อย จะช่วยป้องกันไม่สารไลโคปีนเสื่อมสลาย เมื่อนำมาทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สารไลโคปีนจะเข้าทำปฏิกิริยากับ DPPH แล้วทำให้ DPPH ไม่เป็นอนุมูลอิสระและถึงแม้สารไลโคปีนจะให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระจนมีสภาพเป็นอนุมูลอิสระตามไปด้วยแต่อนุมูลอิสระที่เกิดจากสารไลโคปีนจะมีความไวต่อปฏิกิริยาน้อยมากสารไลโคปีนจึงสามารถทำลายอนุมูลอิสระได้โดยที่ตัวสารไลโคปีนเองจะไม่ก่อให้เกิดความเสียหายเพิ่มเติม ซึ่งในการทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH นั้น โดยปกติแล้วสารละลายของอนุมูลอิสระ DPPH จะมีสีม่วงแดง เมื่อเติมสารสกัดซึ่งมีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดี จะทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH จางลงได้มากกว่าสารสกัดที่มีฤทธิ์ในการทำลายอนุมูลอิสระได้น้อย (Bhandari *et al.* 2004; Shui and Leong. 2002) โดยสารสกัดไลโคปีนจากผงมะเขือเทศในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C มีฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระสูงทำให้สีม่วงแดงของสารละลาย DPPH จางลงมากกว่าถุงพลาสติกแบบไล่อากาศร่วมกับอุณหภูมิห้อง 25±3 °C สอดคล้องกับ กันยนา กรณ์เกษม (2548) ศึกษาผลของออกซิเจน (มีและไม่มีออกซิเจน) แสง (เก็บในบรรจุภัณฑ์ชนิดขวดแก้วใสและขวดแก้วสีชา) ร่วมกับการเก็บรักษาในอุณหภูมิ 30±3, 5±1 และ-20±1 °C ต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ของสาร

ไลโคปีนจากผงมะเขือเทศ เป็นระยะเวลา 60 วัน พบว่าภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในขวดแก้วสีชา และอยู่ในอุณหภูมิ -20 °C มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด

5.2 การศึกษาประสิทธิภาพการเป็นสารกันหืนของสารไลโคปีนในอาหาร

5.2.1 ผลของบรรจุภัณฑ์และระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหารต่อการเปลี่ยนแปลงค่ากรดไทโอบาร์บิวทูริก (TBARS)

ผลการศึกษาค่ากรดไทโอบาร์บิวทูริก (TBARS) ในอาหารที่ผสมสารไลโคปีน 5 ระดับความเข้มข้น ได้แก่ 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. ร่วมกับบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษา 2 แบบโดยเลือกใช้บรรจุภัณฑ์จากการทดลองที่ 1 ที่ให้ผลดีที่สุดในการเก็บรักษา ได้แก่ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไม่ไล่อากาศและถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ แล้วนำอาหารเก็บในอุณหภูมิห้อง 25±3 °C เป็นเวลา 24 สัปดาห์ พบว่า บรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนมีอิทธิพลร่วมกันต่อค่า TBARS ในอาหารอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน 100 มก./กก. มีค่า TBARS ต่ำสุด และถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศร่วมกับระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน 0 มก./กก. มีค่า TBARS สูงสุด การวัดค่า TBARS เป็นวิธีที่นิยมใช้วัดระดับการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอาหาร ซึ่งเป็นการศึกษาความหืนของอาหาร โดยวัดความเข้มของสีชมพูที่เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีของกรดไทโอบาร์บิวทูริก กับ มัลลัลไดแอลดีไฮด์ (malondialdehyde : MDA) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นที่ 2 ของการหืน แสดงผลเป็น มก.MDA /กก.อาหาร ซึ่งจากการศึกษาพบว่าค่า TBARS ในอาหารที่บรรจุในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศร่วมกับระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน 0 มก./กก.อาหาร มีค่าสูงสุดแสดงให้เห็นว่าอาหารที่ไม่ได้เติมสารไลโคปีนมีประสิทธิภาพในการชะลอการเกิดความหืนได้น้อยกว่าอาหารที่เติมสารไลโคปีนในระดับความเข้มข้นต่างๆ นอกจากนี้การเก็บรักษาอาหารในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ ยังเป็นอีกสาเหตุที่ทำให้อาหารเกิดการหืนมากขึ้น ทั้งนี้บรรจุภัณฑ์แบบนี้แม้จะช่วยให้อาหารลดการสัมผัสกับแสงแต่ก็ยังมีโอกาสสัมผัสออกซิเจนมากขึ้นเนื่องจากการไล่อากาศออกจากถุงอาจจะยังมีอากาศหลงเหลืออยู่ในถุง เมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลานานออกซิเจนในถุงจะไปกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในอาหาร โดยเฉพาะกรดไขมันอิ่มตัว ซึ่งกรดไขมันเหล่านี้จะมีจำนวนพันธะคู่มากกว่าหนึ่งพันธะในโครงสร้าง จึงมีความว่องไวสูงสามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่าย ทำให้อาหารมีอายุการเก็บสั้นลง (สุริญญา โพธิดิษฐศิริ. 2547) รวมถึงเกิดกลิ่นหืน เปลี่ยนสี สูญเสียคุณค่าทางอาหารโดยเฉพาะวิตามินกลุ่มที่ละลายในไขมันได้แก่ วิตามิน A, D, E และ K ซึ่งจะถูกทำลายไปพร้อมกรดไขมัน และลดความสามารถในการย่อย นอกจากนี้ยังทำให้เกิดสารที่เป็นพิษกับสัตว์น้ำด้วย เช่น มัลลัลอัลดีไฮด์ , อัลดีไฮด์และคีโตน (Cockerell and Holiday. 1975; Mai and Kinsella. 1979) ซึ่งส่งผลให้สัตว์น้ำมีอัตราการตายเพิ่มขึ้น การเจริญเติบโตลดลง รวมทั้งจะทำให้สัตว์น้ำเกิดโรคเรื้อรัง

ต่างๆ เช่น โรคกล้ามเนื้อเสื่อม (muscular dystrophy) การแตกตัวของเม็ดเลือด (hemolysis) รวมไปถึงโรคดีซ่าน (jaundice) สีซีด เป็นต้น (Nakano *et al.* 1999; สุพิศ ทองรอด. 2535) และผลจากการศึกษานี้เมื่อมีการเติมสารไลโคปีนระดับความเข้มข้นต่างๆในอาหารร่วมกับการเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่มีโอกาสสัมผัสออกซิเจนมากขึ้น นั่นคือถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ การเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์นี้จะทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งได้กล่าวไปแล้วข้างต้นโดยนอกจากจะทำให้อาหารหืนแล้วยังเป็นสาเหตุทำให้เกิดการสูญเสียสารไลโคปีนมากขึ้นและเกิดการสลายตัวของสารไลโคปีนให้กลายเป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กที่ระเหยได้ ส่งผลให้สารไลโคปีนมีประสิทธิภาพการเป็นสารต้านปฏิกิริยาออซิเดชันลดลงตามไปด้วย (พอใจ ถามากร. 2543; Crouzet and Kanasawud. 1992) นอกจากนี้การเก็บอาหารผสมสารไลโคปีนระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน 100 มก./กก. ร่วมกับถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ มีค่า TBARS ต่ำสุดนั้นเป็นผลจากสารไลโคปีนไปช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการถ่ายเทอิเล็กตรอน ทำให้ขั้นตอนต่อเนื่องของปฏิกิริยาออกซิเดชันหยุดลง ค่า TBARS จึงต่ำ นอกจากนี้สภาวะบรรจุภัณฑ์ดังกล่าวมีโอกาสสัมผัสออกซิเจนได้น้อย จึงเป็นการลดการสูญเสียสารไลโคปีน ซึ่งส่งผลให้มีปริมาณสารไลโคปีนเพียงพอสำหรับการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในอาหาร และผลจากการศึกษานี้พบว่าค่า TBARS ที่วิเคราะห์ได้นี้มีค่าค่อนข้างต่ำ ทั้งนี้ Papas (1990) กล่าวว่าในอาหารสัตว์โดยทั่วไปมักพบค่า TBARS ไม่เกิน 20 มก.MDA /กก.อาหาร จึงอาจกล่าวได้ว่าอาหารที่ใช้ในการทดลองมีระดับการหืนไม่มาก ดังนั้นการเลือกเสริมสารที่ช่วยชะลอการหืนของอาหาร ควรเลือกระดับความเข้มข้นให้เหมาะสมกับชนิดและวัตถุดิบของอาหาร และหลีกเลี่ยงสาเหตุที่กระตุ้นให้เกิดกระบวนการออกซิเดชัน เช่น การสัมผัสกับอากาศความชื้น แสง เป็นต้น เพื่อเป็นการรักษาคุณค่าทางโภชนะในอาหารไม่เปลี่ยนแปลงและสัตว์น้ำสามารถใช้ประโยชน์จากอาหารได้อย่างเต็มที่

5.2.2 ผลของบรรจุภัณฑ์และระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารไลโคปีนในอาหาร

ผลการศึกษาระดับความเข้มข้นสารไลโคปีนในอาหารร่วมกับบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาต่อปริมาณสารไลโคปีน พบว่าบรรจุภัณฑ์ในการเก็บรักษาและระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนมีอิทธิพลร่วมกันต่อปริมาณสารไลโคปีน ($P<0.05$) โดยถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศร่วมกับระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนตั้งแต่ 25-100 มก./กก. สามารถรักษาปริมาณสารไลโคปีนในอาหารได้สูงกว่าถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ชนิดไล่อากาศ ทั้งนี้การเก็บรักษาในบรรจุภัณฑ์ที่มีโอกาสสัมผัสแสงและออกซิเจนต่ำ จะช่วยชะลอปฏิกิริยาต่างๆ ซึ่งเป็นสาเหตุของการสูญเสียสารไลโคปีนได้เป็นอย่างดี (Cole and Kapur. 1957) ส่วนในการเก็บรักษาถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ไล่อากาศ สามารถรักษาปริมาณสารไลโคปีนได้ต่ำสุดที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากบรรจุภัณฑ์แบบนี้มีโอกาสสัมผัสออกซิเจนมากกว่าโดยออกซิเจนจะกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้เกิดการสลายตัวของสารไลโคปีนให้เป็น

