

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดที่มีฤทธิ์ชีวภาพ
และการประเมินปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากข้าวไทย

Development of skin care lotion containing bioactive extracts
and evaluation of anti-oxidant compounds from Thai rice



T137617

โดย

ผศ.ดร. จิตติ ท้าไว

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประจำปี 2557

RCH

๙๔๑๙๓

๒๕๕๗

สาขา.....
เลขทะเบียน...137617
วันเดือนปี...13 ก.ค. 2558

.b. 12695245
.i.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ผู้วิจัยขอขอบคุณหน่วยงานดังกล่าวที่ให้การสนับสนุนทุนวิจัยตลอดการวิจัยในครั้งนี้

ผศ.ดร. จิตติ ทำไฉ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การพัฒนาผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดที่มีฤทธิ์ชีวภาพและการประเมินปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากข้าวไทย

(ภาษาอังกฤษ) Development of skin care lotion containing bioactive extracts and evaluation of anti-oxidant compounds from Thai rice

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจาก คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประจำปี 2557

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี เดือนกันยายน 2556 ถึง ตุลาคม 2557

ผู้ดำเนินการวิจัย ผศ.ดร. จิตติ ท้าวไฉ
สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

โทรศัพท์ 02-3298400 ต่อ 235

บทคัดย่อ

น้ำมันรำข้าวถูกสกัดจากวิธีการหมักด้วยวิธีดั้งเดิมและการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงร่วมกับตัวทำละลายหลายชนิดและหลายอัตราส่วนของรำข้าวและตัวทำละลาย น้ำมันที่ได้ถูกวิเคราะห์ด้วย รีเวิร์สเฟส-เอช พี แอล ซี ที่ต่อกับเครื่องตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ ความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระถูกทดสอบโดยวิธีดี-พี พี เอช สำหรับจุดมุ่งหมายของงานวิจัยนี้คือเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการสกัดสองวิธี ได้แก่ วิธีการหมักด้วยวิธีดั้งเดิมและการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงร่วมกับตัวทำละลาย พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดในการสกัดเพื่อให้ได้รำข้าว คือ การสกัดโดยใช้คลื่นเสียงร่วมกับอะซิโตนที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:4 เป็นเวลา 30 นาที และการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงร่วมกับไอโซโพรพานอลที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:2 เป็นเวลา 60 นาที สำหรับการสกัดเพื่อให้ได้สารแกมมา-ออโรซานอลเพิ่มขึ้น คือ การสกัดโดยใช้คลื่นเสียงร่วมกับเอทานอลที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:6 เป็นเวลา 30 นาที สำหรับการพัฒนาโลชั่นที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ผสมสารแกมมา-ออโรซานอลและน้ำมันรำข้าว นั้น มีตำรับโลชั่นจำนวน 7 ตำรับถูกสร้างขึ้นมา โลชั่นสูตรที่ 3 4 และ 7 ให้คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีที่ดี นั่นคือ มีเนื้อสัมผัส ความหนืด ค่าความเป็นกรด-ด่าง และความคงตัวที่ดี ดังนั้นทั้งสามตำรับจึงถูกเลือกมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ดี-พี พี เอช ประสิทธิภาพของสารกันบูด และความพึงพอใจจากอาสาสมัครจำนวน 50 คน ผลการศึกษาพบว่า พาราเบนเป็นสารกันบูดที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ที่ดี และโลชั่นทุกตำรับไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง สำหรับโลชั่นตำรับที่ 4 แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด ส่วนโลชั่นตำรับที่ 7 ได้รับความพึงพอใจจากอาสาสมัครมากที่สุด

Abstract

Rice bran oil was extracted by conventional solvent maceration method and ultrasonic-assited extraction with several organic solvents and solvent-to-rice ratio. The oil components were analyzed using reverse-phase HPLC and quantified with a fluorescence detector. The radical scavenging capability of the oil was tested with DPPH method. The aim of this research was to compare the efficiency of two extraction methods: ultrasonic-assited extraction and solvent extraction. The result showed that the best condition for rice bran oil extraction was ultrasonic-assited extraction with acetone using a solvent-to-rice ratio of 1:4 (w/w) for 30 min and ultrasonic-assited extraction with isopropanol using a solvent-to-rice ratio of 1:2 (w/w) for 60 min. For the increasing of γ -oryzanol, the best condition was ultrasonic-assited extraction with ethanol using a solvent-to-rice ratio of 1:6 (w/w) for 30 min. For the developing of the antioxidant oil in water lotion containing the gamma-oryzanol and rice bran oil, 7 formulas of lotion were created. The formula 3, 4, 7 exhibited the satisfied physical and chemical properties including texture of the lotion, viscosity, chemical qualification (Acid/Base) and the stability of lotion texture. Afterwards, the best three lotion formulas 3, 4 and 7 were selected for testing the efficiency of the preservatives, antioxidant activity using DPPH scavenging assay and statistical test for satisfaction (50 volunteers). The result of these studies revealed that parabens is the best preservative for inhibiting the microorganisms. In addition, the 4th lotion formula exhibited the best antioxidant activity. Furthermore, the result of satisfaction of volunteers showed that all lotion formulas have no an irritating effect on the skin and the 7th lotion formula is the most preferred lotion base.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อภาษาไทย	ข
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	ง
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	3
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการ	49
บทที่ 4 ผลการดำเนินการวิจัย	61
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	90
เอกสารอ้างอิง	92
ภาคผนวก	101



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการพิเศษ

โครงการวิจัยนี้เป็นการบูรณาการการวิจัยระหว่างสาขาวิชาชีววิทยาและสรีรวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เพื่อศึกษาเปรียบเทียบสารสำคัญต่างๆ โดยเฉพาะสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น gamma-oryzanol ซึ่งเป็นสำคัญในข้าวและนำสารสกัดสำคัญจากข้าวมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวเพื่อเพิ่มความชุ่มชื้น (moisturizing) และชะลอวัย (anti-aging) แก่ผิว เพื่อตอบโจทย์วิจัยด้านงานวิจัยเชิงบูรณาการและพาณิชย์และเพิ่มมูลค่าข้าวไทยให้สูงขึ้น รวมทั้งเป็นแนวทางสร้างผลิตภัณฑ์ตัวอย่างของคณะวิทยาศาสตร์ โครงการนี้ถือเป็นโครงการแรกของคณะวิทยาศาสตร์ เพื่อทำการศึกษาและผลิตผลิตภัณฑ์ทางเวชสำอางเพื่อเป็นแนวทางการขายได้ให้กับคณะต่อไปในอนาคต

ข้าวเป็นผลผลิตหลักที่ได้จากการเกษตรกรรมของไทย นอกจากข้าวจะเป็นอาหารหลักของคนไทยแล้วในปัจจุบันยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นชีวผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้หลายชนิด ประเทศไทยมีข้าวสายพันธุ์ต่างๆ มากมายที่มีเอกลักษณ์เฉพาะตัว เช่น ข้าวหอมมะลิ ข้าวสีนิล ข้าวสาวไห้ และข้าวสายพันธุ์อื่นอีกหลายชนิด สารสกัดที่ได้จากส่วนต่างๆ ของข้าว เช่น ใบ ลำต้น และรวง มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระได้สูง เมล็ดข้าวเมื่อนำมาสีเป็นข้าวสารจะเกิดรำข้าวปริมาณมากและในรำข้าวนี้มีส่วนสำคัญที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากมาย สารสำคัญชนิดหนึ่งในรำข้าว คือ กลุ่มสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(anti-oxidant compounds) เช่น vitamin E, polyphenol, anthocyanin, phytate เป็นต้น ซึ่งมีคุณสมบัติในการจับอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสารแกมมาโอไรซานอล (gamma-oryzanol) ซึ่งมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระและมีคุณสมบัติทางชีวภาพอีกหลายอย่าง เช่น เป็นสารกระตุ้นการเจริญของร่างกาย ลดการปริมาณโคเลสเตอรอลในพลาสมา ลดการรวมตัวของเกล็ดเลือด ช่วยรักษาระบบการทำงานของสมองที่ผิดปกติและลดรอยเหี่ยวย่นของผิวหนัง เป็นต้น ในปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ในข้าวได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้เป็นอาหารเสริมและที่กำลังได้รับความนิยมคือ นำมาเป็นสารช่วยลดย่อยเหี่ยวย่น (anti-aging) และสารบำรุงผิวในเวชสำอาง สารต้านอนุมูลอิสระ เช่น แกมมาโอไรซานอลพบได้ในข้าวสายพันธุ์ต่างๆ แต่มีปริมาณที่แตกต่างกันไป ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อศึกษาเปรียบเทียบสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เช่น สารแกมมาโอไรซานอลจากข้าวไทยสายพันธุ์ต่างๆ โดยเฉพาะข้าวหอมมะลิ และข้าวเจ้าหอมสุพรรณบุรี และพัฒนากระบวนการสกัดสารสำคัญของข้าว จากนั้นทำการสกัดสารสำคัญต่างๆ จากข้าวนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและผลิต ผลิตภัณฑ์ทางเวชสำอางต่างๆ เช่น โลชั่น ครีม และเซรั่มบำรุงผิว เพื่อเพิ่มมูลค่าของข้าวไทยและทำเป็นผลิตภัณฑ์ของคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อศึกษาและพัฒนากระบวนการสกัดสารแกมมาออโรซานอลจากข้าว
- 1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของแกมมาออโรซานอลที่สกัดได้
- 1.2.3 เพื่อคิดค้นสูตรผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีส่วนประกอบจากสารสำคัญของข้าว
- 1.2.4 เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบต่างๆ เช่น โลชั่นบำรุงผิว เป็นต้น

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

โครงการวิจัยชุดนี้มีเป้าหมายเพื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณและพัฒนากระบวนการสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในข้าวไทยสายพันธุ์ ข้าวเจ้าหอมสุพรรณ โดยวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมกับตัวทำละลายในสภาวะต่างๆ และเปรียบเทียบกับวิธีหมักด้วยตัวทำละลายซึ่งเป็นวิธีที่ใช้กันดั้งเดิม (classical method) ว่าวิธีการใดให้ปริมาณสารได้ดีกว่ากัน และทำการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวมาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์บำรุงผิว เช่น ครีม โลชั่น เซรั่มบำรุงผิว เป็นต้น ข้อมูลที่ได้คาดหวังว่าจะได้เป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวดังแบบเพื่อเป็นแนวทางการรายได้ให้กับคณะวิทยาศาสตร์ ต่อไปในอนาคต



บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าว

นับตั้งแต่ที่ไทยดำรงความเป็นชาติ ข้าวมีบทบาทในสังคมมาโดยตลอด ในฐานะอาหารจานหลักที่ให้พลังงานต่อชีวิตคนไทยทั้งยากดีมีเงิน อีกทั้งเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญ เนื่องด้วยเรามีสภาพภูมิประเทศและภูมิอากาศที่เหมาะสมกับการเพาะปลูกรวมกับความชำนาญของคนไทย ทำให้เรามีข้าวไทยที่มีคุณภาพดีเป็นที่ต้องการของคนทั่วโลก

ข้าวเป็นพืชอาหารที่สำคัญชนิดหนึ่งของโลก โดยเฉพาะประเทศในภูมิภาคเอเชียที่นิยมรับประทานข้าวเป็นอาหารประจำวันมากกว่าภูมิภาคอื่นๆของโลก การผลิต บริโภคและการค้าข้าวส่วนใหญ่จึงกระจุกตัวอยู่ในทวีปเอเชีย ข้าวเป็นพืชในเขตร้อนซึ่งต้องการอุณหภูมิและความชื้นสูงในการเจริญเติบโต ประเทศไทยจึงเป็นประเทศหนึ่งที่เหมาะสมกับการปลูกข้าว พันธุ์ข้าวของไทยเป็นที่นิยมของประชากรที่บริโภคข้าวทั่วโลก อีกทั้งภูมิอากาศและภูมิประเทศของประเทศไทย เหมาะกับการเจริญเติบโต แต่ข้าวที่ผลิตได้ส่วนใหญ่จะใช้ในการบริโภคภายในประเทศ ทำให้มีข้าวเพียงร้อยละ 6 เท่านั้นที่เข้าสู่ตลาดการค้าข้าวระหว่างประเทศ โดยประเทศที่มีบทบาทมากที่สุดในการส่งออกข้าวคือ ประเทศไทย รองลงมา คือ อินเดีย เวียดนาม จีน และพม่า ตามลำดับ โดยประเทศไทยส่งออกข้าวปีละประมาณ 7 ล้านตัน เป็นสัดส่วนประมาณร้อยละ 36 ของการส่งออกข้าวทั้งหมดของโลก จึงนับได้ว่าข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจหลักที่สำคัญของประเทศ ซึ่งสมควรอย่างยิ่งที่จะได้รับการส่งเสริมในด้านการเพาะปลูก

เพื่อความเข้าใจที่ตรงกันในคำศัพท์ที่เกี่ยวข้องกับข้าว ตามพจนานุกรมฉบับบัณฑิตยสถาน (2525) ให้ความหมายคำว่า ข้าว หมายถึง เมล็ดของพืชพวกหญ้าในวงศ์แกรมินีอี (Gramineae) โดยมาก มีชนิดใหญ่ 2 ชนิด คือ ข้าวเจ้า และข้าวเหนียว ส่วนคำว่า ธัญ หรือ ธัญ- (ท้าย) หมายถึง ข้าวเปลือก คำว่า ธัญชาติ หมายถึง คำรวมเรียกข้าวต่างๆ เช่น ข้าวเปลือก ข้าวสาลี คำว่า ธัญญาหาร หมายถึง อาหาร คือ ข้าว และคำว่า ธัญพืช หมายถึง พืชข้าวกล้า ดังนั้น ข้าวจึงหมายถึงเมล็ดของธัญพืช หรือข้าวเปลือก เป็นธัญชาติชนิดหนึ่งที่ได้มาจากธัญพืช เมื่อนำข้าวมาประกอบอาหาร เรียกว่า ธัญญาหาร หรือกล่าวได้ว่า ข้าวเป็นธัญชาติชนิดหนึ่ง ซึ่งได้มาจากเมล็ดของธัญพืชพวกหญ้าวงศ์แกรมินีอี(อรอนงค์, 2534) มีลำต้นเป็นไม้เนื้ออ่อน เป็นพืชล้มลุกที่มีอายุเพียง 1 ปี (annual grass) มีใบเลี้ยงเดี่ยว (Monocotyledon) มีรากเป็นระบบรากฝอย (Fibrous root system) และเป็นพืชเขตอบอุ่น (Temperate zone) ตั้งแต่พื้นที่น้ำท่วมสูงจนไปถึงพื้นที่สูงตามไหล่เขา ทำให้เกิดความหลากหลายของข้าวชนิดต่างๆ ที่แพร่กระจายไปทั่วโลกอย่างน้อย 23 ชนิด ซึ่งมีเพียง 2 ชนิด ที่มนุษย์ปลูกเพื่อบริโภค คือ ข้าวเอเชีย (*Oryza sativa* Linn) และข้าวแอฟริกา (*Oryza glaberrima* Steud) มีจำนวนโครโมโซมแบบดิพลอยด์ (diploid, $n=12$ หรือ $2n=24$) และมีสารพันธุกรรมเหมือนกัน นอกเหนือจากข้าวปลูก 2 ชนิดนี้แล้ว ที่เหลือ 21 ชนิด จัดอยู่ในข้าวป่า (wild rice) มีจำนวนโครโมโซมทั้งแบบดิพลอยด์ และเทตระพลอยด์ (Tetraploid, $2n=48$) โดยแบบดิพลอยด์มีมากกว่าแบบเทตระพลอยด์ (จำรัส, 2534; อรอนงค์, 2542; สงกรานต์, 2544)

ข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้า จัดอยู่ในวงศ์แกรมินีอี (Gramineae) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในตระกูล *Oryza* มีระบบรากเป็นแบบรากฝอย ลำต้นมีรูปร่างเป็นทรงกระบอกภายในกลวง ประกอบไปด้วย

ลักษณะที่เป็นข้อและปล้อง มีตาอยู่ตามข้อ โดยปกติตาที่อยู่ตามข้อส่วนล่างบริเวณใต้ผิวดินหรือเหนือผิวดินเล็กน้อยจะสามารถพัฒนาเป็นต้นใหม่ได้ ขั้วต้นหนึ่งๆแตกหน่อได้ 5-15 หน่อ ใบข้าวมีลักษณะเรียวยาวเหมือนใบหญ้า มีกาบใบห่อหุ้มตาและลำต้นไว้ กาบใบและแผ่นใบเชื่อมต่อกันด้วยข้อต่อใบ ด้านบนของข้อต่อใบมีแผ่นบางๆ รูปสามเหลี่ยม ปลายแหลม เรียกว่า ลิ้นใบ และด้านบนของข้อต่อใบมีส่วนที่ยื่นออกมาคล้ายหางกระรอก เรียกว่า หูใบ ซึ่งเป็นลักษณะของข้าวที่แตกต่างจากพืชตระกูลหญ้าอื่นๆ ดอกของข้าวมีลักษณะเป็นช่อเกิดตรงส่วนปลายยอดของลำต้น ประกอบด้วย ดอกย่อย (spikelet) เป็นจำนวนมากหลังจากผสมเกสรแล้วจะพัฒนาเป็นเมล็ดข้าว ซึ่งช่อดอกนี้จะกลายเป็นรำข้าว เมล็ดข้าวจะสุกแก่และเก็บเกี่ยวได้ภายในระยะเวลา 25-30 วัน หลังจากผสมเกสร เปลือกของเมล็ดข้าวมีสีแตกต่างกันตามพันธุ์ ตั้งแต่สีเหลืองอ่อนถึงเหลืองเข้ม สีฟาง ม่วงเข้ม หรือ ดำ ถ้ากะเปลือกหุ้มเมล็ดดอกจะได้เมล็ดข้าวที่เรียกว่า ข้าวกล้อง

ข้าว เป็นคำทั่วไปที่ใช้เรียก เมล็ดข้าว ซึ่งทางพฤกษศาสตร์ จะหมายถึง ผล ที่มีลักษณะเป็นผลเดี่ยว เกิดจากรังไข่อันเดียวชนิดลอยตัว ของดอกเดี่ยวในแต่ละดอกย่อย ที่เกิดรวมกันอยู่เป็นช่อดอก ผลเดี่ยวนี้จะติดแน่นอยู่กับผนังของรังไข่ หรือ เยื่อหุ้มผลซึ่งเมื่อผลสุกหรือแก่จะเป็นผลแห้งที่ไม่แตก เรียกว่า ที่มีเยื่อหุ้มผล และเปลือกหุ้มเมล็ด เชื่อมรวมกันอย่างแนบแน่นโดยตลอดผลหรือเมล็ดข้าวจะมีลักษณะแตกต่างตามพันธุ์ ในด้านขนาด รูปร่าง สี การมีหาง หรือไม่มีหาง และขน หรือไม่มีขนบนเปลือกแข็ง

เมล็ดข้าว ประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ ส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าว (หรือผล) เรียกว่า แกลบ และ ส่วนเนื้อผล หรือผลแห้ง หรือข้าวกล้อง โดยมีรายละเอียดของแต่ละส่วน ดังนี้

2.1.1 แกลบ ประกอบด้วย เปลือกใหญ่ เปลือกเล็ก ขน หาง ขั้วเมล็ด และกลีบรองเมล็ด ซึ่งเชื่อมต่อกับก้าน

2.1.1.1 เปลือกใหญ่ เป็นเปลือกหุ้มเนื้อผลด้านท้อง มีขนาดใหญ่อาจมีหรือไม่มีหางก็ได้ ลักษณะของเปลือกใหญ่จะเป็นรอยเส้น ตามความยาวของเปลือกประมาณ 5 เส้น เปลือกใหญ่จะห่อหุ้มเปลือกเล็กเอาไว้ทั้ง 2 ด้านในลักษณะขบอยู่ข้างบนอย่างแน่นสนิท ประมาณ 2 ใน 3 ของเปลือกทั้งหมดตามแนวยาวของเมล็ด

2.1.1.2 เปลือกเล็ก เป็นเปลือกหุ้มเนื้อผลด้านหลัง ที่มีขนาดเล็กกว่าเปลือกใหญ่ ประมาณ 1 ใน 3 ของเปลือกทั้งหมด จะขบอยู่ใต้เปลือกใหญ่ตามแนวยาว ทำให้เปลือกทั้ง 2 ติดกันสนิทบนผิวเปลือกเล็กจะเป็นรอยเส้นตามความยาวของเปลือกประมาณ 3 เส้น รอยเส้นบนเปลือกใหญ่และเปลือกเล็ก อาจทำให้ข้าวกล้องเป็นรอยเส้นตามไปด้วย ในข้าวบางพันธุ์ ถึงแม้จะผ่านขบวนการขัดขาว แล้วก็ยังอาจมีรอยเส้นค้างอยู่บนข้าวสาร เรียกว่า สาแทรกข้าว

2.1.1.3 ขน จะขึ้นบนเปลือกใหญ่ และเปลือกเล็กเป็นส่วนใหญ่ อาจมีบางพันธุ์ที่ไม่มีขน แต่เป็นส่วนน้อย ขนนี้คือ ส่วนของเซลล์ผิวนอก ที่เจริญกลายเป็นขน เพื่อทำหน้าที่ลดการระเหยของน้ำ ป้องกันอันตรายต่อเมล็ดจากสภาวะภายนอกเมล็ด และเพื่อการกระจายพันธุ์ตามธรรมชาติ โดยช่วยให้เมล็ดติดไปกับคน สัตว์ หรือสิ่งของต่างๆ ที่มีโอกาสสัมผัสเมล็ด จนทำให้เมล็ดหลุดติดไปด้วย

2.1.1.4 หาง เป็นส่วนปลายของเปลือกขนาดใหญ่ที่ยาวออกมาเกินตำแหน่งยอดดอก ในบางพันธุ์อาจสั้นหรือยาว หรือไม่มี ทำหน้าที่ในการกระจายพันธุ์ คล้ายขน

2.1.1.5 ขั้วเมล็ด เป็นก้านสั้น อยู่ระหว่างกลีบรองเมล็ดกับเปลือกใหญ่ และยังคงติดอยู่กับเมล็ดข้าวเปลือก

2.1.1.6 กลีบรองเมล็ด เป็นกลีบเล็ก 2 กลีบ อยู่ตรงข้ามกัน ใต้สุดของเมล็ด

2.1.2. เนื้อผลหรือข้าวกล้อง ประกอบด้วย

2.1.2.1 เยื่อหุ้ม เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอก มีความหนาประมาณ 10 ไมครอน ห่อหุ้มผล อยู่ภายใน มีลักษณะเป็นเซลล์ที่มีผนังเซลล์เส้นใย 6 ชั้น มีสารสีหรือรงควัตถุปนอยู่ ทำให้ข้าวกล้องมีสี ต่างๆ เช่น น้ำตาลอ่อน น้ำตาลแก่ น้ำตาลแดง น้ำตาลม่วง น้ำตาลจนเกือบดำ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมี โปรตีน เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส เป็นองค์ประกอบสำคัญ ในชั้นเยื่อหุ้มผลนี้แบ่งย่อยได้เป็น 3 ชั้น ย่อย คือ

2.1.2.1.1 เอพิคาร์พ หรือเอกโซคาร์พ เป็นผิวหรือผนังหรือเปลือกที่อยู่นอก สุด มีลักษณะเรียบ เหนียว และเป็นมัน ประกอบด้วยเซลล์ชั้นเดียว

2.1.2.1.2 เมโซคาร์พ หรือไฮพอเดิร์ม เป็นผนังผลชั้นกลาง

2.1.2.1.3 เอนโดคาร์พ เป็นเยื่อชั้นใน

2.1.2.2 เยื่อหุ้มเมล็ด อยู่ถัดจากเยื่อหุ้มผลเข้ามา ประกอบด้วย เซลล์ 2 ชั้น รูปยาว เรียงตามขวางและมีผนังบางกัน(หนาประมาณ 0.5 ไมครอน) ภายในเซลล์มีไขมันและสารสี เช่นเดียวกับเยื่อหุ้มผล ทำให้ข้าวกล้องมีสี

2.1.2.3 นิวเซลลัส เป็นเซลล์ชั้นที่ติดอยู่กับเยื่อหุ้มเมล็ด แต่พันธระระหว่าง นิวเซลลัส กับเยื่อหุ้มเมล็ดไม่ติดแน่น จึงแยกจากกันได้ง่าย มีความหนาประมาณ 0.8-2.5 ไมครอน

2.1.2.4 เอซันแอลิวโรน เป็นเยื่อชั้นถัดจากเยื่อหุ้มเมล็ด ประกอบด้วย เซลล์ 1-7 ชั้น และมีลักษณะของเยื่อหุ้มด้านหลังของเมล็ดจะหนากว่าเยื่อหุ้มด้านท้อง ซึ่งความหนานี้จะแตกต่างกันไปตามพันธุ์ข้าว เช่น ข้าวเมล็ดป้อมและสันจะมีเยื่อชั้นแอลิวโรนหนากว่าข้าวเมล็ดยาว เป็นต้น เซลล์แอลิวโรนจะไม่เชื่อมติดกับคัพภะในส่วนของใบเลี้ยงด้านท้องของเมล็ดลงมาถึงจุดเชื่อมระหว่างใบเลี้ยง กับเยื่อหุ้มรากอ่อน ซึ่งอยู่ข้างในของเมล็ด จึงแบ่งลักษณะของเซลล์แอลิวโรนเป็น 2 ลักษณะ คือ เซลล์ส่วนที่ห่อหุ้มรอบเนื้อของเมล็ดจะมีรูปร่างเป็นลูกบาศก์ และมีไซโทพลาซึมอยู่หนาแน่น ในเซลล์ ยังมีกลุ่มโปรตีนที่มีรูปร่าง กลุ่มไขมัน และสารอื่นๆ เช่น นิวเคลียส ไมโครบอดี โมโทคอนเดรีย เอนโดพลาสมิกเรติคูลัม เวสิเคิล และพลาสทิด เป็นต้น ส่วนเซลล์แอลิวโรนที่ห่อหุ้มคัพภะจะบาง มีไซโทพลาซึมน้อย รูปร่างยาว มีกลุ่มไขมัน และกลุ่มโปรตีนน้อย มีเวสิเคิลมาก เป็นต้น ส่วนผนังเซลล์ จะประกอบด้วยโปรตีน เฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลส

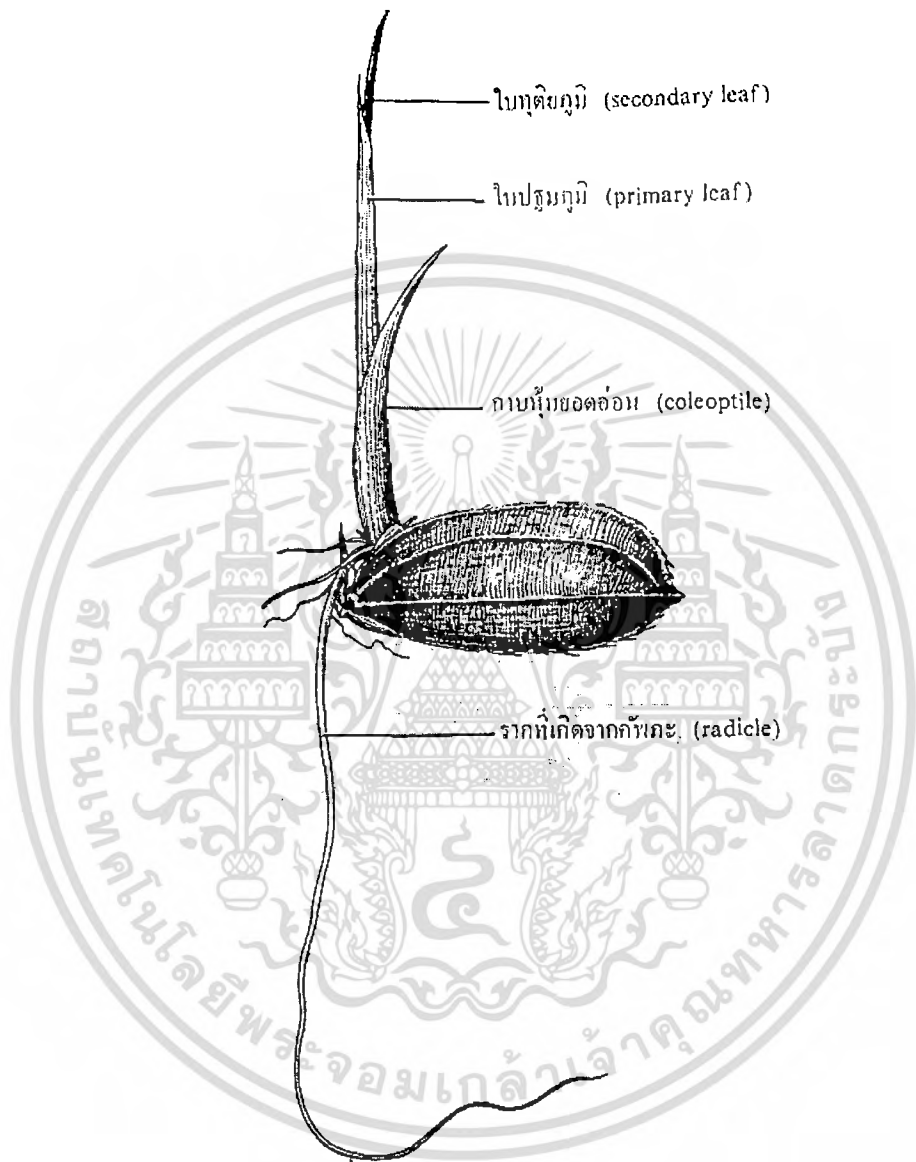
2.1.2.4.1 คัพภะหรือเชื้อชีวิต จะอยู่ที่โคนเมล็ดด้านเปลือกใหญ่ ส่วนท้องของเมล็ดมีส่วนประกอบเป็นรากอ่อน ต้นอ่อน เยื่อหุ้มรากอ่อน เยื่อหุ้มต้นอ่อน ท่อน้ำท่ออาหาร และใบเลี้ยง ซึ่งเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว คัพภะ เป็นแหล่งสะสมอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของต้นอ่อน จึงอุดมด้วยโปรตีนและไขมันในส่วนต่างๆ

2.1.2.4.2 เนื้อเมล็ดหรือเนื้อข้าว มีมากที่สุด ในเมล็ดข้าว (ประมาณร้อยละ 80 ของน้ำหนักเมล็ดทั้งหมด) แบ่งเป็น 2 ส่วน คือ ส่วนชั้นซัพแอลิวโรน เป็นเซลล์ 2 ชั้น อยู่ถัดจากชั้นแอลิวโรน และส่วนที่เป็นแบ่งในเนื้อของเมล็ด ในชั้นซัพแอลิวโรนจะมีกลุ่มโปรตีนอยู่ภายใน 3 ลักษณะ คือ ลักษณะกลมใหญ่(ขนาด 1-2 ไมครอน) กลมเล็ก(ขนาด 0.5-0.75 ไมครอน) และเป็นผลึกติดกัน(ขนาด 2-3.5 ไมครอน) แต่ในส่วนเนื้อของเมล็ดจะมีกลุ่มโปรตีนลักษณะกลมใหญ่เท่านั้น แทรกอยู่ในระหว่างเม็ดแป้ง มีขนาด 3-9 ไมครอน ที่มีอยู่มากอัดแน่นรวมเป็นกลุ่มเม็ดแป้ง อยู่ภายในเซลล์ พาราเนาโคมา ที่มีผนังเซลล์บาง มีรูปร่างรี หรือสี่เหลี่ยม เข้าสู่ใจกลางเมล็ด โดยด้านนอกของเมล็ดจะรีและยาวมากกว่าด้านในของเมล็ด

จากโครงสร้างของเมล็ดข้าว ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ แกลบ และข้าวกล้อง เมื่อเปรียบเทียบส่วนต่างๆของเมล็ดข้าวจากน้ำหนักเมล็ดข้าว(ข้าวเปลือก) จะมีสัดส่วนร้อยละดังแสดงในตารางที่ 2.1

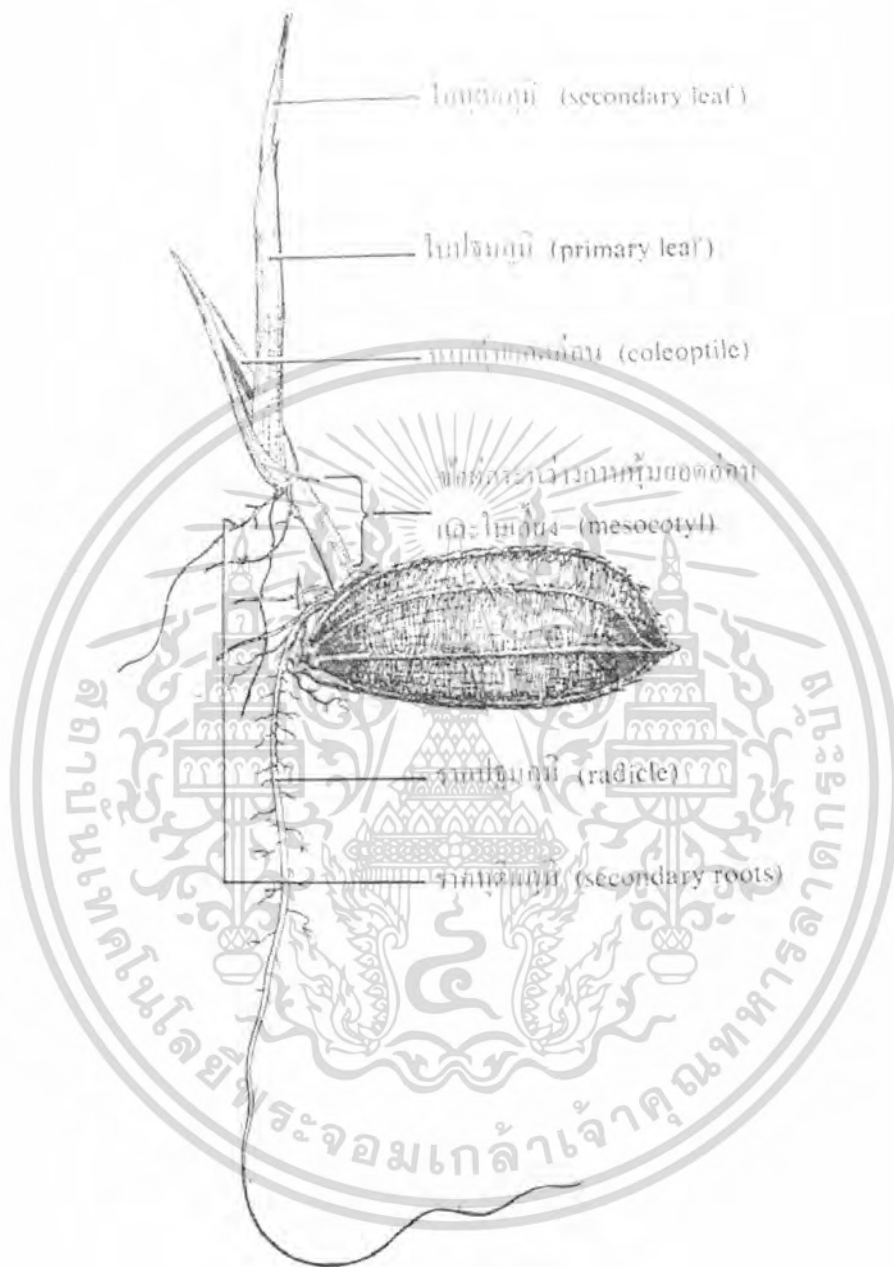
ตารางที่ 2.1 สัดส่วนโครงสร้างของเมล็ดข้าว

โครงสร้างเมล็ด	สัดส่วน(ร้อยละ)	
	ค่าเฉลี่ย	ช่วงของสัดส่วน
ข้าวเปลือก	100	-
แกลบ	20	16-28
ข้าวกล้อง	80	72-84
ข้าวกล้อง	100	-
เยื่อหุ้มผล	1.5	1-2
เยื่อหุ้มเมล็ด	5	4-6
คัพภะ	3	2-3
เนื้อเมล็ด	90.5	89-94
คัพภะ	3	-
รากอ่อน	0.18	-
ต้นอ่อน	0.34	-
เยื่อหุ้มรากอ่อน	0.18	-
ใบเลี้ยง	1.29	1.18-1.40
ท่อน้ำ ท่ออาหาร	0.26	-
อื่นๆ	0.75	-



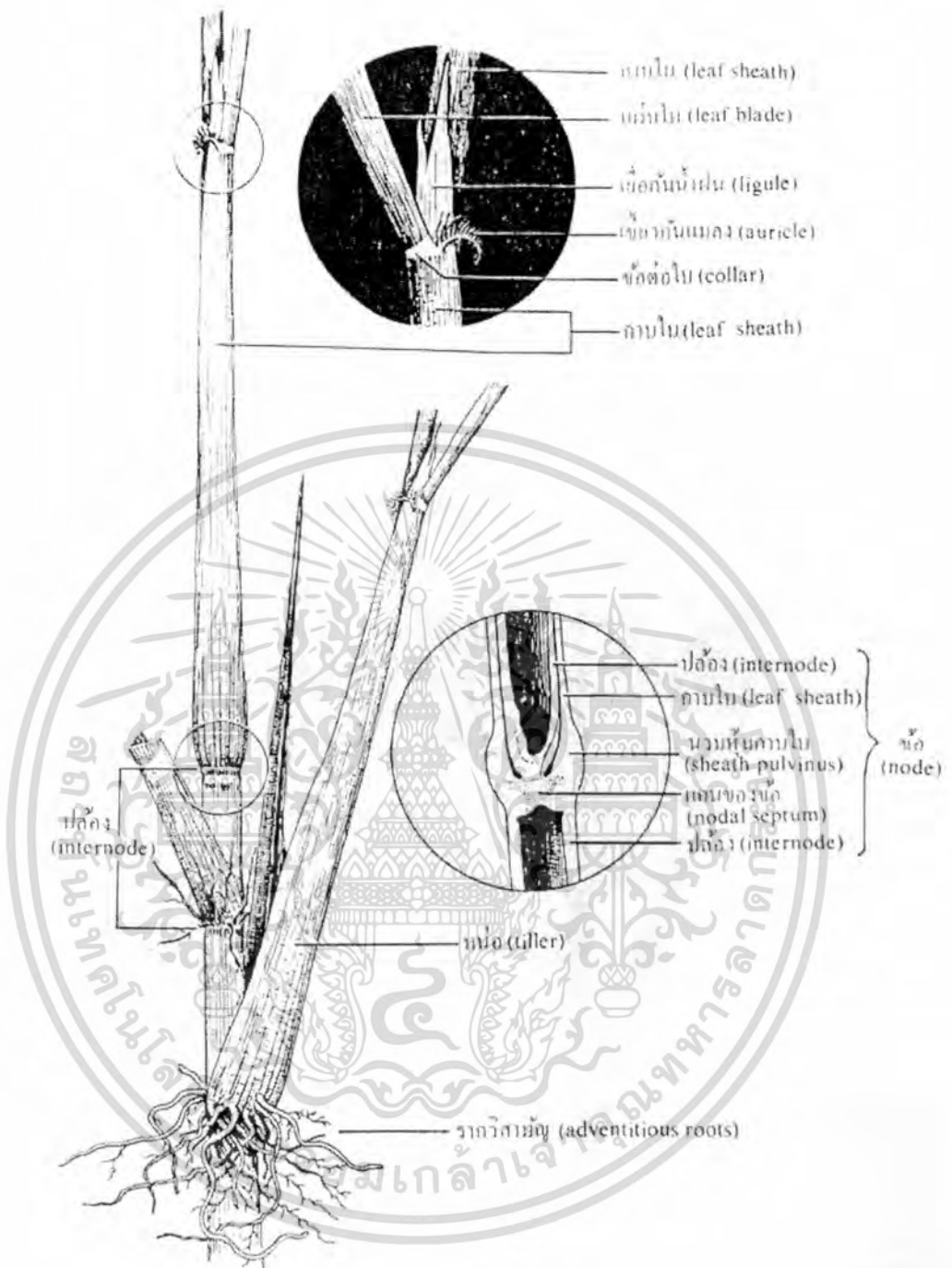
รูปที่ 2.1 ส่วนต่างๆ ของต้นกล้าข้าวที่งอกในแสงสว่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 ส่วนต่างๆ ของต้นกล้าข้าวที่งอกในที่มีดิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



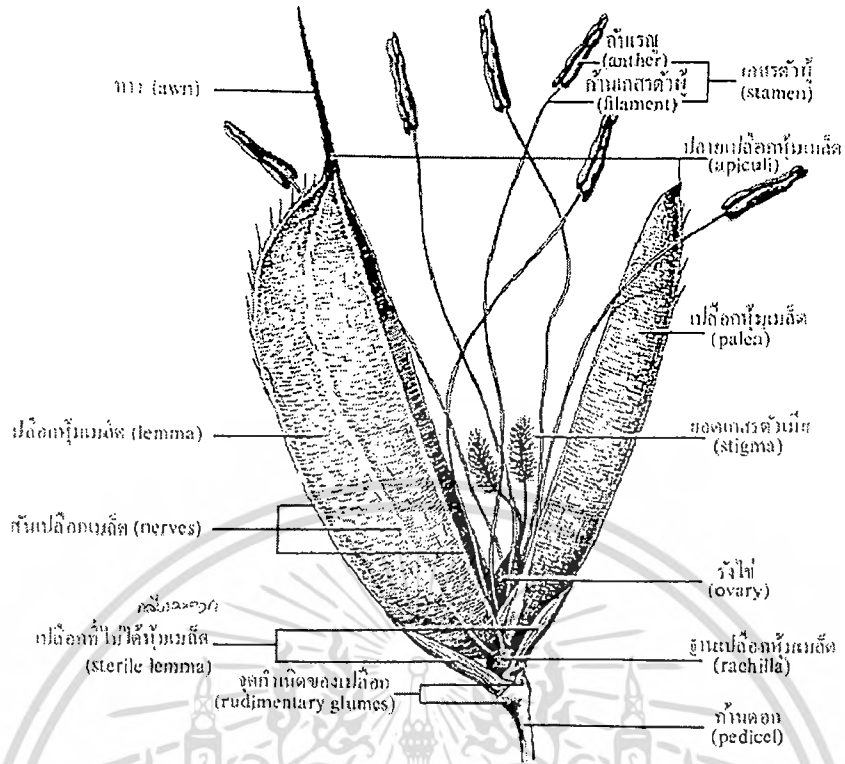
รูปที่ 2.3 ส่วนต่างๆ ของหน่อแรกและหน่อที่สอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

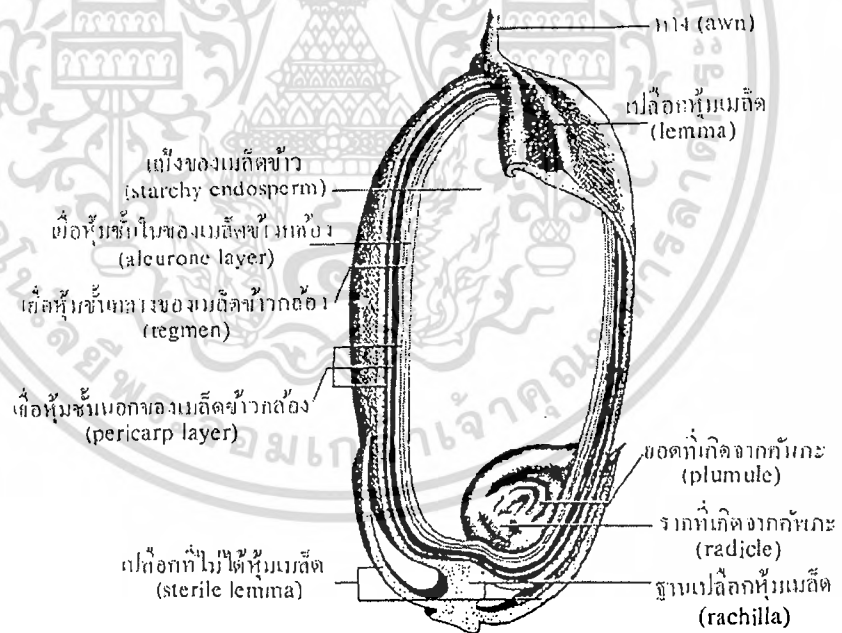


รูปที่ 2.4 ส่วนต่างๆ ของช่อดอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.5 ส่วนต่างๆ ของดอกข้าว



รูปที่ 2.6 ส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว

การใช้นวัตกรรมเข้าไปแทรกในห่วงโซ่ของอุตสาหกรรมข้าว เป็นหนึ่งในประเด็นที่ท้าทายของประเทศที่จะสามารถสร้างจุดยืนที่แข็งแกร่งและแตกต่างให้กับข้าวไทย โดยเฉพาะการสร้างมูลค่าเพิ่มด้วยการนำเอาองค์ความรู้ใหม่ ในการเพิ่มคุณภาพ ลดต้นทุนการผลิต และเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้าใหม่ๆ ที่ผลิตได้จากข้าว ซึ่งปัจจุบันการแข่งขันในตลาดการค้าข้าวของโลกรุนแรงขึ้น การสร้างนวัตกรรมนี้จึงเป็นทางออกในการเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจให้กับประเทศ และยังเป็นช่องทางทางการตลาดใหม่ที่ยังไม่มีคู่แข่ง เปลี่ยนการแลกเปลี่ยนค่านำเข้าประเทศด้วยข้าวเป็นต้นๆ ให้เหลือเพียงไม่กี่กรัมที่มีมูลค่ามหาศาล

2.2 รำข้าว

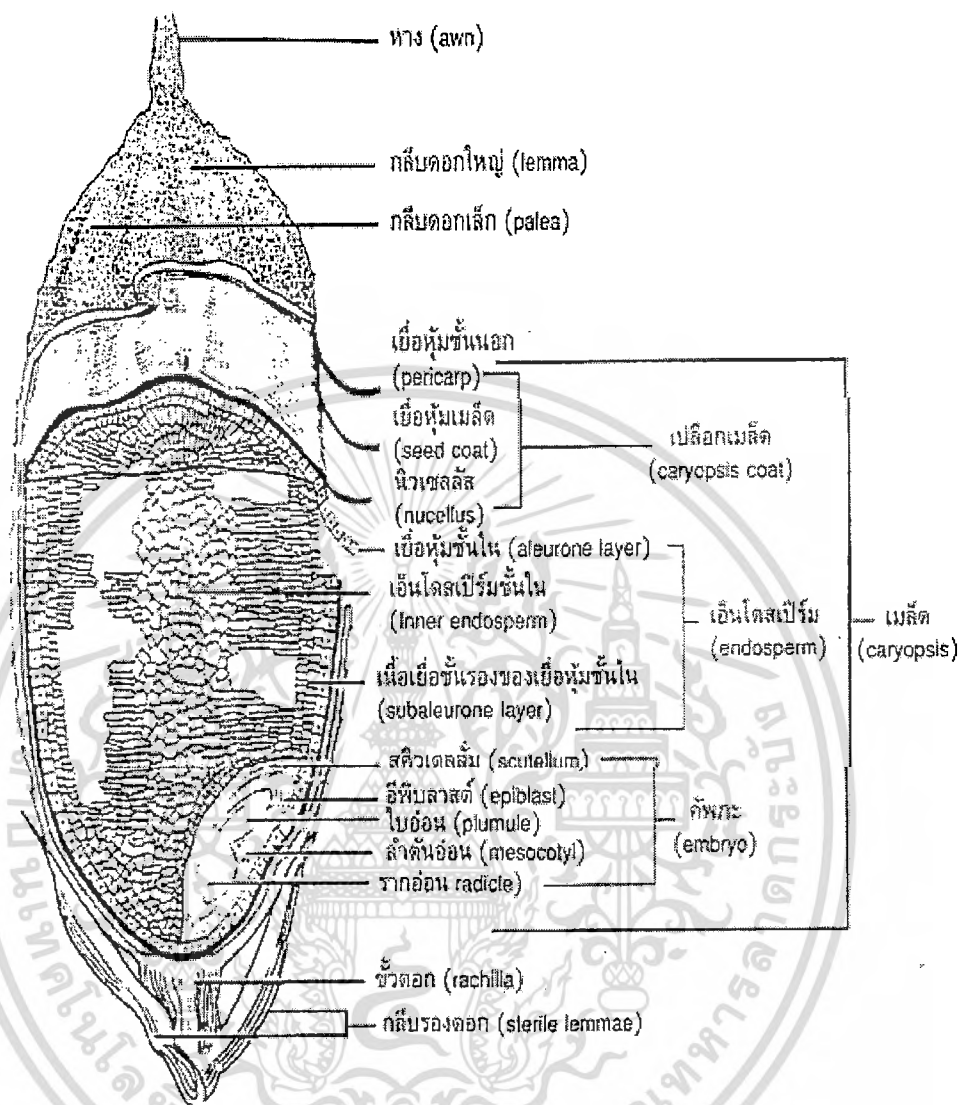
ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีการปลูกข้าวมากประเทศหนึ่งในโลกและเป็นสินค้าทางการเกษตรที่สำคัญ ในแต่ละปีประเทศไทยสามารถผลิตข้าวเปลือกได้ประมาณ 21 ล้านตัน สีเป็นข้าวสารได้ 12.6 ล้านตัน และได้รำข้าวประมาณ 2 ล้านตัน ประมาณร้อยละ 70 ของรำข้าวผลิตเป็นอาหารสัตว์ และร้อยละ 15 สกัดเป็นน้ำมันรำข้าว ซึ่งส่วนใหญ่จะถูกส่งออกในรูปของน้ำมันดิบ (คมสัน หุตะแพทย์, 2550) สำหรับปริมาณและองค์ประกอบในรำข้าวจะขึ้นอยู่กับชนิดของข้าว คุณภาพของข้าวเปลือก การเตรียมข้าวเปลือก ชนิดของการสีข้าว และระดับของการขัดขาว

รำข้าว หมายถึง ส่วนเยื่อหุ้มผล เยื่อหุ้มเมล็ด นิวเซลลูลัส ชั้นแอลิวโรน และชั้นซับแอริวโรน และมักจะรวมส่วนของคัพพะเข้าไว้ด้วย เนื่องจากในกระบวนการขัดสีข้าวให้เป็นข้าวสาร ส่วนใหญ่ต้องการข้าวสารที่ขาวจึงขัดผิวข้าวจนจนถึงชั้นซับแอลิวโรน ทำให้คัพพะหลุดออกจากเนื้อเมล็ดรวมอยู่ด้วย ดังนั้น องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวที่ได้จากกระบวนการสีข้าว นับจากการกะเทาะเปลือกหุ้มแข็ง (แกลบ) ออกไปแล้ว จะขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและสภาพแวดล้อมที่ปลูกจนถึงกรรมวิธีในการขัดผิวเมล็ดข้าว การขัดขาว และการขัดมัน เพื่อให้ข้าวสารขาวและมันวาว ทำให้องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวขึ้นอยู่กับส่วนของรำที่ได้จากกระบวนการสีข้าวด้วย

ปริมาณและองค์ประกอบของรำข้าว ขึ้นอยู่กับ ชนิดของข้าว คุณภาพของข้าวเปลือก การเตรียมข้าวเปลือก เช่น การนึ่ง ชนิดของวิธีการสีข้าว และระดับของการขัดขาว (Degree of polishing) ในข้าวชนิดเมล็ดเรียวยาว รำข้าวจะมีปริมาณน้ำมันมากกว่าข้าวชนิดเมล็ดขนาดกลางและเมล็ดสั้นตามลำดับ ข้าวเปลือกที่ได้รับการจัดการอย่างถูกต้องจะให้ผลผลิตของรำข้าวที่สูงขึ้น เช่น รำข้าวที่สีด้วยวิธีการสมัยใหม่จะมีน้ำมันและโปรตีนมากกว่ารำข้าวที่ได้จากการสีแบบดั้งเดิม เพราะสัดส่วนของสารบั่นเปื้อนลดลง สำหรับข้าวเปลือกที่ผ่านการนึ่งเมื่อนำมาสีจะได้รำข้าวที่มีสีเข้มกว่ารำข้าวปกติ ปริมาณรำข้าวที่ได้จะต่ำกว่ารำข้าวที่ไม่ได้นึ่ง แต่รำข้าวที่ผ่านการนึ่งจะมีปริมาณโปรตีนและไขมันที่เป็นองค์ประกอบมาก ซึ่งทำให้ผลผลิตของน้ำมันจากรำข้าวที่ผ่านการนึ่งสูงกว่ารำข้าวปกติ โดยมีปริมาณน้ำมันเพิ่มขึ้นประมาณร้อยละ 4-5

รำข้าวที่ยังไม่ได้สกัดน้ำมันจะไม่มีความเสี่ยงอย่างมากและเสื่อมเสียเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส โดยการไฮโดรไลซีไตรกลีเซอไรด์ให้เป็นกรดไขมันอิสระ ที่ทราบได้จากการกลั่นที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและกลิ่นรสของรำข้าวเริ่มไม่ดี สำหรับปฏิกิริยาการที่นึ่งจะเกิดขึ้นได้เร็วมาก โดยเฉพาะในที่ร้อนและชื้น เคยมีรายงานว่าอัตราการไฮโดรไลซิสสูงถึงร้อยละ 1 ของกรดไขมันอิสระต่อชั่วโมง(โดยน้ำหนักของน้ำมัน) และอาจมีมากถึงร้อยละ 60 ใน 1 เดือน สำหรับข้าวที่ผ่านการนึ่งแล้วจะมีความเสถียรมากกว่า ดังนั้นหากจะนำรำข้าวไปสกัดน้ำมันเพื่อบริโภคทางการค้า จึง

จำเป็นต้องสกัดน้ำมันทันทีหลังการสีข้าว เพื่อไม่ให้เกิดการเสื่อมเสียของน้ำมันในขณะที่ขนส่งและเก็บรักษา



