

วิตามินอีในเมล็ดหลังเก็บเกี่ยวของข้าวดำ งาขาว งาดำ และงาขี้ม้อน

Vitamin E in post-harvested grains of purple rice white sesame black sesame and perilla

ธิดารักษ์ แสงอรุณ¹ กรวรรธน์ ศรีงาม² และ ดำเนิน กาละดี¹

Thidarak Sangaroon¹ Korawan Sringarm² and Dumern Karladee¹

Abstract

Vitamin E is widely utilized as an antioxidant source for functional food products. Investigation of vitamin E in the staple for manufactories the product is necessary. In this experiment, investigation of vitamin E and crude oil was performed among post harvested grains of 12 perilla and 3 (1 white, 2 black) sesame genotypes and the bran of 26 rice genotypes (24 purple rice, 2 white rice checks). The amount of vitamin E was estimated using HPLC technique. The results show that sesame and perilla grains manifested an average level of crude oil content of 18% higher than the rice bran. Black sesame exhibited the highest crude oil level (45.26%) followed by perilla (34.49%) white sesame (33.77%), white rice bran (23.84%) and purple rice bran the lowest (16.75%). In contrast, vitamin E content was higher in the perilla grains (276.78 ug/g dw) followed by black sesame grain (248.55 ug/g dw) and white sesame grain (147.75 ug/g dw). Vitamin E in purple rice bran was 138.15 ug/g dw and only 121.50 ug/g dw in white rice bran, in which both rice varieties were lower than in sesame and perilla grains. The relationship between vitamin E and crude oil in the post harvest grains of the tested samples was not correlated ($r = 0.14ns$).

Keywords: Vitamin E and crude oil, Purple rice and white rice bran, Perilla grain, Black sesame and White sesame grains

บทคัดย่อ

วิตามินอี ถูกนำมาใช้เป็นสารอาหารต้านอนุมูลอิสระในผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพหลายชนิด ดังนั้นจึงจำเป็นต้องวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอี ในวัตถุดิบที่จะใช้ประกอบเป็นผลิตภัณฑ์ดังกล่าว ในงานวิจัยนี้ได้ตรวจสอบปริมาณวิตามินอี และไขมันโดยรวมในเมล็ดหลังเก็บเกี่ยวของงาขี้ม้อน งาดำ งาขาว จำนวน 12, 2, 1 ตัวอย่างพันธุ์ตามลำดับ ในรำละเอียดของข้าวดำ และข้าวขาว อีก 24 และ 2 ตัวอย่างพันธุ์ ตรวจสอบปริมาณวิตามินอี โดยเทคนิคโครมาโตกราฟีของเหลวแบบสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography ; HPLC) ผลการวิจัยพบว่าเมล็ด งาดำ งาขาว และงาขี้ม้อน มีปริมาณไขมันโดยรวมสูงกว่ารำข้าว 18% โดยเฉพาะงาดำ มีไขมันสูงสุด (45.26%) รองลงมาได้แก่งาขี้ม้อน (34.49%) งาขาว (33.77%), รำข้าวขาว (23.84%) และรำข้าวดำ (16.75%) ตามลำดับ ซึ่งตรงกันข้ามกับปริมาณวิตามินอี ที่พบสูงมากในงาขี้ม้อน (276.78 ug/g dw) ตามด้วยงาดำ (248.55 ug/g dw) และงาขาว (147.75 ug/g dw) ทั้งนี้ปริมาณวิตามินอี ในเมล็ดงาดำสูงกว่าในข้าว โดยพบว่ารำข้าวดำมีวิตามินอี 138.15 ug/g dw และรำข้าวขาวมีวิตามินอี 121.50 ug/g dw อย่างไรก็ตามเมื่อตรวจสอบความสัมพันธ์ไม่พบความสัมพันธ์ใดๆระหว่างปริมาณไขมันโดยรวมกับปริมาณวิตามินอี ($r = 0.14ns$)

คำสำคัญ: วิตามินอีและไขมันโดยรวม, รำละเอียดข้าวดำและข้าวขาว, เมล็ดงาดำ งาขาว และงาขี้ม้อน

