รายงานการวิจัย

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือในข้าวพื้นเมือง : การสกัดสารสีแอนโทไซยานินจากวัสดุเศษเหลือในข้าวพื้นเมือง เพื่อเร่งการเจริญเติบโตและเร่งสีในปลาสวยงาม

The utilization of local rice residue materials : Extraction of anthocyanin pigment from the residues of local rice for growth and colorant in ornamental freshwater fish

อุไรวรรณ วัฒนกุล Uraiwan Wattanakul

วัฒนา วัฒนกุล Wattana Wattanakul

ศุภลักษณ์ สุดขาว Supaluck Sudkaow

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

ประจำปี พ.ศ. 2565

รายงานการวิจัย

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือในข้าวพื้นเมือง : การสกัดสารสีแอนโทไซยานินจากวัสดุเศษเหลือในข้าวพื้นเมือง เพื่อเร่งการเจริญเติบโตและเร่งสีในปลาสวยงาม

The utilization of local rice residue materials : Extraction of anthocyanin pigment from the residues of local rice for growth and colorant in ornamental freshwater fish

อุไรวรรณ วัฒนกุล Uraiwan Wattanakul

วัฒนา วัฒนกุล Wattana Wattanakul

ศุภลักษณ์ สุดขาว Supaluck Sudkaow

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

งบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

ประจำปี พ.ศ. 2565

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจาก มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย งบประมาณงบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประจำปี 2565 งานวิจัยนี้ มีเป้าหมายและจุดประสงค์หลักเพื่อลดต้นทุนค่าสารเร่งสีในอาหารปลาสวยงาม และการนำเอาวัสดุเศษเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตและแปรรูปข้าวมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด โดยเน้นการสกัดรงควัตถุสารสี ได้แก่ สารแอนโทไซยานิน สารเบต้าแคโรทีน ที่พบในส่วนต่างๆ ของข้าวกลุ่มมีสีที่เกษตรกรผลิตภายในพื้นที่จังหวัดตรัง เพื่อปรับปรุงสีของปลาสวยงามได้แก่ ปลาทองให้มีความคงตัว และสีสดตลอดระยะเวลาการเลี้ยง ซึ่งปลาสวยงามจะเน้นเอกลักษณ์ของความสวยทั้งรูปร่าง ลักษณะเฉพาะพันธุ์และสีสันลำตัวปลาที่สดใส เพราะปัญหาที่ผู้ผลิตปลาสวยงามประสบคือ การเลี้ยงปลาด้วยอาหารสำเร็จรูปไประยะเวลานานส่งผลต่อปลามีสีซีดลง จากปัญหาดังกล่าวนี้ ทำให้คณะผู้วิจัยมีแนวคิดในใช้ประโยชน์จากข้าวพื้นเมือง ที่เป็นข้าวกลุ่มมีสี นำมาวิเคราะห์ปริมาณสารสีรวมสูงสุดและคัดเลือกชุดสกัดที่ดีที่สุดมาใช้ผสมในอาหารเร่งสีปลาทอง เพื่อศึกษาการสะสมสารสีแอนโทไซยานินในเซลล์เม็ดสีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ต้นทุนการผลิต ตลอดจนระบบเลือด การเจริญเติบโต อัตราการรอดตายของปลาทองที่ได้รับสารสีแอนโทไซยานินจากสารสกัดของส่วนวัสดุเศษเหลือในข้าวพื้นเมืองที่มีศักยภาพของจังหวัดตรัง คาดหวังว่า การวิจัยนี้จะสามารถตอบโจทย์การแก้ปัญหาและสามารถเร่งสีปลาสวยงามให้ดีขึ้นด้วยการใช้สารสกัดจากวัสดุเศษเหลือต้นทุนต่ำ ทั้งนี้เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานของการพัฒนาอาชีพการเลี้ยงปลาสวยงาม ลดต้นทุน และเพิ่มรายได้ให้แก่กลุ่มผู้เลี้ยงปลาทั้งในแง่เชิงพาณิชย์และการเลี้ยงเป็นอาชีพเสริมต่อไป

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย ที่ได้ให้การสนับสนุนทุนในการทำวิจัยนี้ ขอขอบคุณผู้เกี่ยวข้องทุกฝ่ายที่ได้ให้ความช่วยเหลือในด้านต่างๆ ทั้งความสะดวกในการใช้อุปกรณ์และเครื่องมือวิเคราะห์ ตลอดจนสถานที่ในการตรวจวิเคราะห์ตัวอย่าง ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่ให้การช่วยเหลืออำนวยความสะดวกด้วยดีตลอดมา ขอขอบคุณผู้ร่วมวิจัยที่อุทิศกำลังกายและกำลังใจช่วยในการวิจัยครั้งนี้ลุล่วงได้ด้วยดี ตลอดจนครอบครัวและผองเพื่อนที่ให้ความห่วงใย เป็นกำลังใจให้เสมอมา รวมทั้งกัลยานมิตรทุกท่านที่มิได้เอ่ยนามในที่นี้ด้วย

อุไรวรรณ วัฒนกุล
วัฒนา วัฒนกุล
ศุภลักษณ์ สุดขาว
กุมภาพันธ์ 2566

การใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือในข้าวพื้นเมือง : การสกัดสารสีแอนโทไซยานินจากวัสดุเศษเหลือในข้าวพื้นเมือง เพื่อเร่งการเจริญเติบโตและเร่งสีในปลาสวยงาม

อุไรวรรณ วัฒนกุล[1] วัฒนา วัฒนกุล[1] และ ศุภลักษณ์ สุดขาว[2]

บทคัดย่อ

ข้าวพื้นเมืองที่มีสีม่วงแดง จัดเป็นข้าวกลุ่มที่มีรงควัตถุสารสีแอนโทไซยานิน มีความเหมาะสมในการนำไปประยุกต์ใช้เป็นสารเร่งสีในสัตว์น้ำสวยงาม อาจมีส่วนช่วยเพิ่มความเข้มสี และสร้างภูมิคุ้มกันในสัตว์น้ำสวยงามได้ ซึ่งจะช่วยเพิ่มมูลค่าทางการตลาดของสัตว์น้ำสวยงามได้อีกทาง ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงคัดเลือกสารสกัดแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี มาใช้ในการปรับปรุงสีของปลาทอง (*Carassius auratus* Linnaeus) โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของสารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีต่อสีผิว และการเจริญเติบโตของปลาทอง ที่เลี้ยงด้วยอาหารสำเร็จรูปผสมสารสกัดหยาบจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่ระดับแตกต่างกัน 5 ระดับ คือ 0 (ชุดควบคุม), 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม (มก./กก.) ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 4 เดือน และวัดสีผิวของปลาโดยใช้เครื่องวัดสีระบบ CIE *L*a*b** (*L** - ค่าความสว่าง, *a** - ค่าสีแดง และ *b** - ค่าสีเหลือง) พบว่า ปลาทองที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี มีค่าสีผิวของปลา ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) โดยปลาทองชุดที่ใช้สารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีที่ระดับ 100 มก./กก. มีค่าเฉลี่ยความสว่าง ค่าเฉลี่ยของสีแดง และค่าเฉลี่ยของสีเหลืองสูงที่สุด ส่วนการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตายในทุกระดับของการใช้สารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีในอาหาร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) จากการทดลองสรุปได้ว่า ค่าสีแดง และค่าสีเหลืองของผิวหนังปลาทองเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีที่ผสมในอาหาร

คำสำคัญ : การใช้ประโยชน์ ข้าวพื้นเมือง สารสีแอนโทไซยานิน ปลาสวยงามน้ำจืด

.....

[1]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย อ.สิเกา จ.ตรัง 92150

[2]คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง จ. ราชบุรี 70150

The utilization of local rice residue materials : Extraction of Anthocyanin pigment from the residues of local rice for growth and colorant in ornamental freshwater fish

Uraiwan Wattanakul[1] Wattana Wattanakul[1] and Supaluck Sudkaow[2]

ABSTRACT

Indigenous rice that is reddish purple are pigments that contain color group of anthocyanins pigment. It is suitable for applying as a colorant in ornamental aquatic animals. Besides, it should be improve the color and increase immune response in ornamental aquatic animals. It helps to increase the market value of ornamental aquatic animals. Thus, this research aimed to study the effects of supplemental anthocyanin extracted from Riceberry rice bran with absolute ethanol on skin color and growth performance of goldfish (*C. auratus*) with commercial diets contains anthocyanin crude extracts at five inclusion levels (0, 25, 50, 75 and 100 mg/kg). The diets were cultured for 4 months period and the skin color of fish was measured. The diets were given to fishes twice daily for 4 months period and the skin color of fish was measured by using a colorimeter with the system CIE *L*a*b** (CIE LAB). The results showed that the skin color values were significantly different among the fish receiving diets with different concentrations of crude extracts ($P<0.05$). The lightness value, the redness and yellowness were highest in goldfish fed by diet containing 100 mg/kg anthocyanin crude extracts. The growth performance and survival rate of all concentrations anthocyanin crude extracts were not significantly different ($P>0.05$). This study can conclude that the redness and yellowness were significantly increased as the concentration of crude extracts increased in diet..

Keywords : utilization, Indigenous rice, anthocyanin pigment ornamental freshwater fish

.....

[1]Faculty of Science and Fisheries Technology, Rajamangala University of Techonology Srivijaya, Sikao, Trang 92150

[2]Faculty of Science and Technology, Muban Chombueng Rajabhat University, Ratchaburi 70150

สารบัญ

หน้า

กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
สารบัญภาพ	ช
บทนำ	1
วิธีดำเนินการวิจัย	11
ผลการวิจัย และอภิปรายผล	18
สรุปผลการวิจัย และข้อเสนอแนะ	49
บรรณานุกรม	50
ภาคผนวก	56

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ความชื้น ปริมาณน้ำอิสระ (Aw) และค่าการละลายของผงสีจากรำข้าว 5 สายพันธุ์	22
2	ความชื้น ปริมาณน้ำอิสระ (Aw) และค่าการละลายของผงสีในแกลบข้าว 5 สายพันธุ์	23
3	ความชื้น ปริมาณน้ำอิสระ (Aw) และค่าการละลายของผงสีในซังข้าว 5 สายพันธุ์	24
4	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด และแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ของผงสีในรำข้าว 5 สายพันธุ์	27
5	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ของผงสีในแกลบข้าว 5 สายพันธุ์	28
6	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ของผงสีในซังข้าว 5 สายพันธุ์	29
7	ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS รายงานผลในรูป IC50 (mg/ml) ในผงสีจากรำข้าว 5 สายพันธุ์	31
8	ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS รายงานผลในรูป IC50 (mg/ml) ในผงสีจากแกลบข้าว 5 สายพันธุ์	32
9	ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS รายงานผลในรูป IC50 (mg/ml) ในผงสีจากซังข้าว 5 สายพันธุ์	33
10	ค่าสีในสารสกัดหยาบจากรำข้าวทดลองทั้ง 5 สายพันธุ์	34
11	ค่าสีในสารสกัดหยาบจากแกลบข้าว 5 สายพันธุ์	35
12	ค่าสีในสารสกัดหยาบจากซังข้าว 5 สายพันธุ์	36
13	น้ำหนักเฉลี่ย (น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว ± SE หน่วยเป็นกรัม) ของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดจากข้าวมีสีระดับต่าง ๆ กัน เป็นระยะเวลา 4 เดือน	37
14	การเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลาทอง ที่ได้รับอาหารที่มีการใช้สารสกัดจากข้าวมีสีที่ได้ในอาหารเม็ดสำเร็จรูป ในชุดการทดลองระดับต่าง ๆ เป็นเวลา 4 เดือน	39
15	ระดับสีที่ผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากข้าวมีสีระดับต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 4 เดือน	44

ตารางที่ **หน้า**

16 คุณภาพน้ำเฉลี่ยตลอดการทดลองของการเลี้ยงปลาทอง ที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดหยาบจากสาหร่ายระดับต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 4 เดือน 22

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แกลบของข้าวเปลือกเก็บตัวอย่างสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์	18
2	ซังข้าวของข้าวเปลือกเก็บตัวอย่างสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์	19
3	รำข้าวของข้าวเปลือกเก็บตัวอย่างสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์	19
4	สารสกัดและการผลิตแอนโทไซยานิน	20
5	การเจริญเติบโตของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดจากข้าวมีสีระดับต่าง ๆ กัน เป็นระยะเวลา 4 เดือน	38
6	ระดับค่าสี *L** บนผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากข้าวมีสีระดับต่าง ๆ กัน	45
7	ระดับค่าสี *a** บนผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากข้าวมีสีระดับต่าง ๆ กัน	45
8	ระดับค่าสี *b** บนผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากข้าวมีสีระดับต่าง ๆ กัน	46
9	ระดับสีที่ผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากข้าวมีสีระดับต่างๆ กัน	46

ภาพผนวกที่		หน้า
1	ตัวอย่างแกลบของข้าวเปลือกเก็บตัวอย่างสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์	58
2	ตัวอย่างซังข้าวสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์	59
3	ตัวอย่างรำข้าวสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์	60
4	การเตรียมผงสีแอนโทไซยานินจากแกลบและรำข้าว	61
5	การเตรียมผงสีแอนโทไซยานินจากซังข้าว	62
6	สีของน้ำสารสกัดรำข้าว จำนวน 5 สายพันธุ์	63
7	สีของน้ำสารสกัดแกลบข้าว จำนวน 5 สายพันธุ์	64
8	การวิเคราะห์ปริมาณสารสีแอนโทไซยานินทั้งหมด	65
9	การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์	66

ภาพผนวกที่ **หน้า**

10	การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ	67
11	การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี	68
12	การเตรียมระบบเลี้ยง และทำการทดลองเลี้ยงปลาทอง	69
13	การเตรียมอาหารทดลอง	70
14	การศึกษาการเจริญเติบโต และการศึกษาสีผิวตัวภายนอก	71

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

จังหวัดตรังตั้งอยู่ทางภาคใต้ฝั่งตะวันตกมีพื้นที่ลุ่มแม่น้ำต่างๆ หลายสาขาในจังหวัดตรังเหมาะสมกับการปลูกข้าว ซึ่งถือเป็นอาหารหลักของคนไทย เป็นพืชที่มีความหลากหลายในด้านพันธุ์และมีเอกลักษณ์เฉพาะที่โดดเด่นตามสภาพภูมิประเทศที่เพาะปลูก เป็นแหล่งรวมสารอาหารหลายชนิด ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน ใยอาหาร แร่ธาตุ รวมไปถึงทุติยภูมิที่พืชสร้างขึ้นที่สำคัญคือกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟินอลิก รงควัตถุสารสี สารอาหารเหล่านี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ข้าว (ปิ่นธิดา และคณะ, 2560) ปัจจุบันข้าวพันธุ์พื้นเมืองกำลังได้รับความสนใจในแง่ของการนำมาใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ สารสกัดในเภสัชกรรมและอุตสาหกรรม ในอดีตพื้นที่จังหวัดตรังมีพันธุ์ข้าวพื้นเมืองหลากหลายสายพันธุ์กระจายอยู่เต็มพื้นที่ ได้แก่ ข้าวเบายอดม่วง ข้าวลูกปลา ข้าวช่อมุด ข้าวงวงช้าง ข้าวหอยสังข์ ข้าวขาวรวงยาว ข้าวนางขวิด ข้าวนางเอกและข้าวเบาขี้ควาย (สำราญ, 2560) โดยมีรายงานคุณค่าทางโภชนาการของข้าวพื้นเมือง และสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ได้แก่ แร่ธาตุ กรดฟีนอลิก และสารฟลาโวนอยด์ ซึ่งมีสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ (ปิ่นธิดา และคณะ , 2560) รวมทั้งงานวิจัยของสุภาษิตและคณะ (2563) ทำการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณฟินอลิกในข้าวกล้องพื้นเมืองตรัง พบว่าข้าวพันธุ์เบายอดม่วงซึ่งเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดสีน้ำตาลแดงมีสารสำคัญ คือกรดเฟอรูลิก ส่วนสารฟินอลิกในเนื้อเยื่อหุ้มสีแดงและดำ คือสารแอนโทไซยานิน ส่งผลให้ข้าวชนิดนี้มีค่าดีที่สุด เช่นเดียวกับงานทดลองของอุไรวรรณ และคณะ (2560) ศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวพื้นเมืองจาก 5 จังหวัดภาคใต้ จำนวน 9 สายพันธุ์ พบว่า ข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง จะเป็นกลุ่มข้าวสีดำ มีค่าอยู่ในช่วง 1,206.77 -1,580.54 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง รองลงมา เป็นกลุ่มข้าวสีแดง มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 188.16 – 133.89 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง และกลุ่มข้าวสีขาว มีค่าอยู่ในช่วง 2.87– 5.75 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง เมื่อคำนึงถึงการใช้ประโยชน์จากข้าวพบว่าเศษเหลือส่วนอื่นนอกจากเมล็ดข้าว อาจมีสารทางชีวภาพที่นำไปใช้ประโยชน์ได้ เช่น รงควัตถุสารสีม่วง นำไปสกัดเพื่อใช้เป็นแหล่งของสารเร่งสีในปลาสวยงาม หากถ้ามีการสกัดสารสีจากเปลือกและลำต้นของข้าว ใช้ผสมในอาหารเลี้ยงปลาสวยงาม โดยวัตถุดิบสารสีในท้องถิ่น ก็จะเป็นการเพิ่มมูลค่าและใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือได้อีกทางหนึ่ง

ปลาทอง (*Carassius auratus*) เปนปลาสวยงามที่ได้รับความนิยมจากผู้เลี้ยงมาเป็นเวลานาน ปลาทองที่มีสีสันสวยงาม และรูปร่างที่ได้มาตรฐานจะมีราคาสูง ซึ่งจะเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งในและต่างประเทศปัญหาสำคัญประการหนึ่งในการเพาะเลี้ยงปลาทองคือการขาดสารเร่งสีในอาหาร ทำให้ปลาทองจากการเพาะเลี้ยงมีสีสันไม่ตรงตามความต้องการของตลาด เพราะสีสันของตัวปลาถือเป็นปัจจัยสำคัญที่จะต้องมีการควบคุมเพื่อให้ได้ตรงกับความต้องการของตลาดซึ่งจะมีผลทำให้

ราคาของปลาทองนั้นลดลง รวมทั้งจากปัญหาระหว่างการเลี้ยงของผู้เลี้ยงเองที่พบว่า เมื่อเลี้ยงปลาได้ระยะหนึ่งสีของตัวปลาทองจะซีดลง เนื่องจากการสร้างสีบนผิวตัวปลาทองนั้น จำเป็นที่จะต้องได้รับสารสีจากการกินอาหารโดยตรง (Goodvin, 1984) แม้ว่ามีงานวิจัยกล่าวถึงการปรับปรุงสีของปลาทองสามารถทำได้โดยการเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหาร (Latscha, 1991) ซึ่งสารสีแคโรทีนอยด์ ชนิดแอสตาแซนทีน (astaxanthin) จะแสดงออกในเฉดสีของสีเหลือง ส้ม และแดง และมีคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยให้ปลาสวยงามต้านทานต่อความเครียด และความต้านทานโรคสูงขึ้น (Hunter, 2000) แม้ปัจจุบันมีรายงานการศึกษาการเสริมแคโรทีนอยด์ในอาหารสัตว์น้ำจำนวนมากในการปรับปรุงสีของสัตว์น้ำให้มีคุณภาพสูงขึ้น แต่สารนี้มีราคาแพง เพิ่มต้นทุนการผลิต หากแต่ยังมีสารสีอีกกลุ่มที่อาจช่วยในการเร่งสีสัตว์น้ำ โดยพบผลการวิจัยเกี่ยวกับการเสริมสารสีแอนโทไซยานินในอาหารสัตว์น้ำ เช่นงานของ บุญยนุช (2561) ทดลองเร่งสีปลากัดจีนโดยใช้สารสกัดแอนโทไซยานินในข้าวเหนียวดำ พบว่าความเข้มสีของปลากัดจีนที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์น้ำโปรตีน 40% ผสมข้าวเหนียวดำ 12% มีความเข้มของสีสุดท้ายเพิ่มขึ้นและเปอร์เซ็นต์ความเข้มของสีที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น ส่วน สรายุทธ และคณะ (2563) ใช้ผงมังเคร่เป็นแหล่งของแอนโทไซยานินผสมในอาการเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยสัดส่วนร้อยละ 5 ของน้ำหนักอาหารกุ้งทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า เซลล์โครมาโทฟอร์จากผิวหนังใต้แผ่นปิดเหงือกของกุ้งทดลองแผ่ขยายชัดเจน ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม และความว่องไวของเอนไซม์ phenol oxidase, SOD, CAT และ GPXs สูงกว่าชุดควบคุม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$ ดังนั้นจากการทดลองนี้ สรุปได้ว่า ผลมังเคร่สุกเป็นแหล่งของสารสีแอนโทไซยานินที่มีศักยภาพในด้านสารต้านอนุมูลอิสระและช่วยเสริมสุขภาพของกุ้งได้ แม้ว่าสารสีกลุ่มแอนโทไซยานินยังมีการศึกษากันน้อย แต่สารชนิดนี้สามารถออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive) มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี เป็นรงควัตถุธรรมชาติในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ละลายน้ำได้ดีและไม่มีรายงานความเป็นพิษ มีการใช้ประโยชน์เป็นยาพื้นบ้าน (See *et al*., 2011) และสารสีแอนโทไซยานินสามารถสะสมในเซลล์เม็ดสีได้เช่นเดียวกับสารสีแคโรทีนอยด์ โดยพรรณรัตน์ (2558) และ จักรพันธ์ (2559) พบว่าสารสีแอนโทไซยานิน สามารถสะสมเพิ่มขึ้นในส่วนต่างๆ ของสัตว์น้ำ เช่น ดวงตา ผิวหนัง ตับ ฯ นอกจากนี้ Villasante *et al*. (2015) พบว่าสารสีแอนโทไซยานินจากข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงให้ผลในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเนื้อปลาได้ดี

การวิจัยครั้งนี้ คณะผู้วิจัยให้ความสนใจในประเด็นของการใช้ประโยชน์จากข้าวพื้นเมือง ที่เป็นข้าวกลุ่มมีสีได้แก่ ข้าวเหนียวดำ ข้าวเหนียวแดง ข้าวเหนียวดำช่อใบ ข้าวสังข์หยด และข้าวเบายอดม่วงฯ ใช้การสกัดจากส่วนแกลบและต้นแก่หลังการเก็บเกี่ยว โดยวิเคราะห์ปริมาณสารสีรวมสูงสุดและคัดเลือกชุดสกัดที่ดีที่สุด มาใช้ผสมในอาหารเร่งสีปลาทอง เพื่อศึกษาการสะสมสารสีแอนโทไซยานินในเซลล์เม็ดสี และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ตลอดจนระบบเลือด การเจริญเติบโต

อัตราการรอดตายของปลาทอง ที่ได้รับสารสีแอนโทไซยานินจากสารสกัดของส่วนวัสดุเศษเหลือในข้าวพื้นเมืองที่มีศักยภาพของจังหวัดตรัง รวมทั้งการวิเคราะห์ต้นทุนการผลิตคาดว่าจะเป็นการปรับปรุงคุณภาพผลผลิต และเป็นการเพิ่มมูลค่าปลาทองเพื่อการส่งออกได้เป็นอย่างดี หวังผลว่าจะสามารถช่วยเพิ่มอัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอด เพิ่มประสิทธิภาพอัตราการแลกเนื้อ เพิ่มภูมิคุ้มกัน และการเพิ่มสีแก่ปลาทอง และอาจใช้ทดแทนสารสีคาโรทีนอยด์ หรือสารสังเคราะห์ในการเพิ่มสีสันสัตว์น้ำในเชิงพาณิชย์ต่อไป

หลักการ แนวคิด ทฤษฎี หรือสมมุติฐาน

แนวคิด

ปัจจุบันมีการผลิตสารเร่งสีจากสารสกัดพืชธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น เพราะมีความปลอดภัย และราคาถูกว่าการนำเข้าสารสังเคราะห์ เพราะในอุตสาหกรรมการเพาะเลี้ยงปลาสวยงาม มีการผลิตอาหารที่จำเป็นต้องใส่สารเร่งสีเพื่อใช้ประโยชน์ในการเลี้ยงปลาสวยงามให้ลำตัวปลามีสีสันสวยงามตลอดระยะเวลาการเลี้ยง โดยเฉพาะปลาทอง เป็นปลาสวยงามที่นิยมเลี้ยงทั่วไป ปัญหาประการหนึ่งในการเพาะเลี้ยงปลาทอง ซึ่งจะมีผลต่อราคาซื้อขายของปลาทอง ได้แก่ ปัญหาระหว่างการเลี้ยงปลาทองได้ระยะหนึ่งสีของปลาทองจะซีดลง เนื่องจากสีที่แสดงออกบนตัวปลาทองเป็นสารสีที่ปลาทองไม่สามารถที่จะสังเคราะห์ได้เอง จำเป็นที่จะต้องได้รับจากอาหารโดยตรง (Goodwin, 1984) ซึ่งได้แก่ สารสีกลุ่มคาโรทีนอยด์ เมื่อหาแหล่งสารสีราคาถูกที่สามารถนำมาสกัด และผสมในอาหารเลี้ยงปลาสวยงาม ก็น่าจะช่วยให้ปลามีเจริญเติบโตดี อัตราการรอดสูง มีภูมิคุ้มกันต่อโรคสูง และช่วยในการเร่งสีในปลาสวยงามได้แม้ว่าจะมีรายงานของสารเร่งสีเป็นกลุ่มแคโรทีนอยด์ แต่มีบางรายงานกล่าวถึงการใช้สารสีกลุ่มแอนโทไซยานินเพื่อเพิ่มสีลำตัวปลา และกุ้งแชบ๊วย คณะผู้วิจัยมีแนวความคิดในการที่จะนำวัสดุเศษเหลือจากากรเพาะปลูกและแปรรูปข้าว ได้แก่ ซังข้าว แกลบและรำข้าวในกลุ่มข้าวมีสีที่นิยมปลูกในจังหวัดตรัง ได้แก่ข้าวเหนี่ยวช่อใบใผ่ ข้าวเหนี่ยวดำ ข้าวเหนียวแดง ข้าวสังข์หยด และข้าวเบายอดม่วงฯ มาใช้ประโยชน์ในการสกัดสารสี ซึ่งเคยมีรายงานเกี่ยวกับสารสีที่พบในข้าวได้แก่ สารสีแอนโทไซยานิน สารเบต้าแคโรทีน และคลอโรฟิลล์ โดยเลือกใช้ปลาทอง ซึ่งเป็นปลาสวยงามที่มีความสำคัญในวงการเพาะเลี้ยงปลาสวยงามชนิดหนึ่ง ด้วยข้อเด่นก้านสีสันสวยงาม และรูปร่างที่ได้มาตรฐานจะมีราคาสูง เป็นที่ต้องการของตลาดทั้งใน และต่างประเทศ การวิจัยในครั้งนี้จึงมีเป้าหมายในการคัดเลือดสารสกัดสารสีที่มีปริมาณเหมาะสมและสูงที่สุดจากกลุ่มข้าวที่กล่าวมา ทำการคัดเลือกมาเพียง 1 ชนิด เพื่อนำมาใช้เป็นสารเร่งสีผสมในอาหารเลี้ยงปลาทอง โดยต้องการหาระดับของการผสมสารสกัดจากวัสดุเศษเหลือของข้าวเป็นสารเร่งสีในอาหารเม็ดสำเร็จรูปเลี้ยงปลาทองที่เหมาะสม และดีที่สุดต่อการเจริญเติบโต อัตราการรอดตายของปลา ระดับสีและองค์ประกอบอื่นๆ ที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้การเกิดสีสันที่เข้มสดใสขึ้น ช่วยสร้างศักยภาพให้สามารถแข่งขันทางด้าน