รูปที่ 2.7 ส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว

คุณสมบัติทางกายภาพ Barber และ Benedito ได้สรุปคุณสมบัติทางกายภาพของรำข้าวไว้ ดังนี้ รำข้าวมีขนาดแตกต่างกันอยู่ในช่วงกว้าง ขึ้นอยู่กับกระบวนการสีข้าว รำข้าวที่ได้จากการสีข้าวด้วยเครื่องสีข้าวแบบกด (Friction type) จะมีอนุภาคใหญ่กว่ารำข้าวที่ได้จากการสีด้วยเครื่องสีข้าวแบบลูกแก้ว (Abrasive type) และการสีข้าวเมื่อสีในระดับลึก รำข้าวที่ได้จะมีอนุภาคเล็กลง นอกจากนี้ถ้ารำข้าวที่ผ่านการอบด้วยไอน้ำอนุภาคของรำข้าวจะจับตัวเป็นก้อนทำให้มีอนุภาคใหญ่ขึ้น และรำข้าวหนึ่ง (รำข้าวที่สีได้จากข้าวที่ผ่านการนึ่ง) ขนาดอนุภาคก็จะใหญ่ขึ้นด้วยเช่นกัน ความหนาแน่น (Bulk density) ของรำข้าวโดยทั่วไปมีค่าประมาณ 0.32 กรัม/มิลลิลิตร นอกจากนี้รำข้าว

ยังมีคุณสมบัติในการดูดซับ(Absorption) และคาย(Desorption) ความชื้น ดังนั้นความชื้นในรำข้าว จึงเปลี่ยนแปลงไปตามค่าความชื้นสัมพัทธ์ (Relative humidity) ของบรรยากาศ

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในรำข้าว ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต(Carbohydrates) โปรตีน และ กรดอะมิโน(Protein and amino acids) ไขมัน(Lipids) แร่ธาตุ(Minerals) วิตามิน(vitamins) และ เอนไซม์(Enzymes)

ในระหว่างการสีข้าว ไขมันส่วนใหญ่จะออกมาที่รำข้าว(Bran) และปลายข้าว (Polish) ไขมันในรำข้าวประมาณ 1 ใน 3 ได้จากเอ็มบริโอ (Embryo) ปริมาณไขมันของรำข้าวขึ้นกับระดับการสี และวิธีการสีข้าว ไขมันจะมีความเข้มข้นมากในชั้นนอก และในจมูกข้าว (Germ) สำหรับรำข้าวพบ ไขมันประมาณร้อยละ 17.0-23.0 ดังตารางที่ 2.2ไขมันที่พบส่วนใหญ่เป็นไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) มีฟอสโฟลิปิด (Phospholipids) ไกลโคลิปิด (Glycolipid) และไข (waxes) เป็น ส่วนน้อย

ตารางที่ 2.2แสดงองค์ประกอบทางเคมีในรำข้าว

Constituents	Content(%)
Protein	13.2-17.3
Fat	17.0-22.9
Fiber	9.5-13.2
Ash	9.2-11.5
Nitrogen-free extract	39.6-60.8
Starch	16.1
Free sugars	6.0-6.5

วิตามิน และแร่ธาตุ วิตามินบีส่วนใหญ่มีอยู่ในชั้นนอกของผลและในเอ็มบริโอ เมื่อสีข้าวกล้อง วิตามินบี ไขมัน และแร่ธาตุจะออกมาที่รำข้าวและปลายข้าว ทำให้รำข้าวเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญ ปริมาณทั้งหมดของแร่ธาตุในรำข้าว พบประมาณร้อยละ 9.0-11.5 ของเปลือก และแร่ธาตุแต่ละชนิดพบ มากในชั้นนอกของผลและเอ็มบริโอ แร่ธาตุที่พบมากที่สุด คือ ฟอสฟอรัส ปริมาณฟอสฟอรัสในรำข้าว มากกว่าร้อยละ 90 อยู่ในรูปเฟิตินฟอสฟอรัส (Phytin phosphorous) ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3แสดงแร่ธาตุและวิตามินในรำข้าว

Constituents	Content ($\mu\text{g./g.}$)
Vitamins	-
Thiamine	10.1-26.9
Riboflavin	1.17-3.4
Niacin	241.590
Pyridoxine	10.3-32.1
Biotin	0.16-0.47
Vitamin A	4.2
Vitamin E	149.2
Minerals	-
Calcium	140-1310
Phosphorous	14,800-28,680
Iron	130-530
Magnesium	8,650-12,300
Potassium	13,650-22,700

โดยทั่วไปจะแบ่งรำข้าวออกเป็น 2 ส่วน คือ รำหยาบ(bran) ซึ่งได้จากการขัดผิวเมล็ดข้าว และรำละเอียด(polish)ได้จากการขัดขาวและขัดมัน จึงทำให้มีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันบ้าง ดังตารางที่ 2.4

โดยรำหยาบจะมีโปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ เถ้า แร่ธาตุบางชนิด และวิตามินบางชนิด มากกว่า รำละเอียด ยกเว้นคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นจึงมีการนำรำข้าวไปสกัดน้ำมัน สกัดโปรตีน และ สารอาหารอื่นเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นได้จากเดิมที่ใช้เป็นอาหารสัตว์เท่านั้น (Luh, 1991)

รำข้าวนอกจากจะประกอบด้วยสารอาหาร เช่น โปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ แร่ธาตุที่จำเป็น และวิตามินหลายชนิดแล้ว ยังประกอบด้วยเอนไซม์ จุลินทรีย์ แมลง และสิ่งเจือปนที่ไม่พึงประสงค์อีกมากมายหลายชนิด ยิ่งถ้ากระบวนการแปรรูปไม่มีการควบคุมที่เหมาะสมในขั้นตอนสุดท้ายที่ได้รำข้าว ออกมาแต่ละขั้นตอน และการนำมารวมกับส่วนอื่นๆ ก็ยิ่งจะทำให้รำข้าวมีสิ่งเจือปนมาก แต่อย่างไรก็ตามรำข้าวก็ยังมีคุณค่าทางอาหารมากสำหรับการใช้เป็นอาหารสัตว์ (Luh, 1991)

ในรำข้าวมีน้ำมัน(ไขมัน) อยู่ประมาณร้อยละ 20 ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ประเภทกรดไขมันไม่อิ่มตัว และกรดไขมันที่จำเป็นในปริมาณมาก เช่น กรดโอเลอิกร้อยละ 42.5 ลิโนเลอิกร้อยละ 30.1 และปาล์มมิติกร้อยละ 15 ส่วนกรดไขมันที่มันน้อย เช่น กรดสเตียริกร้อยละ 1.9 ลิโนเลอิกร้อยละ 1.1 ไนริสติกร้อยละ 0.2 และบีเฮนิกร้อยละ 0.2 (Kreuzer, 2000)

ตารางที่ 2.4 องค์ประกอบทางเคมีของรำหยาบและรำละเอียดจากข้าว

องค์ประกอบทางเคมี (คิดที่ความชื้น 14%)	รำหยาบ	รำละเอียด
โปรตีน (%Nx6.25)	12.0-15.6	11.8-13.0
ไขมัน(%)	15.0-19.7	10.1-12.4
เส้นใยหยาบ(%)	7.0-11.4	2.3-3.2
คาร์โบไฮเดรต(%)	34.1-52.3	51.1-55.0
เถ้า(%)	6.6-9.9	5.2-7.3
แร่ธาตุ		
แคลเซียม (มิลลิกรัม/กรัม)	0.3-1.2	0.5-0.7
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม/กรัม)	5-13	6-7
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม/กรัม)	11-25	10-22
โพแทสเซียม (มิลลิกรัม/กรัม)	9-22	12-17
ซิลิกา (มิลลิกรัม/กรัม)	6-11	2-3
สังกะสี (มิลลิกรัม/กรัม)	42-258	17-60
วิตามิน		
โทเคอีน (บี 1) (มิลลิกรัม/กรัม)	12-24	3-19
ไรโบเฟลวิน (บี 2) (มิลลิกรัม/กรัม)	1.8-4.3	1.7-2.4
ไนอะซิน (มิลลิกรัม/กรัม)	267-499	224-389

โดยรำหยาบจะมีโปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ เถ้า แร่ธาตุบางชนิด และวิตามินบางชนิดมากกว่า รำละเอียด ยกเว้นคาร์โบไฮเดรต ดังนั้นจึงมีการนำรำข้าวไปสกัดน้ำมัน สกัดโปรตีน และสารอาหารอื่นเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นได้จากเดิมที่ใช้เป็นอาหารสัตว์เท่านั้น (Luh, 1991)

รำข้าวนอกจากจะประกอบด้วยสารอาหาร เช่น โปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ แร่ธาตุที่จำเป็นและวิตามินหลายชนิดแล้ว ยังประกอบด้วยเอนไซม์ จุลินทรีย์ แมลง และสิ่งเจือปนที่ไม่พึงประสงค์อีกมากมายหลายชนิด ยิ่งถ้ากระบวนการแปรรูปไม่มีการควบคุมที่เหมาะสมในขั้นตอนสุดท้ายที่ได้รำข้าวออกมาแต่ละขั้นตอน และการนำมารวมกับส่วนอื่นๆ ก็ยิ่งจะทำให้รำข้าวมีสิ่งเจือปนมาก แต่อย่างไรก็ตามรำข้าวก็ยังมีคุณค่าทางอาหารมากสำหรับการใช้เป็นอาหารสัตว์ (Luh, 1991)

ในรำข้าวมีน้ำมัน(ไขมัน) อยู่ประมาณร้อยละ 20 ซึ่งประกอบด้วยกรดไขมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ประเภทกรดไขมันไม่อิ่มตัว และกรดไขมันที่จำเป็นในปริมาณมาก เช่น กรดโอเลอิกร้อยละ 42.5 ลิโนเลอิกร้อยละ 30.1 และปาล์มมิตริกร้อยละ 15 ส่วนกรดไขมันที่มีน้อย เช่น กรดสเตียริกร้อยละ 1.9 ลิโนเลอิกร้อยละ 1.1 ไมริสติกร้อยละ 0.2 และบีเฮนิกร้อยละ 0.2 (Kreuzer, 2000)

รำข้าวประกอบด้วยไฟโตเคมีคอล (phytochemical) อยู่ในระดับสูง ซึ่งไฟโตเคมีคอลเป็นสารประกอบวิตามินอีและอนุพันธ์ของวิตามินอี(ชนิดแอลฟา เบตา แกมมา และเดลตา) ได้แก่ โทโคฟีรอล โทโคไตรอินอล(Shin & Godber, 1994) และแกมมาโอโรซานอล ซึ่งไฟโตเคมีคอลเป็นสารที่ผู้วิจัยให้ความสนใจเป็นจำนวนมาก(Xu & Godber, 1999)

อย่างไรก็ตามองค์ประกอบของแร่ธาตุในรำข้าวจะขึ้นกับปริมาณสารอาหารในดินที่พืชเจริญเติบโต ภูมิภาค และการให้ปุ๋ย สำหรับในสารสกัดหยาบจากรำข้าว(crude rice bran oil) ประกอบด้วย ไตรเอซิลกลีเซอรอล(triacylglycerol)ร้อยละ 68-71 ไดเอซิลกลีเซอรอล

(diacylglycerol) ร้อยละ 2-3 โมโนเอซิลกลีเซอรอล(monoacylglycerol) ร้อยละ 5-6 กรดไขมันอิสระ(free fatty acid) ร้อยละ 2-3 โกลโคลิปิด(glycolipid) (ส่วนใหญ่เป็นphosphatidylcholine, phosphatidylethanolamine และphosphatidylinositol) ร้อยละ 5-7 ไช(waxe) ร้อยละ 2-3 (McCaskill and Zhang, 1999; Sayre and Saunder,1990)

นอกจากนี้ยังพบว่ารำข้าวที่ผลิตได้มีการเสื่อมเสียอย่างรวดเร็วเนื่องจากเอนไซม์ที่ปลดปล่อยออกมาเมื่อมีการขัดสีในขั้นตอนของการกำจัดเปลือกข้าว (Cheruvanky, 2003)โดยเอนไซม์ที่พบในรำข้าวมีหลายชนิด เช่น ไลเปส(lipase)ไลพอกซีจีเนส(lipoxygenase)อะไมเลส(amyase)เลซิทีเนส(lecitinase)เอสเทอเรส(esterase)อินเวอร์เทส(invertase)มอลเตส(maltase)เพคตินเนส(pectinase)และเพอร์ออกซิเดส(oxidase) เป็นต้น ซึ่งเป็นสาเหตุให้เกิดการไฮโดรไลซิส จึงเพิ่มปริมาณของกรดไขมันอิสระประมาณร้อยละ 1 ต่อชั่วโมง(นิธิยา รัตนาปนนท์, 2548)ดังนั้นการผลิตน้ำมันรำข้าวควรผลิตอย่างรวดเร็วหลังจากเก็บรำข้าวมาไว้แล้ว

เอนไซม์ จูลินทรีย์ และแมลง เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมเสียของรำข้าว โดยเฉพาะเอนไซม์ไลเปส (lipase) และเอนไซม์ออกซิเดส (oxidase) จะทำให้เกิดการเสื่อมเสียของส่วนประกอบที่เป็นไขมันในรำข้าว โดยเอนไซม์ลิเพสจะทำให้เกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสต่อน้ำมันในรำข้าวทำให้เกิดเป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ เอนไซม์เปอร์ออกซิเดส(oxidase) ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมันและโทโคฟีรอล ส่วนเชื้อจุลินทรีย์ก็มีผลในการส่งเสริมการทำงานของเอนไซม์ไลเปส นอกจากนี้ยังมีสารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์โปรติเอส (protease) ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตและทำให้อาหารไม่ได้รับการย่อยในร่างกายเท่าที่ควร ดังนั้น เพื่อปรับปรุงคุณภาพของรำข้าวให้สามารถนำมาใช้เป็นอาหารมนุษย์และเก็บรักษาไว้ได้นาน จึงควรนำรำข้าวไปผ่านกระบวนการต่างๆ เช่น การทำข้าวหนึ่งจะรำที่มีความคงตัวดี นำรำข้าวมาผ่านความร้อน เพื่อทำลายการทำงานของเอนไซม์ โดยวิธีการอบลมร้อน หรือผ่านการเข้าเครื่องเอกซ์ทรูเดอร์(extruder) ทำให้อุณหภูมิสูงขึ้น นำไปสกัดน้ำมันได้ปริมาณมากกว่าการสกัดจากรำข้าวดิบ (Luh, 1991).

ดวงใจ และ บุญทวี(2544)ตรวจสอบสมบัติทางกายภาพเคมีและจุลชีววิทยาของรำข้าวเจ้า พร้อมทั้งประเมินคุณภาพในการนำไปใช้เป็นอาหาร โดยศึกษาในรำข้าวเจ้าหนึ่ง(รำหนึ่ง) และกากรำข้าวเจ้า(กากรำ) ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการสกัดน้ำมันของรำหนึ่ง รำหนึ่งมีสีเหลืองออกแดง ขณะที่กากรำมีสีเหลืองอ่อน รำทั้งสองชนิดมีสิ่งแปลกปลอมน้อย โดยอนุภาคของรำหนึ่งส่วนใหญ่มีขนาดใหญ่มากกว่า 50 ไมครอน ขณะที่อนุภาคของกากรำส่วนใหญ่มีขนาดเล็กกว่า 50 ไมครอน รำหนึ่งและกากรำมีความหนืดต่ำ และรำข้าวทั้งสองชนิดไม่เกิดเจล ส่วนประกอบทางเคมีของรำหนึ่งน้อยกว่ากากรำ ยกเว้นไขมัน รำทั้งสองชนิดมีปริมาณแป้งน้อย ปริมาณไฟเบอร์สูง และไม่พบแอลฟาโทคินินบี 1 พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดค่อนข้างสูงในรำข้าวทั้งสองชนิด แต่อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ (น้อยกว่า 10⁶ โคโลนีต่อกรัม) และมีปริมาณราเกินเกณฑ์ของอาหารประเภทแป้ง (มากกว่า 10² โคโลนีต่อกรัม) ไม่พบยีสต์ในรำหนึ่งแต่พบมากกว่าในกากรำ และจากผลของการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่า กากรำมีกลิ่นหอมของรำปกติ และมีสีอ่อน ขณะที่รำหนึ่งมีกลิ่นเหม็นเปรี้ยวและมีสีคล้ำ จึงสามารถประเมินผลได้ว่า กากรำมีข้อดีทางกายภาพ ทางเคมี และด้านประสาทสัมผัส มากกว่ารำข้าวหนึ่ง ในการพิจารณานำไปใช้เพื่อพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารโดยตรง แต่สามารถนำกลับไปใช้โดยอ้อม เช่น นำไปใช้สกัดเอาสารที่มีประโยชน์ และถ้าต้องการนำมาใช้โดยตรง ควรนำไปผ่านกระบวนการบางอย่าง เพื่อลดปริมาณจุลินทรีย์ และปรับปรุงเรื่องสุขลักษณะของการสกัดน้ำมันและการเก็บรักษาให้เหมาะสม

รำละเอียดที่ปรับปรุงคุณภาพดีแล้วสามารถนำไปใช้เป็นส่วนผสมอาหารเด็กอ่อน รำข้าวที่ผ่านการอบให้คงตัวแล้วแบบธรรมดาและแบบสกัดไขมันแล้ว สามารถนำไปใช้เป็นส่วนประกอบผลิตภัณฑ์อาหารได้หลายชนิด (อรอนงค์, 2544) ทดลองผลิตอาหารว่างเพื่อสุขภาพแบบกรอบพอง โดยใช้เครื่องเอกซ์ทรูเดอร์ มีส่วนผสมดังนี้ คือ ข้าวโพดเกล็ดร้อยละ 70 โปรตีนถั่วเหลืองสกัด(Soy protein isolate)ร้อยละ 10.5 แป้งถั่วเหลืองไขมันเต็มร้อยละ 4 รำข้าวผ่านการทำให้คงตัวแล้วร้อยละ 10 และปรุงรสด้วยกลิ่นรสบาร์บีคิว เสริมวิตามิน และไอโอดีน ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคในเกณฑ์ดี มีคุณค่าทางอาหารดีกว่าอาหารว่างทั่วไปโดยมีโปรตีน วิตามิน และเกลือแร่ เพิ่มขึ้น

ในปีค.ศ. 1972 Houston ได้รายงานถึงการใช้ประโยชน์จากคุณค่าทางอาหารของรำข้าวสำหรับเป็นอาหารในหลายประเทศถึงแม้รำข้าวจะมีปริมาณเพียงเล็กน้อย แต่รำข้าวก็เป็นแหล่งที่มีคุณค่าทางอาหารที่สูงและน่าสนใจหลังจากนั้นจึงได้มีการแก้ไขปัญหาระยะยาวเรื่องความเสถียรของรำข้าวในระดับอุตสาหกรรมการสกัดเส้นใย(fiber) ออกจากรำข้าวและการสกัดโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวจึงทำให้มีการใช้รำข้าวสำหรับเป็นอาหารกันอย่างกว้างขวางขึ้น โดยไม่จำกัดแค่เป็นอาหารสัตว์เท่านั้น

2.3 น้ำมันรำข้าว

การผลิตน้ำมันรำข้าวเกิดขึ้นครั้งแรกเมื่อ 50 ปีก่อน และมีการซื้อขายกันจนถึงปัจจุบัน ในประเทศแถบเอเชีย เช่น ญี่ปุ่น เกาหลี จีน ไต้หวัน ไทย และปากีสถานองค์ประกอบของน้ำมันรำข้าวดิบแบ่งออกได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ กลุ่มสารที่สามารถสะaponนิฟายได้(saponifiable)ประมาณร้อยละ 90-96 และกลุ่มสารที่ไม่สามารถสะaponนิฟายได้(unsaponifiable)ประมาณร้อยละ 4.0 และพบว่ากลุ่มสารที่ไม่สามารถสะaponนิฟายได้ มีปริมาณที่สูงกว่าน้ำมันอื่นๆ

น้ำมันรำข้าว คือ น้ำมันพืชที่ผลิตจากน้ำมันรำข้าวดิบซึ่งสกัดจากรำข้าว ซึ่งหมายถึง ส่วนผสมของรำละเอียดและคัพภะ จัดได้ว่าเป็นน้ำมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง เนื่องจากมีปริมาณของสารต่อต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันตามธรรมชาติที่ดีโดยเฉพาะโทโคฟีรอล โทโคไตรอีนอล กรดเพอรูลิก แกมมาโอโรซานอล ไฟโตสเตอรอล โพลีฟีนอล และสควอลีน ซึ่งปริมาณของแกมมาโอโรซานอลนี้พบว่ามีปริมาณมากกว่าโทโคไตรอีนอลที่พบมากในน้ำมันที่ได้จากพืช และนอกจากนี้น้ำมันรำข้าวยังเป็นแหล่งของกรดไขมันที่สำคัญ ซึ่งได้แก่ โอเลอิก ลิโนเลอิก และปาล์มมิติก ในตารางที่ 2.5

ตารางที่ 2.5 แสดงองค์ประกอบของน้ำมันรำข้าวดิบ (Crude rice bran oil)

Component	Content(%)
Saponifiable lipids	90-96
Neutral lipids	88-89
Triglycerides	83-86
Diglycerides	3-4
Monoglycerides	6-7
Free fatty acids	2-4
Waxes	3-4
Glycolipids	6-7
Phospholipids	4-5
Unsaponifiable lipids	4-10
Phytosterols	43
Sterolesters	10
Triterpene alcohols	28
Hydrocarbons	18
Tocopherol	1

ตารางที่ 2.6 องค์ประกอบโดยประมาณในน้ำมันรำข้าว 100 กรัม

สารประกอบ	ปริมาณ
ไขมันชนิดไตรกลีเซอไรด์	92.0-97.0 กรัม
สารประกอบที่ละลายในไขมัน	3-8 กรัม
โทโคฟีรอล (Tocopherol)	0.06 กรัม
โทโคไตรอีนอล (Tocotrienol)	0.07 กรัม
โอรีซานอล (Oryzanol)	0.09 กรัม
อื่นๆ (Phytosterol, Triterpene, Polyphenol)	2.78-4.78 กรัม

ที่มา : คมสันต์ หุตะแพทย์ (2550)

กรดไขมันที่พบมากได้แก่ โอเลอิก(18:1) ลิโนลิก(18:2) และปาล์มมิติก(16:0) พบประมาณ ร้อยละ 75-95 นอกจากนี้เป็นลิโนลิก(18:3) ร้อยละ 1-2.7 สเตียริก(18:0) ร้อยละ 1-2 มายริสติก (14:0) ร้อยละ 0.1-1 ดังแสดงในตารางที่ 2.7

ตารางที่ 2.7 แสดงองค์ประกอบทางเคมี และคุณสมบัติทางกายภาพของน้ำมันรำข้าว

Physicochemical parameters	
Acid value	1.2
Iodine value	91.5
Saponifiable matter	211.8
Unsaponifiable matter	4.2
Fatty acid composition (%)	
C14 : 0	0.6
C16 : 0	21.5
C18 : 0	2.9
C18 : 1	38.4
C18 : 2	34.4
C18 : 3	2.2

งานวิจัยหลายชิ้น พบว่า น้ำมันรำข้าวมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอีในกลุ่มโทโคฟีรอล วิตามินอีในกลุ่มโทโคไตรอีนอลและแกมมาโอโรซานอล โดยแกมมาโอโรซานอลสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินอี 6 เท่า(พันทิพา และคณะ, 2004) น้ำมันรำข้าวเหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด สารสำคัญทางธรรมชาติในน้ำมันรำข้าวมีหลายชนิด(Juliano, 1985) ได้แก่

กลุ่มฟอสโฟไลปิด(phospholipid) เช่น เลซิธิน(lecithin)เซฟฟาลิน(cephalin) และไลโซเลซิธิน(lysolecithin) มีความสำคัญในการสร้างและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลล์ประสาทและสมอง ช่วยป้องกันเซลล์ประสาทจากสารที่เป็นพิษและอนุมูลอิสระต่างๆ ช่วยลดความเครียด และช่วยเสริมสร้างในด้านความจำ

กลุ่มเซราไมด์(ceramide)เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของชั้นใต้ผิวหนัง ช่วยให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่น ยับยั้งการสังเคราะห์เมลานินอันเป็นสาเหตุให้เกิดฝ้ากระและจุดด่างดำบนผิวพรรณได้ดีและยังเป็นมอยเจอร์ไรเซอร์(moisturizer) ให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังอีกด้วย

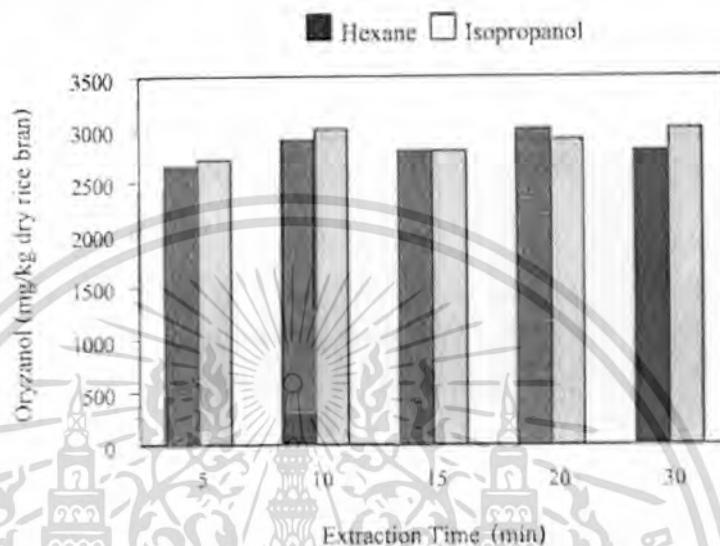
กลุ่มโทคอล(tocols)วิตามินอีธรรมชาติที่อยู่ในรูปของโทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอลมีประโยชน์ต่อร่างกาย อีกทั้งยังช่วยให้ร่างกายมีภูมิคุ้มกันต่อโรคต่างๆ และยังช่วยต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคมะเร็ง

กลุ่มกรดไขมันไลโนเลอิก(linoleic acid) หรือโอเมก้า 6 และกรดไลโนเลนิก(alpha linolenic acid) หรือโอเมก้า 3 ที่เป็นกรดไขมันจำเป็น โดยมีอยู่ประมาณร้อยละ 33

กลุ่มวิตามินบีคอมเพล็กซ์ (B-complex) เป็นสารช่วยให้การทำงานของระบบประสาทดีขึ้น

กลุ่มแกมมาโอโรซานอล มีฤทธิ์ในการลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ ทำให้ลดการตีบตันของหลอดเลือดเพิ่มการไหลเวียนของโลหิต มีฤทธิ์ในการลดความเครียดและรักษาอาการผิดปกติของสตรีวัยทอง นอกจากนี้ยังเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและยังป้องกันรังสียูวีได้ ทำให้ผิวหนังชุ่มชื้น ด้านการอักเสบเมื่อใช้กินหรือใช้ทา จากการวิจัยยังไม่พบผลข้างเคียงของแกมมาโอโรซานอลที่เป็นอันตรายต่อร่างกายของมนุษย์(Patel and Naik, 2004)

ในปี ค.ศ.1996 Hu และคณะ ได้ศึกษาเปรียบเทียบการใช้ไอโซโพรพานอลและเฮกเซนในการสกัดวิตามินอีและโอโรซานอลจากรำข้าว จากการศึกษาพบว่าสถานะที่เหมาะสมที่สุดในการใช้ไอโซโพรพานอลและเฮกเซนในการสกัดรำข้าว จะต้องให้ความร้อนแก่ตัวทำละลายอินทรีย์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสก่อนนำไปใช้และมีอัตราส่วนของตัวทำละลายต่อรำข้าวในอัตราส่วน 3:1 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารโอโรซานอลที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าว ดังรูปที่ 2.8 จะเห็นว่าปริมาณสารโอโรซานอลที่ได้จากการใช้ไอโซโพรพานอลและเฮกเซน ในการสกัดน้ำมันรำข้าว จะไม่มีความแตกต่างกัน



รูปที่ 2.8 แสดงปริมาณสารโอโรซานอล ในน้ำมันรำข้าวที่ได้ จากใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เฮกเซนและไอโซโพรพานอล สกัดน้ำมันรำข้าว จากรำข้าว

น้ำมันรำข้าวสามารถลดโคเลสเตอรอลชนิดแอลดีแอล แต่ไม่ลดโคเลสเตอรอลชนิดเอชดีแอล ซึ่งเป็นโคเลสเตอรอลที่ดีต่อสุขภาพ (Kahlon และคณะ, 1996; Rong และคณะ, 1997) สำหรับโทโคไตรอีนอลเป็นกลุ่มของวิตามินอีที่มีความสำคัญโดยเป็นสารที่ต้านการเกิดมะเร็ง (Nesaretnam และคณะ, 1998) และนอกจากนี้ น้ำมันรำข้าวยังไม่ผลิตสารที่ก่อให้เกิดอาการแพ้เมื่อเข้าสู่ร่างกายซึ่งไม่เหมือนกับน้ำมันชนิดอื่นๆ และมีกรดไขมันในปริมาณที่เหมาะสมเป็นอย่างมาก เช่น ปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว (saturated fatty acid) กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (mono-unsaturated fatty acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (poly-unsaturated fatty acid) มีสัดส่วนเท่ากับ 18:45:37 หรือประมาณ 0.5:1.2:1 ซึ่งสอดคล้องกับข้อแนะนำขององค์การอนามัยโลก (WHO) ที่แนะนำให้บริโภคน้ำมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันทั้ง 3 ชนิด ในสัดส่วน 1:1.5:1 (คมสัน หุตะแพทย์, 2550)

สมวงษ์(2546) รายงานว่าในแต่ละปีประเทศไทยผลิตรำข้าวได้ปริมาณไม่ต่ำกว่า 1 ล้านตัน โดย 10 เปอร์เซ็นต์ นำไปใช้ผลิตเป็นน้ำมันรำข้าว (rice bran oil) ซึ่งมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวถึง 77 เปอร์เซ็นต์ โดยจำนวนนี้เป็นกรดไขมันที่จำเป็น (essential fatty acid) ถึง 31.7 เปอร์เซ็นต์ ทั้งยังเป็นแหล่งวิตามินอี วิตามินบี และสารต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะแกมมาโอโรซานอลที่พบมากในรำข้าว มีผลดีต่อสุขภาพ ช่วยลดคอเลสเตอรอล ดังนั้นน้ำมันรำข้าวจึงเป็นน้ำมันบริโภคที่มีคุณภาพดี จัดว่าเป็นน้ำมันเพื่อสุขภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยนา และ เรวตี (2002) ได้ทำการใช้ความร้อนเพื่อกำจัดเอนไซม์ไลเปสในการคงสภาพน้ำมันรำข้าว แต่การให้ความร้อนเป็นเวลานานจะทำให้สารอาหารที่มีในน้ำมันรำข้าวสลายไป เช่น วิตามินอี

2.3.1 ประโยชน์ของน้ำมันรำข้าว (Utilization of Bran Oil)

ส่วนรำข้าวสกัดไขมันที่ได้จากกระบวนการแปรรูปน้ำมันรำข้าวสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการสกัดโปรตีนออกจากรำข้าวสกัดไขมันนี้ได้ โดยการบดรำข้าวให้ละเอียด ใช้สารละลายเบสในการสกัดโปรตีน แล้วเหวี่ยงแยกตะกอนโปรตีน ทำให้แห้ง ได้เป็นโปรตีนสกัดเข้มข้น ส่วนของแข็งที่เหลืออยู่นำไปเป็นอาหารสัตว์ได้ สำหรับโปรตีนสกัดเข้มข้นใช้เป็นส่วนผสมอาหารเพื่อเสริมโปรตีน เช่น เครื่องดื่ม ขนมหวาน และเครื่องดื่มคล้ายน้ำนม เป็นต้น (Luh et al. 1991) จากรูปที่ 2.9 จะเห็นขั้นตอนในกระบวนการแปรรูปน้ำมันว่า จะทำให้ได้สารอื่นที่มีประโยชน์ด้วย ถ้าเพิ่มขึ้นตอนการทำได้สารนั้นบริสุทธิ์ขึ้น เช่น จากน้ำมันรำข้าวดิบ ในขั้นการกำจัดไขมันได้ไซ จากขั้นการกำจัดกัมได้เลซิทีน จากขั้นการกำจัดกรดได้สบู่ จากขั้นการกำจัดกลิ่นได้โทโคฟีรอล และจากขั้นการทำให้ไขมันในไซจะได้อีเอสเทอร์ เป็นต้น นอกจากนี้ยังสามารถปรับปรุงคุณสมบัติของน้ำมันรำข้าวให้ดีขึ้นด้วยกระบวนการไฮโดรจีเนชัน และปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน (เนื่อทอง, 2537) รวมทั้งกระบวนการอื่นๆ ซึ่งทำให้ได้สารประกอบที่มีประโยชน์อีกหลายชนิดจากน้ำมันรำข้าวดิบ (รูปที่ 2.10)

น้ำมันรำข้าวดิบไม่เหมาะที่จะนำมาทำน้ำมันบริโภคซึ่งในประเทศกำลังพัฒนาน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากข้าวที่ไม่ได้รักษาความเสถียรจะถูกนำมาใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมเป็นหลัก เช่น ใช้เป็นส่วนประกอบในการผลิตสบู่ใช้เป็นสารป้องกันสนิมและหนังสือตัวได้ใช้เป็นน้ำยากำจัดเชื้อราในท่อใช้เป็นน้ำยาซักผ้าและใช้เป็นยาขัดเงาเบาะหนังสำหรับน้ำมันรำข้าวดิบที่มีปริมาณกรดไขมันอิสระร้อยละ 20-70 สามารถนำไปผ่านการเติมไฮโดรเจนและใช้ในการผลิตสบู่แทนกรดไขมันอิสระที่ได้จากไขวัว (tallow) ผลพลอยได้จากการทำให้น้ำมันรำข้าวบริสุทธิ์เช่นกรดไขมันเลซิทีน (lecithin) และไขถูกนำมาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางกรดไขมันถูกนำมาผลิตสบู่ขณะที่ไขถูกนำไปใช้เป็นส่วนผสมในสารขัดเงาต่างๆ อาหารสัตว์ เครื่องสำอาง เคลือบผิว เคลือบอาหาร และกระดาษคาร์บอนส่วนเลซิทีนสามารถใช้เป็นสารคงสภาพในกระบวนการผลิตอาหาร

สำหรับน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วจะใช้ผลิตเป็นเนยขาว (shortening) น้ำมันปรุงอาหาร และน้ำมันสกัดส่วนน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์และวินเทอไรเซชัน (winterization) ใช้ได้ดีในการผลิตมายองเนส (mayonnaise) น้ำสลัดและผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเป็นอิมัลชัน (emulsion) อื่นๆ ในประเทศที่กำลังพัฒนานิยมนำน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมาเติมไฮโดรเจนเพื่อให้ได้ไขมันที่มีลักษณะกึ่งของแข็ง ขณะที่ประเทศที่พัฒนาแล้วนิยมนำน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมาทำเป็นน้ำสลัดซึ่งจะทำให้ได้น้ำสลัดที่ดีมีความคงตัวนอกจากนี้ น้ำมันรำข้าวยังใช้เป็นน้ำมันปรุงอาหารที่ดีเช่นเดียวกับน้ำมันพืชทั่วไป

น้ำมันรำข้าวที่ผ่านการสกัดไขมันแล้วสามารถนำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตโคจิ (Koji) ซึ่งเป็นหัวเชื้อในการทำเต้าเจี้ยว (มิโซ) แบบญี่ปุ่น และซอสถั่วเหลืองแบบญี่ปุ่นได้เป็นอย่างดี

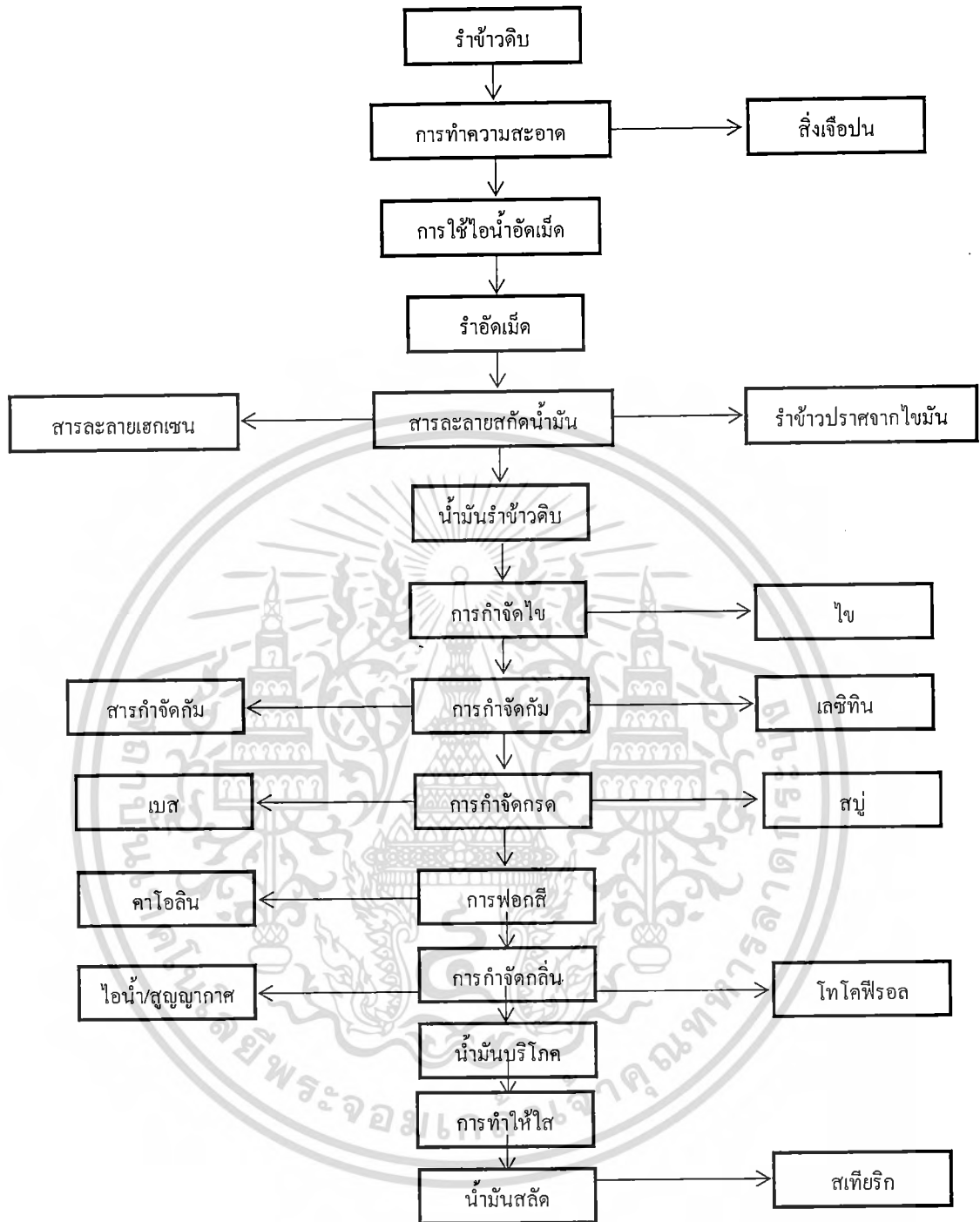
สายสนม และคณะ (2532) ทดลองนำไซที่แยกทิ้งจากกระบวนการกำจัดไขมัน มาทำให้บริสุทธิ์ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนร่วมกับไอโซโพรพานอล ได้ไซบริสุทธิ์ร้อยละ 18 จากนั้นสายสนม และคณะ (2534) นำไซรำข้าวที่ทำให้บริสุทธิ์แล้วนี้พัฒนาอิมัลชันไซรำข้าวและไขผสมระหว่างไซรำข้าวกับไซคาร์บอนา เพื่อเคลือบผิวผลไม้ ผลปรากฏว่า สามารถใช้เคลือบผลไม้ให้สามารถเก็บรักษาได้นานถึง 1 เดือน และไม่แตกต่างจากไซคาร์บอนาล้วนที่มีขายทางการค้า

น้ำมันรำข้าวดิบประกอบไปด้วยไขมันที่ผ่านการสะพอนิฟิเคชัน (saponifiable lipid) และไขมันที่ไม่ผ่านการสะพอนิฟิเคชัน (unsaponifiable lipids) ดังนั้นถ้าลดกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ลงให้มากที่สุดได้ จะช่วยให้ไขมันมีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าน้ำมันบริสุทธิ์

น้ำมันที่เหมาะสมในการทอดอาหารประเภทซุบแป้งทอด คือ น้ำมันรำข้าว เนื่องจากมีคุณสมบัติเหมาะสม ได้แก่ ความคงตัวดี สามารถใช้ซ้ำได้ 6-7 รอบ นอกจากนี้ยังใช้เป็นส่วนผสมของน้ำมันสลัดได้เป็นอย่างดี เพราะไม่มีกลิ่นรส เมื่อใช้ร่วมกับน้ำมันที่หมักจากข้าว จะช่วยให้กลิ่นรสของส่วนผสมดีขึ้น (Kreuzer, 2000)

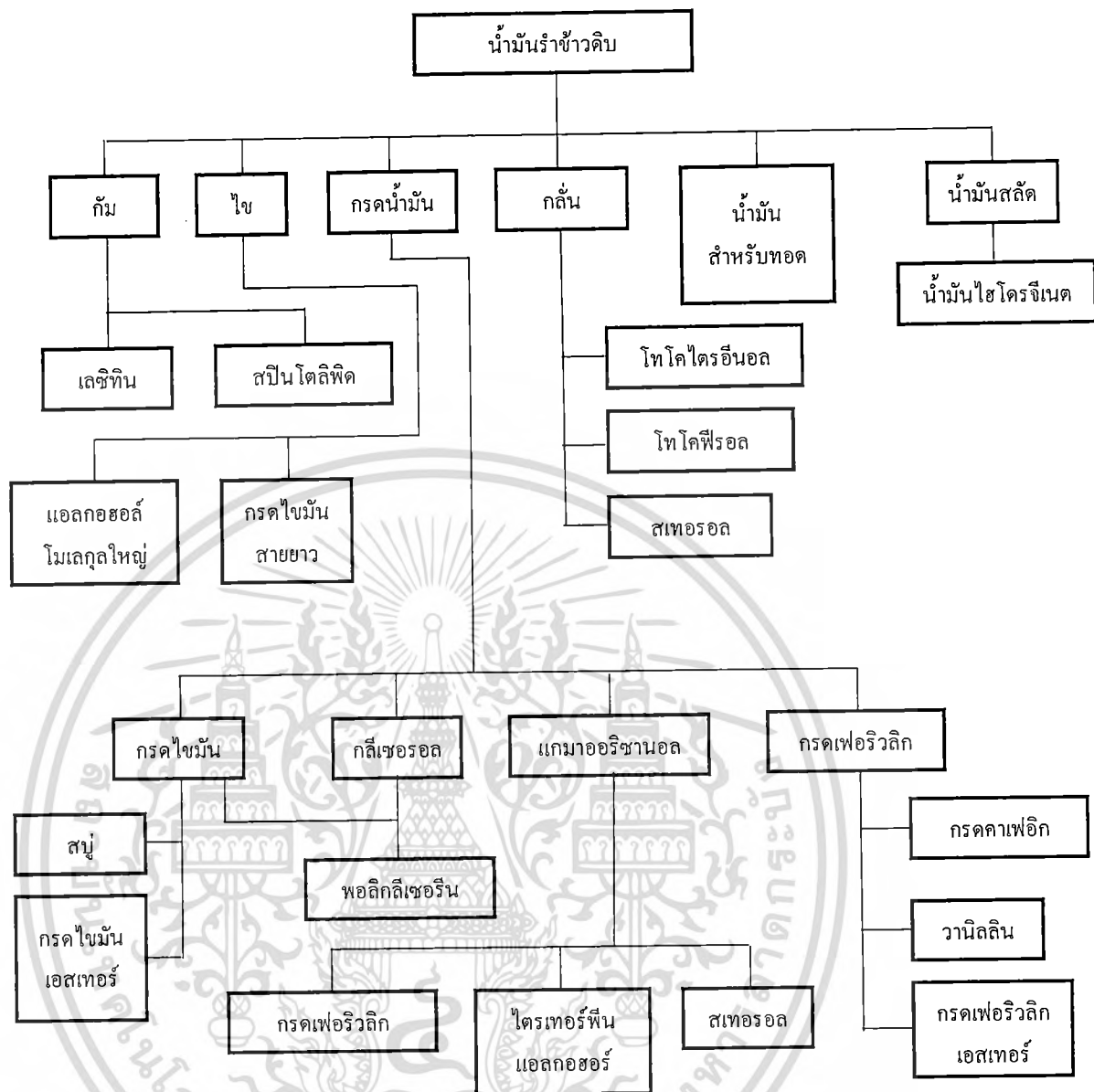
ก่อนนำรำข้าวมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหาร ต้องผ่านกระบวนการยับยั้งปฏิกิริยาเอนไซม์ไลเปสหรือสกัดไขมันออกจากรำข้าว เพื่อเป็นแหล่งโปรตีน เส้นใยอาหาร และกลุ่มวิตามินบี ได้เป็นน้ำมันรำข้าวปราศจากไขมันที่มีประโยชน์ในการนำไปใช้เป็นส่วนประกอบอาหาร เพื่อช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ ส่วนโอไรซานอล(Oryzanol) ในน้ำมันรำข้าวมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันน้ำมันรำข้าวยังมีประโยชน์ต่อสุขภาพในด้านต่างๆ เช่น ป้องกันการอุดตันของเส้นเลือด ช่วยการดูดซึมวิตามินที่ละลายในไขมัน และแร่ธาตุบางชนิด





รูปที่ 2.9 กระบวนการแปรรูปน้ำมันรำข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.10 ผลิตภัณฑ์จากน้ำมันรำข้าวดิบ

2.4 การสกัดน้ำมันรำข้าว

2.4.1 ปัจจัยที่มีผลต่อประสิทธิภาพของการสกัดน้ำมันรำข้าว ได้แก่

2.4.1.1 ปริมาณของตัวทำละลาย ถ้าใช้ปริมาณตัวทำละลายในการสกัดมากจะทำให้สกัดน้ำมันออกมาได้มากมีน้ำมันเหลืออยู่ในกากน้อย แต่ถ้าใช้ตัวทำละลายมากต้องใช้เวลาในการกลั่นแยกเอาตัวทำละลายออก ทำให้เกิดการสูญเสียตัวทำละลายที่ระเหยออกไปสูงขึ้นด้วย ดังนั้นตัวทำละลายที่ใช้ควรมีปริมาณที่เหมาะสม

2.4.1.2 ชนิดของตัวทำละลาย มีตัวทำละลายหลายชนิดที่ใช้ในการสกัดน้ำมัน ตัวทำละลายแต่ละชนิดจะมีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป ต้องเลือกใช้ให้เหมาะสมกับชนิดของเมล็ดพืชและไม่เป็นพิษแก่ร่างกาย ตัวทำละลายที่นิยมใช้มากที่สุด คือ เฮกเซน

2.4.1.3 อุณหภูมิ การสกัดน้ำมันตัวทำละลายต้องมีอุณหภูมิสูงประมาณ 60 องศาเซลเซียสเพื่อช่วยให้ไขมันละลายออกมาจากเมล็ดพืชได้ง่าย

2.4.1.4 ความหนาแน่นของรำข้าว รำข้าวที่อัดแน่นจนเกินไป จะทำให้สกัดน้ำมันออกมายาก แต่ถ้าอัดแน่นน้อยเกินไปจะแตกง่าย และมีผงฝุ่นมาก

2.4.1.5 ความชื้น รำข้าวที่นำมาสกัดน้ำมันไม่ควรมีความชื้นสูงเกินร้อยละ 10 และตัวทำละลาย จะต้องไม่มีน้ำ หรือความชื้นปนอยู่ เพราะจะทำให้สกัดน้ำมันออกได้ยาก

2.4.1.6 เวลาในการสกัด การสกัดน้ำมันด้วยตัวทำละลายต้องใช้เวลานานพอสมควร เพื่อให้ตัวทำละลายสามารถสกัดน้ำมันออกมาให้ได้มากที่สุด โดยทั่วไป จะใช้เวลาประมาณ 1-2 ชั่วโมง

2.4.2 กระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว (Rice bran oil processing)

กระบวนการต่างๆ ที่ใช้ในการสกัดไขมัน และน้ำมันมีจุดประสงค์หลัก 3 ประการ คือ

2.4.2.1 เพื่อให้ได้น้ำมันในสภาพที่ไม่สลายตัวและมีสิ่งเจือปนที่ไม่ต้องการอยู่น้อยที่สุด

2.4.2.2 เพื่อให้ได้น้ำมันในปริมาณมากที่สุดเท่าที่ประสิทธิภาพของกระบวนการจะทำได้

2.4.2.3 เพื่อผลิตกากที่เหลือจากการสกัดที่มีคุณค่ามากที่สุด

วิธีการสกัดแยกไขมันและน้ำมันออกจากวัตถุดิบ จะมีวิธีเฉพาะ สำหรับวัตถุดิบแต่ละชนิดขึ้นอยู่กับลักษณะ และคุณสมบัติของวัตถุดิบนั้นๆ สำหรับการสกัดน้ำมันรำข้าวในประเทศไทยนิยมใช้การสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction)

การสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากใช้สกัดน้ำมันจากเมล็ดพืชที่มีปริมาณน้ำมันต่ำ หรือสกัดจากกากที่เหลือจากการบีบด้วยเครื่องอัด ตัวทำละลายที่ใช้ต้องไม่เป็นพิษต่อร่างกาย ได้แก่ เฮกเซน คาร์บอนไดออกไซด์ และเอทิลเอเทอร์ เป็นต้น ตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมากที่สุด คือ เฮกเซน

วิธีการทำได้โดยให้ตัวทำละลายไหลซึมผ่านเมล็ดที่บดละเอียด น้ำมันที่อยู่ในเมล็ดจะละลายออกมากับตัวทำละลายเมื่อน้ำมันละลายออกมาหมดแล้ว นำไปกลั่นแยกเอาตัวทำละลายออก สารละลายของน้ำมันในตัวทำละลายอาจเรียกว่า มิสเซลลา (Miscella)

ในการสกัดน้ำมันรำข้าวจะถูกหมักในตัวทำละลายซึ่งน้ำมันจะถูกสกัดออกมาด้วยตัวทำละลาย แล้วจึงกรองแยกรำข้าวกับมิสเซลลาออกจากกัน หลังจากนั้นจะแยกตัวทำละลายออกจากส่วนผสมระหว่างตัวทำละลายกับน้ำมัน น้ำมันที่ได้จะถูกนำไปผ่านการทำให้บริสุทธิ์

การใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายจะได้ปริมาณน้ำมันสูงกว่าวิธีอื่น เมล็ดพืชบางชนิดใช้วิธีการบีบร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลาย อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยตัวทำละลายจะเสียค่าใช้จ่ายสูงกว่าวิธีอื่น เพราะตัวทำละลายมีราคาแพง ถึงแม้จะกลั่นแยกเอาตัวทำละลายกลับมาใช้ได้อีกก็ตาม แต่มีบางส่วนระเหยหายไป

น้ำมันที่ได้ออกมาเป็นน้ำมันที่ไม่บริสุทธิ์ เรียกว่า น้ำมันดิบ (Crude oil) มักมีสารประกอบต่างๆ ปนอยู่มากมาย ต้องนำไปผ่านการทำให้บริสุทธิ์ต่อไป

เศษรำข้าวที่ละเอียด (ผ่านตะแกรงขนาด 100 mesh ได้) จะทำให้น้ำมันที่สกัดได้ข้น ทำให้ต้องใช้ระยะเวลาในการสกัดน้ำมันเพิ่มขึ้น และเป็นสาเหตุให้การแยกองค์ประกอบที่ไม่ใช้น้ำมันโดยการตกตะกอนยาก

น้ำมันที่มีกลิ่นหอมธรรมชาติบางชนิด เช่น น้ำมันมะกอกไม่อาจใช้วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายได้ เพราะจะทำให้กลิ่นหายไปขณะที่แยกเอาตัวทำละลายออก

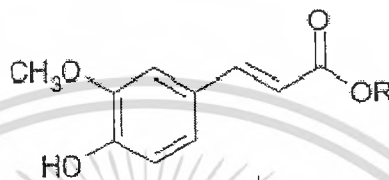
2.5 แกมมาโอโรซานอล

โอโรซานอลค้นพบครั้งแรกในน้ำมันรำข้าวในปี ค.ศ. 1954 โดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่นชื่อ Tsuchiya, T. และ Kaneko, R. (Orthofer, 1996) ในช่วงแรกเชื่อว่าโอโรซานอลเป็นสารเดี่ยว ต่อมาภายหลังพบว่าโอโรซานอลประกอบด้วยสองส่วนสำคัญ ส่วนแรกเป็นส่วนที่มีขี้ คือ กรดเฟอร์ูลิก (Ferulic acid) ที่เป็นองค์ประกอบหลักไม่เปลี่ยนแปลง อีกส่วนหนึ่งเป็นสารประกอบที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็นแอลกอฮอล์ ได้แก่พวก สเตอรอล (sterol) และ ไตรเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (triterpene alcohol) ที่มีโครงสร้างลักษณะคล้าย โคลเลสเตอรอล (Cholesterol) และทั้งสองส่วนนี้เชื่อมต่อกันด้วยพันธะเอสเทอร์ ซึ่งมีชื่อเรียกอยู่ทั้งหมด 3 ชนิด คือ แอลฟาโอโรซานอล บีตาโอโรซานอล และแกมมาโอโรซานอล ซึ่งแกมมาโอโรซานอลเป็นรูปแบบที่พบมากที่สุด มีนักวิทยาศาสตร์ได้ทำการศึกษาวิจัยพบว่า ในน้ำมันรำข้าว (rice bran oil) มีปริมาณแกมมาโอโรซานอลอยู่ระหว่างร้อยละ 1-3 ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของข้าวและวิธีวิเคราะห์ที่ใช้ (Seetharamaiah และ Prabhakar, 1986) แหล่งธรรมชาติที่พบแกมมาโอโรซานอล คือ รำข้าว แต่สารบางชนิดที่พบในแกมมาโอโรซานอล เช่น sitostanyl ferulate, campestanly ferulate ยังสามารถพบได้ในข้าวโพดและธัญพืช (Seitz LM, 1989)