คำนำ

วิตามินอีเป็นสาร Antioxidant ธรรมชาติ โดยพบสารอนุพันธ์ของวิตามินอี ได้ทั้งหมด 8 ชนิดโดยแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ Tocopherol และ Tocotrienol โดยแต่ละกลุ่มจะแบ่งเป็น 4 ชนิดคือ Alpha- α , Beta- β , Gamma- γ และ Delta- δ ซึ่งวิตามินอี สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยา Oxidation ของ Acylglycerol peroxidation โดยการจับกับอนุมูลอิสระ (Free radical) สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ Cholesterol ในตับ มีฤทธิ์เป็นสารต้านมะเร็ง เพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของร่างกายลด

¹ ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

¹ Department of Plant Science and Natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

² ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

² Central Laboratory, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

* corresponding author: thidarak_ying139@hotmail.com

การเสื่อมสภาพของเซลล์ (Chu และคณะ, 2003) นอกจากนี้ วิตามินอี ยังทำงานร่วมกับสารต้านอนุมูลอิสระชนิดอื่นๆ ทั้งที่ละลายได้ในไขมัน และในน้ำ ซึ่งทำให้สิ่งมีชีวิตมีระบบการป้องกันอย่างมีประสิทธิภาพในการต่อสู้กับอนุมูลอิสระมากขึ้น (Eitenmiller and Lee, 2004) วิตามินอี จากธรรมชาติมีทั้งที่ร่างกายสามารถดูดซึมได้ดีกว่า และมี activity สูงกว่าวิตามินอี ที่ได้จากการสังเคราะห์ (Gast และคณะ, 2005) เนื่องจากมนุษย์ และสัตว์ ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินอี ได้เอง ดังนั้นจึงต้องได้รับวิตามินอี จากอาหารที่รับประทานเข้าไป ซึ่งพืชเป็นแหล่งของวิตามินอี ที่สำคัญทั้ง Tocopherol และ Tocotrienol เช่น ข้าวสาลี ข้าวโพด และถั่วเหลือง จะมี Tocopherol เป็นองค์ประกอบอยู่มาก ส่วนในข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ตป่าลัม และรำข้าว จะประกอบด้วย Tocotrienol มากกว่า 70% (Minhajuddin และคณะ, 2005) ธัญพืชอื่นๆ เช่น เมล็ดงาที่มีวิตามินอี ในรูปของ Gamma-tocopherol ส่วนในรูปของ Alpha-tocopherol มีปริมาณน้อยมาก และฤทธิ์ของ Gamma-tocopherol นั้นเท่ากับ 6-16% ของฤทธิ์ Alpha-tocopherol (Yamashita และคณะ, 1995)

ข้าวก่ำ (purple rice: *Oryza sativa* L.) มีการปรากฏของสีม่วง (Anthocyanin) บนส่วนต่างๆของต้น โดยเฉพาะที่เยื่อหุ้มเมล็ด (pericarp) สีม่วงที่พบในข้าวก่ำ 85 % อยู่ในรูปของ Cyanidin 3 glucoside (C3G) มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเช่นกันและที่เหลือ 15% จะอยู่รูป peonidin-3-glucoside นอกจากนี้ข้าวก่ำ มีคุณค่าทางอาหารอื่นเช่น ปริมาณโปรตีน ไขมัน ฟอสฟอรัส โปตัสเซียม และแคลเซียม ทั้งในส่วนของเปลือกและข้าวกล้อง พบว่าข้าวก่ำมีปริมาณธาตุอาหารทั้ง 5 ชนิดในข้าวกล้องสูงกว่ากลุ่มข้าวขาว (ดำเนิน และ คันสนีย์, 2543) รวมถึงสารประกอบอื่นๆ เช่น Gamma oryzanol (Panita and Dumern, 2010) ซึ่งสามารถลดระดับ Cholesterol ในส่วนของ low – density lipoprotein (LDL) ลดความเสี่ยงของโรคหัวใจ และการเกิดนิ่วในร่างกายนได้

ส่วนงาขี้ม่อน (*perilla: Perilla frutescens* L.) ที่สามารถสกัดน้ำมันจากเมล็ดได้ถึง 31-51 % น้ำมันงาขี้ม่อนสามารถสกัดเป็นน้ำมันโอรเซเหย ใช้ในอุตสาหกรรมน้ำหอม ใช้ปรุงแต่งรสชาติอาหาร ใช้เป็นยาพื้นบ้าน รักษาโรคไอ โรคปอด โรคเครียด และโรคนอนไม่หลับ (เพิ่มศักดิ์ และคณะ, 2546) แต่ยังไม่พบงานวิจัยที่ระบุปริมาณวิตามินอี ของ งาขี้ม่อน อย่างแน่ชัด

ซึ่งในปัจจุบันนี้พบว่าผู้ป่วย ที่มีระดับ Cholesterol ไขมันในเส้นเลือดสูง, โรคหัวใจ และโรคเมะเร็ง เพิ่มขึ้น ดังนั้นหากวิจัยและพัฒนาพืชพื้นบ้าน ข้าวก่ำ และงา ให้สามารถใช้ประโยชน์เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ (functional food product) ป้องกันหรือลดความเสี่ยงของโรคต่างๆ ดังกล่าวได้แล้วก็จะ เป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มของข้าวก่ำ และงาได้

ในรายงานนี้ได้ตรวจสอบปริมาณวิตามินอี และไขมันโดยรวม (Crude Fat) ในเมล็ด หลังเก็บเกี่ยวของงาขี้ม่อน และข้าวก่ำ วัดปริมาณวิตามินอี โดยเทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เพื่อใช้ประเมินความแตกต่างทางพันธุกรรมของปริมาณ วิตามินอี ในเมล็ดของพืชทั้งสองชนิดเพื่อประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ เพิ่มคุณค่าทางโภชนาการของพืชและงาต่อไป

อุปกรณ์และวิธีการ

ปริมาณ Crude Fat : ชั่งตัวอย่าง 2.5 กรัม และ ชั่งน้ำหนักขวดทรงเตี้ย (flask) ที่ใส่หินกันเดือด (pumice stone) 2-3 เม็ด และผ่านการอบแห้งที่ 100 °C สมมุติได้ X กรัม จากนั้นห่อตัวอย่างใส่ลงใน thimble และนำ thimble ใส่ลงใน soxhlet ต่อปลายล่างของ soxhlet เข้ากับขวดทรงเตี้ย ส่วนปากของ soxhlet ต่อเข้ากับเครื่องควบแน่น ปล่อน้ำเข้าเครื่องกลั่น เติม dichloromethane ประมาณ 250 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนเกิดการควบแน่น 4-6 หยด ต่อวินาที ใช้เวลา 8 ชม. จากนั้นนำ thimble ออกจาก soxhlet กลั่นแยกสารเคมีเก็บไว้ใช้ต่อไป จนสารเคมีเหลือกันขวดไม่เกิน 5 มล. นำขวดไปอบที่ 100 °C เป็นเวลา 30 นาที ทำให้เย็นในโถอบแห้ง นำไปชั่ง สมมุติได้ Y กรัม % Crude fat = (Y - X) / 2 × 100 (Pathak และคณะ, 1996)

ปริมาณวิตามิน E: นำตัวอย่างของน้ำมันไปวิเคราะห์ในเครื่อง HPLC (Shimadzu, Japan) โดยใช้ reversed phase, mobile phase 25:22:3 (v/v/v) methanol/ acetonitrile/methylene chloride Colum: Pinnacle sillicu 5/um, 250 x 46 mm. (Restex, USA) จากนั้นวิเคราะห์และเปรียบเทียบวิตามิน E มาตรฐานต่อไปตามวิธี AOCS (Method Ce 8-89) (AOCS, 1997)

ผลการทดลอง

ปริมาณ Crude Fat ของรำข้าวก่ำแตกต่างกันตั้งแต่ 14.10 % (Kum7677) ถึง 20.59 % (Kum11875) ส่วนในรำข้าวขาวมีสูงกว่า (RD6: 23.00%) และ (KDML 105: 24.68%) ส่วนวิตามินอี พบว่าในรำข้าวก่ำมีปริมาณตั้งแต่ 87.90 ug/g dw (Kum11875) ถึง 254.07 ug/g dw (Kum Na) สูงกว่าปริมาณวิตามินอี ของรำข้าวขาว (KDML 105: 118.57 ug/g dw), (RD6: 124.49 ug/g dw) ซึ่งวิตามินอี ที่พบในรำข้าวมากที่สุดคือ Gamma-γ (86.73 ug/g dw) รองลงมา Beta- β และ Alpha-α (27.95 และ 23.15 ug/g dw ตามลำดับ) แต่ไม่พบวิตามินอี ชนิด Delta- δ ในรำข้าว (Table1) และมีความสัมพันธ์ระหว่าง

Alpha- α กับBeta- β ($r=0.6025$; $P<0.01$), Alpha- α กับ Gamma- γ ($r=0.7147$; $P<0.01$) และ Beta- β กับGamma- γ ($r=0.3385$; $P<0.05$) (Table2)

ปริมาณ Crude Fat ในงาขี้ม่อน แตกต่างกันตั้งแต่ 31.93 % - 44.26% ในงาดำ 40.26% - 50.26 % ส่วนในงาขาว มีเพียง 33.77% ปริมาณวิตามินอี ในงาขี้ม่อน แตกต่างกันตั้งแต่ 201.29 - 325.66 ug/g dw งาดำ 300.37 - 196.73 ug/g dw ในงาขาวมีวิตามินอี น้อย (147.75 ug/g dw) ตัวอย่างพันธุ์ที่มีปริมาณวิตามินอี สูง คือ Wiengsa 3, NanNoi 2, NanNoi 5 ,Wiengsa 1และงาดำ Chaiburi และพบวิตามินอี ชนิด Gamma- γ ในงาเพียงชนิดเดียวเท่านั้น

วิจารณ์ผลการทดลอง

ปริมาณวิตามินอีและปริมาณ Crude Fat ที่ตรวจสอบในเมล็ดหลังเก็บเกี่ยว พบว่าเมล็ด งาดำ งาขาว และงาขี้ม่อน มีปริมาณ Crude Fat สูงกว่ารำข้าว 18% โดยเฉพาะงาดำ มีปริมาณ Crude Fat สูงสุด รองลงมาได้แก่งาขี้ม่อน งาขาว และ รำข้าว ในข้าวจะเห็นว่า รำข้าวขาวจะมีปริมาณ Crude Fat สูงกว่ารำข้าวดำ สอดคล้องกับ Panita and Dumern (2010) แต่เมื่อนำไปหาปริมาณวิตามินอี กลับพบมาก ในงาขี้ม่อน ตามด้วยงาดำ และงาขาว ทั้งนี้ปริมาณวิตามินอี ในเมล็ดงาสูงกว่าในข้าว โดยพบว่า รำข้าวดำมีวิตามินอี 138.15 ug/g dw และรำข้าวขาวมีวิตามินอี 121.50 ug/g dw) และในรำข้าวพบวิตามินอี ชนิด Gamma- γ มากที่สุด รองลงมาคือ Beta- β และ Alpha- α ตามลำดับแตกต่างจากการทดลองของ Suhyun and Junsoo (2010) ที่พบปริมาณวิตามินอี ในรำข้าว ชนิด Alpha- α มากที่สุด รองลงมาคือGamma- γ และBeta- β แต่ไม่พบชนิด Delta- δ ในรำข้าวเช่นเดียวกัน ส่วนในงาพบวิตามิน E ชนิด Gamma- γ เพียงชนิดเดียวเท่านั้นอย่างไรก็ตาม Alpha- α จะมี activity สูงที่สุด (Theriaux และคณะ, 1999) ซึ่งฤทธิ์ของ Gamma- γ นั้นมีเพียง 6-16% เท่าของ Alpha- α (Yamashita และคณะ, 1995) ในรายงานนี้พบว่าเมล็ดข้าวและงามีวิตามินอี ในรูปของ Gamma- γ สูง ส่วนในรูปของ Alpha- α มีปริมาณน้อยมาก

ความแตกต่างทางพันธุกรรมที่พบแสดง genetic diversity ของวิตามินอี และ Crude Fat ในธรรมชาติซึ่งสามารถนำไปเป็นข้อมูลในโครงการปรับปรุงพันธุ์ หรือการสร้างผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพจากเมล็ดข้าวดำ งา และงาขี้ม่อน ส่วนที่พบว่า ปริมาณ Crude Fat ไม่มีความสัมพันธ์กับปริมาณวิตามินอี แสดงว่า ปริมาณ Crude Fat ไม่สามารถใช้เป็นเกณฑ์ในการคัดเลือกหาปริมาณวิตามินอี ของข้าวและงาได้

คำขอขอบคุณ

โครงการวิจัย ได้รับทุนสนับสนุนทุนวิจัยจากคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

เอกสารอ้างอิง

- ดำเนิน กาละดี และ ดันสนีย์ จำจด. 2543. ความหลากหลายของลักษณะทางพืชไร่. รายงานการวิจัยเรื่องพันธุศาสตร์การปรับปรุงพันธุ์และโภชนศาสตร์เกษตรของข้าวเหนียวดำ. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. หน้า 12-25.
- เพิ่มศักดิ์ สุภาพรเหมินทร์, อนันต์ ปินตารักษ์ และ ดนุวัต เพ็ญอื่น. 2546. งาขี้ม่อน (งาหอม) พืชที่มีคุณค่าของไทยภาคเหนือ. เชียงใหม่: สถาบันวิจัยพืชไร่ กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 7 น.
- AOCS. 1997. *Official methods and recommended Practices of the American Oil Chemists' Society* (5th ed.). Washington, DC: American Oil Chemists' Society Press. (Method Ce 8-89).
- Chu, B.S., S.Y. Quek and B.S. Baharin. 2003. Optimization of enzymatic hydrolysis for concentration of vitamin E in palm fatty acid distillate. *Food Chem.* 80: 295-302.
- Eitenmiller, R. and J. Lee. 2004. *Vitamin E: Food chemistry, composition, and analysis*. New York: Marcel Dekker, Inc.
- Gast, K., M. Jungfer, C. Saure and G. Brunner. 2005. Purification of tocopherols from edible oil. *J. Supercrit. Fluid.* 34.
- Minhajuddin, M., Z.H. Beg and J. Iqbal. 2005. Hypolipidemic and antioxidant properties of tocotrienol rich fraction isolated from rice bran oil in experimentally induced hyperlipidemic rats. *Food and chemical Toxicology* 43: 747-753.
- Boonsit, P. and D. Karladee. 2010. Gamma oryzanol content in glutinous purple rice landrace varieties. *CMU.J.Nat.Sci.* 151-157.
- Pathak, N.N., D.N.Kamra, N. Agarwal, and R.C. Jakhmola. 1996. *Analytical Techniques in Animal Nutrition Research*. International Book Distributing Co., U.P. India. 201 p.
- Suhyun K. and L. Junsoo. 2010. Antioxidants in milling fraction of black rice cultivars. *Food Chem.* 120: 278-281.
- Theriaux R.L., A. Lipton and G.N. Hortobagyi. 1999. Pamidronate reduces skeletal morbidity in women with advanced breast cancer and lytic bone lesions a randomized, placebo-controlled trial. Protocol 18 Aredia Breast Cancer Study Group. *J Clin Oncol.* 17: 846-854.
- Yamashita K., Y. Iizuka, T. Imai and M. Namiki. 1995. Sesame seed and its lignans produce marked enhancement of vitamin E activity in rats fed a low tocopherol diets. *Lipids* 30 (11): 1019-1028.

Table 1. Crude Fat and tocopherols of rice bran purple comparison to the white rice (KDML 105, RD6).

Collection name	Crude Fat (CF) %	Tocopherols (T)			Total (ug/g dw)
		α	β	γ	
Kum Phayao	16.23 hijklm	37.57	49.55	119.58	206.69 b
Kum Wiengsa	19.58 cd	22.75	24.10	55.59	102.44 lk
Kum Na	17.44 fg	59.88	50.12	144.07	254.07 a
Kum Nan	17.2 fgh	14.63	26.09	65.16	105.88 klm
Kum DoiSaKet	19.82 cd	26.68	30.84	83.82	141.38 efghi
Kum Hoksalee	17.72 ef	13.62	23.34	88.36	125.31 ghijkl
Kum DoiMoseur	20.06 c	20.59	29.43	57.18	107.21 jklm
Kum Fang	15.75 klmn	22.73	39.22	87.05	149.0 defg
Kum 5153	16.16 hijklm	24.85	29.32	117.70	171.86 cd
Kum 7677	14.10 o	16.98	36.54	83.67	137.19 efghi
Kum 87061	14.81 no	20.40	29.53	93.67	142.96 efgh
Kum 87090	18.85 de	29.84	26.82	105.23	161.89 de
Kum 87046	16.08 hijklm	19.63	25.15	84.27	129.05 fghijk
Kum 89038	15.57 lmn	20.19	25.28	92.99	138.47 efght
Kum 89057	14.36 o	17.94	28.70	69.74	116.38 ijkl
Kum 88061	16.30 hijklm	17.49	30.88	83.05	131.42 fghij
Kum 88069	16.72 hijklm	31.63	24.02	75.35	130.99 fghij
Kum 88083	16.05 ijklm	15.08	19.62	72.57	107.27 jklm
Kum 99151	16.42 ghijkl	20.63	24.28	63.61	108.53 jklm
Kum 11875	20.59 c	9.67	19.18	59.05	87.90 m
Kum 19104	16.96 fghij	37.44	48.87	106.03	192.33 bc
Kum 19959	17.09 fghi	18.62	22.86	69.62	111.10 jklm
Kum Supan	15.19 mno	18.17	32.21	76.67	127.06 ghijkl
Kum Vietnam	15.86 jklmn	27.70	29.13	97.11	153.93 def
RD6	23.00 b	19.01	0.0	105.48	124.49 ghijkl
KDML105	24.68 a	18.13	1.54	98.90	118.57 hijkl
	mean	23.15 C	27.95 B	86.73 A	137.82
	LSD _{0.05} (T)	5.98*	6.32*	16.45*	25.02*
	SE	2.91	3.07	8.00	12.17
	mean	17.41			
	LSD _{0.05} (CF)	1.14*			
	SE	0.55			

Table 2. Correlation coefficients:r between Alpha- α , Beta- β and Gamma- γ of Tocopherols (T)

	Alpha- α	Beta- β
Beta- β	0.6025**	
Gamma- γ	0.7147**	0.3385*

Table 3. Crude fat and Tocopherols of *Sesamum indicum* and *Perilla frutescens*.

Collection location	Crude oil (%)	Tocopherols (γ : ug/g dw)
White sesame -Chaiburi	33.77 efg	147.75 d
Black sesame -Chaiburi	50.26 a	300.37 a
Black sesame -Wiengsa	40.26 c	196.73 cd
perilla -Thawangpha	36.18 d	241.23 bc
-Wiengsa 1	31.93 g	312.00 a
-Wiengsa 2	32.01 fg	292.18 ab
-Wiengsa 3	44.26 b	325.66 a
-NanNoi 1	34.05 ef	278.70 ab
-NanNoi 2	33.71 efg	322.70 a
-NanNoi 3	32.00 fg	283.41 ab
-NanNoi 4	33.76 efg	269.26 ab
-NanNoi 5	33.13 efg	316.68 a
-NanNoi 6	34.13 de	242.56 bc
-NanNoi 7	34.25 de	235.70 bc
-NanNoi 8	34.44 de	201.29 cd
	mean	264.41
	LSD _{0.05} (T)	56.52*
	SE	26.52
	mean	35.87
	LSD _{0.05} (CF)	2.05*
	SE	0.96