สารที่มีโมเลกุลเล็กที่ระเหยได้ เช่น แอลดีไฮด์ และคีโตน เป็นต้น (Crouzet and Kanasawud. 1992) ซึ่งเป็นสาเหตุของการสูญเสียสารไลโคปีน และเนื่องจากสารไลโคปีนเป็นไฮโดรคาร์บอนไม่อิ่มตัว เมื่อได้รับปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมต่างๆ ไม่ว่าจะเป็น อุณหภูมิ ออกซิเจน และแสง จะส่งผลให้สารไลโคปีนเกิดการเสื่อมสลายได้ง่ายโดยเฉพาะในระหว่างกระบวนการแปรรูปและการเก็บรักษา ซึ่งถ้าตัวอย่างที่ศึกษาได้รับปัจจัยดังกล่าวเป็นระยะเวลานานจะส่งผลให้สารไลโคปีนในมะเขือเทศมีการเปลี่ยนแปลงทั้งโครงสร้าง ความเข้มสี และปริมาณสารไลโคปีน (Sharma and Maguer. 1996) นอกจากนี้อาหารที่ใช้ศึกษามีไขมันเป็นส่วนประกอบทำให้ออกซิเจนในถุงไปทำปฏิกิริยากับกรดไขมันในอาหารทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันในอาหาร แล้วสารไลโคปีนจะไปทำหน้าที่ในการช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาดังกล่าวทำให้สารไลโคปีนถูกใช้ไปจึงมีผลทำให้ปริมาณของสารไลโคปีนมีจำนวนลดลง

5.3 การศึกษาระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนที่เหมาะสมในอาหารต่อการพัฒนาสีผิว การเจริญเติบโต การเปลี่ยนแปลงลักษณะเนื้อเยื่อ ค่าโลหิตวิทยาและประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของปลาแฟนซีคาร์พ

5.3.1 ผลของการกินอาหารผสมสารไลโคปีนต่อการเจริญเติบโตของปลาแฟนซีคาร์พ

ผลการศึกษาการเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์พด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. ระยะเวลา 14 สัปดาห์ต่อการเจริญเติบโต พบว่า การเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน และอัตราการรอด ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) แสดงว่าการเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์พด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก (FCR) น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อตัวต่อวัน และอัตราการรอด ซึ่งสอดคล้องกับ ระวิวรรณ ชุมพงค์ (2552) ทดลองเลี้ยงปลาทองด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. พบว่า น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) รวมทั้งนงนุช เลาหะวิสุทธิ์และณรงค์ กมลรัตน์ (2549) ทดลองเลี้ยงปลาซันเซ็ทด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินสาหร่าย *Haematococcus* sp. ที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. พบว่า น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตราการรอดตายไม่มีความแตกต่างกัน (P>0.05) และสอดคล้องกับ อัจฉรี เรืองเดชและคณะ (2549) เลี้ยงปลาหมอสีซีบราเรดด้วยแอสตาแซนทินที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 30, 50 และ 70 มก./กก. เป็นเวลา 14 สัปดาห์ มีอัตราการรอด น้ำหนักที่เพิ่มขึ้นต่อวัน อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนักไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) และดาราวรรณ ยุทธยงค์และคณะ (2546) ศึกษาผลของแอสตาแซนทินต่อสีปลากระแท ที่ระดับความเข้มข้นของแอสตาแซนทินที่ระดับ

ความเข้มข้น 0, 25, 50, 100 และ 200 มก./กก. เป็นเวลา 10 สัปดาห์ พบว่าอาหารผสมแอสตาแซนทิน ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตราการรอด (P>0.05) นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาผลของแอสตาแซนทินต่อการเจริญเติบโตในปลาชนิดอื่น เช่น ปลานิลแดง (ชลธิชา โชติสิทธิพงษ์. 2541) ปลาทอง (Paripatananont *et al.* 1999) ปลากะพงแดง (พิชญา ชัยนาคและคณะ. 2544) ปลาแฟนซีคาร์พ (Gouveia *et al.* 2003) และปลา red porgy (Tejera *et al.* 2007) ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ของการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นน้ำหนัก และอัตราการรอดตาย การให้ปลาแฟนซีคาร์พกินอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศไม่มีผลต่ออัตราการเจริญของปลานั้นเป็นไปได้ว่าสารไลโคปีนซึ่งเป็นแคโรทีนอยด์ชนิดหนึ่งจัดว่าเป็นสารแอนติออกซิแดนซ์ที่มีประสิทธิภาพสูงเมื่อมีการดูดซึมข้าสู่ร่างกายจะถูกนำไปใช้ประโยชน์ในแง่การช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกันและลดความเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ ดังรายงานของ Jain and Agarwal (1999) ศึกษาการให้อาหารผสมสารไลโคปีนในหนู โดยมีความเข้มข้นสารไลโคปีน 100 มก./กก. พบว่าการให้อาหารผสมสารไลโคปีนไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตในหนูที่ให้สารไลโคปีนและหนูที่ไม่ได้รับสารไลโคปีน แต่จะไปช่วยลดการเกิดไลปิดเปอร์ออกซิเดชันและอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในขบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกายในร่างกายซึ่งเป็นสาเหตุที่จะทำให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังรวมถึงช่วยทำให้หนูมีระบบภูมิคุ้มกันสูงขึ้น นอกจากนี้ Christiansen and Torrissen (1996); Kitahara (1983); Torrissen and Tonissen (1985) ยังรายงานว่าอาหารที่ผสมแคโรทีนอยด์เมื่อให้ปลากิน จะถูกดูดซึมไปสะสมในอวัยวะส่วนต่างๆของร่างกายและถูกนำไปใช้พัฒนารังไข่ ในระหว่างที่ปลามีการเจริญเติบโต

5.3.2 ผลการกินอาหารผสมสารไลโคปีนต่อความเข้มสีของปลาแฟนซีคาร์พ

ผลการศึกษาต่อความเข้มสีบนลำตัวปลาแฟนซีคาร์พที่ได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศ แสดงให้เห็นว่าการให้อาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 25-100 มก./กก. มีผลทำให้สีของปลาแฟนซีคาร์พมีสีแดงเข้มขึ้นบริเวณลำตัวในสัปดาห์ที่ 2 - 14 ขณะเดียวกันในช่วงสัปดาห์ดังกล่าวการให้อาหารผสมสารไลโคปีนระดับความเข้มข้นตั้งแต่ 25 - 100 มก./กก. มีผลทำให้สีปลาแฟนซีคาร์พมีสีเหลืองบริเวณหัว ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของสารไลโคปีนในอาหารมีระดับสูงขึ้นจะทำให้ปลามีสีแดงเข้มมากขึ้นบริเวณลำตัวและทำให้มีเหลืองเข้มมากขึ้นบริเวณส่วนหัวตามระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน ซึ่งสอดคล้องกับ ระวิวรรณ ชุมพงค์ (2552) ทดลองเลี้ยงปลาทองด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. เป็นเวลา 8 สัปดาห์ พบว่า สีของปลาทองมีสีแดงเข้มขึ้นตามระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) ในระหว่างกลุ่มที่ให้อาหารผสมสารไลโคปีนกับกลุ่มที่ให้อาหารไม่ผสมสารไลโคปีน โดยระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนที่เหมาะสมในการเร่งสีปลาทองคือ 100 มก./กก. นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการให้อาหารผสมแอสตาแซนทินในปลากระแห (ดาราวรรณ ยุทธยงค์และคณะ. 2546) ปลานิลแดง (ชลธิชา โชติสิทธิพงษ์. 2541) ปลาทอง (Paripatananont *et al.* 1999) ปลา red porgy (Tejera *et al.* 2007) ปลากะพงแดง (พิชญา ชัยนาคและคณะ. 2544) ปลา atlantic salmon (Bjerkeng *et al.* 2007) และปลา rainbow trout (Johnson *et al.* 1980) ระดับความเข้มของสีจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ที่ผสมในอาหารและระยะเวลาที่ได้รับอาหารนั้น โดยปลาจะมีการดูดซึมแคโรทีนอยด์บริเวณทางเดินอาหารแล้วนำไปสะสมในเนื้อส่งผลให้เนื้อปลามีสีเข้มขึ้น (Torrissen. 1989; Storebakken and Goswami. 1996; Kiessling *et al.* 2006) และในสัปดาห์ที่ 16 ถึงสัปดาห์ที่ 18 เลี้ยงปลาด้วยอาหารไม่ผสมสารไลโคปีน ที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. ปลาแฟนซีคาร์พยังมีสีแดงบริเวณลำตัวและมีสีเหลืองบริเวณหัว แสดงว่าปลามีความสามารถที่จะใช้สารไลโคปีนจากอาหารได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงส่งผลทำให้แคโรทีนอยด์สามารถคงตัวอยู่ในปลาได้ดีหลังจากมีการหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีน (March *et al.* 1990)