การตลาดของปลาสวยงาม จะทำให้ผลจากการวิจัยนี้จะสามารถตอบคำถามของสมมุติฐานดังกล่าวได้ ทั้งนี้เพื่อประโยชน์ในการประยุกต์ใช้สารเร่งสีที่สกัดได้จากส่วนต่างๆ ของข้าวพื้นเมืองในสัตว์น้ำสวยงามต่อไป

ทฤษฎี และสมมติฐานงานวิจัย

ข้าวพื้นเมืองและสารอาหาร

ข้าวพันธุ์พื้นเมือง เป็นพันธุ์ข้าวที่ใช้ปลูกกันมาแต่ดั้งเดิม และนิยมบริโภคหรือใช้ประโยชน์ในท้องถิ่นกันอย่างแพร่หลาย ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีลักษณะเด่นหลายประการ รวมถึงความสามารถในการปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมในพื้นที่ที่เพาะปลูกได้ดี ในปัจจุบันข้าวพันธุ์พื้นเมืองกำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก ในแง่ของการนำมาใช้เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ เภสัชกรรม เครื่องสำอาง และอุตสาหกรรมการแปรรูป ซึ่งเป็นแนวทางที่จะช่วยเพิ่มมูลค่าของข้าวและสร้างรายได้ให้กับเกษตรกร (สมทรง และคณะ, 2557) ข้าวสายพันธุ์พื้นเมืองในแต่ละพันธุ์มีความแตกต่างกัน ทั้งในลักษณะทางสัณฐานวิทยา ลักษณะทางการเกษตร และองค์ประกอบทางโภชนาการที่สำคัญต่อร่างกาย จากการศึกษาทางเคมีของเมล็ดข้าว พบว่าข้าวกล้อง ประกอบด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์ เช่น คาร์โบไฮเดรต ซึ่งเป็นส่วนประกอบหลัก โปรตีน วิตามิน และไขมัน รวมถึงแร่ธาตุต่าง ๆ ในเมล็ดข้าวที่สำคัญ ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ซีลีเนียม และทองแดง ในพื้นที่ภาคใต้ที่สภาพภูมิประเทศส่วนใหญ่เป็นที่ราบและทิวเขา กรมการข้าวมีนโยบายส่งเสริมให้เกษตรกรในพื้นที่ภาคใต้หันมาปลูกข้าวพื้นเมืองเพิ่มขึ้นเพื่อการบริโภคในครัวเรือนอย่างเพียงพอตลอดทั้งปีเป็นการลดค่าใช้จ่ายในการซื้อข้าว ซึ่งในอดีตพันธุ์ข้าวพื้นเมืองในภาคใต้มีกว่า 130 พันธุ์ ซึ่งกรมการข้าวได้รับรองพันธุ์แล้วมี 12 พันธุ์ พันธุ์ที่นิยมปลูก ได้แก่ ข้าวพันธุ์กู้เมืองหลวง เป็นข้าวเจ้า ผลผลิตเฉลี่ย 240 กก./ไร่ พันธุ์ดอกพะยอม เป็นข้าวเจ้า ผลผลิตเฉลี่ย 250 กก./ไร่ พันธุ์ช่อลุง 97 เป็นข้าวเจ้าผลผลิตเฉลี่ย 564 กก./ไร่ พันธุ์เหนียวดำช่อไม้ไผ่ 49 เป็นข้าวเหนียวผลผลิตเฉลี่ย 363 กก./ไร่ (กรุงเทพธุรกิจ, 2556)

ข้าวที่มีรงควัตถุสารสีเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย เนื่องจากผู้บริโภคสมัยใหม่ใส่ใจในสุขภาพกันมากขึ้น ซึ่งข้าวกลุ่มมีสี มีทั้งชนิดกลุ่มข้าวสีม่วง เช่น ข้าวหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี ฯ กลุ่มข้าวสีแดงได้แก่ ข้าวสังข์หยด ข้าวเบายอดม่วง ข้าวดอกข่าฯ ข้าวเหล่านี้เมื่อสีเป็นข้าวกล้อง แล้วนำมาหุงจะพบว่ามีข้อด้อยด้านเนื้อสัมผัสที่แข็งกว่าข้าวขัดขาว ข้าวกลุ่มมีสีแต่ละชนิดหากพิจารณาตั้งแต่ลักษณะต้นข้าว เปลือกข้าว จะพบว่าลำต้นและเปลือกข้าวบางชนิดมีสีคล้ายไปในทำนองเดียวกับเมล็ดข้าว ซึ่งในการสีข้าวจะมีเศษเหลือคือแกลบที่นำมาใช้ประโยชน์ได้บ้าง แต่หากสามารถสกัดสาระสำคัญในต้นข้าวหลังการเก็บเกี่ยว และเปลือกข้าวหรือแกลบ อาจได้สารสีกลุ่มที่ใช้ประโยชน์ ซึ่งจะเพิ่มมูลค่าของเหลือทิ้งได้อีกทางหนึ่ง เป็นการพัฒนาการใช้ประโยชน์จากข้าวกลุ่มมีสี

ให้มากยิ่งขึ้น แม้แต่บางครั้ง การสีข้าวกล้องและข้าวขัดสี จะมีรำข้าวที่หลุดออกมาพร้อมกับแกลบ แต่เป็นแหล่งสารสีที่เรียกว่า แอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งสารให้สี มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถนำมาสกัดและใช้ประโยชน์ได้ โดย Hou, Qin, Zhang, Cui, & Ren (2013) ทำการสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวดำในส่วนต่างๆ คือ ข้าวทั้งเมล็ด คัพภะ และรำข้าว พบว่า ส่วนของรำข้าวมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด คือ 7.07 มิลลิกรัมต่อข้าว 1 กรัม และ Abdel-Aal, & Hucl (1999) สารสีในข้าวกล้อง เกิดจากรงควัตถุที่ผ่านกระบวนการทางชีวเคมีภายในเมล็ดของข้าวมีสี ซึ่งแบ่งเป็น 3 กลุ่ม ได้แก่ สีน้ำตาล สีแดง และสีม่วงดำ โดยข้าวสีม่วงดำจะพบสารสีแอนโทไซยานินสูงที่สุด สารชนิดนี้สร้างขึ้นมาเพื่อป้องกันแสงอัลตราไวโอเลตในการเข้าไปสลายสารอาหารที่อยู่ในเมล็ดข้าว ซึ่งข้าวพันธุ์ไรซ์เบอร์รี ยังพบว่ามีการสะสมสารเบต้า-แคโรทีน ลูทีน ส่วนปริมาณสารโพลีฟีนอลแทนนิน และคาเทชินมีมากกว่าข้าวกล้องทั่วไป 3-10 เท่า (อภิชาต, 2561ก) ทั้งยังพบว่าข้าวสีดำมีสารแอนโทไซยานินสูง ต่างจากข้าวสีแดงที่จะพบสารโปรแอนโทไซยานิดินแทน สารทั้ง 2 ชนิดนี้มีหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะข้าวสีแดงที่มีโปรแอนโทไซยานินสูงจะสามารถกำจัดเซลล์มะเร็งเต้านมได้ดี (พรงาม, 2561) มีรายงานวิจัยจากสำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร พบสารไฟโทเคมีอยู่ในข้าวที่มีสีปริมาณสูง โดยไฟโทเคมีประกอบไปด้วยสารไซยานิดิน กลูโคไซด์ สารประกอบฟินอลิก เบต้า-แคโรทีน ลูทีน วิตามินอี และแกมมาออไรซานอล โดยสารเหล่านี้มีฤทธิ์ช่วยต้านสารอนุมูลอิสระ ชะลอความแก่ เสริมสร้างคอลลาเจน จึงนำไปสู่การสกัดสารสกัดจากข้าวมีสี ได้แก่ ข้าวก่ำและข้าวมะลิแดง ใส่ในผลิตภัณฑ์ประทินผิว ก่อให้เกิดการเพิ่มมูลค่าราคาข้าให้สูงขึ้น (บังอร, 2561)

สมทรง และคณะ (2560) รายงานคุณค่าและการใช้ประโยชน์ทรัพยากรพันธุกรรมข้าว พบว่าคุณค่าทางโภชนาการ จากผลการวิเคราะห์ข้าว 100 พันธุ์ มีปริมาณสารสีแอนโทไซยานิน อยู่ในช่วงระหว่าง 0.64-19.80 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม พันธุ์ข้าวที่มีสารแอนโทไซยานินสูง (12.60-19.80 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) เช่น ข้าวสังข์หยด(G.S. No.7000) ข้าวสังข์หยดพัทลุง ข้าวเหนียวดำช่อใบใผ่ ข้าวลืมผัว ข้าวช่อปลีขาว (G.S. No.9742) สารต้านอนุมูลอิสระโดยรวม พบในปริมาณ 14.35-474.82 โดยมีข้าวสายพันธุ์ที่มีสารต้านอนุมูลอิสระสูง (298.9-474.8) เช่น ข้าวช่อปลีขาว (G.S. No.9742) สังข์หยด(G.S. No.7000) มะลิโกเมน หอมกระดังงา เป็นต้น ซึ่งข้าวเหล่านี้สามารถนำมาพัฒนาเพื่อใช้ประโยชน์ทางชีวภาพได้หลากหลาย

นฤศันส์ (2541) ศึกษาองค์ประกอบที่สำคัญและมีอยู่มากในเมล็ดข้าว ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต ซึ่งถูกสะสมอยู่ในรูปสตาร์ชและน้ำตาล รวมทั้งเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพนโตแซนซึ่งอยู่ในส่วนเยื่อใย ในการขัดสีข้าวจะพบส่วนประกอบเหล่านี้มากในข้าวกล้อง ข้าวสาร รำหยาบ และรำละเอียด โดยเฉพาะในข้าวสารจะมีส่วนที่เป็นสตาร์ช อยู่ร้อยละ 90.2 โปรตีนเป็นสารอาหารที่มีพบมากในส่วนเอมบริโอประมาณร้อยละ 19-27 ของน้ำหนักเอมบริโอ โปรตีนที่พบมี 4 ชนิด คือ กลูเตลิน อัลบูมิน

โกลบูลิน และโพรลามิน ซึ่งโปรตีนที่สะสมในเมล็ดข้าว ประกอบด้วย กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายหลายชนิดโดยเฉพาะกรดอะมิโนลิวซีนมีค่าสูงที่สุด ไขมันส่วนใหญ่ ประกอบด้วยกรดไขมันชนิด กรดปาล์มมิติก กรดโอเลอิก และกรดลิโนเลอิก พบมากในเอมบริโอ รำหยาบ และรำละเอียด ส่วนวิตามินจะพบมากในส่วนรำหยาบและรำละเอียด ซึ่งเป็นแหล่งสำคัญของวิตามินบี1 บี2 และไนอาซิน ขณะที่เกลือแร่ พบมากที่สุดในส่วนของแกลบ รองลงมาคือ รำหยาบ คัพภะ และรำละเอียด แร่ธาตุที่พบมากได้แก่ ฟอสฟอรัส โปตัสเซียม แมกนีเซียม ซิลิกอน และแคลเซียม

Renuka *et al*., (2015) ศึกษาปริมาณแร่ธาตุบางชนิดและ เบต้า-แคโรทีน ในข้าวหอมสายพันธุ์อินดิกา พบว่าข้าวหอมสายพันธุ์อินดิกา เป็นพันธุ์ข้าวที่มีส่วนประกอบของแร่ธาตุหลายชนิด ได้แก่ ธาตุเหล็ก สังกะสี แคลเซียม แมกนีเซียม ทองแดง และเบต้า-แคโรทีน ในส่วนของข้าวกล้องจะมีปริมาณของสารอาหารพวก β-แคโรทีน มากถึง 1.23-9.9 ไมโครกรัมต่อกรัม และ ปริมาณ 0.08-1.99 ไมโครกรัมต่อกรัม อยู่ในน้ำนมข้าว ส่วนจำนวนแร่ธาตุทั้งหมดที่กล่าวมานั้น แมกนีเซียมเป็นแร่ธาตุที่พบมากที่สุด เท่ากับ 855 ไมโครกรัมต่อกรัม หรืออาจมีปริมาณมากสูงสุดถึง 1636 ไมโครกรัมต่อกรัม รองลงมาคือ ธาตุเหล็ก 32-218 ไมโครกรัมต่อกรัม ทองแดง 2-1,004 ไมโครกรัมต่อกรัม สังกะสี 25-165 ไมโครกรัมต่อกรัม และแคลเซียม 14-67 ไมโครกรัมต่อกรัม จากผลการศึกษา พบว่าข้าวหอมสายพันธุ์อินดิกามีสารอาหารหลายอย่างที่มีประโยชน์

สุภาภรณ์ และชนากานต์ (2559) ศึกษาความแปรปรวนของปริมาณแอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวเหนียวก่ำพันธุ์พื้นเมืองของไทย โดยข้าวเหนียวดำหรือข้าวเหนียวก่ำ อุดมไปด้วยสารสำคัญที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีสารรงควัตถุให้สีคือแอน โทไซยานินที่อยู่บริเวณเยื่อหุ้มเมล็ด ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ จากการทดลองประเมินความแปรปรวนของผลผลิต ปริมาณแอนโทไซยานินและ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ในข้าวเหนียวก่ำพันธุ์พื้นเมือง 19 พันธุ์ พบว่า มีความแตกต่างของผลผลิต แอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ระหว่างข้าวเหนียวก่ำทั้ง 19 พันธุ์ โดยปริมาณแอนโทไซยานินมีค่าอยู่ในช่วง 9.73 - 54.68 มิลลิกรัม/100 กรัม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าอยู่ในช่วง 251.76 - 709.38 มิลลิกรัม Trolox/100 กรัม และ 2304.6 - 6247.0 ไมโครโมล Fe(II)/100 กรัม วัดโดยวิธี DPPH และ FRAP ตามลำดับ โดยพบว่า พันธุ์ก่ำ 7677 เป็นพันธุ์ที่มีสารแอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง ผลการทดลองนี้ใช้เป็นฐานข้อมูลสำหรับการศึกษากลไกการสะสมสารแอนโทไซยานิน และความไม่สอดคล้องกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่พบในข้าวเหนียวก่ำ ทั้ง 19 สายพันธุ์ เพื่อนำไปใช้ในการปรับปรุงพันธุ์ให้มีปริมาณแอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงต่อไป

สุภาพร (2562) ศึกษาเสถียรภาพของสารสกัดแอนโทไซยานินจากสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี (RRBE) สาร สกัดแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีที่ห่อหุ้มด้วยมอลโทเด็กซ์ทริน (RRBE กับ MD)

และสารสกัดแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีที่ห่อหุ้มด้วยโปรตีนรำข้าวเข้มข้นผสมมอลโทเด็กซ์ทรินที่อัตราส่วน 80 ต่อ 20 โดยน้ำหนัก (RRBE กับ RBPc:MD) ภายใต้สภาวะของค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และความร้อนที่แตกต่างกัน พบว่า ค่า pH มีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานินในทุกตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดย pH ที่แอนโทไซยานินมีความคงตัวคือค่า pH เท่ากับ 1 และ 4 ส่วนอุณหภูมิหรือความร้อน ก็มีผลต่อความคงตัวของแอนโทไซยานิน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) พบว่าอุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส มีผลทำให้แอนโทไซยานินสลายตัวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยแอนโทไซยานินที่ไม่ห่อหุ้มมีความคงตัวน้อยกว่าตัวอย่างอื่น ผลการวิจัยชี้ให้เห็นว่าการห่อหุ้มสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีด้วยโปรตีนรำข้าวเข้มข้นและมอลโทเด็กซ์ทริน ช่วยลดการสูญเสียของแอนโทไซยานิน จากผลของค่า pH และความร้อนได้

ผลของสารสีจากธรรมชาติในอาหารต่อการเร่งสีปลาทอง

ปัญหาประการหนึ่งในการเพาะเลี้ยงปลาทอง ซึ่งจะมีผลต่อราคาซื้อขายของปลาทอง ได้แก่ ปัญหาระหว่างการเลี้ยงปลาทองได้ระยะหนึ่งสีของปลาทองจะซีดลง เนื่องจากสีที่แสดงออกบนตัวปลาทองเป็นสารสีที่ปลาทองไม่สามารถที่จะสังเคราะห์ได้เอง จำเป็นที่จะต้องได้รับจากอาหารโดยตรง (Goodwin, 1984) จากการทดลองของ Gouveia et al., (2003) พบว่าเปอร์เซ็นต์น้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) และประสิทธิภาพการใช้อาหาร (PER) ของปลาทองที่ได้รับอาหารทดลองเสริมแคโรทีนอยด์แต่ละชนิด ได้แก่ สาหร่ายคลอเรลลา ฮีมาโตคอกคัส สไปรูไลนา และแอสต้าแซนทินสังเคราะห์ ที่ความเข้มข้น 80 มก. ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม และที่ไม่เสริมแคโรทีนอยด์ ไม่มีความแตกต่างกัน แต่มีผลต่อการเกิดสีที่บริเวณผิวหนังปลาทองพบว่า ปลาทองที่รับอาหารเสริมสาหร่ายฮีมาโตคอกคัส และสาหร่ายคลอเรลลา จะมีค่าสีแดง (a*) สูงสุด ขณะที่ปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสาหร่ายสไปรูไลนา และที่ได้รับอาหารเสริมแอสตาแซนทีนสังเคราะห์ มีค่าสีแดง (a*) ไม่แตกต่างกัน แสดงว่าสาหร่ายสไปรูลินาสามารถเร่งสีของปลาทองให้มีสีเหลือง และสีแดงเพิ่มมากขึ้น (Kiriratnikom *et al*., 2005)

แอสตาแซนทิน เป็นรงควัตถุในกลุ่มแซนโทฟิล ทำให้เกิดสีแดงหรือส้มในกล้ามเนื้อปลา (Steven, 1948) มีรายงานการศึกษาที่เกี่ยวข้องในการใช้แอสตาแซนทิน เพื่อปรับปรุงคุณภาพสัตว์น้ำ เช่น จากการศึกษาของ ทวี และคณะ (2550) รายงานว่าแอสตาแซนทินที่ระดับ 100 และ 150 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ทำให้ปลาหมอทะเลมีค่าสีเหลืองเฉลี่ยบริเวณครีบ ลำตัวและจุดบนลำตัวมากกว่าปลาที่ได้รับอาหารมีระดับแอสตาแซนทินในอาหาร 0 และ 50 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม และการเจริญเติบโตในทุกชุดการทดลองไม่ แตกต่างกัน อมรรัตน์ และบุษกร (2543) รายงานว่าการเลือกใช้แคโรทีนอยด์ในอาหารเพื่อเร่งสีปลานั้น ต้อง พิจารณาถึงอายุ ชนิดของสัตว์น้ำ อุณหภูมิและสภาพแวดล้อม รวมถึงปริมาณไขมันในอาหาร จากข้อมูลการศึกษาวิจัยที่ผ่านมา เห็นได้ว่า ปลาต่าง

ชนิดให้ผลการใช้สาหร่ายสไปรูลิน่าและแอสตาแซนทินในระดับที่เหมาะสมแตกต่างกัน โดยอรุณี และคณะ (2562) ศึกษาผลของสาหร่ายสไปรูลิน่าและแอสตาแซนทินต่อสีและการเจริญเติบโตของปลาหมอสีครอสบรีด ในเดือนพฤษภาคม -กรกฎาคม2558 แบ่งเป็น 2 การทดลอง คือ การทดลองที่ 1 ศึกษาผลของสาหร่ายสไปรูลิน่าต่อสีผิวและการเจริญเติบโตของปลาหมอสีครอสบรีด มี 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม), 2, 3 และ 4 ผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 0, 10, 20 และ 30 กรัม/อาหาร 100 กรัม ตามลำดับ การทดลองที่ 2 ศึกษาผลของแอสตาแซนทินต่อสีและการเจริญเติบโตของปลาหมอสีครอสบรีด มี 4 ชุดการทดลอง คือ ชุดการทดลองที่ 1 (ชุดควบคุม), 2, 3 และ 4 ผสม แอสตาแซนทิน 0, 50, 100 และ 150 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ตามลำดับ เลี้ยงปลาเป็นระยะเวลา 8 สัปดาห์ ผลการศึกษา พบว่าการทดลองที่ 1 พบสีผิวของปลาที่ได้รับอาหารที่สาหร่ายสไปรูลิน่าให้ค่าความเข้มสีแดงและเหลืองมากกว่าชุดควบคุม ($p<0.05$) และปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมสาหร่ายสไปรูลิน่า 10 กรัม/อาหาร 100 กรัม ให้ ค่าการเจริญเติบโตสูงกว่าชุดการทดลองอื่น ($p<0.05$) เมื่อปลาหยุดกินอาหารที่มีสาหร่ายสไปรูลิน่าชุดการทดลองที่ 2, 3 และ 4 มีค่าความเข้มสีแดงและเหลืองลดลง แต่ยังคงมีค่ามากกว่าชุดควบคุม ($p<0.05$) ผลการทดลองที่ 2 พบว่าสีผิวของปลาที่ได้รับอาหารที่ผสมแอสตาแซนทินในชุดการทดลองที่ 4 ให้ค่าความเข้มสีแดงมากกว่าชุดการทดลองที่ 1 และ 2 ($p<0.05$)แต่ชุดการทดลองที่ 4 และ 3 มีค่าไม่แตกต่างกัน ($p>0.05$) และปลาในทุกชุดการทดลองที่ผสมแอสตาแซนทินมีค่าการเจริญเติบโตมากกว่าชุดควบคุม ($p<0.05$) เมื่อปลาหยุดกินอาหารที่ผสมแอสตาแซนทินพบว่า ทุกชุดการทดลองค่าความเข้มสีแดงลดลง แต่ยังคงให้ค่าความเข้มสีแดงมากกว่าชุดการทดลองควบคุม สรุปได้ว่าการใช้สาหร่ายสไปรูลิน่า 10 กรัม/อาหาร 100 กรัม และการใช้แอสตาแซนทิน ระดับ 100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม เป็นระดับที่เหมาะสมในการปรับปรุงสีและการเจริญเติบโตของปลาหมอสี

บุญยนุช (2561) ทดลองเร่งสีปลากัดจีนโดยใช้สารสกัดแอนโทไซยานินในข้าวเหนียวดำ พบว่าความเข้มสีของปลากัดจีนที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์น้ำโปรตีน 40% ผสมข้าวเหนียวดำ 12% มีความเข้มของสีสุดท้ายเพิ่มขึ้นและเปอร์เซ็นต์ความเข้มของสีที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับชุดการทดลองอื่น

สรายุทธ และคณะ (2563) ใช้ผงมังเคร่เป็นแหล่งของแอนโทไซยานินผสมในอาการเลี้ยงกุ้งแชบ๊วยสัดส่วนร้อยละ 5 ของน้ำหนักอาหารกุ้ง ทดลองเลี้ยงเป็นเวลา 1 เดือน พบว่า เซลล์โครมาโทฟอร์จากผิวหนังใต้แผ่นปิดเหงือกของกุ้งทดลองแผ่ขยายชัดเจน เมื่อนำกุ้งไปผ่านความร้อนพบว่าสารสีม่วงน้ำเงินเกิดการสลายตัวจนเกือบหมด ปริมาณเซลล์เม็ดเลือดรวม และความว่องไวของเอนไซม์ phenol oxidase, SOD, CAT และ GPXs สูงกว่าชุดควบคุม แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$ ดังนั้นจากการทดลองนี้ สรุปได้ว่า ผลมังเคร่สุกเป็นแหล่งของสารสีแอนโทไซยานิที่มีศักยภาพในด้านสารต้านอนุมูลอิสระ และช่วยเสริมสุขภาพของกุ้งได้ แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระที่

ถูกนำมาใช้ในสัตว์น้ำ จะเน้นไปที่สารสกัดธรรมชาติกลุ่ม โพลีฟีนอล ได้แก่ กลุ่มสารสีต่างๆ เช่น สารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ สารสีกลุ่มแอนโทไซยานิน ฯ แต่สารสีกลุ่มแอนโทไซยานิน ยังมีการศึกษาน้อยกว่า โดยสารแอนโทไซยานินเป็นสารสีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive) มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดี มีรายงานวิจัยมากมายกล่าวถึงประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดแอนโทไซยานิน โดยเฉพาะในพืชและผลไม้ไทยหลายชนิด แต่ยังมีการศึกษาการใช้ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งจากกลุ่มข้าวที่มีสี ซึ่งมีสารสีแอนโทไซยานินอยู่น้อย เนื่องจากสารสีนี้เป็นรงควัตถุธรรมชาติในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ละลายน้ำได้ดีและไม่มีรายงานความเป็นพิษ มีการใช้ประโยชน์เป็นยาพื้นบ้าน (See *et al*., 2011) โดยสารสีแอนโทไซยานินสามารถสะสมในเซลล์เม็ดสีได้เช่นเดียวกับสารสีแคโรทีนอยด์ พรรณรัตน์ (2558) และ จักรพันธ์ (2559) พบว่า สารสีแอนโทไซยานิน สามารถสะสมเพิ่มขึ้นในส่วนต่างๆ ของสัตว์น้ำ เช่น ดวงตา ผิวหนัง ตับ ฯ นอกจากนี้ Villasante *et al*. (2015) พบว่าสารสีแอนโทไซยานินจากข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงให้ผลในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเนื้อปลาได้ดี