ปริมาณแกมมาโอโรซานอลที่พบในน้ำมันรำข้าวมีมากกว่าวิตามินอีประมาณ 20 เท่า ซึ่งอาจจะมียปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงถึง 3,000 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Xu และ Godber, 1999) แต่ทั้งนี้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลยังมีความแปรปรวนอยู่มาก เช่น การตรวจสอบปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ที่ขายอยู่ในประเทศญี่ปุ่นมีประมาณ 1,500-2,900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ประเทศอินเดียพบประมาณ 1,500-1,900 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ในขณะที่ประเทศสหรัฐอเมริกาพบประมาณ 100 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (Saska และ Rossiter, 1998) ทั้งนี้เนื่องจากถูกขจัดออกหรือสลายตัวไปในกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ (refining) ซึ่งจะมากหรือน้อยขึ้นกับความรุนแรงในกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ และความแตกต่างของกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว โดย Van Hoed และคณะ (2006) รายงานว่าในขั้นตอนของการใช้ต่างหรือการทำให้เป็นกลางเป็นขั้นตอนสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียของแกมมาโอโรซานอลสูงสุดซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Krishna และคณะ (2001) ที่พบว่าขั้นตอนของการกำจัดขี้ และขี้ทำให้สูญเสียแกมมาโอโรซานอลเพียงร้อยละ 1.1-5.9 แต่ในขั้นตอนของการขจัดกรดไขมันโดยใช้ด่างมีผลให้แกมมาโอโรซานอลถูกกำจัดไปถึงร้อยละ 93.0-94.6 และนอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กัสายพันธุ์ของข้าว โดยนพมาศ และคณะ (2545) ศึกษาความแตกต่างของสายพันธุ์ข้าวในประเทศไทยต่อปริมาณของแกมมาโอโรซานอล โดยพบว่าข้าวสายพันธุ์ต่างๆ มีปริมาณของแกมมาโอโรซานอลที่แตกต่างกัน

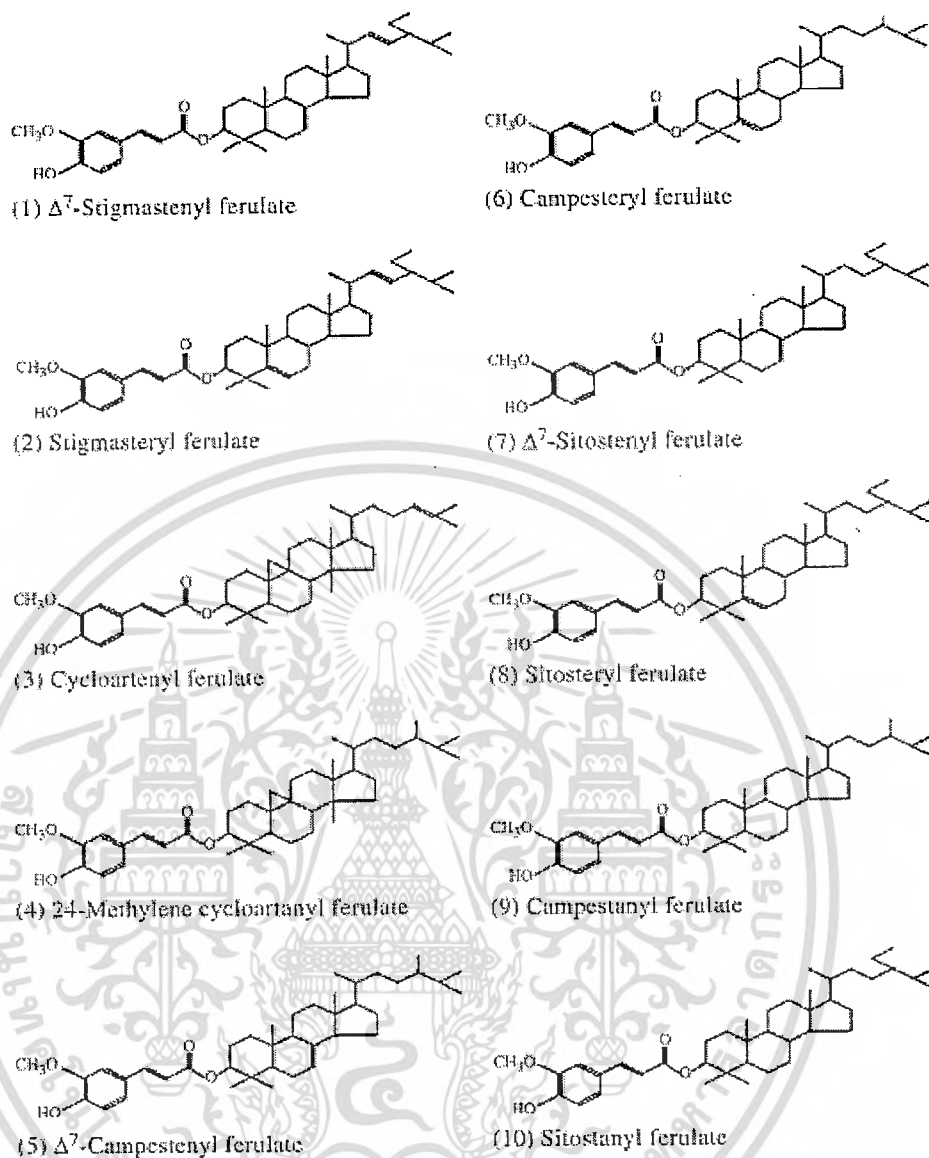
2.5.1 คุณสมบัติของสารแกมมาโอโรซานอล

แกมมาโอโรซานอล มีลักษณะเป็นผงสีขาวหรือสีขาวปนเหลืองอ่อนๆ มีสูตรเคมีคือ $C_{40}H_{58}O_4$ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 602.98 กรัมต่อโมลแกมมาโอโรซานอลสามารถละลายได้ดีในซีพีเอ็มธรรมชาติ น้ำมันเมทานอล เอทานอล และคลอโรฟอร์ม จะละลายได้น้อยในอีเทอร์และเฮกเซน แต่ไม่ละลายในน้ำ ไม่มีกลิ่น มีจุดหลอมเหลวที่ 135-137 °C ค่าการดูดกลืนแสงสูงสุด (absorption maximal) ที่ 315 291 และ 231 มีค่าการแตกตัวของหมู่ฟีนอลในสารละลายเมทานอลประมาณ 10.8 (วราพร พงษ์ธรรวาทกุลพานิช, 2543)



รูปที่ 2.11 โครงสร้างทางเคมีของแกมมาโอโรซานอล
หมู่ R คือ กลุ่มสเตอรอลหรือกลุ่มไตรเทอร์ปีนแอลกอฮอล์
ที่มา : Xu และ Godber (1999)

การพัฒนาเทคนิคสำหรับวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอโรซานอลนั้นเริ่มขึ้นโดย Diack และ Saska ในปี ค.ศ.1994 โดยการใช้นิยาม normal phase high performance liquid chromatography (normal phase-HPLC) ซึ่งสามารถแยกแกมมาโอโรซานอลได้เป็น 2 ส่วน และแต่ละส่วนประกอบด้วยสารสำคัญอย่างน้อย 2 ชนิดหรือมากกว่านั้น การตรวจเอกลักษณ์และวิเคราะห์ปริมาณของสารสำคัญแต่ละชนิดในแกมมาโอโรซานอลนั้นจึงเป็นเรื่องที่ยากอันเนื่องมาจากการแยกสกัดสารสำคัญแต่ละชนิดได้ไม่สมบูรณ์ นอกจากนั้นยังมีการใช้เทคนิค reverse-phase HPLC สามารถแยกสารสำคัญได้ 5 ชนิด (Norton RA, 1995) หรือ 6 ชนิด (Evershed et al., 1988; Rogers et al., 1993) จากนั้นจึงสามารถแยกสารสำคัญของแกมมาโอโรซานอลได้สำเร็จจากน้ำมันรำข้าวโดยใช้เทคนิค preparative normal phase-HPLC ได้เป็นแกมมาโอโรซานอลเข้มข้น จากนั้นจึงทำการแยกและลดการรบกวนจากสารอื่นด้วยเทคนิค reverse-phase HPLC ซึ่งสามารถแยกสารสำคัญได้ถึง 10 ชนิด คือ (1) Δ^7 -stigmasteryl ferulate (2) stigmasteryl ferulate (3) cycloartenyl ferulate (4) 24-methylene cycloartenyl ferulate (5) Δ^7 -campestenyl ferulate (6) campestenyl ferulate (7) Δ^7 -sitostenyl ferulate (8) sitostenyl ferulate (9) campestenyl ferulate และ (10) sitostenyl ferulate (รูปที่ 2.11) ซึ่งสารสำคัญหลัก 3 ชนิดที่พบมากในแกมมาโอโรซานอล คือ cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartenyl ferulate, campestenyl ferulate (Zullaikah et al., 2009) โดยอนุพันธ์หลักของแกมมาโอโรซานอลที่พบในน้ำมันรำข้าวมี 3-4 ชนิด ซึ่งได้แก่ cycloartenyl ferulate, 24-methylene cycloartenyl ferulate, campestenyl ferulate และ sitostenyl ferulate (Xu และ Godber 1999; Lloyd และคณะ, 2000; Xu และคณะ 2001; Fang และคณะ, 2003) รวมกันคิดเป็นประมาณร้อยละ 80 ของแกมมาโอโรซานอลทั้งหมด



รูปที่ 2.12 แสดงโครงสร้างของโอโรซานอลทั้ง 10 อนุพันธ์

2.5.2 แหล่งของสารแกมมาโอโรซานอลในธรรมชาติ

พบในรำข้าว น้ำมันรำข้าว ตันอ่อนของข้าว น้ำมันจากตันอ่อนของข้าว นอกจากนี้ยังพบในธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวไรน์ และข้าวโอ๊ตอีกด้วย

2.5.3 คุณประโยชน์ของแกมมาโอโรซานอล

แกมมาโอโรซานอลเป็นสารที่มีคุณประโยชน์มากมาย และมีศึกษาการนำสารแกมมาโอโรซานอลไปใช้ประโยชน์กันอย่างกว้างขวาง นอกจากนั้นผลการตรวจสอบความปลอดภัยระบุอย่างชัดเจน

ว่าสารแกมมาโอโรซานอลไม่ก่อให้เกิดความผิดปกติของยีน ไม่เป็นสารก่อมะเร็งและเนื้องอกอีกด้วย แกมมาโอโรซานอล จึงถูกนำไปใช้อย่างแพร่หลายทั้งทางด้านอาหาร เครื่องสำอาง และทางการแพทย์

ในด้านอาหาร แกมมาโอโรซานอลถูกนำมาใช้เป็นสารป้องกันการเปลี่ยนสีในผลิตภัณฑ์อาหาร ที่มีลักษณะเป็นอิมัลชันใช้เป็นสารกันเสีย(Preservative)ในอาหาร ใช้เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น เติมน้ำมันในน้ำมันพืชเพื่อกันหืน

ในด้านเครื่องสำอาง แกมมาโอโรซานอลถูกนำมาใช้เพื่อช่วยทำให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่น เปล่งปลั่ง มีน้ำมีนวล ชุ่มชื้น และปราศจากริ้วรอยเหี่ยวย่น แกมมาโอโรซานอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระคล้ายกับวิตามินอี ซึ่งจะช่วยลดปฏิกิริยาออกซิเดชันอันเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดริ้วรอย มีการนำไปใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาบน้ำประมาณ 3-20% โดยน้ำหนัก เพื่อใช้รักษาโรคผิวหนังอักเสบ(Atopic dermatitis) และอาการผิวหนังแห้ง(Senile xeroderma) ใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ทาเส้นผมประมาณ 1% โดยน้ำหนัก เพื่อใช้เปลี่ยนสภาพสีผมจากผมสีเทาให้เป็นผมสีดำ ทั้งนี้เพราะโอโรซานอลช่วยกระตุ้นการสร้างเมลานิน ใช้ใช้ในผลิตภัณฑ์ระงับกลิ่นใต้รักแร้เพื่อควบคุมกลิ่นที่เกิดจากเหงื่อ ในน้ำยาทาเล็บเพื่อป้องกันเล็บเปลี่ยน และยังช่วยรักษาความคงทนของผลิตภัณฑ์

ในด้านการแพทย์แกมมาโอโรซานอลมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ ซึ่งสามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ จึงช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดมะเร็งได้ ช่วยลดปริมาณโคเลสเตอรอลในพลาสมา (Plasma cholesterol) ลดการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลในตับและลดการดูดซึมโคเลสเตอรอล ช่วยเพิ่มปริมาณการหลังกรดน้ำดีเข้าไปในลำไส้ ช่วยเพิ่มอัตราการไหลเวียนโลหิตและป้องกันการรวมตัวของเกล็ดเลือด(Platelet aggregation) ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจ โรคตับ โรคไต โรคเบาหวาน และการเกิดริ้วรอยเหี่ยวย่น ช่วยเสริมสร้างในด้านความจำ ลดความเครียด ช่วยรักษาระบบการทำงานของสมองที่ผิดปกติ(Nerve aggregation) และภาวะหลังหมดประจำเดือน (Disorder of menopause) โดยคาดว่าน่าจะไม่มีผลกับฮอร์โมนลูทีไนซิง (Luteinizing hormone ; LH)ช่วยส่งเสริมการสร้างกล้ามเนื้อ โดยการปลดปล่อยฮอร์โมนเอนดอร์ฟิน(Endorphin) และทำให้มดลูกจะแข็งแรงและกระชับช่วยในเรื่องของการมีบุตรยาก และยังช่วยเพิ่มสมรรถภาพทางเพศโดยการเพิ่มระดับฮอร์โมนเทสโทสเตอโรน (Testosterone hormone)

2.6 อนุมูลอิสระและการต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ(free radical) หรือ reactive oxygen species(ROS) เป็นโมเลกุลที่มีอิเล็กตรอนวงนอกสุดไม่เป็นจำนวนคู่ (unpaired electron) และมีอายุสั้นมาก จัดเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมี จึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆ ภายในร่างกายเพื่อให้ตัวมันเองมีความเสถียร อนุมูลอิสระมีหลายชนิด ชนิดที่สำคัญ ได้แก่ ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (superoxide anion) ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์(hydrogen peroxide) และไฮดรอกซิลเรดิคัล (hydroxyl-radical) (มลศิริวิโรทัย, 2545)

แหล่งของอนุมูลอิสระสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แหล่งใหญ่ๆ คือ

2.6.1 อนุมูลอิสระที่มาจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ซึ่งได้แก่ สารเคมีและสิ่งปนเปื้อนที่มากับอากาศที่เราหายใจเข้าไป การติดเชื้อ สารเติมแต่งอาหาร สีสผสมอาหาร สารเคมีปนเปื้อนในอาหาร สารกันบูด หรือสารเคมีต่างๆที่ใช้ในการเกษตร ฯลฯ

2.6.2อนุมูลอิสระที่ร่างกายของเราสร้างขึ้นเอง ซึ่งได้แก่ สารเคมีที่หลงเหลือจากกระบวนการทางชีวภาพที่เกิดขึ้นภายในร่างกายและในเซลล์เอง เช่น กระบวนการเผาผลาญอาหาร(metabolism) ในชีวิตประจำวัน การออกกำลังกาย การสลายไขมันออกจากร่างกายมาก ๆ ก็จะทำให้เกิดอนุมูลอิสระมากด้วย

ปฏิกิริยาออกซิเดชันจะเกิดขึ้นเร็วหรือช้าขึ้นกับปัจจัยต่างๆ เช่น แสง อุณหภูมิ ความเข้มข้น และชนิดของออกซิเจน ชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบ ชนิดและปริมาณของกรดไขมันอิสระ ปริมาณของโมโนกลีเซอไรด์และไตรกลีเซอไรด์ รังควัตถุ ฟอสโฟลิปิด ชนิดและปริมาณของโลหะหนัก (Choe และ Min, 2006)โดยน้ำมันดิบมักมีโลหะหนัก เช่น เหล็ก ทองแดง โคบอล เป็นต้น ซึ่งโลหะหนักอาจปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ เครื่องมือ และอุปกรณ์ที่ใช้ในการผลิตน้ำมัน และภาชนะบรรจุ แม้ปริมาณของโลหะหนักจะมีน้อย เช่น ระดับมิลลิกรัมต่อกิโลกรัม ก็สามารถที่จะลดความคงตัวของน้ำมันได้ ซึ่งเมื่อกำจัดตัวเร่งปฏิกิริยาให้หมดไป การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันก็น้อยลงทำให้การเกิดกลิ่นหืนลดน้อยลงไป โดยขั้นตอนของการทำให้ไขมันบริสุทธิ์ก็เป็นขั้นตอนที่สามารถลดปริมาณของโลหะหนักเหล่านี้ได้ระดับหนึ่ง ดังนั้นน้ำมันที่ไม่ผ่านการทำให้เป็นน้ำมันบริสุทธิ์ก็ยังคงมีปริมาณของโลหะหนักอยู่สูง โดยโลหะหนัก เช่น เหล็ก จะมีผลไปเร่งอัตราการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันได้โดยตรง เนื่องจากเหล็กจะเป็นตัวรับไฮโดรเจนจากกรดไขมันทำให้เกิดเป็นแอลคิลฟรีเรดิคัล (alkyl free radical: R[•]) และเร่งการแตกตัวของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (hydroperoxide: ROOH) โดยเหล็กจะให้ อิเล็กตรอนกับไฮโดรเปอร์ออกไซด์แล้วเปลี่ยนเป็นเพอร์ออกซีเรดิคัล (peroxy radical: ROO[•]) และแอลคอกซีเรดิคัล (alkoxy radical: RO[•])ตามลำดับ (Choe และ Min, 2006)

อนุมูลอิสระมีคุณสมบัติทางเคมีที่ทำลายเยื่อหุ้มเซลล์ของมนุษย์ได้ด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) เมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจึงเกิดการทำลายโมเลกุลอื่นๆ ต่อเนื่องกันเป็นลูกโซ่ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกาย เกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นบนใบหน้า รอยดวงตา และผิวพรรณรวมทั้งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหัวใจขาดเลือด โรคต่อกระฉก โรคความดันโลหิตสูง โรคอัลไซเมอร์ โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง เป็นต้น ปกติภายในร่างกายของเรามีกลไกป้องกันอนุมูลอิสระโดยอาศัยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในร่างกาย เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเตส (superoxide dismutase) คาตาเลส (catalase) กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (GPX) เป็นต้น แต่การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระยังไม่เพียงพอและมีขีดจำกัดในปัจจุบัน วงการวิทยาศาสตร์การแพทย์ค้นพบว่า ในการป้องกันภาวะบกพร่องของร่างกายต่างๆที่เกิดจากการทำลายเซลล์ของอนุมูลอิสระนั้น ควรได้รับสารเพื่อทำลายฤทธิ์ของสารอนุมูลอิสระ ซึ่งเรียกว่า สารต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารที่มีสมบัติยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน มีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ (natural antioxidant) เช่น วิตามินซี วิตามินอี เป็นต้น และสารสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) เช่น บิวทิลเลทไฮดรอกซีเอนิโซล (butylated hydroxyanisole: BHA) บิวทิลเลทไฮดรอกซีโทลูอีน (Butylated hydroxytoluene; BHT) แกลเลต (Gallate) เป็นต้น และมีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระที่ร่างกายได้รับ ได้แก่ ควินนุรี แอลกอฮอล์ รังสีอัลตราไวโอเล็ต เอ็กเซอร์เซ ให้กลายเป็นสารที่ไม่มีอันตรายต่อเซลล์ ในร่างกายจะมีสารต้านออกซิเดชันเพื่อทำหน้าที่ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical scavengers) ป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆที่จะก่อผลเสียต่อร่างกาย (สุลลี โลวีกรรณ์ 2549) แหล่งอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ ได้แก่

วิตามินเอพบในตับหมูตับไก่ ไข่โดยเฉพาะไข่แดง น้ำมัน พืชผักที่มีสีเขียวเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ

วิตามินซี พบมากในฝรั่ง ส้ม มะขามป้อม มะละกอสุก พริกชี้ฟ้าเขียว บร็อกโคลี ผักคะน้า ยอดสะเดา ใบปอ ผักหวาน ผักกาดเขียว

วิตามินอี พบในน้ำมันจากจมูกข้าวสาลี น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกคำฝอย เมล็ดทานตะวัน เมล็ดอัลมอนด์ จมูกข้าวสาลี

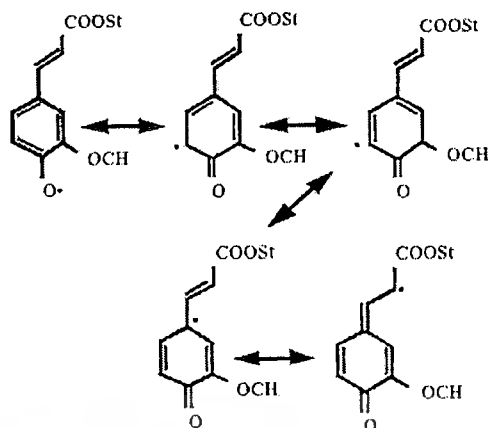
ซีลีเนียมพบมากในอาหารทะเล ปลาทูน่า เนื้อสัตว์ ตับ บะหมี่ ไข่ ปลา ขนบั้งโฮลวีต

แคโรทีนอยด์(บีตาแคโรทีน ลูทีน และไลโคพีน)พบในผักที่มีสีเขียวเข้มผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ

พฤกษเคมีต่างๆ เช่นสารประกอบโพลีฟีนอลส์(polyphenols)จากชาและสมุนไพรบางชนิด ไอโซฟลาโวน(isoflavones) จากถั่วเหลือง เป็นต้น

2.6.1 การต่อต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแกมมาโอโรซานอล

การเกิดออกซิเดชันของน้ำมันสำหรับบริโภคมีผลโดยตรงทำให้เกิดสี กลิ่นรสที่ผิดปกติไปจากเดิม สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ ลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหารเปลี่ยนแปลง ผู้บริโภคไม่ยอมรับ หรืออาจเกิดสารประกอบใหม่ที่เป็นอันตรายต่อร่างกาย (Nawar, 1996; Choe และ Min, 2006) ซึ่งสารต้านการเกิดออกซิเดชัน คือ สารที่มีสมบัติป้องกันหรือช่วยให้น้ำมันเกิดการหืนได้ช้าลง จึงเป็นสารที่เติมลงในน้ำมันเพื่อชะลอหรือยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันทำให้น้ำมันคงตัว รักษาคุณลักษณะ กลิ่นและรสชาติไว้ได้นานขึ้น โดยความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน ของสารกลุ่มแกมมาโอโรซานอลมาจากส่วนของกรดเฟอร์ูลิก เนื่องจากอนุพันธ์ในส่วนของสเตอรอลหรือไตรเทอร์ปีนแอลกอฮอล์ มีโครงสร้างขนาดใหญ่และเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนยากกว่ากรดเฟอร์ูลิก (Xu และ Godber, 2001) สำหรับหน้าที่ในการต้านออกซิเดชันสามารถอธิบายได้โดยการเกิด resonance-stabilised structure (Kochhar, 2000) ดังแสดงในรูปที่ 2.13 ซึ่งจากภาพเมื่อแกมมาโอโรซานอลได้รับอิเล็กตรอนจากอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว แกมมาโอโรซานอลจะมีความสามารถย้ายอิเล็กตรอนในโครงสร้างวงแหวน โดยการเกิดเรโซแนนซ์(resonance) ทำให้งามมาโอโรซานอลมีความเสถียรสูงและไม่เกิดเป็นอนุมูลอิสระเสียเอง



St = Steryl moiety

รูปที่ 2.13 กลไกในการต้านออกซิเดชันของแกมมาโอโรซานอล
ที่มา: Kochhar (2000)

สำหรับความสามารถในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของแกมมาโอโรซานอลนี้มีการศึกษากันอย่างกว้างขวาง โดยพบว่าสามารถต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำมันได้ดีเมื่อเทียบกับสารต่อต้านการเกิดออกซิเดชันชนิดอื่นๆ เช่น แอลฟาโทโคฟีรอล บิวทิลเลทไฮดรอกซีเอนิโซล (butylated hydroxyanisole: BHA) บิวทิลเลทไฮดรอกซีโทลูอีน (Butylated hydroxytoluene; BHT) (Xu และ Godber, 2001; Iqbal และคณะ, 2005) โดยสามารถยืดช่วงของ induction period ออกไป และปรับปรุงความคงตัวต่อการต้านออกซิเดชันของน้ำมัน นอกจากนี้ยังมีการเปรียบเทียบระหว่างสเตอริลเฟอร์ูเลท (steryl ferulates) กับโทโคฟีรอล (tocopherol) ในน้ำมันดอกทานตะวันให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 100 และ 180 องศาเซลเซียส พบว่าสเตอริลเฟอร์ูเลทมีความคงตัวในระหว่างการเกิดออกซิเดชันดีกว่าเมื่อเวลาผ่านไป 96 ชั่วโมง และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ แต่ไม่พบการเสริมฤทธิ์กันระหว่างสเตอริลเฟอร์ูเลทและโทโคฟีรอล

นฤมล นิมมานพิภักดิ์ (2546) ได้ทำการศึกษาวิจัยเป็นแหล่งธรรมชาติที่สำคัญของสารแกมมาโอโรซานอล สารประกอบแกมมาโอโรซานอลน่าจะมีฤทธิ์ต้านการออกซิเดชันเพราะในโครงสร้างประกอบด้วยกรดเฟอร์ูลิกซึ่งเป็นสารต้านการออกซิเดชันที่มีฤทธิ์แรง น้ำมันรำข้าวดิบ (Crude rice bran oil) ได้จากการสกัดโดยวิธีที่ใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ที่ไม่เข้ากันมาทำการสกัดแยกเอาเฉพาะส่วนที่ต้องการ (Liquid-liquid extraction method) โดยตัวทำละลายที่ใช้ ได้แก่ เมทานอลและเฮกเซน ได้ปริมาณสารสกัดน้ำมันรำข้าวร้อยละ 10.9 เมื่อเทียบกับน้ำหนักของน้ำมันรำข้าวดิบ การวิเคราะห์หาปริมาณสารแกมมาโอโรซานอล จะมี 2 พีคหลักของสารสกัดน้ำมันรำข้าวให้ชื่อว่าพีคเอและพีคบี ทำโดยเครื่อง HPLC พบว่าพีคเอกับพีคบีของสารแกมมาโอโรซานอลในสารสกัดน้ำมันรำข้าวเท่ากับร้อยละ 2.3 และ 4.1 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับน้ำหนักของสารสกัดน้ำมันรำข้าว จากนั้นนำสารสกัดไปตรวจสอบหาฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ทำโดย 2 วิธี คือ colorimetric analysis และ ESR โดยแสดงผลเป็นค่าความเข้มข้นที่มีฤทธิ์ยับยั้งได้ร้อยละ 50 (IC₅₀) ผลลัพธ์พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดน้ำมันรำข้าวที่มีฤทธิ์ยับยั้งได้ร้อยละ 50 ของแต่ละพีคเท่ากับ 1406.94 และ 1325.63 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นสารสกัดน้ำมันรำข้าวถูกเก็บเป็นเวลา 90 วัน

ทำการหาค่าร้อยละความเข้มข้นของพีคปีของสารแกมมาโอริซานอลที่คงเหลืออยู่ในสารสกัดได้ดังนี้ 71.35-74.75% ตามลำดับ วัดโดยเครื่อง HPLC

2.6.2 การวัดกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

ในปัจจุบันสารต้านอนุมูลอิสระได้รับความสนใจเป็นอย่างมากได้มีการนำสารต้านอนุมูลอิสระมาใช้ในการส่งเสริมสุขภาพป้องกันและรักษาโรคต่างๆเพราะเชื่อว่าสามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันและต้านการเกิดอนุมูลอิสระได้ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความสำคัญเพื่อใช้บอกประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระหากฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีค่าสูงแสดงว่ามีประสิทธิภาพในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระสูงด้วยเช่นกันวิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธีเช่น 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) (ABTS) free radical dechlorination assay และ oxygen radical absorbance capacity (ORAC) เป็นต้น (จุฬาลักษณ์ทวีบุตร 2551)

หลักการของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay

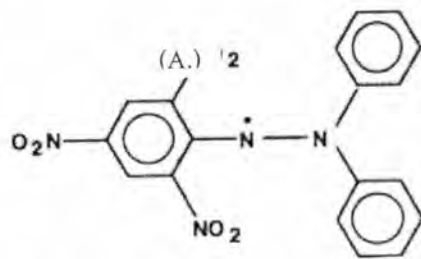
DPPH เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH มีหลักการที่สารเคมี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) นี้เป็นอนุมูลอิสระสังเคราะห์ที่มีความคงตัวเมื่ออยู่ในรูปสารละลาย DPPH จะมีสีม่วงและสามารถดูดกลืนแสงได้ดีที่ความยาวคลื่น 517 nm ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้โดยผสม DPPH• และสารต้านอนุมูลอิสระที่ต้องการทดสอบ (AH) ในหลอดทดลองซึ่งเกิดปฏิกิริยากันดังสมการนี้



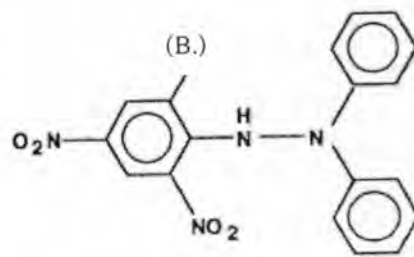
อนุมูลอิสระใหม่ที่เกิดขึ้น (A•) จะทำปฏิกิริยาต่อไป (radical-radical interaction) โดยกระบวนการ radical disproportionation จนกระทั่งได้เป็นโมเลกุลที่มีความคงตัว (A-A) ดังสมการนี้



เมื่ออนุมูลอิสระ DPPH• ได้รับโปรตอนจากสารต้านอนุมูลอิสระที่นำมาทดสอบสารละลาย DPPH ก็เปลี่ยนสีจากสีม่วงเป็นสีเหลืองส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตรลดลง



1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)

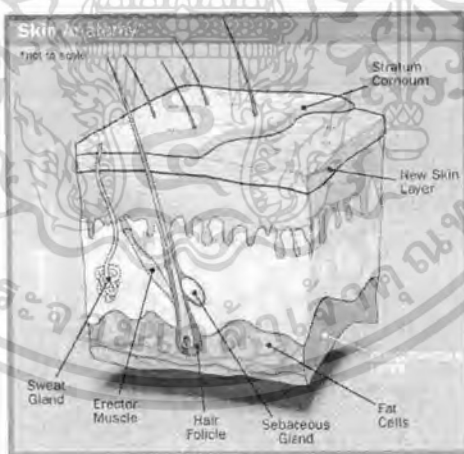


2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

รูปที่ 2.14 สูตรโครงสร้างของ DPPH ที่เป็นอนุมูลอิสระ (A.) และไม่เป็นอนุมูลอิสระ (B.)
ที่มา : Molyneux (2004)

2.7 ความชุ่มชื้นของผิวหนัง

สาเหตุประการหนึ่งที่ทำให้เกิดริ้วรอยบนผิวหนัง คือ การที่ผิวหนังขาดความชุ่มชื้น ซึ่งเกิดจากสภาวะภายในร่างกาย และจากการทำลายจากสิ่งแวดล้อม ผิวหนังชั้น stratum corneum จะต้องมีน้ำมากกว่าร้อยละ 10 ของส่วนประกอบทั้งหมด เพื่อให้ส่วนประกอบทั้งหลายยังคงคุณสมบัติที่ดีเพียงพอที่จะทำให้ผิวหนังชั้น stratum corneum สามารถรักษาหน้าที่และคุณสมบัติต่างๆ เช่น คุณสมบัติในการกักเก็บน้ำ คุณสมบัติของการทำงานของเอนไซม์ รักษาสภาพของผิวหนังให้ดูสวยงามนุ่มเนียนตลอดเวลาสัมผัส และทำให้เกิดการผลิตเปลี่ยนแปลงและหลุดออกของหนังกำพร้าตามปกติ ถ้าคุณสมบัติเหล่านี้เสียไปเพราะขาดน้ำ หรือขาดความชุ่มชื้นจากสาเหตุใดก็ตาม เช่น การอักเสบ การแห้งของอากาศ ผิวจะยิ่งแห้งขึ้นเรื่อยๆ และเกิดเป็นริ้วรอยที่สามารถสังเกตได้



ที่มา: <http://www.tanenvy.com/3/sunless-tanning/how-does-spray-tanning-work>

2.8 ระบบการปรับปริมาณความชื้นของผิวหนัง

ผิวหนังมีข้อจำกัดในการดูดซับน้ำ มีผนังกันสำหรับควบคุมปริมาณของความชื้นที่ระเหยออกไปหรือซึมเข้ามา เมื่อมีการไหลเวียนของกระแสเลือดตามปกติจะทำให้เกิดความชุ่มชื้นภายในเซลล์ ความแห้งของผิวหนังชั้นนอกจะมีความสำคัญทางสรีรวิทยา keratin ของผิวหนังจะมีความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้านทานต่อความชื้นทั้งทางเคมีและฟิสิกส์ ถ้าผิวมีความชื้นต่ำจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ ผิวแห้งจะเปราะง่ายและไม่มีความยืดหยุ่น ตามปกติที่ผิวหนังจะมีสารที่เป็นไขมันและสารที่เป็น hydrophilic ปกคลุมอยู่จึงทำให้ผิวไม่แห้ง ถึงแม้จะอยู่ในที่ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ เช่นเดียวกับเครื่องสำอางหลายชนิด เช่น ครีม โลชั่น ที่ช่วยลดการระเหยของน้ำบนชั้นผิวหนัง ซึ่งมีผลต่อความชื้นในชั้นผิว ความยืดหยุ่นของผิว และความต้านทานต่อสารเคมี

2.9 เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง

เครื่องสำอางซึ่งใช้เสริมความงามหรือเสริมสร้างหน้าที่ของร่างกาย นิยมใช้กับอวัยวะภายนอกของร่างกาย ได้แก่ ผิวหนัง ผม ขน และเล็บ พร้อมทั้งการบำรุงผิวให้เสื่อมช้ากว่าปกติ และช่วยแก้ไขปฏิกิริยาด่างดำหรือข้อตำหนิของผิว เป็นการป้องกัน และระงับกลิ่นกายและลมหายใจ การป้องกันผิวจากภายนอก เช่น ความร้อน แสงแดด เป็นต้น ในทางการแพทย์ใช้รักษาความผิดปกติบางอย่างของผิวหนัง เช่น สิว ฝ้า กระ รังแค เป็นต้น

2.10 ผลกระทบที่ให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง

ผิวหนังชั้น stratum corneum นอกจากจะป้องกันการซึมผ่านของสารสำคัญจากภายนอกแล้ว ยังมีหน้าที่สำคัญในการช่วยลดการสูญเสียน้ำเนื่องจากถูกเคลือบไว้ด้วยน้ำมันหล่อลื่นผิวหนัง ช่วยเก็บความชุ่มชื้นของผิวไว้ แต่ในบางคนผิวหนังชั้น stratum corneum เกิดความผิดปกติ ทำให้มีการระเหยของน้ำออกจากผิวหนังมากกว่าปกติ เช่น โรคผิวหนังจากพันธุกรรม (congenital ichthyosis) หรือ xerosis ซึ่งความผิดปกติของผิวหนังที่เกิดจากผิวหนังชั้น stratum corneum ขาดน้ำ และหลุดออกเป็นขุย หรือการชำระล้างผิวหนังมากเกินไป จนทำให้ไขมันหล่อเลี้ยงผิวถูกชะล้างออกจนหมด นอกจากนี้สารชำระล้างผิวหนังยังอาจก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อเซลล์คอร์นิโอไซต์ ในผิวหนังชั้น stratum corneum ทำให้คุณภาพของผิวหนังเสียไป และในภาวะที่อากาศมีความชื้นต่ำ เช่น ฤดูหนาวน้ำจะระเหยออกจากผิวหนังมากขึ้น ทำให้ผิวหนังแห้ง หรือการทำงานในห้องปรับอากาศ ซึ่งมีความชื้นต่ำ จะเร่งให้ผิวหนังแห้งมากขึ้นดังนั้นเพื่อบรรเทาปัญหาดังกล่าวได้รูปแบบผลิตภัณฑ์อาจอยู่ในรูปของครีม โลชั่น อิมัลชัน โลชั่นใส เจล และสเปรย์ โดยการตั้งชื่อผลิตภัณฑ์และความจำเพาะของผลิตภัณฑ์นั้นจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบที่ผสมในมอยซ์เจอไรเซอร์พื้นฐาน

2.11 กลไกในการทำให้ผิวชุ่มน้ำของมอยซ์เจอไรเซอร์

2.12.1 occlusive คือ การป้องกันน้ำระเหยออกจากผิว โดยเกิดเป็นฟิล์มบางที่ต่อเนื่องปกคลุมผิว จึงทำให้ผิวชั้น horny layer ดึงน้ำจากผิวชั้นล่างขึ้นมาโดยไม่ถูกระเหยออกไป เกิดการชุ่มน้ำและอ่อนนุ่ม มีความยืดหยุ่น

2.12.2 humectancy คือ การดูดน้ำจากอากาศเข้าสู่ผิวหนัง ทำให้ผิวชั้น horny layer ชุ่มน้ำ

2.12.3 restoration of deficient materials คือ การทดแทนผิวหนังด้วยสารที่ขาดหายไป เช่น การทดแทนสารรักษาความชื้นตามธรรมชาติในผิว (natural moisturizing factor : NMFs)

2.12 อิมัลชัน (emulsion)

หมายถึง dispersed system ที่ประกอบด้วยของเหลวอย่างน้อย 2 ชนิด แบ่งเป็นสองวิภาคคือวิภาคภายใน และวิภาคภายนอก จะไม่กระจายตัวเข้าหากันหรือไม่ละลายในกันและกัน เช่น น้ำและน้ำมัน, น้ำและตัวทำละลายอินทรีย์, น้ำมันและตัวทำละลายอินทรีย์หรือตัวทำละลายอนินทรีย์ทั้ง 2 วิภาค โดยการที่เจือของเหลวทั้งสองวิภาคกระจายตัวเข้าหากันจนเป็นเนื้อเดียวกันโดยอาศัยสารตัวที่สามซึ่งก็คือ สารก่ออิมัลชัน (emulsifier or emulsifying agent) โดยทั่วไป ขนาดของหยดของวิภาคภายในจะอยู่ในช่วง 0.1(0.5)–10 ไมโครเมตร ซึ่งบางครั้งอาจพบอิมัลชันขนาดเล็กมากถึง 0.01 ไมโครเมตร หรือใหญ่มากถึง 100 ไมโครเมตร แต่จะทำให้ระบบไม่คงตัวมากยิ่งขึ้น dispersed systems เป็นระบบที่มีสองวิภาคอยู่รวมกัน ดังนี้ (เสาวนีย์กระสานตีสุข และหทัยชนก ณรงค์โค, 2549)

2.13.1 วิภาคภายใน (dispersed phase หรือ internal phase หรือ discontinuous phase) คือวิภาคที่ไปกระจายตัวในอีกวิภาคหนึ่ง กระจายตัวอย่างไม่ต่อเนื่อง

2.13.2 วิภาคภายนอก (dispersed medium หรือ external phase หรือ continuous phase) คือตัวที่เป็นตัวกลางที่ให้อีกวิภาคหนึ่งกระจายตัวอยู่

2.13 Dispersion system

2.14.1 water phase of emulsion โดยทั่วไปใน water phase ไม่ได้มีเพียงน้ำเพียงอย่างเดียวแต่มีสารอื่นกระจายตัวอยู่ด้วย ดังนั้น water phase จะประกอบด้วย

- soluble drugs
- humectants
- สารเพิ่มความหนืด เช่น veegum, acacia, tragacanth, carbopol, methycellulose
- preservative เช่น methylparaben, sodium benzoate
- color เช่น amaranth
- flavor
- distilled water or ionized water

2.14.2 oil phase of emulsion ประกอบด้วย

1. น้ำมันที่เป็นของเหลว (fixed oil, volatile oil, mineral oil) เช่น arachis oil (peanut oil), cottonseed oil, soy bean oil, sunflower oil
2. น้ำมันที่เป็นของแข็ง (fats, waxes) เช่น paraffin, beeswax, carnuba wax, fatty alcohol (cetyl alcohol และ stearyl alcohol)
3. oil-soluble drugs เช่น oil soluble vitamin , antiseptics
4. antioxidant

2.14 ชนิดของอิมัลชันแบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด

2.14.1 conventional emulsions เป็น emulsion ทั่วไป แบ่งเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ

2.14.1.1 oil in water emulsions (O/W) น้ำมันเป็นวัฏภาคใน น้ำเป็นวัฏภาค นอก จึง

มีความเหนียวเหนอะหนะน้อย ทาแล้วกระจายดี ล้างออกได้ง่าย เป็นที่นิยมมากในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีม และโลชั่นทาผิว (body cream and body lotion) ครีมทาหน้า (vanishing cream) ครีมกันแดด (sun screen cream)

2.14.1.2 water in oil emulsion (W/O) น้ำเป็นวัฏภาคใน น้ำมันเป็นวัฏภาคนอก พบอิมัลชันชนิดนี้บ้างในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เช่น ครีมล้างหน้า (cleansing cream) ครีมทา กลางคืน (night cream) ครีมนวดหน้า (massage cream) อิมัลชันชนิดนี้ล้างน้ำออกยากจึงเป็นที่ นิยมใช้น้อย

2.14.2 multiple emulsions เป็น emulsion ที่มีการกระจายตัวของของเหลวทั้ง 2 ชนิดซ้อนกันแบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

2.15.2.1 water in oil in water emulsions (W/O/W) คือระบบที่มีการกระจาย ตัวของ W/O ใน water phase

2.15.2.2 oil in water in oil emulsions (O/W/O) คือระบบที่มีการกระจายตัวของ O/W ใน oil phase เช่น cold cream

2.14.3 microemulsions เป็น emulsion ที่มีขนาดอนุภาคต่ำมากๆ เป็นนาโนเมตรทำให้ มีลักษณะโปร่งแสง มองไม่เห็น droplet ของ internal phase มีลักษณะคล้าย true solution แบ่ง ความหนืดของอิมัลชันได้เป็น 2 ชนิด คือ

2.14.3.1 โลชั่น (lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ เพราะมีวัฏภาคภายนอกใน ปริมาณที่สูง วัฏภาคภายในมักไม่เกินร้อยละ 35 เป็นรูปแบบที่พบมากที่สุด ผลิตภัณฑ์ทาผิว โดยเฉพาะผิวแห้งที่มีบริเวณกว้าง เพราะทาแล้วชุ่มชื้นไม่เหนอะหนะ ดูดซึมดี ให้ความรู้สึกสบายและ ล้างน้ำออกได้ง่าย เช่น โลชั่นทาผิว โลชั่นป้องกันแสงแดด ซึ่งโลชั่นนี้อาจใช้สารเพิ่มความหนืด (thickening agent) ในวัฏภาคน้ำให้หนืดขึ้นได้ แต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลได้

2.14.3.2 ครีม (cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง เพราะมีส่วนประกอบของสาร พวกไขแข็ง (waxes) และไขมัน (fatty acid or fatty alcohol) ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืด และเนื้อครีม ผสมอยู่กับน้ำมันในวัฏภาคน้ำมัน ครีมมักจะมี ความหนืดมากกว่าโลชั่น เพราะมีปริมาณวัฏภาคภายใน สูงกว่า คือประมาณร้อยละ 35-75 โดยมีการใช้สารเพิ่มความหนืด (bodying or stiffening agent) เช่น ไขมัน และไขแข็ง และถ้าเป็น ชนิด o/w emulsion อาจมีการใส่สารเพิ่มความหนืดร่วมด้วยเช่น acacia, veegum

2.14.4 องค์ประกอบพื้นฐานในตำรับตำรับอิมัลชัน

เราสามารถแยกองค์ประกอบ ในตำรับตำรับอิมัลชันที่ซึ่งมักใช้กับผิวหนังเป็นส่วนใหญ่ ตามหน้าที่ของสารในตำรับได้ดังนี้

2.14.4.1 moisturizer หมายถึง

- สารที่ใช้ป้องกันหรือบรรเทาความแห้งของผิวหนัง
- สารที่ทำให้ ผิวเนียน และอ่อนนุ่ม
- สารที่สามารถเพิ่มปริมาณน้ำแก่ผิวหนัง
- สารที่ทำให้ผิวชุ่มชื้น

moisturizer ที่ดีสามารถเพิ่มปริมาณน้ำในชั้น stratum corneum บนผิวหนังและรักษาน้ำที่เพิ่มขึ้นไว้เป็นระยะเวลาพอสมควร จนสามารถเปลี่ยนแปลง stratum corneum ให้มีลักษณะนุ่มเนียนไม่แห้ง

2.14.5 ลักษณะของ ideal moisturizer product

2.14.5.1 สามารถควบคุม และรักษาความชื้นใน stratum corneum ให้อยู่ในปริมาณที่พอเหมาะ คือให้มี water content ประมาณร้อยละ 10-20

2.14.5.2 ไม่ทำให้เกิด superhydration เพราะจะลดความสามารถในการเป็น barrier ทำให้ติดเชื้อง่าย อาจเกิดการแพ้ง่าย

2.14.5.3 ประสิทธิภาพ ไม่ควรขึ้นกับการเปลี่ยนแปลงของสิ่งแวดล้อม

2.14.5.4 ถ้าใช้บ่อยๆ หรือ สม่ำเสมอ ไม่ควรทำให้ชั้น stratum corneum เป็นอันตราย

2.14.5.5 ไม่ทำให้ระคายเคืองหรือเกิดการแพ้

2.14.5.6 มีความคงตัวดี

2.14.6 emollient คือ สารให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง ทำหน้าที่หล่อลื่นผิวให้นุ่มและป้องกันการสัมผัส ช่วยรักษาความชุ่มชื้นและเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับผิว ส่งผลต่อคุณภาพของรูปลักษณ์ในผลิตภัณฑ์ ได้แก่ เป็นตัวพาที่ดีของน้ำหอม สี กลิ่น และการกระจายตัวที่ดี ควบคุมความเหนียว ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความสม่ำเสมอ emollient ชนิดต่างๆ ได้แก่

2.14.6.1 lanolin and derivatives

2.14.6.1.1 lanolin ใช้ในเครื่องสำอางที่ต้องการให้เกิดความชุ่มชื้นมันจะทำให้ epidermis กลับคืนสู่สภาพปกติ ไม่ซึมเข้าผิวหนัง lanolin เป็นซีรั่มธรรมชาติ ประกอบด้วย ester ของ higher fatty acid ซึ่งไม่ละลายน้ำ สามารถอุ้มน้ำไว้ในตัวเอง และให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง ความเข้มข้นที่ใช้ ไม่เกินร้อยละ 5 ถ้าเกินร้อยละ 5 ผิวหนังจะรู้สึกเหนอะหนะ

2.14.6.1.2 derivatives ของ lanolin คือ ส่วนผสมที่ซับซ้อนของ lanolin ester ทำในรูปแบบต่างๆกัน เพื่อให้มีคุณสมบัติดีกว่าธรรมชาติ คือ ชุ่มชื้นมากกว่า เหนียวน้อยกว่า ละลายที่อุณหภูมิต่ำกว่าใน hydrocarbon สามารถใช้ในความเข้มข้นที่สูงกว่า ใช้ได้สะดวกกว่าและเกิดการแพ้ได้น้อย

2.14.6.2 sterols ได้แก่ cholesterol นอกจากจะทำให้ผิวชุ่มชื้น ยังใช้ลดการระคายเคืองผิวหนัง ethoxylated cholesterol มีการละลายน้ำ และ alcohol ดีกว่า cholesterol จึงนิยมใช้มาก

2.14.6.3 phospholipids เป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่ละลายในไขมัน ประกอบด้วย fatty acid , glycerol, nitrogenous base และ phosphoric acid สารนี้พบได้ในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้แก่ lecithin ใช้ในความเข้มข้นไม่เกินร้อยละ 1-2

2.14.6.4 hydrocarbon ได้แก่ petrolatum, mineral oil, paraffin, wax และ ozokerite film ปกคลุมผิวหนังป้องกันสารสูญเสียน้ำ สำหรับ mineral oil ไม่ควรใช้ในความเข้มข้นสูงเพราะพบว่าทำให้ epidermis ของหนูขาวขยายตัวขึ้นแต่ยังไม่พบข้อเสียในคน

2.14.6.5 fatty acids เป็นสาระสำคัญในครีม และโลชั่นทาผิว ที่นิยมมากคือ stearic acid ให้ความชุ่มชื้นโดยเป็นฟิล์มบางๆ ปกคลุมผิวหนังและอุ้มน้ำไว้ในโมเลกุล ให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังต่างจากสารอื่นที่ฟิล์มจะแห้งและไม่เป็นมัน ความเข้มข้นที่ใช้คือร้อยละ 1-20 แล้วแต่ความหนืดที่ต้องการ oleic acid ใช้เมื่อต้องการประกายมุก แต่ไม่นิยมใช้มาก เพราะเหม็นหืนง่ายต่อมาติงผลิต oleic acid ให้มี polysaturated ต่ำ เพื่อลดการเหม็นหืน

2.14.6.6 fatty alcohol เช่น acetyl และ stearyl alcohol ใช้ได้ดีมาก lauryl และ myristyl ใช้บ้าง จะทำให้เกิดฟิล์มคลุมผิวหนังให้ความชุ่มชื้นดี ใช้ acetyl และ stearyl alcohol ร่วมกัน เพื่อให้มีจุดหลอมเหลวสูง มักใช้อย่างละร้อยละ 0.2

2.14.6.7 fatty acid ester ได้แก่ butyl stearate, isopropyl myristate มีความหนืดต่ำ เคลือบผิวหนังเป็นฟิล์มบางๆไม่เป็นมัน ไม่เหนียวเหนอะหนะ ความเข้มข้นที่ใช้คือร้อยละ 2-20

2.14.6.8 barrier agents (protective agents) เป็นสารที่ใช้ป้องกันการแพ้ของผิวหนัง barrier ใน cream หรือ lotion ทาผิวหนังมี 2 ประเภทคือ water repellent และ oil repellent สารที่เป็น barrier agent ได้แก่ petrolatum, ozokerite wax, beeswax, paraffin wax, stearic acid และ silicone

2.14.6.9 humectants เป็นสารที่ควบคุมความชื้นของครีมหรือโลชั่น และความชื้นของผิวหนัง โดยลดการระเหยของน้ำ และจะดูดความชื้นในอากาศเข้ามาไว้ในเนื้อครีม จะทำให้ครีมไม่แห้ง ไม่ควรใช้ humectants ในความเข้มข้นสูงเพราะจะดูดความชื้นจากผิวหนังออกมา ทำให้เกิดผลตรงข้ามกับความประสงค์สารที่นิยมใช้เป็น humectants ได้แก่ glycerol, propylene glycol, sorbitol ทั้งสามชนิดเป็น polyhydric alcohol ต่างกันที่น้ำหนักโมเลกุลและการระเหย โดย propylene glycol มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ การระเหยสูง glycerol อยู่ในระดับปานกลาง และ sorbitol มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ความหนืดสูง และไม่ระเหย humectants อื่นๆ ได้แก่ polyoxyethylene sorbitols, sodium lactate , polyoxyethylene glycols, mannitol และ glucose

2.14.6.10 thickeners and film formers ได้แก่ polymer ที่มีน้ำหนักโมเลกุล มีคุณสมบัติเป็น film ปกคลุมผิวทำให้ชุ่มชื้น และเกิดความเย็น นอกจากนี้ทำให้ครีมมีเนื้อข้น มักเตรียมอยู่ในรูป solution หรือ dispersions ในน้ำก่อนนำไปผสมกับส่วนอื่นๆ แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

2.14.6.10.1 สารที่เกิดจากธรรมชาติ ที่ใช้มากได้แก่ gum, tragacanth, algin, veegum cellulose derivative เป็นต้น

2.14.6.10.2 สารที่ได้จากการสังเคราะห์จะหนืดมากกว่าที่ได้จากธรรมชาติ ได้แก่ carbopol, polyvinyl pyrrolidone (P.V.P)

2.14.6.11 emulsifiers ความสวยงามของครีม และโลชั่นขึ้นกับการเลือกใช้ emulsifier ที่จะให้เข้ากับน้ำมันเข้ากันและคงตัวดี แบ่งเป็น 3 ชนิด คือ

2.14.6.11.1 anionics ได้แก่ sodium, potassium, triethanolamine, stearate

2.14.6.11.2 cationics เหมาะกับ emulsion ที่มีฤทธิ์เป็นกรด ตัวที่ใช้มาก คือ cetylpyridinium chloride

2.14.6.11.3 non-ionics อาจใช้ร่วมกับ anionics และ cationics ตัวอย่างของ non-ionics ได้แก่ sorbitanmonostearate , glycerylmonostearate

2.14.6.12 preservatives อาจใช้ benzoic acid ร้อยละ 0.1 หรือ sodium benzoate ร้อยละ 0.1 combination ของ methyl paraben (ร้อยละ 0.15) และ propyl paraben (ร้อยละ 0.3)