5.3.3 ผลของการกินอาหารผสมสารไลโคปีนต่อค่าโลหิตวิทยาปลาแฟนซีคาร์พ

ผลการศึกษาการเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์พด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนต่อค่าโลหิตวิทยาซึ่งประกอบด้วย ปริมาณเม็ดเลือดแดง (red blood cell : RBC) เม็ดเลือดขาว (white blood cell : WBC) และฮีมาโตคริต (haematocrit) พบว่าปลาแฟนซีคาร์พที่ได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นแตกต่างกันมีค่าโลหิตวิทยาไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) การวิเคราะห์ค่าโลหิตวิทยาจะเป็นประโยชน์ในแง่การนำมาใช้ประเมินสุขภาพของปลาซึ่งสามารถบ่งบอกความผิดปกติทางสรีรวิทยาและความผิดปกติทางพยาธิวิทยา เมื่อปลาได้รับความเครียดหรืออยู่ในสภาพแวดล้อมที่ไม่เหมาะสมจะเกิดการกระตุ้นให้มีการเพิ่มของคอร์ติซอล (cortisol) และแคททีโคลามี (catecholamine) ในกระแสเลือดปลา ซึ่งจะทำให้มีการเพิ่มขึ้นของอัตราเมตาบอลิซึมของเซลล์และค่าทางเคมีในเลือดชนิดต่างๆ (Mazeaud and Donaldson. 1977) ดังนั้นค่าโลหิตจึงสามารถนำมาใช้ในการประเมินสุขภาพปลา (Biaxhall and Daisley. 1973) และความผิดปกติที่เกิดขึ้นได้ ซึ่งปัจจัยที่ส่งผลให้โลหิตวิทยาเปลี่ยนแปลง ได้แก่ ชนิด อายุ (Harikrishnan *et al.* 2003) ความสมบูรณ์เพศ (Ezzat *et al.*, 1974) อุณหภูมิ ความเค็ม (Rao.1969) ภาวะการจับและขนส่ง (Ellsaesser and Clem. 1986) วิธีการเก็บรักษาตัวอย่าง (Korcock *et al.* 1988) การเกิดโรค (Kaneko. 1983) รวมทั้งอาหารที่กิน (Delany *et al.* 1990) และการได้รับสารพิษ (Luskova *et al.* 2002) เป็นต้น ซึ่งในอาหารแฟนซีคาร์พไม่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยาโดยปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนทุกระดับความเข้มข้นมีค่าโลหิตวิทยาอยู่ในช่วงเดียวกับค่าโลหิตวิทยาปกติของปลาแฟนซีคาร์พ กล่าวคือ ปลาปกติมีปริมาณเม็ดเลือดแดงประมาณ 1.10 - 2.20 ($\times 10^6$ เซลล์/ลบ.มม.) ปริมาณเม็ดเลือดขาว 1.90 - 4.70 ($\times 10^4$ เซลล์/ลบ.มม.) และค่าฮีมาโตคริต 32-43.8 เปอร์เซ็นต์ (Ghittino. 1983; Svobodová. 1973; Bastami *et al.* 2009; Radu *et al.* 2009). ดังนั้นปลาแฟนซีคาร์พในการศึกษาครั้งนี้มีสุขภาพดีและการให้อาหารผสมสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ100 มก./กก. ไม่มีผลกระทบต่อสุขภาพของปลาแฟนซีคาร์พ

5.3.4 ผลของการกินอาหารผสมสารไลโคปีนต่อค่า TBARS กิจกรรมของเอ็นไซม์ catalase และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ในเลือดปลาแฟนซีคาร์พ

ผลการศึกษาการเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์พด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของปลาแฟนซีคาร์พ ศึกษาจากการประเมินสภาวะอนุมูลอิสระในเลือดโดยใช้ตัวชี้วัดทางชีวภาพ คือ ค่ากรดไทโอบาร์บิวทูริก (TBARS) ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH และกิจกรรมของเอนไซม์ catalase

5.3.4.1 ค่ากรดไทโอบาร์บิวทูริก (TBARS)

ค่ากรดไทโอบาร์บิวทูริก (TBARS) ในเลือดแสดงผลเป็นปริมาณ มัลลัลไดแอลดีไฮด์ (malondialdehyde : MDA) ซึ่งเป็นผลผลิตขั้นสุดท้าย (end product) ชนิดหนึ่ง เมื่อเกิด protein และ lipid peroxidation ภายในเซลล์ ใช้เป็นดัชนีชี้วัดการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย เมื่อเกิดขึ้นภายในเซลล์และร่างกายมีกลไกการยับยั้งลดลงจะทำให้เกิดสภาวะ oxidative stress ภายในเซลล์รวมทั้งก่อให้เกิดความเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆเพิ่มมากขึ้น (Cao *et al.* 1996) ผลจากการทดลองพบว่ามีค่า TBARS ลดลงแตกต่างกันทางสถิติในทุกชุดการทดลอง ($P<0.05$) การลดลงของค่า TBARS ในเลือดจะสัมพันธ์กับปริมาณความเข้มข้นแคโรทีนอยด์ที่เพิ่มขึ้นในอาหารและระยะเวลาที่ได้รับอาหารนั้น โดยในระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. พบปริมาณมัลลัลไดแอลดีไฮด์ต่ำสุด แสดงว่าที่ระดับความเข้มข้นนี้ปลามีการดูดซึมและสะสมสารไลโคปีนไว้ในร่างกายได้มาก จึงพบปริมาณมัลลัลไดแอลดีไฮด์ต่ำ ทั้งนี้เมื่อเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันภายในเซลล์ สารไลโคปีนจะให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระปฏิกิริยาออกซิเดชันจะหยุดลงและเกิดอนุมูลอิสระที่มีความคงตัวไม่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยาและไม่ทำอันตรายต่อเซลล์ในร่างกาย และถึงแม้สารไลโคปีนจะให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระจนมีสภาพเป็นอนุมูลอิสระตามไปด้วยแต่อนุมูลอิสระที่เกิดจากสารไลโคปีนจะมีความไวต่อปฏิกิริยาน้อยมาก สารไลโคปีนจึงสามารถทำลายอนุมูลอิสระได้โดยที่ตัวสารไลโคปีนเองจะไม่ก่อให้เกิดความเสียหายภายในเซลล์เพิ่มเติม (Takeoka *et al.* 2001; Rao *et al.* 1998; Rao and Agarwal.1999)

5.3.4.2 เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPHในเลือด

พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในทุกชุดการทดลอง โดยที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH มีค่าสูงสุด ซึ่งเปอร์เซ็นต์การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH ที่เพิ่มขึ้นจะสัมพันธ์กับปริมาณความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ในอาหารและระยะเวลาที่ได้รับอาหารนั้นโดยปลาจะมีการดูดซึมแคโรทีนอยด์บริเวณทางเดินอาหารแล้วนำไปสะสมในส่วนต่างๆ เช่น สมอง ตับ ไต อวัยวะสืบพันธุ์และเลือด เป็นต้น (Rao *et al.* 1998; Rao and Agarwal.1999; Balachandran and Rao. 2003; Zikic. 2002; March *et al.* 1990) เมื่อนำเลือดมาทดสอบเปอร์เซ็นต์การทำลายอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. มีค่าสูงสุดแสดงว่าปลาสามารถดูดซึมและสะสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้นนี้ไว้ได้มาก เมื่อสารไลโคปีนมีการสะสมในร่างกายมันจะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูล

อิสระโดยการให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ DPPH ทำให้อนุมูลอิสระมีความคงตัวไม่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา ค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH จึงมีค่าสูง

5.3.4.3 การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ catalase

ผลการศึกษาพบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์ catalase เป็นไปในทิศทางเดียวกันกับค่า TBARS ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อให้ปลากินอาหารที่ผสมสารไลโคปีนในระดับสูงขึ้น ($P<0.05$) โดยเอนไซม์ catalase นี้จัดว่าเป็นแอนติออกซิแดนท์ที่มีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระโดยทำให้อนุมูลอิสระหมดความสามารถในการเข้าจับกับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย ซึ่งเอนไซม์ catalase จะไปยับยั้งการทำงานของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของอนุมูลอิสระที่จะไปทำอันตรายกับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย โดยจะเปลี่ยนไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ให้เป็นออกซิเจนและน้ำ หากเซลล์ในร่างกายถูกทำลายหรือมีอนุมูลอิสระในร่างกายมาก เอนไซม์ตัวนี้จะถูกผลิตขึ้นมามากและโดยปกติสารต้านอนุมูลอิสระจะมีอยู่ 2 ลักษณะคือ สารที่พบในร่างกายและสารที่พบในอาหาร ในกลุ่มที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย ยังแบ่งออกเป็น 2 แบบคือ สารที่เป็นเอนไซม์ เช่น ซูเพอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase : SOD) คะทะเลส (catalase : CAT) กลูทาไทออนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase : GPX) กลูทาไทออนรีดักเทส (glutathione reductase : GR) กลูทาไทออนทรานส์เฟอเรส (glutathione s- transferase : GST) ซึ่งการทำหน้าที่ของเอนไซม์ในระบบป้องกันนี้จะไม่เกิดความบกพร่องหากร่างกายได้รับแร่ธาตุที่สำคัญและจำเป็นต่อการสร้างและการทำหน้าที่ของเอนไซม์เหล่านี้อย่างเพียงพอ เช่น ซิลีเนียม (selenium) ทองแดง (copper) แมงกานีส (manganese) และสังกะสี (zinc) เป็นต้น และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่จัดเป็นเอนไซม์เช่น กลูทาไทออน (glutathione) กรดลิโพอิก (lipoic acid) เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin) แอลบูมิน (albumin) ทรานส์เฟอริน (transferrin) ฮีโมเพกซิน (hemopexin) กรดยูริก (uric acid) บิลิรูบิน (bilirubin) และซิสทิน (cysteine) เป็นต้น ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในอาหารและไม่จัดว่าเป็นเอนไซม์แต่ช่วยให้การทำงานของเอนไซม์ดีขึ้น เช่น สารไลโคปีน (lycopene) สารเบต้าแคโรทีน(betacarotene) คริปโตแซนทิน (cryptoxanthin) ลูเทอิน (lutein) วิตามินอี (tocopherols) วิตามินซี (ascorbic acid) ไทออล (thiols) อินโนซิน (imosine) ทัวรีน (taurine) ไพรูเวต (pyruvate) กรดแกลลิก (gallic acid) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) (วัลลภ วิชะรังสรรค์ และ ปราณีต โอปณะโสภิต. 2547; Kappus and Sies. 1981; Cohen and Doherty. 1987; March *et al.* 1990) แต่ถ้าเมื่อใดร่างกายมีความบกพร่องในการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระจนทำให้ร่างกายเกิดอนุมูลอิสระมากเกินไปจะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่าความเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ซึ่งเป็นสภาวะที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ ส่งผลให้สัตว์น้ำเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคกล้ามเนื้อเสื่อม (muscular dystrophy) การแตกตัวของเม็ดเลือด (hemolysis) รวมไปถึงโรคดีซ่าน (jaundice) (Nakano *et al.* 1999) ดังนั้นการให้อาหารผสมสารไลโคปีนกับปลาแฟนซีคาร์พสามารถช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระได้รวมทั้งช่วยให้เอนไซม์ทำงานได้ดีขึ้น โดยสารไลโคปีนนี้นอกจากมีคุณสมบัติในการ

