รายงานการวิจัย

เปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ โลหะหนักตกค้าง สารสี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของไข่น้ำ(*Wolffia*) จากธรรมชาติและการเลี้ยง

Comparison of Nutritional Value, Heavy Metal Residue, Pigment and Antioxidant Activity of Water Meal (*Wolffia*) between Natural and Cultured

ผศ.ดร.วรรณิณี จันทร์แก้ว Wanninee Chankaew
อาจารย์อัมพร รัตนมูสิก Amphorn Rattanamisik

คณะเกษตรศาสตร์
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ได้รับการสนับสนุนทุนจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย
งบประมาณเงินรายได้ประจำปี ๒๕๖๒

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับการสนับสนุนทุนวิจัยจากมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีศรีวิชัย งบรายได้ประจำปี 2562 ซึ่งงานวิจัยเรื่องนี้เป็นการศึกษาเบื้องต้นในการก่อให้เกิดองค์ความรู้ใหม่เพื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ที่เป็นการเพิ่มมูลค่าของไข่น้ำต่อไป ขอขอบคุณนักศึกษาหลักสูตรสาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช สำหรับการเก็บตัวอย่างไข่น้ำในภาคสนาม

วรรณิณี จันทร์แก้ว
อัมพร รัตนมุสิก

กันยายน 2563

เปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ โลหะหนักตกค้าง สารสี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของไข่น้ำ(*Wolffia*) จากธรรมชาติและการเลี้ยง

วรรณิณี จันทร์แก้ว[1] และ อัมพร รัตนมุสิก[1]

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไข่น้ำจากธรรมชาติและจากการนำมาเลี้ยง ซึ่งไข่น้ำจากธรรมชาติได้เก็บตัวอย่างมาจากอำเภอเขาชัยสน จังหวัดพัทลุง และนำไข่น้ำจากธรรมชาติมาทำการเลี้ยงด้วยปุ๋ยมูลไก่เพื่อได้เป็นไข่น้ำจากการเลี้ยง การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีประกอบด้วย การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณแคโรทีนอยด์ ส่วนการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระเพื่อศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพซึ่งทำการสกัดด้วยน้ำด้วยตัวทำละลายที่ต่างกัน 3 ชนิดได้แก่ เอทิลอะซิเตท เอทานอล และเมทานอล ผลการศึกษาพบว่า ไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงมีคุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยพบว่า ในสารสกัดไข่น้ำจากธรรมชาติที่สกัดด้วยเมทานอลมีปริมาณฟีนอลิกสูงสุดเท่ากับ 38.499±2.789 mg GAE/g extract ส่วนของฤทธิ์ยับยั้ง DPPH radical พบว่าสารสกัดไข่น้ำจากธรรมชาติที่สกัดด้วยเอทานอลสามารถยับยั้งได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.018±0.00 mg/ml จากการวิเคราะห์ค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ของค่า IC_{50} ของฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระกับสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีความสัมพันธ์เชิงลบกับค่า IC_{50} ของฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ ($r= - 0.264$)

คำสำคัญ: ไข่ผำ,อนุมูลอิสระ,การเลี้ยง

[1]ผู้ช่วยศาสตราจารย์ หลักสูตรสาขาวิชาการเพาะเลี้ยงสัตว์น้ำและการจัดการทรัพยากรประมง คณะเกษตรศาสตร์ มทร.ศรีวิชัย อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช

[2]อาจารย์ หลักสูตรสาขาวิชาประมง คณะเกษตรศาสตร์ มทร.ศรีวิชัย อ.ทุ่งสง จ.นครศรีธรรมราช

Comparison of Nutritional Value, Heavy Metal Residue, Pigment and Antioxidant Activity of Water Meal (*Wolffia*) between Natural and Cultured

Wanninee Chankaew[1] and Amphorn Rattamusik[1]

Abstract

This study was to compare the chemical composition, total phenolic content and antioxidative activities between natural and cultured *Wolffia globosa*. Natural *W. globosa* was collected from Khao Chai Son district, Phatthalung province, after that natural *W. globosa* were cultured at the outdoor by chicken manure as a cultured *W. globosa*. Nutritional value, total carotenoid contents was determined as chemical compositions and total phenolic content and antioxidant inhibition was determined as biological activities. The biological activities was determined from the extracted *W.globosa* samples at different solvent, such as ethyl acetate, ethanol and methanol. The results found that the nutritional value, total phenolic content of *W. globosa* from natural and cultured were significant differences ($p<0.05$). The highest of total phenolic contents in methanolic extract was 38.499±2.789 mg GAE/g extract. The highest activity of scavenging DPPH was found in *W. globosa* from natural (ethanolic extract) with IC_{50} = 0.018±0.00 mg/ml. According to the Peason's coefficient correlation showed that all extracts were negative correlations betwenn the total phenolic contents and IC_{50} value of DPPH activities (r=-0.264).

Keywords: duck weed, free radical, culture

---

[1] Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat.

[2] Faculty of Agriculture, Rajamangala University of Technology Srivijaya, Nakhon Si Thammarat.

สารบัญ

		หน้า
กิตติกรรมประกาศ		ก
บทคัดย่อ		ข
สารบัญ		ง
สารบัญตาราง		จ
สารบัญภาพ		ฉ
บทที่ 1	บทนำ	
	1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
	1.2 ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
	1.3 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	8
	1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
บทที่ 2	วิธีการดำเนินการวิจัย	
	2.1 วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีและเครื่องมือในการศึกษา	9
	2.2 วิธีการศึกษา	10
	2.3 การวิเคราะห์ข้อมูล	13
บทที่ 3	ผลการวิจัยและอภิปรายผล	
	3.1 ผลผลิตของไข่น้ำจากการเลี้ยง	14
	3.2 คุณค่าทางโภชนาการของไข่น้ำ	15
	3.3 ปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ของไข่น้ำ	17
	3.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไข่น้ำ	17
	3.5 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบไข่น้ำ	20
	3.6 ปริมาณโลหะหนักตกค้างในไข่น้ำ	20
บทที่ 4	สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	22
	บรรณานุกรม	23
	ภาคผนวก	27

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ส่วนประกอบสารอาหารโดยประมาณในมูลไก่.....	7
2	น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และปริมาณแคโรทีนอยด์รวมของไข่น้ำที่ได้จากเลี้ยงในพื้นที่ร่มเงาและกลางแจ้ง.....	15
3	คุณค่าทางโภชนาการของไข่น้ำที่ได้จากธรรมชาติและการเลี้ยง.....	16
4	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และค่า IC_{50} กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง.....	18
5	ปริมาณโลหะหนักของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง.....	21

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แหล่งน้ำธรรมชาติที่มีการเจริญของไข่น้ำ	11
2	เปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการระหว่างของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง.....	16
3	เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์รวมระหว่างของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง.....	17
4	เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง.....	18
ภาพผนวกที่		
1	การพักไข่น้ำสำหรับการเลี้ยง(ก) การเลี้ยงในพื้นที่กลางแจ้ง (ข) การเลี้ยงในพื้นที่ร่ม(ค)การปล่อยไข่น้ำลงเลี้ยงและการเติมปุ๋ย(ง) ผลผลิตที่ได้จากการเลี้ยง 24 วัน (จ,ฉ,ช) และการวิเคราะห์สารสีของไข่น้ำ(ซ,ฌ).....	27

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำวิจัย

ไข่น้ำหรือไข่ผำ (*Wolffia*) เป็นพืชน้ำ ที่ได้ถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการประกอบอาหารพื้นบ้านของไทยเป็นเวลานานโดยเฉพาะในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อรุณีและคณะ, 2552) เนื่องจากไข่น้ำมีคุณค่าทางโภชนากรที่ดีโดยเฉพาะมีโปรตีนสูงถึงร้อยละ 48 ไขมันร้อยละ 9 และเยื่อใยร้อยละ 14 อีกทั้งยังมีกรดอมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น ทรีโอนีน, วาลีน, เมไทโอนีน, ไอโซลูซีน, ลูซีน, เฟนิลอะลานีน, ไลซีน, ทรีโอนีน, ทริพโตเฟน, อาร์จินีนและฮีสทิดีน (Ruekaewma et al, 2015) นอกจากนี้ยังมีรงควัตถุ เช่น ปริมาณคลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ สารพฤกษเคมีเช่น ปริมาณฟลาโวนอยด์ และวิตามินบี 12 ในปริมาณสูง (Szamrej and Czerpak, 2004) รวมทั้งไข่น้ำเหมาะที่จะเป็นเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่างๆ เช่น อาหารสัตว์ (Chantiratikul et al, 2010) นอกจากนี้มีของ Appenroth et al.,(2017) พบว่าไข่น้ำและพืชน้ำอื่นๆในวงศ์ Lemnaceae มีปริมาณโปรตีน ไขมัน แป้ง กรดอะมิโน และกรดไขมัน มีค่าอยู่ในระดับใกล้เคียงกับคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก (WHO) โดยเฉพาะ *Wolffia hyalina* และ *Wolffia microscopica* เหมาะแก่การใช้เป็นอาหารสำหรับมนุษย์

อย่างไรก็ตามการนำไข่น้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติมาใช้ประโยชน์ยังประสบปัญหาหลาประการโดยเฉพาะการที่ไม่สามารถควบคุมผลผลิตและคุณภาพของไข่น้ำโดยเฉพาะคุณค่าทางโภชนาการได้ ดังนั้นการเลี้ยงไข่น้ำในโรงเรือนจึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจเพื่อให้ได้ผลผลิตที่มีคุณภาพตามที่ต้องการได้แต่ต้องมีข้อมูลที่ต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมต่อไปในหลายประการโดยเฉพาะฤทธิ์ทางชีวภาพของไข่น้ำ นอกจากนี้ยังพบว่าการศึกษาทางด้านฤทธิ์ทางชีวภาพของไข่น้ำซึ่งมีผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคโดยตรงนั้นมีค่อนข้างน้อย ดังนั้น หากได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์ทางชีวภาพของไข่น้ำจากธรรมชาติซึ่งได้เก็บตัวอย่างในพื้นที่ภาคใต้ในครั้งนี้ยังไม่เคยมีการรายงานมาก่อนรวมถึงไข่น้ำที่ได้จากการเลี้ยงเพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้ในการเลี้ยงและเพิ่มมูลค่าของไข่น้ำต่อไป

1.2 ทบทวนวรรณกรรมและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

1.2.1 ลักษณะทั่วไปของไข่น้ำ

ไข่น้ำ (Water meal, *Wolffia* sp.) ไข่น้ำ หรือ ผำ จัดเปนพืชชั้นสูงใบเลี้ยงเดี่ยวเป็นพืชดอกที่มีขนาดเล็กที่สุดในโลกอยู่ในวงศ์ Lemnaceae เป็นพืชลอยน้ำที่มีขนาดเล็กมองเห็นเป็นเม็ดสีเขียวกลมหรือเกือบกลม มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 0.5 – 1.5 มิลลิเมตร ไม่มีราก ลอยอยู่บนผิวน้ำ อาจเกิดเดี่ยวหรือติดกันเป็นคู่ ดอกมีขนาดเล็ก ออกดอกเป็นช่อ ประกอบด้วยดอกตัวผู้ 1 ดอก ดอกตัวเมีย 1 ดอก มีการสืบพันธุแบบอาศัยเพศโดยใช่เมล็ด ซึ่งห่อหุ้มด้วยรังไข่ ส่วนการสืบพันธุแบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหนอ ไข่น้ำพบมากทางภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย (กันย์สินี, 2552) จากการศึกษาของ Ruekaewma et al., (2015) พบว่าไข่น้ำจากการเลี้ยงมีโปรตีนร้อยละ 48 ไขมันร้อยละ 9 เยื่อใยร้อยละ14 มีกรดอมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย เช่น ทรีโอนีน, วาลีน, เมไทโอนีน, ไอโซลูซีน, ลูซีน, เฟนิลอะลานีน, ไลซีน, ทรีโอนีน, ทริพโตเฟน, อาร์จินีน และฮีสทิดีน จากการศึกษาของ Appenroth et al., (2017) รายงานว่า พืชน้ำกลุ่มแหนหรือ duckweed วงศ์ Lemnaceae มี 5 สกุลได้แก่ *Spirodela, Landoltia*, *Lemna, Wolffiella* และ *Wolffia* เป็นพืชลอยน้ำมีการบริโภคเป็นอาหารของมนุษย์มานาน เมื่อนำมาวิเคราะห์โปรตีน ไขมัน แป้ง กรดอะมิโน และกรดไขมัน พบว่าปริมาณโปรตีนมีตั้งแต่ร้อยละ 20 - 35 ไขมันร้อยละ 4 - 7 และแป้งร้อยละ 4 - 10 ต่อน้ำหนักแห้ง ที่น่าสนใจคือ การกระจายของกรดอะมิโนมีค่าใกล้เคียงกับคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก(WHO) เช่น ไลซีนร้อยละ 4.8 เมไทโอนีน+ซีสตินร้อยละ 2.7 และเฟนิลอะลานีน+ไทโรซีนร้อยละ 7.7% ปริมาณของกรดไขมันไม่อิ่มตัวอยู่ระหว่างร้อยละ 48 - 7 และมีปริมาณกรดไขมัน n3 สูงทำให้อัตราส่วนของ n 6 / n3 อยู่ที่ 0.5 หรือต่ำกว่า ทั้งนี้ในพืชชั้นสูงที่เติบโตเร็วคือ W. *microscopica* มีสารไฟโตสเทอรอล (phytosterol) 50 มิลลิกรัม/1 กรัมไขมัน แต่สารอาหารในพืชน้ำสามารถเปลี่ยนแปลงได้ตามสภาพการเลี้ยง ดังนั้นไข่น้ำชนิด W. *hyalina* และ W. *microscopica* จึงแนะนำให้ใช้เป็นอาหารของมนุษย์ นอกจากนี้ไข่น้ำมีความสำคัญต่อระบบนิเวศน์โดยเป็นอาหารขั้นต้นสำหรับปลากินพืช ไข่น้ำถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการประกอบอาหารพื้นบ้านของไทยเป็นเวลานาน โดยเฉพาะในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ภาคเหนือ นอกจากนี้ไข่น้ำยังช่วยในการบำบัดน้ำเสีย ใช้ทดแทนโปรตีนในสูตรอาหารสัตว์ได้อีกด้วย

ไข่น้ำหรือผำเป็นพืชมีดอกที่มีขนาดเล็กที่สุดในโลก อยู่ในวงศ์ (Family) เดียวกับแหนเป็ด มีชื่อสามัญว่า water meal ในเมืองไทย ไข่น้ำสกุล *Wolffia* พบ 2 ชนิด ได้แก่ *Wolffia arrhiza* (Linn) Wimm และ *Wolffia globoso* (Linn) Wimm

1.2.2 ประโยชน์ของไข่น้ำ

ไข่น้ำมีประโยชน์ หลายประการ ดังนี้

1. อาหารสำหรับมนุษย์ นิยมรับประทานมากทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือและภาคเหนือ ไข่น้ำเป็นพืชที่มีคุณค่าทางอาหารสูง โดยเฉพาะโปรตีน วิตามิน และเกลือแร่ มีรสชาติเหมือนผักทั่วไป การนำไข่น้ำมาปรุงอาหารทำได้ง่าย พร้อมทั้งยังเพิ่มรสชาติให้กับอาหารได้เป็นอย่างดี เช่น แกงอ่อม

แกงปลา แกงไก่ แกงเนื้อ หรือตำกินสดๆ และเป็นส่วนผสมในข้าวเกรียบกุ้ง (ชุตินุชและมาโนช, 2545)

2. อาหารสำหรับสัตว์ ไข่น้ำมีโปรตีนอยู่ระหว่าง 19.3-45.0% ของน้ำหนักแห้งปริมาณโปรตีนในไข่น้ำผันแปรตามปริมาณสารอาหารในน้ำ (ศิริภาวี และคณะ, 2544) วิณากร (2555) ได้รายงานว่าการเสริมไข่น้ำร้อยละ 10 ในอาหารเม็ดสำเร็จรูปเพื่อเลี้ยงปลานิลแดง ส่งผลให้ปลานิลแดงมีน้ำหนักตัวที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตประสิทธิภาพการใช้โปรตีนสูงที่สุด มีปริมาณโปรตีนในเนื้อสูงที่สุด และปริมาณไขมันในเนื้อต่ำที่สุด การเสริมไข่น้ำร้อยละ 15 ส่งผลให้ปลานิลมีความเข้มสีผิวและปริมาณแคโรทีนอยด์ในเนื้อปลาสูงที่สุด และการเสริมไข่น้ำในอาหารทำให้มีต้นทุนค่าอาหารต่อกิโลกรัมน้ำหนักตัวต่ำสุด

3. เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxdant) โดยขวัญดาว(2556) ได้ศึกษาการศึกษาเกี่ยวกับสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากไข่น้ำ พบว่าไข่น้ำที่สกัดด้วยเอทานอล ใช้เวลาสกัด 24 ชั่วโมงได้สารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 80.15

4. เป็นแหล่งของรงควัตถุ (pigment) ไข่น้ำสารสีหรือรงควัตถุหลายชนิดได้แก่ คลอโรฟิลล์และเบต้าเลน (betalains) อุมาพร (2553) ได้รายงานว่าไข่น้ำมีสารสีในปริมาณที่สูงพบปริมาณคลอโรฟิลล์ 30.17 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และนิตยาและคณะ (2558) รายงานว่าปริมาณสารสีของไข่น้ำที่เพาะเลี้ยงด้วยน้ำจากบ่อปลาดุกมีแคโรทีนอยด์รวม 699.5 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง นอกจากนี้ยังมีเบต้า-แคโรทีน 64.16 ไมโครกรัมต่อน้ำหนักสด 1,000 กรัม (กองโภชนาการ, 2550)

5. ช่วยบำบัดน้ำเสียและดูดซับธาตุอาหาร โดยบุญทิวาและคณะ (2556) ได้รายงานว่าการใช้ไข่น้ำดูดซับธาตุอาหารในน้ำหมักมูลปลานิล พบว่าปริมาณแอมโมเนียลดลงเป็น 0 มิลลิกรัมต่อลิตร และสามารถลดปริมาณไนเตรท ไนโตรเจนรวม ออร์โธฟอสเฟต และฟอสฟอรัสรวมได้ การนำไข่น้ำบำบัดน้ำเสียจากฟาร์มสุกร สามารถลดบีโอดี ของแข็งแขวงลอยในน้ำ ได้มากกว่าร้อยละ 90

1.2.3 การเลี้ยงไข่น้ำ

ปัจจุบันมีการเลี้ยงไข่น้ำมีการเลี้ยงเพื่อบริโภค และการเลี้ยงเพื่อเป็นอาหารสัตว์ หลายวิธีดังนี้

1. การเลี้ยงไข่น้ำในบ่อดิน การเลี้ยงไข่น้ำในบ่อดินเป็นการเลี้ยงตามธรรมชาติ ไม่สามารถควบคุมปัจจัยภายนอกได้ แต่การเลี้ยงแบบนี้ให้ผลผลิตสูง ลงทุนต่ำกว่าการเลี้ยงในโรงเรือน

2. การเลี้ยงในบ่อซีเมนต์ การเลี้ยงในบ่อซีเมนต์เป็นวิธีการเลี้ยงที่มีเป้าหมายชัดเจนในการผลิต เช่น เพื่อจำหน่ายสด หรือทำเป็นอาหารสัตว์น้ำ วิธีการการนี้จัดการง่าย สะดวก ลงทุนมากว่าการเลี้ยงแบบธรรมชาติ สามารถควบคุมคุณภาพของผลผลิตได้ จากการศึกษาของชื่นดวงใจ (มปป) พบว่าการเลี้ยงไข่น้ำในบ่อซีเมนต์แต่ละวิธีมีลักษณะดังนี้

วิธีที่ 1 การเพาะเลี้ยงด้วยสารละลายธาตุอาหารพืชสำเร็จรูป อัตราการใช้ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 2 ลิตร ปล่อยไข่น้ำ 100 – 300 กรัมต่อบ่อ วิธีนี้ไข่น้ำจะเจริญเติบโตเร็ว สะอาด ปลอดภัย ไม่มีกลิ่นคาว เริ่มเก็บผลผลิตเมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 2 สัปดาห์ เติมสารละลายธาตุอาหารพืชสำเร็จรูป ประมาณ 2 – 3 เดือนต่อครั้ง