2.14.6.13 antioxidants องค์ประกอบในผลิตภัณฑ์หรือ เครื่องสำอางบางชนิด อาจมีสารซึ่งไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้สลายตัวและ/หรือ ประสิทธิภาพของสารนั้นลดลง เป็นผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีรูปลักษณะเปลี่ยนไป เช่น สีเข้มขึ้น กลิ่นเปลี่ยนไปจากเดิม หรือ เกิดการแยกชั้นได้ ถ้าสารนั้นเป็นสารสำคัญจะทำให้ประสิทธิภาพลดลงด้วย จำเป็นต้องใช้สารต้านออกซิเดชัน เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาซึ่งก่อผลเสียดังกล่าว โดยสารต้านออกซิเดชันแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

2.14.6.13.1 สารต้านออกซิเดชันแท้ (true antioxidant) เป็นสารซึ่งละลายในวัฏภาคน้ำมันใช้เพื่อป้องกันการหืนของไขมันไม่อิ่มตัวต่างๆ ได้แก่ propyl gallate, alpha-tocopherols, nordihydroguaiaretic acid (NDGA), butylatedhydroxytoluene (BHT) เป็นต้น โดยใช้ในความเข้มข้นต่ำๆ และอาจใช้ร่วมกับสารเสริมประสิทธิภาพ (synergists) เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพและลดความเข้มข้นที่ต้องใช้

2.14.6.13.2 สารรีดิวเซอร์ (reducing agents) เป็นสารซึ่งละลายน้ำ ใช้ป้องกันการปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารซึ่งละลายน้ำได้ ได้แก่ sodium sulphite, sodium metabisulfite, ascorbic acid โดยใช้ในความเข้มข้นต่ำๆ เช่นกัน

2.14.6.13.3 สารเสริมประสิทธิภาพการต้านออกซิเดชัน (antioxidation synergists) เป็นสารซึ่งมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันน้อยมาก แต่เมื่อใช้ร่วมกับสารกลุ่มที่ 1 จะเสริมฤทธิ์ได้ดียิ่งขึ้นจึงนิยมใช้สารทั้ง 2 กลุ่มนี้ร่วมกันในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง สารกลุ่มนี้ได้แก่ citric acid, phosphoric acid, disodium EDTA, lecithin ร้อยละ 0.05-0.1 เป็นต้น

2.14.6.14 coloring agent ซึ่งอาจเป็นสีที่ละลายน้ำ หรือสีที่ละลายในน้ำมัน

2.14.6.15 perfume อาจได้จากธรรมชาติ หรือการสังเคราะห์

2.14.6.16 สารอื่นๆ เช่น

2.14.6.16.1 healing agent ช่วยกระตุ้นการเจริญของ granulation tissue ได้แก่ allantoin และ urea

2.14.6.16.2 hormones ช่วยเพิ่มความสามารถในการอุ้มน้ำไว้ในเซลล์ ได้แก่ estrogenic hormone ซึ่งอาจช่วยบรรเทาเหี่ยวย่นรอยดวงตาได้

2.15 สาเหตุและความจำเป็นในการใช้ครีมและโลชั่นสำหรับผิวหน้า

ในการดำรงชีวิตประจำวันกลไกธรรมชาติต่างๆ ไม่เพียงพอที่จะป้องกันผิวจากการแห้งหรือแตกจากอิทธิพลของสภาวะแวดล้อมต่างๆ ได้ ซึ่งสาเหตุที่ทำให้ผิวแห้งเกิดจากสาเหตุต่อไปนี้ (นงเยาว์ชูสุข, 2547)

2.15.1 การสูญเสียน้ำจากผิวหนัง

เป็นสาเหตุที่สำคัญที่สุดที่ทำให้ผิวแห้งเมื่อสภาพอากาศมีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ เช่นฤดูหนาวหรือห้องแอร์ทำให้เกิดความแตกต่างของความดันไอของผิวกับอากาศ ผิวจึงสูญเสียน้ำมากโดยการระเหย และดูดซับสู่อากาศอย่างรวดเร็ว กลไกของร่างกายพยายามป้องกันอย่างเต็มที่แต่อาจแพ้ต่อสภาพอากาศจึงจำ เป็นต้องใช้ครีมและน้ำมัน ช่วยรักษาความชุ่มชื้นของผิวเอาไว้ ซึ่งก็คือทาครีมที่มีมอยซ์เจอร์โรเซอร์

2.15.2 การสูญเสียไขมัน หรือน้ำมันที่หล่อเลี้ยงผิวหนัง

ส่วนใหญ่เกิดจากการชำระล้างบ่อย ๆ ด้วยสบู่ หรือผงซักฟอก ซึ่งมีฤทธิ์เป็นด่างจะเกิดการทำลายไขมันในผิวหนัง เมื่อไขมันถูกทำลายไปผิวหนังจะหยาบกระด้าง และแห้งเหตเหล่านี้การใช้ครีมและโลชั่นทาผิวจะช่วยป้องกันไม่ให้ผิวหนังชั้น horn layer แตกซึ่งเป็นเหตุให้ผิวหนังหยาบ เพราะครีมจะให้ความชุ่มชื้น ยึดหยุ่นดี และทำให้สัมผัสสลิ้นไม่ระคาย และในครีมหรือโลชั่นทาผิวยังมี ส่วนประกอบของน้ำมัน ซึ่งจะทดแทนไขมันในผิวหนังที่ถูกทำลาย ไปได้

2.15.3 ต่อมไขมันใต้ผิวหนังขับน้ำมันน้อยลง

ทำให้ผิวหนังแห้งและเหี่ยวย่นซึ่งอาจเกิดจากการเปลี่ยนแปลงไปตามวัย กรณีนี้ควรใช้ครีมและ โลชั่นที่มีส่วนประกอบของไขมัน และน้ำมันมากขึ้น เพื่อทดแทนแก่ผิวหนังและมีส่วนผสมของวิตามิน ซึ่งช่วยเสริมสร้างหน้าที่และความแข็งแรงแก่เซลล์ผิวหนัง

2.16 การผลิตครีม และโลชั่นบำรุงผิว

ในกระบวนการผลิตครีม และโลชั่นบำรุงผิวมีหลักการง่ายๆ คือจะแยกส่วนผสมต่างๆ ในตำรับการผลิตออกจากกันเป็นสองส่วนคือส่วนของสารที่ละลายน้ำ (water phase) และส่วนที่ละลายได้ในน้ำมัน และสารที่ไม่ละลายในน้ำ (oil phase) ซึ่งต้องผสม 2 ส่วนนี้แยกกันก่อน และจะมีการให้ความร้อนกับส่วนวัฏภาคน้ำมัน จากนั้นนำ 2 ส่วนมาผสมกันโดยใช้เครื่อง homogenizer mixer ในขั้นตอนนี้อัตราการกวน และอุณหภูมิของส่วนผสมจะมีผลต่อขนาดของเม็ดไขมันที่กระจายตัวในอิมัลชัน รวมทั้งความหนืด และความคงตัวของอิมัลชัน หลังจากการเกิดอิมัลชันอัตราการทำให้ส่วนผสมเย็นตัวลงมีความสำคัญมากต่อลักษณะเนื้อสัมผัส และความข้นหนืดของโลชั่น ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะการตกผลึกของสารที่มีมวลโมเลกุลสูงบางตัว เช่น ซี่ผึ้ง, กรดสเตียริก (stearic acid), ซิทิลแอลกอฮอล์ (cetyl alcohol) และกลีเซอริลโมโนสเตียเรต (glycerylmonostearate) จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาอัตราการทำให้เย็น (cooling rate) ที่เหมาะสมสำหรับผลิตภัณฑ์แต่ละตัว เนื่องจากตำรับการผลิตแต่ละตำรับจะมีส่วนผสมที่แตกต่างไป

เครื่องกวนที่ใช้ในการผลิตครีมถนอมผิวขึ้นอยู่กับชนิดของอิมัลชัน สำหรับการเตรียมผลิตภัณฑ์ที่มีความหนืดต่ำ เช่น โลชั่น เครื่อง propeller mixer แบบง่าย ๆ ใช้ควบคู่กับ rheostat หรือ varian เพื่อควบคุมอัตราการผสมก็เพียงพอแล้ว ซึ่งอัตราการผสมของเครื่องผสมชนิดนี้มีผลอย่างมากต่อผลิตภัณฑ์ที่ได้ ถ้าคนเบาหรือช้าเกินไปอิมัลชันจะผสมเข้ากันไม่ดี ถ้าคนด้วยอัตราเร็วและแรงเกินไปจะเกิดฟองอากาศมาก แต่ถ้าต้องการการกวนที่แรงขึ้นหรือใช้กับของเหลวที่มีความหนืดปานกลางอาจใช้ turbine type mixer ถ้าของเหลวที่มีความหนืดสูงอาจใช้ ultrasonic mixer, colloid mills หรือ homogenizes ซึ่งเป็นเครื่องผสมที่มีความเหมาะสมมากสำหรับการเตรียมอิมัลชัน เพราะจะได้อิมัลชันที่มีขนาดอนุภาคเล็กละเอียด และการกระจายขนาดมีความสม่ำเสมอ ทำให้ได้อิมัลชันเนื้อเนียนน่าใช้ และคงตัวดีขึ้น (พิมพ์ร, 2540)

2.16.1 ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อความคงตัวของอิมัลชัน

อิมัลชันที่มีความคงตัว หมายถึง อิมัลชันที่มีลักษณะเป็นเนื้อเดียวกันไม่เกิดการแยกชั้น หรือเปลี่ยนไปจากเดิมแม้ภายหลังการผลิตนานเป็นปี ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชันมี ดังนี้

2.16.1.1 ตัวทำอิมัลชัน

การเลือกใช้สารชนิดใดเพื่อเป็นตัวทำ อิมัลชันต้องคำนึงถึงคุณสมบัติ และปริมาณที่ใช้ เพราะมีผลต่อความแข็งแรงของฟิล์มที่ห่อหุ้มรอบหยดตัวภาควิภาคภายใน ซึ่งทำให้อิมัลชันคงตัวอยู่ได้ ถ้าเลือกอย่างไม่เหมาะสม หรือขาดการศึกษาถึงคุณสมบัติของตัวทำ อิมัลชันที่ใช้ อาจทำให้อิมัลชันไม่คงสภาพได้

2.16.1.1.1 ตัวทำอิมัลชันชนิด O/W (น้ำมันในน้ำ)

อิมัลชันชนิด O/W ฟิล์มที่เกิดรอบหยดน้ำมันจะต้องมีประจุไฟฟ้า และปริมาณโมเลกุลประจุต้องมากพอ เพื่อให้เกิดการผลักกันของหยดน้ำมันที่ถูกหุ้มไว้ ส่วนที่ไม่มีประจุไฟฟ้าของตัวทำ อิมัลชันต้องจับกันด้วยแรงที่มากพอเพื่อให้ฟิล์มเกิดความแข็งแรง แรงที่จับกันนี้จะมากน้อยขึ้นกับโครงสร้างส่วนที่ไม่ชอบน้ำซึ่งเป็นแกนคาร์บอนอะตอมของกรดไขมัน ถ้าเป็นไขมันอิ่มตัวแกนตรง (saturated straight chain) จะเกิดฟิล์มที่แข็งแรงได้อิมัลชันที่มีความหนืดสูง และคงตัวดี ถ้าเป็นไขมันไม่อิ่มตัวแบบทรานส์ (trans-unsaturated chain) จะได้อิมัลชันที่ไม่คงสภาพ เพราะแรงจับกันระหว่างโมเลกุลของไขมันเหล่านี้ไม่แข็งแรงพอ และการเรียงตัวไม่ใกล้ชิดหนาแน่นทำให้อิมัลชันไม่คงสภาพ

การละลายของตัวทำ อิมัลชันก็มีผลต่อความคงตัวของอิมัลชัน ตัวทำอิมัลชันที่ดีควรละลายได้ทั้งในน้ำ และน้ำมันอย่างสมดุลกัน ถ้าละลายในน้ำมากเกินไปจะทำให้เกิดไมเซลล์ (micelle) ในน้ำ ดังนั้นจะไม่มีกั้นชน (protective film) ห่อหุ้มรอบหยดน้ำมัน ซึ่งจะทำให้หยดน้ำมันรวมตัวกัน และอิมัลชันแยกตัวได้ นอกจากนี้ถ้าตัวทำ อิมัลชันละลายในน้ำ และน้ำมันได้เท่ากันก็ทำให้อิมัลชันไม่คงตัว เพราะจะเกิดไมเซลล์ในแต่ละวิภาคจึงไม่มีกั้นชนมาห่อหุ้มรอบหยดตัวภาควิภาคภายใน

2.16.1.1.2 ตัวทำอิมัลชันชนิด W/O (น้ำในน้ำมัน) อิมัลชันชนิด W/O

ฟิล์มที่เกิดรอบหยดน้ำไม่จำเป็นต้องมีประจุไฟฟ้า แต่ตัวทำ อิมัลชันจะต้องมีอำนาจในการลดความตึงผิวระหว่างผิวของน้ำ และน้ำมันได้มาก และละลายได้ดีในน้ำมัน จึงจะได้ อิมัลชันที่คงสภาพนอกจากนี้ปริมาณของตัวทำ อิมัลชันต้องเพียงพอในการทำให้เกิดฟิล์มห่อหุ้มตัวภาควิภาคภายในได้หมด ยิ่งถ้าต้องการให้หยดตัวภาควิภาคภายในมีขนาดเล็ดยิ่งต้องใช้ตัวทำ อิมัลชันที่มีความเข้มข้นสูง โดยทั่วไปถ้าใช้สารลดแรงตึงผิวเป็นตัวทำ อิมัลชัน อาจใช้ปริมาณตั้งแต่ร้อยละ 1-10 (นิยมใช้ ร้อยละ 2 แต่ไม่เกินร้อยละ 5) การเพิ่มความคงตัวของอิมัลชัน พบว่าการใช้ตัวทำ อิมัลชันหลายชนิดร่วมกันจะทำให้ อิมัลชันมีความคงตัวกว่าการใช้ชนิดเดียว เพราะจะสร้างฟิล์มที่หนาแน่นแข็งแรง โดยอาจเกิดจากการเกิดสารเชิงซ้อนหรือการเรียงตัวของโมเลกุลอย่างใกล้ชิดที่ผิวประจันคู่ตัวทำอิมัลชัน อาจเป็นสารลดแรงตึงผิวทั้งคู่ เช่น ทวินส์ (tween) กับ สเปน (spans) หรือโซเดียมสเตียเรต (sodium stearate) กับ โคลเรสเตอรอล (cholesterol) เป็นต้น หรืออาจใช้ตัวช่วยทำ อิมัลชันร่วมกับตัวทำอิมัลชัน เช่น โซเดียมลอริลซัลเฟต (sodium laurylsulfate) กับกลีเซอริลโมโนสเตียเรต (glyceryl monostearate) เป็นต้น

2.16.2 การตั้งตำรับ

ส่วนผสมของสารอื่นในตำรับต้องเหมาะสม และไม่กระทบต่อคุณสมบัติของตัวทำ อิมัลชัน สภาวะความเป็นกรด-ด่าง หรือ electrolyte ในตำรับมีผลกระทบต่อความคงสภาพของตัวทำ

อิมัลชัน นอกจากนี้ตัวทำ อิมัลชันชนิดไม่มีประจุบางชนิดอาจเกิดสารเชิงซ้อนกับสารกันเสียกลุ่มพาราเบน ทำให้อิมัลชันไม่คงตัว และ/หรือทำให้ฤทธิ์ของสารกันเสียลดลง

2.16.3 เทคนิคการผสม

เครื่องมือที่ใช้ผสมมีผลต่อรูปแบบการไหล (flow pattern) ของของเหลว ถ้าเครื่องผสมทำให้เกิดการไหลวน (turbulent flow) จะทำให้การผสมเข้ากันดีที่สุด ส่งผลให้อิมัลชันมีความคงตัว เพราะตัวทำ อิมัลชันมีโอกาสสัมผัสกับผิวประจุของน้ำและน้ำมันมากที่สุด นอกจากนี้ความเร็วในการผสมก็มีความสำคัญ ถ้าใช้อัตราเร็วสูงเท่ากับเป็นการเพิ่มพลังงานมากขึ้น หยดวัฏภาคภายในเกิดการกระจายตัวละเอียดเล็กมากทำให้อิมัลชันคงตัว

2.16.4 อุณหภูมิที่ใช้ผสม

ทั้ง 3 วัฏภาคควรมีอุณหภูมิเท่ากัน หรือใกล้เคียง โดยทั่วไปอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตอิมัลชันอยู่ที่ประมาณ 70-75 องศาเซลเซียส การใช้อุณหภูมิต่ำกว่านี้วัฏภาคน้ำมันอาจจะหลอมเหลวไม่หมด แต่ถ้าสูงเกินไป เช่น สูงกว่า 85 องศาเซลเซียส อาจทำให้ตัวทำ อิมัลชันบางชนิดเกิดไฮโดรไลซิส หรือเปลี่ยนสีได้

2.16.5 เวลาที่ใช้ในการผสม

เวลาที่ใช้ผสมจะต้องมากพอที่จะทำให้สารลดแรงตึงผิวที่อยู่ในทั้งสองวัฏภาคอยู่ในสภาพสมดุล ซึ่งจะทำให้อิมัลชันคงตัวมากขึ้น ถ้าใช้เวลามผสมน้อยไปอาจทำให้สารลดแรงตึงผิวเกิดการเคลื่อนย้ายของวัฏภาคหนึ่งไปอีกวัฏภาคหนึ่ง ทำให้คุณสมบัติทางกายภาพ และความคงตัวของอิมัลชันเปลี่ยนไป

2.16.6 อัตราเร็วในการทำให้เย็นตัว

ถ้าทำให้อิมัลชันเย็นตัวลงเร็วเกินไปจะเกิดการตกผลึกของสารพวกขี้ผึ้ง (waxes) และไขมัน (fats) ทั้งหลาย ทำให้อิมัลชันที่ได้นื้อหยาบ และความหนืดเปลี่ยนไปได้

2.178 การประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ครีม และโลชั่นบำรุงผิว

2.17.1 การทดสอบในห้องปฏิบัติการ (laboratory test)

เป็นการประเมินผลขั้นต้นโดยการตรวจสอบคุณสมบัติต่างๆ ของผลิตภัณฑ์ว่า เข้าเกณฑ์มาตรฐานที่ตั้งไว้หรือไม่ มีการทดสอบดังต่อไปนี้

2.17.1.1 การตรวจวิเคราะห์ทางเคมี เพื่อหาปริมาณตัวยาสสำคัญ สารกันบูดเป็นต้น

2.17.1.2 การทดสอบคุณภาพทางกายภาพเคมี เช่น ความหนืด ความเป็นกรด-ด่าง

คุณสมบัติการไหล เป็นต้น

2.17.1.3 การทดสอบคุณภาพทางกายภาพ เช่น การแยกชั้น หรือตกตะกอนการเสื่อมของภาชนะบรรจุ ขนาดอนุภาคของอิมัลชัน เป็นต้น

2.17.1.4 การตรวจวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา เพื่อดูประสิทธิภาพของสารกันบูด ต่อการยับยั้งความเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

2.17.1.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัส เช่น สี กลิ่นความนุ่มนวล ความเนียนของเนื้อครีมการกระจายตัวและ การซึมซาบสู่ผิว เป็นต้น การประเมินผลมักอาศัยผู้เชี่ยวชาญโดยวัดค่าเป็นคะแนนเพื่อเปรียบเทียบหรือจัดลำดับ

2.17.2 การทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์

ในผลิตภัณฑ์ประเภทครีม และโลชั่นบำรุงผิวเป็นผลิตภัณฑ์ที่จะเกี่ยวข้องกับความงาม ดังนั้นผู้บริโภคจึงไม่พิจารณาคุณภาพทางกายภาพ และเคมีของผลิตภัณฑ์โดยตรง แต่จะดูที่ความรู้สึกในการทาและผลที่ได้หรือสรรพคุณของผลิตภัณฑ์มากกว่า เช่น คุณภาพทางกายภาพโดยเฉพาะความหนืดของผลิตภัณฑ์ประเภทครีมบำรุงผิว และโลชั่นซึ่งมีลักษณะเป็นของไหลกึ่งเหลว นั้น พบว่าเมื่อผู้บริโภคทาครีมลงที่ผิวจะไม่พิจารณาความข้นหนืดของผลิตภัณฑ์โดยตรงแต่จะคำนึงถึงในรูปของความรู้สึก อัตราเร็วในการทา และความเหนอะหนะมากกว่า การศึกษาคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสทำให้เรารู้ว่าลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่ผู้บริโภครู้สึกของเป็นเช่นไร ซึ่งสิ่งนี้เองที่ผู้บริโภคใช้วัดความพึงพอใจที่ได้รับจากผลิตภัณฑ์ และทำให้เกิดการซื้อหรือไม่ซื้อ ดังนั้นในการวัดค่าคุณภาพของครีม และโลชั่นบำรุงผิวส่วนใหญ่จะทำ การวัดค่าจากการทดสอบผู้ทดสอบโดยวิธีทางประสาทสัมผัส (subjective measurement) มากกว่า แต่ก็จำเป็นที่จะต้องทดสอบทางกายภาพ และเคมีในห้องปฏิบัติการควบคู่ไปด้วยเพื่อทราบค่าทางวิทยาศาสตร์ซึ่งเป็นค่าตัวเลขบอกปริมาณที่คงที่ที่แน่นอนของผลิตภัณฑ์ ในการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสลักษณะของครีม และโลชั่นบำรุงผิวกับผู้บริโภคนั้น ควรเริ่มต้นจากการค้นหา และบัญญัติคำ ศัพท์จากความรู้สึกของผู้ทดสอบ (ผู้ใช้) ซึ่งวิธีการหนึ่งที่สามารถทำได้ คือวิธี texture profile analysis ซึ่งเป็นวิธีทดสอบเชิงพรรณนาที่ทำให้เราทราบคำศัพท์ ความหมายของคำศัพท์ และวิธีการทดสอบ ซึ่งเป็นวิธีที่ไม่สามารถบอกค่าออกมาเป็นปริมาณได้ เช่น ในครีม และโลชั่นบำรุงผิวเราอาจจะบอกได้ว่า มีลักษณะมัน (creamy), กระจายตัว (spreadable), เหนียว (sticky), ฝืด (stiff), ลื่นมัน (oily) เป็นต้น

การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธี texture profile analysis ในผลิตภัณฑ์ครีม และโลชั่นบำรุงผิว ซึ่งสามารถแบ่งคุณลักษณะของเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์ออกเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงที่เริ่มเทออกมาที่มือ ช่วงที่เริ่มทาที่ผิว และลักษณะปรากฏ และความรู้สึกหลังการทาเอาไว้ดังนี้

2.17.2.1 ช่วงเริ่มเทออกมา หมายถึงช่วงที่ผลิตภัณฑ์เคลื่อนที่ออกมาจากภาชนะบรรจุ โดยอาจบีบจากหลอด หรือกระแทกออกมาจากขวดลงบนมือ หรือเกิดจากการใช้นิ้วป้ายขึ้นมาจากภาชนะ ลักษณะที่พบคือ

2.17.2.1.1 thickness หรือการที่ผลิตภัณฑ์มีความหนาแน่นอย่างเห็นได้ชัดสามารถหาค่าได้จากแรงที่ใช้ในการบีบให้ครีมไหลออกมาระหว่างนิ้วหัวแม่มือ และนิ้วชี้ ซึ่งจะสามารถบอกลักษณะออกได้เป็นช่วงคือ เหนียว (thin) ปานกลาง (medium) ข้นหนืด (thick)

2.17.2.1.2 consistency หรือการที่ผลิตภัณฑ์มีโครงสร้างอย่างเห็นได้ชัด หาค่าจากความต้านทานการเสียรูป และความยากในการป้ายครีมขึ้นมาจากภาชนะ ซึ่งสามารถบอกลักษณะออกได้เป็นช่วงคือ บางเบา (light) ปานกลาง (medium) หนัก (heavy)

2.17.2.2 ช่วงที่ทาที่ผิว หมายถึง ช่วงที่ทากระจายผลิตภัณฑ์ให้ทั่วผิวโดยใช้นิ้วมือถูบไล่วิวหน้าอย่างนุ่มนวลเป็นวงกลม โดยใช้อัตราเร็วในการกระจายครีม 2 ครั้งต่อวินาที เพื่อการจำกัดช่วงของเวลาซึ่งจะขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ ลักษณะที่พบคือ

2.17.2.2.1 spreadability หรือความง่ายในการเคลื่อนที่ของผลิตภัณฑ์ จากจุดที่เริ่มทาจนทั่วบริเวณสามารถหาค่าได้จากความต้านทานแรงดัน ซึ่งสามารถบอกลักษณะออกมาเป็น

- slips คือ สามารถกระจายได้ง่ายมาก
- glides คือ สามารถกระจายได้ง่ายพอสมควร

- drags คือ สามารถกระจายได้ยาก

2.17.2.2.2 absorbency หรืออัตราซึ่งผลิตภัณฑ์สามารถซึมซาบเข้าสู่ผิวหนังได้อย่างเห็นได้ชัด ซึ่งสามารถหาค่าได้โดยดูจากการที่ไม่เปลี่ยนแปลงลักษณะของผลิตภัณฑ์หลังจากทาหรือจากปริมาณผลิตภัณฑ์ที่เหลือค้างอยู่บนผิว ซึ่งทราบได้จากการสัมผัส หรือการสังเกต หรือยังสามารถทราบได้จากการเปลี่ยนแปลงที่ผิว ซึ่งจะสามารถบอกลักษณะออกเป็น ช้า (slow) – ปานกลาง (medium) – เร็ว (fast)

2.17.2.3 ช่วงความรู้สึกหลังการทา และลักษณะที่ปรากฏหลังการทา หมายถึงช่วงที่ทำการประเมินค่าจากผิวหนังภายนอกโดยใช้นิ้วมือ, สายตา และการสัมผัสทันทีหลังจากผลิตภัณฑ์ออกฤทธิ์ หรือมีความรู้สึกว่ามีสารซึมเข้าสู่ผิวแล้ว ลักษณะที่พบคือ

after feel หรือชนิด และความรู้สึกของผลิตภัณฑ์ที่เหลือค้างอยู่บนผิวหรือความรู้สึกที่เปลี่ยนแปลงไปของผิว ส่วนที่เหลือค้างอยู่บนผิวจะแตกต่างกันไปตามชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ค้างอยู่บนผิว เช่น เกิดฟิล์ม (เป็นมัน oily หรือ สลื่น greasy) เคลือบ หรือ coating (คล้ายขี้ผึ้ง wax หรือแห้ง dry) ซึ่งจะสามารถบอกปริมาณเป็นเล็กน้อย (slight)-ปานกลาง (moderate)-มาก (large) ความรู้สึกที่ผิวสามารถบอกได้เป็น แห้ง (dry) หรือตึง (taut), ดึงดูด (pulled), รัดแน่น (tight), เปียก (moist) หรือ (นุ่ม supple, ยืดหยุ่น pliant) เป็นมัน หรือ oily (เหนอะหนะ dirty, เหนียวติด clogged)

2.17.2.3.1 การทดสอบผลต่อร่างกาย (physiological test) เป็นการทดสอบว่าผลิตภัณฑ์มีผลเสีย หรือเป็นอันตรายต่อร่างกายหรือไม่ เช่น ทดสอบการแพ้ หรือการระคายเคืองโดยการทำ patch test และ sensitization test และการทดสอบความเป็นพิษ (toxicity test) เป็นต้นการทดสอบในข้อนี้เป็นสิ่งสำคัญที่ควรคำนึงถึง เพราะสารที่ใช้ผลิตโดยเฉพาะสารลดแรงตึงผิว น้ำหอมบางชนิดอาจทำให้เกิดอันตรายกับร่างกายได้

2.17.3 การทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์ (stability test)

ผลิตภัณฑ์หลังการผลิตก่อนจะถึงมือผู้บริโภค อาจเสื่อมเสียคุณภาพไปจากเดิมเนื่องจากสภาพแวดล้อมในการขนส่ง และรอการจำหน่าย ซึ่งจะทำให้ผลิตภัณฑ์แยกชั้น ตกตะกอนเปลี่ยนสี และกลิ่นได้ จึงต้องมีการศึกษาความคงสภาพในด้านต่างๆ เช่น ความคงสภาพทางเคมีของตัวยาสสำคัญ และสารประกอบในครีม การสูญเสียจากน้ำจากรัง การเปลี่ยนแปลงความหนืดและความคงตัวของอิมัลชัน การเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด-ด่าง การเปลี่ยนแปลงขนาดอนุภาค น้ำ หรือน้ำมันและการตรวจสอบการของสารอื่น

2.17.3.1 ประเมินความคงตัวทางกายภาพ โดยสังเกตลักษณะเนื้อครีม การแยกชั้น การตกตะกอนและกลิ่น ทดสอบความเป็นกรด-ด่าง โดยใช้ pH meter และทดสอบความหนืด ของผลิตภัณฑ์เมื่อเตรียมเสร็จใหม่ๆ และเมื่อเวลาผ่านไป 1 เดือน, โดยเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง

2.17.3.2 ประเมินความคงตัวของผลิตภัณฑ์ที่สภาวะเร่ง โดยทำ heating and cooling cycle จำนวน 5 รอบ โดยนำผลิตภัณฑ์เก็บในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น ซึ่งตั้งรอบที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสนาน 48 ชั่วโมง เมื่อครบ 48 ชั่วโมง ให้ตั้งอุณหภูมิเป็น 45 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง นับเป็น 1 รอบ โดยกำหนด 5 รอบ

2.17.3.3 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ หลังเก็บไว้ในตู้อบ ที่ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 เดือน (โดยสังเกต ลักษณะเนื้อครีม pH ความหนืด การแยกชั้น การตกตะกอน และกลิ่น)

2.18 การเลือกตัวทำละลายในสารสกัด (ชัยวัฒน์, 2540)

ในการสกัดสารจากพืชสมุนไพรจะได้ผลดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับวิธีการคัดเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม โดยสารที่ต้องการสกัดแล้วตัวทำละลายควรมีคุณสมบัติความมีขั้วคล้ายคลึงกัน ตัวทำละลายที่ดีควรมีคุณสมบัติดังนี้ คือ สามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้ ไม่ระเหยง่าย หรือยากเกินไป ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด ไม่เป็นพิษ และมีราคาถูก ตัวทำละลายที่นิยมใช้กันมากได้แก่ คลอโรฟอร์ม (chloroform) ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ดี แต่มีคุณสมบัติเป็นตัวทำละลายที่กว้างหรือเลือกในการละลายได้น้อย (selectivity) และมักเกิดลักษณะที่ไม่เข้ากัน คือในลักษณะของน้ำผสมกับน้ำมัน (emulsion) และถ้าใช้ตัวทำละลายซึ่งเป็นต่างแก่ อาจจะทำให้ปฏิกิริยาได้กรดเกลือ สารทำละลายอีกชนิดหนึ่งคือ อีเธอร์ (ether) สารชนิดนี้มีความสามารถในการละลายน้อยกว่าคลอโรฟอร์ม แต่จะมีความจำเพาะเจาะจง ในการทำละลายสารมากกว่า แต่มีข้อเสีย คือระเหยง่ายระเบิดง่าย เกิดออกไซด์ (oxide) ได้ง่าย และดูดน้ำได้มาก ส่วนแอลกอฮอล์ (alcohol) ที่นิยมใช้กันมากได้แก่ เมทานอล (methanol) และ เอทานอล (ethanol) เนื่องจากมีความสามารถในการละลายกว้างมาก และยังใช้ทำลายเอนไซม์ในพืชด้วย

2.19 การใช้สถิติเพื่อการวิเคราะห์ข้อมูล

สถิติ (statistics) มาจากภาษาเยอรมันว่า statistics มีรากศัพท์มาจาก stat หมายถึง ข้อมูลหรือสารสนเทศ ซึ่งจะอำนวยความสะดวกต่อการบริหารประเทศในด้านต่างๆ เช่น การทำสำมะโนครัว เพื่อจะทราบจำนวนพลเมืองในประเทศทั้งหมด ในสมัยต่อมา คำว่า สถิติ ได้หมายถึง ตัวเลขหรือข้อมูลที่ได้จากการเก็บรวบรวม เช่น จำนวนผู้ประสบอุบัติเหตุบนท้องถนน อัตราการเกิดของเด็กทารก ปริมาณน้ำฝนในแต่ละปี เป็นต้น สถิติในความหมายที่กล่าวมานี้เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า ข้อมูลทางสถิติ (statistical data)

อีกความหมายหนึ่ง สถิติ หมายถึง วิธีการที่นำด้วยการเก็บรวบรวมข้อมูล การนำเสนอข้อมูล การวิเคราะห์ข้อมูล และการตีความหมายข้อมูล สถิติในความหมายนี้เป็นทั้งวิทยาศาสตร์และศิลปศาสตร์ เรียกว่า สถิติศาสตร์

2.19.1 ประเภทของสถิติ แบ่งเป็น 2 ประเภท คือ

2.19.1.1 สถิติพรรณนา (descriptive Statistics)

เป็นสถิติที่ใช้อธิบายคุณลักษณะของสิ่งที่ต้องการศึกษากลุ่มใดกลุ่มหนึ่ง ไม่สามารถอ้างอิงไปยังกลุ่มอื่นๆ ได้ สถิติที่อยู่ในประเภทนี้ เช่น ค่าเฉลี่ย ค่ามัธยฐาน ค่าฐานนิยม ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ค่าพิสัย ฯลฯ

2.19.1.2 สถิติอ้างอิง (inferential statistics)

เป็นสถิติที่ใช้อธิบายคุณลักษณะของสิ่งที่ต้องการศึกษากลุ่มใดกลุ่มหนึ่งหรือหลายกลุ่ม แล้วสามารถอ้างอิงไปยังกลุ่มประชากรได้ โดยกลุ่มที่นำมาศึกษาจะต้องเป็นตัวแทนที่ดีของประชากร ตัวแทนที่ดีของประชากรได้มาโดยวิธีการสุ่มตัวอย่าง และตัวแทนที่ดีของประชากรเรียกว่า กลุ่มตัวอย่าง สถิติอ้างอิงแบ่งได้เป็น 2 ประเภท คือ

2.19.1.2.1 สถิติพารามิเตอร์ (parametric Statistics) เป็นวิธีการทาง

สถิติ

ที่จะต้องเป็นไปตามข้อตกลงเบื้องต้น 3 ประการ ดังนี้

- ข้อมูลที่เก็บรวบรวมได้จะต้องอยู่ในระดับช่วงขึ้นไป (interval Scale)
- ข้อมูลที่เก็บรวบรวมได้จากกลุ่มตัวอย่างจะต้องมีการแจกแจงเป็นโค้งปกติ
- กลุ่มประชากรแต่ละกลุ่มที่นำมาศึกษาจะต้องมีความแปรปรวนเท่ากันสถิติที่อยู่ใน

ประเภทนี้ เช่น t-test, Z-test, ANOVA, Regression ฯลฯ

2.19.1.2.2 สถิติไร้พารามิเตอร์ (nonparametric statistics) เป็นวิธีการ

ทางสถิติที่สามารถนำมาใช้ได้โดยปราศจากข้อตกลงเบื้องต้นทั้ง 3 ประการข้างต้น สถิติที่อยู่ในประเภทนี้ เช่น ไคสแควร์, Median Test, Sign test ฯลฯ

2.19.2 การประมวลผลข้อมูลด้วยคอมพิวเตอร์ : โปรแกรม SPSS for Windows

การประมวลผลข้อมูลเป็นการจัดการกับข้อมูลอย่างมีระบบ เพื่อให้ข้อมูลที่ได้รับการประมวลผลแล้วอยู่ในสภาพที่สามารถนำไปใช้งานได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งมีขั้นตอน ดังนี้

2.19.2.1 การเก็บรวบรวมข้อมูล เป็นการเก็บรวบรวมข้อมูลที่ได้จากรูปแบบต่างๆ เช่น แบบสอบถาม แบบทดสอบ แบบสัมภาษณ์ ทั้งที่เป็นข้อมูลปฐมภูมิและทุติยภูมิ

2.19.2.2. การเปลี่ยนสภาพข้อมูล เป็นการเปลี่ยนสภาพของข้อมูลที่เกิดขึ้นมาเพื่อให้อยู่ในรูปแบบที่สะดวกหรือเหมาะสมต่อการนำไปประมวลผล ซึ่งประกอบด้วย

2.19.2.2.1 การลงรหัส (coding) เป็นการเปลี่ยนรูปแบบข้อมูลโดยให้รหัสแทนข้อมูลเพื่อให้สามารถจำแนกลักษณะข้อมูล รหัสที่ใช้แทนข้อมูลอาจจะอยู่ในรูปตัวเลข ตัวอักษร หรือข้อความ ซึ่งโดยปกตินิยมกำหนดรหัสข้อมูลให้เป็นตัวเลข (ยกเว้นโปรแกรมที่ใช้ประมวลผลข้อมูลในการวิจัยเชิงคุณภาพโดยเฉพาะ) ไม่ว่าจะเป็นข้อมูลเชิงคุณภาพหรือเชิงปริมาณ แต่การนำไปวิเคราะห์หรือประมวลผล และการตีความจะแตกต่างกันไป

2.19.2.2.2 การแก้ไข (editing) เป็นการตรวจสอบความถูกต้องของข้อมูล รวมทั้งข้อมูลที่ได้แปลงให้อยู่ในรูปรหัสแล้ว รวมทั้งการตรวจสอบความสมบูรณ์ของข้อมูล และแก้ไขปรับปรุงให้ถูกต้อง

2.19.3 การประมวลผล (data processing) เป็นการนำข้อมูลที่ได้จากการเปลี่ยนสภาพแล้วมาทำการวิเคราะห์ข้อมูล ซึ่งในปัจจุบันจะใช้โปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติช่วยในการวิเคราะห์ ซึ่งการวิเคราะห์ อาจจะเป็นการวิเคราะห์ขั้นต้น เช่น การเรียงลำดับ (sorting) การรวบรวมข้อมูล (merging) หรือการวิเคราะห์ในระดับที่สูงขึ้นมาอีก เช่น การประมาณค่า (estimate) การทดสอบสมมติฐาน (hypothesis testing) หรือการวิเคราะห์โดยใช้สถิติขั้นสูงอื่นๆ

2.19.4 การแสดงผลลัพธ์ (output) เป็นการนำเสนอผลลัพธ์จากการวิเคราะห์ข้อมูลให้อยู่ในรูปแบบที่เข้าใจง่าย ซึ่งอาจเป็นรายงาน ตาราง กราฟ หรือแผนภูมิอื่นๆ

บทที่ 3

วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมีและอุปกรณ์

รำข้าวที่ใช้ในการศึกษาเป็นรำข้าวที่สกัดได้จากข้าวไร้พันธุ์หอมสุพรรณ สารเคมีที่ใช้ คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล(AR grade) เอทิลอะซิเตต ไอโซโพรพานอล และเมทานอล(HPLC grade) สารมาตรฐานแกมมาโอโรซานอล(Santa cruz biotechnology) DPPH(2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) BHT(butylated hydroxytoluene) สารเคมีที่ใช้ในการทำเครื่องสำอาง Cetostearyl Alcohol (50 : 50), Hydrogenated Polydecene, Caprylic/Capric Triglyceride, Dimethicone (TSF 451-100), Butylated Hydroxytoluene, Isononyl Isonononate, DL-Alpha Tocopherol, Shea Butter, D.I. Water, Na₂EDTA, Glycerin, 1,3-Butylene Glycol, Novemer EC-2, DIDW 50 SF, Phenostat, Microcare PM5, Xanthan Gum, Methyl Glucose Sesquistearate, PEG – 20 Methyl Glucose Sesquistearate, C12-15 Alkyl Benzoate, Aquagel 45, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl อุปกรณ์ที่ใช้คือ กระจกชากรองวอทแมนเบอร์ 1 แผ่นกรองตัวทำละลายชนิดพีทีเอฟอี (PTFE) ที่มีขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร หัวกรองตัวอย่างชนิดพีทีเอฟอี (PTFE) ที่มีขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร แผ่นทดสอบความเป็นกรด-ด่าง เครื่องกรองสุญญากาศ เครื่องชั่งสาร เครื่องเขย่า เตาให้ความร้อน เครื่องผสมไฮโมจิโนเซอร์ เครื่องกลั่นระเหย(heidolph)เครื่องไมโครเพลทริคเตอร์ (iEMS, Labsystems) ไมโครเวลล์เพลทชนิด 96 หลุม เครื่องปั่นเหวี่ยง เครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (isocratic pump system, Shimadzu) คอลัมน์ACE 5 C18 ขนาด 250x4.6 มิลลิเมตร ตู้แช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ตู้อบอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส

3.2 การเตรียมรำข้าว

ทำการแยกขนาดรำข้าวโดยใช้ตะแกรงร่อน โดยจะเลือกใช้รำข้าวที่มีขนาดไม่เกิน 850 ไมครอน เพื่อนำมาใช้ในงานวิจัยนี้ และเมื่อทำการแยกขนาดเรียบร้อยแล้ว จะนำไปเก็บในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า -20 องศาเซลเซียส

3.3 การวัดความชื้นในรำข้าว

นำถั่วยอบตัวอย่างมาล้างให้สะอาดแล้วนำไปอบแห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงจากนั้นนำไปวางในโถดูดความชื้นและทิ้งให้เย็น นาน 30 นาที แล้วนำมาชั่งพร้อมบันทึกน้ำหนักของถั่วยอบตัวอย่าง หลังจากนั้นทำการชั่งตัวอย่างรำข้าว 5 กรัมใส่ลงในถั่วยอบ บันทึกน้ำหนัก แล้วเขย่าเล็กน้อยให้ตัวอย่างกระจายเต็มพื้นที่และสม่ำเสมอ นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงเมื่อครบกำหนดเวลา นำถั่วยอบไปวางในโถดูดความชื้นและทิ้งให้เย็น นาน 30 นาที แล้วนำมาชั่งพร้อมบันทึกน้ำหนักน้รวมของถั่วยอบกับตัวอย่างรำข้าว ร้อยละของความชื้นสามารถหาได้จากสมการต่อไปนี้

$$\text{ร้อยละของความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

3.4 การสกัดแบบหมักตัวทำละลาย (Macerate extraction) และการใช้คลื่นเสียง

ในการสกัดแบบหมักตัวทำละลายนี้ จะใช้ตัวทำละลายทั้งหมด 5 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล โดยจะชั่งรำข้าว 5 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่(พลาสติก) และเติมแต่ละตัวทำละลายลงในแต่ละพลาสติกในอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:2 1:4 และ 1:6 โดยน้ำหนักแต่ละพลาสติกจะถูกปิดด้วยฟอยล์ แล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่า(Shaker) ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีและควบคุมอุณหภูมิเป็น 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 และ 60 นาทีเมื่อครบเวลาจะทิ้งตัวอย่างไว้ให้เย็นและทำการกรองผ่านกระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 ในระบบสุญญากาศ จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหย(Evaporator) แล้วแทนที่อากาศด้วยแก๊สไนโตรเจนก่อนนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า -20 องศาเซลเซียสและมีดีเพื่อนำไปวิเคราะห์ห้องประกอบต่อไปโดยจะทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

ในปัจจุบันมีวิธีการสกัดหลายวิธีที่สามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สาร **gamma-oryzanol** จากข้าวได้ ได้แก่ การใช้คลื่นเสียง การใช้คลื่นไมโครเวฟ การใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤติ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีการประยุกต์ใช้ตัวทำละลายร่วมกับการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤติอาจจะทำให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้มีปริมาณมากและคุณภาพดียิ่งขึ้นได้ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมุ่งที่จะแสดงความชัดเจนในกระบวนการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมกับตัวทำละลายในสภาวะต่าง ๆ และเปรียบเทียบกับวิธีดั้งเดิม (classical method) ว่าวิธีการใดให้ปริมาณสาร **gamma-oryzanol** ได้ดีกว่ากัน

3.5 การวัดปริมาณสารด้วยวิธี Reverse Phase High Performance Liquid Chromatography (RP-HPLC)

เตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายตัวอย่างในเฟสเคลื่อนที่ แล้วกรองผ่านหัวกรองตัวอย่างชนิดพีทีเอฟอี(PTFE)ที่มีขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร จากนั้นให้ทำการฉีดตัวอย่าง 20 ไมโครลิตรเข้าไปในเครื่องเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (isocratic pump system, Shimadzu) ที่มีตัวตรวจจับชนิดฟลูออเรสเซนซ์ (fluorescence detector) คอลัมน์ที่ใช้วิเคราะห์เป็น ACE 5 C18 ขนาด 250 x 4.6 มิลลิเมตร (ACE HPLC) เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้ประกอบด้วย เมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทิลอะซิเตต (HPLC grade) ในอัตราส่วน 47.5 : 40 : 12.5 ตามลำดับ ที่มีอัตราการไหลเป็น 1 มิลลิลิตรต่อนาที ตัวตรวจจับถูกตั้งความยาวคลื่นไว้ที่ 330 นาโนเมตร ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน 15 นาทีต่อตัวอย่างทำการบันทึกโครมาโตแกรม (chromatogram) โดยใช้ซอฟต์แวร์ LC Solution แล้วรายงานค่าเป็น มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของน้ำมันรำข้าว แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแกมมาโอโรซานอลภายใต้สภาวะเดียวกัน เพื่อหาปริมาณแกมมาโอโรซานอลในตัวอย่าง

ใช้กราฟมาตรฐานแกมมาโอโรซานอลเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณของแกมมาโอโรซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยช่วงความเข้มข้นของสารมาตรฐานที่ใช้จะต้องให้พื้นที่ใต้พีคที่ครอบคลุมพื้นที่ใต้พีคของสารตัวอย่างซึ่งความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแกมมาโอโรซานอลที่ใช้ คือ 50

30 20 10 5 1 0.5 0.1 และ 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของแกมมาโอโรซานอลกับพื้นที่ใต้พีค ซึ่งปริมาณของแกมมาโอโรซานอลในตัวอย่งน้ำมันรำข้าวจะหาได้จากกราฟมาตรฐานนี้

3.6 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (DPPH radical scavenging capacity assay)

เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.35 มิลลิโมลาร์ และจะต้องหลีกเลี่ยงการถูกแสง เตรียมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1.0 2.5 5.0 10.0 15.0 20.0 25.0 และ 30.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตูตตัวอย่างสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆมา 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุม แล้วเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม ผสมให้เข้ากัน นำไปตั้งในที่มืดนาน 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader โดยใช้ BHT เป็นสารมาตรฐาน เพื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระกับสารสกัด ความเข้มข้นที่ใช้จะอยู่ในช่วง 0.015-2.00 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูล DPPH ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC₅₀) โดยใช้โปรแกรม Graphpad prism 5.0 คำนวณดังสมการ

$$\text{การต้านอนุมูลอิสระ(\%)} = \frac{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}}) - (A_{\text{Sample}} - A_{\text{Blank Sample}})}{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}})} \times 100$$

โดย A_{Sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัดที่เติมสารละลาย DPPH
 $A_{\text{Blank Sample}}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง
 A_{DPPH} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH
 $A_{\text{Blank DPPH}}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลาย

3.7 การเตรียมและพัฒนาตำรับโลชั่น

ทำการกำหนดตำรับพื้นฐานของผลิตภัณฑ์และตำรับพื้นฐานที่มีแกมมาโอโรซานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 0.7 และ 1.0 ในรูปแบบ oil in water emulsion และทำการประเมินตำรับจากลักษณะทางกายภาพ ลักษณะเนื้อสัมผัส ความหนืด ความคงตัวเบื้องต้นด้วยการหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที

การเตรียมโลชั่น

1. แยกบีกเกอร์ระหว่าง water phase และ oil phase
2. นำส่วน oil phase ไปหลอมด้วย hot plate โดยให้อุณหภูมิประมาณ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที
3. นำสารทั้งสองบีกเกอร์มาผสมกันซึ่งมี 2 วิธีคือเทวัญภาคน้ำลงในวัญภาคน้ำมันหรือการ

เทวีภูภาคน้ำมันลงในวิภูภาคน้ำในการทดลองนี้เทวีภูภาคน้ำมันลงในวิภูภาคน้ำ

4. ผสมให้เข้ากันเป็นเนื้อเดียว ด้วยเครื่องกวนผสม และเครื่อง homogenizer แล้วจึงเติมสารอื่นเช่น heat sensitive substances, preservative และน้ำหอม



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบในตำรับโลชั่นที่ 1-3

INCI Name	Trade name	หน้าที่	ปริมาณ 100% w/w		
			ตำรับ1	ตำรับ2	ตำรับ3
Part A (Oil)					
Hydrogenated Polydecene	HP-30	Emollient	1.1	1.0	1.1
Butylatedhydroxytoluene	BHT	Antioxidant	0.1	0.1	0.1
Dimethicone	TSF451 – 100	Emulsifier	3	2.5	2.5
Cetearyl Alcohol	Cetostearyl Alcohol (50:50)	Bodying Agent	1.0	1.0	1.0
Isononylisononanoate	DUB ININ	Emollient	1.2	1.2	1.2
Caprylic/Capric Triglyceride	DUB MCT 5545	Emollient	0.8	0.8	2.5
Shea butter	Karite CN	Emulsifier	0.4	0.4	0.4
DL-alpha tocopheryl acetate	Vitamin E	Antioxidant	0.1	0.1	0.1
Part B (Water)					
DI water	DI water	Diluents/Solvent	84.1	85.2	84.8
Disodium dihydrogenethylenediaminetetraacetate	Na ₂ EDTA	Chelating agent	0.1	0.1	0.1
Glycerin	Glycerin	Humectants	1.2	0.6	0.6
1,3-butylene glycol	butylene glycol	Humectants	0.8	0.9	0.9
Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside	Novemer EC-2	Thickener	3	4.0	4.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

INCI Name	Trade name	หน้าที่	ปริมาณ 100% w/w		
			ตำรับ1	ตำรับ2	ตำรับ3
Part C					
Titanium Dioxide (And) Diisopropyl Dimer Dilinoleate (And) Polyglyceryl-4 Isostearate (And) CetylDimethiconeCopoly ol (And) Hexyl Laurate (And) C9-15 Fluoroalcohol Phosphates (And) Alumina	DIDW 50 DF	colorant	0.3	0.3	0.3
Part D					
Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2- phenoxyethanol	Microcare PM5	Preservativ e	1.0	1.0	1.0
Part E					
Gamma Oryzanol	Gamma Oryzanol	Antioxidan t	0.3	0.2	0.2
Rice bran oil	Rice bran oil	Antioxidan t	1.5	1.0	1.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบในตำรับโลชั่นที่ 4

INCI Name	Trade Name	Function	ปริมาณ 100% w/w
Part A (Oil)			
Cetearyl Alcohol	Cetostearyl Alcohol	Bodying Agent	1.0
Hydrogenated Polydecene	HP-30	Emollient	1.0
Dimethicone TSF 451-100	TSF 451-100	Emollient	2.5
ButylatedHydroxytoluene	BHT	Antioxidant	0.1
Isononylisonononate	DUB ININ	Emollient	1.2
DL-Alpha Tocopherol	Vitamin E	Antioxidant	0.1
Shea Butter	Karite CN	Emulsifier	0.4
Part B (Water)			
D.I. Water	D.I. Water	Diluents/Solvent	84.7
Disodium dihydrogenethylenediaminetetraacetate	Na ₂ EDTA	Chelating Agent	0.1
Glycerine	Glycerine	Humectant	0.6
1,3-Butylene Glycol	Butylene Glycol	Humectants	0.9
Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside	Novemer EC-2	Thickener	3.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.2 ส่วนประกอบในตำรับโลชั่นที่ 4 (ต่อ)

INCI Name	Trade Name	Function	Formula 100% w/w
Part C			
Titanium Dioxide (And) Diisopropyl Dimer Dilinoleate (And) Polyglyceryl-4 Isostearate (And) CetylDimethiconeCopolyol (And) Hexyl Laurate (And) C9-15 Fluoroalcohol Phosphates (And) Alumina	DIDW 50 SF	Colorant	0.3
Part D			
Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2-phenoxyethanol	Microcare PM5	Preservative	1.0
Part E			
Gamma Oryzanol	Gamma Oryzanol	Antioxidant	0.2
Rice Bran Oil	Rice Bran Oil	Antioxidant	1.0
Part F			
Xanthan Gum	Xanthan Gum	Co-Emulsifier	0.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 ส่วนประกอบในตำรับโลชั่นตำรับที่ 5-7

INCI Name	Trade name	หน้าที่	ปริมาณ 100% w/w		
			ตำรับ5	ตำรับ6	ตำรับ7
Part A (Oil)					
Methyl Glucose Sesquistearate	Glucate™ SS	Emulsifier	1.3	1.3	1.3
PEG – 20 Methyl Glucose Sesquistearate	Glucamate™ SSE-20	Emulsifier	1.0	1.0	1.0
C12-15 Allelyl Benzoate	DUB B1215	Emollient	0.8	0.8	0.8
Isononylisononanoate	DUB ININ	Emollient	0.9	0.9	0.9
Dimethicone	TSF 451-100	Emulsifier	2.8	2.8	3.1
Caprylic/Capric Triglyceride		Emulsifier	1.0	1.0	1.0
DL-Alpha Tocopherol	Vitamin E	Antioxidant	0.5	0.5	0.5
Part B(Water)					
DI water	DI water	Diluents/Solvent	82.7	83.5	82.7
Disodium dihydrogenethylenediaminetetraacetate	Na ₂ EDTA	Chelating agent	0.1	0.1	0.1
1-3,butylene glycol	1-3,butylene glycol	Humectants	2.6	2.6	2.6
Sodium Polyacrylate (and) C13-14 Isoparaffin (and) Laureth-7	Aquagel 45	Thickener	3.0	3.0	3.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.3 ส่วนประกอบในตำรับโลชั่นตำรับที่ 5-7 (ต่อ)