เร่งสีได้ยังจัดว่าเป็นสารพฤกษเคมีที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้เป็นอย่างดี โดยสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดจากขบวนการเมตาบอลิซึมภายในร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพจัดว่าเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจำพวกเดียวกับเบต้าแคโรทีน แต่มีประสิทธิภาพสูงกว่าเบต้าแคโรทีนถึง 2 เท่าและสูงกว่าแอลฟาโทโคฟีรอลถึง 10 เท่า (Shi and Maguer. 2000)

5.3.5 ผลของการกินอาหารผสมสารไลโคปีนต่อเนื้อเยื่อของปลาแฟนซีคาร์พ

ผลการศึกษาการเลี้ยงปลาแฟนซีคาร์พด้วยอาหารผสมสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. ต่อเนื้อเยื่อปลาแฟนซีคาร์พ พบว่าเกล็ดปลาแฟนซีคาร์พที่กินอาหารผสมสารไลโคปีนมีการสะสมของรงควัตถุในเกล็ดทุกระดับความเข้มข้นโดยที่ระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีน 100 มก./กก. มีการสะสมรงควัตถุมากที่สุด สอดคล้องกับการศึกษาของ Paripatananont *et al.* 1999 ทดลองเลี้ยงปลาทองด้วยอาหารผสมแอสตาแซนทินที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75 และ 100 มก./กก. ระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่าการให้อาหารผมแอสตาแซทินส่งผลให้มีการผลิตโครมาโตพอร์ (chromatophores) เพิ่มขึ้น จำนวนเซลล์โคร์มาโตพอร์มีความสัมพันธ์กันกับสีปลาและระดับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้นของแคโรทีนอยด์ในอาหาร โดยปลาทองที่ให้อาหารควบคุมที่ไม่ได้ผสมแอสตาแซนทินมีจำนวนเซลล์โคร์มาโตพอร์น้อยกว่าปลาที่ให้อาหารผสมแอสตาแซนทินและพบปริมาณเซลล์โคร์มาโตพอร์รวมทั้งรงควัตถุสูงสุดในผิวปลาที่ให้อาหารผสมแอสตาแซนทินที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. ($P<0.05$) และยังสอดคล้องกับการศึกษาของ พ้วน เพ่งเซ้น และ ทิพยวรรณ ปริพัฒนานนท์ (2546) ทดลองให้อาหารผสมแอสตาแซนทินในปลาทอง พบว่าแอสตาแซนทินที่ระดับ 36 มก./กก. ทำให้ปลาทองมีการสะสมของรงควัตถุสูงกว่าปลาทองที่ไม่ได้ให้อาหารผสมแอสตาแซนทิน โดยจำนวนรงควัตถุที่เพิ่มขึ้นจะมีความสัมพันธ์กับความเข้มสีที่ผิวหนังและปลาจะมีความเข้มสีเพิ่มขึ้นตามปริมาณความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์ที่ผสมในอาหารและระยะเวลาที่ได้รับอาหารนั้น ส่วนการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อผิวหนังปลาแฟนซีคาร์พ พบว่า ผิวหนังปลาประกอบด้วยชั้น epidermis และ dermis โดยเกล็ดปลาจะแทรกอยู่บริเวณชั้น dermis เมื่อศึกษาเกล็ดในภาพตัดตามขวางไม่พบเซลล์รงควัตถุ ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในขบวนการทำสไลด์เนื้อเยื่อต้องผ่านขบวนการกำจัดน้ำ (dehydration) โดยขบวนการดังกล่าวต้องใช้แอลกอฮอล์ จึงเป็นผลทำให้รงควัตถุบริเวณผิวหนังปลาละลายในแอลกอฮอล์ได้ สำหรับผลการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่อตับปลาแฟนซีคาร์พที่ได้รับอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับต่างๆ พบว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของลักษณะเนื้อเยื่อตับ จึงอาจกล่าวได้ว่าสารไลโคปีนไม่มีความเป็นพิษต่อเนื้อเยื่อปลา ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ McClain and Bausch (2003) ได้ทำการศึกษาให้อาหารผสมสารไลโคปีนเปรียบเทียบกับเบต้าแคโรทีนในหนู ที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. เป็นเวลา 100 วัน ซึ่งจากการทดลองไม่พบความผิดปกติของเนื้อเยื่อตับเมื่อให้อาหารผสมสารไลโคปีนและเบต้าแคโรทีน และผลการศึกษาลักษณะเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์เพศเมีย (ovary) ปลาแฟนซีคาร์พที่ให้อาหารผสมสารไลโคปีนที่ความ

เข้มข้น100 มก./กก. พบไข่ระยะที่ 6 มากที่สุด ในขณะที่ความเข้มข้นของสารไลโคปีน 0 มก./กก.พบไข่ระยะที่ 1 มากที่สุด ผลจากการศึกษาการกินอาหารผสมสารไลโคปีนมีผลต่อการพัฒนาของไข่ปลา ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Christiansen and Torrissen (1996); Kitahara (1983); Torrissen and Tonissen (1985) พบว่าปลาที่กินอาหารผสมแคโรทีนอยด์เข้าไป แคโรทีนอยด์จะถูกดูดซึมบริเวณทางเดินอาหารแล้วนำไปสะสมในเนื้อเยื่อส่วนต่างๆ รวมทั้งอวัยวะสืบพันธุ์ และถูกนำไปใช้พัฒนารังไข่ในระหว่างที่ปลามีการเจริญเติบโต และไข่ปลาที่ความเข้มข้นของแคโรทีนอยด์สูงจะทำให้อัตราความสมบูรณ์เพศเพิ่มขึ้น ส่วนผลจากการศึกษาเนื้อเยื่ออวัยวะสืบพันธุ์เพศผู้ (testis) ไม่สามารถจำแนกระยะสเปิร์มได้เนื่องจากมีขนาดเล็กและมีจำนวนมาก

บทที่ 6
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

1. การเก็บผงมะเขือเทศในบรรจุภัณฑ์ ถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศ ร่วมกับอุณหภูมิ -20 °C เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษา ซึ่งสามารถรักษาปริมาณสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศมากที่สุดเฉลี่ย 83.56±0.11 มก./100 ก. น้ำหนักแห้ง รวมทั้งทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มสีผงมะเขือเทศน้อยที่สุดด้วย นอกจากนี้สภาวะดังกล่าวยังมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 75.50±0.04 เปอร์เซ็นต์

2. การเติมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก. ร่วมกับการเก็บรักษาอาหารในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์สุญญากาศสามารถลดการหืนของอาหารได้สูงสุดเฉลี่ยเท่ากับ 0.33±0.06 มก.MDA /กก. อาหาร

3. ระดับความเข้มข้นของสารไลปีนในอาหารทุกความเข้มข้นไม่มีผลต่อการเจริญเติบโตปลาแฟนซีคาร์พและปลามีอัตรารอดเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ทุกชุดการทดลอง

4. ปลาที่กินอาหารผสมสารไลโคปีนทุกระดับความเข้มข้นไม่มีผลต่อค่าโลหิตวิทยาโดยปลามีค่าโลหิตวิทยาอยู่ในช่วงเดียวกับค่าโลหิตวิทยาปลาปกติ นอกจากนี้การกินอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับความเข้มข้น 100 มก./กก.มีค่า TBARS และกิจกรรมของเอ็นไซม์ catalase เฉลี่ยต่ำสุด รวมทั้งระดับความเข้มข้นดังกล่าวมีการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด

5. การให้ปลากินอาหารผสมสารไลโคปีนที่ระดับ ความเข้มของ 100 มก./กก. ปลามี ความเข้มสีแดงมากที่สุดเท่ากับ 24.74±0.09 และเมื่อหยุดให้อาหารผสมสารไลโคปีนเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ปลาแฟนซีคาร์พยังสามารถรักษาระดับความเข้มสีแดงให้เหมือนเดิมได้ ดังนั้นระดับความเข้มข้นของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศที่มีผลต่อความเข้มสีปลามากที่สุดคือ 100 มก./กก.จึงเหมาะที่จะใช้ในอาหารเพื่อใช้เพิ่มความเข้มสีปลาแฟนซีคาร์พ

ข้อเสนอแนะ

1. ควรวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารไลโคปีนหลายๆวิธีเพิ่มเติมจากการวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH (DPPH scavenging activity assay) เพื่อเป็นการยืนยันประสิทธิภาพของสารไลโคปีนในการเป็นแอนติออกซิแดนซ์

2. ควรมีการประเมินสุขภาพปลาด้านอื่นๆประกอบกับค่าโลหิตวิทยาที่ศึกษาเพื่อยืนยันว่าปลามีสุขภาพแข็งแรงจริง เช่น องค์ประกอบทางเคมีในเลือด อาทิ albumin, AST, ALT, ALP, total bilirubin

3. การศึกษาประสิทธิภาพการป้องกันการหืนของอาหารนั้นนอกจากดูประสิทธิภาพของสารไลโคปีนแล้วควรมีการเปรียบเทียบสารไลโคปีนกับสารกันหืนสังเคราะห์ชนิดอื่นๆที่นิยมใช้เติมในอาหารเช่น butylated hydroxyl anisole (BHA) butylated hydroxyl toluene (BHT) เพื่อเปรียบเทียบว่ามีประสิทธิภาพแตกต่างกันมากน้อยเพียงใดและเพื่อประเมินความเป็นไปได้ในการนำสารไลโคปีนมาใช้ประโยชน์จริง

บรรณานุกรม

กรุง สีตะธนี. 2537. "การปลูกมะเขือเทศ." **วารสารชาวเกษตร.** 13(149) : 47-52.