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาปริมาณของสารสีแอนโทไซยานินในวัสดุเศษเหลือ 3 ส่วน คือแกลบ รำขัด และซังข้าวจากข้าวพื้นเมืองที่นิยมปลูกของท้องถิ่นในจังหวัดตรัง
2. เพื่อเปรียบเทียบวิธีการสกัดที่เหมาะสมต่อปริมาณของสารสีแอนโทไซยานินจากวัสดุเศษเหลือในข้าวพื้นเมืองที่นิยมปลูกของท้องถิ่นในจังหวัดตรัง
3. เพื่อศึกษาผลของการใช้สารสีแอนโทไซยานินระดับต่างกันในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอดตาย และการปรับปรุงคุณภาพด้านสีของปลาทอง
4. เพื่อศึกษาต้นทุน และผลตอบแทนของการเลี้ยงปลาทองด้วยอาหารผสมสารสีแอนโทไซยานิน

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบปริมาณของสารสีแอนโทไซยานินในวัสดุเศษเหลือ 3 ส่วน คือแกลบ รำขัด และซังข้าวจากข้าวที่นิยมปลูกในท้องถิ่นของจังหวัดตรัง
2. ได้วิธีการสกัดที่เหมาะสมต่อปริมาณของสารสีแอนโทไซยานินจากวัสดุเศษเหลือในข้าวที่นิยมปลูกในท้องถิ่นของจังหวัดตรัง
3. ทราบผลของการใช้สารสีแอนโทไซยานินระดับต่างกันในอาหารต่อการเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ อัตราการรอดตาย และการปรับปรุงคุณภาพด้านสีของปลาทอง
4. ทราบต้นทุน และผลตอบแทนของการเลี้ยงปลาทองด้วยอาหารผสมสารสีแอนโทไซยานิน

5. ได้แนวทางในการผลิตอาหารผสมสารสีแอนโทไซยานิน สำหรับการเร่งสีในปลาสวยงาม นำไปสู่การวางแนวทางการใช้ประโยชน์เชิงพาณิชย์ต่อไป

6. เพิ่มมูลค่าวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรให้มีศักยภาพ นำไปพัฒนาเศรษฐกิจชุมชนได้

วิธีการดำเนินงานวิจัย

1. การเตรียมตัวอย่างสารสกัดจากส่วนต่างๆ ของข้าวมีสี

1.1 การเตรียมสารสกัดและการผลิตแอนโทไซยานิน

เก็บตัวอย่างกลุ่มข้าวมีสี วัสดุเศษเหลือของข้าวในแปลงนาของปีการผลิต 2564-2565 เพื่อใช้เป็นแหล่งวัตถุดิบในการสกัดสารแอนโทไซยานิน โดยข้าวที่นำมาศึกษาจำนวน 5 ชนิด ได้แก่ ข้าวเหนียวดำ ข้าวทับทิมชุมแพ ข้าวเบายอดม่วง ข้าวไรซ์เบอร์รี และ ข้าวสังข์หยด ทำการเก็บตัวอย่างซังข้าวในแปลงนาหลังการเก็บเกี่ยว เปลือกข้าว (แกลบ) และรำข้าว (ภาพผนวกที่ 1-3) เพื่อนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดสารสีแอนโทไซยานิน คัดเลือกวิธีการสกัด 2 แบบ ได้แก่ การสกัดในน้ำร้อน (ซังข้าว) และการสกัดในเอทานอลร่วมกับกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 (แกลบ กับ รำข้าว) เพื่อหาปริมาณสารสกัดที่ได้ปริมาณมากที่สุด ทำการคัดเลือกมาใช้เลี้ยงปลาทองทดลอง ดังนี้

1.1.1 การเตรียมผงสีแอนโทไซยานินจากแกลบ รำข้าว และการวัดค่าคุณภาพ

วิธีการเตรียมตัวอย่าง ทำโดยการชั่งน้ำหนักตัวอย่างของแกลบ และรำข้าว ปริมาณ 100 กรัม ใส่ในขวดสีชา และบ่มในตัวทำละลาย 0.1% กรดไฮโดรคลอริกในเอทานอล ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการสกัดต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมง จากนั้นนำสารสกัดที่ได้กรอง 2 ครั้ง ด้วยกระดาษกรอง สกัดซ้ำ 2 ครั้ง นำสารสกัดที่ได้มารวมกัน (ภาพผนวกที่ 6-7) และนำไประเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ จนได้เป็นผงสีแอนโทไซยานิน สำหรับนำไปตรวจวัดปริมาณสารสีแอนโทไซยานิน และตรวจวัดคุณภาพตามวิธีการดังนี้(ภาพผนวกที่ 4)

นำผงสีที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี L*, a* และ b* ปริมาณน้ำอิสระ (Aw) และ การละลาย (Sangeeta, et al., 2015) (ภาพผนวกที่ 10) คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ความชื้น (A.O.A.C., 2000) ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ (Worsltad, Durst and Lee, 2005) และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH และ ABTS และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำาจัดอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐานวิตามินซี (ดัดแปลงจาก Yang and Zhai, 2010) (ภาพผนวกที่ 11)

วิธีการเตรียมตัวอย่างข้าว

นำวัตถุดิบ ได้แก่ แกลบ และรำข้าว ปริมาณ 100 กรัม

↓

บ่มในตัวทำละลาย 0.1% HCl ในเอทานอล ปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

↓

ปิดฝาให้สนิท เก็บไว้ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการสกัดต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 2, 4 และ 6 ชั่วโมง

↓

นำสารสกัดที่ได้กรอง 2 ครั้ง ด้วยกระดาษกรอง สกัดซ้ำ 2 ครั้ง

↓

นำสารสกัดที่ได้มารวมกัน และนำไประเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ

1.1.2 การเตรียมผงสีแอนโทไซยานิน จากซังข้าว และการวัดค่าคุณภาพ

ทำการสกัดซังข้าว โดยใช้อัตราส่วนซัง : น้ำ เท่ากับ 1: 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในอ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที อุณหภูมิ 87.5±1 องศาเซลเซียส ใช้เวลาในการสกัดต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 1, 2 และ 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา นำมากรองสารสกัดออกจากซัง โดยใช้เครื่องบีบอัด (Suravanichnirachorn *et al.,* 2012) (ภาพผนวกที่ 5) ระเหยน้ำออกจากสารสกัดในระบบปิดภายใต้สภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนมีปริมาณของแข็งทั้งหมดประมาณร้อยละ 5 นำสารสกัดเข้มข้นระเหยให้แห้ง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนได้ผงสีจากซังข้าว

นำผงสีที่ได้มาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ได้แก่ ค่าสี L*, a* และ b* ปริมาณน้ำอิสระ (Aw) และ การละลาย (Sangeeta, et al., 2015) (ภาพผนวกที่ 10) คุณภาพทางเคมี ได้แก่ ความชื้น (A.O.A.C., 2000) ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ (Worsltad, Durst and Lee, 2005) และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH และ ABTS และเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการกำาจัดอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐานวิตามินซี (ดัดแปลงจาก Yang and Zhai, 2010) (ภาพผนวกที่ 11)

การเตรียมผงสีแอนโทไซยานินจากซังข้าว

สกัดซังข้าว โดยใช้อัตราส่วนซัง : น้ำ เท่ากับ 1: 10 (น้ำหนัก/ปริมาตร)

↓

บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าที่ความเร็ว 120 รอบ/นาที อุณหภูมิ 87.5±1°C

↓

ใช้เวลาในการสกัดต่างกัน 3 ระดับ ได้แก่ 1, 2 และ 3 ชั่วโมง

↓

นำทุกตัวอย่างมาบีบสารสกัดออกจากซังโดยใช้เครื่องบีบอัด (Suravanichnirachorn *et al.,* 2012) ระเหยน้ำออกจากสารสกัดในระบบปิดภายใต้สภาวะสุญญากาศ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

จนมีปริมาณของแข็งทั้งหมดประมาณร้อยละ 5

↓

นำสารสกัดเข้มข้นเข้าเครื่องทำแห้งแบบเยือกแข็ง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง จนได้ผงสีจากซังข้าว

1.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสีแอนโทไซยานินทั้งหมด ใช้วิธีการต่างกัน 2 แบบ ได้แก่

1.2.1 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (total anthocyanin content) ดัดแปลงตามวิธีการ จากงานวิจัยของ Worsltad, Durst and Lee, (2005)

ตรวจสอบปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยวิธี pH differential ทำโดยปรับระดับความเจือจางของตัวอย่างในสารละลายบัพเฟอร์ของโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ที่ pH เท่ากับ 1.0 และสารละลายบัพเฟอร์ของโซเดียมอะซิเตท ความเข้มข้น 0.40 โมลาร์ ที่ pH เท่ากับ 4.50 จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รายงานผลในรูปของ monomeric anthocyanins pigment (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ตัวอย่าง) (ภาพผนวกที่ 9)

1.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (total anthocyanin content) ดัดแปลงตามวิธีการ Abdel-Aal and Hucl, (1999) โดยชั่งสารสกัด ปริมาณ 1 กรัม เจือจางด้วย 1N กรดไฮโดรคลอริก ใน 85% เมทานอล ให้ได้ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำมาเขย่าให้เข้ากัน และกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้น นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ ที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร เพื่อหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (ภาพผนวกที่ 8) โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$C = (A / \beta) \times (vol / 1{,}000) \times MV \times (1 / \text{น้ำหนักตัวอย่าง}) \times 10^6$

กำหนด C = ความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน (mg/ml)

A = ค่า OD ของตัวอย่างที่ 535 nm

β = molar absorptivity (25,965)

vol = ปริมาตรของสารสกัดทั้งหมดที่ได้ (ml)

MV = มวลโมเลกุล (449)

ชั่งตัวอย่าง ปริมาณ 1 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่

↓

นำตัวอย่างมาเติมกรดไฮโดรคลอริก (ความเข้มข้น 1.0 N ในเมทานอล (85/15 : v/v) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ห่อหุ้มขวดรูปชมพู่ด้วยกระดาษฟอยด์

↓

คนตัวอย่างให้เข้ากัน วัด pH ด้วยกระดาษวัด pH ให้อยู่ในช่วงเท่ากับ 1

↓

นำไปเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

↓

ทำการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 วัดปริมาตรสารละลายทั้งหมดที่กรองได้

(สังเกตถ้าสารละลายมีตะกอนต้องนำไปหมุนเหวียง ที่ 3,461 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที)

↓

วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร

↓

นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานิน

นำผลวิเคราะห์ที่ได้มาเปรียบเทียบปริมาณสารสีจากสารสกัด (crude extract) คัดเลือกสารสกัดในตัวอย่างข้าวที่มีปริมาณสูงที่สุด นำมาทดลองเลี้ยงปลาทองต่อไป โดยตัวอย่างสารสีที่ได้จะนำมาเตรียมในรูปแบบสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่นำไปทำแห้ง จากนั้นเก็บรักษาในถุงอลูมิเนียมฟอยด์ทึบ เก็บในอุณหภูมิต่ำ เพื่อให้มีความคงตัวของสารสีแอนโทไซยานิน สามารถเก็บได้นานไม่น้อยกว่า 6 เดือน

การคัดเลือกสารสีแอนโทไซยานิน เพียง 1 ตัวอย่าง จากส่วนของซังข้าว แกลบ และรำข้าว คัดเลือกเฉพาะตัวอย่างที่ให้ปริมาณสารสีมากที่สุด เพื่อนำมาทดลองหาระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารสกัดที่มีส่วนของสารสีแอนโทไซยานิน เพื่อใช้ในการเร่งสีของปลาทอง ที่แปรระดับความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ คือ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

2. การวางแผนการทดลอง

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design; CRD) โดยศึกษาระดับความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ จากตัวอย่างที่คัดเลือกมา พ่นลงในอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับเลี้ยงปลาทองที่ต่างกัน 5 ระดับคือ 0, 25, 50, 75 และ 100 มิลลิกรัมตออาหาร 1 กิโลกรัม จึงมีชุดการทดลองทั้งสิ้น 5 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 อาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ไม่ผสมสารสีแอนโทไซยานิน (สูตรควบคุม)

ชุดการทดลองที่ 2 อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดหยาบ 25 มิลลิกรัมตออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 3 อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดหยาบ 50 มิลลิกรัมตออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 4 อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดหยาบ 75 มิลลิกรัมตออาหาร 1 กิโลกรัม

ชุดการทดลองที่ 5 อาหารเม็ดสำเร็จรูปผสมสารสกัดหยาบ 100 มิลลิกรัมตออาหาร 1 กิโลกรัม

3. การเตรียมอุปกรณ์การเลี้ยงปลาทดลอง

ใช้ตู้กระจกในการเลี้ยง ขนาด 50x100x50 ซม. จำนวน 15 ตู้ ทำความสะอาด เติมน้ำจืดที่สะอาด สูง 40 ซม. ซึ่งจะมีปริมาตรน้ำในตู้กระจกเท่ากับ 200 ลิตร มีการให้อากาศตลอดเวลาโดยใช้สายยาง และหัวทราย (ภาพผนวกที่ 12)

4. การเตรียมสัตว์ทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ ทำการทดลองในปลาทองอายุ 2 เดือน ขนาดประมาณ 3 - 5 เซนติเมตร ที่มีสีส้มแดงทั่วตัวให้มีระดับสีใกล้เคียงกัน โดยก่อนเริ่มทำการทดลองจะนำลูกปลามาอนุบาลในบ่อซีเมนต์ขนาด 1 x 4 x 1 เมตร ใส่น้ำ 0.8 ตัน (1 x 4 x 0.2 เมตร) ให้อาหารสมทบ (สูตรควบคุม) ที่จะใช้เลี้ยงวันละ 2 ครั้ง เพื่อให้ลูกปลาปรับสภาพก่อนเริ่มทำการทดลอง จนกระทั่งลูกปลาเคยชินกับอาหารเม็ด เป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ หลังจากนั้นสุ่มลูกปลาลงเลี้ยงในตู้ทดลอง จำนวน 30 ตัว/ตู้ ทำการชั่งหาน้ำหนักเฉลี่ยเริ่มต้นของปลาในทุกชุดการทดลอง (ภาพผนวกที่ 12)

5. การเตรียมอาหารทดลอง

อาหารที่ใช้ทดลองเป็นอาหารเม็ดสำเร็จรูปสำหรับเลี้ยงปลาขนาดเล็ก มีระดับโปรตีนไม่ต่ำกว่า 30 เปอร์เซ็นต์ ไขมันไม่ต่ำกว่า 3 เปอร์เซ็นต์ (ภาพผนวกที่ 13)

ขั้นตอนในการเตรียมอาหารทดลอง

นำสารสกัดที่อยู่ในรูปสารสกัดหยาบ (crude extract) มาละลายในเอทานอล (absolute ethanol) แปรระดับความเข้มข้นตามแผนการทดลอง นำไปสเปรย์ให้ทั่วอาหารเม็ดสำเร็จรูปทดลองที่แผ่กระจายบางๆ บนแผ่นพลาสติก ผึ่งลมให้แห้ง อาหารที่ผลิตแล้วบรรจุลงในถุงโพลีเอทธีลีน และเก็บในถุงสีดำเพื่อป้องกันแสง เก็บรักษาในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการใช้งาน

6. การทดลองและการเก็บรวบรวมข้อมูล

อาหารและการให้อาหาร

ให้อาหารทั้ง 5 ชุดการทดลองทุกวัน วันละ 2 มื้อ (เช้า – เย็น) ตลอดการทดลอง ให้จนอิ่ม โดยในครั้งแรกจะให้อาหารประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักตัว และปรับปริมาณตามการกินอาหารของปลา บันทึกข้อมูลน้ำหนักอาหารที่ให้ เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณหาอัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (feed conversion rate: FCR)

การศึกษาการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย และประสิทธิภาพการใช้อาหาร

ทำการสุ่มตัวอย่างปลาทองจากทุกชุดการทดลอง จำนวน 10 ตัว/ตู้ เพื่อชั่งน้ำหนักทุกเดือน เป็นเวลา 4 เดือน นำมาศึกษาการเจริญเติบโต (ภาพผนวกที่ 14) (ในรูปค่าเฉลี่ยของข้อมูล) และนำมาคำนวณค่า อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate: SGR, % ต่อวัน) เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain, %) และอัตรารอดตาย (survival rate, %) โดยใช้สูตรในการคำนวณดังนี้

อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) = $\frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กรัม)}}{\text{น้ำหนักปลาทั้งหมดที่เพิ่มขึ้น (กรัม)}}$

น้ำหนักปลาทั้งหมดที่เพิ่มขึ้น = น้ำหนักปลาทั้งหมดเมื่อสิ้นสุดการทดลอง - น้ำหนักเริ่มต้น

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR, % ต่อวัน)

$$= \left(\frac{\ln \text{น.น. ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \ln \text{น.น. ปลาเมื่อเริ่มต้นการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาเลี้ยง (วัน)}}\right) \times 100$$

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะต่อวัน (ADG, กรัม/วัน)

$$= \frac{\text{น.น. ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น.น. ปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}}{\text{ระยะเวลาเลี้ยง (วัน)}}$$

เปอร์เซ็นต์น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (weight gain, %)

$$= \left(\frac{\text{น.น. ปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง} - \text{น.น. ปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}}{\text{น้ำหนักปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}}\right) \times 100$$

อัตรารอดตาย (survival rate, %) = $\frac{\text{จำนวนปลาเมื่อสิ้นสุดการทดลอง}}{\text{จำนวนปลาเมื่อเริ่มการทดลอง}} \times 100$

7. การศึกษาสีผิวตัวภายนอก

เมื่อสิ้นสุดการทดลอง ทำการประเมินสีผิวตัวภายนอก โดยทำการสุ่มปลาในแต่ละชุดการทดลองจำนวนซ้ำละ 5 ตัว ใช้การวัดค่าสีด้วยเครื่องวัดสีมาตรฐานทางวิทยาศาสตร์ (Hunter lab Colorimeter) สอบเทียบเครื่องวัดสีตามคู่มือแนะนำก่อนการใช้งานทุกครั้ง ตั้งหมวดการวัดค่าสีเป็นระบบ CIE LAB; *L*a*b** โดยวัดค่าสีทั้งหมด 2 ตำแหน่ง คือ บริเวณลำตัวส่วนบนใต้ครีบหลัง และส่วนล่างเหนือครีบก้น เปรียบเทียบระดับสีของปลาในแต่ละชุดการทดลอง (ภาพผนวกที่ 14)

8. การศึกษาคุณภาพน้ำ

ทำการตรวจวัดคุณภาพน้ำ ในระหว่างการทดลอง ทุก 2 สัปดาห์ ตลอดการทดลอง โดยดัชนีที่จะใช้วิเคราะห์คุณภาพน้ำประกอบด้วย อุณหภูมิน้ำวัดด้วยเทอร์โมมิเตอร์แบบปรอท, ความเป็นกรดเป็นด่างของน้ำ (pH) ด้วย pH meter, ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) วัดด้วยเครื่องวัดคุณภาพน้ำแบบดิจิตอล YSI Model 650 MDS), ความเป็นด่างของน้ำ (ด้วยวิธีการ Titration)

9. การศึกษาต้นทุนการผลิต

คำนวณต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิตปลาทอง (unit feeding cost) โดยสมการ

$$\text{ต้นทุนค่าอาหารต่อผลผลิต} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารที่ปลากินทั้งหมด (กก.)} \times \text{ราคาอาหาร (บาท)}}{\text{น้ำหนักปลาทั้งหมด (กก.)}}$$

10. การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลที่ได้จากการทดลอง ทำการหาค่าการเจริญเติบโต อัตราการเจริญเติบโต อัตราการรอดตาย อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และการศึกษาสีผิวตัวภายนอกและสีของเนื้อปลา ทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธีวิเคราะห์ความแปรปรวน (One-way ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ย ระหว่างชุดการทดลอง ด้วยวิธี Duncan’s New multiple range test : DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

สถานที่และระยะเวลาทำการวิจัย

ทำการทดลอง ณ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง ในปีงบประมาณ 2565

ผลการวิจัยและอภิปรายผล / วิจารณ์ผล

การทดลองใช้สารสีแอนโทไซยานินสกัดจากวัสดุเศษเหลือของข้าวกลุ่มมีสี ในการเร่งสีปลาทอง มีสูตรอาหารต่างกัน 5 ระดับ คือ 0, 25, 50, 75, 100 เปอร์เซ็นต์ ให้ผลการทดลอง ดังนี้

การเตรียมตัวอย่างข้าวมีสีที่สนใจ

จากการเก็บตัวอย่างข้าวมีสีที่สนใจ จำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวเหนียวดำ ข้าวสังข์หยด ข้าวทับทิมชุมแพ ข้าวเบายอดม่วง และข้าวไรซ์เบอร์รี โดยเก็บตัวอย่างเป็นข้าวเปลือก แกลบ ฟาง และรำข้าว ของข้าวทั้ง 5 ชนิด ดังแสดงในภาพที่ 1-3 3 เมื่อนำมาสกัดสารสีแอนโทไซยานินด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน จะได้สารสกัดหยาบ หรือผงสี (ภาพที่ 4) สำหรับนำไปทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพต่อไป

ข้าวไรซ์เบอร์รี ข้าวสังข์หยด ข้าวทับทิมชุมแพ

ข้าวเบายอดม่วง ข้าวเหนียวดำ

ภาพที่ 1 แกลบของข้าวเปลือกเก็บตัวอย่างสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์

ข้าวไรซ์เบอร์รี

ข้าวสังข์หยด

ข้าวทับทิมชุมแพ

ข้าวเบายอดม่วง

ข้าวเหนียวดำ

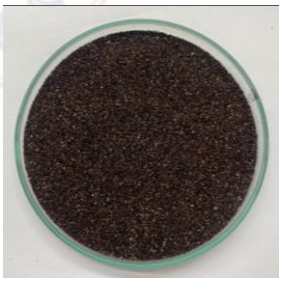
ภาพที่ 2 ซังข้าวสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์

ข้าวไรซ์เบอร์รี

ข้าวสังข์หยด

ข้าวทับทิมชุมแพ

ข้าวเบายอดม่วง


ข้าวเหนียวดำ

ภาพที่ 3 รำข้าวสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์

ภาพที่ 4 สารสกัดและการผลิตแอนโทไซยานิน

ความชื้น

การวิเคราะห์ค่าความชื้น ปริมาณน้ำอิสระ และค่าการละลายในตัวอย่างรำข้าวทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ สังข์หยด ไรซ์เบอร์รี เบายอดม่วง เหนียวดำ และทับทิมชุมแพ (ตารางที่ 1) พบว่า ความชื้นในผงสีของสารสกัดหยาบจากรำข้าวทั้ง 5 ตัวอย่าง ที่แช่ด้วยระยะเวลาการทดลองต่างกัน คือ 2, 4, 6 ชั่วโมง มีค่าปริมาณความชื้นแตกต่างกันตามระยะเวลาการแช่ และชนิดของตัวอย่าง อยู่ในช่วงค่าระหว่างร้อยละ 8.80 - 16.18 ซึ่งตัวอย่างรำข้าวทั้ง 5 สายพันธุ์ ที่มีค่าความชื้นไม่เกินร้อยละ 14 จะมีค่าอยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเก็บรักษา โดยพบว่า รำข้าวสังข์หยด รำข้าวไรซ์เบอร์รี รำข้าวเบายอดม่วง รำข้าวเหนียวดำมีค่าไม่เกินช่วงความชื้นที่แนะนำ ขณะที่ปริมาณความชื้นในผงสีของสารสกัดหยาบจากแกลบข้าว (ตารางที่ 2) พบว่า จะมีค่าความชื้นที่สูงกว่าในรำข้าว โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 13.15 - 21.43 มีแนวโน้มของระยะเวลาการแช่ที่นานขึ้น จะส่งผลต่อความชื้นในสารสกัดหยาบให้มากขึ้นตามไปด้วย โดยตัวอย่างจากแกลบข้าวสังข์หยดและแกลบข้าวเบายอดม่วง จะมีค่าความชื้นต่ำกว่าข้าวอีก 3 ชนิด ส่วนความชื้นของผงสีในซังข้าว (ตารางที่ 3) พบว่า มีความแตกต่างกันตามชนิดข้าว มีค่าอยู่ในช่วงระหว่างร้อยละ 9.71 - 20.49 โดยความชื้นในตัวอย่างซังข้าวเหนียวดำจะมีค่าต่ำสุด และไม่เกินร้อยละ 14 ขณะที่ตัวอย่างซังข้าวไรซ์เบอร์รี จะมีค่าสูงกว่าทุกตัวอย่าง

เมื่อพิจารณาความชื้นในผงสีของสารสกัดหยาบจากส่วนต่างๆ ของข้าวทั้ง 5 สายพันธุ์ หากมีค่าเกิน ร้อยละ 14 อาจส่งผลต่อการเสื่อมสภาพของตัวอย่างได้รวดเร็วกว่าตัวอย่างที่มีค่าต่ำกว่าร้อยละ 14 ทั้งนี้ ปริมาณความชื้นในสารสกัดหยาบมีแนวโน้มที่จะสูงกว่าในวัตถุดิบที่ใช้สกัด โดยรายงานของเอื้องพร และคณะ (2564) ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวจากโรงสีข้าว พบว่า รำข้าวที่ผ่านการร่อนด้วยตะแกรงขนาดอนุภาค 100 mesh มีความชื้นในช่วงร้อยละ 11 ขณะที่ธัญนันท์ และ อภิรดา (2561) พัฒนาผงสีจากซังข้าวโพดหวานสีม่วงเพื่อนำมาใช้ประโยชน์ในเครื่องดื่มผงพร้อมดื่ม พบว่า ปริมาณความชื้นของผงสีซังข้าวโพดหวานสีม่วง มีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 4.29-7.12 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการทดลองครั้งนี้

ปริมาณน้ำอิสระ

จากผลการทดลองหาค่า ปริมาณน้ำอิสระ (a_w) ของผงสีของรำข้าว (ตารางที่ 1) แกลบข้าว (ตารางที่ 2) และซังข้าว (ตารางที่ 3) ในพันธุ์ข้าว 5 ชนิด ที่สกัดด้วยเวลาแตกต่างกัน พบว่า ค่า a_w ของสารสกัดผงสีในรำข้าว แต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยในสารสกัดจากรำข้าว มีค่า a_w อยู่ในช่วงระหว่าง 0.435 - 0.687 โดยสารสกัดรำข้าวเหนียวดำมีค่า a_w เกิน 0.6 ทุกระยะเวลาการแช่รำข้าว ส่วนในรำข้าวทับทิมชุมแพและไรซ์เบอร์รี ให้ค่าต่ำกว่า 0.6 ทุกตัวอย่าง เมื่อพิจารณาค่า a_w ในผงสีจากแกลบข้าว จะพบว่าทุกตัวอย่างมีค่า เกินกว่า 0.6 โดยมีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.616 - 0.754 เช่นเดียวกับในผงสีจากซังข้าวที่มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.652 - 0.759 ซึ่งจุลินทรีย์ทุกชนิด จะหยุดการเจริญเติบโต เมื่อตัวอย่างทดสอบมีค่า a_w เท่ากับ 0.6 หรือต่ำกว่า 0.6 เนื่องจากค่านี้เป็นปัจจัยสำคัญในการคาดคะเนอายุการเก็บรักษา และเป็นตัวบ่งชี้ถึงความปลอดภัยของอาหาร ดังนั้นการลดปริมาณน้ำในอาหารให้เหลือน้อยที่สุด หรือลดค่า a_w ให้ต่ำสุด (นิธิยา, 2544) แต่ทั้งนี้จะพบว่าเชื้อราส่วนใหญ่จะไม่เจริญเติบโตที่ค่า a_w ต่ำกว่า 0.7 ค่าที่ได้จากการทดลองครั้งนี้สูงกว่าค่า a_w ของผงซังข้าวโพดหวานสีม่วง (ธัญนันท์ และ อภิรดา, 2561) ที่มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 0.19-0.30

ค่าความสามารถในการละลาย (solubility)

ค่าความสามารถในการละลายของผงสีจากรำข้าว (ตารางที่ 1) แกลบข้าว (ตารางที่ 2) และซังข้าว (ตารางที่ 3) ในพันธุ์ข้าว 5 ชนิด ที่สกัดด้วยเวลาแตกต่างกัน พบว่า แต่ละตัวอย่างมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยค่าการละลายมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการแช่ตัวอย่างที่เพิ่มขึ้น ในตัวอย่างรำข้าวทุกชนิดที่แช่นาน 6 ชั่วโมงจะมีค่าการละลายกลับเกิน 80% ซึ่งรำข้าวไรซ์เบอร์รี รำข้าวเบายอดม่วงและรำข้าวทับทิมชุมแพ ให้ค่าการละลายกลับได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนผงสีในแกลบข้าวทุกตัวอย่าง จะมีค่าการละลายกลับได้น้อยกว่าในรำข้าว มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 36.30 - 74.15% โดยค่าการละลายกลับของสารสกัดจากแลบข้าวเบายอดม่วง มีแนวโน้มละลายได้ดีกว่าข้าวชนิดอื่น โดยแกลบข้าวสังข์หยดจะมีค่าการละลายได้ต่ำที่สุด ขณะที่การทดสอบการละลายในซังข้าว พบว่า มีค่าการละลายกลับได้สูงกว่าในรำข้าวและแกลบข้าว แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 80.75 - 97.65% มีแนวโน้มว่าของค่าการละลายกลับในซังข้าวไรซ์เบอร์รี ทุกระยะเวลาการแช่ สูงกว่าในซังข้าวชนิดอื่น และซังข้าวเบายอดม่วงจะมีค่าการละลายกลับได้น้อยกว่าซังข้าวอื่น ซึ่ง Wong *et al*., (2017) รายงานว่าความสามารถในการละลายเป็นสมบัติที่บ่งบอกถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ของผงได้ ซึ่งอาจแตกต่างไปในแต่ละผลิตภัณฑ์ เช่น น้ำตาลทรายมีค่าการละลายได้ 67% ที่อุณหภูมิ 25°C, มะนาวผงอยู่ในช่วง 94.34-98.08% และ สับปะรดผงมีค่า 81.56% Abadio *et al*. (2004)

ตารางที่ 1 ความชื้น ปริมาณน้ำอิสระ (Aw) และค่าการละลายของผงสีจากรำข้าว 5 สายพันธุ์

รำข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	ความชื้น (%)	ปริมาณน้ำอิสระ (Aw)	การละลาย (%)
สังข์หยด	2	10.01±0.12^{ghi}	0.687±0.002^{a}	76.25±1.75^{cde}
สังข์หยด	4	10.06±0.21^{ghi}	0.495±0.007^{g}	79.95±1.35^{bcd}
สังข์หยด	6	8.80±0.02^{i}	0.435±0.014^{g}	80.85±0.35^{bcd}
ไรซ์เบอร์รี	2	11.80±0.73^{ef}	0.599±0.019^{b}	70.65±5.35^{e}
ไรซ์เบอร์รี	4	10.71±0.93^{fg}	0.516±0.037^{ef}	75.40±1.70^{de}
ไรซ์เบอร์รี	6	12.26±0.17^{e}	0.550±0.015^{cd}	84.65±0.15^{ab}
เบายอดม่วง	2	13.76±0.31^{cd}	0.513±0.024^{ef}	83.40±0.50^{ab}
เบายอดม่วง	4	10.36±0.17^{fgh}	0.564±0.001^{c}	84.80±3.20^{ab}
เบายอดม่วง	6	8.92±0.62^{hi}	0.603±0.003^{b}	87.40±1.30^{a}
เหนียวดำ	2	12.89±0.20^{de}	0.627±0.027^{b}	62.32±4.22^{f}
เหนียวดำ	4	12.21±1.59^{e}	0.630±0.017^{b}	74.80±4.60^{de}
เหนียวดำ	6	14.53±1.11^{bc}	0.628±0.001^{b}	82.25±0.25^{abc}
ทับทิมชุมแพ	2	9.08±0.49^{hi}	0.538±0.007^{cde}	79.17±4.82^{bcd}
ทับทิมชุมแพ	4	15.85±1.75^{ab}	0.508±0.012^{ef}	80.68±3.54^{bcd}
ทับทิมชุมแพ	6	16.18±1.56^{a}	0.528±0.018^{de}	88.45±7.45^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

ตารางที่ 2 ความชื้น ปริมาณน้ำอิสระ (Aw) และค่าการละลายของผงสีในแกลบข้าว 5 สายพันธุ์

แกลบข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	ความชื้น (%)	ปริมาณน้ำอิสระ (Aw)	การละลาย (%)
สังข์หยด	2	14.99±1.67^{e}	0.659±0.015^{cde}	55.25±3.45^{e}
สังข์หยด	4	14.41±0.18^{e}	0.638±0.009^{efg}	55.65±3.15^{e}
สังข์หยด	6	13.42±1.75^{e}	0.652±0.008^{def}	36.30±0.30^{g}
ไรซ์เบอร์รี	2	18.01±0.69^{d}	0.641±0.061^{efg}	73.15±1.75^{a}
ไรซ์เบอร์รี	4	20.78±1.12^{ab}	0.713±0.008^{b}	72.20±0.10^{ab}
ไรซ์เบอร์รี	6	18.12±0.85^{d}	0.625±0.019^{efg}	49.03±4.07^{f}
เบายอดม่วง	2	13.15±1.83^{e}	0.690±0.006^{bc}	74.15±2.68^{a}
เบายอดม่วง	4	13.51±0.18^{e}	0.616±0.016^{fg}	63.65±0.85^{d}
เบายอดม่วง	6	14.25±0.18^{e}	0.605±0.006^{g}	71.15±2.76^{ab}
เหนียวดำ	2	18.44±2.38^{cd}	0.656±0.013^{cde}	68.08±4.35^{bc}
เหนียวดำ	4	20.60±0.18^{abc}	0.721±0.015^{b}	62.20±2.20^{d}
เหนียวดำ	6	19.98±0.01^{abcd}	0.646±0.005^{ef}	53.10±2.30^{ef}
ทับทิมชุมแพ	2	19.75±1.65^{bcd}	0.691±0.006^{bc}	71.40±2.20^{ab}
ทับทิมชุมแพ	4	22.13±1.21^{a}	0.686±0.022^{bcd}	73.30±0.10^{a}
ทับทิมชุมแพ	6	21.43±0.43^{ab}	0.754±0.011^{a}	65.00±0.20^{cd}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

ตารางที่ 3 ความชื้น ปริมาณน้ำอิสระ (Aw) และค่าการละลายของผงสีในซังข้าว 5 สายพันธุ์

ซังข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	ความชื้น (%)	ปริมาณน้ำอิสระ (Aw)	การละลาย (%)
สังข์หยด	1	16.58±0.20^{b}	0.703±0.013^{ef}	85.85±3.75^{de}
สังข์หยด	2	20.49±1.72^{a}	0.652±0.003^{h}	97.65±0.15^{ab}
สังข์หยด	3	18.88±2.44^{a}	0.705±0.003^{ef}	96.00±0.50^{ab}
ไรซ์เบอร์รี	1	19.93±0.14^{a}	0.697±0.011^{f}	94.25±2.95^{abc}
ไรซ์เบอร์รี	2	20.43±0.63^{a}	0.712±0.004^{de}	98.95±0.25^{a}
ไรซ์เบอร์รี	3	20.63±1.82^{a}	0.694±0.009^{f}	96.70±0.10^{ab}
เบายอดม่วง	1	13.25±0.45^{c}	0.706±0.003^{def}	89.20±2.60^{cd}
เบายอดม่วง	2	12.78±0.24^{c}	0.705±0.009^{ef}	80.75±2.35^{ef}
เบายอดม่วง	3	19.34±2.43^{a}	0.736±0.006^{d}	77.70±7.64^{f}
เหนียวดำ	1	12.22±0.07^{cd}	0.753±0.001^{ab}	85.60±1.10^{de}
เหนียวดำ	2	10.29±0.80^{de}	0.746±0.002^{bc}	92.60±2.00^{bc}
เหนียวดำ	3	9.71±0.54^{e}	0.759±0.003^{a}	93.95±0.25^{abc}
ทับทิมชุมแพ	1	14.22±0.90^{c}	0.669±0.001^{g}	90.20±5.50^{cd}
ทับทิมชุมแพ	2	13.92±0.82^{c}	0.714±0.016^{de}	92.05±1.05^{bc}
ทับทิมชุมแพ	3	13.46±0.71^{c}	0.719±0.008^{d}	94.60±2.20^{abc}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

ปริมาณแอนโทไซยานิน

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ในผงสีจากรำข้าว (ตารางที่ 4) แกลบข้าว (ตารางที่ 5) และซังข้าว (ตารางที่ 6) ในพันธุ์ข้าว 5 ชนิด ที่สกัดด้วยระยะเวลาการแช่ตัวอย่างแตกต่างกัน พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในผงสีจากรำข้าว (ตารางที่ 4) มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด ได้แก่ รำข้าวเหนียวดำ มีค่าอยู่ในช่วง 2,780.07-3,077.98 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง โดยการสกัดที่ใช้เวลาแช่นาน 6 ชั่วโมงจะให้ค่าสูงที่สุด รองลงมา ได้แก่ รำข้าวไรซ์เบอร์รี มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 832.12 – 1,092.68 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง ส่วนรำข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินต่ำสุด ได้แก่ รำข้าวทับทิมชุมแพ มีค่าอยู่ในช่วง 26.73–84.79 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง เช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ พบว่า ผงสีจากรำข้าวหนียวดำ

มีค่าสูงที่สุด อยู่ในช่วง 238.5 -311.09 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง รองลงมา ได้แก่ ข้าวไรซ์เบอร์รี ที่ให้ค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 102.16–161.42 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ส่วนรำข้าวที่มีค่าต่ำ ได้แก่ รำข้าวทับทิมชุมแพ และรำข้าวเบายอดม่วง มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 16.66–58.97 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ซึ่งค่าที่ได้ครั้งนี้ ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ สุภาพร (2562) ที่ทำการศึกษาเสถียรภาพของสารสกัดแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีที่ผ่านการห่อหุ้มด้วยโปรตีนรำข้าวเข้มข้นภายใต้สภาวะค่า pH และความร้อนที่แตกต่างกัน พบว่า สารสกัดแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ที่ค่า pH 1.0 มีค่าเท่ากับ 385.47 มิลลิกรัมไซยานิดินต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ที่ค่า pH 4.0 เท่ากับ 251.15 มิลลิกรัมไซยานิดินต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ที่ค่า pH 7.0 เท่ากับ 290.45 มิลลิกรัมไซยานิดินต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ที่ค่า pH 9.0 เท่ากับ 221.32 มิลลิกรัมไซยานิดินต่อ 100 กรัมตัวอย่าง

การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ในผงสีจากแกลบข้าว (ตารางที่ 5) ในพันธุ์ข้าว 5 ชนิด ที่สกัดด้วยระยะเวลาการแช่ตัวอย่างต่างกัน พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในผงสีจากแกลบข้าวทั้ง 5 ชนิด มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยแกลบข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงสุด ได้แก่ แกลบข้าวไรซ์เบอร์รี มีค่าอยู่ในช่วง 987.17 - 1,197.88 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง โดยใช้เวลาแช่นาน 6 ชั่วโมงจะให้ค่าสูงที่สุด รองลงมา คือแกลบข้าวเหนียวดำ มีค่าอยู่ในช่วงระหว่าง 274.87 – 378.78 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง ส่วนแกลบข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินต่ำสุด ได้แก่แกลบข้าวทับทิมชุมแพ มีค่าอยู่ในช่วง 14.30–19.50 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง ต่างจากการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ พบว่า แกลบจากข้าวหนียวดำ ให้ค่าสูงที่สุด อยู่ในช่วง 16.08 - 70.29 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง รองลงมาคือ แกลบข้าวไรซ์เบอร์รี มีค่าระหว่าง 10.30 – 42.65 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ส่วนแกลบข้าวทับทิมชุมแพให้ค่าต่ำสุด

การตรวจหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด ในผงสีจากซังข้าว (ตารางที่ 6) ในพันธุ์ข้าว 5 ชนิด ที่สกัดด้วยระยะเวลาการแช่ตัวอย่างต่างกัน พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในผงสีจากซังข้าวทั้ง 5 ชนิด มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) โดยซังข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงสุด ได้แก่ ซังข้าวเหนียวดำ มีค่าอยู่ในช่วง 83.90 - 96.95 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง โดยใช้เวลาแช่นาน 3 ชั่วโมงจะให้ค่าสูงที่สุด รองลงมา คือซังข้าวไรซ์เบอร์รี มีค่าอยู่ในระหว่าง 50.64 – 75.53 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่างแห้ง ต่างจากการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ พบว่า ซังข้าวทับทิมชุมแพให้ค่าสูงที่สุด อยู่ในช่วง 15.63 - 38.10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง รองลงมา คือ ซังข้าวเหนียวดำ มีค่าระหว่าง 14.52 – 31.55 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมตัวอย่าง ส่วนซังข้าวเบายอดม่วงให้ค่าต่ำสุด เช่นเดียวกับ ธัญนันท์ และอภิรดา (2561) ศึกษาการใช้ประโยชน์จากซังข้าวโพดหวานสีม่วงในการพัฒนาเครื่องดื่มผงพร้อมดื่มโดยการเอนแคปซูเลชันด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย จากการใช้น้ำสกัดแอนโทไซยานินจากซังข้าวโพดหวานสี

ม่วง ได้แอนโทไซยานินปริมาณ 11.26 มิลลิกรัม/กรัม ส่วนปริมาณแอนโทไซยานินของผงซังข้าวโพดหวานสีม่วง มีค่าอยู่ในช่วง 3.57-6.82 มิลลิกรัม/กรัม

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด และการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ ในตัวอย่างรำข้าว แกลบข้าว และซังข้าว ผลปรากฏว่า ปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดได้จากรำข้าวของข้าวทั้ง 5 ชนิด มีค่าสูงกว่าในตัวอย่างแกลบ และซังข้าว ตามลำดับ ดังนั้น จึงทำการคัดเลือกสารสกัดจากรำข้าวมาใช้เป็นส่วนสารสกัดหยาบที่จะนำไปใช้ผสมในอาหารเม็ดสำเร็จรูปเลี้ยงปลาทองเพื่อการเร่งสี เมื่อพิจารณารำข้าวที่มีปริมาณสารแอนโทไซยานินสูง จึงมีตัวเลือกที่น่าสนใจ ได้แก่ รำข้าวเหนียวดำ และรำข้าวไรซ์เบอร์รี ที่ใช้เวลาในการสกัด 6 ชั่วโมง การทดลองนี้ได้คำนึงถึงต้นทุนอาหารปลา ร่วมกับปริมาณสารสีในวัตถุดิบที่มีมูลค่าต่ำ ทำให้ตัดสินใจเลือกใช้วัตถุดิบรำข้าวไรซ์เบอร์รี เป็นแหล่งสกัดสารสีแอนโทไซยานิน เพราะรำข้าวไรซ์เบอร์รีหาได้ง่ายกว่า ราคาต่ำกว่า และยังคงให้ปริมาณสารสีแอนโทไซยานินใกล้เคียงกับรำข้าวเหนียวดำ สอดคล้องกับ Hu *et. al*., (2003) กล่าวว่า ข้าวเหนียวดำมีปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุด ตามด้วยข้าวสีม่วง ข้าวสีแดง และข้าวกล้อง ตามลำดับ ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่ารำข้าวไรซ์เบอร์รีสามารถใช้เป็นแหล่งของสารแอนโทไซยานินได้

ทั้งนี้ ปริมาณสารสีแอนโทไซยานิน จะส่งผลต่อความเข้มของสีในเมล็ดข้าว ต้นข้าว แกลบ และรำข้าว เพราะแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่มีสีแดงถึงม่วง โดยและจะพบในธัญพืชบริเวณเนื้อเยื่อชั้นนอกและเนื้อเยื่อชั้นใน (Abdel-Aal *et al*., 2006) ข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงจะมีสีม่วงเข้ม ส่วนข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินต่ำจะมีสีแดงอ่อน โดย Sompong *et al*. (2011) หาปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวสีแดงและดำ พบว่ากลุ่มข้าวสีแดง มีปริมาณแอนโทไซยานิน 0.3-1.4 มิลลิกรัม/100 กรัมตัวอย่าง โดย keawpeng and Meenune (2012) พบว่าข้าวกล้องสังข์หยดมีปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 15.50 มิลลิกรัมไซยาดิน-3-กลูโคไซด์ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง โดย แอนโทไซยานินในสารละลายที่มี pH สูงกว่า 4.5 ขึ้นไป จะไม่มีสี ส่งผลให้คุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระลดลง แต่ถ้าค่าความเป็นกรด-ด่างต่ำ คือจะมีสีแดง-แดงเข้ม หรืออยู่ในสภาวะเป็นกรดความคงตัวของแอนโทไซยานินสูง

ตารางที่ 4 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด และแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ของผงสีในรำข้าว 5 สายพันธุ์

รำข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (mg/100g)	ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ (mg/100g)
สังข์หยด	2	146.09±11.34^{f}	73.67±2.20^{g}
สังข์หยด	4	148.29±10.31^{f}	18.53±2.70^{k}
สังข์หยด	6	122.89±7.11^{f}	25.24±2.01^{k}
ไรซ์เบอร์รี	2	832.12±15.24^{e}	102.16±2.33^{f}
ไรซ์เบอร์รี	4	1,092.68±37.77^{d}	124.69±0.49^{e}
ไรซ์เบอร์รี	6	1,072.15±10.92^{d}	161.42±7.56^{d}
เบายอดม่วง	2	29.39±8.60^{i}	38.22±0.41^{j}
เบายอดม่วง	4	46.85±11.76^{hi}	47.47±0.89^{i}
เบายอดม่วง	6	76.76±6.62^{gh}	25.40±1.82^{k}
เหนียวดำ	2	2,878.07±28.38^{b}	238.56±8.94^{c}
เหนียวดำ	4	2,780.07±30.24^{c}	311.09±5.75^{a}
เหนียวดำ	6	3,077.98±22.89^{a}	294.47±13.60^{b}
ทับทิมชุมแพ	2	26.73±5.56^{i}	35.91±4.87^{j}
ทับทิมชุมแพ	4	84.79±4.52^{g}	16.66±1.31^{k}
ทับทิมชุมแพ	6	65.93±7.02^{gh}	58.97±1.72^{h}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

ตารางที่ 5 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ของผงสีในแกลบข้าว 5 สายพันธุ์

แกลบข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (mg/100 g)	ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์(mg/100g)
สังข์หยด	2	16.50±0.99^{i}	16.74±1.03^{efg}
สังข์หยด	4	20.16±0.53^{hi}	17.08±0.90^{efg}
สังข์หยด	6	24.10±0.49^{ghi}	29.79±0.89^{cd}
ไรซ์เบอร์รี	2	987.17±8.69^{b}	10.30±0.45^{g}
ไรซ์เบอร์รี	4	1,086.98±4.25^{b}	24.44±1.14^{de}
ไรซ์เบอร์รี	6	1,197.88±12.10^{a}	42.65±9.95^{b}
เบายอดม่วง	2	28.21±0.61^{gh}	13.25±2.77^{fg}
เบายอดม่วง	4	30.67±0.65^{g}	21.33±6.08^{def}
เบายอดม่วง	6	45.04±0.31^{f}	37.03±4.79^{bc}
เหนียวดำ	2	378.78±6.44^{c}	16.08±0.00^{efg}
เหนียวดำ	4	274.87±7.68^{e}	27.50±10.45^{d}
เหนียวดำ	6	357.55±8.40^{d}	70.29±7.86^{a}
ทับทิมชุมแพ	2	19.50±0.92^{hi}	11.90±2.24^{g}
ทับทิมชุมแพ	4	14.62±0.67^{i}	10.01±3.94^{g}
ทับทิมชุมแพ	6	14.30±0.35^{i}	13.85±2.52^{fg}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan’s multiple test (DMRT)

ตารางที่ 6 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด และปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์ของผงสีในซังข้าว 5 สายพันธุ์

ซังข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (mg/100 g)	ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์(mg/100g)
สังข์หยด	1	60.30±0.83^{fg}	18.27±2.62^{cdef}
สังข์หยด	2	59.40±1.27^{fg}	18.21±5.37^{cdef}
สังข์หยด	3	76.70±1.06^{d}	20.88±0.92^{c}
ไรซ์เบอร์รี	1	50.64±9.09^{h}	11.84±0.91^{g}
ไรซ์เบอร์รี	2	63.08±0.87^{f}	20.79±0.71^{cd}
ไรซ์เบอร์รี	3	75.53±3.31^{de}	19.12±4.87^{cde}
เบายอดม่วง	1	50.30±2.07^{h}	13.18±0.52^{fg}
เบายอดม่วง	2	48.67±1.37^{h}	13.60±0.11^{fg}
เบายอดม่วง	3	55.63±1.65^{g}	12.07±0.29^{g}
เหนียวดำ	1	86.24±1.05^{bc}	14.52±3.16^{efg}
เหนียวดำ	2	83.90±0.65^{c}	15.55±0.42^{defg}
เหนียวดำ	3	96.95±0.73^{a}	31.55±1.54^{b}
ทับทิมชุมแพ	1	56.05±3.12^{g}	17.68±2.58^{cdef}
ทับทิมชุมแพ	2	70.78±1.35^{e}	15.63±2.60^{cdefg}
ทับทิมชุมแพ	3	89.61±1.32^{b}	38.10±5.28^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารแอนโทไซยานินที่สกัดได้

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH scavenging activity assay เป็นวิธีการทำลาย อนุมูลอิสระ DPPH (DPPH•, diphenyl-picrylhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว มีสีม่วง และสามารถดูดกลืนคลื่นแสงได้สูงสุดที่ความยาวคลื่น 515 nm เมื่อ DPPH ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจะทำให้สีม่วงจางลงๆ จนเป็นสีเหลือง ทำให้ตรวจหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างแอนโทไซยานินที่สกัดได้ จากค่าสีที่จางลงเพราะการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH• และรายงานผล ในรูป IC_{50} (mg/ml) โดยค่าตัวเลขต่ำ แสดงว่าสารสกัดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้สูง

จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ในสารสกัดจากรำข้าวที่ต่างกัน 5 ชนิด และสกัดด้วยระยะเวลาต่างกัน 3 ระดับ (ตารางที่ 7) พบว่า ที่ระยะเวลาการแช่ 6 ชั่วโมง สารสกัดผงสีจากไรซ์เบอร์รี รำข้าวสังข์หยด รำข้าวทับทิมชุมแพ และรำข้าวเหนียวดำ ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ไม่แตกต่างกัน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.266, 0.289, 0.296 และ 0.324 mg/ml ตามลำดับ มีแนวโน้มว่ารำข้าวไรซ์เบอร์รีจะแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่ารำข้าวชนิดอื่น ส่วนการทดสอบในแกลบข้าว (ตารางที่ 8) พบว่า สารสกัดจากแกลบข้าวไรซ์เบอร์รีที่ระยะเวลาการแช่สกัดนาน 6 ชั่วโมง แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีกว่าแกลบข้าวชนิดอื่น โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.012 mg/ml รองลงมา ได้แก่ แกลบข้าวเหนียวดำ และแกลบข้าวสังข์หยด ตามลำดับ แต่ต่างจากผลการทดลองในซังข้าว (ตารางที่ 9) ที่พบว่า สารสกัดผงสีจากซังข้าวเหนียวดำ แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าซังข้าวไรซ์เบอร์รี โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.128 mg/ml เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ของสารสกัดจากรำข้าว แกลบข้าว และซังข้าว พบว่า สารสกัดจากแกลบข้าว มีแนวโน้มของการให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าในซังข้าว และรำข้าว ตามลำดับ ขณะที่ สุภาพร (2562) พบว่าสารสกัดแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ที่ค่า pH 1.0 มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับร้อยละ 87.13 ที่ค่า pH 4.0 เท่ากับร้อยละ 86.42 ที่ค่า pH 7.0 เท่ากับร้อยละ 70.56± และ ที่ค่า pH 9.0 เท่ากับร้อยละ 59.39 แสดงว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง มีผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

เมื่อนำตัวอย่างมาทดสอบฤทธิ์การต้านอนมูลอิสระด้วยวิธีการที่ 2 คือ การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay โดยสารสกัดจากรำข้าวที่ต่างกัน 5 ชนิด สกัดด้วยระยะเวลาต่างกัน 3 ระดับ (ตารางที่ 7) พบว่า ที่ระยะเวลาการแช่ 6 ชั่วโมง สารสกัดผงสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี รำข้าวทับทิมชุมแพ และรำข้าวเหนียวดำ ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.016, 0.032 และ 0.033 mg/ml ตามลำดับ แต่มีแนวโน้มว่ารำข้าวไรซ์เบอร์รีจะแสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า ขณะที่การทดสอบในแกลบข้าว (ตารางที่ 8) พบว่า สารสกัดจากแกลบข้าวทับทิมชุมแพ และแกลบข้าวสังข์หยด ที่ระยะเวลาการแช่สกัดนาน 6 ชั่วโมง แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีกว่าแกลบข้าวชนิดอื่น โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.004 และ 0.008 mg/ml ตามลำดับ มีค่าไม่แตกต่างกันทางสถิติ แต่ต่างจากผลการทดลองในซังข้าว (ตารางที่ 9) ที่พบว่า สารสกัดผงสีจากซังข้าวเหนียวดำที่ระยะเวลาการแช่ 4 – 6 ชั่วโมง แสดงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด เมื่อเทียบกับซังข้าวชนิดอื่น โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.010 – 0.015 mg/ml เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS assay ของสารสกัดจากรำข้าว แกลบข้าว และซังข้าว พบว่า สารสกัดจากแกลบข้าว มีแนวโน้มของการให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าในซังข้าว และรำข้าว ตามลำดับ เช่นกัน สอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Department of Science Service (2010) รายงานว่า แอนโทไซยานินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า วิตามินซี และวิตามินอี อีกทั้ง Shokrzadeh and Ebadi (2006)

พบว่าเมล็ดข้าว Tarom Mahalli มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้สูง เนื่องจากข้าวนี้มีสีม่วงเข้ม จากการมีสารแอนโทไซยานินปริมาณสูง เช่นเดียวกับงานวิจัยของมงคล และคณะ (2558) ศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากการหมักรำข้าวด้วยเชื้อ *Bacillus subtilis* MP9 ผลปรากฏว่าสารสกัดจากรำข้าวหอมดอกมะลิ 105 และสารสกัดจากรำข้าวหอมนิล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ (IC_{50}) เท่ากับ 0.316 และ 0.056 ตามลำดับ

ตารางที่ 7 ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS รายงานผลในรูป IC_{50} (mg/ml) ในผงสีจากรำข้าว 5 สายพันธุ์

รำข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	การต้านอนุมูลอิสระ DPPH IC_{50} (mg/ml)	การต้านอนุมูลอิสระ ABTS IC_{50} (mg/ml)
สังข์หยด	2	0.763 ± 0.054^{f}	0.104 ± 0.018^{gh}
สังข์หยด	4	0.516 ± 0.029^{bc}	0.070 ± 0.016^{e}
สังข์หยด	6	0.289 ± 0.018^{a}	0.059 ± 0.004^{cde}
ไรซ์เบอร์รี	2	0.905 ± 0.044^{g}	0.095 ± 0.000^{fg}
ไรซ์เบอร์รี	4	0.480 ± 0.025^{bc}	0.042 ± 0.000^{bc}
ไรซ์เบอร์รี	6	0.266 ± 0.085^{a}	0.016 ± 0.004^{a}
เบายอดม่วง	2	0.668 ± 0.054^{e}	0.064 ± 0.001^{de}
เบายอดม่วง	4	0.816 ± 0.046^{f}	0.081 ± 0.012^{ef}
เบายอดม่วง	6	0.561 ± 0.105^{cd}	0.047 ± 0.010^{bcd}
เหนียวดำ	2	0.563 ± 0.045^{cd}	0.068 ± 0.001^{de}
เหนียวดำ	4	0.653 ± 0.074^{de}	0.117 ± 0.003^{h}
เหนียวดำ	6	0.324 ± 0.037^{a}	0.033 ± 0.015^{ab}
ทับทิมชุมแพ	2	0.531 ± 0.031^{bc}	0.063 ± 0.028^{cde}
ทับทิมชุมแพ	4	0.464 ± 0.036^{b}	0.064 ± 0.010^{de}
ทับทิมชุมแพ	6	0.296 ± 0.017^{a}	0.032 ± 0.006^{ab}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

ตารางที่ 8 ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS รายงานผลในรูป IC_{50} (mg/ml) ในผงสีจากแกลบข้าว 5 สายพันธุ์

แกลบข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	การต้านอนุมูลอิสระ DPPH IC_{50} (mg/ml)	การต้านอนุมูลอิสระ ABTS IC_{50} (mg/ml)
สังข์หยด	2	0.096 ± 0.004^{f}	0.024 ± 0.006^{def}
สังข์หยด	4	0.064 ± 0.002^{c}	0.014 ± 0.003^{bc}
สังข์หยด	6	0.062 ± 0.001^{c}	0.008 ± 0.002^{ab}
ไรซ์เบอร์รี	2	0.109 ± 0.002^{i}	0.020 ± 0.003^{cde}
ไรซ์เบอร์รี	4	0.072 ± 0.001^{d}	0.027 ± 0.004^{ef}
ไรซ์เบอร์รี	6	0.012 ± 0.007^{a}	0.014 ± 0.004^{bc}
เบายอดม่วง	2	0.110 ± 0.000^{i}	0.032 ± 0.003^{f}
เบายอดม่วง	4	0.102 ± 0.003^{gh}	0.047 ± 0.001^{g}
เบายอดม่วง	6	0.097 ± 0.001^{fg}	0.018 ± 0.009^{cd}
เหนียวดำ	2	0.143 ± 0.000^{k}	0.044 ± 0.000^{g}
เหนียวดำ	4	0.088 ± 0.003^{e}	0.024 ± 0.005^{def}
เหนียวดำ	6	0.035 ± 0.002^{b}	0.014 ± 0.006^{bc}
ทับทิมชุมแพ	2	0.121 ± 0.001^{j}	0.031 ± 0.009^{f}
ทับทิมชุมแพ	4	0.116 ± 0.003^{j}	0.012 ± 0.001^{abc}
ทับทิมชุมแพ	6	0.108 ± 0.008^{hi}	0.004 ± 0.001^{a}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

ตารางที่ 9 ฤทธิ์การต้านสารอนุมูลอิสระ DPPH และ ABTS รายงานผลในรูป IC_{50} (mg/ml) ในผงสีจากซังข้าว 5 สายพันธุ์

ซังข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	การต้านอนุมูลอิสระ DPPH IC_{50} (mg/ml)	การต้านอนุมูลอิสระ ABTS IC_{50} (mg/ml)
สังข์หยด	1	0.452 ± 0.004^{i}	0.083 ± 0.015^{i}
สังข์หยด	2	0.404 ± 0.007^{i}	0.068 ± 0.001^{h}
สังข์หยด	3	0.383 ± 0.009^{gh}	0.056 ± 0.000^{fg}
ไรซ์เบอร์รี	1	0.372 ± 0.002^{g}	0.062 ± 0.006^{gh}
ไรซ์เบอร์รี	2	0.395 ± 0.005^{gh}	0.049 ± 0.001^{ef}
ไรซ์เบอร์รี	3	0.270 ± 0.011^{de}	0.042 ± 0.004^{de}
เบายอดม่วง	1	0.407 ± 0.008^{h}	0.050 ± 0.003^{ef}
เบายอดม่วง	2	0.308 ± 0.004^{f}	0.035 ± 0.003^{cd}
เบายอดม่วง	3	0.287 ± 0.001^{ef}	0.020 ± 0.000^{bc}
เหนียวดำ	1	0.237 ± 0.016^{c}	0.028 ± 0.001^{bc}
เหนียวดำ	2	0.182 ± 0.045^{b}	0.015 ± 0.011^{a}
เหนียวดำ	3	0.128 ± 0.030^{a}	0.010 ± 0.006^{a}
ทับทิมชุมแพ	1	0.312 ± 0.003^{f}	0.069 ± 0.000^{h}
ทับทิมชุมแพ	2	0.304 ± 0.006^{f}	0.057 ± 0.006^{fg}
ทับทิมชุมแพ	3	0.253 ± 0.002^{cd}	0.047 ± 0.001^{ef}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

ค่าสี

จากการวิเคราะห์ค่าสีของตัวอย่างในรูปแบบค่าสี *L* a* b** ค่าสี *L** แสดงถึงความมืด-สว่างของผลิตภัณฑ์มีค่า 0 – 100 (0=มืด 100=สว่าง) ค่าสี a* และ b* ค่า a ถ้าเป็นบวก แสดงถึงสีแดง ถ้าเป็นลบ แสดงถึงสีเขียว ค่า b ถ้าเป็นบวกแสดงถึงสีเหลือง เป็นลบแสดงถึง สีน้ำเงิน สีค่าจึงมีสมบัติใช้บ่งบอกคุณภาพของผลิตภัณฑ์ของผง เนื่องจากเป็นสิ่งแรกที่ผู้บริโภคสามารถสังเกตเห็นได้ (Wong *et al*., 2016) จากตารางที่ 10 แสดงค่าสีของสารสกัดหยาบจากรำข้าว ทั้ง 5 ชนิดที่สกัดโดยระยะเวลาต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p\leq0.05$) พบว่า ค่าความสว่าง (*L**) ของรำข้าว อยู่ในช่วงระหว่าง 2.50 - 9.52 ขณะที่แกลบข้าว (ตารางที่ 11) มีค่าอยู่ในช่วง 1.83 - 3.77 และสารสกัดซังข้าว (ตารางที่ 12) มีค่าความสว่างอยู่ในช่วง 2.02 - 3.79 ทั้งนี้ค่าความสว่างเมื่อ

เปรียบเทียบกับค่ามาตรฐาน จะพบว่าได้ค่าช่วงต่ำ เพราะตัวอย่างข้าวเป็นกลุ่มข้าวสีแดงและสีม่วง ทั้งนี้หากค่าที่ได้เท่ากับ 100 แสดงว่าเป็นกลุ่มข้าวสีขาว ส่วนค่าที่เป็น 0 คือ กลุ่มข้าวที่เป็นสีดำ

ค่าความเป็นสีแดง (a*) ในสารสกัดหยาบของรำข้าว 5 ชนิด (ตารางที่ 10) พบว่ามีค่าเป็นบวก มีค่าอยู่ระหว่าง 0.02 - 2.08 แสดงค่าต่ำ จึงมองเห็นสีแดงไม่เด่นชัด เช่นเดียวกับตัวอย่างแกลบข้าว (ตารางที่ 11) ค่าที่ได้จะมีค่าต่ำเช่นกัน มีค่าอยู่ระหว่าง -0.09 - 0.43 เช่นเดียวกับในซังข้าวที่ไม่แสดงค่าสีแดง จึงให้ค่าที่เป็นลบ (ตารางที่ 12)

ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) ในตัวอย่างรำข้าว (ตารางที่ 10) แกลบข้าว (ตารางที่ 11) และซังข้าว (ตารางที่ 12) ในข้าวสังข์หยด ข้าวไรเบอร์รีและข้าวเบายอดม่วง แสดงค่าต่ำ คือ ค่อนข้างออกเป็นโทนเหลืองจาง การทดลองนี้ แสดงให้เห็นว่าพันธุ์ข้าวต่างชนิดกัน ในส่วนต่าง ได้แก่ รำข้าว แกลบข้าว ซังข้าว มีการสะสมของรงควัตถุสารสีได้แตกต่างกัน เช่นเดียวกับค่าสีของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงจากซังข้าวโพดหวานสีม่วง มีค่าสี L* อยู่ในช่วง 1.07- 9.12 ค่าสี a* อยู่ในช่วง 10.21-37.90 ค่าสี b* อยู่ในช่วง 0.65-15.52 ค่าสีสอดคล้องกับลักษณะปรากฏ คือเมื่อใช้ผงซังข้าวโพดในระดับที่สูงเครื่องดื่มที่ได้จะมีสีม่วงแดงเข้มมากกว่า สิ่งทดลองที่ใช้ผงซังข้าวโพดในระดับต่ำ (ธัญนันท์และอภิรดา, 2561)

ตารางที่ 10 ค่าสี *L* a* b** ในสารสกัดหยาบจากรำข้าวทดลองทั้ง 5 สายพันธุ์

ตัวอย่างรำข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	ค่าสี		
		*L**	*a**	*b**
สังข์หยด	2	2.93±0.02^{de}	0.42±0.07^{g}	0.44±0.02^{f}
สังข์หยด	4	3.58±0.08^{b}	0.45±0.07^{g}	0.49±0.04^{ef}
สังข์หยด	6	3.45±0.07^{bc}	0.60±0.04^{ef}	0.92±0.04^{c}
ไรซ์เบอร์รี	2	3.73±0.08^{b}	1.71±0.09^{c}	1.32±0.07^{a}
ไรซ์เบอร์รี	4	2.54±0.06^{e}	2.08±0.02^{a}	0.81±0.00^{cd}
ไรซ์เบอร์รี	6	2.61±0.34^{de}	1.84±0.08^{b}	1.10±0.09^{b}
เบายอดม่วง	2	2.78±0.10^{de}	0.23±0.07^{h}	0.60±0.03^{e}
เบายอดม่วง	4	3.57±0.07^{b}	0.02±0.00^{i}	0.74±0.06^{d}
เบายอดม่วง	6	9.52±0.90^{a}	0.36±0.03^{j}	1.43±0.22^{a}
เหนียวดำ	2	2.50±0.03^{e}	0.53±0.07^{fg}	-0.09±0.01^{gh}
เหนียวดำ	4	2.67±0.04^{de}	0.93±0.13^{d}	-0.05±0.05^{g}
เหนียวดำ	6	2.89±0.01^{de}	0.69±0.06^{e}	-0.09±0.08^{gh}

ทับทิมชุมแพ	2	2.54±0.09^{e}	0.07±0.02^{i}	-0.19±0.02^{gh}
ทับทิมชุมแพ	4	3.10±0.06^{cd}	0.03±0.02^{i}	-0.21±0.07^{h}
ทับทิมชุมแพ	6	2.99±0.14^{de}	0.31±0.02^{h}	0.84±0.04^{cd}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

ตารางที่ 11 ค่าสี *L* a* b** ในสารสกัดหยาบจากแกลบข้าว 5 สายพันธุ์

ตัวอย่างแกลบข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	ค่าสี		
		*L**	*a**	*b**
สังข์หยด	2	1.83±0.06^{i}	-0.09±0.03^{f}	-0.23±0.03^{ef}
สังข์หยด	4	2.39±0.08^{e}	-0.10±0.05^{f}	-0.51±0.06^{g}
สังข์หยด	6	2.08±0.03^{g}	-0.09±0.06^{f}	-0.43±0.07^{g}
ไรซ์เบอร์รี	2	3.18±0.02^{d}	0.19±0.04^{bc}	-0.08±0.05^{cd}
ไรซ์เบอร์รี	4	4.14±0.02^{a}	0.22±0.08^{b}	0.04±0.04^{ab}
ไรซ์เบอร์รี	6	3.77±0.04^{b}	0.13±0.03^{cd}	0.05±0.08^{a}
เบายอดม่วง	2	2.32±0.02^{f}	0.14±0.02^{bcd}	0.01±0.11^{abc}
เบายอดม่วง	4	2.44±0.05^{e}	0.10±0.04^{e}	-0.22±0.07^{ef}
เบายอดม่วง	6	3.27±0.02^{c}	0.05±0.02^{e}	-0.62±0.09^{h}
เหนียวดำ	2	1.54±0.05^{k}	0.38±0.02^{a}	-0.28±0.07^{f}
เหนียวดำ	4	1.72±0.03^{j}	0.43±0.04^{a}	-0.14±0.03^{de}
เหนียวดำ	6	2.02±0.03^{gh}	0.35±0.08^{a}	-0.16±0.06^{de}
ทับทิมชุมแพ	2	3.25±0.02^{cd}	-0.20±0.02^{g}	-0.75±0.06^{i}
ทับทิมชุมแพ	4	1.71±0.02^{j}	-0.03±0.04^{f}	-0.07±0.05^{bcd}
ทับทิมชุมแพ	6	1.99±0.02^{h}	-0.06±0.04^{f}	-0.09±0.04^{cd}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

ตารางที่ 12 ค่าสี *L* a* b** ในสารสกัดหยาบจากซังข้าว 5 สายพันธุ์

ตัวอย่างซังข้าว	เวลาที่แช่ (ชั่วโมง)	ค่าสี		
		*L**	*a**	*b**
สังข์หยด	1	2.02±0.01^{n}	-0.27±0.07^{bc}	-0.24±0.01^{h}
สังข์หยด	2	2.07±0.02^{m}	-0.36±0.04^{cde}	0.14±0.02^{e}
สังข์หยด	3	1.84±0.02^{o}	-0.21±0.08^{b}	-0.42±0.01^{i}
ไรซ์เบอร์รี	1	2.77±0.03^{f}	-0.36±0.02^{cde}	-0.17±0.02^{g}
ไรซ์เบอร์รี	2	2.89±0.01^{e}	-0.42±0.05^{de}	-0.03±0.03^{f}
ไรซ์เบอร์รี	3	2.71±0.03^{g}	-0.42±0.04^{de}	-0.48±0.03^{j}
เบายอดม่วง	1	3.26±0.04^{b}	-0.56±0.04^{f}	0.34±0.02^{d}
เบายอดม่วง	2	2.12±0.03^{l}	-0.33±0.06^{cd}	-0.03±0.03^{f}
เบายอดม่วง	3	2.17±0.01^{k}	-0.41±0.02^{de}	0.39±0.03^{d}
เหนียวดำ	1	3.00±0.03^{d}	0.06±0.05^{a}	1.64±0.05^{b}
เหนียวดำ	2	3.08±0.02^{c}	-0.28±0.04^{bc}	1.08±0.03^{c}
เหนียวดำ	3	3.79±0.02^{a}	-0.36±0.08^{cde}	1.92±0.07^{a}
ทับทิมชุมแพ	1	2.46±0.04^{j}	-0.36±0.01^{cde}	-0.25±0.07^{h}
ทับทิมชุมแพ	2	2.63±0.01^{h}	-0.43±0.04^{e}	-0.02±0.00^{f}
ทับทิมชุมแพ	3	2.51±0.01^{i}	-0.41±0.03^{de}	-0.13±0.02^{g}

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรเหมือนกันในแนวตั้งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ เปรียบเทียบโดยวิธี Duncan's multiple test (DMRT)

จากผลการทดลองวัดค่าปริมาณสารสีแอนโทไซยานิน ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ การวัดค่าสีและค่าการละลายได้ จึงทำการคัดเลือกผงสีที่ได้จากการสกัดสารสกัดหยาบรำข้าวไรซ์เบอร์รี ที่ระยะเวลาการแช่ 6 ชั่วโมง มาทำการใช้ในการเร่งสีปลาทองในการทดลองขั้นต่อไป

การเจริญเติบโต

การทดลองเสริมสารสีแอนโทไซยานิน จากสารสกัดหยาบรำข้าวไรซ์เบอร์รีในอาหารเม็ดสำเร็จรูปที่ระดับความเข้มข้น 0, 25, 50, 75, 100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม นำมาใช้เลี้ยงปลาทองที่มีน้ำหนักเริ่มต้น 12.70±0.45 กรัม เป็นเวลา 4 เดือน ให้ผลการทดลอง ดังนี้

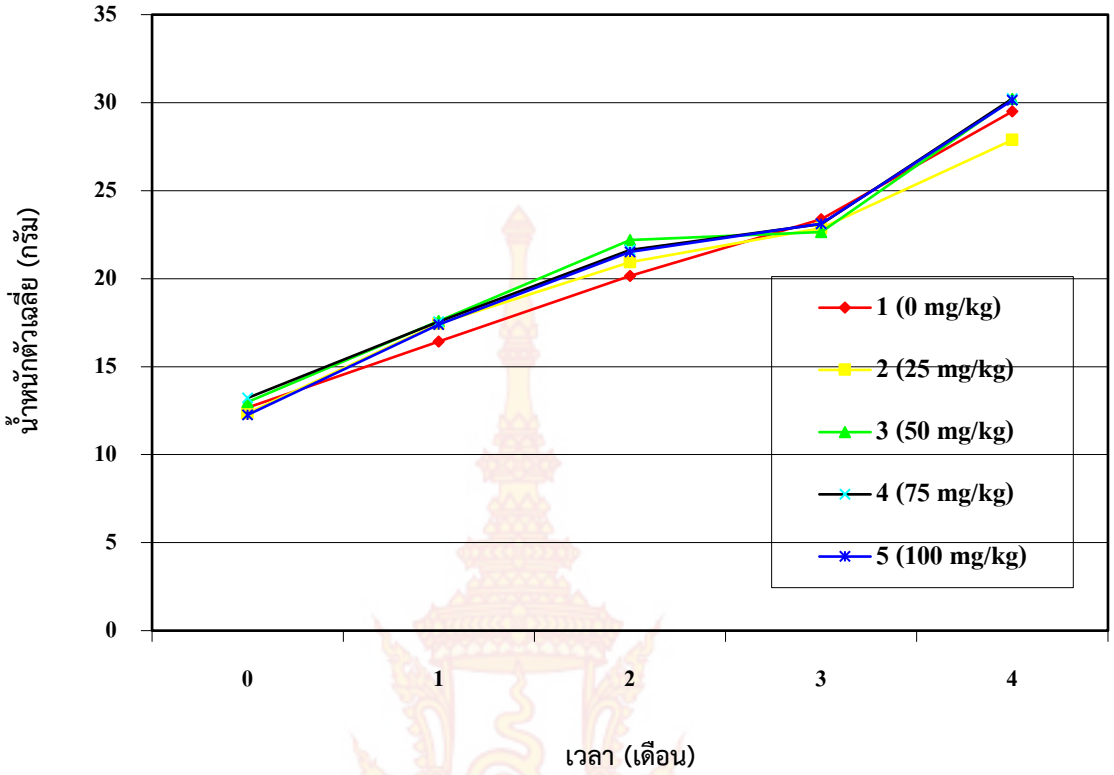
น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาทอง ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 ชุดการทดลอง ตลอดระยะเวลาการทดลอง 4 เดือน พบว่า ปลาทองมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว เพิ่มสูงขึ้นตามระยะเวลาของการทดลองเลี้ยง ดังแสดงในตารางที่ 13 และ ภาพที่ 5 ซึ่งเมื่อเริ่มการทดลอง ปลาที่ใช้ทดลองทั้งหมดมีน้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว เท่ากับ 12.70±0.45 กรัม ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) เมื่อทำการทดลองเลี้ยงในเดือนที่ 1, 2, 3 และจนกระทั่งสิ้นสุดการทดลอง น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาทอง ที่ได้รับอาหารทดลองทั้ง 5 ชุดการทดลอง ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) ซึ่งเมื่อสิ้นสุดการทดลองเลี้ยง พบว่า น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวของปลาทอง ที่ได้รับอาหารผสมสารสีแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบรำข้าวไรซ์เบอร์รีในอาหารเม็ดสำเร็จรูป ในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 มีค่าเท่ากับ 29.50±1.97, 27.88±1.99, 30.21±0.66, 30.23±1.05และ 30.14±2.36 กรัม ตามลำดับ

ตารางที่ 13 น้ำหนักเฉลี่ย (น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัว ± SE หน่วยเป็นกรัม) ของปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดผงสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีที่ระดับต่าง ๆ กัน เป็นระยะเวลา 4 เดือน

ชุดการทดลอง	ระยะเวลาการเลี้ยง (เดือน)				
	เริ่มทดลอง	1	2	3	4
1 (0 mg/kg)	12.67±0.17	16.42±1.94	20.15±0.69	23.38±1.20	29.50±1.97
2(25 mg/kg)	12.35±0.49	17.45±1.60	20.93±1.34	22.87±1.74	27.88±1.99
3 (50 mg/kg)	12.99±0.77	17.60±1.91	22.20±1.95	22.65±1.49	30.21±0.66
4 (75 mg/kg)	13.22±0.71	17.56±1.33	21.63±1.57	23.10±1.77	30.23±1.05
5 (100 mg/kg)	12.26±0.47	17.40±2.19	21.52±2.95	23.13±1.29	30.14±2.36

หมายเหตุ : เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวตั้งโดยใช้อักษร ถ้าอักษรเหมือนกันกำกับ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (P>0.05)



ภาพที่ 5 การเจริญเติบโตของปลาทอง ที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดผงสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีที่ระดับต่าง ๆ กัน เป็นระยะเวลา 4 เดือน

ตารางที่ 14 การเจริญเติบโต อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตายของปลาทอง ที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดผงสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ในอาหารเม็ดสำเร็จรูป ที่ชุดการทดลองระดับต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 4 เดือน

	ชุดการทดลอง				
การเจริญเติบโต	1 (0 mg/kg)	2 (25 mg/kg)	3 (50 mg/kg)	4 (75 mg/kg)	5 (100 mg/kg)
น้ำหนักเริ่มต้น (g)	12.67±0.17	12.35±0.49	12.99±0.77	13.22±0.71	12.26±0.47
น้ำหนักสุดท้าย (g)	29.50±1.97	27.88±1.99	30.21±0.66	30.23±1.05	30.14±2.36
น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (WG, %)	132.75±12.55	126.13±21.55	133.32±17.75	129.04±10.38	146.46±34.05
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR, %/day)	0.71±0.05	0.68±0.08	0.70±0.06	0.69±0.03	0.75±0.12
อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ADG, g/day)	0.14±0.02	0.13±0.02	0.14±0.01	0.14±0.01	0.15±0.03
อัตราแลกเนื้อ (FCR)	4.61±0.51	5.07±0.88	4.57±0.45	4.53±0.22	4.48±1.10
อัตรารอดตาย (SR, %)	91.11±6.94	96.67±5.77	96.67±3.34	94.44±1.93	95.56±7.70