วิธีที่ 2 การเพาะเลี้ยงด้วยสารละลายธาตุอาหารพืชสำเร็จรูปร่วมกับน้ำหมักฮอร์โมนไข่และนม อัตราการใช้ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำ 2 ลิตร ผสมน้ำหมักฮอร์โมนไข่และนม อัตรา 10 มิลลิลิตรต่อน้ำ 20 ลิตร บ่อซีเมนต์เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เมตร เติมน้ำ 20 – 30 เซนติเมตร ปล่อยไข่น้ำ 100 – 300 กรัมต่อบ่อ วิธีนี้ไข่น้ำจะเจริญเติบโตเร็วกว่าวิธีแรก แต่น้ำมีกลิ่นน้ำหมัก เริ่มเก็บผลผลิตเมื่อเลี้ยงครบ 2 สัปดาห์ เติมสารละลายธาตุอาหารพืชสำเร็จรูป 2 – 3 เดือนต่อครั้ง

วิธีที่ 3 การเพาะเลี้ยงด้วยปุ๋ยเคมี สูตร 16–16–16 แบบละลายน้ำได้ใช้ปุ๋ยในอัตรา 1 ช้อนโต๊ะต่อบ่อซีเมนต์เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เมตร เติมน้ำ 20 – 30 เซนติเมตร ปล่อยไข่น้ำ 100 – 300 กรัมต่อบ่อ วิธีนี้ไข่น้ำจะเจริญเติบโตเร็ว สะอาด ปลอดภัย ไม่มีกลิ่นคาว เริ่มเก็บผลผลิตเมื่อเลี้ยงครบ 2 สัปดาห์ เติมปุ๋ยเดือนละ 1 ครั้ง

วิธีที่ 4 การเพาะเลี้ยงแบบอินทรีย์ นำปุ๋ยคอกแห้ง 2 กิโลกรัมใส่กระสอบปุ๋ยหรือกระสอบผ้าแช่ลงในบ่อซีเมนต์เส้นผ่าศูนย์กลาง 1 เมตร เติมน้ำ 20 – 30 เซนติเมตร ปล่อยไข่น้ำ 100 – 300 กรัมต่อบ่อ วิธีนี้ไข่น้ำจะเจริญเติบโตได้ดี แต่จะมีกลิ่นคาววิธีอื่น เหมาะจะนำไปเป็นอาหารปลาและสัตว์ปีก เริ่มเก็บผลผลิตเมื่อเลี้ยงได้ 2 สัปดาห์ เติมปุ๋ยเดือนละ 1 ครั้ง

จากการศึกษาของกันย์สินี (2552) พบว่าปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไข่น้ำ (*Wolffia arrhiza* (L.) Wimm) และวิธีการในการเพาะขยายพันธุ์แบบมหมวล จากการเลี้ยงในห้องปฏิบัติและอาคารเปิด ไข่น้ำมีอัตราการเจริญเติบโตสูงที่สุดเมื่อเลี้ยงในน้ำประปาที่เติมปุ๋ย N–P–K สูตร 16–16-16 ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร คุณสมบัติของน้ำที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงคือ มีค่าความเป็นกรด – ด่างระหว่าง 5 -6 มีค่าความกระด้างต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อลิตรแคลเซียมคาร์บอเนต สำหรับความเข้มแสงที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 5,000 – 10,000 ลักซ์ ต้นไข่น้ำมีอายุการเจริญเติบโตเฉลี่ยที่ 15 เมื่อทดลองเลี้ยงไข่น้ำ 30 วัน สามารถเก็บเกี่ยวผลผลิตได้ประมาณ 2 กิโลกรัมน้ำหนักเปียกต่อตารางเมตร และวัดปริมาณเบต้า –แคโรทีนในไข่น้ำที่มีอายุการเลี้ยง 24 วันพบเฉลี่ยประมาณ 600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง และจากการทดลองเลี้ยงไข่น้ำแบบแบ่งชั้นเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตต่อหน่วยพื้นที่ให้มากขึ้น โดยเลี้ยงในถังทดลองซึ่งเรียงตามความสูงสามชั้นแต่ละชั้นได้รับแสงแตกต่างกันเป็นระยะเวลา 28 วัน พบว่า ได้ผลผลิตทั้งหมดประมาณ 4.6 กิโลกรัมน้ำหนักเปียกต่อตารางเมตร

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไข่น้ำนั้นมีหลายปัจจัย ซึ่งปัจจัยที่สำคัญมีรายงาน ดังนี้

1. อุณหภูมิ เป็นปัจจัยที่มีผลกระทบทั้งทางตรงและทางอ้อมต่อระบบนิเวศของไข่น้ำ ซึ่งไข่น้ำจะเจริญได้ดีในที่อุณหภูมิเฉลี่ยตลอดปี ระหว่าง 32 - 33 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามจากการทดลองเลี้ยงกับไข่น้ำชนิดต่างๆ พบว่าไข่น้ำแต่ละชนิดจะเจริญได้ดีช่วงอุณหภูมิต่างกัน ซึ่งที่อุณหภูมิของน้ำที่ 40 องศาเซลเซียส มีผลกระทบด้านลบต่อการสังเคราะห์แสงของไข่น้ำ (นิศาชล, 2554)

2. ความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ของน้ำ ไข่น้ำเจริญเติบโตได้ดีที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างมีค่าระหว่าง 5-7 (นิศาชล, 2554) จากการสำรวจค่าความเป็นกรดเป็นด่างของแหล่งน้ำที่พบไข่น้ำในจังหวัดมหาสารคาม และจังหวัดขอนแก่น พบว่า ค่าความเป็นกรด-ด่างของแหล่งน้ำที่ยังคงให้ ผลผลิตไข่น้ำมีค่าอยู่ที่ ระดับ 7 หรือต่ำกว่า ขณะที่แหล่งน้ำที่ไม่ให้ผลผลิตแล้วมีค่าความเป็นกรดด่างสูงกว่า 7 และพบพืชน้ำชนิดอื่นขึ้นปะปน (กันย์สินี, 2552)

1.2.4 สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ หมายถึง สารที่ทำหน้าที่ยับยั้ง หรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่น หรือขจัดอนุมูลอิสระ เป็นสารที่มีคุณสมบัติยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ (อนุชิตา, 2555) ร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระ โดยการสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และอีกส่วนได้จากสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายรับประทานเข้าไปจำพวก วิตามิน เบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์ รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล (บุหรัน, 2556)

1.2.5 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่พบได้ทั่วไปในพืช ถูกผลิตขึ้นเพื่อใช้ในการเจริญเติบโตและช่วยป้องกันเชื้อโรค หรือ แมลงศัตรูพืชที่เขาไปทำลายเซลล์ต่างๆของพืชรวมถึงการให้สีสันกับพืชด้วย สารประกอบฟีนอลิกมีประโยชน์ต่อสุขภาพเนื่องจากมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ กรดฟีโนลิก และแทนนิน ทำหน้าที่เป็นตัวกำจัดอนุมูลอิสระที่สำคัญโดยเฉพาะอนุมูลเปอร์ออกซิล จึงสามารถป้องกันการเกิดขั้นตอน propagation ของปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ และสามารถทำหน้าที่เป็นสารคีเลต ทำหน้าที่ดักจับไอออนของโลหะหนัก เช่น เหล็กและทองแดงไว้ในโมเลกุล สารประกอบฟีนอลิกทำหน้าที่เป็นทั้งสารอิเล็กตรอนและเป็นตัวให้ไฮโดรเจนอะตอมกับอนุมูลอิสระจึงสามารถกำจัดอนุมูลที่มีออกซิเจนที่อยู่ในรูปแอคทีฟ (ROS) ทำให้สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านออกซิเดชั่นที่สำคัญ (Rice-Evans et al., 1996)

1.2.6 โลหะหนัก (heavy metal)

โลหะหนัก หมายถึง โลหะ (metal) ที่มีความถ่วงจำเพาะมากกว่าน้ำ 5 เท่าขึ้นไป ได้แก่ ดีบุก สังกะสี ทองแดง ตะกั่ว สารหนู ปรอท มีอัตราการสลายตัวค่อนข้างช้า ทำให้สะสมอยู่ในสิ่งแวดล้อมได้นาน เป็นมลพิษทางน้ำ โลหะหนักเป็นอันตรายในอาหาร ประเภทอันตรายทางเคมีจึงเกิดการสะสมโลหะหนักในเนื้อเยื่อสัตว์ และเนื้อเยื่อพืช โดยสะสมสารมลพิษเพิ่มขึ้นตามลำดับขั้นการบริโภค (พิมพ์เพ็ญและนิธิยา, 2561) จากประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 98 (2529) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน มีข้อกำหนดเกี่ยวกับการปนเปื้อนของโลหะหนักในอาหารดังนี้

(1) ดีบุก ไม่เกิน 250 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

(2) สังกะสี ไม่เกิน 100 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

(3) ทองแดง ไม่เกิน 20 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

(4) ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม เว้นแต่อาหารที่มีตะกั่วปนเปื้อนตามธรรมชาติในปริมาณสูง ให้มีได้ตามที่ได้รับความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา

(5) สารหนู ไม่เกิน 2 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม

(6) ปรอท ไม่เกิน 0.5 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัม สำหรับอาหารทะเลและไม่เกิน 0.02 มิลลิกรัมต่ออาหาร 1 กิโลกรัมสำหรับอาหารอื่น

1.2.7 สารสีหรือรงควัตถุ (pigment)

รงควัตถุ หมายถึง สารที่ดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่นแตกต่างกันออกไปแล้วแต่ชนิด แต่สามารถเปลี่ยนแสงให้เป็นพลังงานเพื่อนำไปใช้ได้เหมือนกัน รงควัตถุพบในคลอโรพลาสต์ ที่สำคัญได้แก่ คลอโรฟิลล์ แคโรทีนอยด์ และไฟโคบิลิน (ยุวดี, 2549) มีรายละเอียดดังนี้

(1) กลุ่มคลอโรฟิลล์ (chlorophyll) เป็นรงควัตถุสีเขียวที่พบอยู่ในพืชน้ำและพืชบก คลอโรฟิลล์มีหน้าที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสง ซึ่งเป็นกระบวนการที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของพืช คลอโรฟิลล์ที่พบในพืชส่วนใหญ่มี 2 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี สำหรับคลอโรฟิลล์ที่พบในพืชสีเขียวชั้นสูงจะมีอัตราส่วนของคลอโรฟิลล์เอต่อคลอโรฟิลล์บีประมาณ 3 : 1 (นิธิยา, 2551)