กันยนา กรณ์เกษม. 2548. "ความคงตัวของไลโคปีนที่สกัดได้จากกากมะเขือเทศ". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

จิรวัฒน์ ยงสวัสดิกุล. 2541. **เอกสารประกอบการสอนวิชาเคมีอาหาร.** นครราชสีมา : สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

ชลธิชา โชติสิทธิพงษ์. 2541. "ผลของแอสตาแซนทินต่อสี การเจริญเติบโต อัตรารอด และความต้านทานต่อเชื้อแบคทีเรีย *Streptococcus* sp. ของปลานิลแดง." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ดาราวรรณ ยุทธยงค์, จูอะดี พงศ์มณีรัตน์ และ สนธิพันธุ์ ผาสุกดี. 2546. "ผลของแอสตาแซนทินในอาหารต่อสีปลากระแห." หน้า 45. ใน **การประชุมวิชาการประมงประจำปี 2546**.กรุงเทพฯ : กรมประมง.

ธวัส ลวะเปารยะ. 2542. "ปลูกผักกินเอง: ปลูกมะเขือเทศเป็นผักสวนครัวปลายฤดูฝนต้นหนาว." **ชีวจิต.** 28 : 88-89.

นงนุช เลาหะวิสุทธิ์ และ ณรงค์ กมลรัตน์. 2549. **การใช้แอสตาแซนทินเร่งสีในกุ้มปลาออกลูกเป็นตัว** เอกสารรายงานการวิจัย ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร,สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 21 หน้า.

บัณฑิต ยวงสร้อย. 2545. "การเพิ่มระดับกรดไขมันกลุ่มโอเมก้า 3 ในปลานิล (*Oreochromis niloticus*) โดยการใช้น้ำมันปลาทูน่า." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิชญา ชัยนาค, ไวยพจน์ เครือเสน่ห์ และ ทวี จินดามัยกุล. 2544. **ผลของแอสตาแซนทินต่อสีของปลากะพงแดง (*Lutjanus argentimaculatus*).** เอกสารวิชาการฉบับที่ 19. สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง, กรุงเทพฯ. 13 หน้า.

พรรณจิรา วงศ์สวัสดิ์, มณฑิรา นพรัตน์, พิมพ์เกษม สุขอิ่ม และศุภมาส อรุณโรจนวุฒิ. 2550. "ผลของอุณหภูมิการเก็บรักษาต่อการเสื่อมสลายไลโคปีนจากกากมะเขือเทศ." หน้า 78-84. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พอใจ ถามากร. 2543. "ไลโคปีน." **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.** 18 : 68-76.

พ้วน เพ่งเซ้น และ ทิพยวรรณ ปริพัฒนานนท์. 2546. "ระดับความต้องการของโปรตีนและปริมาณสารแอสตาแซนทิน (astaxanthin) ในอาหารปลาสวยงาม, ปลาทอง และปลาสอด." **วารสารเทคโนโลยีสุรนารี.** 10 : 230-243.

เพิ่มศักดิ์ ศิริวรรณ. 2533. **โภชนศาสตร์สัตว์ปีก.** เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

เยาวภา สิริวัฒนานุกูล. 2545. "การศึกษาการสูญเสียไลโคปีนในระหว่างกระบวนการผลิตซอสมะเขือเทศและมะเขือเทศแช่อิ่ม." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ยุพินท์ วิวัฒน์ชัยเศรษฐ์. 2548. "เลี้ยงปลาคาร์พให้ได้คุณภาพ." **วารสารกสิกร.** 78(3) : 38-42.

ระวิวรรณ ชุมพงศ์. 2552. "ผลของสารไลโคปีนจากมะเขือเทศในอาหารต่อสีปลาทอง." ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. ภาควิชาวิทยาศาสตร์การประมง, คณะเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ. 35 หน้า.

ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และ นิธิยา รัตนาปนนท์. 2533. **หลักการวิเคราะห์อาหาร.** เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วรรณา ตั้งเจริญชัย. 2530. "สารยับยั้งออกซิเดชัน." **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.** 3 : 60-70.

วัลลภ วีชะรังสรรค์ และ ปราณีต โอปณะโสภิต. 2547. "ภาพรวมของอนุมูลอิสระและการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากพืชในหลอดทดลอง." **Srinakharinwirot Journal of Pharmaceutical Sciences.** 9 (1) : 73-80.

วีณา จิรัจฉริยากูล. 2543. **มะเขือเทศ.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยมหิดล.

ศิวาพร ศิวเวช. 2546. **วัตถุเจือปนอาหาร.** นครปฐม : โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรมการเกษตรแห่งชาติ.

สมภพ ฐิตะวสันต์. 2530. **การผลิตมะเขือเทศเพื่อการค้า.** กรุงเทพฯ : สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สุริญญา โพธิดิษฐศิริ. 2547. "การใช้สารสกัดจากดอกกระเจี๊ยบ เปลือกและเมล็ดส้มเขียวหวานเป็นสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันธรรมชาติในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์." วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์การอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สุพิศ ทองรอด. 2535. "ความสำคัญของไขมันในอาหารสัตว์น้ำ." **วารสารการประมง.** 45(4) : 943-950.

อัจฉรี เรืองเดช, ลำพึง พุ่มจันทร์และนงนุช เลาหะวิสุทธิ์. 2549. "การเร่งสีปลาหมอสีโดยใช้อาหารเสริมแอสตาแซนทิน.".ใน **รายงานการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 7.** เชียงใหม่ : มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

Al-Wandawi, H., Abdul-Rahman, M. and Al-Shaikhly, K. 1985. "Tomato processing wastes as essential raw materials source." **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 33 : 804-807.

AOCS. 1971. **Official and Tentative Method of the America Oil Chemists Society.** 3 ^{ed}. Association of official chemists society.

Balachandran, B. and Rao, A.V. 2003. "Time dependent uptake and antiperoxidative potential of lycopene in multilamellar liposomes." **Food Research International.** 36 : 611-616.

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.

Bhandari, M.R. and Kawabata, J. 2004. "Organic acid, phenolic content and antioxidant activity of wild yam (*Dioscorea* spp.) tubers of Nepal," **Food Chemistry** 88 : 163-168.

Biaxhall, P.C. and Daisley, K.W. 1973. "Routine hematological method for use with fish blood." **Journal of Fish Biology.** 5 : 771-781.

Bjerkeng, B., Peisker, M., von Schwartzenberg, K.,Ytrestoyl, T. and Asgard, T. 2007. "Digestibility and muscle retention of astaxanthin in Atlantic salmon, (*Salmo salar*),fed diets with the red yeast *Phaffia rhodozyma* in comparison with synthetic formulated astaxanthin." **Aquaculture.** 269 : 476-489.

Cadoni, E., De Griorgi, M.R., Medda, E. and Poma, G. 2000. "Supercritical CO_2 extraction of lycopene and ß-carotene from ripe tomatoes." **Dyes and Pigments.** 44 : 27-32.

Cao, G., Sofic,E. and Prior, R.L. 1996. "Antioxidant capacity and common vegetable." **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 44 : 3426-3431.

Castell, J.D., Sinnhuber, R.O., Lee, D.J. and Wales, J.H. 1992. "Essential fatty acids in the diet of rainbow trout (*Salmo gairdneri*) physiological symptoms of EFA deficiency." **Journal of Nutrition.** 102 : 87-92.

Chang, C.H., Lin, H.Y., Chang, C.Y. and Liu, Y.C. 2006. "Comparisons on the antioxidant properties of fresh, freeze-dried and hot-air-dried tomatoes". **Journal of Food Engineering.** 77 : 478–485.

Christiansen, I and Torrisen, O.J. 1996. "Effect dietary astaxanthin supplementation on fertilization and egg survival in atlantic salmon (*Salmo salar* L.)." **Aquacultuer.** 153 : 51-62

Cockerell, L and Holiday, D. 1975. **Quality control in animal feedstuffs manufacturing industry**. Rep.G97, Trop.Prod.Institute : London. England.

Cohen, G.M. and Doherty, M. 1987. "Free radical mediated cell toxicity by redox cycling chemicals." **British Journal of Cancer.** 55 : 46-52.

Cole, E.R. and Kapur, N.S. 1957. "The stability of lycopene. II. Oxidation during heating of tomato pulps." **Journal of the Science of Food and Agriculture.** 8 : 366-368.

Crouzet, J. and Kanasawud, P. 1992. "Formation of volatile compounds by thermal degradation of carotenoids." **Methods in Enzymology.** 213 : 54-62.

Delany, J.P. Vivian, V.M. Snook, J.T. and Anderson. P.A. 1990. "Effects of fish oil on serum lipids in men during a controlled feeding trial." Amarican Journal of Clinical Nutrition. 52 : 477-485.

Edge, J., McGarvey, D.J. and Truscott, T.G. 1997. "The carotenoids as antioxidants a review." **Journal of Photochemistry and Photobiology : Biology.** 40 : 939-946.

Ellsaesser, C.K. and Clem, L.W. 1986. "Haematological and immunological changes in channel catfish stressed by handling and transport." **Journal of Fish Biology.** 28 : 511-521.

Ezzat, A.A., Shaban, M.B. and Farghaly, A.M. 1974. "Studies on the blood characteristic of *Tilapia Zilli* (Gervais) I. blood cells." **Journal of Fish Biology.** 6 : 1-12.

Gautier, H., Diakou-Verdin, V., Benard, C., Reich, M., Buret, M., Bourgaud, F., Poessel, J.L., Caris-Veyrat, C. and Genard, M. 2008. "How does tomato quality (sugar, acid, and nutritional quality) vary with ripening stage, temperature, and irradiance." **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 5 6 : 1241-1250.

George, B., Kaur, C., Khurdiya, D.S. and Kapoor, H.C. 2004. "Antioxidants in tomato (*Lycopersicon esculentum*) as a function of genotype." **Food Chemistry.** 84 : 45-51.

Ghittino, P. 1983. **Tecnologia e Patologia in Aquacoltura,** vol I. Tipografia Emillio Bono. : Italy.

Giovannucci, E., Ascherio, A., Rimm, E.B., Stampfer, M.J., Colditz, G.A. and Willett, W.C. 1995. "Intake of carotenoids and retinol in relation to risk of prostate cancer." **Journal of the National Cancer Institute.** 87 : 1767-1776.

Gould, W.V. 1992. **Tomatoes Production, Processing and Technology.** Baltimore : CTI Publications.

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.

Harikrishnan, R., Rani, M.N. and Balasundaram, C. 2003. "Hematological and biochemical parameters in common carp, *Cyprinus carpio*, following herbal treatment for *Aeromonas hydrophila* infection." **Aquaculture.** 221 : 41-50.