หมายเหตุ : - ในวงเล็บของชุดการทดลอง คือระดับความเข้มข้นของสารสีแอนโทไซยานิน ที่ใช้ใส่ในอาหารสำเร็จรูปเลี้ยงปลาทอง

- เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวนอนโดยใช้ตัวอักษร อักษรเหมือนกันไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (P>0.05)

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ และอัตราการรอดตาย

น้ำหนักเฉลี่ยต่อตัวเริ่มต้น และสิ้นสุดการทดลอง เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (WG, %) อัตราการเจริญเติบโต (%SGR : %/วัน) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ADG, g/วัน) อัตราการเปลี่ยนอาหารเป็นเนื้อ (FCR) และอัตราการรอดตาย (เปอร์เซ็นต์) ของปลาทอง ที่ได้รับอาหารผสมสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ระดับต่างกัน เป็นระยะเวลา 4 เดือน แสดงดังตารางที่ 14 ดังนี้

น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น (WG, %) ของปลาทองที่ได้รับอาหารชุดการทดลองต่างๆ พบว่า ค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ซึ่งค่าน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 มีค่าเท่ากับ 132.75±12.55, 126.13±21.55, 133.32±17.75, 129.04±10.38 และ 146.46±34.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR, %/วัน) ของปลาทองที่ได้รับอาหารชุดการทดลองต่าง ๆ พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P \geq 0.05$) ซึ่งค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (SGR) ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 มีค่าเท่ากับ 0.71±0.05, 0.68±0.08, 0.70±0.06, 0.69±0.03 และ 0.75±0.12 เปอร์เซ็นต์/วัน ตามลำดับ

อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ADG, กรัม/วัน) ของปลาทองที่ได้รับอาหารในชุดการทดลองต่าง ๆ พบว่า อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ADG) ในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (ADG) ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 มีค่าเท่ากับ 0.14±0.02, 0.13±0.02, 0.14±0.01, 0.14±0.01 และ 0.15±0.03 กรัม/วัน ตามลำดับ

อัตราแลกเนื้อ (FCR) ของปลาทองที่ได้รับอาหารชุดการทดลองต่าง ๆ พบว่า อัตราแลกเนื้อ (FCR) ในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งค่าอัตราแลกเนื้อ (FCR) ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 มีค่าเท่ากับ 4.61±0.51, 5.07±0.88, 4.57±0.45, 4.53±0.22, 4.48±1.10 ตามลำดับ

อัตรารอดตาย (SR, %) ของปลาทองที่ได้รับอาหารชุดการทดลองต่าง ๆ พบว่า อัตรารอดตาย (SR) ในทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) ซึ่งค่าอัตรารอดตาย (SR) ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองในชุดการทดลองที่ 1, 2, 3, 4 และ 5 มีค่าเท่ากับ 91.11±6.94, 96.67±5.77, 96.67±3.34, 94.44±1.93 และ 95.56±7.70 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ (ตารางที่ 14)

จากผลการทดลองนี้ เมื่อพิจารณาค่าการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และอัตรารอดตาย ของปลาทองที่ได้รับอาหาร (อาหารปลาทับทิม) ผสมสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ในชุดการทดลองที่ 1-5 จะเห็นได้ว่า ปลาทองที่ได้รับอาหารที่มีการใช้สารสกัดหยาบแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีเสริมในอาหาร ตั้งแต่ที่ระดับความเข้มข้น 25-100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม มีค่าอัตราการเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และอัตรารอดตาย ไม่แตกต่างกัน และไม่แตกต่างกับปลาทองในชุดควบคุม ($P \geq 0.05$) แสดงให้เห็นว่า การใช้สารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีเสริมในอาหารทุกระดับความเข้มข้น ตั้งแต่ 25-100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ไม่ส่งผลทำให้การเจริญเติบโต อัตราแลกเนื้อ และอัตรารอดตายของปลาทอง แตกต่างไปจากการใช้อาหารสำเร็จรูปที่ไม่ได้เสริมสารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ทั้งนี้สารสกัดแอนโทไซยานินในรำข้าวที่เสริมไปในอาหารสำเร็จรูปปลาทับทิมนั้น จัดเป็นกลุ่มสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ส่งเสริมภูมิคุ้มกัน ไม่มีส่วนในการส่งเสริมหรือกระตุ้นการเจริญเติบโต ไม่มีส่วนเกี่ยวข้องต่อการส่งเสริมระดับโปรตีนในอาหารทดลองให้สูงขึ้น จึงไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตของปลาทอง เพราะสารอาหารหลักที่มีผลโดยตรงต่อการเจริญเติบโตของปลา คือระดับของโปรตีนในเม็ดอาหาร รวมทั้งคาร์โบไฮเดรตและไขมันในสัดส่วนที่เหมาะสม โดยอาหารที่มีระดับโปรตีนสูง จะส่งผลให้ปลามีการเจริญเติบโตสูงตามไปด้วย (เวียง, 2542) สอดคล้องกับการสริมสาหร่ายสไปรูลิน่า และสาหร่ายไกในอาหารเลี้ยงปลาทอง พบว่าไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และอัตรารอดตาย (ธัชศึก และคณะ, 2554) นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับวัฒนา และอุไรวรรณ (2562) ทดลองเสริมสาหร่ายพวงองุ่นที่ระดับ 0 - 10% ในอาหารเลี้ยงปลาคาร์ฟ ซึ่งปรากฏผลว่า การเสริมสาหร่ายพวงองุ่นในอาหารไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และอัตรารอดตายของปลาคาร์ฟ และสอดคล้องกับการทดลองของ Hien *et.al.,* (2022) ที่พบว่าการเสริมแคโรทีนอยด์ที่ระดับไม่เกิน 100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม ในอาหารเลี้ยงปลาดุก ไม่มีผลต่ออัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และอัตรารอดตาย แต่มีผลต่อการสะสมเม็ดสีในเนื้อปลาดุก

การศึกษาสีผิวตัวภายนอก

ระดับสีที่ผิวลำตัวปลา

การวิเคราะห์ค่าสีที่ผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ทั้ง 5 ชุดการทดลอง เป็นระยะเวลา 4 เดือน ใช้เครื่องมือในการวัดค่าสีมาตรฐานทางวิทยาศาสตร์ (Hunter lab Colorimeter) รุ่น Ultra scan Vis, Hunter Assoc, Lab, Inc., USA ตั้งหมวดการวัดค่าสีเป็นระบบ CIE LAB; *L*a*b** โดยวัดค่าสีบริเวณลำตัวส่วนบนใต้ครีบหลัง เปรียบระดับสีของปลาในแต่ละชุดการทดลอง ให้ผลการศึกษา ดังต่อไปนี้ (ตารางที่ 15 และภาพที่ 9)

ค่าสี *L** - ค่าความสว่าง ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทั้ง 5 ชุดการทดลอง นาน 4 เดือนมีค่าอยู่ในช่วง 51.92±4.74 ถึง 58.37±8.32 ซึ่งปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าว

ไรซ์เบอร์รีในชุดการทดลองที่ 4 (75 mg/kg) และ 5 (100 mg/kg) มีค่า *L** ไม่แตกต่างกันทางสถิติ (P>0.05) อยู่ในช่วงระหว่าง 56.23±5.54 - 58.37±8.32 ค่า *L** สูงกว่าชุดควบคุม และ ชุดการทดลองที่ 2, 3 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยปลาทองที่ใช้สารสีแอนโทไซยานินตั้งแต่ 75 มก.ต่ออาหาร 1 กิโลกรัม มีผลให้ค่าความสว่างในตัวปลาสูงที่สุด (ตารางที่ 15 ภาพที่ 6)

ค่า *a** - ค่าสีแดง พบว่า มีค่าอยู่ในช่วง 10.31±1.35 ถึง 14.15±1.76 โดยปลาทองที่ได้รับอาหารชุดการทดลองที่ 5 (100 mg/kg) มีค่าสูงกว่าในปลาทองที่ได้รับอาหารผสมสารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ในชุดการทดลองอื่น แต่ไม่แตกต่างทางสถิติกับชุดการทดลองที่ 4 (75 mg/kg) โดยมีค่าเท่ากับ 14.15±1.76 และ 12.85±2.67 ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุม มีค่า *a** ต่ำที่สุดเท่ากับ 10.31±1.35 (ตารางที่ 15 ภาพที่ 7) โดยทุกชุดการทดลองที่เสริมสารสีแอนโทไซยานิน จะให้ค่าสีแดงสูงกว่าชุดควบคุม ($p \leq 0.05$) แสดงว่าการเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารสารสีแอนโทไซยานินจะมีผลต่อค่าความเข้มสีแดงในลำตัวปลาทอง

ส่วนค่า *b** - ค่าสีเหลือง มีค่าอยู่ในช่วง 31.12±3.92 ถึง 34.63±8.29 โดยปลาทองที่ได้รับอาหารชุดการทดลองที่ 4 (75 mg/kg) และ 5 (100 mg/kg) มีค่าสูงกว่าในปลาทองที่ได้รับอาหารทดลองในชุดการทดลองที่ 2 (25 mg/kg) และ 3 (50 mg/kg) แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \geq 0.05$) ส่วนชุดควบคุม มีค่า *b** ต่ำที่สุด เท่ากับ 31.12±3.92 (ตารางที่ 15 ภาพที่ 8) ทั้งนี้ทุกชุดการทดลองที่เสริมสารสีแอนโทไซยานิน (ชุดที่ 2, 3 ,4) จะให้ค่าสีเหลืองสูงกว่าชุดควบคุม ($p<0.05$) บ่งชี้ถึงระดับความเข้มข้นของสารสกัดแอนโทไซยานิน มีผลต่อความสามารถในการสะสมสารสีในตัวปลาทอง และการเพิ่มค่าความเข้มสีเหลืองในลำตัวปลาทอง

ระดับค่าความสว่าง (*L**) ของปลาทองที่เลี้ยงด้วยแหล่งสารสีแอนโทไซยานินที่สกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ทั้ง 4 ชุดการทดลอง (25-100 มก./1กก.) มีค่าสูงกว่าชุดควบคุม สอดคล้องกับอดิศักดิ์และคณะ (2561) ทดลองเลี้ยงปลาทองออแรนดาด้วยอาหารผสมสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงิน (*Hapalosiphon welwitschii* TISTR 8237) พบว่า ระดับค่า *L** ของปลาที่เลี้ยงด้วยอาหารทดลองผสมสาหร่ายสีเขียวแกมน้ำเงินมีค่าสูงกว่าชุดควบคุม เช่นเดียวกับการทดลองของวัฒนา และอุไรวรรณ (2562) ทดลองเลี้ยงปลาทองด้วยสารสกัดหยาบจากสาหร่ายสีแดงน้ำจืดต่อสีผิวและการเจริญเติบโตของปลาทอง พบว่าค่าความสว่างของชุดที่เสริมสารสกัดสาหร่ายสีแดงมีค่าสูงกว่ากลุ่มควบคุม ส่วนการทดลองครั้งนี้ พบว่าระดับความเข้มของสีผิวปลาทองมีค่าสี *a** และ *b** เพิ่มขึ้นตามปริมาณใช้สารสกัดหยาบแอนโทไซยานินในรำข้าวไรซ์เบอร์รี เช่นเดียวกับการทดลองของ วัฒนา และอุไรวรรณ (2562) และทุกชุดการทดลองใช้เสริมสารสกัดหยาบแอนโทไซยานินในอาหารให้ค่าสีของ *a** และ *b** สูงกว่าปลาทองชุดควบคุม ทั้งนี้เป็นเพราะรงควัตถุสารสีแอนโทไซยานินสามารถสะสมในเซลล์เม็ดสีได้เช่นเดียวกับสารสีแคโรทีนอยด์ โดยจักรพันธ์ (2559) พบว่าสารสีแอนโทไซยานินสามารถสะสมเพิ่มขึ้นในส่วนต่างๆ ของสัตว์น้ำได้ จึงปรับปรุงสีบนตัวปลาทองให้มีสีแดง และสีเหลือง

เพิ่มสูงขึ้น เช่นเดียวกับการเร่งสีปลากัดจีนโดยเสริมสารสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวเหนียวดำ บุญยนุช (2561) และการใช้ผงมังเคร่ ร้อยละ 5 เป็นแหล่งแอนโทไซยานินผสมในอาการเลี้ยงกุ้งแชบ๊วย มีผลให้เซลล์โครมาโทฟอร์จากผิวหนังใต้แผ่นปิดเหงือกของกุ้งทดลองแผ่ขยายขึ้น และพบการสะสมของสารสีแอนโทไซยานินรวมในตัวกุ้งทดลองเท่ากับ 1.48±0.11 mg/g dw. ซึ่งสูงกว่ากุ้งในชุดควบคุมถึง 6.17 เท่า แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่งทางสถิติ ($p<0.01$) (สรายุทธ และคณะ, 2563) ผลการทดลองแสดงว่าสารสีแอนโทไซยานินนั้นสามารถสะสมและกระตุ้นให้เซลล์เม็ดสีมีขนาดใหญ่และบานออกได้ดี เพื่อเพิ่มพื้นที่การบรรจุสะสมเม็ดสีต่างๆ ที่ได้รับจากการกินอาหารเข้าไป แต่การให้ความร้อน จะทำให้เซลล์เม็ดสีของสารสีแอนโทไซยานินเสียสภาพหรือเกิดการสลายตัวได้ (Yue and Xu, 2008)

จากการเปรียบเทียบการใช้สารสีสกัดจากวัตถุดิบธรรมชาติเป็นแหล่งการเร่งสีในสัตว์น้ำ ดังเช่น บุญยนุช (2561) การสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวเหนียวดำเพื่อเร่งสีปลากัดจีน โดยใช้ข้าวเหนียวดำ 12% ผสมในอาหารสัตว์น้ำโปรตีน 40% ทดลองเลี้ยง 3 เดือน จะให้ประสิทธิภาพการเจริญเติบโตปลากัดจีนสูงขึ้นโดยมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น และความยาวสุดท้ายสูงที่สุด ($P\leq0.05$) แต่อัตราการรอดตาย ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P>0.05$) ส่วนความเข้มของสีปลากัดจีนพบว่าความเข้มของสีปลากัดจีนที่เลี้ยงด้วยอาหารสัตว์น้ำโปรตีน 40% ผสมข้าวเหนียวดำ 12% มีความเข้มของสีสุดท้ายความเข้มของสีที่เพิ่มขึ้น และเปอร์เซ็นต์ความเข้มของสีที่เพิ่มขึ้นสูงที่สุด แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P\leq0.05$) กับความเข้มของสีปลากัดจีนที่เลี้ยงด้วยสูตรอาหารที่ใช้ข้าวเหนี่ยวดำต่ำกว่า 12% ซึ่งผลการทดลองนี้ แตกต่างจากการทดลองใช้สารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รีเลี้ยงปลาทองในครั้งนี้ ในเรื่องการเจริญเติบโต ส่วนอัตรารอดตายและการเร่งสีให้ผลไปในทำนองเดียวกัน

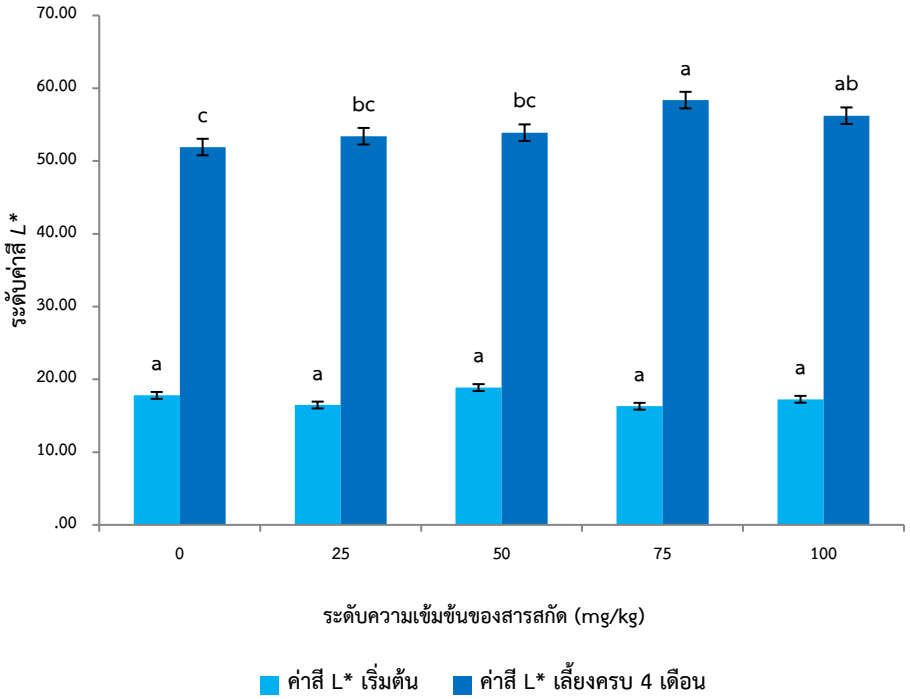
ทั้งนี้ เมื่อพิจารณาการใช้สารเร่งสีกับสัตว์น้ำ โดยภัทรียา และคณะ (2561) ใช้มะละกอสุกผสมอาหารเพื่อเร่งสีผิวปลาทอง ปรากฏว่า การผสมมะละกอสุกในอาหารสามารถทำให้ปลาทองมีสีผิวลำตัวเปลี่ยนแปลง โดยเฉพาะค่าสีแดงและค่าสีเหลือง ซึ่งเกิดจากสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ 3 ชนิดหลัก คือ Beta-carotene, Beta-Cryptoxanthin และ Lycopene จึงอาจเป็นไปได้ว่าเมื่อปลาทองได้รับอาหารเสริมมะละกอสุก ก็สามารถสะสมที่ผิวหนังท้าให้สีผิวลำตัวมีค่าสีเหลืองและแดงเพิ่มขึ้น จึงสามารถเร่งสีในปลาทองได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของพัทธนันท์ และคณะ (2564) ใช้เสริมดอกหางนกยูงในอาหารต่อความเข้มสีปลาทอง พบว่า ปลาทองที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเสริมดอกหางนกยูงฝรั่งปริมาณ 0% 5% 10% และ 15% ในระยะเวลา 0 30 60 และ 90 วัน มีค่าความสว่าง (L*) ค่าความเข้มสีแดง (a*) และ ค่าความเข้มสีเหลือง (b*) ของสีผิวแตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) โดย ปลาทองที่ได้รับอาหารสำเร็จรูปเสริมดอกหางนกยูงฝรั่งปริมาณ 15% ที่ระยะเวลา 60 วัน มีค่าเฉลี่ยความเข้มสีแดง (a*) และ ค่าความเข้มสีเหลือง (b*) สูงที่สุด ทั้งนี้เนื่องมาจากปลาเป็นสัตว์ที่ไม่สามารถสังเคราะห์สารสีเองได้สารสีในตัวปลา ต้องมาจากการบริโภค ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้สารสีใน

กลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid) เมื่อปลาได้รับสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ตัวใดตัวหนึ่งเข้า ไปจะถูกเมตาบอลิซึมในตัวปลากลายเป็นสารสีสองชนิดนี้ไปสะสมในผิวหนังปลาหากมีปริมาณสูงจะทำให้เกิดสีสดสวย (Ritthisong, 2002) ซึ่ง Jyothi *et al* (2012) พบว่าดอกหางนกยูงฝรั่งแห้ง 100 กรัม มีสารกลุ่มแคโรทีนอยด์ปริมาณ 69 มิลลิกรัม และยังพบสารกลุ่มแอนโทไซยานิน (anthocyanin) 580 มิลลิกรัม เช่นเดียวกับอรุชา และคณะ (2561) ได้ทำการทดลองผลของมันเทศสีส้มต่อความเข้มสีและการเจริญเติบโตของปลาทองสายพันธุ์ออรันดาอายุ 1 เดือนด้วยอาหารทดลองงที่ผสมมันเทศสีส้มลงไปในระดับ 0% 10% และ 20% เป็นระยะเวลา 6 สัปดาห์ พบว่า ปลาทองที่ได้อาหารทดลองที่ผสมมันเทศสีส้ม ที่ระดับต่างกัน มีค่าความสว่างสีผิว (L) มีค่าความเข้มสีแดง (a) และ ค่าความเข้มสี เหลือง (b) แตกต่างอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ($P>0.05$) เมื่อจบการทดลองพบว่าทุกการทดลองมีค่า (a) และ (b) เพิ่มขึ้น โดยปลาทองที่ได้รับอาหารทดลองทำเองที่ผสมมันเทศสีส้มลงไปที่ระดับ 10% และ 20% มีค่ามากกว่ากลุ่มควบคุม

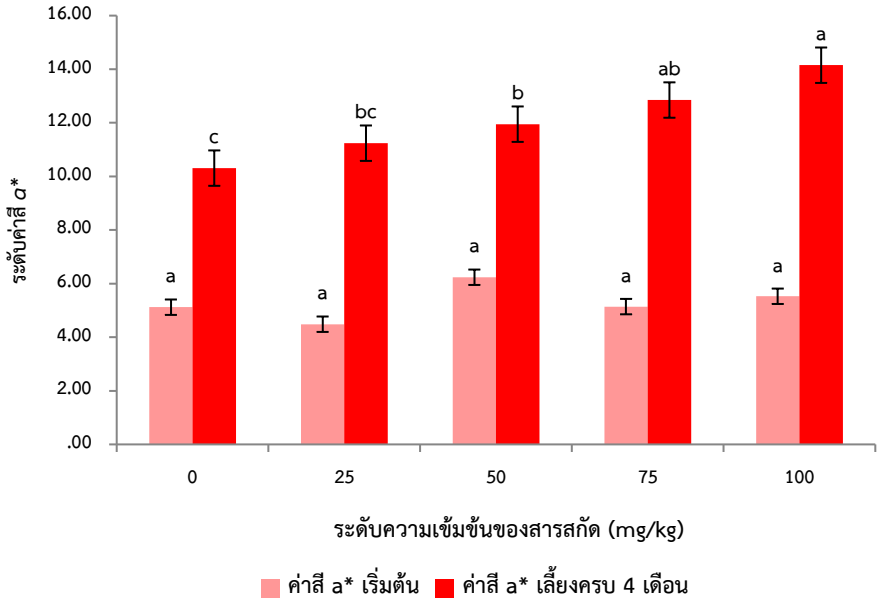
ตารางที่ 15 ระดับสีที่ผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ที่ระดับต่าง ๆ กัน เป็นเวลา 4 เดือน

ชุดการทดลอง	ระดับค่าสี		
	*L**	*a**	*b**
1 (0 mg/kg)	51.92±4.74^{c}	10.31±1.35^{c}	31.12±3.92^{b}
2 (25 mg/kg)	53.41±4.58^{bc}	11.24±2.31^{bc}	32.89±5.61^{ab}
3 (50 mg/kg)	53.90±5.48^{bc}	11.95±1.73^{b}	33.37±2.94^{ab}
4 (75 mg/kg)	58.37±8.32^{a}	12.85±2.67^{ab}	34.62±4.49^{a}
5 (100 mg/kg)	56.23±5.54^{ab}	14.15±1.76^{a}	34.63±8.29^{a}

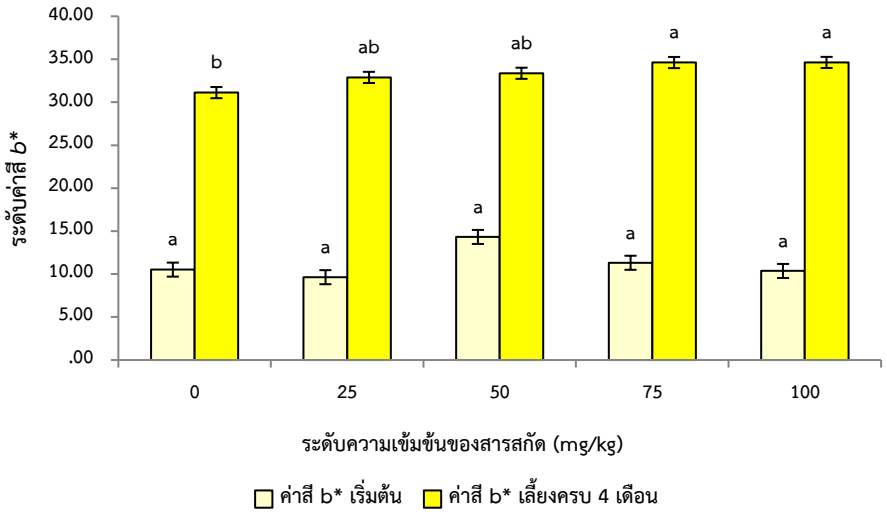
หมายเหตุ : - ในวงเล็บ คือระดับความเข้มข้นของการเสริมสารสกัดหยาบในอาหารปลาทดลอง
- เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยในแนวตั้งโดยใช้ตัวอักษร ถ้าตัวอักษรเหมือนกัน แสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P>0.05$)



ภาพที่ 6 ค่าสี *L** บนผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีระดับต่างกัน



ภาพที่ 7 ค่าสี *a** บนผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีระดับต่างกัน



ภาพที่ 8 ค่าสี *b** บนผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีระดับต่างกัน

ภาพที่ 9 ระดับสีที่ผิวลำตัวปลาทองที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีที่ระดับต่างกัน

คุณภาพน้ำ

ผลการวิเคราะห์คุณภาพน้ำเฉลี่ยตลอดการทดลอง ดังแสดงในตารางที่ 16 พบว่า อุณหภูมิน้ำมีค่าอยู่ระหว่าง 24.75 ถึง 29.12 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่าง 7.43 ถึง 8.01 ปริมาณออกซิเจนละลายน้ำ 6.61 ถึง 7.68 มิลลิกรัมต่อลิตร ความเป็นด่างของน้ำ 85.47 ถึง 108.25 มิลลิกรัมต่อลิตรเทียบกับแคลเซียมคาร์บอเนต แอมโมเนีย 0.31 ถึง 0.45 มิลลิกรัมต่อลิตร และค่าปริมาณไนไตรท์ 0.18 ถึง 0.31 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเป็นค่าในช่วงที่ปลาทองสามารถดำรงชีวิตได้อย่างปกติ ซึ่งมีค่าที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงปลาในบ่อ (กองเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำชายฝั่งและกองส่งเสริมการประมง, 2550)

ตารางที่ 16 คุณภาพน้ำเฉลี่ยตลอดการทดลองของการเลี้ยงปลาทอง ที่ได้รับอาหารเสริมสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี ที่ระดับต่างกัน เป็นเวลา 4 เดือน

ชุดการทดลอง	อุณหภูมิ (°C)	ความเป็นกรดเป็นด่าง	ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ (mg/l)	ความเป็นด่าง (mg/l)	แอมโมเนีย (mg/l)	ไนไตรท์ (mg/l)
0 mg/kg	26.65-28.00	7.43-8.01	6.65-6.70	85.47-102.76	0.31-0.38	0.18-0.25
25 mg/kg	27.03- 29.04	7.65-7.86	6.61-7.68	89.26-108.25	0.34-0.45	0.19-0.31
50 mg/kg	28.15-28.50	7.45-7.78	6.63-6.71	90.48-105.43	0.34-0.41	0.17-0.30
75 mg/kg	24.75-29.11	7.49-7.92	6.67-6.72	89.04-102.31	0.35-0.42	0.21-0.30
100mg/kg	27.06-29.12	7.52-8.00	6.64-6.70	90.54-107.13	0.33-0.39	0.23-0.29

ต้นทุนค่าอาหารต่อหน่วยการผลิต

การคำนวณต้นทุนวัตถุดิบ

การคำนวณราคาต้นทุนวัตถุดิบทั้งหมดที่ใช้ในการผลิตอาหาร โดยคิดค่าต้นทุนอาหารในสูตรที่ 4 (100 มก./อาหาร 1 กก.) ซึ่งให้ค่าการเร่งสีในปลาทองได้ดีที่สุด พบว่า การผลิตอาหาร ต่อ 1 กิโลกรัม มีราคาต้นทุนวัตถุดิบ ดังนี้ อาหารปลาสำเร็จรูป เท่ากับ 32.50 บาท รำข้าวไรซ์เบอร์รี เท่ากับ 0.01 บาท และเอทานอล เท่ากับ 3.6 บาท ราคาต้นทุนวัตถุดิบรวมทั้งหมด

ดังนั้นราคาต้นทุนค่าอาหารเท่ากับ 36.11 บาท ต่อน้ำหนักอาหาร 1 กิโลกรัม

โดยคิดได้จากสูตรข้อมูลดังนี้

ราคาอาหารปลาสำเร็จรูป = ราคา 1 กิโลกรัม เท่ากับ 32.50 บาท

ราคารำข้าวไรซ์เบอร์รี = รำข้าว 100 กรัม ได้สารสกัด 10 กรัม (10,000 mg)
โดยสารสกัด 10000 mg ใช้ รำข้าว 100 กรัม
ถ้าใช้สารสกัด 100 mg ใช้ รำข้าว 1 กรัม
ทั้งนี้ รำข้าว 1000 กรัม ราคา 10 บาท
ถ้าใช้ 1 กรัม เท่ากับราคา 0.01 บาท

ราคาตัวทำละลายเอทานอล = เอทานอล 1000 ml ได้สารสกัด 10 กรัม (10,000 mg)
สารสกัด 10000 mg ใช้ เอทานอล 1000 ml
ถ้าใช้สารสกัด 100 mg จะใช้ เอทานอล 10 ml
ราคาเอทานอล 2500 ml เท่ากับ ราคา 900 บาท ต่อ 2.5 ลิตร
ถ้าใช้ 10 ml จะมีราคาเท่ากับ 3.6 บาท

เมื่อน้ำหนักอาหารที่ปลาทองกินทั้งหมด (อาหารทดลองสูตรที่ 5) ตลอดการเลี้ยง 4 เดือน เฉลี่ยเท่ากับ 2,058 กรัม คิดเป็นราคาค่าอาหารตลอดการเลี้ยง จะใช้ต้นทุนอาหารเท่ากับ 75 บาท ดังนั้น จากการคำนวณราคาค่าอาหารที่ทำการทดลองครั้งนี้ พบว่าอาหารที่ผสมสารสกัดแอนโทไซยานินจาก รำข้าวไรซ์เบอร์รี ราคาถูกกว่าอาหารเร่งสีที่มีขายตามท้องตลาด ซึ่งมีราคาอยู่ในช่วงระหว่าง 45-55 บาทต่ออาหาร 100 กรัม

จากการทดลองครั้งนี้ทำให้ทราบว่า อาหารที่ผสมสารสกัดแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี โดยใช้สารสกัดแอนโทไซยานินในปริมาณ 100 มิลลิกรัมต่อ อาหาร 1 กิโลกรัม สามาถเร่งสีปลาทองได้ และลดต้นทุนค่าอาหารได้มากกว่าการใช้อาหารเร่งสีสำเร็จรูป

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

สรุปผลการวิจัย

จากการสกัดและวิเคราะห์หาปริมาณสารสีแอนโทไซยานินในข้าวจำนวน 5 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวเหนียวดำ ข้าวสังข์หยด ข้าวทับทิมชุมแพ ข้าวเบายอดม่วง และข้าวไรซ์เบอร์รี ในตัวอย่างรำข้าว แกลบ และซังข้าว ใช้ระยะเวลาการสกัดที่แตกต่างกัน สรุปได้ว่าผงสีที่ได้จากการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี ที่ระยะเวลาการแช่นาน 6 ชั่วโมง จะให้ปริมาณสารแอนโทไซยานิน เหมาะสมต่อการนำมาใช้งานมากที่สุด เมื่อนำมาใช้ทดลองเสริมสารสีแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบรำข้าวไรซ์เบอร์รีในอาหารเลี้ยงปลาทอง ทุกระดับความเข้มข้นของสารสกัด (25-100 มก./ 1 กก.) ไม่มีผลต่อการเจริญเติบโต และอัตราการรอดตาย ($p>0.05$) การใช้สารสีแอนโทไซยานินจากสารสกัดหยาบรำข้าวไรซ์เบอร์รีในอาหาร ส่งผลให้ระค่าสี L^*, a^* และ b^* สูงกว่าปลาในชุดการทดลองที่ไม่ผสมสารสกัด (ชุดควบคุม) โดยให้ผลในการสะสมสารสีแอนโทไซยานินในผิวลำตัวปลาทอง ทำให้ระดับค่าสี a^* และค่าสี b^* ของผิวหนังปลาทองเพิ่มขึ้นตามปริมาณการใช้สารสกัดที่เพิ่มขึ้น ($p<0.05$) ซึ่งความเข้มข้นของสารสีแอนโทไซยานินจาก รำข้าวไรซ์เบอร์รี ที่เหมาะสมในการใช้งาน คือ 100 มิลลิกรัม/อาหาร 1 กิโลกรัม

ข้อเสนอแนะ

1. ควรมีการทดลองใช้สารสีแอนโทไซยานินจากรำข้าวเหนียวดำ และแกลบข้าวเหนียวดำ เพราะให้ค่าปริมาณแอนโทไซยานินสูงเช่นเดียวกัน เพียงแต่อาจต้องที่หาแหล่งที่มีการปลูกข้าวเหนียวเพื่อการค้าเพื่อลดราคาวัตถุดิล ข้อมูลที่ได้จากการทดลอง อาจจะใช้เพื่อเป็นข้อมูลในการยืนยันผลการใช้สารสีแอนโทไซยานินต่อการเร่งสีปลาสวยงามได้จริง
2. ควรนำไปใช้ทดลองในสัตว์น้ำสวยงามชนิดอื่น เพื่อยืนยันผลการออกฤทธิ์ของสารสีแอนโทไซยานินต่อการเร่งสี

บรรณานุกรม

กรุงเทพธุรกิจ. 2556. สจล.-กรมข้าวฟื้นข้าวพื้นเมือง เฟ้น12 สายพันธุ์ป้อนชาวนา. หนังสือพิมพ์ ฉบับวันที่ 17 มิถุนายน พ.ศ. 2556.

จักรพันธ์ พุทธศรี. 2559. การศึกษาสารสีแอนโทไซยานินรวมจากผลมังเคร่ต่อการสะสมในเนื้อเยื้อกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon). โครงงานนักศึกษาสาขาเทคโนโลยีการผลิตทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี .1-50.

ทวี จินดามัยกุล, พิชญา ชัยนาค และจูอะดี พงศ์มณีรัตน์. 2550 .การศึกษาระดับแอสตาแซนทินที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงสีของปลาหมอทะเล. วารสารการประมง 60 (1) : 35 -43 .

ธัชศึก พร้อมคุ้ม, จงกล พรหมยะ, เกลียงศักดิ์ เม่งอ าพัน, นิวุฒิ และชนกันต์ จิตมนัส. 2554. ผลของสาหร่ายสไปรูลิน่า สาหร่ายไก ต่อการกระตุ้นการสร้างภูมิคุ้มกันและปรับปรุงสีของปลาทอง. การประชุมวิชาการสาหร่าย และแพลงก์ตอนแห่งชาติ. ครั้งที่ 5. คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์. 157 น.

ธัญนันท์ ฤทธิ์มณี และอภิรดา พรปัณณวิชญ์ .2561. การใช้ประโยชน์จากซังข้าวโพดหวานสีม่วงในการพัฒนา
เครื่องดื่มผงพร้อมดื่มโดยการเอนแคปซูเลชันด้วยการทำแห้งแบบพ่นฝอย. รายงานการวิจัย ฉบับสมบูรณ์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่, เชียงใหม่.

นฤศันส์ วาสิกดิลก. 2541. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ขนมอบกรอบจากปลายข้าวมะลิ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บังอร ศรีพานิชกุลชัย. 2561. สารออกฤทธิ์จากข้าวมีสีสู่การผลิตเครื่องสำอาง. สร้างสรรค์คุณค่าข้าวไทยด้วยเกษตรปลอดภัยและนวัตกรรมที่ยั่งยืน: สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร(องค์การมหาชน) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 58-61 หน้า.

บุญยนุช โพธิชัย. 2561. การใช้ประโยชน์แอนโทรไซยานินจากข้าวเหนียวดำเพื่อเร่งสีในปลากัด. แผนกวิชาประมง วิทยาลัยเกษตรและเทคโนโลยีร้อยเอ็ด.

ปิ่นธิดา ณ ไธสง, สุวิมล กะตากูล, จิดารัตน์ โตกมลธรรม และ ณัฐณิชา ทวีสง. 2560. การวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีและสารต้านอนุมูลอิสระของข้าวพื้นเมืองในหมู่บ้านทิพุเย อาเภอทองผาภูมิ จังหวัดกาญจนบุรี. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี 25(5): 805-812.

พัทธนันท์ โกธรรม ประภาศิริ ใจผ่อง สุภาวดี แหยมคง ต๋วน เหงียนง็อก จักรกฤช ศรีละออ และ ปุณณดา ทะรังศรี. 2564. ผลของการเสริมดอกหางนกยูงในอาหารต่อความเข้มสีปลาทอง. วารสารแก่นเกษตร, มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

พรงาม เดชเกรียงไกรกุล. 2561. สารสกัดจากข้าวเฉดสีต่อการยับยั้งเซลล์มะเร็ง. สร้างสรรค์คุณค่าข้าวไทยด้วยเกษตรปลอดภัย และนวัตกรรมที่ยั่งยืน: สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 22-23 หน้า.

พรรณรัตน์ เจ๊ะโส๊ะ. 2558. การศึกษาสารสีที่สกัดจากข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง (Zea mays) เพื่อปรับปรุงคุณภาพสีในกุ้งกุลาดำ (Penaeus monodon). โครงงานนักศึกษาสาขาเทคโนโลยีการผลิตทางชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ วิทยาเขตสุราษฎร์ธานี. 1-77.

ภัทรียา พลซา จุไรรัตน์ ม่วงทิม และธัญลักษณ์ คำแดง. 2561. ผลของการใช้มะละกอสุกผสมอาหารเพื่อเร่งสีผิวปลาทอง. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร 49 : 3 (พิเศษ) : 92-98.

มงคล ถิรบุญยานนท์ วิจิตรา แดงปรก และชุติมา คงจรูญ. 2558. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและเปปไทด์ต้านมะเร็งที่ได้จากการหมักรำข้าวด้วย *Bacillus subtilis* MP9 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตับและลำไส้. รายงานผลการวิจัยฉบับสมบูรณ์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้, เชียงใหม่.

วัฒนา วัฒนกุล, อุไรวรรณ วัฒนกุล และ มาโนช ขำเจริญ. 2562. การประยุกต์ใช้สาหร่ายสีแดงน้ำจืดเป็นสารเร่งสีปลาทอง**.** รายงานการวิจัยประจำปี 2562. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตตรัง, ตรัง.

วัฒนา วัฒนกุล และอุไรวรรณ วัฒนกุล. 2562. ผลของการเสริมสาหร่ายพวงองุ่นในอาหารต่อการเจริญเติบโต องค์ประกอบเลือด และระดับสีของปลาคาร์ฟ. น. 1207-1217. ใน การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต ครั้งที่ 12 : 2562. มหาวิทยาลัยราชภัฏภูเก็ต, ภูเก็ต

เวียง เชื้อโพธิ์หัก. 2542. โภชนาศาสตร์และการให้อาหารสัตว์น้ำ. ภาควิชาเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำ, คณะประมง, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 255 น.

สมทรง โชติชื่น, อัจฉราพร ณ ลำปาง เนินพลับ, สกุล มูลคำ, จรัญจิต เพ็งรัตน์, นิธิศ แสงอรุณ, สำเริง แซ่ตัน. 2557. คุณค่าทางโภชนาการของข้าวพื้นเมืองไทยบางพันธุ์. กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, กรมการข้าว : 183-194.

สมทรง โชติชื่น, อัจฉราพร ณ ลาปาง, สกุล มูลคา, จรัญจิต เพ็งรัตน์, นิธิศ แสงอรุณ และ สาเริง แซ่ตัน. มปป. คุณค่าทางโภชนาการของข้าวพื้นเมืองไทยบางพันธุ์. กองวิจัยและพัฒนาข้าว, กรมการข้าว. แหล่งที่มา:http://WWW.Dspace.tarr.arda.or.th, 25 มิถุนายน 2563.

สรายุทธ อ่อนสนิท สุรพล ฐิติธนากุล ชัยณรงค์ สืบสังข์ บรรณวิชญ์ จุลพล อุดม ทิมทอง และ สายฝน ทิศกองราช. 2563. รูปแบบการสะสมเม็ดสี ระบบภูมิคุ้มกันและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากการเสริมสารสีแอนโทไซยานิน ด้วยผงมังเคร่ (*Melastoma malabathricum*) สุกในอาหารกุ้งแชบ๊วย (*Penaeus merguiensis*). แก่นเกษตร 48 ฉบับพิเศษ 1.

สุภาพร พาเจริญ. 2562. เสถียรภาพของสารสกัดแอนโทไซยานินจากรำข้าวไรซ์เบอร์รีที่ผ่านการห่อหุ้มด้วย
โปรตีนรำข้าวเข้มข้นภายใต้สภาวะค่าความเป็นกรด-ด่างและความร้อนที่แตกต่างกัน. วารสาร. มทรส. 7(2) : 205-215 .

สุภาษิต ชูกลิ่น ธีระพงค์ หมวดศรี และ ผกามาส ปุรินทราภิบาล. 2563. คุณค่าทางโภชนาการของข้าวกล้องพื้นเมืองตรัง. วารสารวิจัย มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย 12(2) : 285-296.

สุภาภรณ์ ญะเมืองมอญ และชนากานต์ เทโบลต์ พรมอุทัย . 2559. ความแปรปรวนของปริมาณแอนโทไซยานินและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวเหนียวก่าพันธุ์พื้นเมืองของไทย. วารสารเกษตร 32(2): 191 - 199 (2559).

สุริสา ศรีสุวรรณ์ อัณศยา ท่อนโพธิ์ และประสงค์ สีหานาม. 2557. สารสกัดจากผลองุ่นป่า : พฤษเคมีและฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน . วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 10 : 373-382.

สำราญ สมาธิ. 2560. ข้าวตรัง. ห้างหุ้นส่วนจากัด เอส.ออฟเซ็ท กราฟฟิค ดีไซน์, กรุงเทพฯ.

อภิชาต วรรณวิจิตร. 2561ก. ข้าวสีและสาระสำคัญเพื่อสุขภาพและความงามจากภายในสู่ภายนอก. สร้างสรรค์คุณค่าข้าวไทยด้วยเกษตรปลอดภัย และนวัตกรรมที่ยั่งยืน: สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร(องค์การมหาชน) กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 40-41 หน้า.

อมรรัตน์ เสริมวัฒนากุล และบุษกร บ้ารุงธรรม. 2543 .อาหารปลาสวยงาม. เอกสารเผยแพร่ฉบับที่ 1/2543 . สถาบันวิจัยสัตว์น้ำสวยงามและสถานแสดงพันธุ์สัตว์น้ำ, กรมประมง, กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.77 หน้า.

อรุชา คุ้มเกิด ดนยา นวมศิริและบัญญัติศิริธนาวงศ์. 2561. ผลของมันเทศสีส้มต่อความเข้มสีและการเจริญเติบโตของปลาทองพันธุ์ออรัน ดา. น.404-411. ใน: การประชุมวิชาการนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติเครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้ง ที่18 และลำปางวิจัย ครั้งที่ 4 20 กรกฎาคม 2561. สำนักงานประสานงานบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏลำปาง. ลำปาง.

อรุณี รอดลอย ณรัฐพัฒน์ อินวิเชียร กฤษณา เตบสัน อรพินท์ จินตสถาพร และ รีนำโพธิ์สา . 2562. ผลของสาหร่ายสไปรูลิน่าและแอสตาแซนทินต่อสีและการเจริญเติบโตของปลาหมอสีครอสบ

รีด (*Cichlasoma sp*.). วารสารการประมงอิเล็กทรอนิกส์ 12 ,ปีที่2 ฉบับที่4 ตุลาคม-ธันวาคม 2562.

อุไรวรรณ วัฒนกุล นพรัตน์ มะเห และ พีรพงษ์ พึ่งแย้ม . 2560. กระบวนการผลิตข้าวกล้องงอกและข้าวงอกนึ่งที่เหมาะสมต่อการเพิ่มคุณค่าสารอาหารในข้าวพื้นเมืองที่มีศักยภาพของภาคใต้. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ม. เทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย, ตรัง.

Abadio, F. D. B., Domingues, A. M., Borges, S. V., & Oliveira, V. M. (2004). Physical properties of powdered pineapple (Ananas comosus) juice––effect of malt dextrin concentration and atomization speed. Journal of Food Engineering, 64(3), 285-287.

Abdel-Aal, E-SM and P. A. Hucl. 1999. A rapid method for quantifying total anthocyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats. Cereal Chemistry 76: 350-354.

Abdel-Aal, E.S.M., Young, J.C. and Rabalski, I. 2006. Anthocyanin Composition in Black, Blue, Pink, Purple, and Red Cereal Grains. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 54, 4696-4704.

AOAC. 1990. Official Methods of Analysis. Washington, DC: AOAC.

AOAC (Association of official Analytical I Chemists). 2000. Official Methods of Analysis. Association of official Analytical I Chemists, Washington D.C.

Department of Science Service. (2010). Anthocyanin. Bangkok: Ministry of Science and Technology. (in Thai).

Goodwin T.W. 1984. The biochemistry of the carotenoids. Volume II animals. Chapman and Hall. New York. 224 p.

Gouveia l., P. Rema, O. Pereira and J. Empis. 2003. Colouring ornamental fish (*Cyprinus carpio* And *Carassius auratus*) with microalgal biomass. Aquaculture Nutrition. 9 : 123-129.

Hien, T.T. Huy, D.H. Dominutti, P.A. ThienChi, N.D. Hopkins, J.R. Shaw, M. Forster, G. Mills, G. Le, H.A. Oram D. 2022. omprehensive volatile organic compound measurements and their implications for ground-level ozone formation in the two main urban areas of Vietnam. Atmos. Environ., 269 , Article 118872.

Hou, Z., Qin, P., Zhang, Y., Cui, S., & Ren, G. 2013. Identification of anthocyanins isolated from black rice (*Oryza sativa* L.) and their degradation kinetics. Food Research International,50(2), 691-697.

Hu, X., Zawistowski, J., Ling, W., and Kitts, D.D. 2003. Black rice (*Oryza sativa* L., indica) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems, *Jounal of Agricultural and Food Chemistry,* 51 : 5271-5277.

Hunter, B. 2000. Physiological function of astaxanthin and other carotenoids in marine organisms. In First South East Asia and Pacific Regional Meeting in carotenoids. p.19. Bangkok Thailand 2-5 August 2000. Mahidol University, Bangkok.

Jyothi M.V., Peethambaran D. and Bhagyalakshmi N. 2012. Identification of previously unreported pigments among carotenoids and anthocyanins in floral petals of Delonix regia (Hook.) Raf. Food Research International. 47: 116- 123.

Keawpeng, I. and Meenune, M. 2012. Physicochemical properties of organic and inorganic Phatthalung Sungyod rice. International Food Research Journal 19 (3) : 857-861.

Kiriratnikom, S., Zaau, R. and Suwanpugdee, A. 2005. Effects of various levels of Spirulina on growth performance and pigmentation in goldfish (Carassius aurarus). Songklanakarin Journal of Science and Technology.

Latscha, T. 1991. Carotenoids in aquatic animal nutrition. pp. 63-78. In Proceeding of The Aquaculture Feed Proceeding and Nutrition Workshop, Bangkok Thailand, Sep. 19-25 1991.

Renuka N, Sood A, Prasanna R, Ahluwalia AS. 2015. Phycoremediation of wastewaters: a synergistic approach using microalgae for bioremediation and biomass generation. Int. J. Environ. Sci. Technol. (2015) 12:1443–1460.

Rtthisong T. 2002. Goldfish and commercial culture. Kasetsart Journal Natural Science. 24: 189-190.

See, K.S., Bhatt, A., & Keng, C.L. 2011. Effect of sucrose and methyl jasmonate on biomass and anthocyanin production in cell suspension culture of *Melastoma malabathricum* (Melastomaceae). Revista de Biología Tropical 59; 597-606.

Shokrzadeh , M. and Ebadi, A.G. 2006. Antibacterial Effect of Garlic (*Allium sativum* L.) on *Staphylococcus aureus*. *Pakistan Journal of Biological Sciences,* 9: 1577-1579.

Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G. and Berghofer, E. 2011. Physicochemical and Antioxidative Properties of Red and Black Rice Varieties from Thailand, China, and Sri Lanka. Food Chemistry, 1, 132-140.

Suravanichnirachorn, W., W. Chantrapornchai, V. Haruthaithanasan and U. Sukatta. 2012. Extraction of Anthocyanins from High Anthocyanin Purple Corn Hybrid: KPSC 901, pp. 125- 128. In Proceedings of the 14th Food Innovation Asia Conference 2012. 14-15 June 2012. Bangkok, Thailand.

Villasante, A., Patro, B., Chew, B., Becerra, M., Wacyk, J., Overturf, K., Powell, S. M., & Hardy, R. W. 2015. Dietary Intake of Purple Corn Extract Reduces Fat Body Content and Improves Antioxidant Capacity and n‐3 Polyunsaturated Fatty Acid Profile in Plasma of Rainbow Trout, *Oncorhynchus mykiss*. Journal of the World Aquaculture Society, 46(4), 381-394.

Wong, C. W., Teoh, C. Y., & Putri, C. E. (2017). Effect of enzymatic processing, inlet temperature, and maltodextrin concentration on the rheological and physicochemical properties of spray‐dried banana (Musa acuminata) powder. Journal of Food Processing and Preservation, 42(2).

Worsltad, R. E., Durst, R. W., & Lee, J. (2005). Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. Trends Food Sci. Technol. 16, 423-428.

Yang, Z. and W. Zhai. 2010. Identification and antioxidant activity of anthocyanins extracted from the seed and cob of purple corn (Zea maysL.). Innovative Food Science and Emerging Technologies 11: 169-176.