INCI Name	Trade name	หน้าที่	ปริมาณ 100% w/w		
			ตำรับ5	ตำรับ6	ตำรับ7
Part C					
Titanium Dioxide (And) Diisopropyl Dimer Dilinoleate (And) Polyglyceryl-4 Isostearate (And) CetylDimethiconeCopolyol (And) Hexyl Laurate (And) C9-15 Fluoroalcohol Phosphates (And) Alumina	DIDW 50 DF	Colorant	1.0	0.2	0.2
Part D					
Gamma Oryzanol		Antioxidant	0.2	0.2	0.2
Rice Bran Oil		Antioxidant	1.1	1.1	1.1
Part E					
Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2-phenoxyethanol	Microcare PM5	Preservativ e	1.0	1.0	1.0

3.8 การประเมินคุณภาพของตำรับผลิตภัณฑ์

ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ โดยดูจากลักษณะภายนอกของโลชั่นเมื่อเตรียมเสร็จใหม่ๆในเรื่องลักษณะเนื้อโลชั่น สี ความหนืด การแยกชั้น และความรู้สึกเวลาทาแล้วบนที่กผล

ประเมินคุณสมบัติทางเคมี โดยทดสอบความเป็นกรด-ด่างโดยใช้กระดาษวัด pH ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 5.0-6.5 แล้วบนที่กผล

ประเมินความคงตัว

- ทำโดยการนำโลชั่นไปทำการปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 20 นาที จากนั้นสังเกตลักษณะของโลชั่น ว่าเป็นเนื้อเดียวกันหรือเกิดการแยกชั้นหรือไม่

- ด้วยวิธี heating and cooling cycle โดยนำโลชั่นที่เตรียมไว้ นำมาใส่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงนับเป็น 1 รอบ ทำจนครบ 5 รอบ แล้วบนที่กผลโดยพิจารณาดังต่อไปนี้

1. ลักษณะเนื้อโลชั่น สังเกตลักษณะเนื้อโลชั่นที่มองเห็นโดยใช้คำอธิบายลักษณะดังนี้ เนื้อละเอียด, เนื้อมีเม็ด, เนื้อเหลว, เนื้อหนืด แล้วบนที่กผลลงตาราง

2. สี สังเกตสีของโลชั่นที่มองเห็นว่าเป็นสีขาว สีเหลืองหรือสีอื่นๆ
4. การเกิด creaming เป็นลักษณะที่วัฏภาคภายในแยกไปรวมตัวกันลอยอยู่ชั้นบนหรือนอนกันภาชนะทำให้เห็นแยกเป็นชั้นครีมและชั้นอิมัลชันที่เจือจางเกิดขึ้นไม่ถาวรเมื่อเขย่าสามารถทำให้ชั้นที่แยกผสมนี้ผสมกันได้ดังเดิม

ประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ เพื่อทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียที่ใช้ในตำรับโลชั่น ซึ่งสารกันเสียทำหน้าที่ควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตอันเป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อโลชั่น เช่น สีคล้ำ, กลิ่นเหม็น, การแยกชั้นของวัฏภาคน้ำและวัฏภาคน้ำมัน ทำโดยทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์โลชั่น ตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี total plate count โดยการนำผลิตภัณฑ์มาเจือจาง (10-fold dilution) และนำมา spread ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร NA จำนวนความเข้มข้นละ 2 ซ้ำ ป่มเชื้อเป็นเวลา 24-28 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาทำการนับจำนวนและคำนวณโคโลนีเชื้อที่มีชีวิตรอดโดยใช้สูตร

$$\text{จำนวนความมีชีวิตเชื้อ} = n \times 10^n \times 10$$

โดย n คือ จำนวนโคโลนี
 10^n คือ ความเข้มข้นเชื้อที่เจือจาง

3.9 การทดสอบความระคายเคืองเบื้องต้น

คัดเลือกอาสาสมัครที่ไม่มีประวัติการแพ้ยา และไม่มี ความผิดปกติของผิวหนังบริเวณท้องแขนจำนวน 50 คน โดยทำความสะอาดผิวหนังบริเวณท้องแขนด้วยน้ำสะอาด รอนจนแห้ง แล้วทาผลิตภัณฑ์โลชั่นบำรุงผิวที่ต้องการทดสอบทั้ง 3 ชนิด คือ ตำรับที่ 3, 4 และ 7 ทาบริเวณดังกล่าวทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง หากไม่มีอาการคัน และไม่มีผื่นแดง ถือว่าตำรับโลชั่นดังกล่าวปลอดภัยไม่มีความระคายเคือง

3.10 การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัคร

นำตำรับโลชั่นที่มีความคงตัวทั้งด้านกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพทั้ง 3 ตำรับ คือ ตำรับที่ 3, 4 และ 7 ไปทำการทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครรวม 50 คน โดยการทำแบบสอบถามประเมินความรู้สึกในการใช้โลชั่น

ประเมินความรู้สึกในการใช้โลชั่นโดยพิจารณาในเรื่องต่อไปนี้

- สี สังเกตสีของโลชั่นว่ามีความน่าใช้หรือไม่
- ความหนืด ขณะทาโลชั่นบนผิวหนังรู้สึกเหนอะหนะ และพบว่าโลชั่นเหนียวติดผิวหนังไม่สลายตัวหรือไม่
- ลักษณะเนื้อครีม สังเกตการรวมเป็นเนื้อเดียวของทั้งสองเฟส ไม่มีการแยกชั้น และไม่มียตะกอนของส่วนผสมที่ไม่เข้ากัน
- การซึมซาบเข้าสู่ผิวหนังเมื่อนำโลชั่นมาทาบนผิวหนังแล้วทิ้งไว้ให้แห้งสัมผัสบริเวณที่ทาจะรู้สึกเหมือนไม่ได้ทาโลชั่น

- ความชุ่มชื้น บริเวณที่ทาผลิตภัณฑ์เมื่อนำโลชั่นแล้วรู้สึกผิวชุ่มชื้น เย็นที่ผิวหนัง การวิเคราะห์ข้อมูลทำได้โดย รวบรวมข้อมูล นำข้อมูลที่ได้อาวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS 17.0 โดยใช้สถิติ ANOVA เพื่อดูความแตกต่างของแต่ละปัจจัยและเปรียบเทียบ

ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปัจจัยที่ศึกษาโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เพื่อสรุปผลการทดลอง

3.11 การเปรียบเทียบค่าทางสถิติ

ทำการคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 20.0 แบบ One-way ANOVA ตามวิธีของ Duncan's New Multiple Rang Test จากนั้นพิจารณาจากค่านัยสำคัญ (Significance; sig.) ในตาราง ANOVA หากค่า sig. มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับค่านัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จะปฏิเสธ H_0 และยอมรับ H_1 คือ มีอย่างน้อย 2 ปัจจัยที่แตกต่างกัน และหากค่า sig. มีค่ามากกว่าค่านัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จะยอมรับ H_0 และปฏิเสธ H_1 คือ อิทธิพลของทุกปัจจัยไม่แตกต่างกัน

โดยในการเปรียบเทียบค่าจะดูจากผลได้ของรำข้าวในแต่ละเวลา เพื่อหาพันธุ์ข้าวที่สามารถให้ผลได้สูงที่สุด จากนั้นจะนำพันธุ์ข้าวและสภาวะที่ดีที่สุดของแต่ละเวลามาเปรียบเทียบกันอีกครั้ง เพื่อหาพันธุ์ข้าวและสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันรำข้าว แกมมาโอโรซานอล และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด

3.12 การทดสอบคุณสมบัติ ความปลอดภัยของสารสกัดสำหรับใช้เป็นส่วประกอบทางเวชสำอาง

ทำการทดสอบคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและความปลอดภัยของสารสกัดสำหรับใช้เป็นส่วประกอบทางเวชสำอาง รวมถึงฤทธิ์ความเป็นพิษต่อเซลล์ด้วยวิธี SRB (sulforhodamine B colorimetric method) โดยการนำมาทดสอบความเป็นพิษกับเซลล์ african green monkey kidney fibroblast ในจานหลุมเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ (well tissue culture plate) ปริมาณเซลล์แขวนลอยของเซลล์ไลน์ที่ใช้ในการทดสอบคือ 1×10^5 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ร่วมกับสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ ใช้เอลลิพทิซิน (ellipticine) และไดเมทิลซัลฟอกไซด์ (dimethyl sulfoxide, DMSO) ความเข้มข้นร้อยละ 10 เป็นชุดควบคุมเชิงบวก และชุดควบคุมเชิงลบตามลำดับ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสในตู้บ่มที่มีปริมาณคาร์บอนไดออกไซด์ ร้อยละ 5 เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ตรวจผลความเป็นพิษต่อเซลล์โดยการวัดค่าของสีตามวิธีของ Skehan และคณะ (1990) วัดผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารประกอบที่สามารถยับยั้งการเจริญของเซลล์ได้ร้อยละ 50 (IC_{50})

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ความชื้นของรำข้าว

ปริมาณความชื้นในตัวอย่างรำข้าวที่ใช้ทดลองมีค่า $7.99 \pm 0.16\%$ จากการทดลองพบว่า ตัวอย่างรำข้าวที่ใช้ในการสกัดน้ำมันไม่ควรมีความชื้นสูงเกินไป เพราะความชื้นจะส่งผลต่อความมีชีวะของตัวทำละลาย ซึ่งจะส่งผลต่อการสกัดสารสำคัญในรำข้าว

ตารางที่ 4.1 ร้อยละความชื้นของรำข้าว

พันธุ์ข้าว	ความชื้น (%)
ข้าวหอมสุพรรณ	7.99 ± 0.16

4.2 ลักษณะของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้

ลักษณะของน้ำมันที่สกัดได้จากรำข้าวหอมสุพรรณมีสีเหลืองเข้มถึงน้ำตาลส้ม น้ำมันที่ได้จากการสกัดโดยใช้เฮกเซนและไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายจะเป็นสีส้ม เมื่อใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันจากรำข้าวหอมสุพรรณน้ำมันจะมีสีเหลือง

ตารางที่ 4.2 แสดงลักษณะของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากตัวทำละลายต่างๆ

ตัวทำละลาย	พันธุ์ข้าว	น้ำมันรำข้าว	ลักษณะ
Hexane	ข้าวหอมสุพรรณ		น้ำมันเป็นสีส้มเหลือง
Ethyl acetate	ข้าวหอมสุพรรณ		น้ำมันมีสีเหลือง
Acetone	ข้าวหอมสุพรรณ		น้ำมันเป็นสีน้ำตาล
Isopropanol	ข้าวหอมสุพรรณ		น้ำมันเป็นสีส้มอ่อน
Ethanol	ข้าวหอมสุพรรณ		น้ำมันเป็นสีน้ำตาลส้มกลิ่นหอม

4.3 ปริมาณของน้ำมันรำข้าว

ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดรำข้าวหอมสุพรรณด้วยวิธีการสกัดแบบหมักตัวทำละลายและการใช้คลื่นเสียงร่วมกับตัวทำละลาย ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที โดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล เป็นตัวทำละลาย โดยมีอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด 1:2, 1:4 และ 1:6 แสดงไว้ในตารางที่ 4.3

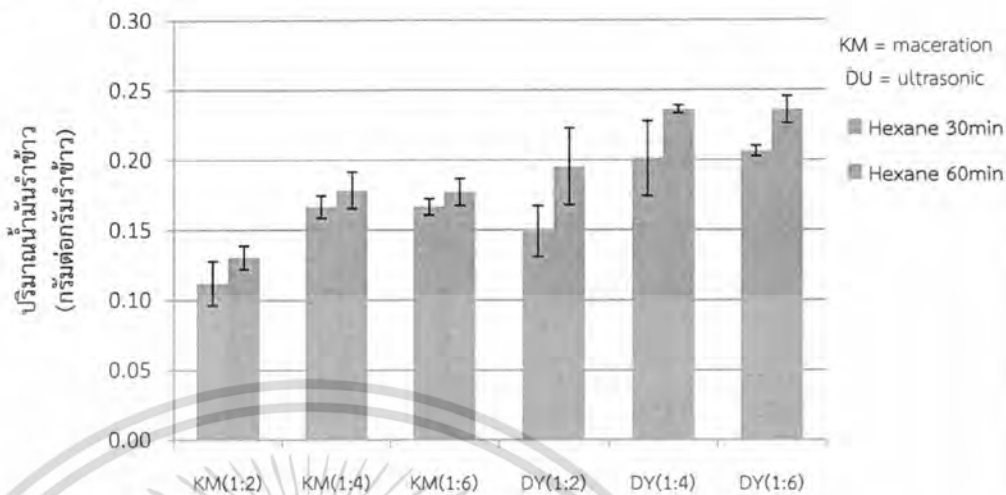
ตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยการหมักตัวทำละลายและการใช้คลื่นเสียง ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที ในตัวทำละลายและอัตราส่วนต่างๆ

วิธีการ	เวลา (นาที)	อัตราส่วน (รำข้าวต่อตัวทำละลาย)	น้ำมันรำข้าว (กรัมต่อกรัมรำข้าว)				
			Hexane	Ethyl acetate	Acetone	Isopropanol	Ethanol
หมักตัวทำละลาย	30	1:2	0.11±0.02 ^{kl}	0.14±0.01 ^{hi}	0.13±0.02 ^{ij}	0.13±0.01 ^{ijk}	0.08±0.01 ^m
		1:4	0.17±0.01 ^{defg}	0.16±0.02 ^{efghi}	0.16±0.01 ^{defgh}	0.17±0.01 ^{def}	0.10±0.00 ^{lm}
		1:6	0.17±0.01 ^{defg}	0.17±0.01 ^{de}	0.17±0.00 ^{defg}	0.18±0.00 ^{cd}	0.13±0.02 ^{ij}
การใช้คลื่นเสียงร่วมกับตัวทำละลาย	30	1:2	0.15±0.02 ^{fghi}	0.14±0.01 ^{hi}	0.15±0.01 ^{efghi}	0.10±0.01 ^{lm}	0.11±0.01 ^l
		1:4	0.20±0.03 ^{bc}	0.22±0.01 ^{ab}	0.23±0.01 ^a	0.17±0.02 ^{def}	0.12±0.01 ^{jlk}
		1:6	0.21±0.00 ^{ab}	0.21±0.00 ^{ab}	0.22±0.00 ^{ab}	0.20±0.00 ^{bc}	0.15±0.01 ^{ghi}
หมักตัวทำละลาย	60	1:2	0.13±0.01 ^{hi}	0.10±0.01 ^j	0.21±0.03 ^{bcd}	0.16±0.02 ^g	0.10±0.00 ^j
		1:4	0.18±0.01 ^{efg}	0.17±0.02 ^{fg}	0.17±0.01 ^{fg}	0.16±0.01 ^g	0.11±0.01 ^{ij}
		1:6	0.18±0.01 ^{efg}	0.17±0.00 ^{fg}	0.17±0.02 ^{fg}	0.17±0.00 ^{fg}	0.13±0.00 ^{hi}
การใช้คลื่นเสียงร่วมกับตัวทำละลาย	60	1:2	0.20±0.03 ^{def}	0.13±0.02 ^{hi}	0.22±0.02 ^{abc}	0.24±0.01 ^a	0.11±0.01 ^{ij}
		1:4	0.24±0.01 ^{ab}	0.23±0.03 ^{ab}	0.25±0.01 ^a	0.20±0.01 ^{cde}	0.13±0.01 ^{hi}
		1:6	0.24±0.04 ^{ab}	0.24±0.01 ^{ab}	0.24±0.02 ^{ab}	0.23±0.02 ^{ab}	0.15±0.02 ^{hi}

หมายเหตุ : a, b, ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละเวลาแสดงถึงค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำมันรำข้าว ในสภาวะการสกัดต่างๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test

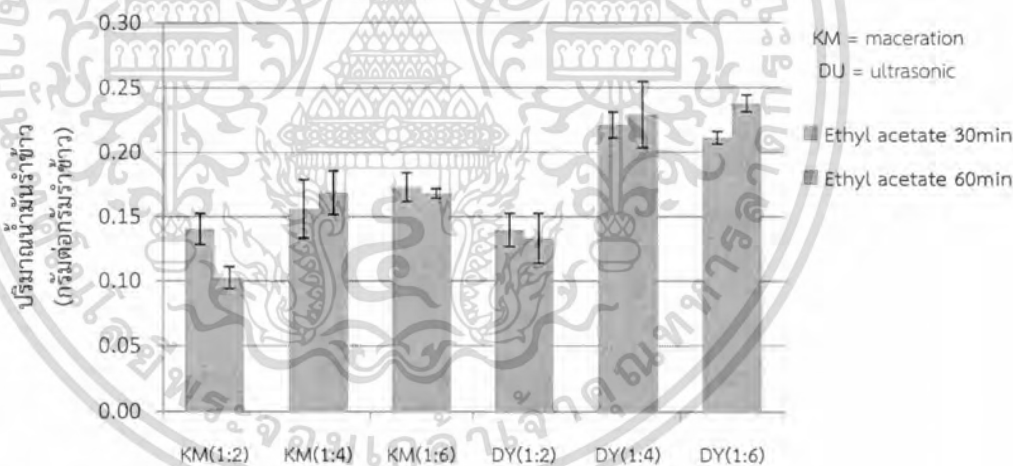
จากการศึกษาปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีหมักตัวทำละลาย พบว่า ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน เมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นจาก 30 นาที เป็น 60 นาที จะทำให้ได้ปริมาณของน้ำมันรำข้าวมากขึ้น ส่วนอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเฮกเซน เมื่ออัตราส่วนของตัวทำละลายเฮกเซนปริมาณมากขึ้น ทำให้ได้น้ำมันรำข้าวเพิ่มมากขึ้น แต่ปริมาณของน้ำมันรำข้าวจะไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเฮกเซนเปลี่ยนจาก 1:4 เป็น 1:6 โดยภาพรวมปริมาณน้ำมันที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน โดยวิธีการใช้คลื่นเสียงให้

ปริมาณของน้ำมันรำข้าวในปริมาณที่สูงกว่าวิธีหมักด้วยตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ซึ่งแสดงในรูป 4.1



รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยวิธีต่างๆ

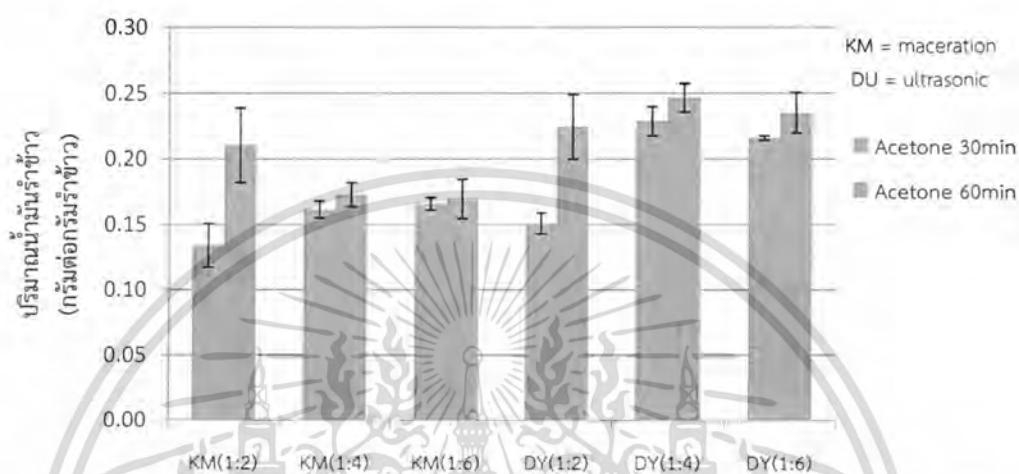
ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตจากรำข้าวหอมสุพรรณเวลา 30 นาที เมื่ออัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายตัวทำละลายปริมาณมากขึ้นจะทำให้ได้ปริมาณน้ำมันมากขึ้น อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต 1:4 และ 1:6 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จะไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$)



รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของน้ำมันรำข้าวกับวิธีการสกัด และอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

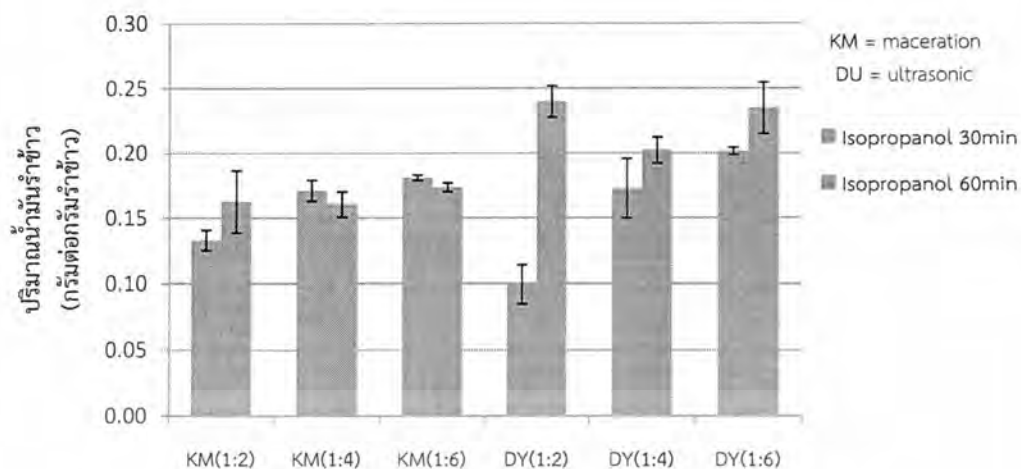
ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตนของรำข้าวหอมสุพรรณ เวลาในการสกัด ที่เพิ่มขึ้นจาก 30 นาที เป็น 60 นาที จะทำให้ได้ปริมาณของน้ำมันรำข้าวมากขึ้น ปริมาณน้ำมันรำข้าว ที่สกัดด้วยอะซิโตนเป็นเวลา 30 นาที ด้วยอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายอะซิโตน 1:2 สามารถ สกัดน้ำมันรำข้าวได้น้อยกว่า อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายอะซิโตน 1:4 และ 1:6 อย่างมี

นัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แต่ปริมาณของน้ำมันรำข้าวจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายอะซิโตนเปลี่ยนจาก 1:4 เป็น 1:6 และปริมาณน้ำมันรำข้าวของข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยอะซิโตนเป็นเวลา 60 นาที อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายอะซิโตน 1:2 สกัดน้ำมันรำข้าวได้มากกว่า อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายอะซิโตน 1:4 และ 1:6 อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แต่ปริมาณของน้ำมันรำข้าวจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายอะซิโตนเปลี่ยนจาก 1:4 เป็น 1:6 แสดงในรูปที่ 4.3



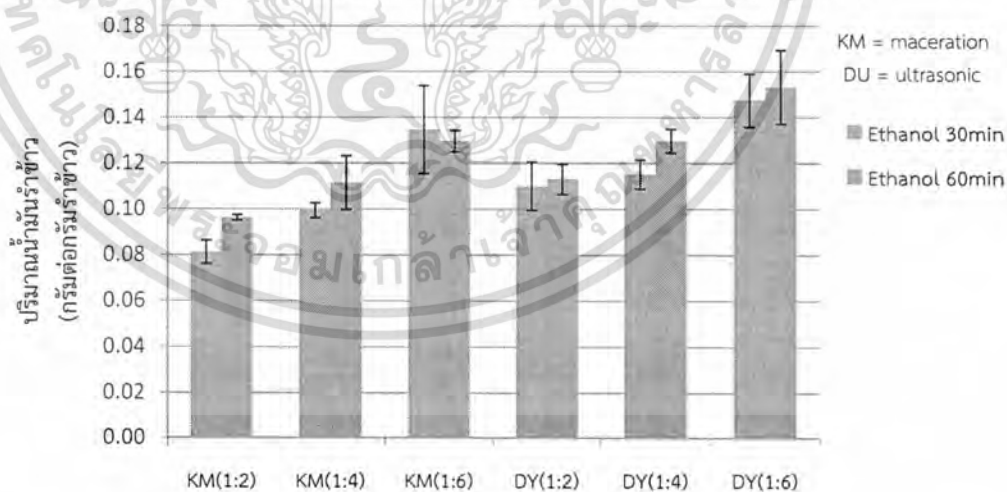
รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของน้ำมันรำข้าวกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอล โดยภาพรวมเมื่อเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นจาก 30 นาที เป็น 60 นาที จะสามารถสกัดได้ปริมาณของน้ำมันรำข้าวมากขึ้น ปริมาณน้ำมันรำข้าวของข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลใช้เวลาในการสกัด 30 นาที อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอล 1:2 จะได้น้อยกว่า อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอล 1:4 และ 1:6 อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แต่ปริมาณของน้ำมันรำข้าวจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอลเปลี่ยนจาก 1:4 เป็น 1:6 และปริมาณน้ำมันรำข้าวของข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลใช้เวลาในการสกัด 60 นาที อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอลปริมาณมากขึ้น ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) แสดงในรูปที่ 4.4



รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของน้ำมันรำข้าวกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลพบว่า ปริมาณน้ำมันรำข้าวสกัดด้วยเอทานอลเป็นเวลา 30 นาที อัตราส่วนของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดที่ปริมาณมากขึ้น ทำให้ได้ปริมาณของน้ำมันรำข้าวที่มากขึ้น ซึ่งอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:6 สกัต้น้ำมันรำข้าวได้มากกว่าอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:2 และ 1:4 อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แต่ปริมาณของน้ำมันรำข้าวจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอลเปลี่ยนจาก 1:2 เป็น 1:4 และปริมาณน้ำมันรำข้าวของข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลใช้เวลาในการสกัด 60 นาที อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:2 จะมีปริมาณน้ำมันน้อยกว่าอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6 อย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) แต่จะไม่แตกต่างกันกับอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:4 ดังแสดงในรูปที่ 4.5

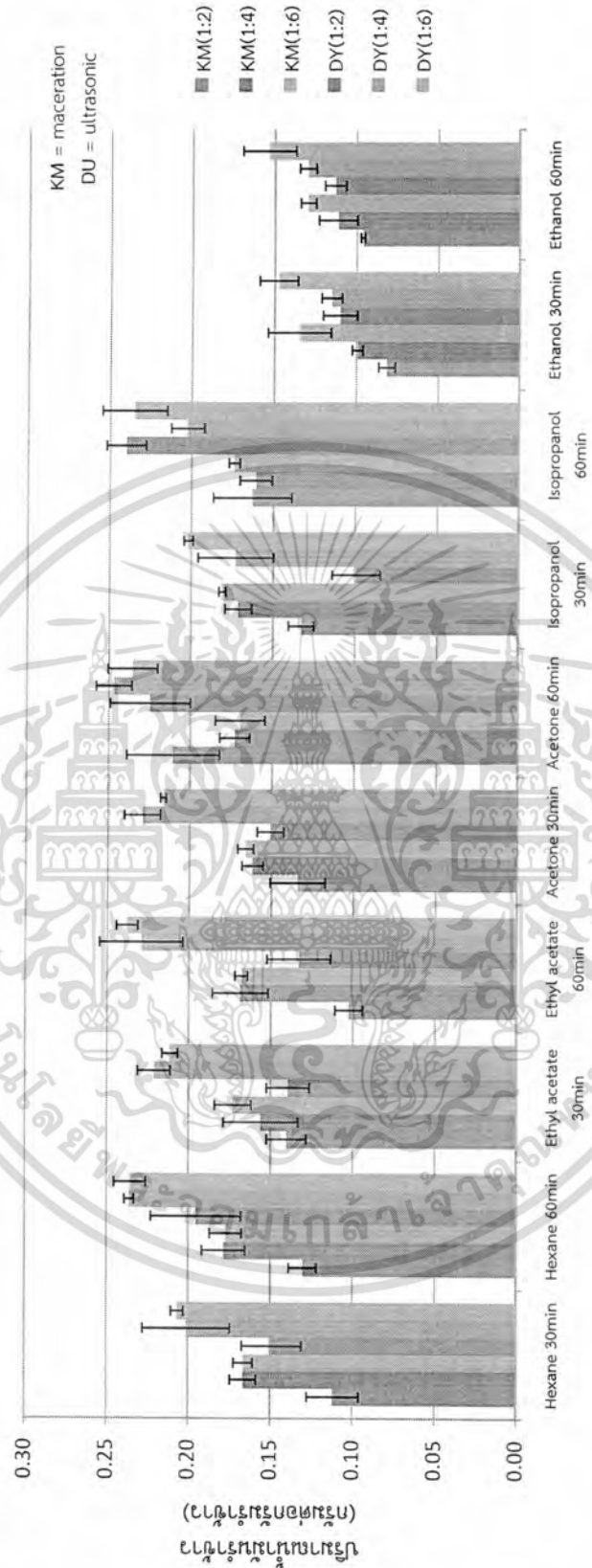


รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของน้ำมันรำข้าวกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาสภาวะการสกัดน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดรำข้าว ด้วยวิธีการสกัดแบบหมัก ตัวทำละลายและการใช้คลื่นเสียงร่วม ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที โดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล เป็นตัวทำละลาย วิธีที่สามารถสกัดน้ำมันรำข้าวออกมาได้มากที่สุดคือการใช้คลื่นเสียงร่วม ตัวทำละลายที่สามารถสกัดได้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากที่สุดคือ อะซิโตนซึ่งตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต และอะซิโตน ที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:4 และ 1:6 ปริมาณของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) และตัวทำละลายที่สกัดน้ำมันรำข้าวได้ปริมาณน้อยที่สุดคือ เอทานอล ส่วนเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ดีที่สุดที่สามารถสกัดน้ำมันรำข้าวออกมาได้มากที่สุดคือ 60 นาที และอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สามารถสกัดน้ำมันรำข้าวได้ปริมาณมากที่สุดคือ 1:6 ดังแสดงในรูปที่ 4.6





รูปที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักของน้ำมันรำข้าวกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายต่างๆ โดยใช้เวลาในการสกัด 30 และ 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาปริมาณน้ำมันรำข้าวของข้าวหอมสุพรรณด้วยวิธีการสกัด 2 แบบคือการสกัดด้วยตัวทำละลายและการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงร่วม เป็นเวลา 30 นาที และ 60 นาที วิธีที่ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากที่สุดคือ การสกัดโดยใช้คลื่นเสียงร่วม โดยใช้ตัวทำละลายอะซิโตน อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:4 ที่เวลาในการสกัด 30 นาที และ 60 นาที

4.4 การวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าว

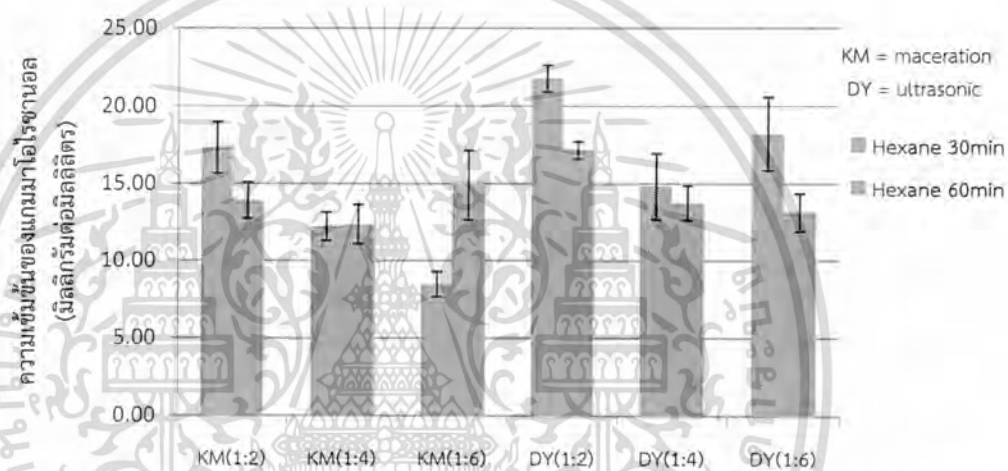
ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดรำข้าวสายพันธุ์ข้าวหอมสุพรรณด้วยวิธีการสกัดแบบหมักตัวทำละลายและการใช้คลื่นเสียงร่วม ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และ 60 นาที โดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล เป็นตัวทำละลาย โดยมีอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด 1:2 1:4 และ 1:6 ด้วยเครื่อง HPLC ปริมาณแกมมาโอโรซานอลที่ได้จากการสกัดรำข้าวโดยใช้วิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมจะมีปริมาณมากกว่าวิธีหมักด้วยตัวทำละลายที่สภาวะเดียวกัน ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยการหมักตัวทำละลายและการใช้คลื่นเสียงร่วม ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที ในตัวทำละลายและอัตราส่วนต่างๆ

วิธี	เวลา (นาที)	อัตราส่วน (รำข้าวต่อตัวทำละลาย)	ความเข้มข้นของแกมมาโอโรซานอล (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
			Hexane	Ethyl acetate	Acetone	Isopropanol	Ethanol
หมักตัวทำละลาย	30	1:2	17.32±1.65 ^{ijk}	20.23±3.22 ^{fghij}	16.53±0.91 ^{jkl}	14.86±2.20 ^{klm}	25.98±2.28 ^{cde}
		1:4	12.24±0.91 ^{lmn}	21.45±1.52 ^{efghi}	10.74±1.60 ^{mn}	17.50±1.79 ^{ijk}	28.17±0.46 ^c
		1:6	8.47±0.81 ⁿ	18.83±1.70 ^{ijk}	11.85±1.83 ^{mn}	20.88±1.57 ^{fghij}	22.41±1.93 ^{defgh}
การใช้คลื่นเสียงร่วมกับตัวทำละลาย	30	1:2	21.77±0.85 ^{efghi}	26.80±3.78 ^{cd}	7.91±0.74 ⁿ	17.68±2.27 ^{ijk}	24.36±2.80 ^{cdefg}
		1:4	14.82±2.13 ^{klm}	22.87±1.83 ^{defgh}	18.41±2.16 ^{ijk}	19.89±0.87 ^{ghij}	44.76±4.75 ^b
		1:6	18.22±2.36 ^{ijk}	24.60±3.77 ^{cdef}	8.66±0.95 ⁿ	18.71±2.77 ^{ijk}	51.46±6.24 ^a
หมักตัวทำละลาย	60	1:2	13.92±1.15 ^{klm}	16.30±2.02 ^{ijklm}	17.14±1.92 ^{hijklm}	14.67±1.59 ^{ijklm}	48.50±5.53 ^a
		1:4	12.38±1.27 ^m	17.20±1.98 ^{hijklm}	18.38±0.80 ^{hijk}	19.01±1.99 ^{ghij}	40.05±5.66 ^b
		1:6	14.90±2.23 ^{ijklm}	17.71±2.69 ^{hijkl}	16.73±2.05 ^{hijklm}	16.38±0.42 ^{ijklm}	37.47±1.11 ^{bc}
การใช้คลื่นเสียงร่วมกับตัวทำละลาย	60	1:2	17.14±0.57 ^{hijklm}	24.54±1.27 ^{def}	24.25±2.23 ^{def}	24.55±2.94 ^{def}	34.25±2.62 ^c
		1:4	13.76±1.11 ^{klm}	25.29±3.43 ^{de}	20.13±2.00 ^{fghi}	28.84±1.06 ^d	37.67±3.23 ^{bc}
		1:6	16.14±1.22 ^{lm}	24.77±0.52 ^{def}	21.61±1.34 ^{efgh}	23.50±2.50 ^{efg}	39.74±6.01 ^b

หมายเหตุ :a, b, ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละเวลาแสดงถึงค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าว ในสภาวะการสกัดต่างๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test

จากการศึกษาปริมาณแกมมาไฮโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการหมักตัวทำละลาย พบว่าปริมาณแกมมาไฮโรซานอลในน้ำมันรำข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนเป็นเวลา 30 นาที แกมมาไฮโรซานอลมีแนวโน้มที่จะลดลงตามอัตราส่วนตัวทำละลายที่ปริมาณมากขึ้น โดยที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเฮกเซน 1:4 และ 1:6 มีปริมาณแกมมาไฮโรซานอลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) รำข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลมากที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเฮกเซน 1:2 ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอล 17.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีปริมาณแกมมาไฮโรซานอลมากกว่าอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:4 และ 1:6 อย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) และ รำข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลน้อยที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเฮกเซน 1:6 ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอล 8.47 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงดังรูปที่ 4.7



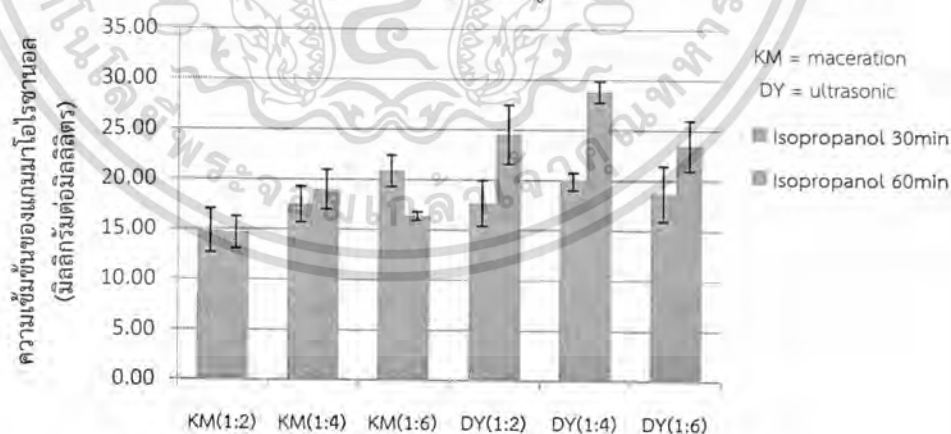
รูปที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแกมมาไฮโรซานอลกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตเป็นเวลา 30 นาที และ 60 นาที เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตมากขึ้น พบว่าปริมาณแกมมาไฮโรซานอลที่สกัดได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) รำข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตที่ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลมากที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต 1:2 โดยวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมซึ่งได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอล 21.45 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และรำข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตที่ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลน้อยที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต 1:2 ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอล 16.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงดังรูปที่ 4.8

ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลในน้ำมันรำข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลเป็นเวลา 30 นาที เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอลปริมาณมากขึ้น ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลที่สกัดได้จะมีปริมาณมากขึ้น แต่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอล 1:4 และ 1:6 มีปริมาณแกมมาไฮโรซานอลจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ส่วนปริมาณแกมมาไฮโรซานอลที่สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมโดยตัวทำละลายไอโซโพรพานอล เป็นเวลา 30 นาที เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอลปริมาณมากขึ้น ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลที่สกัดได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) และปริมาณแกมมาไฮโรซานอลในน้ำมันรำข้าวของข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลเป็นเวลา 60 นาที เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอลปริมาณมากขึ้น ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลที่สกัดได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ส่วนปริมาณแกมมาไฮโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลโดยวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วม เป็นเวลา 60 นาทีอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอล 1:2 มีปริมาณแกมมาไฮโรซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันกับอัตราส่วน 1:4 และ 1:6 อย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่อัตราส่วน 1:4 และ 1:6 จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) การที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลอย่างเดียวที่ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลมากที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอล 1:6 ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอล 20.88 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และการที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลอย่างเดียวที่ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลน้อยที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอล 1:2 ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอล 14.67 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลรวมกับการใช้คลื่นเสียงที่ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลมากที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอล 1:4 ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอล 28.84 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรและวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลรวมกับการใช้คลื่นเสียงที่ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอลน้อยที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายไอโซโพรพานอล 1:2 ได้ปริมาณแกมมาไฮโรซานอล 17.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

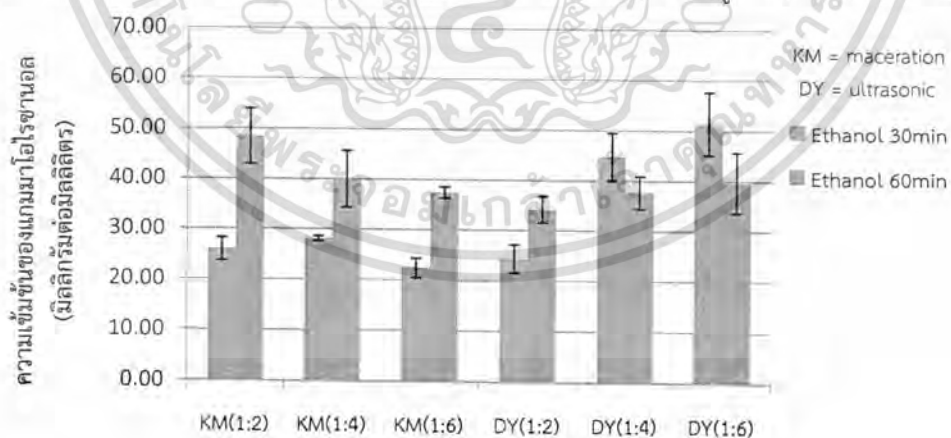
แสดงดังรูปที่

4.10



รูปที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแกมมาไฮโรซานอลกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลอย่างเดียวนเป็นเวลา 30 นาที อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:2 มีปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันกับอัตราส่วน 1:4 และ 1:6 อย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่อัตราส่วน 1:4 และ 1:6 จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) ส่วนปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลรวมกับการใช้คลื่นเสียง เป็นเวลา 30 นาที เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอลปริมาณมากขึ้น ปริมาณแกมมาโอโรซานอลที่สกัดได้มีปริมาณมากขึ้นและแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) และปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลเป็นเวลา 60 นาที เมื่ออัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอลปริมาณมากขึ้น ปริมาณแกมมาโอโรซานอลที่สกัดได้จะมีปริมาณลดลง ซึ่งปริมาณแกมมาโอโรซานอลที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:4 และ 1:6 จะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ส่วนปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลรวมกับการใช้คลื่นเสียงเป็นเวลา 60 นาที อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:4 มีปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันกับอัตราส่วน 1:2 และ 1:6 อย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่อัตราส่วน 1:2 และ 1:6 จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) รำข้าวหอมสุพรรณที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลอย่างเดียวยุติได้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลมากที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:2 ได้ปริมาณแกมมาโอโรซานอล 48.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลที่ได้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลน้อยที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:6 ได้ปริมาณแกมมาโอโรซานอล 22.41 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลรวมกับการใช้คลื่นเสียงที่ได้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลมากที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:6 ได้ปริมาณแกมมาโอโรซานอล 51.46 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลรวมกับการใช้คลื่นเสียงที่ได้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลน้อยที่สุดคือรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:2 ได้ปริมาณแกมมาโอโรซานอล 24.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

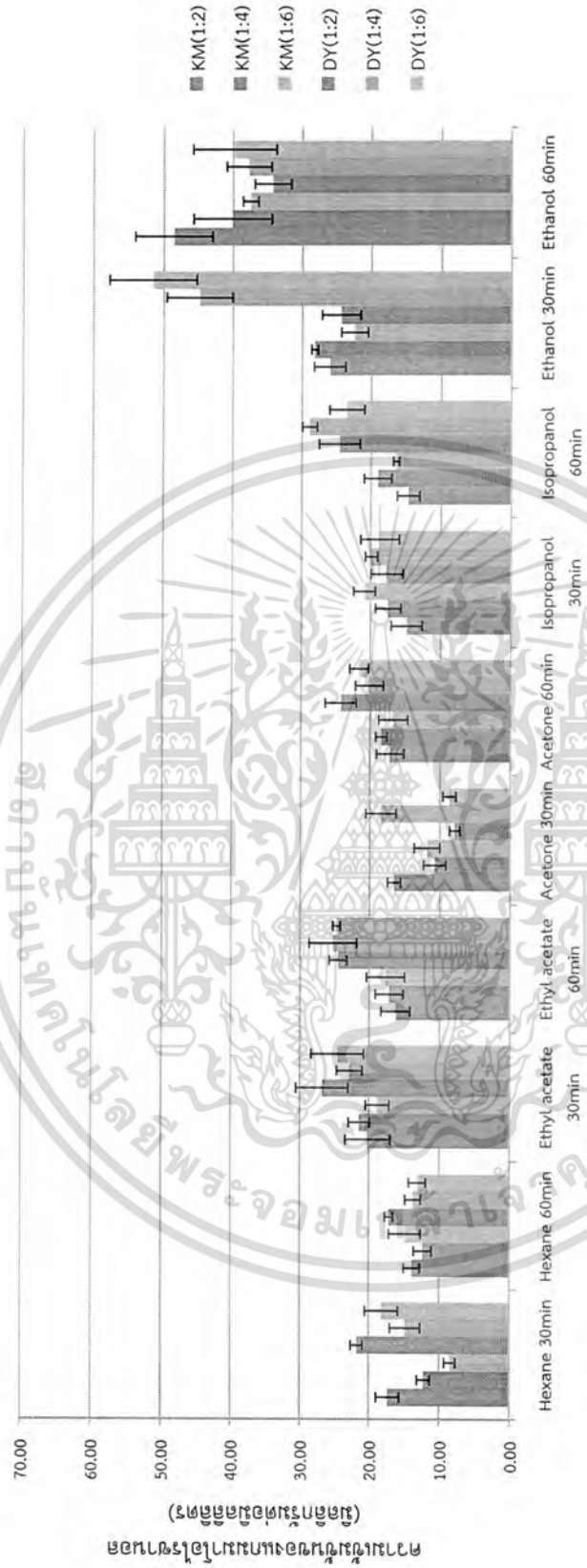


รูปที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแกมมาโอโรซานอลกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

จากการศึกษาสภาวะการสกัดแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดรำข้าว 2 วิธีการสกัด คือ การหมักด้วยตัวทำละลาย และการสกัดแบบใช้คลื่นเสียงร่วม ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที โดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล เป็นตัวทำละลาย วิธีที่สามารถสกัดน้ำมันรำข้าวที่มีปริมาณของแกมมาโอโรซานอลออกมาได้มากที่สุดคือการใช้คลื่นเสียงร่วม ตัวทำละลายที่สามารถสกัดได้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวได้มากที่สุดคือเอทานอล และเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ดีที่สุดที่สามารถสกัดแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวออกมาได้มากที่สุดคือ 30 นาที และอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สามารถสกัดแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวได้ปริมาณมากที่สุดคือ 1:6 ดังแสดงในรูปที่ 4.12



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแกมมาโอโรซานอลกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่ต่าง ๆ โดยใช้เวลาในการสกัด 30 และ 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การประเมินความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าว

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการหมักตัวทำละลายและการใช้คลื่นเสียงร่วม แสดงในตารางที่ 4.7

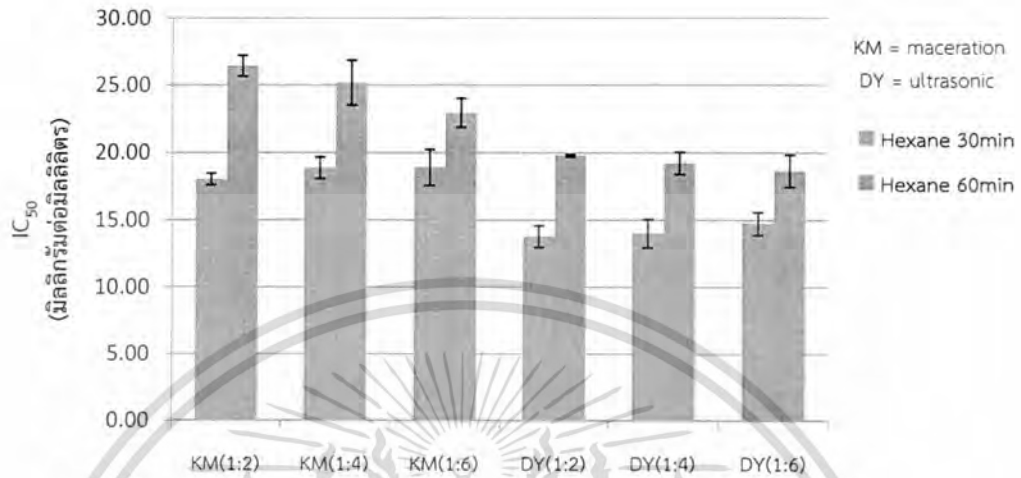
ตารางที่ 4.7 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยการหมักตัวทำละลายและการใช้คลื่นเสียงร่วม ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที ในตัวทำละลายและอัตราส่วนต่างๆ

วิธีการสกัด	เวลา (นาที)	อัตราส่วน (รำข้าวต่อตัวทำละลาย)	ความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)				
			Hexane	Ethyl acetate	Acetone	Isopropanol	Ethanol
หมักด้วยตัวทำละลาย	30	1:2	18.04±0.42 ⁱ	11.18±0.21 ^g	6.96±0.70 ^{cd}	9.87±0.49 ^{ef}	3.59±0.25 ^b
		1:4	18.87±0.80 ⁱ	10.58±0.77 ^{fg}	9.61±0.71 ^{ef}	9.59±0.22 ^{ef}	4.09±0.18 ^b
		1:6	18.90±1.33 ⁱ	10.08±0.58 ^{efg}	9.24±0.38 ^e	9.39±0.56 ^{ef}	4.26±0.50 ^b
การใช้คลื่นเสียงร่วม	30	1:2	13.79±0.81 ^h	9.34±0.22 ^{ef}	1.85±0.19 ^a	7.90±0.65 ^d	1.37±0.11 ^a
		1:4	14.02±1.06 ^h	9.55±0.05 ^{ef}	7.80±0.68 ^{cd}	7.82±0.21 ^{cd}	1.70±0.24 ^a
		1:6	14.74±0.84 ^h	9.70±0.30 ^{ef}	6.68±1.17 ^c	8.03±1.54 ^e	1.93±0.09 ^a
หมักด้วยตัวทำละลาย	60	1:2	26.42±0.78 ^l	10.91±1.54 ^{hi}	11.85±0.78 ⁱ	8.72±0.26 ^{fg}	4.13±0.23 ^b
		1:4	25.18±1.66 ^l	9.91±1.14 ^{gh}	10.43±0.45 ^{hi}	8.80±0.53 ^{fg}	3.70±0.03 ^b
		1:6	22.95±1.07 ^k	10.41±1.49 ^{hi}	11.19±0.72 ^{hi}	8.27±1.02 ^{ef}	3.66±0.21 ^b
การใช้คลื่นเสียงร่วม	60	1:2	19.79±0.09 ^j	8.59±0.62 ^{fg}	7.79±0.43 ^{def}	6.37±0.48 ^{cd}	1.21±0.09 ^a
		1:4	19.22±0.83 ^j	7.44±1.33 ^{cdef}	6.25±0.76 ^{cd}	6.42±0.71 ^{cd}	1.22±0.10 ^a
		1:6	18.65±1.20 ^j	7.56±1.03 ^{cdef}	6.82±1.41 ^{cde}	5.98±0.39 ^c	1.13±0.15 ^a

หมายเหตุ : a, b, ... ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละเวลาแสดงถึงค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารสกัดในน้ำมันรำข้าวที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ในสภาวะการสกัดต่างๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test

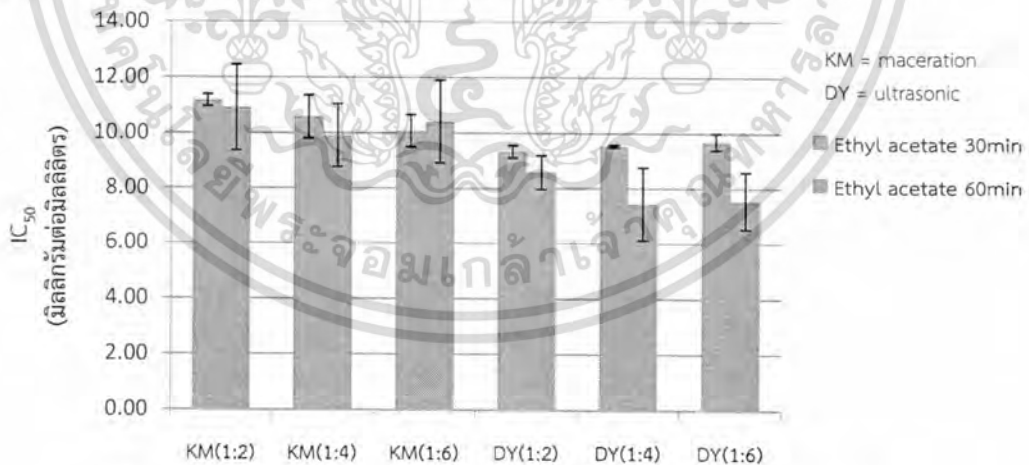
จากการศึกษาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากวิธี 2 วิธี พบว่า รำข้าวของวิธีการสกัดทั้ง 2 วิธี ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายปริมาณมากขึ้น พบว่าความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระจะไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) และความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยวิธีการหมักด้วยเฮกเซนอย่างเดียวเป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:2 และ 1:4 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) แต่จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) กับอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6 ซึ่งมีความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอิสระน้อยกว่าอัตราส่วน 1:2 และ 1:4 ส่วนความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากการใช้ตัวทำละลายเฮกเซนร่วมกับการใช้คลื่นเสียงเป็นเวลา 60 นาที อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายปริมาณมากขึ้น ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) และ

ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของรำข้าวที่สกัดได้โดยใช้คลื่นเสียงร่วมจะมีความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้น้อยกว่าวิธีการใช้ตัวทำละลายเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากวิธีการสกัด 2 วิธี ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตเป็นเวลา 30 นาทีและ 60 นาที เมื่ออัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายปริมาณมากขึ้นความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) และความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวจากวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมจะสามารถยับยั้งได้ดีกว่าน้ำมันรำข้าวจากวิธีหมักด้วยตัวทำละลาย ดังแสดงในรูปที่ 4.14

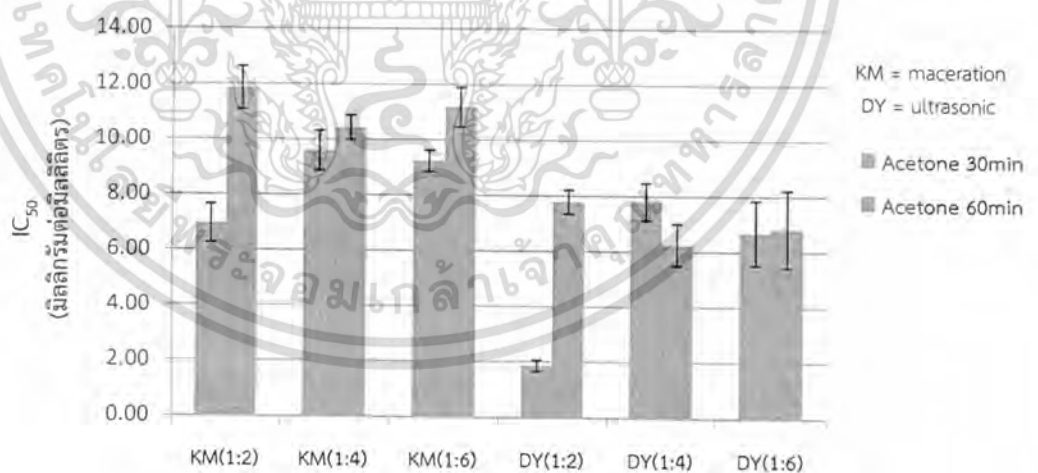


รูปที่ 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

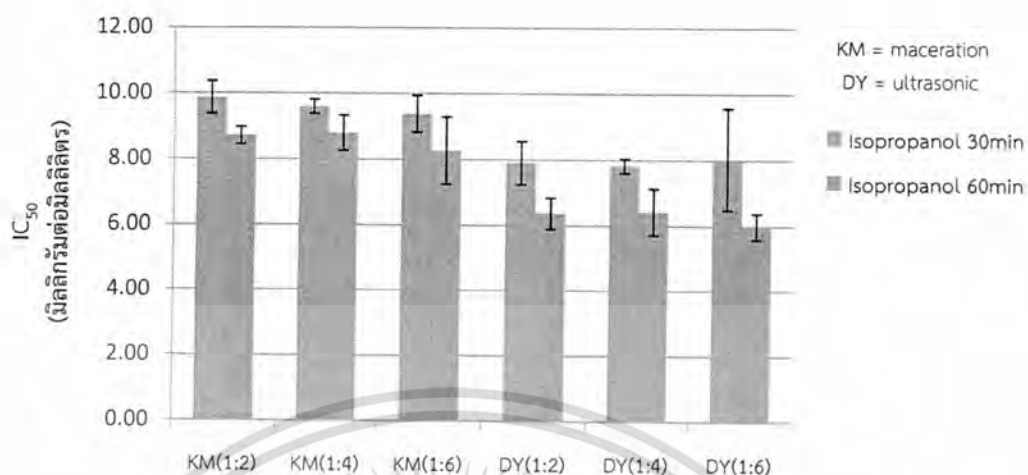
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากวิธีการสกัด 2 วิธี ด้วยตัวทำละลายอะซิโตนเป็นเวลา 30 นาที เมื่ออัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายปริมาณมากขึ้น ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระจะเพิ่มขึ้นไปด้วย ซึ่งความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:4 และ 1:6 จะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ส่วนความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวทั้ง 2 วิธีด้วยตัวทำละลายอะซิโตนเป็นเวลา 60 นาที เมื่ออัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายปริมาณมากขึ้น ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระจะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 4.15

ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลเป็นเวลา 30 นาที และ 60 นาที เมื่ออัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายปริมาณมากขึ้น ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระจะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) ส่วนความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลรวมกับการใช้คลื่นเสียงเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:2 และ 1:4 ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระจะไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) แต่จะแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) กับอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6 ซึ่งมีความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอิสระมากกว่าอัตราส่วน 1:2 และ 1:4 และความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลรวมกับการใช้คลื่นเสียงเป็นเวลา 60 นาที เมื่ออัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายปริมาณมากขึ้น ความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระจะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P>0.05$) และความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลรวมกับการใช้คลื่นเสียงจะมีความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระน้อยกว่าความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($P\leq 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 4.16

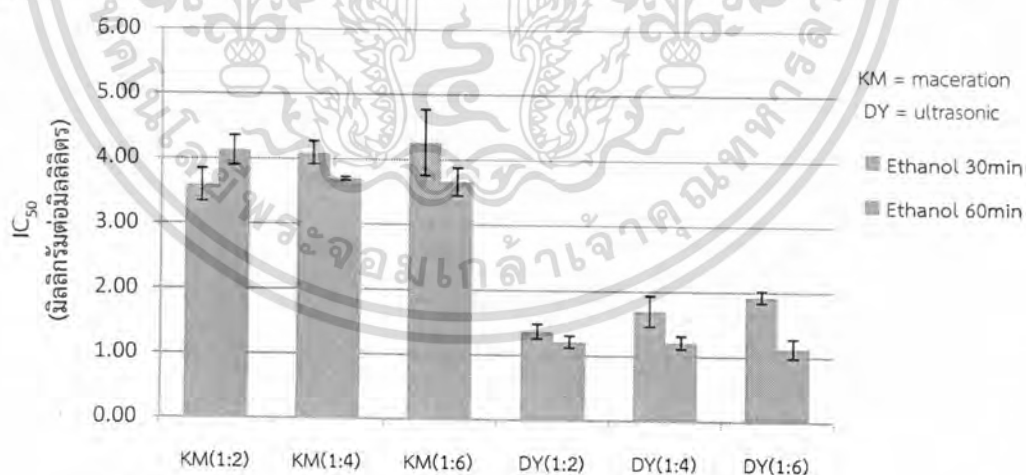


รูปที่ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ



รูปที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ กับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้ไอโซโพรพานอล เป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

ความสามารถในการยับยั้งของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธี ด้วยตัวทำละลายเอทานอลเป็นเวลา 30 นาที และ 60 นาที เมื่ออัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายปริมาณมากขึ้น ความเข้มข้นที่สามารถในการยับยั้ง จะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) และความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยการใช้คลื่นเสียงรวมจะมีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระน้อยกว่าวิธีการใช้ตัวทำละลายเพียงอย่างเดียวอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) ดังแสดงรูปที่ 4.17



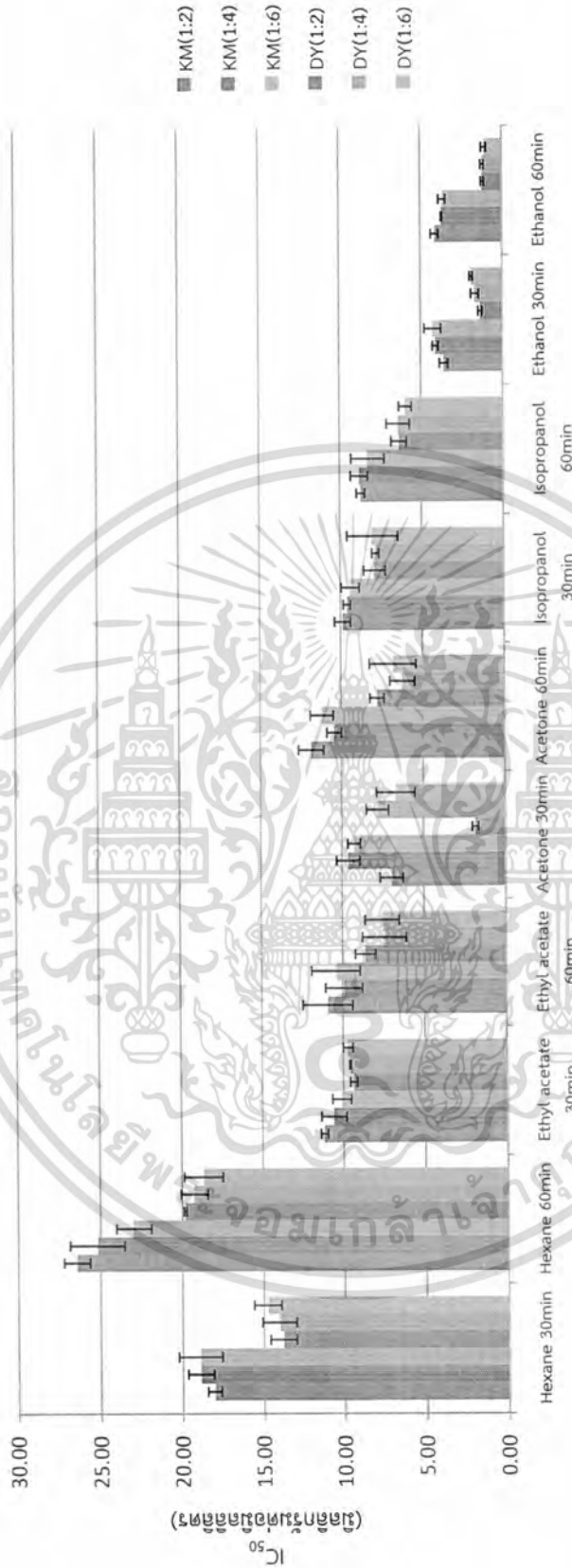
รูปที่ 4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ กับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่สกัดโดยใช้เอทานอล เป็นตัวทำละลาย ที่เวลาต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากวิธี 2 วิธี คือ การหมักโดยใช้ตัวทำละลายอย่างเดี่ยว และการใช้คลื่นเสียงร่วม ที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที โดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล เป็นตัวทำละลาย มีอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด 1:2, 1:4 และ 1:6 พบว่าน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการหมักด้วยตัวทำละลายอย่างเดียวยังมีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดคือ การสกัดด้วยเอทานอลเป็นเวลา 30 นาที อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:2 ซึ่งจะให้มีความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (IC50) เท่ากับ 3.59 ± 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากการใช้คลื่นเสียงร่วมด้วยตัวทำละลายเอทานอลสกัดเป็นเวลา 60 นาที อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:6 มีค่าความสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระ (IC50) เท่ากับ 1.13 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากการทดสอบวิธีการสกัดรำข้าวต่อฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระ พบว่า น้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากการใช้คลื่นเสียงด้วยตัวทำละลายเอทานอลเป็นเวลา 30 นาทีและ 60 นาที ให้ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยการหมักอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.18 ความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการยั่งของอนุเอซิสระกับวิธีการสกัดและอัตราส่วนของตัวทำละลายที่ได้จากตัวทำละลายต่างๆโดยใช้เวลาในการสกัด 30 และ 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ทั้ง 2 วิธี ด้วยตัวทำละลาย เป็นเวลา 30 นาที และ 60 นาที พบว่าน้ำมันรำข้าวที่มีค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดคือ น้ำมันรำข้าวที่สกัดจากวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมด้วยตัวทำละลายเอทานอลสกัดเป็นเวลา 60 นาที อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเอทานอล 1:6 ซึ่งมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระเท่ากับ 1.13 ± 0.15 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 เปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที

วิธีการสกัด	สภาวะในการสกัด			ความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
	ตัวทำละลาย	อัตราส่วน (รำข้าวต่อตัวทำละลาย)	เวลา (นาที)	
การใช้คลื่นเสียงร่วม	เอทานอล	1:2	30	1.3721 ^c
การใช้คลื่นเสียงร่วม	เอทานอล	1:2	60	1.2142 ^{bc}
การใช้คลื่นเสียงร่วม	เอทานอล	1:4	60	1.2158 ^{bc}
การใช้คลื่นเสียงร่วม	เอทานอล	1:6	60	1.1301 ^b
BHT				0.1763 ^a

หมายเหตุ : a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงค่าเฉลี่ยความเข้มข้นของสารสกัดในน้ำมันรำข้าวที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ในสภาวะการสกัดต่างๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยกับค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test

ผลจากการศึกษาปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าว เพื่อหาสภาวะที่สามารถสกัดให้ได้ความเข้มข้นของแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวมาก พบว่า การสกัดโดยใช้คลื่นเสียงด้วยตัวทำละลายเอทานอลสามารถสกัดน้ำมันรำข้าวที่มีความเข้มข้นของแกมมาโอโรซานอลได้สูงที่สุด และตัวทำละลายที่สกัดน้ำมันรำข้าวที่ได้ปริมาณโอโรซานอลรองลงมาคือ ตัวทำละลายไอโซโพรพานอล ส่วนตัวทำละลายเฮกเซนจะมีความปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันน้อยที่สุด ซึ่งผลที่ได้ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ สลิษา (2546) ที่พบว่าในตัวทำละลายเฮกเซน เอทิลอะซิเตต ปริมาณแกมมาโอโรซานอลจะมีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณแกมมาโอโรซานอลที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมและในตัวทำละลายเอทานอล และไอโซโพรพานอลที่ใช้ในการสกัดมีปริมาณแกมมาโอโรซานอลในรำข้าวมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณแกมมาโอโรซานอลที่ได้จากวิธีดั้งเดิม ซึ่งตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดคือ ปิโตรเลียมอีเทอร์ เป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ส่วนในตัวทำละลายเอทานอลมีสภาพความเป็นขั้วสูง ซึ่งในตัวอย่างรำข้าวที่ใช้ในการสกัดหากมีความชื้นปนอยู่และถ้าตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดเป็นตัวทำละลายไม่มีขั้ว ความสามารถในการเข้าไปสกัดสารก็จะลดลง เนื่องจากน้ำหรือความชื้นในรำข้าวจะปกปิดขวางการเข้าไปสัมผัสตัวทำละลายกับแกมมาโอโรซานอล ทำให้ไม่สามารถนำพาสารออกมาได้ ส่วนในกรณีตัวทำละลายเอทานอลและไอโซโพรพานอลที่มีสภาพขั้วสูงทำให้สามารถละลายเป็นเนื้อเดียวกันกับน้ำได้ ดังนั้นความชื้นของรำข้าวจึงไม่เป็นอุปสรรคต่อการสกัด ส่วนปัจจัยอื่นๆที่ส่งผลต่อปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าว คือ ชนิดของข้าว การสีข้าว การเก็บรักษา การรักษาสภาพ และสภาวะที่ใช้ในการสกัด

4.6 การประเมินคุณภาพของตำรับผลิตภัณฑ์

4.6.1 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

จากการพัฒนาตำรับโลชั่นผสมน้ำมันรำข้าวที่มีแกมมา-อโรซานอลผสมอยู่ทั้งหมด 7 ตำรับ โลชั่นแต่ละตำรับมีลักษณะทางกายภาพและทางเคมี ดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของตำรับโลชั่นทั้ง 7 ตำรับ

ตำรับ	การประเมิน				
	ลักษณะเนื้อ	สี	pH	ความรู้สึกเวลาทา	การแยกชั้น
1	เนื้อเนียน	ขาว	6	มันเกินไป รู้สึกเหนอะหนะ	แยกชั้น
2	เนื้อเนียน เหลวมาก	ขาว	6	เหนอะหนะเล็กน้อย	แยกชั้น
3	เนื้อเนียน หนืดเล็กน้อย	ขาว	5.5	ทาง่าย ซึ่มซาบดี	ไม่แยกชั้น
4	เนื้อเนียน เหลว	ขาว	5.5	ทาง่าย ซึ่มซาบดี รู้สึกชุ่มชื้น	ไม่แยกชั้น
5	เนื้อเนียน หนืดมาก	ขาว	5	ทายาก ซึ่มซาบช้า	ไม่แยกชั้น
6	เนื้อเนียน ค่อนข้างหนืด	ขาว	5	ทาง่าย ซึ่มซาบช้า	ไม่แยกชั้น
7	เนื้อเนียน ค่อนข้างเหลว	ขาว	5	ทาง่าย ซึ่มซาบไวไม่ เหนอะหนะ	ไม่แยกชั้น

4.6.2 ประเมินความคงตัว

ผลการประเมินลักษณะทางกายภาพและเคมีหลังทำการศึกษาความคงตัวในสภาวะเร่งด้วยวิธีร้อนสลับเย็น (heating and cooling cycle) (ตารางที่ 4.10) โดยนำโลชั่นที่เตรียมไว้ใส่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมงนับเป็น 1 รอบ ทำจนครบ 5 รอบ พบว่ามีตำรับที่ดีที่สุด 3 ตำรับคือ ตำรับที่ 3, 4 และ 7 เนื่องจากมีคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีที่เหมาะสมคือเนื้อโลชั่นมีลักษณะเนียน ไม่เป็นเม็ด มีความหนืดที่เหมาะสม ไม่เกิด creaming ไม่มีการแยกชั้นของเนื้อโลชั่น และมีค่า pH 5.0-6.5

ตารางที่ 4.10 ลักษณะทางกายภาพและเคมีของตำรับโลชั่นทั้ง 7 ตำรับหลังทดสอบความคงตัวโดยวิธีร้อนสลับเย็น (Heating and cooling cycle)

สูตร	การประเมิน				
	ลักษณะเนื้อ	สี	pH	Creaming	การแยกชั้น
1	เนื้อเนียน เหลวยั้งขึ้น	ขาว	6	ไม่เกิด	แยกชั้น
2	เนื้อเนียน เหลวมาก	ขาว	6	ไม่เกิด	แยกชั้น
3	เนื้อเนียน หนืดเล็กน้อย	ขาว	5.5	ไม่เกิด	ไม่แยกชั้น
5	เนื้อเนียน หนืดมาก	ขาว	5	ไม่เกิด	แยกชั้น
6	เนื้อเนียน ค่อนข้างหนืด	ขาว	5	ไม่เกิด	ไม่แยกชั้น
7	เนื้อเนียน ค่อนข้างเหลว	ขาว	5	ไม่เกิด	ไม่แยกชั้น

4.6.3 ประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสียที่ใช้ในตำรับโลชั่น ซึ่งสารกันเสียที่ใช้ในงานวิจัยนี้คือ Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2-phenoxyethanol ทำหน้าที่ควบคุมไม่ให้จุลินทรีย์เจริญเติบโตอันเป็นสาเหตุให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อโลชั่น โดยนำผลิตภัณฑ์โลชั่นตำรับที่ 3, 4 และ 7 มาปรับปริมาณแกมมา-ออโรซานอลที่ใส่ในแต่ละสูตรเป็น 0.5, 0.7 และ 1.0 และปริมาณของน้ำมันรำข้าวที่ใส่ในแต่ละสูตรเป็น 0.8, 1.0 และ 1.5 มาทำการตรวจสอบปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี Total plate count เป็นเวลา 3 อาทิตย์ ทำโดยการนำผลิตภัณฑ์มาเจือจาง และนำมาเกลี่ยให้ทั่วผิวหน้าอาหาร NA agar บ่มเขื่อนาน 24-28 ชั่วโมง นับจำนวนโคโลนีซึ่งจำนวนที่นับได้นั้นสามารถนำมาคำนวณหาโคโลนีเชื้อที่มีชีวิตรอด ดังตารางที่ 4.11 และตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.11 โคโลนีเชื้อที่มีชีวิตรอดจากโลชั่นแกมมา-อโรซานอล

สูตร	ปริมาณแกมมา-อโรซานอลในโลชั่น (g)	จำนวนเชื้อ(cfu/1ml)*		
		สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3
3	0.5	< 30	8.90×10^8	2.39×10^9
	0.7	< 30	9.80×10^8	2.49×10^9
	1.0	< 30	7.70×10^8	1.38×10^9
4	0.5	< 30	4.70×10^8	8.50×10^8
	0.7	< 30	6.70×10^8	1.01×10^9
	1.0	< 30	4.20×10^8	8.60×10^8
7	0.5	< 30	6.30×10^8	1.74×10^9
	0.7	< 30	8.70×10^8	2.27×10^9
	1.0	< 30	5.00×10^8	1.83×10^9

หมายเหตุ *จำนวนความมีชีวิตเชื้อ = $n \times 10^n \times 10$

ตารางที่ 4.12 โคโลนีเชื้อที่มีชีวิตรอด จากโลชั่นน้ำมันรำข้าว

สูตร	ปริมาณน้ำมันรำข้าวในโลชั่น (g)	จำนวนเชื้อ(cfu/1ml)*		
		สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3
3	0.8	< 30	8.20×10^8	1.22×10^9
	1.0	< 30	8.90×10^8	1.58×10^9
	1.5	< 30	9.10×10^8	1.09×10^9
4	0.8	< 30	6.30×10^8	1.44×10^9
	1.0	< 30	7.00×10^8	1.21×10^9
	1.5	< 30	5.80×10^8	1.40×10^9
7	0.8	< 30	8.30×10^8	1.66×10^9
	1.0	< 30	7.70×10^8	1.48×10^9
	1.5	< 30	1.06×10^8	2.23×10^9

หมายเหตุ *จำนวนความมีชีวิตเชื้อ = $n \times 10^n \times 10$

4.7 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นด้วยวิธี DPPH scavenging assay

จากการวิจัยได้นำโลชั่นตำรับที่ 3, 4 และ 7 มาทำการวัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นที่ผสมแกมมา-ออโรซานอลและน้ำมันรำข้าว โดยใช้ปริมาณของแกมมา-ออโรซานอลที่ใส่ในแต่ละตำรับเป็น 0.5, 0.7 และ 1.0 กรัม และปริมาณของน้ำมันรำข้าวที่ใส่ในแต่ละตำรับเป็น 0.8, 1.0 และ 1.5 กรัม ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Scavenging assay จากการทดลอง พบว่า โลชั่นที่ผสมแกมมา-ออโรซานอลมีค่าการต้านอนุมูลอิสระตั้งแต่ 12-61% ส่วนโลชั่นที่พัฒนาด้วยการผสมน้ำมันรำข้าวที่สกัดเองมีค่าการต้านอนุมูลอิสระตั้งแต่ 35-69% และโลชั่นตำรับ 7 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดจึงทำการพัฒนาโดยการเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากขึ้นเป็นตำรับที่ 8

ตารางที่ 4.13 ผลการต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นแกมมา-ออโรซานอล ด้วยวิธี DPPH Scavenging assay

ตำรับ	ปริมาณแกมมา-ออโรซานอลในโลชั่น (g)	ค่าการดูดกลืนแสง	การต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition)*	การต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นพื้นฐาน (% inhibition)*
3	0.5	0.550	54.61	1.24
3	0.7	0.515	57.50	1.24
3	1.0	0.469	61.30	1.24
4	0.5	0.521	57.00	1.09
4	0.7	0.495	59.15	1.09
4	1.0	0.463	61.80	1.09
7	0.5	1.058	12.69	0.17
7	0.7	0.920	25.73	0.17
7	1.0	0.877	27.63	0.17

หมายเหตุ: $\% \text{inhibition} = [(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}}) / \text{Abs}_{\text{control}}] \times 100$

ตารางที่ 4.14 ผลการต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นน้ำมันรำข้าว ด้วยวิธี DPPH Scavenging assay

ตำรับ	ปริมาณน้ำมันรำข้าวในโลชั่น (g)	ค่าการดูดกลืนแสง	การต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition)*	การต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นพื้น (% inhibition)*
3	0.8	0.56	53.79	1.24
3	1.0	0.428	64.68	1.24
3	1.5	0.423	65.09	1.24
4	0.8	0.459	62.12	1.09
4	1.0	0.392	67.65	1.09
4	1.5	0.365	69.88	1.09
7	0.8	0.786	35.14	0.17
7	1.0	0.752	37.95	0.17
7	1.5	0.748	38.28	0.17

หมายเหตุ. *%inhibition = $[(Abs_{control} - Abs_{sample})/Abs_{control}] \times 100$

ตารางที่ 4.15 ผลการต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นน้ำมันรำข้าว ด้วยวิธี DPPH Scavenging assay เมื่อพัฒนาเป็นตำรับที่ 8

ปริมาณแกมมา-ออโรซานอลในโลชั่น (g)	การต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition)*	
	ตำรับ 7	ตำรับ 8
0.5	12.69	51.45
0.7	25.73	55.10
1.0	27.63	58.03

4.7 การทดสอบการระคายเคืองและทดสอบคุณสมบัติ ความปลอดภัยของสารสกัดสำหรับใช้เป็นส่วประกอบทางเวชสำอาง

จากการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์โลชั่นด้วยวิธีแบบเปิด โดยทำการทาโลชั่นทั้ง 3 ตำรับที่บริเวณท้องแขนของอาสาสมัครเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อสังเกตอาการคันและผื่นแดง พบว่าในอาสาสมัคร 50 คน ไม่แสดงอาการระคายเคืองต่อโลชั่นทั้ง 3 ตำรับ และไม่พบการเป็นพิษต่อเซลล์ เซลล์ african green monkey kidney fibroblast

4.8 การทดสอบความพึงพอใจ

งานวิจัยนี้ได้ทดสอบความพึงพอใจโดยใช้อาสาสมัคร 50 คน ทำแบบสอบถามประเมินความพึงพอใจของกลิ่นในผลิตภัณฑ์โลชั่น 3 กลิ่นคือ กลิ่นข้าวหอมสุพรรณ, กลิ่น Riz และกลิ่น Flowery (ตารางที่ 4.16) และความพึงพอใจในตัวผลิตภัณฑ์โลชั่นตัวรับที่ 3, 4 และ 7 โดยพิจารณาจากสี, ความหนืด, ลักษณะเนื้อ, ความชุ่มชื้น และความพึงพอใจโดยรวม (ตารางที่ 4.18) มาวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติด้วยโปรแกรมทางสถิติ SPSS version 17.0 เพื่อศึกษาว่าแต่ละปัจจัยมีอิทธิพลหรือไม่ต่อการเลือกตัวรับโลชั่น ซึ่งดูได้จากตารางวิเคราะห์ความแปรปรวนแสดงดังตารางที่ 4.16 และ 4.18

ตารางที่ 4.16 ความพึงพอใจของกลิ่นทั้ง 3 ในผลิตภัณฑ์โลชั่น

	แหล่งความแปรปรวน	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
กลิ่นทั้ง 3	ระหว่างกลุ่ม	131.213	2	65.607	95.430	0.000*
	ภายในกลุ่ม	101.060	147	0.687		
	รวม	232.273	149			

หมายเหตุ *Sig. <0.05 แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.17 ความพึงพอใจของกลิ่นทั้ง 3 ในผลิตภัณฑ์โลชั่นโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test

กลิ่น	ความพึงพอใจ
ข้าวหอมสุพรรณ	2.0800 ^c
Riz	3.6800 ^b
Flowery	4.3000 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.17 ผลการเปรียบเทียบความพึงพอใจของกลิ่นทั้ง 3 ชนิด คือกลิ่นข้าวหอมสุพรรณ, กลิ่นน้ำหอม Riz และกลิ่นน้ำหอม Flowery จากอาสาสมัคร 50 คน พบว่าทั้ง 3 กลิ่นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 จึงนำข้อมูลมาเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของทั้ง 3 กลิ่นโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.17) พบว่ากลิ่นที่อาสาสมัครพึงพอใจมากที่สุดคือ กลิ่น Flowery รองลงมาคือ กลิ่น Riz และกลิ่นข้าวหอมสุพรรณที่คะแนนความพึงพอใจ 4.3000, 3.6800 และ 2.0800 ตามลำดับ

ตารางที่ 4.18 ความพึงพอใจของตำรับโลชั่นที่ 3, 4 และ 7

ปัจจัยที่มีผลต่อความพึงพอใจ	แหล่งความแปรปรวน	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
สี	ระหว่างกลุ่ม	0.973	2	0.487	0.961	0.385
	ภายในกลุ่ม	74.420	147	0.506		
	รวม	75.393	149			
ความหนืด	ระหว่างกลุ่ม	6.880	2	3.440	4.089	0.019*
	ภายในกลุ่ม	123.660	147	0.841		
	รวม	130.540	149			
ลักษณะเนื้อโลชั่น	ระหว่างกลุ่ม	8.440	2	4.220	6.515	0.002*
	ภายในกลุ่ม	95.220	147	0.648		
	รวม	103.660	149			
การซึมซาบลงสู่ผิว	ระหว่างกลุ่ม	2.080	2	1.040	1.262	0.286
	ภายในกลุ่ม	121.180	147	0.824		
	รวม	123.260	149			
ความชุ่มชื้นบริเวณที่ทา	ระหว่างกลุ่ม	1.000	2	0.500	0.886	0.415
	ภายในกลุ่ม	83.000	147	0.565		
	รวม	84.000	149			
รวม	ระหว่างกลุ่ม	9.160	2	4.580	9.056	0.000*
	ภายในกลุ่ม	74.340	147	0.506		
	รวม	83.500	149			

หมายเหตุ *Sig. <0.05 แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 4.19 ความพึงพอใจของตำรับโลชั่นที่ 3, 4 และ 7 โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test

ตำรับโลชั่น	ความเหนียว	ลักษณะเนื้อโลชั่น	ความพึงพอใจโดยรวม
3	3.1800 ^b	3.3800 ^b	3.3600 ^b
4	3.3800 ^b	3.6400 ^b	3.8000 ^a
7	3.7000 ^a	3.9600 ^a	3.9400 ^a

หมายเหตุ ตัวอักษรในคอลัมน์เดียวกันมีความแตกต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.19 ผลการเปรียบเทียบความพึงพอใจของตำรับโลชั่นที่ 3, 4 และ 7 ในแต่ละปัจจัยพบว่าปัจจัยเรื่องความเหนียว, ลักษณะเนื้อโลชั่น และความพึงพอใจโดยรวมมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงว่าปัจจัยทั้ง 3 มีอิทธิพลหรือมีผลต่อการเลือกตำรับโลชั่น จากนั้นนำข้อมูลทั้งหมดมาเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ตารางที่ 4.19)พบว่าตำรับที่อาสาสมัครให้คะแนนความพึงพอใจในปัจจัยเรื่องความเหนียว, ลักษณะเนื้อโลชั่นและความพึงพอใจโดยรวมมากที่สุดคือตำรับ 7 ที่คะแนนความพึงพอใจ 3.700, 3.9600 และ 3.9400 ตามลำดับ



บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

ข้าวหอมสุพรรณที่นำมาใช้ในการทดลองมีความชื้นร้อยละ 7.99 เมื่อนำมาสก๊ตน้ำมันรำข้าว ด้วยวิธีการสก๊ต 2 วิธี คือ การหมักด้วยตัวทำละลาย และการใช้คลื่นเสียงร่วม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 และ 60 นาที โดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล เป็นตัวทำละลาย และมีอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการสก๊ต 1:2 1:4 และ 1:6 โดยน้ำหนัก พบว่าน้ำมันรำข้าวที่สก๊ตได้จากวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมมีปริมาณมาก ซึ่งสภาวะที่ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวสูงที่สุด คือ การสก๊ตโดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 โดยน้ำหนักเป็นเวลา 30 และ 60 นาที และที่สก๊ตโดยใช้ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:2 โดยน้ำหนักเป็นเวลา 60 นาทีซึ่งทั้ง 3 สภาวะนี้ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่มีความแตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) โดยปริมาณน้ำมันรำข้าวจะอยู่ในช่วง 0.23-0.25 กรัมต่อกรัมรำข้าว และมากกว่าน้ำมันรำข้าวที่สก๊ตได้จากการสก๊ตด้วยวิธีการหมักแบบธรรมดาซึ่งให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวสูงที่สุดที่ 0.21 กรัมต่อกรัมรำข้าว โดยใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลาย ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:2 โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 60 นาที ปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่สก๊ตได้จากวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:6 โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 30 นาทีจะให้ปริมาณแกมมาโอไรซานอล 51.46 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และวิธีการหมักแบบธรรมดาที่สก๊ตโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:2 โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 60 นาทีจะให้ปริมาณแกมมาโอไรซานอล 48.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P<0.05$) และเป็นสภาวะที่เหมาะสมในการสก๊ตน้ำมันรำข้าวเพื่อให้มีปริมาณแกมมาโอไรซานอลสูงที่สุด น้ำมันรำข้าวที่สก๊ตได้จากวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด เมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:2 1:4 และ 1:6 โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 60 นาที และที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:2 โดยน้ำหนักเป็นเวลา 30 นาที ซึ่งสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ไม่แตกต่างกันในทางสถิติ ($P>0.05$) และความเข้มข้นของสารสก๊ตที่ยับยั้งอนุมูลอิสระอยู่ในช่วง 1.13-1.37 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งดีกว่าน้ำมันรำข้าวที่สก๊ตได้จากวิธีการหมักแบบธรรมดาซึ่งให้ค่าความเข้มข้นของสารสก๊ตที่ยับยั้งอนุมูลอิสระต่ำที่สุด โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:2 โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 30 นาที

จากการศึกษาพัฒนาตำรับโลชั่นผสมแกมมา-ออไรซานอลและน้ำมันรำข้าว ทั้ง 7 ตำรับพบว่าตำรับที่มีคุณสมบัติทางกายภาพเช่นลักษณะเนื้อโลชั่นความหนืดคุณสมบัติทางเคมีเช่นความเป็นกรด-ด่างหลังทดสอบความคงตัวที่ดีที่สุด คือ ตำรับ 3, 4 และ 7 โดยมีลักษณะเนื้อเนียนละเอียด ซึมซาบไว ไม่รู้สึกเหนอะหนะ มีค่า pH อยู่ในช่วง 5.0-6.0 และไม่เกิดการแยกชั้นของโลชั่น

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นตำรับ 3, 4 และ 7 โดยวิธี DPPH scavenging assay เปรียบเทียบกับโลชั่นพื้นฐาน พบว่าตำรับ 3 และ 4 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใกล้เคียงกัน โดยตำรับ 4 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ส่วนตำรับ 7 นั้นให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยที่สุดเนื่องจากไม่มี Butylated hydroxytoluene ในตำรับ ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงนำตำรับ 7 มาพัฒนาตำรับให้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดียิ่งขึ้นโดยเติม Butylated droxytoluene 0.1 g พบว่าหลังเติม

Butylated hydroxytoluene ตำรับ 7 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้นและมีค่าใกล้เคียงกับ ตำรับ 3 และ 4

การศึกษาความพึงพอใจโดยใช้อาสาสมัคร 50 คนในการทำแบบสอบถามความพึงพอใจ พบว่า กลิ่นที่อาสาสมัครให้คะแนนความพึงพอใจมากที่สุดคือ กลิ่น Flowery รองลงมาคือ กลิ่น Riz และ กลิ่นข้าวหอมสุพรรณ ที่คะแนนความพึงพอใจ 4.3000, 3.6800 และ 2.0800 ตามลำดับ ส่วน การศึกษาความพึงพอใจในตำรับโลชั่น 3, 4 และ 7 พบว่าปัจจัยเรื่องความหนืด, ลักษณะเนื้อโลชั่น ความชุ่มชื้น และความพึงพอใจโดยรวมมีผลต่อการเลือกตำรับที่ดีที่สุด โดยตำรับที่อาสาสมัครให้ คะแนนความพึงพอใจมากที่สุดคือตำรับ 7 ที่คะแนนเรื่องความหนืด 3.700 คะแนน, ลักษณะเนื้อ โลชั่น 3.9600 คะแนน และความพึงพอใจโดยรวม 3.9400 คะแนน

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรมีการควบคุมคุณภาพของตัวอย่างรำข้าวที่นำมาใช้ให้มีความสดใหม่อยู่เสมอ โดยการนำตัวอย่างไปเก็บไว้ในที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า -20 องศาเซลเซียส และไม่ควรเก็บไว้นาน หรือสกัดทันทีเมื่อได้ตัวอย่างรำข้าวมา เพื่อป้องกันการทำงานของเอนไซม์ในรำข้าวและชะลอการเกิดปฏิกิริยา ต่างๆนอกจากนี้ยังควรป้องกันปัจจัยที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เช่น แสง อากาศ เป็นต้น เพื่อไม่ให้เกิดกลิ่นหืนในตัวอย่าง

5.2.2 ควรมีการศึกษาการใช้ประโยชน์จากกากรำข้าวที่เหลือจากกระบวนการสกัดน้ำมันรำ ข้าว เช่น การศึกษากระบวนการสกัดซ้ำหรือนำไปแปรรูปเป็นอาหารสัตว์เพื่อใช้ในการผลิตอาหาร เสริม ซึ่งจะเป็นการช่วยลดขั้นตอนและค่าใช้จ่ายในการกำจัดของเสีย รวมทั้งเป็นการใช้กากรำเพื่อให้ เกิดประโยชน์สูงสุด.

เอกสารอ้างอิง

- คมสัน หุตะแพทย์.2550. น้ำมันรำข้าว คุณค่าดังทอง. เกษตรกรรมธรรมชาติ. 4 : 28-36.
- จารุณี เกษรพิกุล, สุรวัดน์ ชะลอสันติสกุล. คู่มือปฏิบัติการจุลชีววิทยาสำหรับนักศึกษา
วิทยาศาสตร์-การเกษตรมหาวิทยาลัยศิลปากร.
- จีรเดช มโนสร้อย และคณะ. เทคโนโลยีทางเครื่องสำอาง. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีมหาวิทยาลัยเชียงใหม่.
- จุฬาลักษณ์ ทวีบุตร. 2551. การเพิ่มการสะสมแอนโทไซยานินในรากสะสมอาหารของกวาวเครือแดง
(*Butea superba* Roxb.) ด้วยเอทีฟอนและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกวาวเครือแดง.
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตพืชมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- จุฑามาศ เจียรนัยกุลวานิช. (2555).จริงหรือไม่? มะหาดทำให้ขาขึ้นได้. ภาควิชาเภสัชเคมี คณะ
เภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- เจนจิรา จิรัมย์, ประสงค์ สีหนาม. (2554).อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ : แหล่งที่มาและ
กลไกการเกิดปฏิกิริยา . *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์*.ปีที่ 1(1). 59-70.
- ฉลวย ม่วงพรรณ. (2555). การศึกษาผลการบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันรำข้าว. ปทุมธานี :
ปฐมสิทธิ์จำกัด.
- ธัมมทิวัดต์ นรรัตน์วันชัย. ความรู้เกี่ยวกับเครื่องสำอาง. สำนักวิชาเวชศาสตร์ชะลอวัยและฟื้นฟู
สุขภาพมหาวิทยาลัยมหิดล.
- ธิดารัตน์ บุญรอด และคณะ. (2553). การพัฒนาตำรับเวชสำอางบำรุงผิวผสม Embelin. *วารสาร
วิจัยมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย*. ปีที่ 2(2). 69-77.
- ดวงใจ มาลัย และบุญทิว กุญยกานนท์ เบทส์. 2544. การประเมินคุณภาพของรำข้าวเจ้าเพื่อพัฒนา
ผลิตภัณฑ์อาหาร. *วารสารโภชนาการ*. 36(4) : 29-39.
- ดวงพุทธศุภร์. 2543.ไขมันและผลิตภัณฑ์จากไขมัน.เชียงใหม่.มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.หน้า 39,
128-146
- นงเยาว์ ชูสุข. (2547). การพัฒนาตำรับโลชั่นบำรุงผิวที่มีส่วนผสมของน้ำมันหอมระเหยแพทชูลิ.
วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาพัฒนาผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตร
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- นัยนา บุญทิววัฒน์ และเรวดี จงวัฒน์. 2545. น้ำมันรำข้าว ทางเลือกเพื่อสุขภาพของคนไทย.
กรุงเทพฯ : โอเดียนสโตร์.
- นิธิยา รัตนานนท์. 2529. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน.เชียงใหม่. มหาวิทยาลัย
เชียงใหม่.หน้า 83-87.
- นิธิยา รัตนานนท์. 2548. วิทยาศาสตร์การอาหารของไขมันและน้ำมัน.กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์โอ
เดียนสโตร์.
- นพมาศ มนัสวารกุล.2545. การสำรวจปริมาณแกมมา-โอโรซานอลและวิตามินอีในข้าวไทยสาย
พันธุ์ต่างๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

- นฤมล นิมนานพิภักดี. 2546. การเตรียมและการประเมินของสารสกัดน้ำมันรำข้าวที่มีส่วนประกอบของแกมมาโอไรซานอล.วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต เกษศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล. เนื้อทอง วรานุวัธ. 2537. ศักยภาพข้าวไทย : ทิศทางใหม่สู่อุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ประพาส วีระแพทย์. 2531. ความรู้เรื่องข้าว. กรุงเทพฯ : ไทยวัฒนาพานิช.
- พันทิพา พงศ์เพ็ญจันทร์, ธวัชชัย แก้วถาทำ และดำเนิน กาละดี. 2547. ปริมาณแกมมา-โอไรซานอลในผลิตภัณฑ์จากพืชชนิดต่างๆ. วารสารเกษตร. 20(2) : 111-119.
- ภัทรพร ผูกคล้าย และธัญญรัตน์เชื้อสะอาด. 2553. การศึกษาคุณสมบัติของสารต้านอนุมูลอิสระในพรอพอลิส. วิทยานิพนธ์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์พื้นฐาน มหาวิทยาลัยแม่โจ้.
- เมทนี ธาดานุกุลวัฒนา. (2554). การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชะลอวัยที่มีส่วนผสมของสารสกัดดอกราชพฤกษ์. ปริญญาโทวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.
- มณฑิราอินทพิบูลย์ . การพัฒนาตำรับโลชั่นอาบแดดเพื่อลดความคล้ำของผิวในอาสาสมัคร. วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิตสาขาวิทยาศาสตร์ความงามและสุขภาพคณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
- มลศิริ วีโรทัย. 2545. เทคโนโลยีของผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ. กรุงเทพฯ : สถาบันพัฒนาคุณภาพวิชาการ.
- มลฤดี เขารัตน์. 2540. รีเอสเทอร์ฟิเคชันของกรดไขมันอิสระในรำข้าวและไฮโดรไลซิสน้ำมันรำข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. หน้า 4-39.
- ราชบัณฑิตยสถาน. 2525. พจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถาน พ.ศ.2525. กรุงเทพฯ : อักษรเจริญทัศน์.
- วราพรพงศ์ธรรกุลพานิช. 2543. การวิเคราะห์เอกลักษณ์และปริมาณโทโคฟีรอลและโอไรซานอลในกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. หน้า 38, 50, 72-82.
- วันชัย ศรีวิบูลย์ และคณะ. *สมุนไพรธรรมชาติที่นำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง*, ฉ.1 . กลุ่มควบคุมเครื่องสำอาง สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา
- สายสนม ประดิษฐดวง, เนื้อทอง วรานุวัธ และมณี แสงเงิน. 2532. การนำไซรัข้าวมาใช้ประโยชน์. รายงานผลการวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ : สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สายสนม ประดิษฐดวง, เนื้อทอง วรานุวัธและรุ่งทิพย์ จุฑะมงคล.2534. การนำไซรัข้าวมาใช้ประโยชน์/สายสนม ประดิษฐดวง, เนื้อทอง วรานุวัธ, รุ่งทิพย์ จุฑะมงคล. กรุงเทพฯ : คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ. 2554. มหัศจรรย์นวัตกรรมข้าวไทย. กรุงเทพฯ : งานส่งเสริมภาพลักษณ์องค์กร สำนักงานนวัตกรรมแห่งชาติ.

- สุวลิ โลวีรกรณ์. 2549. อาหารด้านอนุมูลอิสระกับสุขภาพ. ขอนแก่น : สำนักวิทยบริการ มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- เสาวนีย์ กระสานดิสุข , หทัยชนก รุณรงค์. (2549). การพัฒนาตำรับโลชั่นบำรุงผิว. ปรินญาณิพนธ์ เกษศาสตร์บัณฑิต คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.
- สมวงษ์ ตระกูลรุ่ง. 2546. ยีนความหอมของข้าวหอมมะลิ. Lab Today. 9 : 66-69.
- ศลิษา โชคเหมาะ. (2546). การพัฒนาวิธีวิเคราะห์ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในรำข้าวและผลของ ปริมาณแกมมาโอโรซานอลต่อการเปลี่ยนแปลงค่ากรดของน้ำมันรำข้าว. วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- ภกญุชบັນ. ศิริธัญญารำข้าวเก่าไทย. ภาควิชาวิทยาศาสตร์เกษตรกรรม คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. ลักษณะการ. (2553). การประเมินฤทธิ์ด้านการอักเสบของสารสกัด แกมมา-โอโรซานอลจาก
- อรุณศรี ปรีเปรม, ผดุงขวัญ จิตโรภาส และบังอร ศรีพานิชกุลชัย. 2548. รำข้าวที่มีคุณภาพ : คุณค่า ต่อสุขภาพ. วารสารศูนย์บริการวิชาการ. 13(3) : 4-9.00
- อิสระวัฒน์ ฤทธนพงศธร และเฉลิม เรื่องวิริยะชัย. (2556). การแยกสารประกอบฟีนอลิกและ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจากผลสัปปะรด. วารสารวิชาการ *Veridian E-Journal*. ปีที่ 6(3). 887-902.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2534. ผลิตภัณฑ์จากข้าวและคุณค่าทางโภชนาการ. วารสารอุตสาหกรรมเกษตร. 2(2) : 109.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2544. ผลิตภัณฑ์ข้าวไทย: จากอดีตถึงปัจจุบันสู่อนาคต. อาหารและยา. 8(3), 69-74.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. ข้าว : วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรอนงค์ นัยวิกุล และอรสิริ ทุตยภาค. 2542. ข้าว : ทิศทางสู่การส่งออก. อุตสาหกรรมเกษตร. 10(2) : 1-75.
- การใช้โปรแกรม SPSS ในการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติเพื่อการวิจัย. สืบค้นเมื่อ 15 มีนาคม 2557, จาก [Joomlas.ru.ac.th/km/uthai/images/knowledge_sharing/KM_SPSS.pdf](http://www.joomlas.ru.ac.th/km/uthai/images/knowledge_sharing/KM_SPSS.pdf)
- โครงสร้างของผิวหนัง. แหล่งที่มา : <http://www.tanenvy.com/3/sunless-tanning/how-does-spray-tanning-work>, 30 มีนาคม 2557.
- Adhikari, S. and Adhikari, J. 1986. Indian rice bran lecithin. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 63 : 1367-1369.
- Barber, S. and Benedito de Barber, C. 1980. *Rice : Production and utilization*, Luh, B.S. (Ed.). New York: the AVI Publishing Company
- Barber, S. and Benedito de Barber, C. 1974. Basic and applied research needs for optimizing utilization of rice bran as food and feed. *Proceeding of the Rice By-Products Utilization International Conference*. 4 : 1-99.
- Barber, S., Bose, A.N., Kwon, T.W., Keneaster, K.K., Tortosa, E. and Yasumoto, K. 1974. Optimizing technologies of rice bran utilization 2. *Proceedings of the Rice By-Products Utilization International Conferenes*. 4 : 247-250.

- Barber, S. and Benedito de Barber, C. 1985. Rice bran : An underutilized raw material. United Nation Industrial Development Organization (UNIDO) Publication.
- Bonner, B., Warren, B. and Bucci L. 1990. Influence of ferulate supplementation on postexercise stress hormone levels after repeated exercise stress. The Journal of Applied Sport Science Research. 4 : 110.
- Bucci, L.R., Blackman, G. and Defoyd, W. 1990. Effect of ferulate on strength and body composition of weightlifters. The Journal of Applied Sport Science Research. 4 : 110.
- Chen, M.H. and Bergman, C.J. 2005. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and gamma-oryzanol contents. Journal of Food Composition and Analysis. 18 : 139-151.
- Cheruvanky, R. 2003. Phytochemical products: rice bran. Phytochemical functional foods.
- Choe, E. and Min, DB. 2006. Mechanisms and factors for edible oil oxidation. Food Science and Food Safety. 5 : 169-186.
- Das, P.K., Chaudhuri, A., Kaimal, T.N.B. and Bhalerao, U.T. 1999. U.S. Patent No.5,869,708:Process for the isolation of oryzanols from crude dark acid oil (rice bran).
- Das, P.K., Chaudhuri, A., Kairnal, T.N.B. and Bhalerao, U.T. 1998. Isolation of gamma-oryzanol through calcium ion induced precipitation of anionic micellar aggregates. Journal of Agriculture Food Chemistry. 46 : 3073-3080.
- Diack, M. and Saska, M. 1994. Separation of vitamin E and gamma-oryzanol from rice bran oil by normal-phase chromatography. Journal of the American Oil Chemists' Society. 71 : 1211-1217.
- Duan X., Zhang, W., Li, X. and Wang B. 2006. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. Food Chemistry. 95 : 37-43.
- Evershed, R.P., Spooner, N., Prescott M.C. and Goad, L.J. 1988. Isolation and characterization of intact steryl ferulate from seeds. Journal of Chromatography. 440 : 23-35.
- Fang, N.B., Yu, S.G. and Badger, T. M. 2003. Characterization of triterpene alcohol and sterol ferulates in rice bran using LC-MS/MS. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 51 : 3260-3267.
- Ganesan P., Kumar C.S. and Bhaskar N. 2008. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. Bioresource Technology. 99 : 2717-2723.
- Holla, K.S. and Press, R.R. 1987. Industrial hydrogenation of rice bran oil a substitute for Tallow. Journal of the American Oil Chemists' Society. 64 : 1334-1336.

- Houston, D.F. 1972. Rice, Chemistry and Technology, Houston, D.F. (Ed.). Minnesota : American Association of Cereal Chemistry Inc.
- Hu, W., Well, J.H., Shin, T. and Godber, J.S. 1996. Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanol from stabilized rice bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 73(12) : 1653-1656.
- Imsanguan, P., Roaysubtawee, A., Borirak, R., Pongamphai, S., Douglas, S. and Douglas, P.L. 2008. Extraction of alpha-tocopherol and gamma-oryzanol from rice bran. *LWT*. 41 : 1417-1424.
- Iqbal, J., Minhajuddin, M. and Beg Z.H. 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
- Juliano, O. 1985. Rice : Chemistry and Technology. Minnesota : American Association of Cereal Chemists.
- Juliano, O. 1993. Rice in human nutrition. Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nations.
- Kahlon, T.S., Chow, F.I., Chiu, M.M., Hudson, C.A. and Sayre, R.N. 1996. Cholesterol-lowering by rice bran and rice bran oil unsaponifiable matter in hamsters. *Journal of Cereal Chemistry*. 73 : 69-74.
- Kaneko, R. and Tsuchiya, T. 1954. Compounds in rice bran and germ oils. *Journal of the Chemical Society of Japan*. 57 : 526.
- Kaneko R. and Tsuchiya T. 1954. *Proceedings of Industrial Research Institute of Tokyo*. 49 : 142
- Kim, C.J., Byun, S.M., Cheigh, H.S. and Kwon, T.W. 1987. Comparison of solvent extraction characteristics of rice bran pretreated by hot air drying steam cooking and extrusion. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 64(4) : 514-516.
- Kitagishi, K. and Yamane, I. 1981. Heavy Metal Pollution in Soils in Japan. Tokyo: Japan Scientific Societies.
- Kochhar, S.P. 2000. Stabilisation of frying oils with natural antioxidative components. *European Journal of Lipid Science and Technology*. 102 : 552-559
- Kreuzer, H. 2000. Dividends from rice. Food Product Design, Weeks Publishing Company, USA Rice Foundation, Texas.
- Krishna, S. et al. 2001. Bioavailability and preliminary clinical efficacy of intrarectal artesunate in Ghanaian children with moderate malaria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 45 : 509-516

- Larry, M.S. 1989. Stanols and sterol esters of ferulic and p-coumaric acids in wheat, corn, rye and triticale. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*. 37 : 662-667.
- Lichtenstein, A.H., Anaman, L.M., Carrasco, W., Gualtieri, L.J., Jenner, J.L., Ordoras, J.M., Nicolosi, R.J., Goldin, B.R. and Schafer, E.J. 1994. Rice bran oil consumption and plasma lipid levels in moderately hypercholesterolemic human. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*. 14 : 549-556.
- Lloyd, B.J., Siebenmorgen, T.J. and Beers, K.W. 2000. Effect of commercial processing on antioxidants in rice bran. *Cereal Chemistry*. 77(5) : 551-555.
- Luh, B.S. 1991. *Rice : Utilization, Volume II*. New York : Springer Science and Business Media New York.
- McCaskill, D.R. and Zhang F. 1999. Use of rice bran oil in foods. *Food Technology*. 53(2) : 50-53.
- Molyneux, P. 2005. The use of the stable free radical diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant. *Polymer chemistry*.
- Murase, Y. and Iishima, H. 1963. Clinical Studies of Oral Administration of Gamma oryzanol on Climacteric Complaints and Its Syndrome. *Obstet Gynecol Practice*. 12 : 147-149.
- Nawar, W.W. 1996. *Food chemistry*, Fennema, O.R. (Ed.). New York : Marcel Dekker
- Nesaretnam, K., Stephen, R., Dils, R., and Darbre, P. 1998. Tocotrienols inhibit the growth of human breast cancer cells irrespective of estrogen receptor status. *Lipids*. 33 : 461-469.
- Nicolosi, R.J., Ausman, L.M. and Hegsted, D.M., 1991, Rice bran oil lower serum total and low-density lipoprotein cholesterol and Apo-B levels in nonhuman primates. *Atherosclerosis*. 88 : 133-142.
- Nicolosi, R.J., Rogers, E.J., Ausman, L.M. and Orthoefer, F.T. 1993. Rice bran oil and its health benefits. in *rice science & technology*. 421.
- Norton, R.A. 1995. Quantification of steryl ferulate and p-coumarate esters from corn and rice bran. *Lipids*. 30 : 269-274.
- Orthoefer, F.T. 1996. Rice Bran Oil : Healthy Lipid Source. *Food Technology*. 50(12) : 62-64.
- Patel, M. and Naik, S.N. 2004. Gamma-oryzanol from rice bran oil – A review. *Journal of Scientific and Industrial Research*. 63 : 569-578.
- Raghuram, T., Brahamaji, C. and Rukmini, C. 1989. Studies on hypolipidemic effects of dietary rice bran oil in human subjects. *Nutrition reports international*. 39 : 889-895.

- Rogers, E.J., Rice, S.M., Nicolosi, R.J., Carpenter, D.R., McClelland, C.A. and Romanczyk, Jr. 1993. Identification and quantitation of gamma-oryzanol components and simultaneous assessment of tocopherols in rice bran oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 70(3), 301 : 307.
- Rong, N. Ausman, L.M. and Nicholosi, R.J. 1994. Rice bran oil decreases plasma LDL cholesterol by inhibitory dietary cholesterol absorption. *The journal of the Federation of American Societies for Experimental Biology*. 8 : A162.
- Rong, N., Ausman, L.M. and Nicholosi, R.J. 1997. Oryzanol decreases cholesterol absorption and aortic fatty streaks in hamsters. *Lipids*. 32 : 303-309.
- Rukmini, C. and Rughuram, T.C. 1991. Nutritional and biochemical aspects of the hypolipidemic action of rice bran oil. *The Journal of the American College of Nutrition* 10 : 593-601.
- Salunkhe, D.K., Chavan, J.K., Adsule, R.N. and Kadam, S.S. 1992. *World Oilseeds Chemistry Technology and Utilization*. New York : Van Nostrand Reinhold.
- Sakurai, J. 1974. Utilization of Rice By-products in Japan. *Proceedings of the Rice Byproducts Utilization International Conference*. 4 : 101-113.
- Sasaki, J., Takada, Y., Kusuda, M., Tanabe, Y., Matsunaga, A. and Arakawa, K. 1990. Effects of gamma-oryzanol on serum lipids and apolipoproteins in dyslipidemic schizophrenics receiving major tranquilizer. *Clinical Therapeutics* 12 : 263-268.
- Saska, M. and Rossiter, G.J. 1998. Recovery of gamma-oryzanol from rice bran oil with silica - based continuous chromatography. *Journal of the American Oil Chemists' society*. 75(10) : 1421-1427.
- Sayre, B. and Saunders, R. 1990. Rice bran and rice bran oil. *Lipid Technology*. 2 : 72-76.
- Sayre R.N. and Saunder R.M. 1990. Cholesterol-lowering effects of rice bran and rice bran oil fractions in hypercholesterolemic hamsters. *Cereal Chemistry*. 69(5) : 485-489.
- Seetharamaiah, G.S. and Chandrasekhara, N. 1989. Studies on hypocholesterolemic activity of rice bran oil. *Atherosclerosis*. 78 : 219-233.
- Seetharamaiah, G.S. and Prabhakar, J.V. 1986. Oryzanol content of Indian rice bran oil and its extraction from soap stock. *Journal of Food Science and Technology*. 23 : 270-276.

- Seetharamaiah, G.S., Krishnakantha, T.P. and Chandrasekhara, N. 1990. Influence of oryzanol on platelet aggregation in rats. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*. 36 : 291-297.
- Seitz, L.M. 1989. Stanol and sterol esters of ferulic acid p-coumaric acids in wheat, corn, rye and triticale. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 37 : 662-667.
- Sharma, R.D. and Rukmini, C. 1986. Rice bran oil and hypocholesterolemia in rats. *Lipids*. 21 : 715-717.
- Sharma, R.D. and Rukmini, C. 1987. Hypocholesterolemic Activity of Unsaponifiable Matter of Rice Bran Oil. *Journal of Medical Research*. 85 : 278-281.
- Shin, T. and Godber J.S. 1994. Isolation of four tocopherols and four tocotrienols from a variety of natural sources by semi-preparative high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*. 678(1) : 49-58.
- Tadahisa, H. and Donald, A. 1991. Preventive effect of antioxidants on lipid peroxidation in the retina. *Ophthalmic Research*. 23 : 196-203.
- Takei, T. 1974. Utilization of Defatted Rice Bran as Fish Soluble Adsorbent Material. *Proceedings of the Rice By-Products Utilization International Conference*. 4 : 155-170.
- Tamagawa, M., Shimizu, Y., Takahashi, Y., Otaka, T., Kimura, S., Kadowaki, H., Uda, F. and Miwa, T. 1992. Carcinogenicity study of gamma-oryzanol in F344 rats. *Food and Chemical Toxicology*. 30 : 41-48.
- Van Hoed, V., Depaemelaere, G., Vila A.J., Santiwattana, P., Verhe, R. and De G.W. 2006. Influence of chemical refining on the major and minor components of rice brain oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 83 : 315-21.
- Wrenshall, C.L. 1974. Research on Rice Bran Utilization in Thailand. *Proceedings of the Rice By-Products Utilization International Conference*. 4 : 115-120.
- Xu, Z. and Godber, J.S. 1999. Purification and identification of components of gamma-oryzanol in rice bran oil. *Journal of Agriculture Food Chemistry*. 47(7) : 2724-2728.
- Xu, Z. and Godber, J.S. 2000. Comparison of supercritical fluid and solvent extraction methods in extracting Y-oryzanol from rice bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 77(5) : 547-551.

- Xu, Z., Hua, N. and Godber, J.S. 2001. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and gamma-oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis(2-methylpropionamide) dihydrochloride. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 49 : 2077-2081.
- YamazakiK, HashimotoA, KokusenyaY, MiyamotoT, SatoT. (1994). *Chemical Pharmaceutical Bulletin*.42(8).1663-5.
- Zigoneanu, I.G., Williams, L., Xu, Z. and Sabliov C.M. 2008. Determination of antioxidant components in rice bran oil extracted by microwave-assisted method. *Bioresource Technology*. 99 : 4910-4918.
- Zullaikah, S., Melwita, E. and Ju, Y.H. 2009. Isolation of oryzanol from crude rice bran oil. *Bioresource Technology*. 100 : 299-302.
- [ONLINE].Available : <http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=19.htm>ค้นเมื่อ 8 เมษายน 2557
- [ONLINE].Available : <http://www.brrd.in.th/rkb/varieties/index.php-file=content.php&id=99.htm>ค้นเมื่อ 8 เมษายน 2557



ภาคผนวก ก

การสกัดแบบหมักตัวทำละลาย(Maceration)

1. การเตรียมตัวอย่าง

- 1.1 ชั่งรำข้าว 5 กรัม ใส่ลงในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร
- 1.2 เติมหักตัวทำละลายลงในอัตราส่วน 1:2 1:4 และ 1:6 โดยน้ำหนัก ดังนั้นจะเติมหักตัวทำละลายลงไปเป็น 10 20 และ 30 กรัมตามลำดับ
- 1.3 ปิดพลาสติกด้วยแผ่นฟอยล์ แล้วรัดด้วยหนังยางให้แน่น ก่อนนำไปไว้ในเครื่องเขย่า (Shaker)

2. การเก็บรักษาตัวอย่างระหว่างรอการระเหยตัวทำละลาย

หลังจากกรองแยกรำข้าวออกจากส่วนใสแล้ว จะนำส่วนใสที่ได้ไปเก็บไว้ในตู้หมักเย็นที่มีอุณหภูมิอยู่ในช่วงระหว่าง 1-4 องศาเซลเซียสและมีดสนิท เพื่อทำการระเหยตัวทำละลายต่อไป

3. สภาวะที่ใช้ในการระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ(Evaporator)

อุณหภูมิที่ใช้ในการระเหยตัวทำละลาย(bath temperature)คือ 45 องศาเซลเซียสใช้ความเร็วรอบในการหมุนเป็น 120 รอบต่อนาที และควบคุมความดันดังนี้

- 3.1 ตัวอย่างที่ใช้เฮกเซน(Hexane)เป็นตัวทำละลาย จะใช้ความดันเป็น 360 มิลลิบาร์
- 3.2 ตัวอย่างที่ใช้เอทิลอะซิเตต(Ethyl acetate) เป็นตัวทำละลาย จะใช้ความดันเป็น 260 มิลลิบาร์
- 3.3 ตัวอย่างที่ใช้อะซิโตน(Acetone) เป็นตัวทำละลาย จะใช้ความดันเป็น 560 มิลลิบาร์
- 3.4 ตัวอย่างที่ใช้ไอโซโพรพานอล(Isopropanol) เป็นตัวทำละลาย จะใช้ความดันเป็น 150 มิลลิบาร์
- 3.5 ตัวอย่างที่ใช้เอทานอล(Ethanol) เป็นตัวทำละลาย จะใช้ความดันเป็น 200 มิลลิบาร์

4. การเก็บรักษาตัวอย่างระหว่างรอการทดสอบ

หลังจากระเหยตัวทำละลายเรียบร้อยแล้ว จะได้ส่วนของน้ำมันรำข้าวออกมา ซึ่งน้ำมันรำข้าวที่ได้นี้ จะนำไปเก็บไว้ในตู้หมักแข็งที่มีอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสและมีดสนิท เพื่อชะลอการเกิดปฏิกิริยาต่างๆ

ภาคผนวก ข

การวัดปริมาณสารแกมมาไอโซซานอลด้วยเครื่องHigh Performance Liquid Chromatography(HPLC)

1. การเตรียมเฟสเคลื่อนที่(Mobile phase)

อุปกรณ์ที่ใช้ในการเตรียมเฟสเคลื่อนที่นี้จะต้องล้างให้สะอาดก่อนนำไปใช้ หลังจากล้างเสร็จแล้ว ให้นำมาล้างด้วยน้ำกลั่น ก่อนนำไปล้างด้วยเอทานอลอีกครั้ง จากนั้นจะนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสจนแห้งก่อนนำไปใช้

เฟสเคลื่อนที่(Mobile phase)ที่ใช้ประกอบเมทานอล ไอโซโพรพานอล และ เอทิลอะซิเตต (HPLC grade)ในอัตราส่วน 47.5 : 40 : 12.5 ตามลำดับ เมื่อทำการเตรียมเฟสเคลื่อนที่ตามอัตราส่วนดังกล่าวแล้ว จะนำไปกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร จากนั้นจึงไปทำการสันสะเทือนด้วยคลื่นเสียง เพื่อไล่อากาศออกจากเฟสเคลื่อนที่

2. การเตรียมกราฟมาตรฐานแกมมาไอโซซานอล

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแกมมาไอโซซานอลที่ใช้ ได้แก่ 50 30 20 10 5 1 0.5 0.1 และ 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งมีวิธีการเตรียมดังนี้

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานแกมมาไอโซซานอลความเข้มข้นเริ่มต้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2 นำสารละลายมาตรฐานแกมมาไอโซซานอลความเข้มข้นเริ่มต้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 30 20 10 5 และ 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.3 จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานแกมมาไอโซซานอลความเข้มข้น 1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 0.5 0.1 และ 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.4 นำสารละลายมาตรฐานแกมมาไอโซซานอลแต่ละความเข้มข้นมากรองผ่านหัวกรองตัวอย่างชนิด PTFE ที่มีขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร

2.5 ฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ เข้าไปในเครื่อง HPLC

2.6 นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของแกมมาไอโซซานอลกับพื้นที่ใต้พีค

หมายเหตุ : จะใช้เฟสเคลื่อนที่ในการละลายสารมาตรฐานและการเจือจาง

3. การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม โดยละลายตัวอย่างในเฟสเคลื่อนที่ แล้วกรองผ่านหัวกรองตัวอย่างชนิดพีทีเอฟอี(PTFE)ที่มีขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร จากนั้นฉีดเข้าไปในเครื่อง HPLC แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแกมมาไอโซซานอล เพื่อหาปริมาณแกมมาไอโซซานอลในตัวอย่าง

4. การคำนวณ

4.1 เตรียมสารละลายตัวอย่าง(stock solution) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งสารตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม ละลายในเฟสเคลื่อนที่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ละลายจนได้สารละลายใส

4.2 เจือจางสารละลายตัวอย่างจาก 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดย

$$\begin{aligned}
 C_1V_1 &= C_2V_2 \\
 (1000 \mu\text{g/mL})(V_1) &= (30 \mu\text{g/mL})(1 \text{ mL}) \\
 V_1 &= \frac{(30 \mu\text{g/mL})(1 \text{ mL})}{(1000 \mu\text{g/mL})} \\
 V_1 &= 0.03 \text{ mL} \\
 &= 30 \mu\text{L}
 \end{aligned}$$

ดังนั้น จะต้องดูดสารละลายตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร เป็นปริมาตร 30 ไมโครลิตร และเติม mobile phase เป็นปริมาตร 970 ไมโครลิตร จะได้สารละลายตัวอย่าง ที่ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตรฉีดสารละลายตัวอย่าง ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ในเครื่อง RP-HPLC หาพื้นที่ใต้พีค ทำ 3 ซ้ำ

ภาคผนวก ค

การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

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

ความเข้มข้นของ DPPH ที่ใช้ คือ 0.35 มิลลิโมลาร์ มีวิธีเตรียมดังนี้

1.1 ชั่ง DPPH มา 0.0069 กรัม(6.9 มิลลิกรัม) ละลายในเอทานอล 50 มิลลิลิตร

1.2 ละลายด้วยเครื่องโซนิคเคท เป็นเวลา 30 นาที

1.3 กรองผ่านแผ่นกรองที่มีขนาดรูพรุน 0.45 ไมโครเมตร หรือใช้กระดาษกรองวอทแมน

เบอร์ 1 ซ้อนกัน 3 ชั้น

1.4 เก็บไว้ในตู้หมักเย็นที่มีอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสและมีดสนิท

หมายเหตุ : มวลโมเลกุลของ DPPH เท่ากับ 394.32

2. การเตรียมกราฟมาตรฐาน BHT(butylated hydroxytoluene)

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน BHT ที่ใช้ ได้แก่ 1.5625×10^{-2} , 3.125×10^{-2} , 6.25×10^{-2} , 0.125, 0.25, 0.5, 1, 1.5 และ 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรซึ่งมีวิธีการเตรียมดังนี้

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานแกมมาโอโรซานอลความเข้มข้นเริ่มต้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2 นำสารละลายมาตรฐานแกมมาโอโรซานอลความเข้มข้นเริ่มต้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 2, 1.5 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

2.3 จากนั้นนำสารละลายมาตรฐานแกมมาโอโรซานอลความเข้มข้น 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มาทำการเจือจางต่อไปจนถึงระดับความเข้มข้นสุดท้าย

2.4 นำสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ ใส่ลงในเพลท(96-well plate) หลุดละ 100 ไมโครลิตร จากนั้นเติมสารละลาย DPPH 0.35 มิลลิโมลาร์ หลุดละ 100 ไมโครลิตร

2.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์(Microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร

2.6 นำข้อมูลที่ได้ไปหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50

3. การหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC50)

ในการวิเคราะห์หาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 จะใช้โปรแกรม Graphpad prism 5.0 ซึ่งมีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

3.1 เปิดโปรแกรม Graphpad prism 5.0

3.2 เมื่อเปิดโปรแกรมจะมหน้าต่าง "Welcome to Graphpad Prism" ขึ้นมา ให้ทำการตั้งค่าดังนี้

New table & graph : XY

Sample data : Start with an empty data table

Choose a graph : Points and connecting line

Subcolumns for replicates or error values : Enter and plot a single Y value for each point

เมื่อตั้งค่าข้างตั้งเรียบร้อยแล้ว ให้กดที่ปุ่ม “Create”

3.3 เมื่อกดที่ปุ่ม “Create” แล้ว จะปรากฏตาราง จากนั้นให้ทำการป้อนข้อมูลร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของแต่ละความเข้มข้น โดยป้อนข้อมูลความเข้มข้นใส่ในคอลัมน์ X ให้ความเข้มข้นต่ำสุดอยู่ด้านบนสุดและความเข้มข้นสูงสุดอยู่ด้านล่าง และป้อนข้อมูลร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของแต่ละข้างลงในคอลัมน์ เมื่อป้อนข้อมูลเรียบร้อยแล้ว ให้ใส่พิกัด “50” ต่อท้ายร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของแต่ละข้าง

3.4 เมื่อป้อนข้อมูลเรียบร้อยแล้ว ให้กดที่ปุ่ม “Analyze” จะมาหน้าต่าง “Analyze Data” ขึ้นมา จากนั้นคลิกเลือก “Fit spline/LOWESS” แล้วกดที่ปุ่ม “OK”

3.5 เมื่อกดที่ปุ่ม “OK” แล้วจะมาหน้าต่าง “Parameters : Fit Spline/LOWESS” ขึ้นมาให้ทำการตั้งค่าดังนี้

Method to create curve: Cubic spline

Number of segments : 1000

Standard curve calculations : Standard curve. X from Y.

เมื่อตั้งค่าข้างตั้งเรียบร้อยแล้ว ให้กดที่ปุ่ม “OK”

3.6 จากนั้นให้ไปคลิกที่ “Interpolated X value” จะปรากฏค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ของแต่ละข้างออกมา

3.7 นำค่าที่ได้ไปหาค่าเฉลี่ย เพื่อให้ได้ความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ของแต่ละข้างก่อนนำไปเปรียบเทียบทางสถิติ

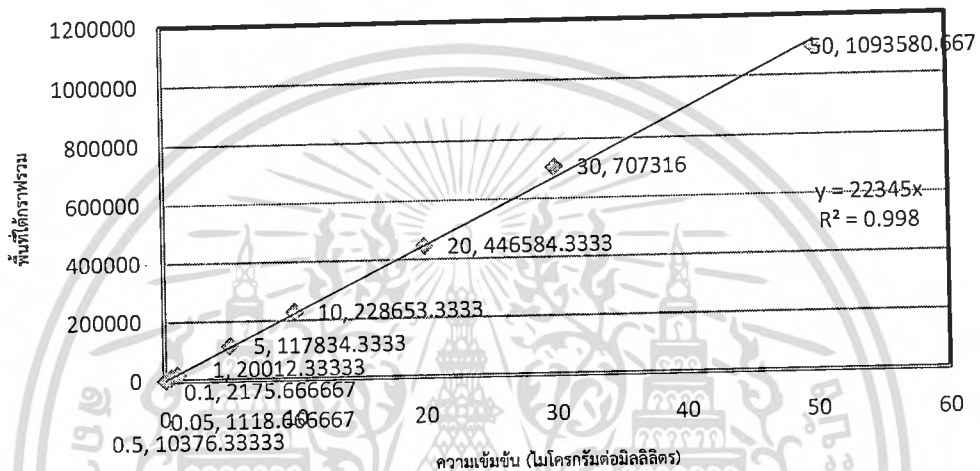
ภาคผนวก ง

กราฟมาตรฐาน

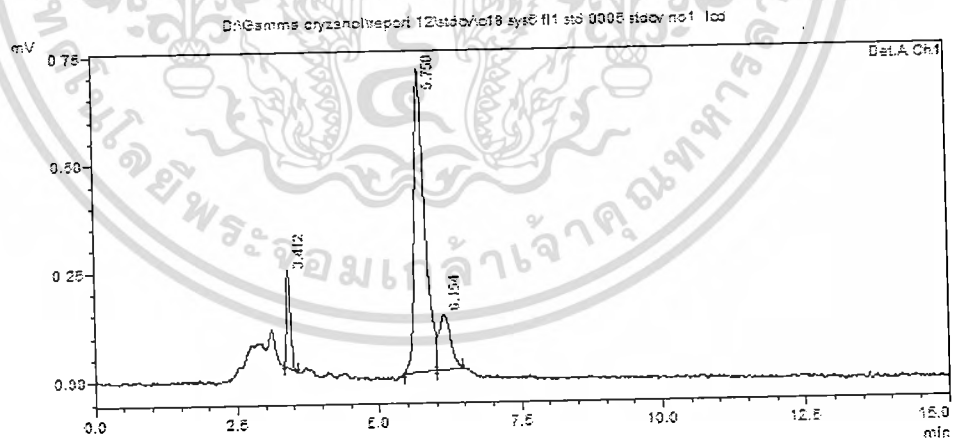
กราฟมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอล

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอลที่ใช้ ได้แก่ 50 30 20 10 5 1 0.5 0.1 และ 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตรได้กราฟมาตรฐานดังนี้

กราฟมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอล



1.1 สารละลายมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอลเข้มข้น 0.05 ไมโครกรัมต่อมิลลิเมตร <Chromatogram>



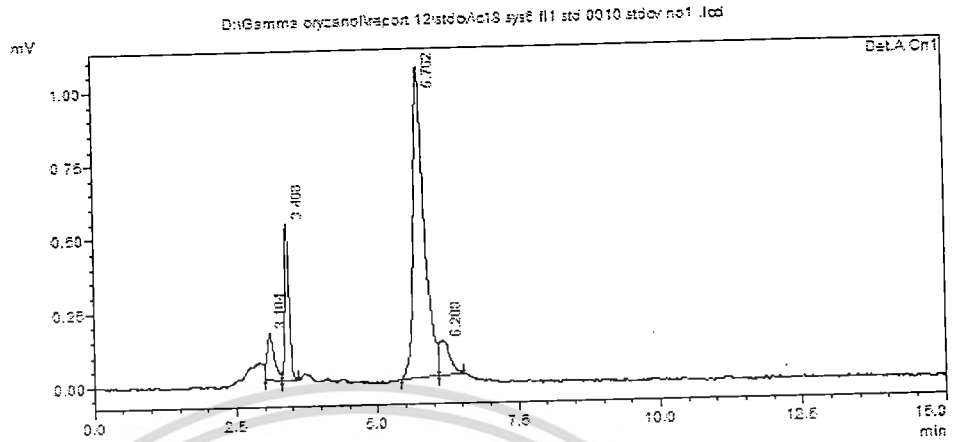
Det.A Ch1:330nm

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.412	1136	123	5.615	21.285
2	5.750	9661	622	75.752	68.774
3	6.154	1758	125	14.655	11.938
Total		11955	1046	100.000	100.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 สารละลายมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอลเข้มข้น 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 <Chromatogram>

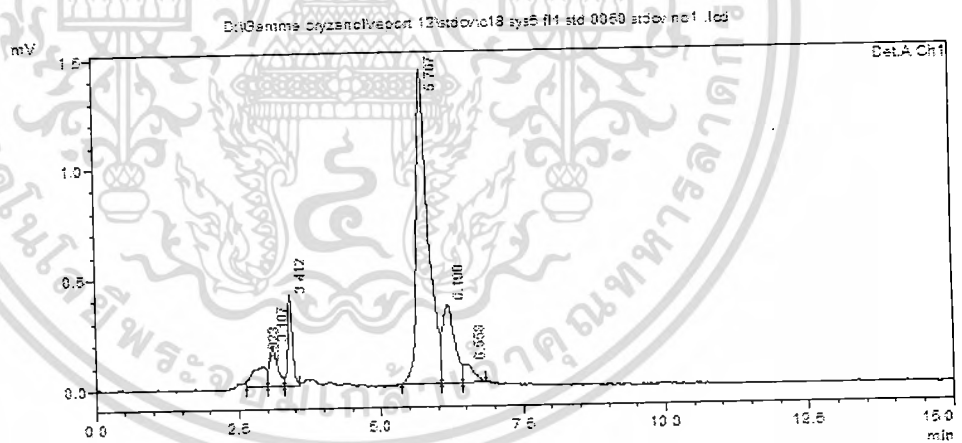


1 Det.A Ch1/330nm

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.104	1374	138	6.784	5.380
2	3.403	2840	525	14.025	28.403
3	5.762	14462	1663	71.528	87.025
4	6.203	1552	111	7.665	6.002
Total		20248	1647	100.000	100.000

1.3 สารละลายมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอลเข้มข้น 0.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
 <Chromatogram>



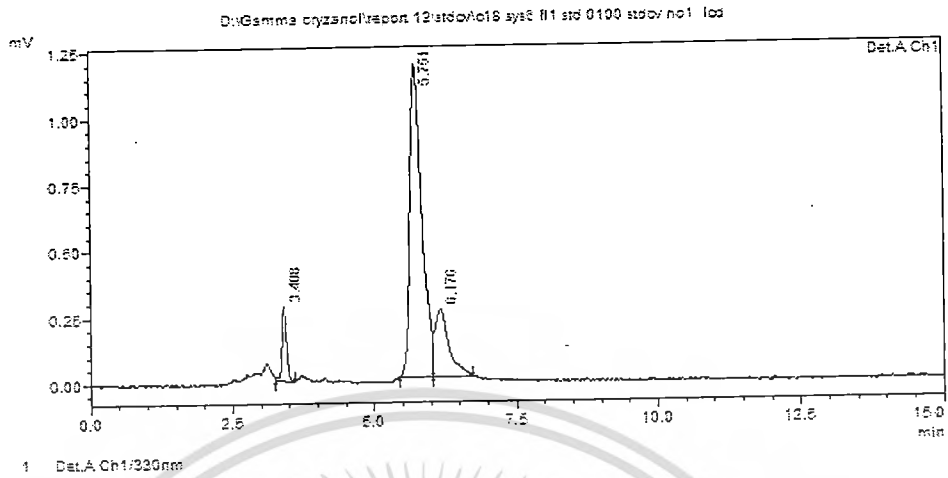
1 Det.A Ch1/330nm

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.107	1615	60	4.851	3.555
2	3.412	1744	131	5.345	7.152
3	5.767	2859	405	7.231	16.145
4	6.100	20683	1421	63.524	54.244
5	6.120	5150	350	15.908	13.820
6	6.555	1034	77	3.148	3.041
Total		32625	2524	100.000	100.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 สารละลายมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอลเข้มข้น 1.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
<Chromatogram>

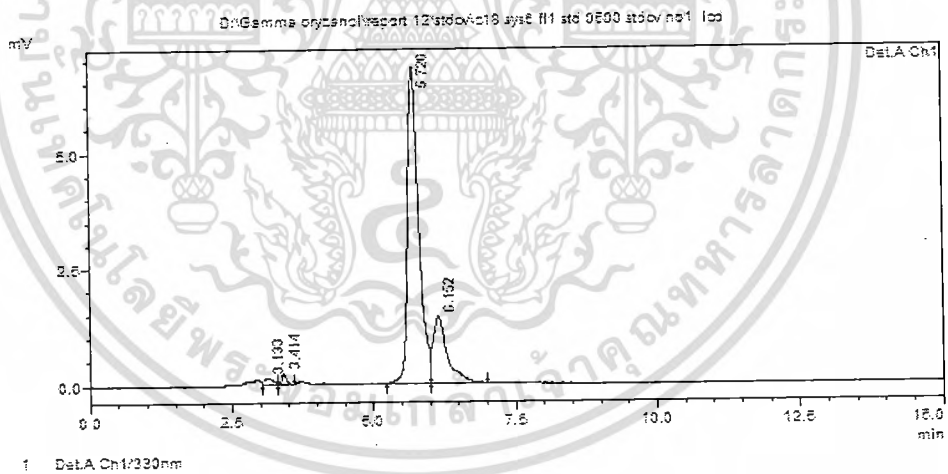


1 Det.A Ch1/330nm

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.408	1544	279	6.822	14.268
2	5.751	17498	1178	74.948	68.664
3	6.176	4905	258	18.430	15.068
Total		23947	1715	100.000	100.000

1.5 สารละลายมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอลเข้มข้น 5.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
<Chromatogram>



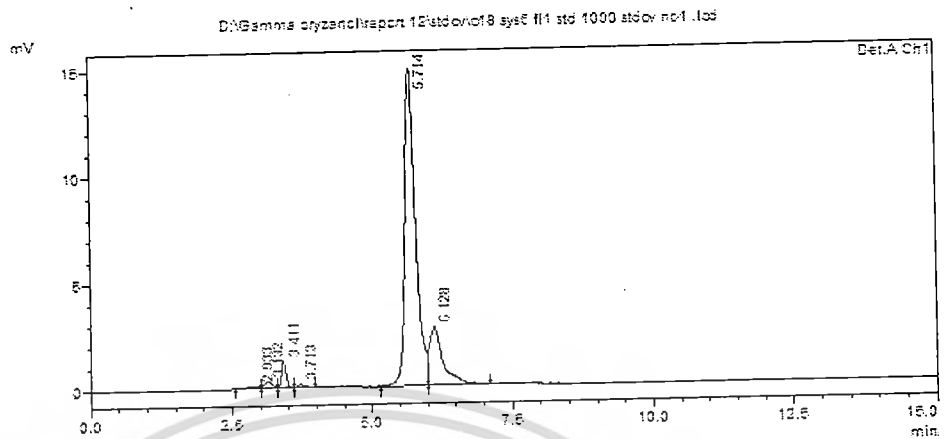
1 Det.A Ch1/330nm

PeakTable

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	3.130	1613	106	1.338	1.728
2	3.414	1388	218	1.154	2.558
3	5.726	93123	6758	77.894	79.211
4	6.152	24277	1416	20.165	16.525
Total		120401	5578	100.000	100.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.6 สารละลายมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอลเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
<Chromatogram>



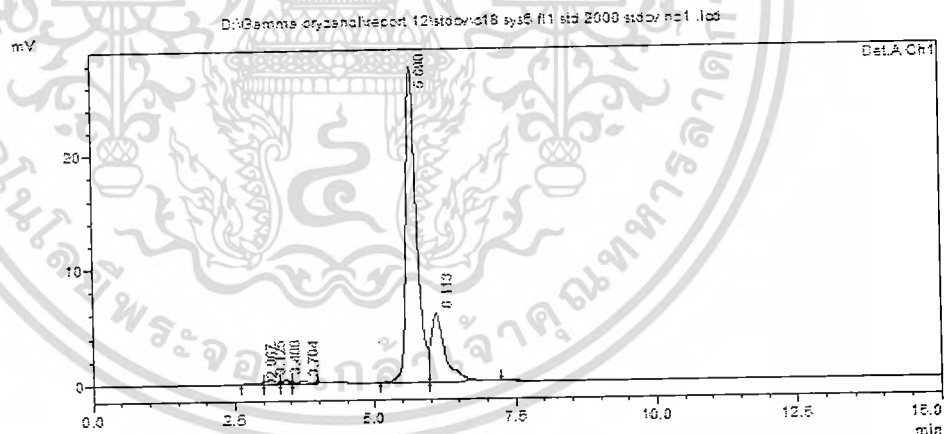
1 Det.A Ch1/330nm

PeakTable

Detector A Ch1 330nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.933	1807	114	0.556	0.556
2	3.132	3475	335	1.325	1.735
3	3.411	7375	1252	2.764	6.474
4	3.713	1626	151	0.619	0.775
5	6.124	201524	14875	77.029	76.475
6	6.128	45122	3714	17.625	13.645
Total		241639	15455	100.000	100.000

1.7 สารละลายมาตรฐานแกมมาไฮโรซานอลเข้มข้น 20 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
<Chromatogram>



1 Det.A Ch1/330nm

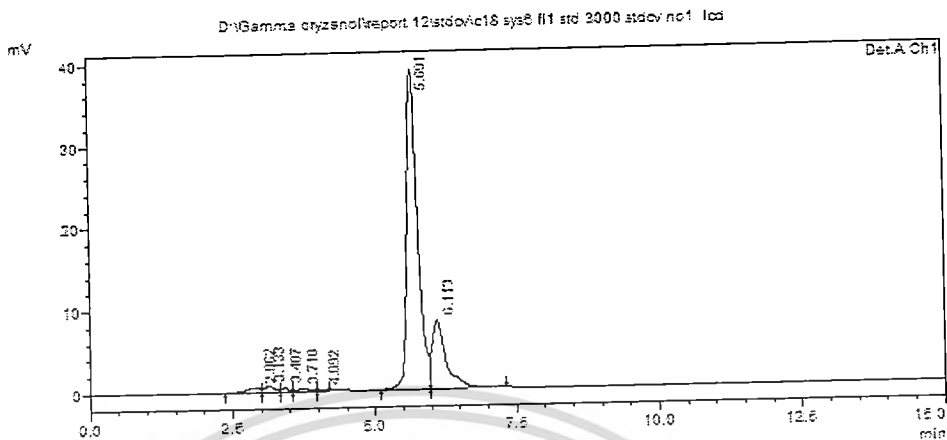
PeakTable

Detector A Ch1 330nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.967	2509	155	0.516	0.448
2	3.125	4264	377	0.875	1.092
3	3.400	2609	412	0.657	1.151
4	3.704	3481	271	0.715	0.784
5	6.090	375818	27494	78.942	79.563
6	6.113	85148	3847	26.411	16.921
Total		465845	34557	100.000	100.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.8 สารละลายมาตรฐานแกมมาไอโรซานอลเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
<Chromatogram>



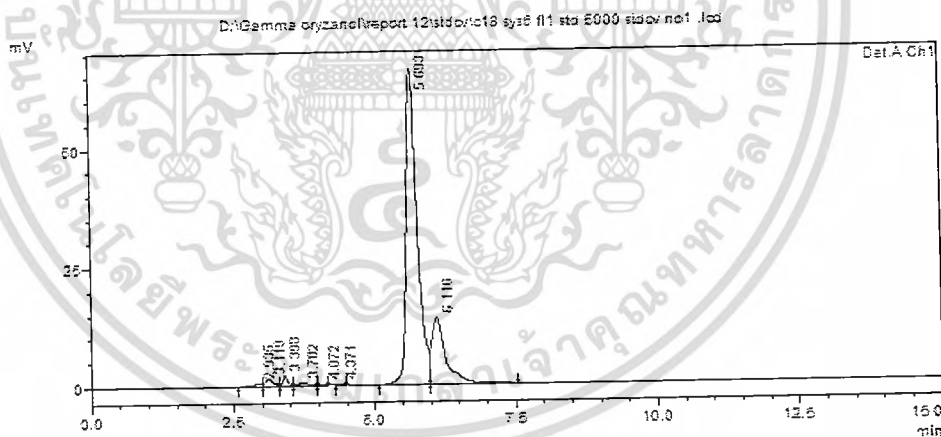
1 Det.A Ch1:320nm

PeakTable

Detector A Ch1 330nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.962	9971	516	1.432	1.033
2	3.133	7006	732	1.284	1.451
3	3.407	4021	554	0.578	1.122
4	3.716	5216	593	0.748	0.862
5	4.672	1169	168	0.168	0.213
6	5.683	523734	38813	73.521	78.611
7	6.113	141682	8273	20.256	15.738
Total		694222	49578	100.000	100.000

1.9 สารละลายมาตรฐานแกมมาไอโรซานอลเข้มข้น 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
<Chromatogram>



1 Det.A Ch1:320nm

PeakTable

Detector A Ch1 330nm

Peak#	Ret. Time	Area	Height	Area %	Height %
1	2.935	7694	625	0.643	0.729
2	3.116	15129	1884	1.367	1.664
3	3.398	12898	2137	1.073	2.313
4	3.762	8144	706	0.744	0.823
5	4.671	2064	187	0.172	0.218
6	4.971	1847	184	0.187	0.216
7	5.683	915263	66281	78.158	77.285
8	6.116	238046	13934	19.808	16.247
Total		1201723	85762	100.000	100.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

การคำนวณ

1. การคำนวณหาปริมาณน้ำมัน

ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จะรายงานค่าโดยใช้หน่วยเป็นกรัมต่อกรัมรำข้าวซึ่งจะหาได้จากสมการดังนี้

$$\text{ปริมาณน้ำมันรำข้าว (w/w)} = \frac{\text{น้ำหนักของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าว 5 กรัม}}{\text{น้ำหนักแห้งของรำข้าว 5 กรัม}}$$

2. การคำนวณหาปริมาณแกมมาโอโรซานอล

ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวจะรายงานค่าโดยใช้หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งปริมาณแกมมาโอโรซานอลจะหาได้จากการนำพื้นที่ใต้พีคที่ได้จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC มาแทนค่าลงในสมการต่อไปนี้

$$\text{แกมมาโอโรซานอล (mg/ml)} = \frac{\text{พื้นที่ใต้พีค}}{670.35}$$

3. การคำนวณหาร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ

ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าว จะถูกนำไปใช้ในการหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ซึ่งหาได้จากสมการต่อไปนี้

$$\text{การต้านอนุมูลอิสระ(\%)} = \frac{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}}) - (A_{\text{Sample}} - A_{\text{Blank Sample}})}{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}})} \times 100$$

ภาคผนวก ฉ

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

ทำการคำนวณค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรม SPSS 20.0 แบบ One-way ANOVA ตามวิธีของ Duncan การประเมินผลทางสถิตินั้น จะกำหนดตั้งสมมติฐาน ดังนี้

H_0 = อิทธิพลของทุกปัจจัยไม่แตกต่างกัน

H_1 = มีอย่างน้อย 2 ปัจจัยที่แตกต่างกัน

จากนั้นพิจารณาจากค่านัยสำคัญ (Significance; sig.) ในตาราง ANOVA หากค่า sig. มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับค่านัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จะปฏิเสธ H_0 และยอมรับ H_1 คือ มีอย่างน้อย 2 ปัจจัยที่แตกต่างกัน และหากค่า sig. มีค่ามากกว่าค่านัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จะยอมรับ H_0 และปฏิเสธ H_1 คือ อิทธิพลของทุกปัจจัยไม่แตกต่างกัน

สำหรับตารางเปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของปัจจัยจะใช้วิธี Duncan สรุปได้ดังนี้

Subset of alpha (α) = 0.05 ช่องที่ 1 กำหนดอักษร a

ช่องที่ 2 กำหนดอักษร b

ช่องที่ 3 กำหนดอักษร c

ช่องที่ 4 กำหนดอักษร d

ช่องที่ 5 กำหนดอักษร e

ช่องที่ 6 กำหนดอักษร f

ช่องที่ 7 กำหนดอักษร g

ช่องที่ 8 กำหนดอักษร h

ช่องที่ 9 กำหนดอักษร i

ช่องที่ 10 กำหนดอักษร j

ช่องที่ 11 กำหนดอักษร k

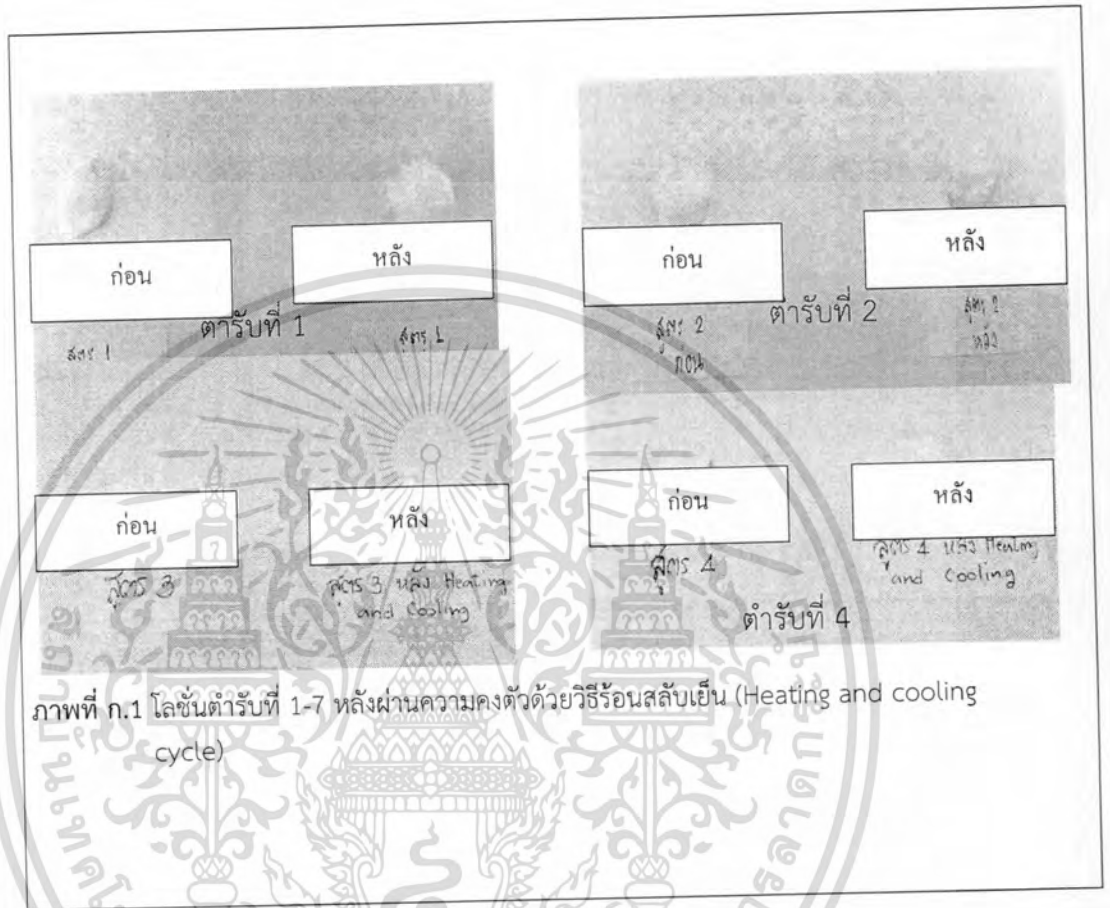
ช่องที่ 12 กำหนดอักษร l

ช่องที่ 13 กำหนดอักษร m

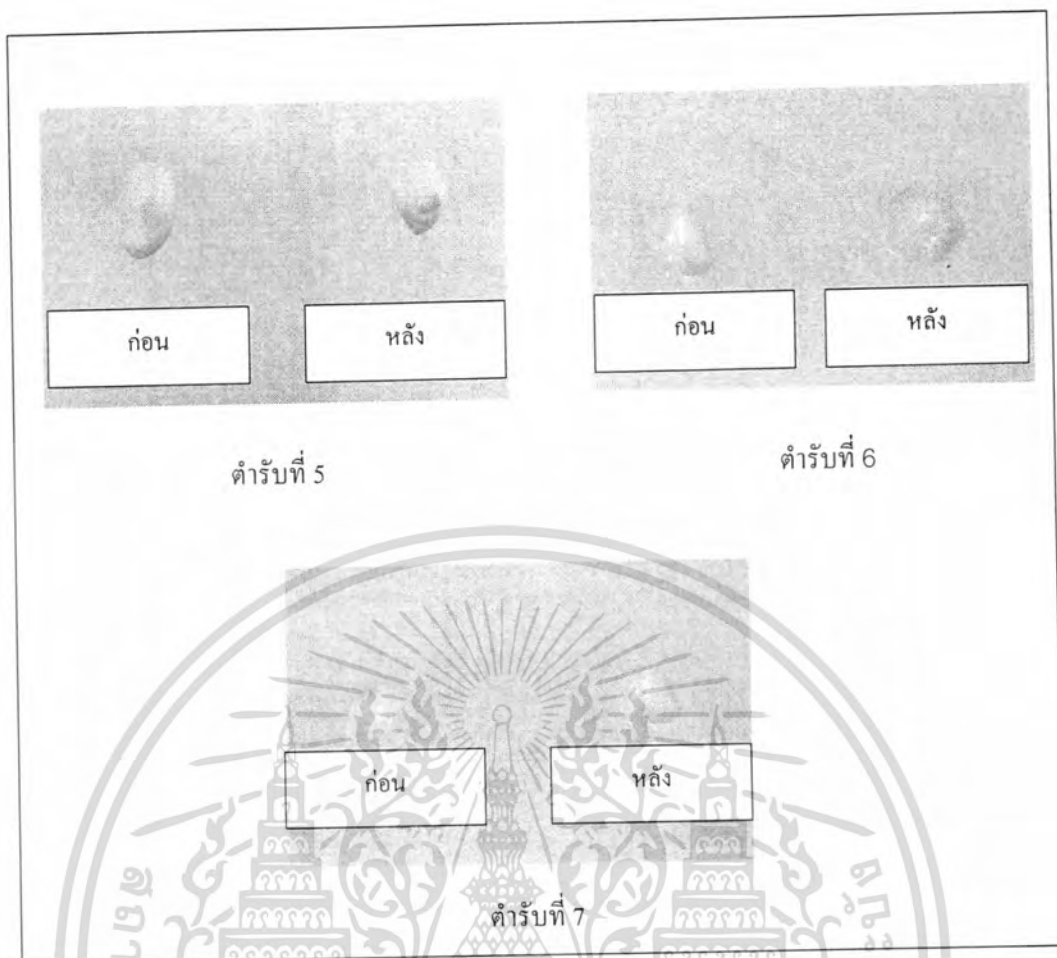
ช่องที่ 14 กำหนดอักษร n

หากค่าของปัจจัยอยู่ในซ้บเซตเดียวกัน แสดงว่า ไม่มีความแตกต่างกัน และหากค่าของปัจจัยไม่อยู่ในซ้บเซตเดียวกัน แสดงว่า มีความแตกต่างกัน

ภาคผนวก ข
ข้อมูลการทดสอบความคงตัวของตำรับโลชั่นวิธีร้อนสลับเย็น
(Heating and cooling cycle)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ก.1 โลหะตัวรับที่ 1-7 หลังผ่านความคงตัวด้วยวิธีร้อนสลับเย็น (Heating and cooling cycle) (ต่อ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
ข้อมูลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นด้วยวิธี
DPPH Scavenging assay

1. ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของโลชั่นพื้นผิวที่วัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

ตารางที่ ข.1 ค่าการดูดกลืนแสงของโลชั่นพื้นผิวที่วัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

ตำรับ	ค่าการดูดกลืนแสง	การต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition)*
3	0.9765	1.24
4	0.9779	1.09
7	0.9841	0.17

หมายเหตุ. $\%inhibition = [(Abs_{control} - Abs_{sample}) / Abs_{control}] \times 100$

$$Abs_{control} = 0.98875$$

2. ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของโลชั่นแกมมา-ออโรซานอลที่วัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

ตารางที่ ข.2 ค่าการดูดกลืนแสงของโลชั่นแกมมา-ออโรซานอลที่วัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

ตำรับ	ปริมาณแกมมา- ออโรซานอลในโลชั่น (g)	ค่าการดูดกลืน แสง	การต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition)*
3	0.5	0.550	54.61
3	0.7	0.515	57.50
3	1.0	0.469	61.30
4	0.5	0.521	57.00
4	0.7	0.495	59.15
4	1.0	0.463	61.80
7	0.5	1.058	12.69
7	0.7	0.920	25.73
7	1.0	0.877	27.63

หมายเหตุ. $\%inhibition = [(Abs_{control} - Abs_{sample}) / Abs_{control}] \times 100$

$$Abs_{control} = 1.21188$$

3. ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของโลชั่นน้ำมันรำข้าวที่วัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

ตารางที่ ข.3 ค่าการดูดกลืนแสงของโลชั่นน้ำมันรำข้าวที่วัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

ตำรับ	ปริมาณน้ำมันรำข้าว ในโลชั่น (g)	ค่าการดูดกลืน แสง	การต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition)*
3	0.8	0.56	53.79
3	1.0	0.428	64.68
3	1.5	0.423	65.09

4	0.8	0.459	62.12
4	1.0	0.392	67.65
4	1.5	0.365	69.88
7	0.8	0.786	35.14
7	1.0	0.752	37.95
7	1.5	0.748	38.28

หมายเหตุ. $\%inhibition = [(Abs_{control} - Abs_{sample}) / Abs_{control}] \times 100$

$$Abs_{control} = 1.21188$$

4. ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงของโลชั่นแกมมา-ออโรซานอลตำรับ 8 ที่วัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

ตารางที่ ข.4 ค่าการดูดกลืนแสงของโลชั่นน้ำมันรำข้าวที่วัดด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์

ตำรับ	ปริมาณแกมมา-ออโรซานอลในโลชั่น (g)	ค่าการดูดกลืนแสง	การต้านอนุมูลอิสระ (% inhibition)*
8	0.5	0.480	51.45
8	0.7	0.444	55.10
8	1.0	0.415	58.03

หมายเหตุ. $\%inhibition = [(Abs_{control} - Abs_{sample}) / Abs_{control}] \times 100$

$$Abs_{control} = 0.98875$$

ภาคผนวก ญ

แบบสอบถามความพึงพอใจ
ข้อมูลเบื้องต้นเกี่ยวกับผู้ตอบแบบสอบถาม

ชื่อและนามสกุล.....เพศ ()ชาย ()หญิง อายุ..... ปี
 ท่านเคยใช้ผลิตภัณฑ์ทาผิวหรือไม่ ()เคย ()ไม่เคย กรุณาระบุยี่ห้อ.....
 ท่านเคยแพ้ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหรือไม่ ()เคย ()ไม่เคย กรุณาระบุยี่ห้อ.....

คำชี้แจง 1 กรุณาทำเครื่องหมาย (X) ลงในช่องว่างที่จัดไว้ให้ที่ตรงตามระดับความพึงพอใจของท่านมากที่สุด

กลิ่น	ระดับความพึงพอใจ				
	มากที่สุด (5)	มาก (4)	ปานกลาง (3)	น้อย (2)	น้อยที่สุด (1)
กลิ่นข้าวหอมสุพรรณ					
Riz					
Flowery					

คำชี้แจง 2 กรุณาเติมหมายเลข 1-5 เพื่อระบุความพึงพอใจลงในตาราง โดย
 หมายเลข (1) หมายถึง น้อยที่สุด (2) หมายถึง น้อย
 (3) หมายถึง ปานกลาง (4) หมายถึง มาก
 (5) หมายถึง มากที่สุด

ตำหรับ	ระดับความพึงพอใจ					
	สี	ความหนืด	ลักษณะเนื้อครีม	การซึมซาบ ลงสู่ผิว	ความชุ่มชื้นของผิว บริเวณที่ทา	ความพึงพอใจ โดยรวม
3						
4						
7						

ท่านคิดว่าผลิตภัณฑ์ตัวอย่างควรมีการปรับปรุงด้านใดบ้าง

.....

ภาคผนวก ก

ตารางแสดงผลการวิเคราะห์ทางสถิติ

1. ผลการศึกษาความพึงพอใจของกลิ่นทั้ง 3 ในผลิตภัณฑ์โลชั่น

Oneway

ANOVA

Smell

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	131.213	2	65.607	95.430	.000
Within Groups	101.060	147	.687		
Total	232.273	149			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

smell

Duncan^a

treatment	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
กลิ่นข้าวหอมสุพรรณ	50	2.0800		
Riz	50		3.6800	
Flowery	50			4.3000
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

2. ผลการศึกษาความพึงพอใจของตำรับโลชั่นที่ 3, 4 และ 7

Oneway

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
color	Between Groups	.973	2	.487	.961	.385
	Within Groups	74.420	147	.506		
	Total	75.393	149			
viscosity	Between Groups	6.880	2	3.440	4.089	.019
	Within Groups	123.660	147	.841		
	Total	130.540	149			
texture	Between Groups	8.440	2	4.220	6.515	.002
	Within Groups	95.220	147	.648		
	Total	103.660	149			
Absorption	Between Groups	2.080	2	1.040	1.262	.286
	Within Groups	121.180	147	.824		
	Total	123.260	149			
moisturize	Between Groups	1.000	2	.500	.886	.415
	Within Groups	83.000	147	.565		
	Total	84.000	149			
total	Between Groups	9.160	2	4.580	9.056	.000
	Within Groups	74.340	147	.506		
	Total	83.500	149			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Post Hoc Tests
Homogeneous Subsets

color

Duncan^a

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
สูตร3	50		3.7400
สูตร4	50		3.7600
สูตร7	50		3.9200
Sig.			.237

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

viscosity

Duncan^a

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
สูตร3	50	3.1800	
สูตร4	50	3.3800	3.3800
สูตร7	50		3.7000
Sig.		.277	.083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Texture of lotion

Duncan^a

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
สูตร3	50	3.3800	
สูตร4	50	3.6400	
สูตร7	50		3.9600
Sig.		.108	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

Absorption

Duncan^a

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
สูตร3	50	3.3000	
สูตร4	50	3.5000	
สูตร7	50		3.5800
Sig.		.148	

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

Moisturize

Duncan^a

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
สูตร3	50		3.7000
สูตร7	50		3.8000
สูตร4	50		3.9000
Sig.			.213

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

Total

Duncan^a

treatment	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
สูตร3	50	3.3600	
สูตร4	50		3.8000
สูตร7	50		3.9400
Sig.		1.000	.327

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 50.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลผลิตจากงานวิจัย (Output)

บทความวิจัย

1. Thawai, C., Sukonthamut, S., Ruen-ngam, D. 2014. Pretreatment processes of rice bran for increasing yield of γ -oryzanol in rice bran oil and its antioxidant activity. *Separation Science and Technology*. (Submit) (Impact factor = 1.2)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Submission Confirmation

Thank you for submitting your manuscript to *Separation Science and Technology*.

Manuscript ID: LSST-2014-8258

Title: Pretreatment processes of rice bran for increasing yield of γ -oryzanol in rice bran oil and its antioxidant activity

Authors: Ruen-ngam, Duangkamol

Date Submitted: 20-Oct-2014





 Print  Return to Dashboard



© Thomson Reuters | © ScholarOne, Inc., 2014. All Rights Reserved.

ScholarOne Manuscripts and ScholarOne are registered trademarks of ScholarOne, Inc.

ScholarOne Manuscripts Patents #7,257,787 and #7,263,655.

 @ScholarOneNews |  System Requirements |  Privacy Statement |  Terms of Use





Pretreatment processes of rice bran for increasing yield of γ -oryzanol in rice bran oil and its antioxidant activity

Journal:	<i>Separation Science and Technology</i>
Manuscript ID:	Draft
Manuscript Type:	Original Article
Date Submitted by the Author:	n/a
Complete List of Authors:	Ruen-ngam, Duangkamol; King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Biology
Keywords:	oryzanol, rice bran oil, pretreatment, antioxidant

URL: <http://mc.manuscriptcentral.com/lsst> Email: sepsciad@uark.edu

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**Pretreatment processes of rice bran for increasing yield of γ -oryzanol in
rice bran oil and its antioxidant activity**

Chitti Thawai¹, Sujitra Sukonthamut², Duangkamol Ruen-ngam^{1*}

¹Department of Biology Faculty of Science King Mongkut's Institute of Technology
Ladkrabang (KMITL) Bangkok 10520 Thailand

²Department of Statistics Faculty of Science King Mongkut's Institute of Technology
Ladkrabang (KMITL) Bangkok 10520 Thailand

*Corresponding author. Tel.: +662329-8000-99 ext 6262 Fax.: +66-2329-8427

E-mail address: krduangk@kmitl.ac.th (D. Ruen-ngam)



27 **Abstract**

28 Six pretreatment processes took effect on an amount of rice bran oil, γ -oryzanol and
29 its ABTS assay and DPPH scavenging from Khao Dok Mali, Thailand. Pretreatment
30 processes with operating temperature were microwave (60-110°C), hot air (70-180°C),
31 roasting (60-80°C), parboiling (70°C), autoclave (121°C) and enzyme treatment (50°C). The
32 highest amount of oil was available from hot air heating (70°C) with 0.27 g/g of dried rice
33 bran whereas amount of γ -oryzanol was available from the parboiling process with 9.8 mg/g
34 of dried rice bran and γ -oryzanol concentration was calculated and got the highest value at
35 46.9 mg/ml oil by roasting process (60°C).