Heinonen, M.J., Ollilainen, V., Linkola, E.K., Varo, R.T. and Koivistoinen, P.E. 1989. "Carotenoids in Finnish foods: vegetables, fruits and berries." **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 37 : 655-659.

Humason, G.L. 1979. **Animal Tissue Techniques.** 4^{th}. San Francisco : W H Freeman and Company.

Jain, C.K. and Agarwal, S. 1999. "The effect of dietary lycopene on bioavailability, tissue distribution, in vivo antioxidant properties and colonic preneoplasia in rat." Nutrition Research. 19 : 1383-1391.

Johnson, E.A., Villa, T.G. and Lewis, M.J. 1980. "*Phaffia rhodozyma* as an astaxanthin source in salmonid diets." **Aquaculture.** 20 : 123-134.

Kappus, H. and Sies, H. 1981. "Toxic drug effects associated with oxygen metabolism, redox cycling and lipid peroxidation." **Experientia.** 37 : 1233-1241.

Kaneko, J.J., John, W.H. and Michael, L.B. 1997. **Clinical Biochemistry of Domestic Animals.** Academic Press.

Khudairi, A.K. 1972. "The ripening of tomatoes." **American Scientist.** 60 : 696-707.

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.

Kitahara, T. 1983. "Behaviour of carotenoids in the chum salmon (*Oncorhynchus kata*) during andromousmigration." **Comparative Biochemistry and Physiology.** 76 : 97-101.

Klinger, R.C., Blazer, V.S. and Echevarria, C. 1996. "Effects of dietary lipid on the haematology of channel catfish (*Ictalurus punctatus*)." **Aquaculture.** 147 : 225-233.

Korcock, D.E., Houston, A.H. and Gray, J.D. 1988. "Effects of sampling conditions on selected blood variable of rainbow trout, *Salmo gairdneri* Richardson." **Journal of Fish Biology.** 33 : 319-330.

Lin, C.H and Chen, B.H. 2003. "Determination of carotenoids in tomato juice by liquid chromatography." **Journal of Chromatography A.** 1012 : 103-109.

Lisiewska Z and Kmiecik W. 2000. "Effect of storage period and temperature on the chemical composition and organoleptic quality of frozen tomato cubes." **Food Chemistry.** 70 : 167-173.

Luskova, V., Svoboda, M. and Kolarova, J. 2002. "The effect of Diazinon on Blood Plasma Biochemistry in Carp (*Cyprinus carpio L.*)." **Acta Veterinaria (Brno).** 71 : 117-123.

Macdougall, D.B. 2002. **Colour in Food: Improving Quality**. USA: CRC Press.

Mai, J. and Kinsella, J.E. 1979. "Changes in lipid composition of cooked minced carp (*Cyprinus carpio*) during storage." **Journal Food Science.** 44 : 1619-1624.

Mangels, A.R., Holden, J.M., Beecher, G.R., Forman, M. and Lanza, E. 1993. "Carotenoid content of fruits and vegetable : An evaluation of analytical data." **Journal of the American Dietetic Association.** 93 : 284-296.

March, B.E., Hajen, W.E., Deacon, G.C., Millan, M. and Walsh, M.G. 1990. "Intestinal absorption of astaxanthin, plasma astaxanthin concentrations, body weight, and metabolic rate as determinants of flesh pigmentation in salmonids fish." **Aquaculture.** 90 : 313-322.

Mazeaud, F. and Donaldson, E. M. 1977. "Primary and secondary effects of stress on fish." **Transactions of the Americal Fisheries Soceity.** 106 : 201-202.

McClain, R. M.and Bausch, J. 2003. "Summary of safety studies conducted with synthetic lycopene." **Regulatory Toxicology and Pharmacology.** 37 : 274-285.

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 foods." **Food Science and Technology Research.** 67 : 539-541.

Nakano, T., Tomoaki, K., Sato, M. and Takeuchi, M. 1999. "Effect of astaxanthin rich red yeast (*Phaffia rhodozyma*) on oxidative stress in rainbow trout." **Archives of Biochemistry and Biophysics.** 1426 : 119-125.

Nguyen, M.L. and Schwartz, S.J. 1998. "Lycopene stability during food processing." **Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine.** 218(2) : 101-105.

Nguyen, M.L. and Schwartz, S.J. 1999. "Lycopene : chemical and biological properties." **Food Technology**. 53(2) : 38-45.

Nishigaki, I., Dmitrovskii, A.A., Miki, W. and Yagi, K. 1994. "Suppressive effect of astaxanthin on lipid peroxidation induced in rats." **Journal Clinical Biochemistry Nutrition.** 16 : 161-166.

Papas, A.M. 1990. **Antioxidant status, diet, nutrition and health.** Boca raton. CRC press.

Paripatananont, P., Tangtrongpairoj, J., Sailasuta, A. and Chansue, N. 1999. "Effect of astaxanthin on the pigmentation of goldfish (*Carassius auratus*)." **Journal of World Aquaculture Society.** 30 : 454-460.

Pearson, D. 1976. **The Chemical Analysis of Foods.** 7th. Churchill Livingstone : London. England.

Pokorny, Y..J. and Gordon, N.M. 2001. **Antioxidant in Food Practical Applications.** USA: Woodhead Publishing Ltd.

Porter, J.W. and Anderson, D.G. 1997. "Biosynthesis of carotenoid." **Annual Review of Plant Physiology.** 18 : 197-228.

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.

Rao, G.M.M. 1969. "Effect of activity, salinity, and temperature on plasma concentrations of rainbow trout." **Canadian Journal of Zoology.** 47 : 131-134.

Rao, A.V., Waseem, Z. and Agarwal, S. 1998. "Lycopene content of tomatoes and tomato products and their contribution to dietary lycopene." **Food Research International.** 31(10) : 737-741.

Rao, A. V. and Agarwal S. 1999. "Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review." **Nutrition Research,** 19 : 305-323.

Ribeiro H.S. and Schubert A.K. 2003. "Stability of lycopene emulsions in food systems." **Journal of Food Science.** 68(9) : 2730-2734.

Roberts, R.J. 1989. **Fish pathology.** Bailliere Tindall London.

Rudneva, I.I. 1997. "Blood antioxidant system of black sea elasmobranch and teleosts." **Comparative Biochemistry and Physiology.** 118(2) : 255-260.

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.

Sharma, S.K. and Maguer, M.L. 1996. "Kinetic of lycopene degration in tomatopulp solids under different processing and storage condition." **Food Research International.** 29 : 309-315.

Sheen, S.S. and Wu, S.W., 1999. "The effect of dietary lipid levels on the growth response of juvenile mud crab, *Scylla serrata*." **Aquaculture.** 175 : 143-153.

Shi, J. and Maguer, M.L. 2000. "Lycopene in tomatoes : chemical and physical properties affected by food processing." **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.** 40(1) : 1-42.

Shi, J. and Maguer, M.L. 2001. "Degradation of lycopene in tomato processing." **Food Research International.** 41 : 70-78.

Shui, G and Leong, L.P, 2002. "An investigation of antioxidant capacity of fruits in Singapore markets." **Food Chemistry.** 76 : 69-75.

Stahl, W. and Sies, H. 1996. "Perspective in biochemistry and biophysics. lycopene: a biologically important carotenoid for humans.". **Archives of Biochemistry and Biophysics.** 336 : 1-9.

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.

Tadmor, Y., King, S., Levi, A., Davis, A., Meir, A., Wasserman, B., Hirschberg, J. and Lewinsohn, E. 2005. "Comparative fruit colouration in watermelon and tomato." **Food Research International.** 38 : 837- 841.

Takeoka, G.R., Dao, L., Flessa, S., Gillespie, D.M., Sewell, W.T., Huebner. B., Bertow, D. and Ebeler, S.E. 2001. "Processing effects on lycopene content and antioxidant activity of tomatoes." **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 49 : 3713-3717.

Tejera, N., Cejas, J.R., Rodríguez, C., Bjerkeng, B., Jerez, S., Bolanos, A. and Lorenzo, A. 2007. "Pigmentation, carotenoids, lipid peroxides and lipid composition of skin of red porgy (*Pagrus pagrus*) fed diets supplemented with different astaxanthin sources " .**Aquaculture.** 270 : 218-230.

Toor, R.K. and Savage, G.P. 2005. "Antioxidant activity in different fractions of tomatoes." **Food Research International.** 38 : 487– 494.

Topal, U., Sasaki, M., Goto, M. and Hayakava, K. 2006. "Extraction of lycopene from tomato skin with supercritical carbon dioxide: effect of operating conditions and solubility analysis." **Journal of Agricultural and Food Chemistry.** 54 : 5604-5610.

Torrissen, O.J. 1989. "Pigmentation of salmonids interactions of astaxanthin and canthaxanthin on pigment deposition in rainbow trout." **Aquaculture.** 79 : 363-374.

Torrissen, K.R.and Torrissen, O.J. 1985. "Protease activities and carotenoid levels during the sexual aturation of atlantic salmon (*Salmo salar*)." **Aquaculture.** 50 : 113-132.

Tutour, B.L. 1990. "Antioxidant activities of algal extracts synergistic effect with vitamin E." **Phytochemistry.** 29(12) : 3759-3765.

Van der salm A. L. , Martinez, M., Flik, G. and Bonga , S. E. W. 2004. "Effect of husbandry conditions on the skin colour and stress response of red porgy *Pagrus pagrus*." **Aquaculture.** 241 : 371-386.

Vazquez, G.R. and Guerrero, G.A. 2007. "Characterization of blood cells and haematological parameters in *Cichlasoma dimerus* (Teleostei, Perciformes)." **Tissue & Cell.** 39 : 151-160.

Watada, E., Norris, H., Worthington, J. and Massie, R. 1976 "Estimation of chlorophyll and carotenoid contents of whole tomato by light absorbance technique." **Journal of Food Science.** 41: 329-332.

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.

Zanoni, B., Peri, C., Nani, R. and Lavelli, V. 1999. "Oxidative heat damage of tomato halves as affected by drying." **Food Research International.** 31 : 395-401.