Yue, X., & Xu, Z. 2008. Changes of anthocyanins, anthocyanidins, and antioxidant activity in bilberry extract during dry heating. Journal of Food Science, 73(6), C494-C499.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ภาพการวิเคราะห์ค่าต่างๆ

แกลบข้าวไรซ์เบอร์รี

แกลบข้าวสังข์หยด

แกลบข้าวทับทิมชุมแพ

แกลบข้าวเบายอดม่วง

แกลบข้าวเหนียวดำ

ภาพผนวกที่ 1 ตัวอย่างแกลบของข้าวเปลือกเก็บตัวอย่างสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์

ซังข้าวไรซ์เบอร์รี

ซังข้าวสังข์หยด

ซังข้าวทับทิมชุมแพ

ซังข้าวเบายอดม่วง

ซังข้าวเหนียวดำ

ภาพผนวกที่ 2 ตัวอย่างซังข้าวสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์

รำข้าวไรซ์เบอร์รี

รำข้าวสังข์หยด

รำข้าวทับทิมชุมแพ

รำข้าวเบายอดม่วง

รำข้าวเหนียวดำ

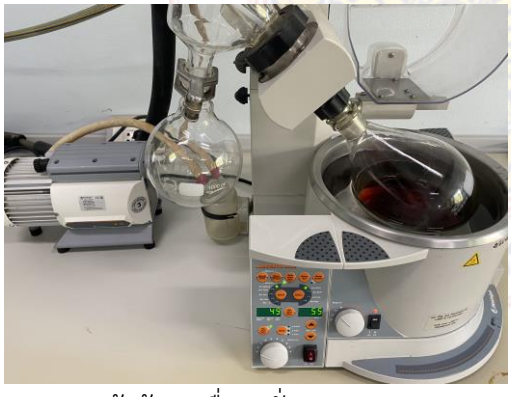
ภาพผนวกที่ 3 ตัวอย่างรำข้าวสำหรับการทดลอง จำนวน 5 สายพันธุ์

ชั่งตัวอย่างแกลบ

บ่มใน 0.1% กรดไฮโดรคลอริกในเอทานอล

เก็บไว้ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

กรองด้วยกระดาษกรอง



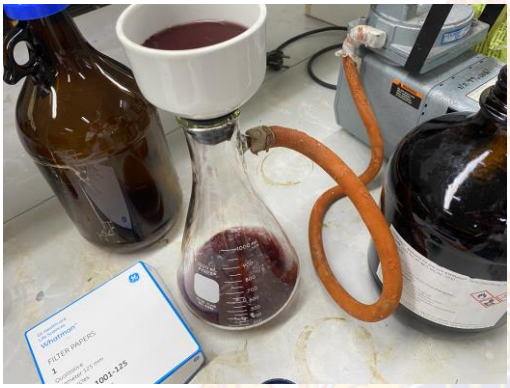
ระเหยแห้งด้วยเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ

ผงสีแอนโทไซยานินจากแกลบและรำข้าว

ภาพผนวกที่ 4 การเตรียมผงสีแอนโทไซยานินจากแกลบและรำข้าว

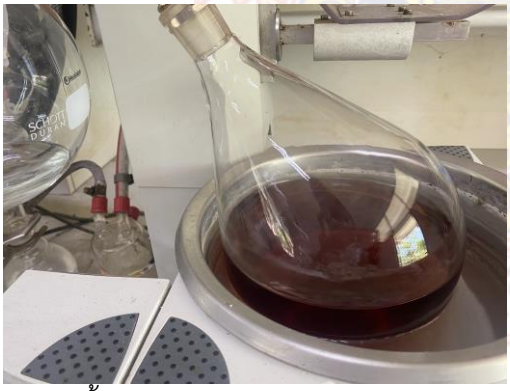
ชั่งน้ำหนักซังข้าว

บ่มในน้ำกลั่น อุณหภูมิ 87.5±1 องศาเซลเซียส



บีบสารสกัดออกจากซัง

สารละลายส่วนในของซังข้าว



ระเหยน้ำออกจากสารสกัดในระบบปิดภายใต้สภาวะสุญญากาศ

ผงสีแอนโทไซยานินจากซังข้าว

ภาพผนวกที่ 5 การเตรียมผงสีแอนโทไซยานินจากซังข้าว

น้ำสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี

น้ำสารสกัดรำข้าวสังข์หยด

น้ำสารสกัดรำข้าวเบายอดม่วง

น้ำสารสกัดรำข้าวทับทิมชุมแพ

น้ำสารสกัดรำข้าวเหนียวดำ

ภาพผนวกที่ 6 สีของน้ำสารสกัดรำข้าว จำนวน 5 สายพันธุ์

น้ำสารสกัดแกลบข้าวไรซ์เบอร์รี

น้ำสารสกัดแกลบข้าวสังข์หยด

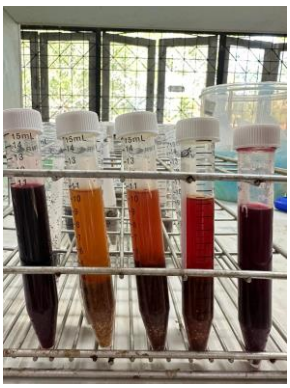
น้ำสารสกัดแกลบข้าวเบายอดม่วง

น้ำสารสกัดแกลบข้าวทับทิมชุมแพ

น้ำสารสกัดแกลบข้าวเหนียวดำ

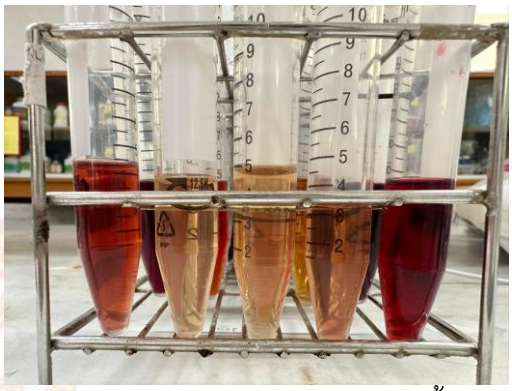
ภาพผนวกที่ 7 สีของน้ำสารสกัดแกลบข้าว จำนวน 5 สายพันธุ์

วิเคราะห์ปริมาณสารสีแอนโทไซยานินทั้งหมด

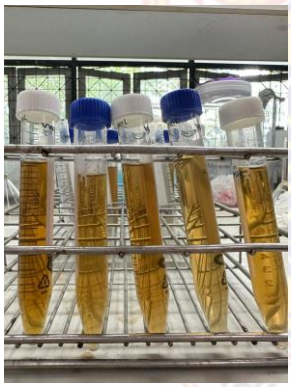


วิเคราะห์ปริมาณสารสีแอนโทไซยานินทั้งหมด

วิเคราะห์ปริมาณสารสีแอนโทไซยานินทั้งหมด



วิเคราะห์ปริมาณสารสีแอนโทไซยานินทั้งหมด

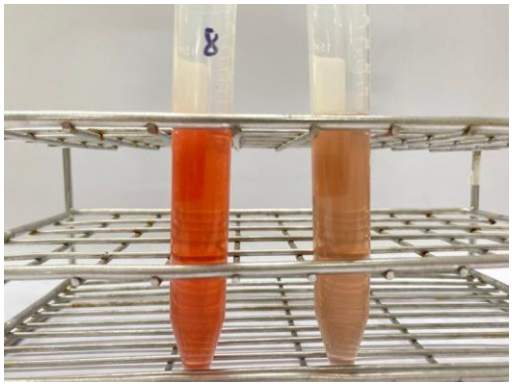


วิเคราะห์ปริมาณสารสีแอนโทไซยานินทั้งหมด

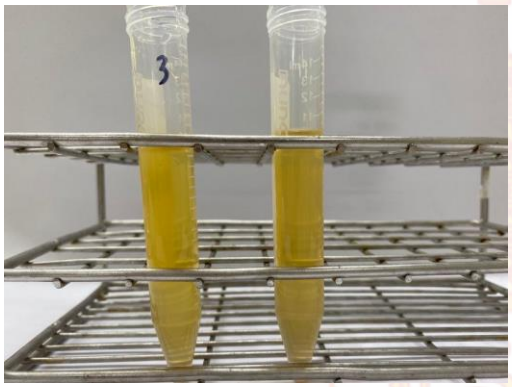
วิเคราะห์ปริมาณสารสีแอนโทไซยานินทั้งหมด

ภาพผนวกที่ 8 การวิเคราะห์ปริมาณสารสีแอนโทไซยานินทั้งหมด

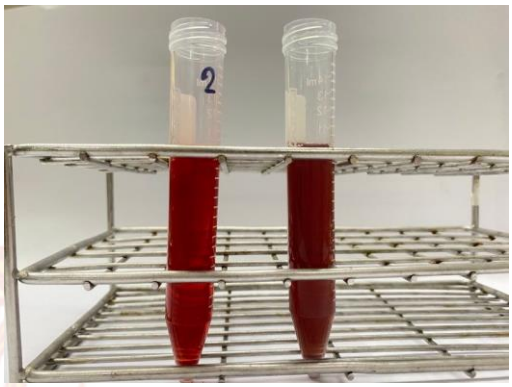
การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน



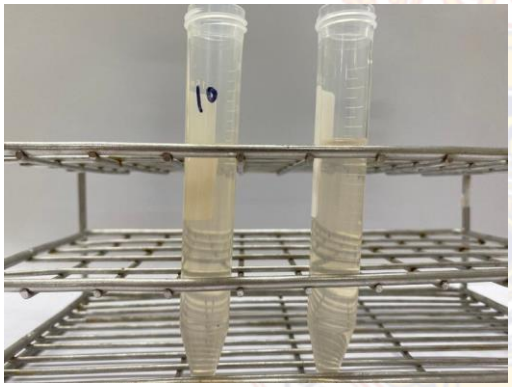
การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน



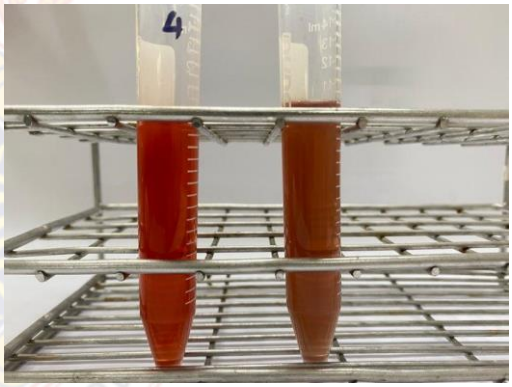
การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน



การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน



การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน



การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

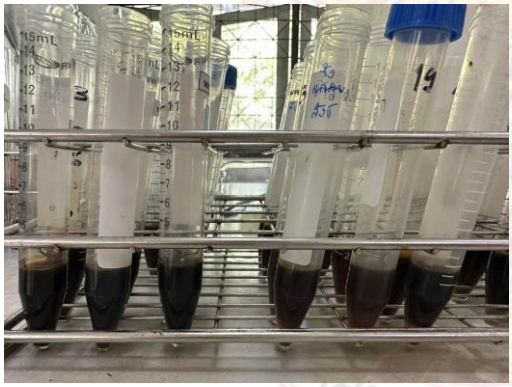
ภาพผนวกที่ 9 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในรูปของไซยานิดิน -3- กลูโคไซด์

วิเคราะห์ปริมาณ Aw

วิเคราะห์ปริมาณ Aw

วิเคราะห์ปริมาณค่าสี

วิเคราะห์ปริมาณค่าสี



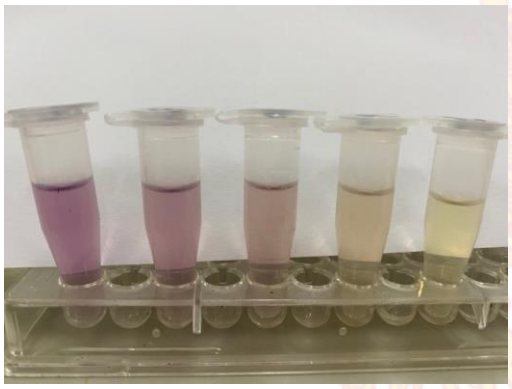
วิเคราะห์การละลาย

วิเคราะห์การละลาย

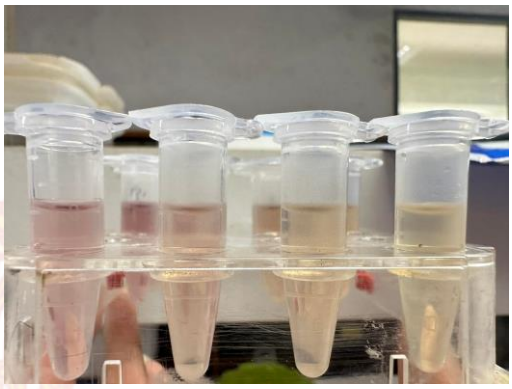
ภาพผนวกที่ 10 การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ

วิเคราะห์ปริมาณความชื้น

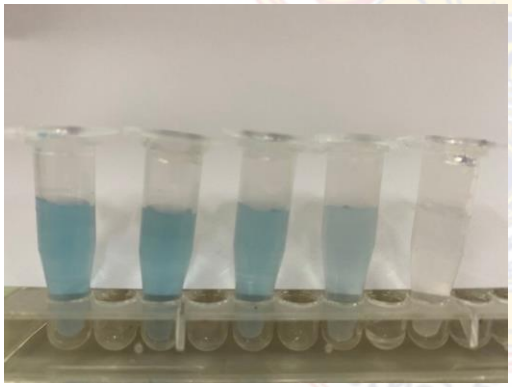
วิเคราะห์ปริมาณความชื้น



วิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH



วิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH



วิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS

วิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี ABTS

ภาพผนวกที่ 11 การวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

การเตรียมระบบเลี้ยง

การเตรียมระบบเลี้ยง

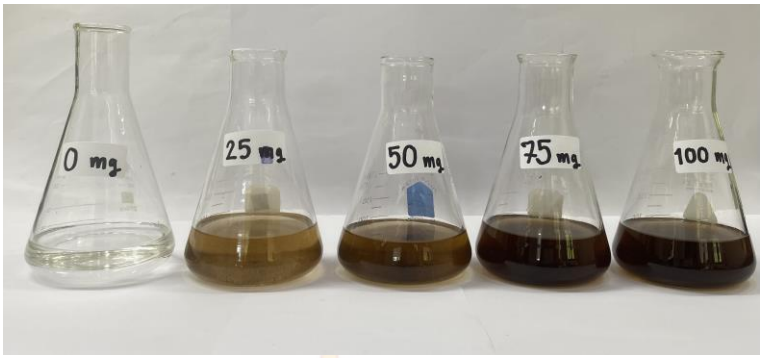
การเตรียมสัตว์ทดลอง

การเตรียมสัตว์ทดลอง

ทำการทดลองเลี้ยงปลา

เก็บรวบรวมข้อมูลน้ำหนักปลาเริ่มต้นทดลองเลี้ยง

ภาพผนวกที่ 12 การเตรียมระบบเลี้ยง และทำการทดลองเลี้ยงปลาทอง



การเตรียมอาหารทดลอง

การเตรียมอาหารทดลอง

การเตรียมอาหารทดลอง

การเตรียมอาหารทดลอง

ภาพผนวกที่ 13 การเตรียมอาหารทดลอง

กระเทียมต้นอบแห้ง

ผักหวานบ้านอบแห้งบดละเอียด

หัวผักกาดอบแห้งบดละเอียด

เห็ดหอมอบแห้งบดละเอียด

มะเขือเทศอบแห้งบดละเอียด

หอมหัวใหญ่อบแห้งบดละเอียด

ภาพผนวกที่ 14 การศึกษาการเจริญเติบโต และการศึกษาสีผิวตัวภายนอก

ภาคผนวก ข

วิธีการวิเคราะห์ค่าต่างๆ

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (A.O.A.C., 2000)

. อุปกรณ์และเครื่องมือ

1) ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven)

2) ภาชนะอะลูมิเนียมสำหรับหาปริมาณความชื้น (aluminium can/moisture can)

3) โถดูดความชื้น (desiccator)

4) เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 4 ตำแหน่ง

วิธีการวิเคราะห์

1) อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา ในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 100 -105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง วางให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปอบซ้ำเป็นเวลา 30 นาที จนทราบน้ำหนักที่แน่นอน

2) ชั่งน้ำหนักให้ได้ตัวอย่างแน่นอนประมาณ 1 - 3 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียมเกลี่ยตัวอย่างให้กระจาย

3) นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง นำออกมาวางให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนัก นำไปอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักที่แน่นอนชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 0.001 - 0.003 มิลลิกรัม แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(W_1-W_2)\times 100}{W_2}$$

W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2. การวัดค่าสี L* , a* และ b* โดยเครื่องวัดสี Color Flex EZ

วัสดุอุปกรณ์

- ตัวอย่างอาหาร
- ภาชนะสำหรับบรรจุตัวอย่าง

วิธีการวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างใส่ภาชนะสำหรับบรรจุตัวอย่าง จากนั้นเกลี่ยตัวอย่างให้ครอบคลุมภาชนะบรรจุตัวอย่าง อย่าให้มีช่องว่างภายในภาชนะสำหรับบรรจุตัวอย่าง

2. นำภาชนะที่บรรจุตัวอย่างไปวางบนเครื่องวิเคราะห์ค่าสีจากนั้นกดตัววิเคราะห์ จดบันทึกค่าสี L* ค่าสี a*และ ค่าสี b* ที่เครื่องอ่านได้

3. การหาค่าวอเตอร์แอคติวิตี้ (Aw) โดยเครื่องวัดค่า Aw

วัสดุอุปกรณ์

1. อุปกรณ์สำหรับเตรียมตัวอย่าง เช่น มีด เขียง เครื่องบดอาหาร
2. เครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ (water activity meter)
3. เครื่องชั่งไฟฟ้า

วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมเปิดเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ ทำการวอร์มเครื่องก่อนใช้งาน 30 นาที

2. Calibrate เครื่องด้วยสารละลาย NaCl ที่มีค่า Aw อยู่ในช่วงเดียวกับตัวอย่างอาหารที่ต้องการวัดค่าทุกครั้งก่อนใช้เครื่องหรืออาจใช้น้ำกลั่นในการ Calibrate โดยจะมีค่า Aw อยู่ในช่วง 0.997 - 1.003

3. บรรจุตัวอย่างบดละเอียดลงในภาชนะบรรจุที่ใช้สำหรับเครื่องวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ให้ได้ประมาณ 1 ใน 3 ของภาชนะบรรจุ

4. เกลี่ยตัวอย่างให้กระจายให้ทั่วครอบคลุมพื้นที่ของก้นภาชนะบรรจุและตรวจสอบความสะอาดบริเวณขอบและด้านนอกของภาชนะบรรจุ

5. ใส่ภาชนะบรรจุไปในช่องใส่ตัวอย่าง หมุนปุ่มจากตำแหน่ง OPEN/LOAD ไปยังตำแหน่ง READ เครื่องจะเริ่มทำการวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ (วัดตัวอย่างละ 3 ซ้ำ)

6. เมื่อเครื่องทำการวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี้เสร็จเรียบร้อยแล้วจะมีสัญญาณเตือนที่หน้าจอของเครื่องจะแสดงค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ที่อ่านได้พร้อมอุณหภูมิของตัวอย่าง

7. บันทึกค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ที่วัดได้และทำความสะอาดเครื่องก่อนวัดค่าวอเตอร์แอกติวิตี้ของตัวอย่างต่อไป

4. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH scavenging activity method)ดัดแปลงจาก Fengiln (2004)

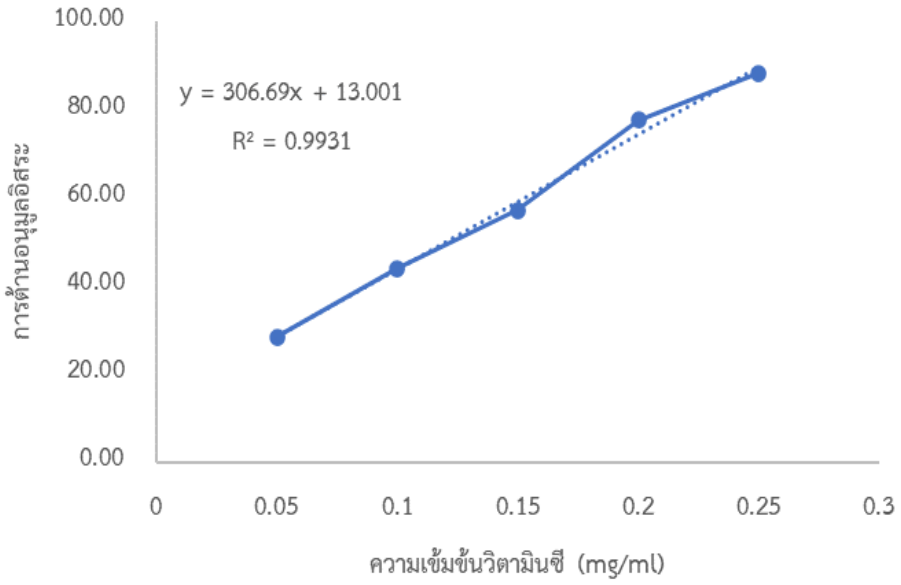
วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยนำสารสกัดแต่ละชนิดในเมทานอลที่มีความเข้มข้นต่างๆ กัน ปริมาตร 100 ไมโครลิตรแล้วเติมสารละลาย 1 mM DPPH ในเมทานอลปริมาตร 900 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้องในที่มืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ค่าความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เปรียบเทียบกับชุดควบคุมซึ่ง ใส่เมทานอลเท่านั้นแทนสารสกัดเป็น blank และสารละลาย 10 mM ascorbic acid เป็น positive control การทดลองทำซ้ำ 3 ชุดการทดลอง นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การดักจับอนุมูลอิสระ DPPH° จากสมการ

$$\% \text{ scavenging} = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH° ได้ 50 เปอร์เซ็นต์) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % scavenging กับความเข้มข้นของสารละลาย



กราฟมาตรฐานสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH scavenging activity

5. การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี ABTS ทำตามวิธี สุริสา และคณะ (2557)

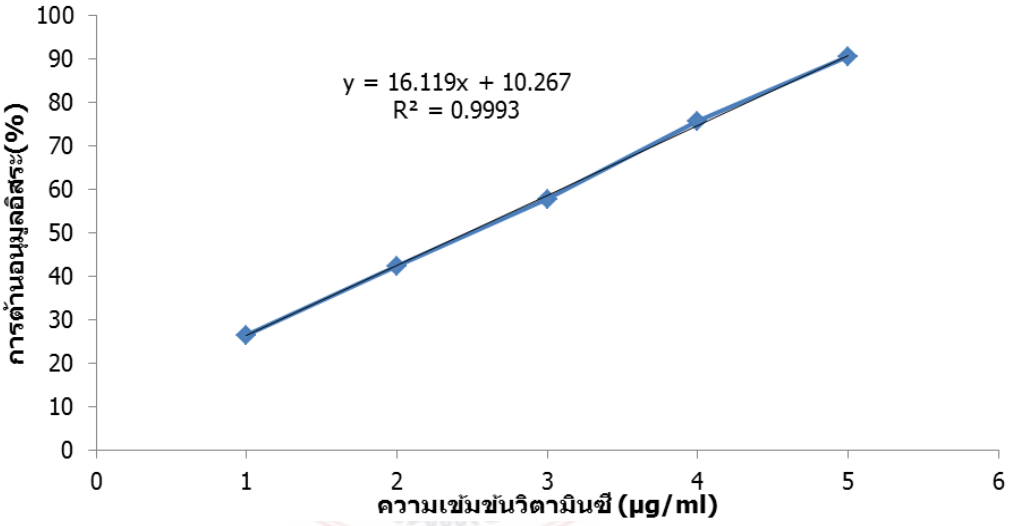
วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยนำสารสกัดแต่ละชนิดในเมทานอลที่มีความเข้มข้นที่ 200, 400, 600, 800, 1000 μg/ml อย่างละ 2 ml และละลาย Vitamin C เพื่อใช้เป็นสารมาตรฐาน ด้วยตัวทำละลายเมทานอล ให้มีความเข้มข้นที่ 1, 2, 3, 4, 5, 6 μg/ml อย่างละ 2 ml ผสมสารละลายตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และสารละลาย ABTS cation radical ปริมาตร 1 มิลลิลิตร แล้วนำสารผสมที่ได้เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้มาคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง จากสูตร

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{control} - A_{sample}) / A_{control}] \times 100$$

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดทดสอบ

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม

จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} (ค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถดักจับอนุมูลอิสระ DPPH° ได้ 50 เปอร์เซ็นต์) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % scavenging กับความเข้มข้นของสารละลาย



กราฟมาตรฐานสารต้านอนุมูลอิสระ ABTS scavenging activity

6. การวิเคราะห์แอนโทไซยานินทั้งหมด (ดัดแปลงจาก Abdel-Aal และ Hucl ,1990)

การเตรียมสารเคมี

1) 85 % เมทานอล เตรียมโดย ตวงเมทานอล 85 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2) 1.0 N กรดไฮโดรคลอริก เตรียมโดย ตวงกรดไฮโดรคลอริก 8.28 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วย 85 % เมทานอล

การสกัดสารพฤกษเคมี (ดัดแปลงจาก Abdel-Aal และ Hucl ,1990)

การสกัดสารตัวอย่าง โดยนำสารตัวอย่างผสมกับกรดไฮโดรคลอริก (ความเข้มข้น 1.0 N ในเมทานอล (85/15 : v/v) อัตราส่วน 1:10 น้ำหนักต่อปริมาตร (w/v) และปรับ pH เท่ากับ 1 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (4.0 N) นำไปเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง และทำการกรอง นำสารสกัดมาหมุนเหวี่ยงที่ 3,461 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนใสที่ได้ไว้ในขวดสีชา การเก็บรักษาจะต้องเก็บไว้ ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส จนกว่าจะวิเคราะห์ครั้งต่อไป

การวิเคราะห์แอนโทไซยานิน (TAC) ใช้วิธีของ Abdel-Aal และ Hucl ,1990

นำสารสกัดตัวอย่างมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 535 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์ และคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานิน ในหน่วยมิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างน้ำหนักแห้ง ซึ่งคำนวณจากสมการต่อไปนี้

$$C = (A/\beta) \times (vol/1{,}000) \times MV \times (1/\text{น้ำหนักตัวอย่าง}) \times 10^6$$

เมื่อ C = ความเข้มข้นของแอนโทไซยานิน

A = ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้

β = molar absorptivity (25,965)

vol = ปริมาตรทั้งหมดของสารสกัด

MV = มวลโมเลกุล (449)

7. การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินด้วยวิธีพีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียล

ดัดแปลงตามวิธีการ จากงานวิจัยของ Worsltad, Durst and Lee, (2005)

ตรวจสอบปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยวิธี pH differential ทำโดยปรับระดับความเจือจางของตัวอย่างในสารละลายบัฟเฟอร์ของโพแทสเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ ที่ pH เท่ากับ 1.0 และสารละลายบัฟเฟอร์ของโซเดียมอะซิเตท ความเข้มข้น 0.40 โมลาร์ ที่ pH เท่ากับ 4.5 จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 และ 700 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รายงานผลในรูปของ monomeric anthocyanins pigment (มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่าง)

ดังสมการ $(A \times MV \times DF \times 1{,}000) / \varepsilon \times L$

เมื่อ $A = (A_{510} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{510} - A_{700})_{pH1.0}$

MV = มวลโมเลกุล (449.2)

β = molar absorptivity (26,900)

DF = Dilution factor

L = ขนาดความกว้างของคิวเวต (เซนติเมตร) ที่ใช้สัดค่าการดูดกลืนแสง

8.การวิเคราะห์ค่าการละลาย

การหาค่าการละลายอุณหภูมิห้อง ดัดแปลงจากวิธีของ (Sangeeta, et al., 2015) โดย ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น ปริมาตร 25 มิลลิลิตร กวนด้วยแท่งแม่เหล็กกวนสาร (magnetic bar) ความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที 1 ชั่วโมง หลังจากนั้น นำตัวอย่างเข้า เครื่องปั่นเหวี่ยง ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที 10 นาที เทส่วนที่ เป็นของเหลวลงในถ้วยอลูมิเนียมที่ผ่านการอบที่ 105°C 4 ชั่วโมง และชั่งน้ำหนักแล้ว นำตัวอย่างเข้าตู้อบที่ 105°C 4 ชั่วโมง นำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ทำการชั่งน้ำหนักถ้วยอลูมิเนียมหลังอบ นำมาคำนวณใน สมการหาค่าการละลายในสมการดังนี้

$$\text{การละลาย (\%)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)}} \times 100$$