(2) กลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) เป็นกลุ่มของรงควัตถุที่พบในพืช ให้สีเหลือง ส้ม และส้มแดง มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่ละลายได้ดีในน้ำมัน และตัวทำละลายอินทรีย์ (นิธิยา, 2551) เป็นสารประกอบประเภทไฮโดรคาร์บอนที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated hydrocarbon) มีคาร์บอน 40 อะตอม แคโรทีนอยด์เป็นรงควัตถุที่เป็นสารตั้งต้นของวิตามินเอ (provitamin A) ซึ่งจะถูกเปลี่ยนเป็นวิตามินเอได้ในร่างกายคนและสัตว์ สารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoid) กลุ่มแซนโทฟิลล์ (xanthophylls) ซึ่งมีสีเหลือง สีส้ม และสารสีแดง ได้แก่ ไลโคปีน (lycopene) มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ลดภาวะความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็ง เสริมสร้างระบบสืบพันธุ์ รวมถึงเป็นสารที่ทำให้เกิดสีในตัวอ่อน แคโรทีนอยด์แบ่งตามลักษณะโครงสร้างทางเคมีได้ 2 กลุ่ม (ยุวดี ,2549) ดังนี้

1) กลุ่มแคโรทีน (carotenes) เช่น เบต้า-แคโรทีน (beta-carotene) ไลโคปีน (lycopene) และลูทีน (lutein)

2) กลุ่มแซนโทฟิลล์ (xanthophylls) เช่น ซีแซนทิน (zeaxanthin) และ แอสต้าแซนทิน (astaxanthin)

1.2.7 มูลไก่

มูลไก่มีปริมาณสารอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของไข่น้ำ มูลไก่ทั่วไปมีส่วนประกอบโดยประมาณดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ส่วนประกอบสารอาหารโดยประมาณในมูลไก่

ส่วนประกอบในมูลไก่	ร้อยละ
น้ำ	56.00
อินทรีย์สาร	26.00
ไนโตรเจน (N)	1.93
ฟอสฟอรัส (P)	2.67
โพแทสเซียม (K)	1.45
แคลเซียม (Ca)	2.40
สารอื่นๆ	9.55

ที่มา : รติรัตน์และอุษา (2546)

1.2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

รติรัตน์และอุษา (2546) ได้ทำการทดลองเพาะเลี้ยงไข่น้ำในน้ำมูลไก่ที่ระดับความเข้มข้น 0, 0.1, 0.2, 0.3 และ 0.4 กรัมต่อลิตร เป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่าไข่น้ำที่เพาะเลี้ยงในระดับความเข้มข้น 0.3 กรัมต่อลิตร ในระยะเวลา 3 วัน สามารถเพิ่มจำนวนไข่น้ำได้สูงสุดเท่ากับ 230 ต้น เมื่อเปรียบเทียบการเจริญเติบโต พบว่า ไข่น้ำที่เลี้ยงในน้ำมูลไก่ที่ระดับความเข้มข้นต่างกันมีการเจริญเติบโตแตกต่างกัน

กันย์สินีและสุขุม (2552) ได้ทำการศึกษาทดลองเพาะเลี้ยงไข่น้ำและการนำไปใช้ปรับปรุงคุณภาพสีปลาทอง ได้ทดลองเลี้ยงโดยเติมปุ๋ยสูตร 16-16-16 ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และปรับค่าความเป็นกรด-ด่างให้อยู่ในระดับ 5-6 ค่าความเข้มแสงไม่ต่ำกว่า 5,000 ลักซ์ ทำการเลี้ยงเป็นเวลา 30 วัน ได้ผลผลิตไข่น้ำเฉลี่ย ประมาณ 600 มิลลิกรัม ปริมาณเบต้า-แคโรทีนในไข่น้ำที่มีอายุการเลี้ยง 24 วัน มีค่าเฉลี่ยประมาณ 600 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมน้ำหนักแห้ง และจากการศึกษาการไข่น้ำแบบแบ่งชั้นเพื่อเพิ่มปริมาณผลผลิตต่อ หน่วยพื้นที่ให้มากขึ้น โดยการเลี้ยงในถังทดลองเรียงตามสูงสามชั้น แต่ละชั้นได้รับแสงต่างกัน ในการเลี้ยงเป็นเวลา 28 วัน พบว่า ได้ผลผลิตทั้งหมดประมาณ 4.6 กรัม นอกจากนี้ได้ทำการศึกษาการเพิ่มธาตุแคลเซียมในไข่น้ำ พบว่า ไข่น้ำที่เลี้ยงโดยการเติมเกลือแคลเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ในอัตรา500 มิลลิกรัมต่อลิตร และ EDTA 0.5 มิลลิโมล เป็นระยะเวลา 10 วัน มีปริมาณธาตุแคลเซียมในไข่น้ำสูงสุดเฉลี่ยที่ 873 มิลลิกรัมต่อ 1,000 กรัมต่อน้ำหนักแห้ง ซึ่งสูงกว่าในไข่น้ำก่อนการทดลองประมาณร้อยละ 40

ศรัณย์ (2559) ทำการเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงไข่น้ำด้วยปุ๋ยหมักชีวภาพต่างชนิด การวางแผน 4 ชุดการทดลองๆ ละ 4 ซ้ำ คือ สูตรปุ๋ยหมักมูลวัว สูตรปุ๋ยหมักมูลเป็ด สูตรปุ๋ยหมักมูลไก่ สูตรปุ๋ยหมักมูลแพะ โดยใส่ปุ๋ยหมักอัตราส่วน 60 กรัม ในน้ำ 30 ลิตร พบว่าสูตรปุ๋ยหมักมูลไก่มีน้ำหนักเฉลี่ยของไข่น้ำมากกว่าสูตรปุ๋ยหมักมูลเป็ด และสูตรปุ๋ยหมักมูลแพะ และสูตรปุ๋ยหมักมูลวัว ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

นัฏฐา และคณะ (2560) ศึกษาอิทธิพลของชนิดปุ๋ยและระดับการพรางแสงต่อผลผลิตและคุณภาพของไข่น้ำ (*Wolffic arrhiza* (L.) Wimm.) โดยศึกษาอิทธิพลของ ปุ๋ย 3 ชนิด ได้แก่ มูลแพะ (2 กก./ตร.ม.) ปุ๋ยเคมี (100 มก./ล.) และปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ (EC 0.5 มิลลิซีเมนต์/ซม.) ร่วมกับการพรางแสง 3 ระดับ ได้แก่ ไม่พรางแสง พรางแสงร้อยละ 50 หนึ่งชั้น และพรางแสงร้อยละ 50 สองชั้น เก็บเกี่ยวผลผลิตที่อายุ 20 วัน พบว่าชนิดปุ๋ยและการพรางแสงมีปฏิสัมพันธ์ระหว่างกัน ($p<0.01$) ต่อปริมาณน้ำหนัก สด น้ำหนักแห้ง สี ปริมาณคลอโรฟิลล์ และปริมาณโปรตีน โดยการให้ปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ร่วมกับการไม่พรางแสง ให้ปริมาณน้ำหนักสด น้ำหนักแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุด คือ 1,236.49 ก./ตร.ม. 38.80 ก./ตร.ม. และ 41.64 มก./100 ก. ตามลำดับ ส่วนการให้ ปุ๋ยเคมีร่วมกับการพรางแสงทั้งสามระดับจะให้ค่าความสว่างและค่าความเป็นสีเหลืองของไข่น้ำ สูงสุด และการเลี้ยงไข่น้ำในปุ๋ยไฮโดรโปนิกส์ร่วมกับการพรางแสงร้อยละ 50 สองชั้น ให้ปริมาณ โปรตีนสูงสุดถึงร้อยละ 40.46

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ โลหะหนักตกค้าง สารสี สารพฤกษเคมีและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของไข่น้ำที่เลี้ยงด้วยมูลไก่และไข่น้ำเก็บตัวอย่างจากธรรมชาติ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

(1) บทความทางวิชาการสำหรับนำเสนอผลงานทางวิชาการระดับชาติอย่างน้อย 1 เรื่อง

(2) ได้บูรณาการหัวข้อวิจัยของนักศึกษาระดับปริญญาตรีอย่างน้อย 1 เรื่อง

บทที่ 2
วิธีการดำเนินการวิจัย

2.1. วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมีและเครื่องมือในการศึกษา

2.1.1 วัสดุ อุปกรณ์

(1) บ่อซีเมนต์กลม
(2) มูลไก่
(3) ไข่น้ำ
(4) สวิง
(5) เครื่องชั่ง
(6) ผ้าขาวบาง
(7) ตาข่ายพรางแสง (ขนาดช่องตา 0.3 เซนติเมตร)
(8) ตาข่ายพรางแสง (ขนาดช่องตา 1 เซนติเมตร)
(9) น้ำส้มสายชู
(10) เครื่องวัดแสง
(11) บีกเกอร์
(12) ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
(13) ขวดสีชา
(14) ปิเปต
(15) กระดาษฟอล์ย
(16) ข้อนตักสาร (spatula)
(17) แท่งแก้ว (glass)
(18) กระบอกตวง (cylinder)
(19) กรวยแก้ว (funnel)
(20) เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง
(21) ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
(22) ควบคุมอุณหภูมิ (water bath)
(23) เครื่องเครื่องหมุนเหวี่ยงตะกอน (centrifuge)
(24) เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Biodropulite)
(25) เครื่องอัลตร้าโซนิค (ultrasonic)

2.1.2 สารเคมี สำหรับการวิเคราะห์ต่างๆ

2.1.2.1 ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม

(1) Methanol

(2) Diethyl ether

(3) Ethanol

(4) Sodium chloride (NaCl)

(5) Sodium phosphate (NaH_2PO_4)

2.1.2.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

(1) Follin-ciocalteau

(2) Sodium carbonate (Na_2CO_3)

(3) Gallic acid

(4) Aluminium chloride ($AlCl_3$)

(5) Potassium acetate (CH_3COOK)

(6) Quercetin

2.1.2.3 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิธี DPPH radical scavenging activity

(1) 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH)

(2) Ethanol

(3) Butylated hydroxytoluene (BHT)

(4) L-Ascorbic acid

2.2 วิธีการศึกษา

2.2.1 การเลี้ยงไข่น้ำ

ทำการเก็บไข่น้ำจากธรรมชาติ จากบ่อน้ำขัง อำเภอเขาชัยสน จังหวัดพัทลุง ($8^{\circ}9'41"N$, $99^{\circ}43'31"E$) (ภาพที่ 1) นำตัวอย่างที่ได้ล้างทำความสะอาด เพื่อนำไปใช้ในการทดลองใน 2 พื้นที่ ได้แก่ พื้นที่แจ้งและที่ร่ม

การออกแบบการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ชุดการทดลองๆ ละ 3 ซ้ำ โดยใช้วัสดุท้องถิ่นที่หาได้ง่าย

ชุดการทดลองที่ 1 ไม่มีวัสดุพรางแสง

ชุดการทดลองที่ 2 มีวัสดุพรางแสงขนาดช่องตา 0.3 เซนติเมตร

ชุดการทดลองที่ 3 มีวัสดุพรางแสงขนาดช่องตา 1.0 เซนติเมตร

วิธีการเลี้ยงไข่น้ำ มีรายละเอียดดังนี้

(1) การเตรียมบ่อ โดยใช้บ่อซีเมนต์กลมมีปริมาตรน้ำ 80 ลิตร ทำความสะอาดโดยใช้แปรงขัดและตากบ่อให้แห้ง หลังจากนั้นเติมน้ำโดยพักน้ำไว้ 1 วัน เติมน้ำส้มสายชูเพื่อปรับความเป็นกรด

ความด่าง ให้ได้ประมาณ 5.5-6.0 2.1.4 ใส่มูลไก่จำนวน 500 กรัม ทุกหน่วยการทดลอง หลังจากนั้นเติมไข่น้ำปริมาณ 100 กรัม ทุกหน่วยการทดลอง

(2) การจัดการระหว่างการเลี้ยง ทำการเปลี่ยนถ่ายน้ำและเติมมูลไก่ทุกๆ 6 วัน

(3) เก็บข้อมูลน้ำหนักสุดท้ายของไข่น้ำเมื่อครบ 6, 12, 18 และ 24 วัน โดยใช้สวิงตาถี่ซ้อนไข่น้ำออกจากบ่อเลี้ยงแล้ววางให้สะเด็ดน้ำ นำมาชั่งน้ำหนักแล้วบันทึกข้อมูล

(4) นำไข่น้ำที่ได้จากการเลี้ยงมาทำความสะอาดและวางให้สะเด็ดน้ำแล้วนำมาอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

(5) นำไข่น้ำที่อบแห้งมาปั่นให้ละเอียดเพื่อนำไปวิเคราะห์ข้อมูลต่างๆ

ภาพที่ 1 แหล่งน้ำธรรมชาติที่มีการเจริญของไข่น้ำ
ที่มา: วรรณิณี (2560)

2.2.2 การศึกษาปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์

การวิเคราะห์หาปริมาณสารแคโรทีนอยด์รวม ได้ดัดแปลงวิธีการของวิธีการของ KMUTT (2001) นำไข่น้ำที่บดละเอียด ประมาณ 0.025 g เติม 95% เอทานอล ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และเติม 60 % โพแทสเซียมไฮดรอกไซด์ (KOH) 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นนำไปทำให้เซลล์แตกด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิค เป็นเวลา 15 นาที บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บสารละลายส่วนที่ใสไว้ เติม 95% เอทานอล 5 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นที่ความเร็ว 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ซ้ำอีกครั้ง รวมสารละลายที่ได้จากสารสกัดครั้งแรกและครั้งที่ 2 รวมกันในขวดสีชา จากนั้นเติมไดเอธิลอีเทอร์ ปริมาตร 15 มิลลิลิตร และ 9 % NaCl ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้จนแยกชั้นสีเขียว และสีเหลือง ปล่อยชั้นสีเขียวของคลอโรฟิลล์ทิ้งไปเก็บชั้น สีเหลืองของแคโรทีนอยด์เติม 9% NaCl ปริมาตร 15 มิลลิลิตร เขย่าแล้วตั้งทิ้งให้แยกชั้นสีขาวและสีเหลืองปล่อยชั้นสีขาวทิ้งเก็บสารละลายสีเหลือง ของแค

โรทีนอยด์ ปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ด้วยไดเอทิลอีเทอร์ จากนั้นเติมโซเดียมซัลเฟต หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 450 นาโนเมตร แลวคำนวณหาปริมาณแคโรทีนอยด์รวม

คำนวณปริมาณแคโรทีนอยด์จากสูตร

Total Carotenoid (mg/cell dw) = **(A_{450} x V x 1000) / (250x mg cell dry weight)**

เมื่อ V = Total Volume (มล.)

2.2.3 การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ

การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการ ซึ่งวิเคราะห์ปริมาณของโปรตีน คาร์โบไฮเดรท ไขมัน เยื่อใยเถ้า และความชื้น ใช้วิธีการของ AOAC (2016) โดยบริษัทห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด ส่วนสงขลา

2.2.4 การศึกษาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

2.2.4.1 การเตรียมสารสกัดสาหร่าย

ทำการสกัดไข่น้ำด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด ดังนี้

(1) สกัดด้วยเอทิลอะซิเตท โดยนำไข่น้ำแห้งบดละเอียด 20 กรัม บดจนละเอียดเป็นผงเติมตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท 100 มิลลิลิตร นำไปหมักทิ้งไว้เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำกากของสาหร่ายมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำมาระเหย ตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotaty evaporator อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่มีความหนืด

(2) สกัดด้วยเอทานอล โดยนำไข่น้ำแห้งบดละเอียด 20 กรัม บดจนละเอียดเป็นผง เติมตัวทำละลายเอทานอล ปริมาณ 100 มิลลิลิตร นำมาสกัดด้วยวิธีการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำกากของสาหร่ายมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำมาระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotaty evaporator อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่มีความหนืด

(3) สกัดด้วยเมทานอล โดยนำไข่น้ำแห้งบดละเอียด 20 กรัม บดจนละเอียดเป็นผง เติมตัวทำละลายเมทานอล ปริมาณ 100 มิลลิลิตร นำมาสกัดด้วยวิธีการหมักเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นกรองสารสกัดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำกากของสาหร่ายมาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง นำมาระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่อง Rotaty evaporator อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จนได้สารสกัดที่มีความหนืด

2.2.4.2 การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic contontent)

ดัดแปลงตามวิธีการของ Julkunen-Tiitto (1985) โดยการใช้สาร Follin-Ciocalteu ซึ่งเป็นสารที่ไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารฟีนอลิกตัวใดตัวหนึ่งแต่สามารถทำปฏิกิริยากับสารฟีนอลิก

ทุกกลุ่มที่สามารถพบได้จากสารสกัดที่ใช้ในการทดสอบ โดยวิธีการทดสอบจะใช้สารสกัด 100 µl ผสมกับสารละลาย Follin-ciocalteau 0.5 ml ผสมเข้ากับน้ำกลั่น 8.4 ml และเติม 20% sodium carbonate (Na_2CO_3) ปริมาตร 1 ml สารละลาย Follin-ciocalteau จะมีสีเหลืองและเมื่อทำปฏิกิริยากับสารสกัดที่มีฟีนอลิก หลังจากบ่มทิ้งไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง จะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ความยาวคลื่น 765 nm คำนวณปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดโดยเทียบจากกราฟมาตรฐานของในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อสารสกัด 1 กรัม (mg GAE/1 g extract)

2.2.4.3 การทดสอบกิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH

ดัดแปลงตามวิธีการของ Shimada et al., (1992) วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลต (microplate reader ยี่ห้อ Biochrome รุ่น Ez Read 2000) โดยใช้ BHT และ ascorbic acid เป็นสารมาตรฐาน นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ (% inhibition) ดังสมการ

$$\% \text{ inhibition } = \left[\frac{(\text{Acontrol} - \text{Asample})}{\text{Acontrol}}\right] \text{x}100$$

2.3 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลในศึกษาครั้งนี้ประกอบด้วย 3 วิธี ดังนี้

1. วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี One - way ANOVA และเปรียบเทียบหาค่าความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี DMRT (Duncan's Multiple Range Test) ของข้อมูลปริมาณน้ำหนักที่เพิ่มขึ้น ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ สารประกอบฟีโนลิกและฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ ในกรณีที่ข้อมูลมีการแจกแจงไม่ปกติและความแปรปรวนมีค่าไม่เท่ากัน นำข้อมูลมาแปลงข้อมูล

2. เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของกลุ่มตัวอย่าง 2 กลุ่มที่มีความเป็นอิสระต่อกัน (Independent sample T - Test) โดยค่าที่นำมาเปรียบเทียบกัน ได้แก่ คุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณแคโรทีนอยด์ ปริมาณโลหะหนัก สารพฤกษเคมี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของไข่น้ำที่ได้จากธรรมชาติและการเลี้ยง

3. วิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างสารประกอบฟีโนลิกกับฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ โดยการหาค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เพียร์สัน (Pearson correlation coefficient, r) ใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p<0.05$) สำหรับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r) ได้แปลความหมายตามจันทนาและอนงค์ (2557)

สถานที่ทำการทดลอง อาคารประมง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขต นครศรีธรรมราช (ไสใหญ่)

บทที่ 3

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

3.1 ผลผลิตของไข่น้ำจากการเลี้ยง

จากการเลี้ยงไข่น้ำด้วยมูลไก่ในสองพื้นที่ได้แก่ พื้นที่ร่มเงาใต้หลังคา และพื้นที่กลางแจ้ง โดยใช้วัสดุพรางแสงขนาดต่างกันใน 3 ชุดการทดลองเป็นระยะเวลา 24 วัน ซึ่งน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นมีปริมาณมากในพื้นที่กลางแจ้งทุกชุดการทดลองและความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) และมีปริมาณมากที่สุดในพื้นที่กลางแจ้งที่ไม่มีการพรางแสงโดยมีน้ำหนัก 651.67±56.86 กรัม ส่วนในพื้นที่ร่มเงานั้นน้ำหนักที่เพิ่มขึ้นของไข่น้ำ ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของไข่น้ำมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ทั้งสองพื้นที่โดยชุดการทดลองในพื้นที่กลางแจ้งในชุดการทดลองที่ 1(ไม่มีการพรางแสง) มีอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 8.76 ±0.32 เปอร์เซ็นต์ต่อวัน (ตารางที่ 2) ผลที่ได้จากการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับสมศักดิ์ (2542) ซึ่งรายงานว่าไข่น้ำที่ได้รับแสง ร้อยละ 100 จะให้ผลผลิตมากกว่าไข่น้ำที่ได้รับแสงร้อยละ 50

ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมของไข่น้ำที่เลี้ยงเป็นเวลา 24 วัน พบว่าทั้งสองพื้นที่ทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) ซึ่งในพื้นที่ร่มเงานั้นมีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมมากกว่าในพื้นที่กลางแจ้งเล็กน้อย ทั้งนี้ศุทธินี (2557) ได้รายงานว่าการเพิ่มความเข้มแสงสามารถเพิ่มปริมาณของแคโรทีนอยด์ของสาหร่ายขนาดเล็กชนิด *Chroococcum humicola* ได้ แต่ในการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้วัสดุพรางแสงขนาดต่างกัน ทั้งสองพื้นที่ทำให้ความเข้มแสงภายในบ่อไข่น้ำมีปริมาณแตกต่างกันไม่มากส่งผลให้ไข่น้ำจึงได้รับความเข้มแสงไม่แตกต่างกันจึงทำให้ปริมาณสารแคโรทีนอยด์ของไข่น้ำทุกชุดการทดลองไม่แตกต่างกัน

สำหรับค่าคุณภาพน้ำของไข่น้ำที่เลี้ยงในพื้นที่ร่มเงาและกลางแจ้งโดยใช้วัสดุพรางแสงขนาดต่างกันนั้นพบว่าค่าคุณภาพน้ำมีค่าเฉลี่ยใกล้เคียงกัน ซึ่งคุณภาพน้ำตั้งแต่เริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดการเลี้ยงมีความเป็นกรดเป็นด่างอยู่ในช่วง 7.0-9.5 ค่าความเป็นด่าง มีค่า 17.0-255.0 มิลลิกรัมต่อลิตร แอมโมเนียอยู่ในช่วง 0.0-3.0 มิลลิกรัมต่อลิตร ไนเตรทอยู่ในช่วง 0.10-0.25 มิลลิกรัมต่อลิตร และปริมาณไนเตรทอยู่ในช่วง 0.0-50.0 มิลลิกรัมต่อลิตร

ตารางที่ 2 น้ำหนักที่เพิ่มขึ้น อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ และปริมาณแคโรทีนอยด์รวมของไข่น้ำที่ได้จากเลี้ยงในพื้นที่ร่มเงาและกลางแจ้ง

ชุดการทดลอง	พื้นที่ร่มเงา			พื้นที่กลางแจ้ง		
	น้ำหนักเพิ่มขึ้น (g)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (% /d)	แคโรทีนอยด์รวม (mg/g dw)	น้ำหนักเพิ่มขึ้น (g)	อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (%/d)	แคโรทีนอยด์รวม (mg/g dw)
1	440.0 ±26.48[a]	7.33 ±0.22[b]	1.36 ±0.16[a]	651.67 ±56.86[b]	8.76 ±0.32[b]	1.18 ±0.16[a]
2	320.0 ±36.06[a]	6.23 ±0.38[a]	1.36 ±0.11[a]	523.33 ±12.58[a]	7.96 ±0.09[a]	1.26 ±0.18[a]
3	325.0 ±35.00[a]	6.28 ±0.37[a]	1.32 ±0.26[a]	551.67 ±51.07[a]	8.14 ±0.33[a]	1.32 ±0.05[a]

หมายเหตุ ตัวอักษรกำกับที่ต่างกันในแนวตั้งมีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

3.2 คุณค่าทางโภชนาการของไข่น้ำ

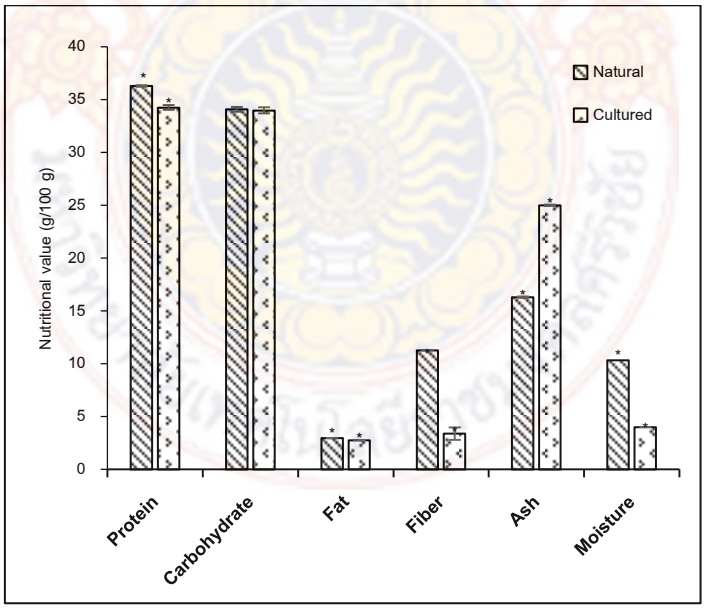
การศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของไข่น้ำที่ได้จากการทดลองนำไข่น้ำที่เก็บได้จากธรรมชาติและการเลี้ยงมาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการพบว่า ไข่น้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ มีโปรตีน คาร์โบไฮเดรท ไขมัน เยื่อใย และเถ้า มีค่า 36.30%, 34.09%, 2.96%, 11.28% และ 16.31% ตามลำดับ และไข่น้ำจากการเลี้ยงมีโปรตีน คาร์โบไฮเดรท ไขมัน เยื่อใย และเถ้า มีค่า 39.63%, 26.86%, 6.74%, 9.62% และ 20.08% ตามลำดับ (ตารางที่ 3) เมื่อนำคุณค่าทางโภชนาการของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงมาเปรียบเทียบกัน พบว่าทุกพารามิเตอร์ที่ศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ยกเว้นปริมาณคาร์โบไฮเดรทที่ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ (ภาพที่ 2) ซึ่งปริมาณโปรตีนของไข่น้ำจากธรรมชาติมีปริมาณสูงกว่าพืชน้ำหลายสกุล เช่น *Spirodela, Landoltia*, *Lemna, Wolffiella* และ *Wolffia* ซึ่งเป็นพืชลอยน้ำที่มีการบริโภคเป็นอาหารของมนุษย์มานาน โดยมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 20 - 35 (Appenroth et al., 2017) ส่วนปริมาณโปรตีน ไขมัน และเยื่อใยของไข่น้ำจากการเลี้ยงมีปริมาณน้อยกว่า เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับไข่น้ำชนิด *W. globosa* ที่เลี้ยงด้วยระบบน้ำหมุนเวียนบริเวณผิวน้ำแบบแนวนอนของ Ruekaewma et al.,(2015) พบว่ามีปริมาณโปรตีน ไขมัน และเยื่อใย มีค่า 48.2%, 9.6% และ 14.5% ตามลำดับ ซึ่ง

องค์ประกอบทางเคมีพื้นฐานของไข่น้ำจะมีความแตกต่างกันตามแหล่งน้ำที่พบจากการเลี้ยงไข่น้ำในครั้งนี้มีข้อดี คือ สามารถควบคุมคุณภาพน้ำให้เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตของไข่น้ำได้ ทำให้ได้ผลผลิตที่มีความสะอาด แต่ข้อเสียของการเลี้ยงคือ ความหลากหลายของสารอาหารในแหล่งน้ำมีปริมาณน้อยกว่าในธรรมชาติ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Marinho-Sariano et al.,(2006) ที่พบว่าสารอาหารในน้ำมีผลต่อกลไกการสังเคราะห์สารชีวโมเลกุล

ตารางที่ 3 คุณค่าทางโภชนาการของไข่น้ำที่ได้จากธรรมชาติและการเลี้ยง

องค์ประกอบทางเคมี	แหล่งของไข่น้ำ	
	ธรรมชาติ	การเลี้ยง
โปรตีน	36.30±0.08	34.25±0.23
คาร์โบไฮเดรต	34.09±0.23	33.98±0.29
ไขมัน	2.96±0.02	2.77±0.01
เยื่อใย	11.28±0.03	3.38±0.60
เถ้า	16.31±0.06	25.00±0.07
ความชื้น	10.34±0.20	4.01±0.00

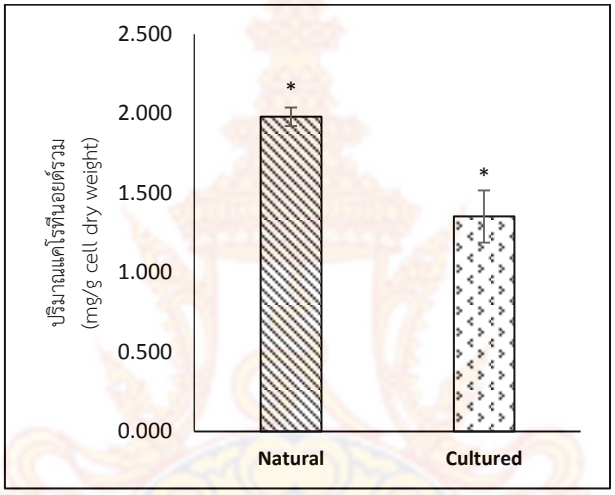
หมายเหตุ: ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน,อักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มในคอลัมภ์เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p<0.05$)



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการระหว่างของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง
หมายเหตุ: * หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$)

3.3 ปริมาณสารสีกลุ่มแคโรทีนอยด์

ปริมาณแคโรทีนอยด์รวมของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง พบว่าไข่น้ำจากธรรมชาติมีปริมาณแคโรทีนอยด์รวมสูงกว่าไข่น้ำจากการเลี้ยง มีค่าเท่ากับ 1.981±0.06 และ 1.353±0.16 mg/g cell dry weight ตามลำดับ และเมื่อนำปริมาณแคโรทีนอยด์ของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงมาเปรียบเทียบกันพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) (ภาพที่ 3) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากในธรรมชาติมีปริมาณธาตุอาหารที่สำคัญในการผลิตสารแคโรทีนอยด์ เช่น ปริมาณฟอสฟอรัส ที่เพียงพอต่อการผลิต ทำให้มีปริมาณสารแคโรทีนอยด์รวมสูงกว่าจากการเลี้ยง



ภาพที่ 3 เปรียบเทียบปริมาณแคโรทีนอยด์รวมระหว่างของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง
หมายเหตุ: * หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของไข่น้ำ

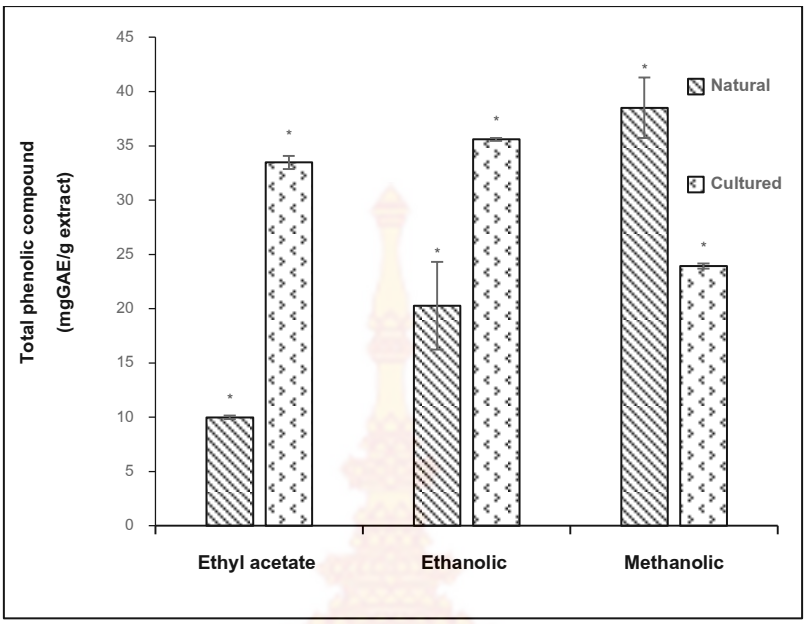
จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงที่สกัดด้วยตัวทำละลายสามชนิด โดยคำนวณจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของกรดแกลิก ($y=0.8944x$, $R^2=0.9965$)พบว่าสารสกัดหยาบด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิดมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ซึ่งสารสกัดเมทานอลของไข่น้ำจากธรรมชาติ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดและต่ำสุดใน สารสกัดเอทิลอะซิเตทของไข่น้ำจากธรรมชาติ ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 38.499±2.789 และ 9.988±0.171 mgGAE/g extract ตามลำดับ (ตารางที่ 3) สำหรับไข่น้ำจากการเลี้ยงพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุดในสารสกัดเอทานอลและต่ำสุดในสารสกัดเมทานอล มีปริมาณเท่ากับ 35.592±0.129 และ 23.927±0.224 mgGAE/g extract ตามลำดับ (ตารางที่ 4) และเมื่อนำปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดแต่ละตัวทำละลายมาเปรียบเทียบกันพบว่า ปริมาณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) (ภาพที่ 4) ซึ่งเมื่อนำปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดเมทานอลของไข่น้ำจากธรรมชาติมาเปรียบเทียบกับไข่น้ำชนิด *W. globosa* ที่สกัดด้วยเอทานอล (27.09±0.07 mg GAE/g dry weight) (Song et

al.,2010) แหนเป็ดใหญ่ *Spirodela polyrrhiza* ที่สกัดด้วยเมทานอล : น้ำ (10.53±0.23 mg GAE/g extract) และสารสกัดเอทานอลของริคเซีย (*Riccia fluitans*) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 16.6±4.3 µg/mg extract (Türkoğlu et al,2014) พบว่าไข่น้ำจากการศึกษาในครั้งนี้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่า ทั้งนี้ปริมาณฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น ชนิดของตัวทำละลาย ที่มีลักษณะทางเคมีและโครงสร้างต่างกัน และคุณสมบัติการมีขั้วและไม่มีขั้วของตัวทำละลายเป็นตัวแปรสำคัญที่มีผลต่อการสกัดสารประกอบฟีนอลิกในการกำหนดปริมาณและชนิดของสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้แตกต่างกัน (อิสระวัฒน์และเฉลิม, 2556; วริศราและคณะ,2553) ซึ่งสอดคล้องกับ Praychoen et al.,(2013) ที่ได้รายงานว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเป็นสารที่มีขั้วจึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขั้วใกล้เคียงกันและโดยส่วนใหญ่สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจะละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วสูง

ตารางที่ 4 สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และค่า IC_{50} กิจกรรมการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง

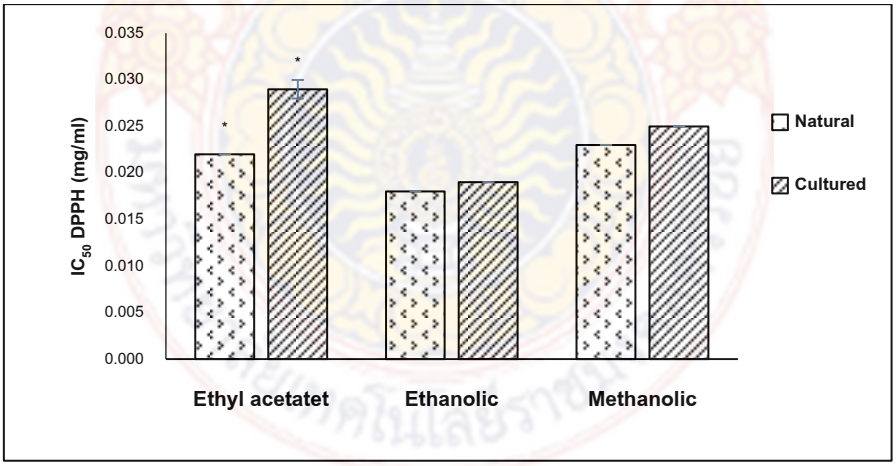
ชนิดของสารสกัดหยาบ	สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mg GAE/g extract)		IC_{50} (mg/ml)	
	ธรรมชาติ	การเลี้ยง	ธรรมชาติ	การเลี้ยง
เอทิลอะซิเตท	9.988±0.17^{a}	33.467±0.62^{b}	0.022±0.00^{d}	0.029±0.00^{e}
เอทานอล	20.274±4.04^{b}	35.592±0.13^{c}	0.018±0.00^{c}	0.019±0.00^{c}
เมทานอล	38.499±2.79^{c}	23.927±0.22^{a}	0.023±0.00^{e}	0.025±0.00^{d}
บีเอชที	-	-	0.007±0.00^{a}	0.007±0.00^{a}
วิตามิน ซี	-	-	0.008±0.00^{b}	0.008±0.00^{b}

หมายเหตุ: ค่าที่แสดงคือค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน,อักษรที่ต่างกันหมายถึงมีความแตกต่างกันระหว่างกลุ่มในคอลัมภ์เดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ ($p<0.05$)



ภาพที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง

หมายเหตุ : * หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$)



ภาพที่ 4 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดระหว่างของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง

หมายเหตุ : * หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p<0.05$)

3.5 ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากไข่น้ำ

ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด โดยได้ใช้บีเอชที (BHT) และ วิตะมินซี (ascorbic acid) เป็นสารมาตรฐาน เมื่อนำค่าร้อยละของการกำจัดอนุมูลอิสระ มาคำนวณการกำจัดอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) โดยสารสกัดเอทานอลของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยงมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.018±0.00 และ0.019±0.00 mg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 3) แต่เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน พบว่าทุกสารสกัดจากไข่น้ำทั้ง 2 แหล่งมีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ได้น้อยกว่า ซึ่งค่า IC_{50} ของสารมาตรฐาน BHT และ วิตามินซี เท่ากับ 0.007±0.000 และ 0.008± 0.000 mg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 3) และเมื่อพิจารณาจากค่า IC_{50} ของสารสกัดในตัวทำละลายเดียวกันมาเปรียบเทียบกันพบว่า ความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเอทานอลและเมทานอลจากธรรมชาติและจากการเลี้ยงไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) แต่สารสกัดด้วยเอทิลอะซิเตทมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามจากผลการศึกษาครั้งนี้ พบว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าไข่น้ำชนิด *W. globosa* ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย เฮกเซน และอะซิโตน:เมทานอล (1:1) (AcMeOH) ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 77.57±0.83 และ 35.81 µg/ml ตามลำดับ(Meechai, 2010)

เมื่อพิจารณาค่าที่ได้จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยวิธี Pearson's correlation coefficients พบว่า ค่า IC_{50} ของการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดเอทานอลของไข่น้ำจากการเลี้ยงมีความสัมพันธ์เชิงลบกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ($r = -0.264$) หมายความว่า หากมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากขึ้นความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH จะมีค่า IC_{50} น้อยลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Piluzza and Bullitta (2011) ที่พบว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH มีความสัมพันธ์ไปในทิศทางเดียวกันกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด กล่าวคือ ถ้ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH ก็จะสูงด้วย

3.6 ปริมาณโลหะหนักตกค้างในไข่น้ำ

ปริมาณโลหะหนักตกค้างในไข่น้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติ มีปริมาณของสารหนูสูงที่สุด และเท่ากับ 0.179 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ส่วนสารปรอทนั้นมีปริมาณน้อยที่สุด (น้อยกว่า 0.02 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม) ส่วนไข่น้ำจากการเลี้ยงด้วยมูลไก่ ซึ่งได้นำไข่น้ำชุดการทดลองที่มีน้ำหนักเพิ่มที่ดีที่สุดมาศึกษาการปนเปื้อนโลหะหนัก พบว่า มีการปนเปื้อนของโลหะหนักทั้งสามชนิดเพิ่มขึ้น โดยพบสารหนูมีปริมาณสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ 0.338±0.016 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (ตารางที่ 5) มีแนวโน้มว่าการปนเปื้อนในครั้งนี้มาจากปุ๋ยมูลไก่ซึ่งได้ซื้อมาใช้ในการทดลองแต่ไม่มีการตรวจสอบการปนเปื้อนโลหะหนักก่อน ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปการใช้ปุ๋ยเลี้ยงไข่น้ำควรใช้ปุ๋ยอินทรีย์ที่มีข้อมูลของโลหะ หนัก เมื่อพิจารณาการปนเปื้อนโลหะหนักในไข่น้ำกับข้อกำหนดตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขฉบับที่

98 (พ.ศ.2529) เรื่องมาตรฐานอาหารที่มีสารปนเปื้อน กำหนดโลหะหนักปนเปื้อนต้องไม่เกินดังนี้ สารหนู 2.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม, ตะกั่ว 1.0 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม และปรอท 0.5 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ซึ่งพบว่าสารโลหะหนักทั้งสามชนิดทั้งไข่น้ำจากแหล่งน้ำธรรมชาติและจากการเลี้ยงมีค่าต่ำกว่าตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข จึงมีความปลอดภัยสำหรับนำมาใช้ประโยชน์

ตารางที่ 5 ปริมาณโลหะหนักของไข่น้ำจากธรรมชาติและการเลี้ยง

ชนิดโลหะหนัก	ปริมาณโลหะหนัก (มก/อาหาร 1 กิโลกรัม)	
	ธรรมชาติ	การเลี้ยง
สารหนู	0.179±0.023	0.338±0.016
สารตะกั่ว	0.155±0.040	0.174±0.001
สารปรอท	<0.020	0.048±0.001

บทที่ 4

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ สารสี สารประกอบฟีโนลิก และฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระของไข่น้ำจากธรรมชาติและได้นำการเลี้ยงในโรงเรือนโดยใช้ปุ๋ยมูลไก่ พบว่า ทั้งคุณค่าทางโภชนาการ ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) โดยภาพรวมพบว่าไข่น้ำจากธรรมชาติมีคุณภาพมากกว่าจากการเลี้ยงหลายประการ ได้แก่ โปรตีน เยื่อใย ปริมาณแคโรทีนอยด์รวม สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด รวมถึงฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ

ข้อเสนอแนะ

ควรมีการศึกษาเพื่อพัฒนาระบบการเลี้ยงไข่น้ำให้ได้คุณภาพมากกว่าไข่น้ำที่เจริญในแหล่งน้ำธรรมชาติเพื่อความปลอดภัยในการบริโภคมากขึ้น

บรรณานุกรม

กองโภชนาการ. 2544. ตารางแสดงชนิดและปริมาณกรดอะมิโนในอาหารไทย. กรมอนามัย, กระทรวงสาธารณสุข.

กันย์สินี พันธ์วนิชดำรง. 2552. การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของไข่น้ำ (*Wolffia arrhiza* (L.) Wimm) และวิธีการในการเพาะขยายพันธุ์แบบมหมวล. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ขวัญดาว แจ่มแจ้ง. 2556. สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักพื้นบ้านในจังหวัดกำแพงเพชร. **วารสารมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม** 13: 32-41.

จันทนา ไพรบูรณ์ และอนงค์ จีรภัทร์. 2557. ปริมาณฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยตัวทำละลายจากสาหร่ายทะเลบางชนิดในประเทศไทย. รายงานการวิจัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชื่นดวงใจ คงบาล. 2560. การเพาะเลี้ยงไข่น้ำ. (www.nesdoae.doae.go.th/km/การเลี้ยงไข่น้ำ (ผำ)) เข้าถึงเมื่อวันที่ 8 เมษายน 2561.

ชุตินุช สุจริต และมาโนช ขำเจริญ. 2545. การทดแทนโปรตีนโดยใช้ไข่น้ำในการทำข้าวเกรียบกุ้ง. *ใน* รายงานการประชุมสัมมนาทางวิชาการ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 19 ณ ศูนย์กลางสถาบันเทคโนโลยีราชมงคล. ปทุมธานี.

นัฏฐา ดำนา, วัลวิภา สายแก้ว และอักษ์ ธีรอำพน. 2560. อิทธิพลของชนิดปุ๋ยและระดับการพรางแสงต่อผลผลิตและคุณภาพของไข่น้ำ (*Wolffia arrhiza* (L.) Wimm.). **วารสารพืชศาสตร์สงขลานครินทร์** 4(3): 60-64.

นิตยา เกตุแก้ว, ดวงรัตน์ ชูเกิด และสุรพล ฐิติธนากุล. 2558. การผลิตไข่น้ำด้วยน้ำทิ้งจากบ่อเลี้ยงปลาดุก. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า** 33: 869-876.

นิศาชล ฤาแก้วมา. 2554. ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไข่น้ำ *Wolffia globosa*. วิทยานิพนธ์ดุษฎีบัณฑิต จุฬาลงกรณมหาวิทยาลัย.

นิธิยา รัตนาปนนท์. 2551. **เคมีอาหาร.** กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์.

บุญทิวา ชาติชำนิ, สุนันทา เลาวัณย์ศิริ และกรรณิการ์ ชูเกียรติวัฒนา. 2556. การบำบัดน้ำเสียฟาร์มสุกรโดยใช้ไข่น้ำเพื่อเป็นอาหารเสริมเลี้ยงสัตว์. **วารสารบัณฑิตศึกษา** 10: 113 - 122.

บุหรัน พันธ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระสารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารมหาวิทยาลัยพะเยา** 21: 275 – 285.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. 2561. โลหะหนัก. (http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2080/heavy-metal) เข้าถึงเมื่อวันที่ 8 กันยายน 2562.

ยุวดี พีรพรพิศาล. 2549. สาหร่ายวิทยา. คณะวิทยาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่

รติรัตน์ หนูหุ่น และอุษา ร้อยอำแพง. 2546. การเพาะเลี้ยงไข่น้ำในน้ำมูลไก่. รายงานวิจัย, สถาบันราชภัฏนครปฐม.

วริศรา ชื่นอารมณ์, อรพิน เกิดชูชื่น และณัฏฐา เลาหกุลจิตต์. 2553. สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดจากชะคราม (*Suaeda maritime*). **วิทยาศาสตร์เกษตร**, 41(พิเศษ): 621-624.

วิณากร ที่รัก. 2555. ผลการเสริมไข่น้ำต่อประสิทธิภาพการผลิตและต้นทุนค่าอาหารของปลานิลแดง. วิทยานิพนธ์เกษตรศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมาธิราช.

ศรัณย์ รักษาพราหมณ์. 2559. การเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงไข่น้ำด้วยปุ๋ยหมักชีวภาพต่างชนิด. น. 750 – 756 *ใน* การประชุมวิชาการระดับชาติมหาวิทยาลัยทักษิณ ครั้งที่ 26, โรงแรมบุรีศรีภู บูติก สงขลา, 26 - 29 พฤษภาคม 2559.

ศิริภาวี ศรีเจริญ, นำชัย เจริญเทศประสิทธิ์, วิรัช จิ๋วแหยม, สายสมร แก้วบริสุทธิ์, ธงชัย จำปาศรี และสำเนา ข้องสาย. 2544. การเพาะเลี้ยงไข่น้ำ (*Wolffia arrhiza*) สำหรับการลดต้นทุนค่าอาหารปลา. **วารสารวิจัย มข** 6: 6 - 15.

ศุทธินี วรรณสุทธิวัฒน์. 2557. การเติบโตและการเพิ่มผลผลิตแคโรทีนอยด์ในจุลสาหร่าย *Chrorococum humicola* ในการเลี้ยงแบบต่อเนื่อง. วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

อนุชิตา มุ่งงาม. 2555. **แอนติออกซิแดนท์ในธัญพืช.** มหาสารคาม: สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

อรุณี รอดลอย, สุจินต์ หนูขวัญ, ศิริวิมล ติรณะรัต และมาลี เอี่ยมทรัพย์.2552. ชนิดและการกระจายพันธุ์ของพรรณไม้น้ำในภาคตะวันออกของประเทศไทย.รายงานการวิจัย สำนักวิจัยและพัฒนาประมงน้ำจืด, กรมประมง

อิสระวัฒน์ ฤทธนพงศธร และเฉลิม เรืองวิริยะชัย. 2556. การแยกสารประกอบฟีนอลิคและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากผลสบู่ดำดิบ. **วิชาการ Veridian E – Journal** 6: 887 - 902.

อุมาพร นิยะนุช. 2553. การเปลี่ยนแปลงหลังการเก็บเกี่ยวขององค์ประกอบและกิจกรรมในการต้านออกซิเดชั่นของไข่น้ำ. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

Appenroth, K - J., Sree, K.S., Bohm, V., Hammann, S., Vetter, W., Leiterer, M. and Jahreis, G. 2017. Nutritional value of duckweeds (Lemnaceae) as human food. **Food Chemistry** 217: 266 - 273.

Armstrong, W.P. 2011. Wayne Armstrong's on-line description of *Wolffia globosa* (Lemnaceae) Retrieved from https://www2.palomar.edu/

Chantiratikul, A., Pooponpan, P., Santhaweesuk, S., Chantiratikul, P., Sangdee, A., Maneechote, U., Bunchasak, C. and Chinrasri, O. 2010. Effect of *Wolffia* meal (*Wolffia globosa* (L). Wimm.) as a dietary protein replacement on performance and carcass characteristics in broilers. **International Journal Poultry Science** 9: 664–668.

de Quiros, A.R. and Costa, H.S. 2006. Analysis of carotenoids in vegetable and plasma sample: a review. **Journal of Food Composition and Analysis**, 19: 97-111.

Julkunen-Tiitto, R. 1985. Phenolic constituents on the leaves of northern willows: Methods for the analysis of certain phenolics. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 33: 213-217.

Marinho-Sariano, E., Fonseca, P.C., Carneiro, M.A.A. and Moreira, W.S.C. 2006. Seasonal variation in the chemical composition of two tropical seaweeds. **Bioresource Technology**, 97: 2402-2406.

Meechai, P. 2010. Antioxidant activities and minerals contents of local edible aquatic plants in the northeastern of Thailand. M. Sc. Dissertation. Mahasarakham University.

Piluzza, G. and Bullitta, S. 2011. Correlations between phenolic content and antioxidant properties in twenty-four plant species of traditional ethnoveterinary use in the Mediterranean area. **Pharmaceutical Biology**, 49(3): 240-247.

Praychoen, P., Praychoen, P. and Phongtongpasuk, S. 2013. Effect of thermal treatment on phytochemical content and antioxidant activity of Gac Juice. **Burapha Science Journal**, 18: 90 - 96.

Rice - Evans,C. A., Miller, J. M. and Paganga, G. 1996. Structure-antioxidant activity relationship of flavonoids and phenolic acids. Free Radical Biology and Medicine 20: 933 - 956.

Ruekaewma, N., Piyatiratitivorakul, S. and Powtongsook, S. 2015. Culture system for *Wolffia globosa* L. (Lemnaceae) for hygiene human food, **Songklanakarin Journal Science**, 37: 575–580.

Shimada, K., Fujikawa, K., Yahara, K. and Nakamura, T. 1992. Antioxidative properties of xanthome on the auto oxidation of soybean in cylcodextrin emulsion. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 40: 945 – 948.

Song, F.L., Gan, R.Y., Zhang, Y., Xiao, Q., Kuang, L. and Li, H.B. 2010. Total phenolic contents and antioxidant capacities of selected Chinese medicinal plants. **International Journal of Molecular Sciences**, 11: 2362-2372.

Szamrej, I.K. and Czerpak, R. 2004. The effect of sex steroids and corticosteroids on the content of soluble proteins, nucleic acids and reducing sugars in *Wolffia arrhiza* (L.) Wimm (Lemnaceae). **Polish Journal of Environmental Studies**, 13(5): 565-571.

Türkoğlu, S. and Parlak, A.E. 2014. Determination of total phenolic and total flavonoid contents and antioxidant capacities of an aquatic plant (*Riccia fluitans*). **Ege Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, 31: 35–40.

ภาคผนวก

การเลี้ยงไข่น้ำในโรงเรือน

ภาพผนวกที่ 1 การพักไข่น้ำสำหรับการเลี้ยง(ก) การเลี้ยงในพื้นที่กลางแจ้ง(ข) การเลี้ยงในพื้นที่ร่ม(ค) การปล่อยไข่น้ำลงเลี้ยงและการเติมปุ๋ย(ง) ผลผลิตที่ได้จากการเลี้ยง 24 วัน (จ,ฉ,ช) และการวิเคราะห์สารสีของไข่น้ำ(ซ,ฌ)