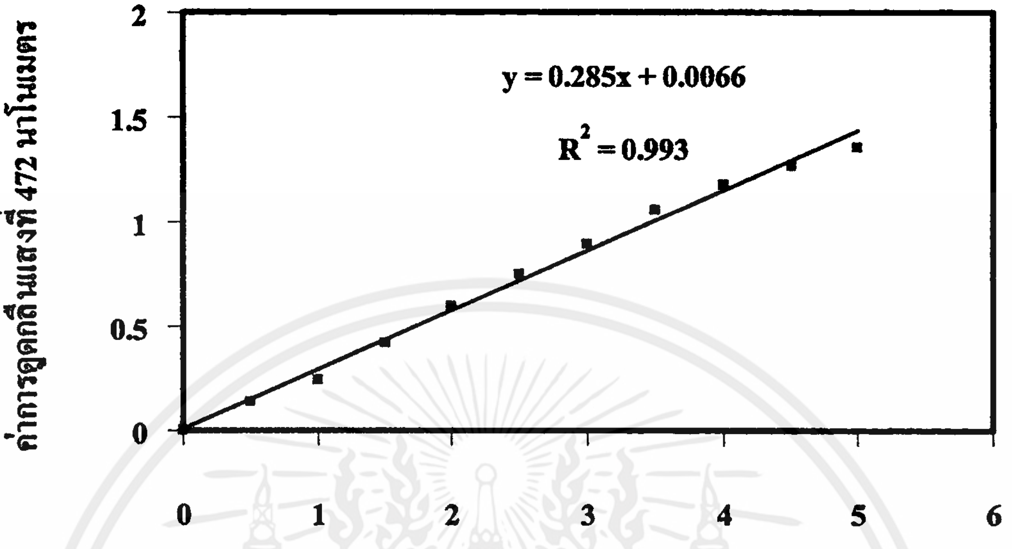
Zikic, R.V., Stajn, A.S., Pavlovic, S.Z., Ognjanovic, B., Maletic, S.D., Markovic, M., Dragicevic-Djokovic, L.M., Radojicic, R.M. and Saicic, Z.S. 2002. "Effect of acute hypoxia on the energy status and antioxidant defense system in the blood of carp (*Cyprins carpio* L.)." **Archives of Biology Seience.** 54(1-2) : 11-18.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก.

กราฟมาตรฐานสารไลโคปีน

กราฟมาตรฐานสารไลโคปีนและตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณสารไลโคปีนจากผงมะเขือเทศ



ภาพที่ ก 1 กราฟมาตรฐานสารไลโคปีน

1. นำค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างแทนค่าในสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐาน y =0.285+0.0066 เช่น วัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเท่ากับ 0.173 นำค่าการดูดกลืนแสงแทนค่าในสมการ จะได้

	=	(0.173-0.0066)/0.285
	=	0.5839
สารสกัด 1,000 มิลลิลิตร มีปริมาณสารไลโคปีน	=	0.5839 มก.
สารสกัด 100 มิลลิลิตรมีปริมาณสารไลโคปีน	=	(0.5839 มก.×100 มล.)/1,000 มล.
	=	0.05839 มก.
ในมะเขือเทศอบแห้ง 0.1 กรัม มีปริมาณสารไลโคปีน	=	0.05839 มก.
ในมะเขือเทศอบแห้ง 100 กรัม มีปริมาณสารไลโคปีน	=	(0.05839 มก.×100 ก.)/0.1 ก.
	=	58.39 มก./100 ก. น้ำหนักแห้ง

ภาคผนวก ข.

วิธีการวิเคราะห์ TBARS

ข 1 วิธีการวิเคราะห์ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ในอาหาร

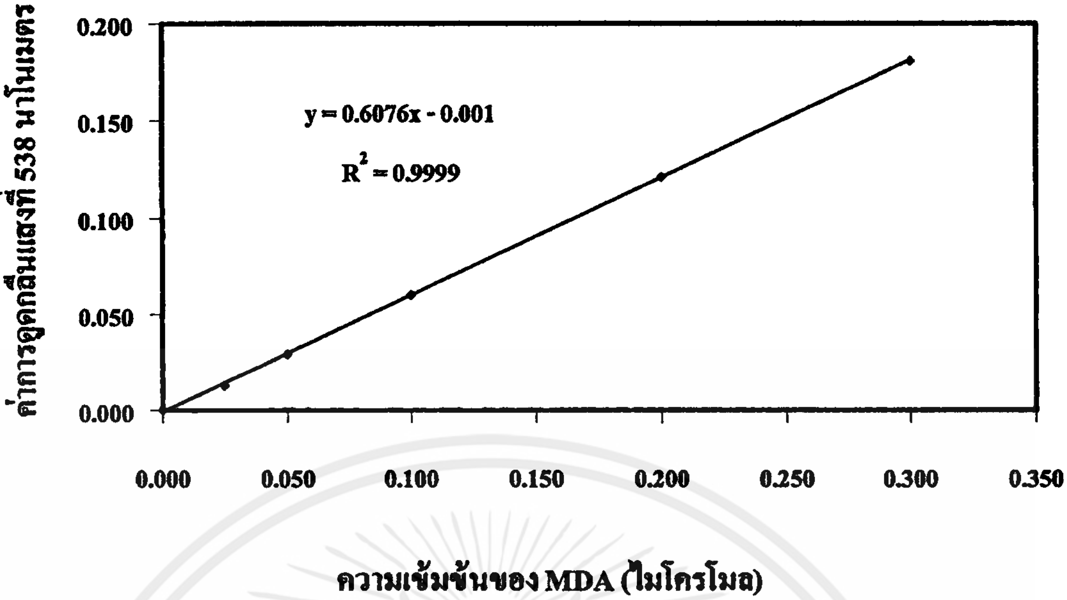
เป็นวิธีการทดสอบการหืนของอาหาร โดยวัดค่ากรดไทโอบาร์บิทูริก (thiobarbituric acid reactive substance : TBARS) ทำให้ทราบระดับการเกิดออกซิเดชันของไขมันในอาหาร โดยวัดความเข้มข้นของสีชมพูที่เกิดจากปฏิกิริยาทางเคมีของกรดไทโอบาร์บิวทูริกกับมัลลัลไดแอลดีไฮด์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ ขั้นที่ 2 ของปฏิกิริยา แสดงผลเป็นมิลลิกรัมมัลลัลไดแอลดีไฮด์(malondialdehyde : MDA) ต่อกิโลกรัมอาหาร

การเตรียมสารเคมี

1. TBA solution ละลายกรดไทโอบาร์บิทูริค 2.883 กรัม ในสารละลายกรดอะซิติก เข้มข้นร้อยละ 90 (90 มิลลิลิตร ใน 100 มิลลิลิตร) โดยอุ่นที่อุณหภูมิ (40-50 องศาเซลเซียส) แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1 ลิตร
2. HCI 4 โมล (344.04 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่น 1 ลิตร)
3. Stock MDA standard (100 ไมโครโมลาร์) โดยปิเปต standard tetramethoxypropane (TMP) 16.87 ไมโครลิตร จากนั้นหยด HCl 5-8 หยด แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 5 กรัม นำไปบดให้ละเอียด ใส่ในขวดสำหรับกลั่น แล้วเติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
2. เติม HCI 4 โมล จำนวน 1.25 มิลลิลิตร แล้ว ต่อเข้ากับชุดกลั่น
3. กลั่นจนได้ของเหลว 50 มิลลิลิตร (ประมาณ 4 นาที หลังเดือด)
4. ปิเปตของเหลวที่ได้จากการกลั่น 5 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดมีฝาปิด เติม TBA solution 5 มิลลิลิตร ปิดฝาเขย่าแล้วนำไปต้มใน water bath อุณหภูมิ 95-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 35 นาที (เขย่าทุกๆ 5 นาที)
6. หลังครบ 35 นาที ทำให้เย็นทันที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 538 นาโนเมตร



ภาพที่ ข.1 กราฟมาตรฐานของมัลลัลไดแอลดีไฮด์ (malondialdehyde : MDA)ในอาหาร

ข.2 วิธีการวิเคราะห์ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ในเลือดปลา

การเตรียมสารเคมี

1. 1% กรดไทโอบาร์บิทูริก (triobarbituric acid; TBA) ชั่ง TBA 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร (เตรียมในน้ำอุ่น)
2. 10% กรดไทคลอโรแอซิติก (trichloroacetic acid; TCA) ชั่ง TCA 10 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. 0.2 % บิวทิลเลต ไฮดรอกซีโทลูอีน (butylated hydroxytoluene; BHT) ชั่ง BHT 0.2 กรัม ละลายด้วยเอธานอล
4. 50 mM โปแตสเซียมฟอสเฟตบับเฟอร์ pH 7.4 โดยชั่ง $K_2HPO_4.3H_2O$ จำนวน 9.24 กรัม ผสมกับ KH_2PO_4 จำนวน 1.3 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้ได้1,000 มิลลิลิตร และปรับพีเอสให้ได้ 7.4 ด้วย 1 M KH_2PO_4
5. Stock MDA standard (100 ไมโครโมลาร์) โดยปิเปต standard tetramethoxypropana (TMP) 16.87 ไมโครลิตร จากนั้นหยด HCl 5-8 หยด แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร

วิธีการ

1. สลบปลาด้วย MS222
2. เก็บตัวอย่างเลือดจากบริเวณ caudal artery ด้วย heparin syringes ใส่ไว้ใน eppendorf ที่มีสาร EDTA