60 1. Introduction

61 Rice is well known as Thailand's industrial crop. The rice appears in the main dish
62 especially in Asian country. There are many types of rice, one famous type which grows in
63 the middle part of Thailand is Khao Dok Mali 105. Characteristics of Khao Dok Mali 105 are
64 long shape with white color and smell like jasmine with sometime called jasmine rice. Khao
65 Dok Mali is rich in nutrition (nutrient) such as protein, vitamins, ferrous and antioxidant
66 compounds [1]. After milling process rice is divided into five parts; white rice, brown rice,
67 broken-milled rice, rice husk and rice bran. The rice bran is by product from rice milling
68 process of which around 10-12% contain large amount of fiber vitamins, minerals nutrition
69 such as phenolics compound, vitamin E and its component; tocols, tocopherol, tocotrienol
70 and γ -oryzanol [2]. A group of ferulic acid esters of phytosterols called γ -oryzanol is the main
71 content of phytochemical in rice bran oil. The γ -oryzanol can relieve diseases for example;
72 cholesterol, cancer, heart disease moreover perform to be antioxidant [3-5].

73 Previously rice bran was used as animal feed (Thanonkaew et al., 2012) and
74 nowadays there are concerns about useful compounds contained therefore oil with contained
75 antioxidant compounds has been extracted [5-11]. The oil extraction process has continuously
76 developed starting with conventional extraction by using organic solvent [4], ohmic heating
77 [12], hydrothermal treatment (sub-critical water) [13] and green technology by using
78 pressurized carbon dioxide (SC-CO₂) [3, 14-16], however, some extraction methods were still
79 limited with high toxin and cost therefore adaptation in extraction method is necessary. A
80 huge amount of research investigated that although the method of heating pretreatment can
81 enhance the extracted oil yield with the height containing of antioxidant but also
82 consecutively stabilize rice bran oil [12, 17-22] moreover grain contains large amount of
83 carbohydrate, hydrolysis pretreatment by enzyme was taken in advantage to get the high yield
84 of oil with antioxidant compound [23-24]. However there is astonishment that few research
85 regarding γ -oryzanol extraction and increase the extracted yield therefore this is possible to
86 enhance the extracted yield from rice bran by such pretreatment methods.

87 This research will focus on finding out on the effect of pretreatment methods on the
88 yield of oil and γ -oryzanol and also its antioxidant activity. The outcome from this research
89 will be the information to renovate oil and γ -oryzanol extraction process.

90

91 2. Experimental

92 2.1 Material of Rice bran

93 Khao Dok Mali 105 was cultivated in Suphan Buri Province, Thailand. Rice was
94 milled by milling process then was kept in plastic bag and preserved in refrigerator at 4°C.

95 2.2 Chemicals

96 The standard of γ -oryzanol was available from Wako Pure Chemical Industries, Ltd,
97 Japan. CN5 HPLC column was bought from ACE[®]. The solvent for HPLC, methanol,
98 isopropanol, ethylacetate and hexane were purchased from Carlo Erba[®]. Hexane was
99 purchased from Marcon Fine ChemicalTM, USA, acetone from Fisher Science, UK, ethanol
100 from Fisher Science, UK, methanol from Avantor Performance Materials Inc., USA. Enzyme
101 of α -amylase was purchased from Sigma-Aldrich Co., USA, 1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl
102 (DPPH) from Sigma-Aldrich, Germany.

103 2.3 Methods

104 2.3.1 Material preparation

105 Raw material of rice bran is primary prepared and selected the size in the range of
106 150-300 μm by standard sieve (Endecotts Ltd, England) then applied with pretreatment
107 which was informed in following section and then continuously extracted the rice bran oil by
108 extraction method. Moisture content of the rice bran was measured and getting around
109 7.99 \pm 0.16%.

110 2.3.2 Pretreatment Processes

111 Pretreatment methods were adapted from Thanonkaew et al. [20] and Alrahmany et al.
112 [23]. The same amount of rice bran with weighed around 5 g was used for all treatments.
113 There are covering six pretreatment methods which are concluded in Table 1 and the detail of
114 each pretreatment method are 1) Heating by Microwave with different temperatures; 60, 90
115 and 110°C at frequency of 2450 MHz (Samsung, GE87Q-S, Thailand) for 3 minutes. The
116 higher operating temperature than 110°C with longer operating than 3 minutes can burn the
117 rice bran then turned to dark brown color therefore the limiting operating condition is 110°C
118 for 3 minutes. 2) Heating by Hot Air with different temperatures of 70°C, 100°C and 180°C
119 in oven (Memmert, UN110, Germany) with incubating time of 10 minutes. 3) Roasting by
120 domestic pan with diameter of 15 cm on hot plate (Gerhardt, Germany) with temperature of
121 60°C and 80°C for 3 minutes. 4) Parboiling by domestic cooking steamer with diameter of 30
122 cm with temperature of 75°C for 60 minutes. 5) Heating by autoclave with temperature of
123 121°C with pressure of 15 pound/inch² for 15 minutes. This condition is the same condition

1
2
3 124 of sterilization and enzyme inhibition. 6) Hydrolysis by α -amylase enzyme with
4 125 concentration of 1375 unit/ml at optimum conditions for its activity by circulating rate of 180
5
6 126 rpm, incubating time of 120 minutes at 50°C.

8 127 **2.3.3 Extraction method**

9 128 This extraction step was done for all experiments after treating with pretreatment methods
10 129 according to section 2.3.2. The extraction has conducted by using maceration method with
11 130 the same condition according to Ruen-ngam et al. [25], the extraction condition which can
12 131 achieve the highest amount of oil in the extract. The ratio of rice bran and solvent was
13 132 selected at 1:4 (g/ml) with using hexane as solvent and the circulation rate was controlled at
14 133 200 rpm with shaking time of 60 minutes at 30°C. All extractions were done in 250 ml flask
15 134 covered with aluminum foil for light protection. The residue in the extract was removed by
16 135 filtration with No. 1 Whatman filter paper and the solvent was removed from rice bran oil
17 136 under vacuum pressure by rotary evaporator. (Heidolph, Germany) then the residue rice bran
18 137 oil was weighed by 4-digit weight machine. The rice bran oil was continuously tested its
19 138 antioxidant activity according to DPPH radical scavenging activity and ABTS assay.

22 139 **2.3.4 HPLC Analysis**

20 140 Amount of γ -oryzanol in the extracted oil was measured by HPLC. The stationary
21 141 phase was CN5 HPLC column with size of 250×4.6 mm. The mobile phase was the mixed
22 142 solution of hexane:ethyl acetate:acetic acid with volume ratio of 97.3:1.8:0.9. The mobile
23 143 phase was operated with isocratic flow with flow rate 0.5 ml/min. All extracted samples were
24 144 analyzed with volume of 20 μ l at wavelength of 330 nm. The data was reported by LC-
25 145 solution software and the amount of γ -oryzanol was calculated based on the area under the
26 146 peak of exacted known concentration of γ -oryzanol standard at the same retention time of γ -
27 147 oryzanol standard around 27 minutes.

28 148 **2.3.5 Antioxidant Activity**

29 149 **1) DPPH radical scavenging activity**

30 150 The free radical scavenging assay was evaluated according to Alrahmany et al. [23] with
31 151 some modification. Briefly, 100 μ l of each extract or BHT standard was added into 100 μ l of
32 152 0.5 mg/ml DPPH prepared in ethanol upon a 96-well plate. The mixtures were incubated at
33 153 30°C in the dark room for 30 minutes and then recorded absorbance at wavelength of 517 nm
34 154 relative to control (as 100%) by microplate readers (iEMS Reader MF, Finland). Percentage
35 155 radical scavenging or DPPH inhibition was calculated by equation (1);

$$156 \quad \text{DPPH inhibition (\%)} = \left(1 - \left(\frac{\text{Abs}_{\text{sample}}}{\text{Abs}_{\text{control}}} \right) \right) \times 100 \quad (1)$$

157 when $\text{Abs}_{\text{control}}$ is absorbance of controlled sample and $\text{Abs}_{\text{sample}}$ is absorbance of tested
158 sample.

159 The scavenging activity of BHT standard were prepared in the range of 6.25-100 g/l then
160 measured its scavenging activity with the same method. The concentration of BHT at the
161 same equivalent activity of extracted oil was calculated based on the correlation of percent
162 radical scavenging and BHT concentration.

163 2) ABTS Assay

164 ABTS assay is used for antioxidant activity measurement. The ABTS^+ was generated
165 through a chemical oxidation reaction with potassium persulfate [6]. The concentration of
166 blue green solution of ABTS^+ radical solution was adjusted by ethanol to get desired
167 absorbance range (0.1-0.8). To pipette 100 μl of extracted oil upon the 96-well plate and
168 mixed with 100 μl of blue green solution of ABTS^+ . The mixed solution was incubated in
169 dark room at 30 °C for 5 min and then measured at wavelength of 734 nm by using ethanol as
170 blank. Percentage of ABTS activity (%ABTS) was calculated according to equation (1) or
171 otherwise results can be expressed in $\mu\text{g/ml}$ Trolox equivalents (TE). The standard of Trolox
172 was prepared and linear in the range of 100-800 $\mu\text{g/ml}$.

173 2.4 Statistic analysis

174 All experiments were done in triplicates then the means and standard deviation of
175 amount of rice bran oil, γ -oryzanol and antioxidant activity of ABTS and DPPH were
176 calculated. Statistic analysis was performed by SPSS version 22.0. Duncan's multiple range
177 test was used to determine significant differences with analysis of variance 0.05 ($p < 0.05$).

178

179 3. Results and Discussion

180 3.1 Effect of pretreatment processes on amount of rice bran oil

181 The amount of rice bran oil from each pretreatment process demonstrates in Figure 1; x-
182 axis is pretreatment process and y-axis is amount of extracted oil in gram of rice bran oil per
183 gram of dried rice bran. Amount of rice bran oil treated by microwave heating is at operating
184 temperature of 60 and 90°C then significantly raised to the highest amount of extracted oil
185 around 0.24 g/g at 110°C as shown in Figure 1 in grey color or in Figure 2. The statistic
186 analysis is demonstrated in Table 2 that the heating temperature is no significant effect on the

1
2
3 187 amount of rice bran oil as shown in the same lowercase character in all heating temperatures.
4 188 The microwave heating distorted and destroyed the original oil body membrane resulted to
5 189 have large portions of cells contained a pool of oil and small granular material [17] therefore
6 190 solvent easily pulled out such oil to the bulk solvent. However heat did not affect the amount
7 191 of oil recovery even with reducing viscosity of the oil. Moreover at heating temperature of
8 192 110°C, the rice bran turned from pale yellow to dark brown color with rancid smell and bad
9 193 oil quality (oxidative rancidity) because heat burned the bran that affected to change in color
10 194 and there is still residual lipase activity in rice bran at 110°C resulted in high free fatty acid
11 195 and γ -oryzanol and also gets the rancid smell [26].

12
13
14
15
16
17
18 196 Hot air heating is heating up the material to desired temperature by convection. Increasing
19 197 operating temperature decreased amount of rice bran oil as demonstrates in Figure 1 or Figure
20 198 3. In this case, it contradicts with microwave heating; however, too high temperature around
21 199 180°C accelerates the reduction of moisture content at the outside surface resulted in the
22 200 collapse of the material. However increasing temperature from 70-180°C had no significant
23 201 effect on amount of extracted oil as shown the statistic analysis in Table 2, it might be that
24 202 occurring of material collapsed resulted in solvent's difficulty to penetrate inside the material.

25
26
27
28
29
30 203 The rice bran was treated by roasting with different temperatures. The effect of roasting
31 204 temperature shown in Figure 2 or Figure 4 results indicate that increasing roasting
32 205 temperature from 60 to 80°C increases amount of rice bran oil however the result was not
33 206 significantly different in both temperatures as got the statistical analysis in Table 2.

34
35
36
37 207 Among all pretreatment processes the highest amount of rice bran oil was around 0.27
38 208 g/g obtained from hot air heating at 70°C and the lowest was around 0.14 g/g available from
39 209 roasting process at 60°C. It might be that heat from roasting process is applied directly to the
40 210 surface of material and then moisture moves quickly from the surface results to make it
41 211 collapse whereas the heat from air passes though the material then destroys the original oil
42 212 body membrane and builds up pool of oil [17]. Moreover air might make the material swollen
43 213 results to the solvent more easily passes through the material to take out of oil than collapsing
44 214 the material. Microwave heating process was discovered to give lower amount of extracted
45 215 oil than hot air heating at the same range of operating temperature (90 and 100°C) because
46 216 microwave heating strongly lowered moisture content in the material then made the material
47 217 more brittle and collapse [20]. The heating process operated with steam such as parboiling
48 218 and autoclave heating demonstrated lower amount of extracted oil compared to dry heating
49 219 process such as microwave heating and hot air heating whereas roasting process got lower
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

220 amount of oil than parboiling and autoclave heating processes that contradicted previous
221 research [20] that operated under higher temperature around 150°C. The effect of operating
222 temperature on mechanism in moving out of moisture might be the critical effect on the
223 amount of extracted oil. Even through steam can penetrate through the material, it cannot
224 increase the oil yield in extract. It might be that the steam with high pressure makes the
225 material collapses and oil blocks inside moreover steam with pressure breaks bulk oil into
226 small droplets then gets stuck with water inside the material resulting in difficulty to extract
227 by non-polar solvent. Amount of oil from enzyme hydrolysis was in the same range of
228 pretreatment by roasting and parboiling process because amylase can hydrolyze carbohydrate
229 that make easily in oil extraction.

230 The highest amount of oil from each pretreatment process was continuously done for
231 significant differences analysis between means as the results demonstrated in Table 2. The
232 highest amount of rice bran oil from each pretreatment is not significant difference at $p < 0.05$.

233

234 3.2 Effect of pretreatment processes on amount of γ -oryzanol

235 Oil product after pretreatment process mainly composes of group of γ -oryzanol. The
236 amount of γ -oryzanol from each pretreatment process are demonstrated in the following
237 section.

238 The effect of pretreatment process on amount of γ -oryzanol is presented in Figure 5, x-
239 axis is pretreatment processes and primary y-axis shows amount of γ -oryzanol (mg/g dried
240 rice bran) and secondary y-axis is also amount of γ -oryzanol concentration (mg/g rice bran
241 oil). The amount of γ -oryzanol is in stack whereas γ -oryzanol concentration is in dot symbol.
242 The highest amount of γ -oryzanol was available from parboiling process at 75°C and got
243 around 9.76 mg/g dried rice bran whereas the highest amount of γ -oryzanol concentration
244 was achieved from roasting process at temperature of 60°C with around 64.93 mg/ml.
245 Roasting process accelerates removal of moisture from surface to bulk then makes the surface
246 collapse resulting in trapped oil inside the material therefore got the highest amount of γ -
247 oryzanol concentration. The highest amount of oil from each pretreatment process was
248 continuously done for significant difference analysis between means as demonstrated in
249 Table 2. The amount of γ -oryzanol obtained from microwave heating (90°C), hot air heating
250 (70°C) and roasting (80°C) have no significant difference at $p < 0.05$.

251 The effect of heating temperature of microwave on amount of γ -oryzanol is presented in
252 on Figure 5, x-axis demonstrates operating temperature in the range from 60-110°C by

1
2
3 253 microwave heating process and primary y-axis shows amount of γ -oryzanol in dimension of
4 254 milligram of γ -oryzanol per gram of dried rice bran and secondary y-axis is also the amount
5 255 of γ -oryzanol but in dimension of concentration (mg per ml of rice bran oil). The heating
6 256 temperature was increased from 60°C to 110°C, there was a little bit increase of γ -oryzanol
7 257 concentration in oil which then dropped in range of 90 to 110°C; however, it got highest
8 258 value around 35.2 mg/ml at 90°C. Because of high amount of extracted oil resulted in getting
9 259 the lowest amount of γ -oryzanol concentration at 110°C. Amount of γ -oryzanol is almost
10 260 stable when increasing the heating temperature from 60°C to 110°C as demonstrated its
11 261 stability elsewhere [21, 26-28]. However heating temperature more than 120°C enhances
12 262 degradation of γ -oryzanol as reported in elsewhere [21, 28]. Statistic analysis shows in Table
13 263 2 demonstrates that all experiments are significant difference. Moreover heating promotes
14 264 fatty acid degradation that fatty acid is cleaved to free fatty acid and low molecular
15 265 compounds such as oryzanol [26, 29]. Even though microwave is considered of the most
16 266 energy-efficient type and a rapid method for bran stabilization, it still has limitation and
17 267 necessary primary check of feasibility in each application [27].

18 268 The effect of hot air heating process on amount of γ -oryzanol is presents in Figure 5.
19 269 Amount of γ -oryzanol decreases with increasing the operating temperature in the range from
20 270 70-180°C and achieves the highest around 9.3 mg/g dried rice bran at temperature of 70°C.
21 271 Lipase is one type of enzyme exists in rice bran to promote rancidity by cleaving fatty acid to
22 272 low molecular weight such as free fatty acid. The optimum temperature for lipase activity is
23 273 around 60-70°C that raised the amount of low molecular weight compound that might be γ -
24 274 oryzanol [27, 30] however at higher temperature of 100°C, few moisture inside the material
25 275 resulted in no activity of enzyme therefore making it dropped down [26, 28]. Moreover the
26 276 operating temperature at higher than 110°C promotes degradation of γ -oryzanol with higher
27 277 rate proceeded to get the lowest value as shown at operating temperature of 180°C in Figure
28 278 3 [26]. Amount of γ -oryzanol concentration straightly achieved high at operating temperature
29 279 of 180°C because of the lowest amount of extracted oil obtained. Statistic analysis is shown
30 280 in Table 2, the operating temperature at 70°C, amount of γ -oryzanol is significantly higher
31 281 value than other temperatures.

32 282 Amount of γ -oryzanol obtained is shown on Figure 5, x-axis is temperature scale in
33 283 range from 60-80°C by roasting pretreatment. Amount of γ -oryzanol is going to the highest
34 284 and reaches around 9.1 mg/g dries rice bran at 80°C because of existing of enzyme activity.

285 Statistic analysis is shown in Table 2 for both operating temperatures is no significantly
286 difference.

287

288 3.3 Effect of pretreatment processes on antioxidant activity

289 Results of both antioxidant activities are exhibited in Figure 6 on y-axis, x-axis is
290 pretreatment processes. The activity of DPPH scavenging in grey stack presents in higher
291 percentage scavenging in roasting (60°C) and parboiling process when compared to other
292 pretreatment processes shows that the trend of it antioxidant activity is the same trend as
293 amount of γ -oryzanol concentration in Figure 2. Amount of BHT equivalent treated with
294 DPPH scavenging is indicated in Table 2. The percentage of ABTS assay is also shown in
295 Figure 3 in white stack. The trend of ABTS inhibition is not the same as the trend of γ -
296 oryzanol concentration that might consecutively affect of polyphenol and vitamin E in the
297 rice bran oil [20, 26]. The highest amount of oil from each pretreatment process was
298 continuously done for hypothesis test for the differences between means and get results
299 shown in Table 2.

300

301 4. Conclusions

302 This research was conducted and believed that pretreatment proceeds prior to
303 extraction can affect the raw material resulting in increased amount of extracted compound
304 (rice bran oil and γ -oryzanol). Heat and lipase activity took physical effect on the material
305 and γ -oryzanol stability. The amount of oil was achieved the highest value from pretreatment
306 by hot air heating at 70°C and amount of γ -oryzanol got the highest value by parboiling
307 pretreatment process whereas γ -oryzanol concentration was obtained the highest value by
308 roasting pretreatment process at 60°C. This research also demonstrated rice bran oil to act as
309 free radical scavengers to inhibit DPPH activity and bleach ABTS.

310 5. Acknowledgements

311 This research was supported by faculty of science, King Mongkul's Institute of
312 Technology Ladkrabang. The author thanks to Assoc. Prof. Prasert Pavasant from department
313 of chemical engineering, Chulalongkorn University for inspiration.

314 6. References

- 1
2
3 315 [1] Goufo, P.; Trindade, H. (2014). Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids,
4 316 anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. Food
5 317 Science & Nutrition, 2: 75-104.
- 6
7
8 318 [2] Zigoneanu, I.G.; Williams, L.; Xu, Z.; Sabliov, C.M. (2008) Determination of
9 319 antioxidant components in rice bran oil extracted by microwave-assisted method. Bioresource
10 320 Technol., 99: 4910-4918.
- 11
12
13 321 [3] Xu, Z.; Godber, J.S. (2000) Comparison of supercritical fluid and solvent
14 322 extraction methods in extracting γ -oryzanol from rice bran. JAOCS, 77: 547-551.
- 15
16 323 [4] Patel, M.; Naik, S.N. (2004) Gamma-oryzanol from rice bran oil-A review. J. Sci.
17 324 Ind. Res. India., 63: 569-578.
- 18
19 325 [5] Chan, K.W.; Khong, N.M.H.; Iqbal, S.; Ismail, M. (2013) Isolation and
20 326 antioxidative properties of a phenolics-saponins rich fraction from defatted rice bran. J.
21 327 Cereal Sci., 57: 480-485.
- 22
23
24 328 [6] Payet, B.; Sing, A.S.C.; Smadja, J. (2005) Assessment of antioxidant activity of
25 329 cane brown sugars by ABTS and DPPH radical scavenging assays: determination of their
26 330 polyphenolic and volatile constituents. J. Agr. Food Chem., 53: 10074-10079.
- 27
28
29 331 [7] Lerma-García, M.J.; Herrero-Martínez, J.M.; Simó-Alfonso, E.F.; Mendonça,
30 332 C.R.B.; Ramis-Ramos, G. (2009) Review composition, industrial processing and applications
31 333 of rice bran γ -oryzanol. Food Chem., 115: 389-404.
- 32
33
34 334 [8] Butsat, S.; Siriamornpun, S. (2010) Antioxidant capacities and phenolic
35 335 compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. Food Chemistry, 119: 606-613.
- 36
37
38 336 [9] Tuncel, N.B.; Yilmaz, N. (2011) Gamma-oryzanol content, phenolic acid
39 337 profiles and antioxidant activity of rice milling fractions. Eur. Food Res. Technol.,
40 338 233: 577-585.
- 41
42
43 339 [10] Chakuton, K.; Puangpronpitag, D.; Nakornriab, M. (2012) Phytochemical
44 340 content and antioxidant activity of colored and non-colored Thai rice cultivars. Asian Journal
45 341 of plant science, 11: 285-293.
- 46
47
48 342 [11] Oliveira, R.; Oliveira, V.; Aracava, K.K.; da Costa Rodrigues, C.E. (2012)
49 343 Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted
50 344 with Ethanol-A response surface approach. Food Bioprod. Process, 90: 22-31.
- 51
52
53 345 [12] Lakkakula, N.R.; Lima, M.; Walker, T. (2004) Rice bran stabilization and rice
54 346 bran oil extraction using ohmic heating. Bioresource Technol., 92: 157-161.

- 347 [13] Pourali, P.; Asghari, F.S.; Yoshida, H. (2009) Review Sub-critical water
348 treatment of rice bran to produce valuable materials. *Food Chem.*, 115: 1–7.
- 349 [14] Imsanguan, P.; Roaysubtawee, A.; Borirak, R.; Pongamphai, S.; Douglas, S.;
350 Douglas, P.L. (2008) Extraction of α -tocopherol and γ -oryzanol from rice bran. *LWT-Food*
351 *Sci Technol.*, 41: 1417–1424.
- 352 [15] Jesus, S.P.; Grimaldi, R.; Hense, H. (2010) Recovery of γ -oryzanol from rice
353 bran oil byproduct using supercritical fluid extraction. *J. of Supercr. Fluids*, 55: 149–155.
- 354 [16] Tomita, K.; Machmudah, S.; Wahyudiono; Fukuzato, R.; Kanda, H.; Quitain,
355 A.T.; Sasaki, M.; Goto, M. (2014). Extraction of rice bran oil by supercritical carbon dioxide
356 and solubility consideration. *Sep. Purif. Technol.*, 125: 319–325.
- 357 [17] Dickey, L.C.; Cooke, P.H.; Kurantz, M.J.; Mcaloon, A.; Parris, N.; Moreau, R.A.
358 (2007) Using microwave heating and microscopy to estimate optimal corn germ oil yield
359 with a bench-scale press. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, 84: 489–495.
- 360 [18] Loypimai, P.; Moonggarm, A.; Chottanom, P. (2009) Effects of ohmic heating
361 on lipase activity, bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran. *Australian*
362 *Journal of Basic and Applied Sciences*, 3: 3642–3652.
- 363 [19] Nair, G.R.; Divya, V.R.; Prasanna, L.; Habeeba, V.; Prince, M.V.; Raghavan,
364 G.S.V. (2012) Ohmic heating as a pre-treatment in solvent extraction of rice bran. *Journal of*
365 *Food Science and Technology*, DOI 10.1007/s13197-012-0764-2 29
- 366 [20] Thanonkaew, A.; Wongyai, S.; McClements, D.J.; Decker, E.A. (2012).
367 Effect of stabilization of rice bran by domestic heating on mechanical extraction yield,
368 quality, and antioxidant properties of cold-pressed rice bran oil (*Oryza sativa* L.). *LWT-Food*
369 *Sci Technol.*, 48: 231–236.
- 370 [21] Kim, M.; Park, J.W.; Kim, J.Y.; Park, K.W.; Lee, S.; Jang, J.; Lee, J.H. (2013)
371 Effects of heat treatment and visible light exposure on the oxidative stability of rice bran and
372 of rice bran oil. *Food Sci. Biotechnol.*, 22: 1223–1228.
- 373 [22] Pradeep, P.M.; Jayadeep, A.; Guha, M.; Singh, V. (2014). Hydrothermal and
374 biotechnological treatments on nutraceutical content and antioxidant activity of rice bran. *J.*
375 *Cereal Sci.*, 60: 187–192.
- 376 [23] Alrahmany, R.; Avis, T.J.; Tsopmo, A. (2013) Treatment of oat bran with
377 carbohydrases increases soluble phenolic acid content and influences antioxidant and
378 antimicrobial activities. *Food Res. Int.*, 52: 568–574.

- 1
2
3 379 [24] Fang, X.; Moreau, R.A.; 2014. Extraction and demulsification of oil from wheat
4 380 germ, barley germ, and rice bran using an aqueous enzymatic method. *J. Am. Oil Chem.*
5 381 *Soc.*, 91: 1261–1268.
- 6
7 382 [25] Ruen-Ngam, D.; Thawai, C.; Nokkoul, R.; Sukonthamut, S. (2014). Gamma-
8 383 oryzanol extraction from upland rice bran. *International Journal of Bioscience, Biochemistry*
9 384 *and Bioinformatics*, 4: 252-255.
- 10
11 385 [26] Shin, T.; Godber, S.J.; Martin, D. E.; Wells, J.H. (1997) Hydrolytic stability and
12 386 changes in E vitamers and oryzanol of extruded rice bran during storage. *J. Food Sci.*, 62:
13 387 704-708.
- 14
15 388 [27] Malekian, F.; Rao, R.M.; Prinyawiwatkul, W.; Marshall, W.E.; Windhauser, M.;
16 389 Ahmedna, M. (2000) Lipase and Lipoxygenase Activity, Functionality, And Nutrient
17 390 Losses in Rice Bran During Storage, Louisiana State University Agricultural
18 391 Center&Louisiana Agricultural Experiment Station, Louisiana.
- 19
20 392 [28] Khuwijitjaru, P.; Yuenyong, T.; Pongsawatmanit, R.; Adachi, S. (2009)
21 393 Degradation kinetics of gamm-oryzanol in antioxidant-stripped rice bran oil during thermal
22 394 oxidation. *J. Oleo. Sci.*, 58: 491-497.
- 23
24 395 [29] Debnath, S.; Rastogi, N.K.; Krishna, G.A.G.; Lokesh, B.R. (2012) Effect of
25 396 frying cycles on physical, chemical and heat transfer quality of rice bran oil during deep-fat
26 397 frying of poori: An Indian traditional fried food. *Food Bioprod. Process.*, 90: 249–256.
- 27
28 398 [30] Marshall, W.E.; Wadsworth, J.I. (1994) *Rice Science and Technology*, Marcel
29 399 Dekker, New York.

30
31
32
33
34
35
36
37
38 400
39
40 401
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

1 **Tables**2 **Table 1** Pretreatment processes with conditions

3

Pretreatments	Conditions
1. Microwave heating	60, 90 and 110°C 3 minutes
2. Hot air heating	70, 100 and 180°C 10 minutes
3. Roasting	60 and 80°C 3 minutes, Domestic cooking pan with diameter 15 cm
4. Parboiling	75°C 60 minutes, domestic cooking steamer with diameter 30 cm
5. Autoclave heating	121°C 15 minutes
6. Enzyme	50°C 120 minutes

4

5 **Table 2** Amount of oil product, γ -oryzanol content and antioxidant activity at each
6 pretreatment condition

Treatments	Rice bran oil (g/g)	γ -oryzanol (mg/g)	%ABTS	Torox (μ g/ml)	%DPPH	BHT (mg/ml)
1. Microwave heating						
-60°C	0.20 ^a	8.94 ^{ab}	71.1 \pm 7.3 ^b	7.54	50.6 \pm 2.8	3.60
-90°C	0.20 ^{aA}	9.08 ^{abC}	71.6 \pm 4.9	7.58	50.8 \pm 3.2 ^{ab}	3.61
-110°C	0.24 ^a	8.82 ^{bA}	63 \pm 4.2	6.74	50.3 \pm 2.1	3.58
2. Hot air heating						
-70°C	0.27 ^{bA}	9.26 ^{bC}	58.0 \pm 6.3 ^a	6.24	49.6 \pm 2.8 ^a	3.54
-100°C	0.23 ^b	8.93 ^a	57.5 \pm 2.4	6.19	49.5 \pm 1.2	3.54
-180°C	0.21 ^b	8.82 ^a	60.9 \pm 5.3	6.53	49.2 \pm 1.5	3.52
3. Roasting						
-60°C	0.14 ^c	8.81 ^a	68.9 \pm 4.9 ^b	7.31	55.35 \pm 3.7	3.87
-80°C	0.17 ^{cA}	9.10 ^{aC}	65.7 \pm 0.9	7.00	54.14 \pm 0.3 ^b	3.80
4. Parboiling						
-70°C	0.18 ^A	9.76 ^D	61.88 \pm 1.9 ^{ab}	6.62	53.9 \pm 1.4 ^b	3.83
5. Autoclave heating						

1

URL: <http://mc.manuscriptcentral.com/lsst> Email: sepscjad@uark.edu

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	-121°C	0.20 ^A	8.86 ^B	67.7±4.4 ^b	7.20	54.7±1.5 ^{ab}	3.78
6. Enzyme							
	-50°C	0.18 ^A	8.31 ^E	71.0±0.8 ^b	7.53	53.0±3.5 ^c	3.73

7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

Remarks: Values are means±standard deviation of triplicate. The same superscript of lowercase letter in column demonstrates no significantly difference in each pretreatment process at $p < 0.05$

The same superscript capital letter in the column demonstrates is no significantly difference of the highest value from each pretreatment at $p < 0.05$



1 **Figure Captions**

2

3 **Figure 1** Rice bran oil recovery after treating with different pretreatment processes

4 **Figure 2** Amount of γ -oryzanol after different temperatures of microwave

5 pretreatment

6 **Figure 3** Amount of γ -oryzanol after different temperatures of hot air pretreatment

7 **Figure 4** Amount of γ -oryzanol after different temperatures of roasting pretreatment

8 **Figure 5** Amount of γ -oryzanol after different pretreatment processes.

9 **Figure 6** Antioxidant activity of extracted compound in rice bran oil after different

10 pretreatment processes

11

12

13

14

15

16

17

18

19

20

21

22

23

24

25

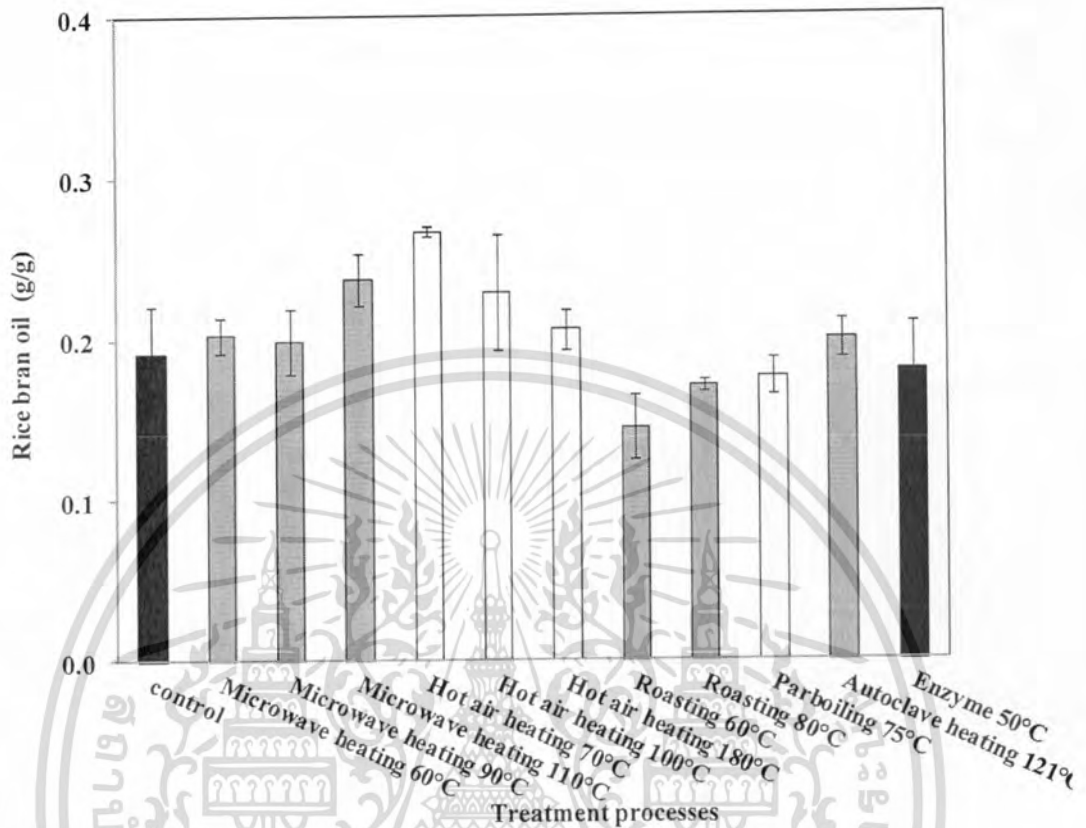


1

URL: <http://mc.manuscriptcentral.com/lsst> Email: sepsciad@uark.edu

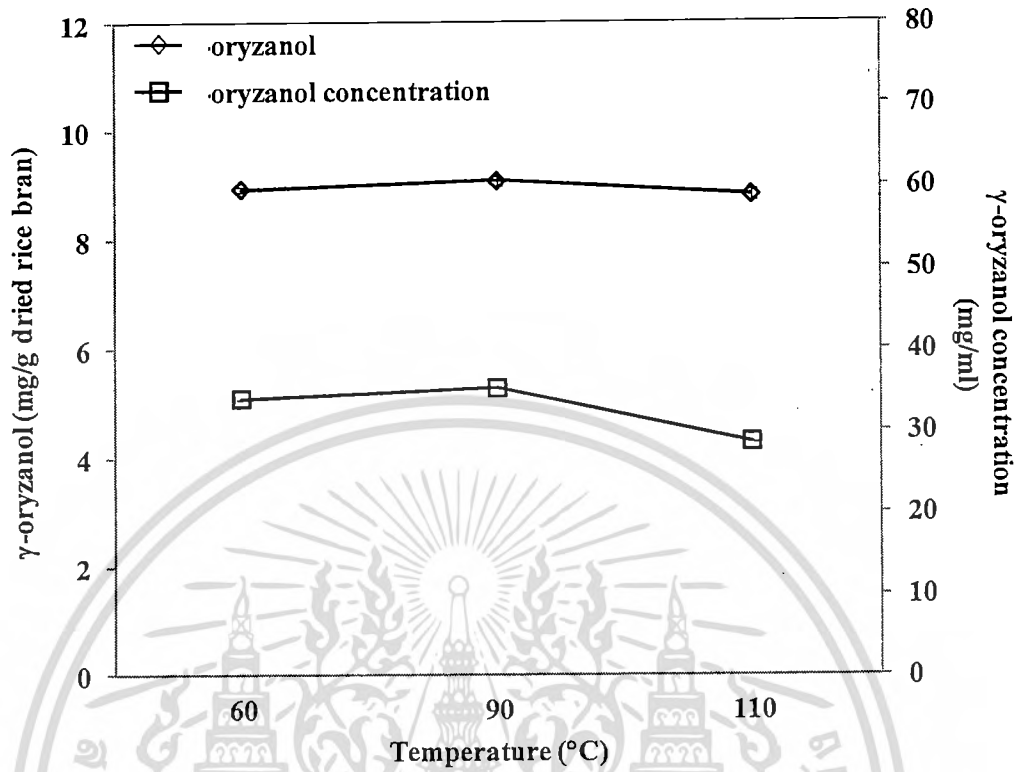
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

26 **Figures**

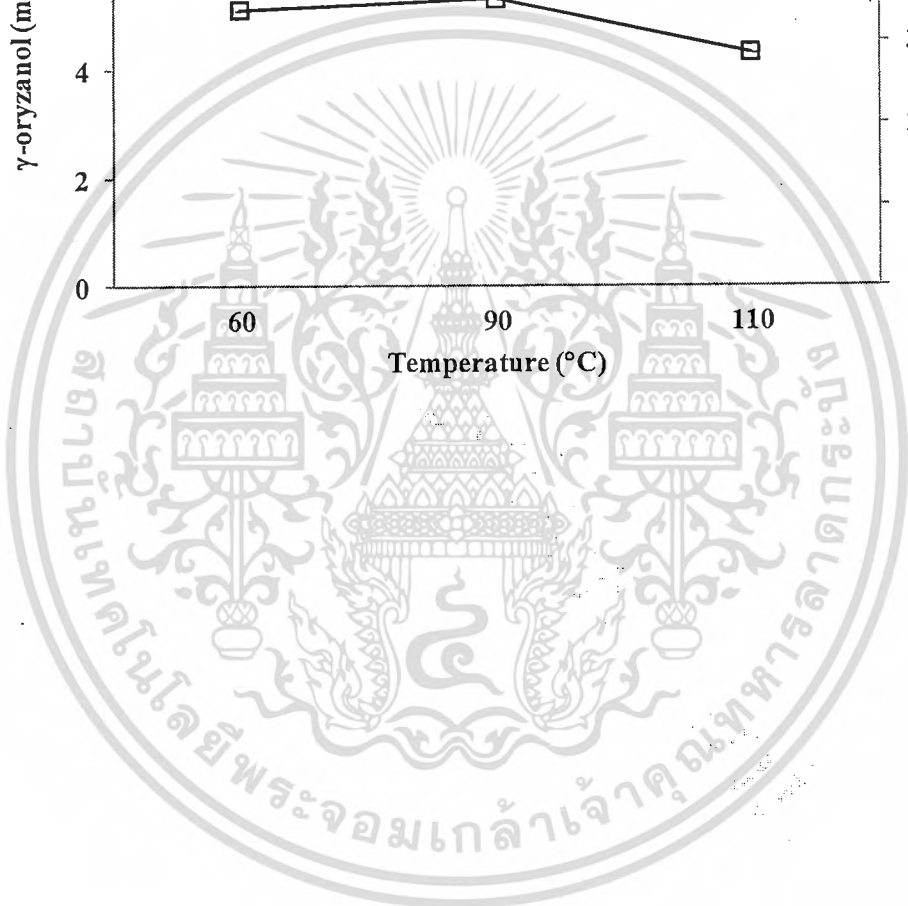


27
28 **Figure 1**
29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



30
31 Figure 2



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

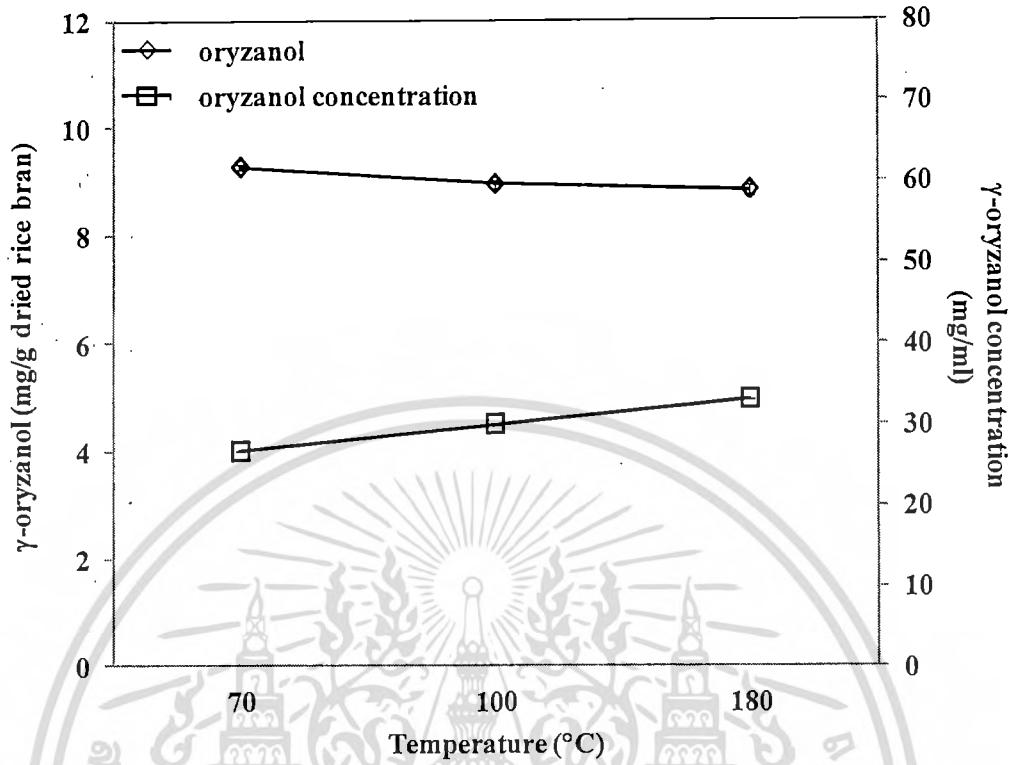
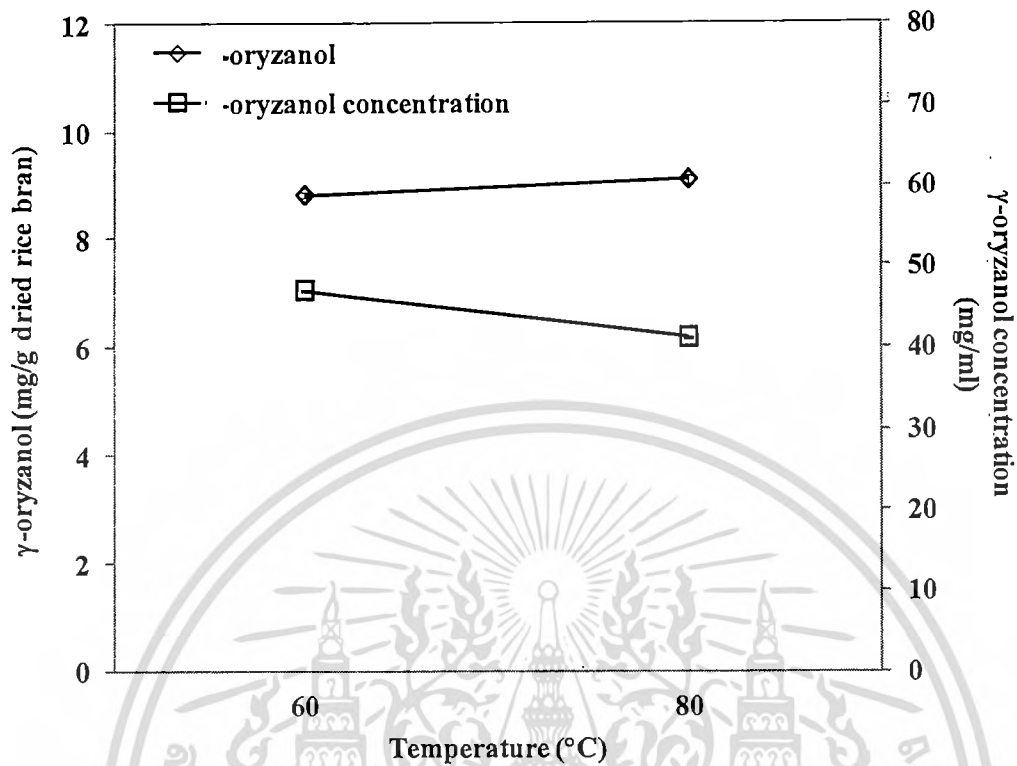


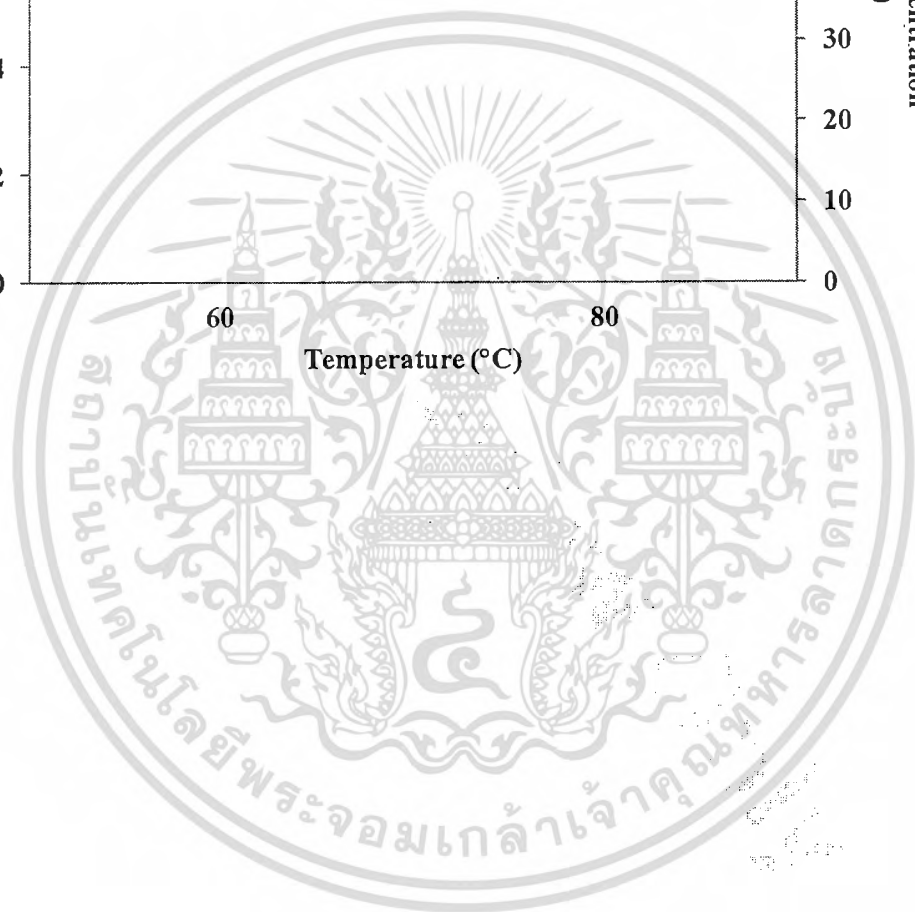
Figure 3

1
2
3
4
5
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
23
24
25
26
27
28
29
30
31
32
33
34
35
36
37
38
39
40
41
42
43
44
45
46
47
48
49
50
51
52
53
54
55
56
57
58
59
60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



35
36 Figure 4



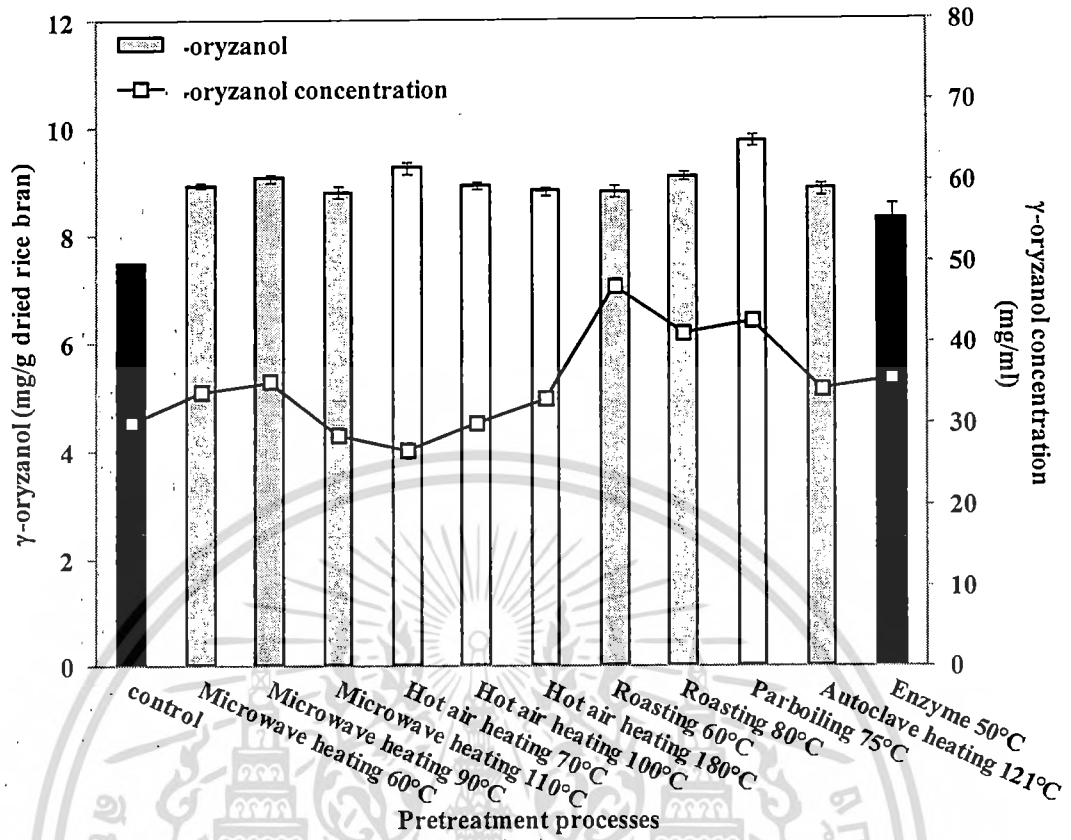


Figure 5

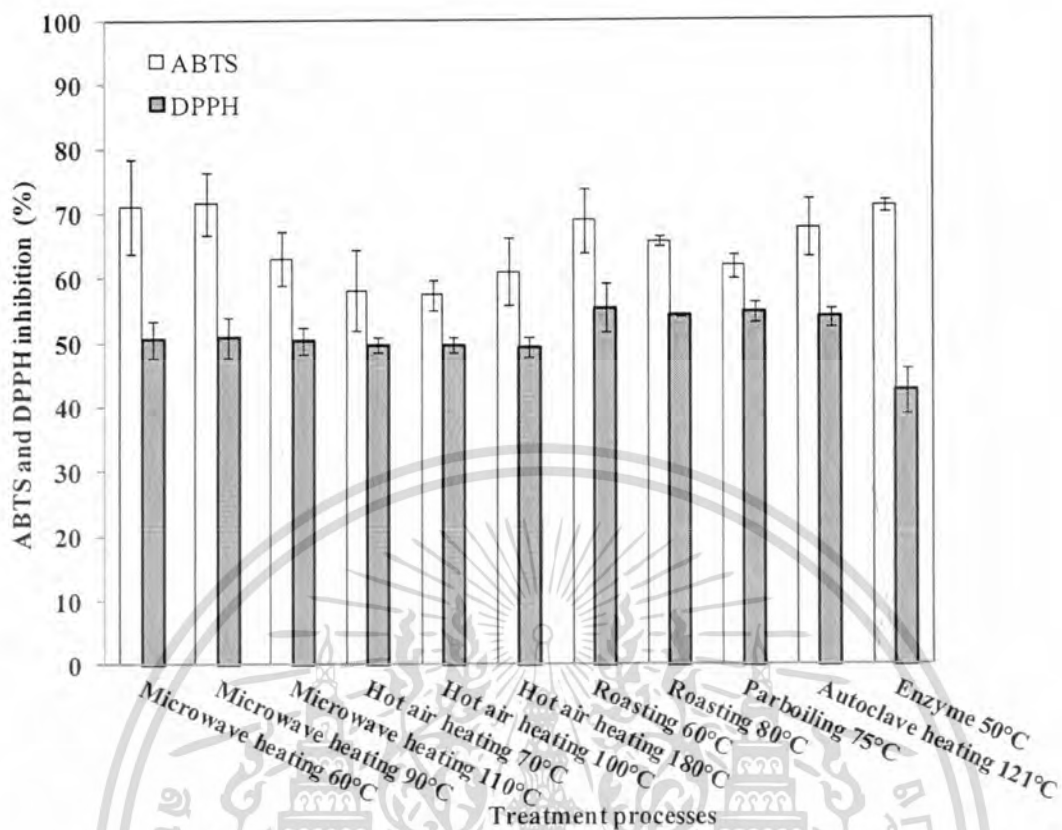


Figure 6

39
40
41
42
43
44
45
46
47
48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้