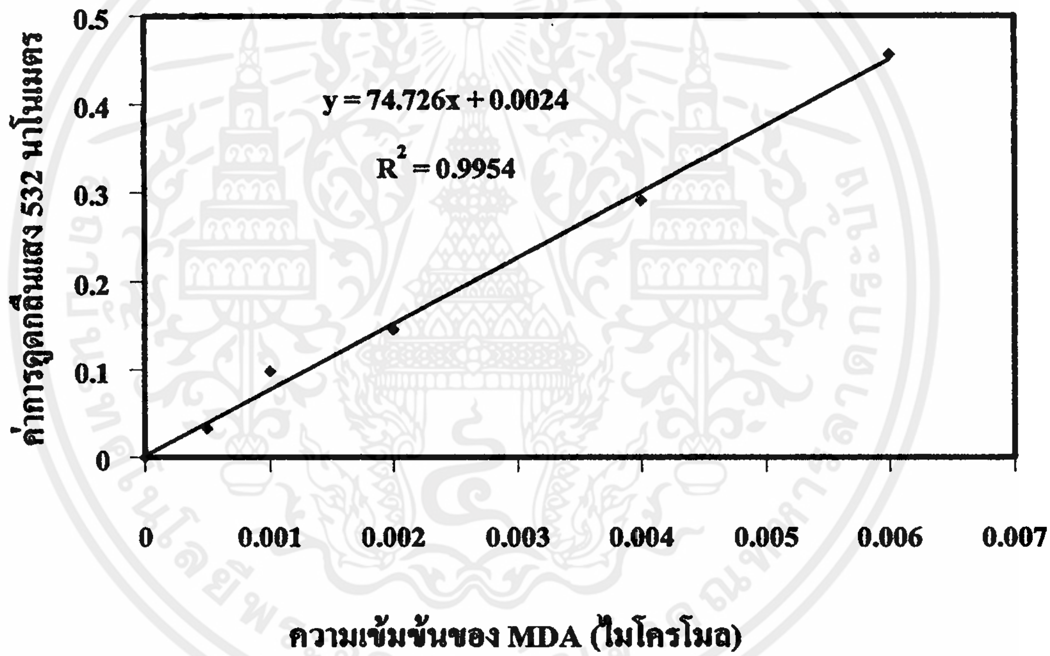
3. ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 1,500 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 °C

4. ดูดพลาสมาที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงใส่ในหลอดทดลองที่มีฝาปิด จำนวน 0.1 มิลลิลิตร จากนั้นรักษาสภาพของพลาสมาด้วย 50 mM โปแตสเซียมฟอสเฟตบับเฟอร์ pH 7.4 จำนวน 0.45 มิลลิลิตร

5. เติมสาร BHT จำนวน 0.01 มิลลิลิตร ตามด้วย TBA 0.2 มิลลิลิตร และ TCA 1 มิลลิลิตร

6. นำไปต้มในน้ำเดือดที่อุณหภูมิ 95-100 ° C เป็นเวลา 30 นาที เขย่าหลอดทดลองทุกๆ 5 นาที เมื่อครบระยะเวลาทำให้เย็นทันที นำสารในหลอดทดลองถ่ายลงใน eppendorf แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วที่ 1,500 g เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 ° C

7. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงของพลาสมาไปคำนวณหาค่ากรดไทโอบาร์บิทูริกโดยแทนในสมการเส้นตรงจากกราฟมาตรฐานของมัลลัลไดแอลดีไฮด์ ในภาพที่ ข.2 แสดงผลเป็นไมโครโมลมัลลัลไดแอลดีไฮด์ต่อมิลลิลิตรของพลาสมา



ภาพที่ ข2 กราฟมาตรฐานของมัลลัลไดแอลดีไฮด์(malondialdehyde : MDA)ในเลือด

ภาคผนวก ค.

การทำสไลด์เนื้อเยื่อ

ค.1 สารเคมีที่ใช้แช่ตัวอย่าง

ค.1.1 สารเคมีดองตัวอย่าง (10 % buffer formalin)

1. 37-40 % formalin	100	มิลลิลิตร
2. sodium phosphate, monobasic	900	มิลลิลิตร
3. sodium phosphate, dibasic	4	กรัม
4. น้ำกลั่น	6	กรัม

ผสมเข้าด้วยกัน

ค.1.2 สารเคมีย่อยกระดูก (decalcification solution)

1. $AlCl_3$	7	กรัม
หรือ $AlCl_3.6H_2O$	12.67	กรัม
2. HCl	8	มิลลิลิตร
3. formic acid	5	มิลลิลิตร
4. น้ำกลั่น	87	มิลลิลิตร

ผสมเข้าด้วยกัน โดยนำ $AlCl_3$ ละลายในน้ำกลั่น หลังจากนั้นจึงเทกรดผสมลงไป

ค.1.3 น้ำยาปรับสภาพความเป็นกรดเป็นด่างเนื้อเยื่อ

1. 5 % Na_2SO_4

ค.2 ขั้นตอนการทำสไลด์เนื้อเยื่อ

ค.2.1 การดองตัวอย่าง (fixation)

1. นำตัวอย่างปลาแฟนซีคาร์พที่เปิดช่องท้องมาดองด้วย 10 % formalin ในปริมาตร 15-20 เท่าของตัวอย่าง ดองนาน 24–48 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาตัดแต่งให้มีขนาดเล็กลงใส่ใน cassette ที่เขียนรหัสไว้ ล้างผ่านน้ำไหลนานประมาณ 10 นาทีแล้วจึงนำไปทำกระบวนการต่อไป

ค.3.2 การขจัดน้ำและการแทรกพาราฟินภายในเนื้อเยื่อ

นำ cassette เนื้อเยื่อมาล้างโดยให้น้ำไหลผ่านช้าๆนาน 2-4 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างผ่านขั้นตอนการขจัดน้ำออกจากเนื้อเยื่อ โดยใช้เครื่อง automatic tissue processor ดังต่อไปนี้

1. แช่ตัวอย่างใน 50 % แอลกอฮอล์ นาน 0.5 - 1 ชั่วโมง
2. แช่ตัวอย่างใน 70 % แอลกอฮอล์ นาน 0.5 - 1 ชั่วโมง
3. แช่ตัวอย่างใน 95 % แอลกอฮอล์ I นาน 0.5 - 1 ชั่วโมง
4. แช่ตัวอย่างใน 95 % แอลกอฮอล์ II นาน 0.5 - 1 ชั่วโมง
5. แช่ตัวอย่างใน 95 % แอลกอฮอล์ III นาน 0.5 - 1 ชั่วโมง
6. แช่ตัวอย่างใน 100 % แอลกอฮอล์ I นาน 0.5 - 1 ชั่วโมง

7. แช่ตัวอย่างใน 100 % แอลกอฮอล์ II นาน 0.5 - 1 ชั่วโมง
8. แช่ตัวอย่างใน 100 % แอลกอฮอล์ III นาน 0.5 - 1 ชั่วโมง
9. แช่ตัวอย่างใน chloroform I นาน 1 ชั่วโมง
10.แช่ตัวอย่างใน chloroform II นาน 1.5 ชั่วโมง
11.แช่ตัวอย่างใน melted paraffin I นาน 1-1.5 ชั่วโมง
12.แช่ตัวอย่างใน melted paraffin II นาน 2 ชั่วโมง

ค.3.3 การ embedding

เลือก mold สแตนเลส ที่มีขนาดเหมาะสมกับตัวอย่างมาเติมพาราฟิน นำตัวอย่างออกจาก cassette ใส่ลงไปใน mold และ ปิดทับด้วย cassette เติมพาราฟินอีกเล็กน้อย แล้ววางไว้ให้แข็ง และแกะออกมาแต่ง block ให้มีขนาดที่เหมาะสมกับการตัด แล้วจึงนำตัวอย่างไปแช่เย็น

ค.3.4 การตัดเนื้อเยื่อ

นำ block ตัวอย่างที่แช่เย็นแล้วมาตัดด้วยเครื่องมือที่เรียกว่า microtome ที่ความหนาประมาณ 5-6ไมครอน ลอยตัวอย่างในน้ำที่มีอุณหภูมิ 45-50 ° C ใช้ slide ที่สะอาดช้อนเอาตัวอย่างที่สมบูรณ์ขึ้นมา ใช้ปากกาทำ เครื่องหมายไว้ และนำ ไปอุ่นไว้บนเครื่องอุ่นสไลด์ (slide warmer) ที่อุณหภูมิ 45-50 ° C นาน 3-4 ชั่วโมง แล้วนำไปย้อมต่อไป

ง.1 สีย้อมเนื้อเยื่อ

ง.1.1 การเตรียม Eosin (1 % Eosin acqueous solution 1000 ml (Stock))

1. Eosin 1 % Y acqueous solution stock	50	มิลลิลิตร
2. glacial acetic acid	1	มิลลิลิตร
3. 95 % alcohol	120	มิลลิลิตร
4. น้ำกลั่น	30	มิลลิลิตร

ผสมเข้าด้วยกัน และควรเตรียมก่อนใช้งาน 2-3 วัน

ง.1.2 haematoxylin (ใช้ haematoxylin สำเร็จรูป)

ง.2 ขั้นตอนการย้อมสี Hematoxylin & Eosin

1. xylene I นาน 3-5 นาที
2. xylene II นาน 3-5 นาที
3. absolute alcohol I นาน 2 นาที
4. absolute alcohol II นาน 2 นาที
5. 95 % แอลกอฮอล์ นาน 1-2 นาที
4. 70 % แอลกอฮอล์ นาน 1-2 นาที
5. ล้างผ่านน้ำไหล นาน 3-5 นาที
6. haematoxylin staining นาน 1-5 นาที
7. ล้างผ่านน้ำไหล นาน 3-5 นาที
8. ล้างสีน้ำเงินของ haematoxylin ด้วยน้ำที่หยดแอมโมเนีย นาน 3-5 นาที
9. ล้างผ่านน้ำไหล นาน 3-5 นาที
10. 70 % แอลกอฮอล์ นาน 1-2 นาที
11. 95 % แอลกอฮอล์ นาน 1-2 นาที
12. eosin (95 % แอลกอฮอล์) นาน 1-3 นาที
13. absolute alcohol I นาน 1-2 นาที
14. absolute alcohol II นาน 1-2 นาที
15. absolute alcohol III นาน 1-2 นาที
16. xylene I นาน 2-3 นาที
17. xylene II นาน 2-3 นาที
18. xylene III นาน 2-3 นาที
19. ทำสไลด์ถาวร ด้วยน้ำยา permount

ผล : นิวเคลียส ติดสีน้ำเงิน และไซโตพลาสซึม ติดสีชมพูถึงแดง

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวกันยนา ตงศิริ
วัน เดือน ปีเกิด	15 กันยายน 2524 ที่จังหวัดนครพนม
ที่อยู่	224 ถนนชัยบำรุง ตำบลนาแก อำเภอนาแก จังหวัดนครพนม 48130
ประวัติการศึกษา	2547 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี
ประวัติการทำงาน	2547-2550 นักวิชาการ คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสกลนคร