

# สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การสกัดน้ำมันรำข้าวและสารสำคัญด้วยคลื่นเสียงช่วยในการสกัด

Rice bran oil and active compounds extraction by  
ultrasound-assisted extraction



T141984

กรกาญจน์ ชูมี  
ชุติมณฑน์ อินทรแพทย์  
สาลินี คิตประเสริฐ

รฟพ.  
ก 152 ก

เลขหมู่ 2557  
เลขทะเบียน 141984  
วัน,เดือน,ปี 1.1.2559

12 767906

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2557

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rice bran oil and active compounds extraction by  
ultrasound-assisted extraction



Kornkan Choomee  
Chutimon Intharapat  
Salinee Kidprasert

A SPECIAL PROJECT EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE IN  
BIOTECHNOLOGY DEPARTMENT OF BIOLOGY  
FACULTY OF SCIENCE  
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG  
ACADEMIC YEAR 2014

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การสกัดน้ำมันรำข้าวและสารสำคัญด้วยคลื่นเสียงช่วยในการสกัด Rice Bran Oil and Active Compounds Extraction by Ultrasound-assisted Extraction		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวกรกาญจน์ ชูมี	รหัสนักศึกษา	54050345
	นางสาวชุตินมณฑน์ อินทรแพทย์	รหัสนักศึกษา	54050367
	นางสาวสาลินี คิตประเสริฐ	รหัสนักศึกษา	54050453
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2557		
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ดวงกมล เรือนงาม		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2557

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.ดร.จิตติ ท่าไฉ่ ประธานกรรมการ	
อ.ดร.สมพิศ สอนโยธา กรรมการ	
อ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การสกัดน้ำมันรำข้าวและสารสำคัญด้วยคลื่นเสียงช่วยในการสกัด Rice Bran Oil and Active Compounds Extraction by Ultrasound-assisted Extraction	
ผู้จัดทำ	นางสาวกรกาญจน์ ชูมี	รหัสนักศึกษา 54050345
	นางสาวชุติมณฑน์ อินทรแพทย์	รหัสนักศึกษา 54050367
	นางสาวสาลิณี คิตประเสริฐ	รหัสนักศึกษา 54050453
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)	
ภาควิชา	ชีววิทยา	
ปีการศึกษา	2557	
อาจารย์ที่ปรึกษา	อาจารย์ ดร.ดวงกมล เรืองงาม	

### บทคัดย่อ

โครงการพิเศษนี้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันรำข้าวและแกมมาออริซานอลด้วยการใช้คลื่นเสียงช่วยและร่วมกับตัวทำละลายในการสกัด รำข้าวที่ใช้มีสองสายพันธุ์คือ ข้าวหอมมะลิและข้าวดอกพะยอม นอกจากนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ของสารสกัดที่ได้ด้วยวิธี DPPH assay โดยมีสภาวะของอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:4 1:6 1:8 และ 1:10 กรัมต่อมิลลิลิตร ใช้เวลาในการสกัด 20 นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งประกอบไปด้วยตัวทำละลาย 5 ชนิดคือ เมทานอล เอทานอล เฮกเซน อะซิโตน และอะซิโตนไตรเอทิล นอกจากนี้ได้ทำการเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม คือ วิธี soxhlet extraction ซึ่งสกัดสารที่สภาวะของอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:30 กรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จากการทดลองทั้ง 2 ส่วนข้างต้น พบว่าถ้าสกัดด้วยวิธี Soxhlet จะได้ปริมาณน้ำมันเท่ากับร้อยละ  $34.04 \pm 1.65$  โดยน้ำหนักแห้ง ซึ่งมากกว่าการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic ที่มีปริมาณน้ำมันเท่ากับร้อยละ  $5.94 \pm 0.60$  โดยน้ำหนักแห้ง ส่วนในการวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาออริซานอลที่สกัดด้วยวิธี Ultrasonic ได้ปริมาณแกมมาออริซานอลเท่ากับ  $14.6303 \pm 6.77$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งได้ปริมาณแกมมาออริซานอลมากกว่าการสกัดด้วยวิธี Soxhlet ที่มีปริมาณเท่ากับ  $4.5719$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet สามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระที่ออกฤทธิ์ที่ดีกว่าวิธี Ultrasonic ช่วยๆ และให้ค่า  $IC_{50} = 1.972 \pm 0.14$  และ  $IC_{50} = 4.642 \pm 0.33$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

คำสำคัญ: แกมมาออริซานอล น้ำมันรำข้าว รำข้าว สารต้านอนุมูลอิสระ การสกัดสารโดยใช้เครื่องชอกท์เลต การสกัดสารโดยใช้คลื่นเสียงช่วยในการสกัด

Title	Rice bran oil and active compounds extraction by ultrasound-assisted extraction		
Students	Miss Kornkan	Choomee	Student ID 54050345
	Miss Chutimon	Intharapat	Student ID 54050367
	Miss Salinee	Kidprasert	Student ID 54050453
Degree	Bachelor of Science Program in Biotechnology		
Department	Biology		
Academic Year	2014		
Advisor	Dr.Duangkamol Ruen-ngam		

### ABSTRACT

This special project has studied on the optimization condition on rice bran oil and  $\gamma$ -oryzanol extraction by using ultrasound co-assisted with solvent in extraction. Two types of rice bran such as Jusmin and Dok-Payom rice were used in this project. Moreover this project has also included the antioxidant activity of extracted compound by DPPH assay. The extracting solvents in this project were methanol, ethanol, hexane, acetone and acetonitrile with the rice bran and solvent ratio of 1:4 1:6 1:8 and 1:10 g/ml with extraction time of 20 minutes and 30 °C. The results were then compared to the conventional extraction method such as soxhlet extraction with the rice bran and solvent ratio of 1:30 g/ml with extraction time of 4 hours. The results were discovered that the rice bran oil can get in higher level around  $34.04 \pm 1.65\%$  dry weight by soxhlet extraction method than the ultrasonic-assisted extraction method which gets around  $5.94 \pm 0.60\%$  dry weight. The amount of  $\gamma$ -oryzanol was higher and found by the ultrasonic-assisted extraction ( $14.6303 \pm 6.77$   $\mu\text{g/ml}$ ) than the soxhlet extraction ( $4.5719$   $\mu\text{g/ml}$ ). The study of antioxidant activity, the soxhlet extraction method can have higher antioxidant activity than the ultrasonic-assisted extraction and got the  $\text{IC}_{50} = 1.972 \pm 0.14$  and  $4.642 \pm 0.33$  g/ml, respectively.

**Keywords:**  $\gamma$ -Oryzanol Rice bran oil Rice bran Antioxidant Soxhlet extraction  
Ultrasonic-assisted extraction

## กิตติกรรมประกาศ

ปริญญาโทสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มี  
พระคุณหลายท่านดังนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ประจำภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท ที่ให้ความ  
ช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะช่วยแก้ปัญหาตลอดจนให้ความรู้ และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์.ดร.จิตติ ท่าไว ประธานกรรมการสอบหัวข้อ และโครง  
ร่างปริญญาโท และ ดร.สมพิศ สอนโยธา กรรมการสอบหัวข้อและโครงร่างปริญญาโท ที่ได้  
กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนข้อชี้แนะ แก่ไขจนการทำเล่มปริญญาโทสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ วราพร เหลือสินทรัพย์ ที่ให้คำปรึกษาทางด้านสถิติใน  
การวิเคราะห์ผลการทดลอง และให้คำแนะนำ ปรับปรุงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ อย่างดียิ่ง

ขอขอบพระคุณนายเนศ ชูมี และนางอนุส ชูมี บิตามารดาของ นางสาวกรกาญจน์ ชูมี ที่  
ช่วยอนุเคราะห์หาตัวอย่างข้าวสายพันธุ์กุ่มเมืองหลวง และรำข้าวสายพันธุ์ดอกพะยอมจากจังหวัดสุ  
ราษฎร์ธานีมาให้

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์ เครื่องมือ  
วิทยาศาสตร์ และคอยให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาในการทำปริญญาโท

สุดท้ายนี้ผู้จัดทำขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวที่สนับสนุนและให้  
กำลังใจในการทำปริญญาโทครั้งนี้ จนสามารถสำเร็จได้อย่างที่คาดหวัง หากวิทยานิพนธ์เล่มนี้มิ  
ความผิดพลาดประการใดผู้จัดทำขออภัย ณ ที่นี้ด้วย

นางสาวกรกาญจน์	ชูมี
นางสาวชุติมณฑน์	อินทรแพทย์
นางสาวสาลินี	คิดประเสริฐ

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ .....	ง
สารบัญตาราง.....	ช
สารบัญรูป .....	ซ
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ .....	1
1.2 วัตถุประสงค์ .....	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย .....	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ .....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	4
2.1 เมล็ดข้าว.....	4
2.1.1 เปลือกแข็งหุ้มเมล็ดหรือเกลบ (hull).....	5
2.1.2 เปลือกหุ้มผล (pericarp).....	5
2.1.3 เมล็ด.....	6
2.1.3.1 เปลือกหุ้มเมล็ด (tegmen หรือ seed coat).....	6
2.1.3.2 ชั้นเยื่อโปร่งใส (hyaline layer หรือ nucellus) .....	6
2.1.3.3 ชั้นแอลิวโรนหรือเยื่อหุ้มเมล็ด (aleurone layer).....	6
2.1.3.4 คัพภะ (germ หรือ embryo).....	6
2.1.3.5 เนื้อเมล็ด (endosperm).....	6
2.2 กรรมวิธีการสีข้าว.....	7
2.2.1 ประสิทธิภาพการสีข้าว .....	7
2.2.2 คุณภาพข้าวเปลือกกับการสีข้าว .....	8
2.2.3 การแตกร้าวของข้าวเปลือก .....	9
2.2.4 เมล็ดข้าวเปลือกที่ไม่สมบูรณ์ .....	9
2.2.5 เทคนิคการตรวจสอบคุณภาพข้าวเปลือก.....	9
2.2.6 การสีข้าว .....	11
2.2.7 คุณภาพข้าวสาร.....	12
2.2.8 ระดับการสีข้าว .....	13
2.3 รำข้าว .....	13
2.4 น้ำมันรำข้าว.....	16
2.5 ประโยชน์ของน้ำมันรำข้าว .....	17
2.6 อนุมูลอิสระ.....	18
2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ.....	19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
2.7.1 สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ .....	19
2.7.2 สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ .....	20
2.8 สารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าว .....	20
2.9 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ .....	20
2.10 การทดสอบฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระและกลไกการเกิดปฏิกิริยา.....	25
2.10.1 การทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay.....	25
2.10.2 การทดสอบด้วยวิธี FRAP assay.....	26
2.11 Sonications หรือ Ultrasonic.....	27
2.12 Soxhlet extractor .....	37
2.13 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง .....	38
<b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย .....</b>	<b>42</b>
3.1 วัตถุประสงค์และสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง .....	42
3.2 อุปกรณ์.....	42
3.3 วิธีการทดลอง .....	45
3.3.1 การเตรียมรำข้าว .....	45
3.3.2 แยกขนาดรำข้าว.....	49
3.3.3 การวัดความชื้นในรำข้าว.....	50
3.3.4 การสกัดสารแกมมาออร์นิทานอล .....	50
3.3.4.1 การสกัดรำข้าวด้วยวิธี Soxhlet extraction.....	50
3.3.4.2 การสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิก.....	51
3.3.5 การวิเคราะห์สารแกมมาออร์นิทานอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในน้ำมันรำข้าว.....	53
3.3.5.1 การวิเคราะห์สารแกมมาออร์นิทานอล และวิตามินอี .....	53
3.3.5.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH .....	55
<b>บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล .....</b>	<b>58</b>
4.1 ลักษณะทางกายภาพของรำข้าว.....	58
4.1.1 การคัดแยกขนาดรำข้าว.....	58
4.1.2 การวิเคราะห์ความชื้นของรำข้าว .....	58
4.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน ปริมาณแกมมาออร์นิทานอล และฤทธิ์ในการต้านอนุมูล อิสระของข้าวหอมมะลิ และดอกพะยอมจากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction.....	60
4.2.1 ปริมาณน้ำมัน .....	60
4.2.2 ปริมาณแกมมาออร์นิทานอล .....	63
4.2.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH .....	66

## สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
4.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน ปริมาณแกมมาออริซานอล และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวหอมมะลิ และดอกพะยอมจากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction .....	67
4.3.1 ปริมาณน้ำมัน .....	67
4.3.2 ปริมาณแกมมาออริซานอล .....	71
4.3.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH .....	73
4.3.4 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน และปริมาณแกมมาออริซานอลที่จากการสกัดรอบ 1 2 และ 3 .....	76
4.3.5 การวิเคราะห์ร้อยละของปริมาณน้ำมันฐานแห้ง ปริมาณแกมมาออริซานอล และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในเวลาต่างกัน .....	77
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ .....	81
5.1 สรุปผลการทดลอง .....	81
5.2 ข้อเสนอแนะ .....	82
บรรณานุกรม .....	83
ภาคผนวก ก .....	88
ภาคผนวก ก .....	89
ภาคผนวก ข .....	91
ภาคผนวก ค .....	104
ภาคผนวก ง .....	122

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 อัตราการสีข้าวเปลือก.....	8
2.2 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว.....	14
2.3 ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่จำเป็นในตัวอย่างโปรตีนอาหาร.....	15
2.4 วิตามินและแร่ธาตุในน้ำมันรำข้าว.....	15
2.5 สมบัติของสารต้านออกซิเดชันจำพวกฟีนอล.....	22
2.6 ค่า Anioxidative factor (AF) ของสารต้านออกซิเดชันบางชนิดในน้ำมันหมูบริสุทธิ์.....	23
2.7 แหล่งที่พบสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ.....	25
3.1 ข้อมูลเครื่องสีข้าวกล้อง และข้าวขาว.....	46
4.1 น้ำหนักเฉลี่ยและขนาดของรำข้าว.....	59
4.2 การวิเคราะห์ความชื้นของรำข้าว.....	60
4.3 ปริมาณน้ำมันรำข้าว (กรัม) แบบฐานแห้ง และฐานเปียก ที่ได้จากการสกัดน้ำมันรำข้าวด้วยวิธี Soxhlet extraction.....	62
4.4 ปริมาณแกมมาออร์ซานอลจากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction.....	65
4.5 ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction.....	66
4.6 ปริมาณน้ำมัน(กรัม)ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction.....	68
4.7 ปริมาณน้ำมันเฉลี่ย แบบฐานแห้ง และฐานเปียกจากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction.....	69
4.8 ปริมาณแกมมาออร์ซานอลจากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction.....	72
4.9 ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction.....	74
4.10 ปริมาณน้ำมัน(กรัม)ในเวลาต่างกัน.....	77
4.11 ปริมาณน้ำมันฐานแห้ง และฐานเปียกจากการสกัดในเวลาต่างกัน.....	78
4.12 ปริมาณแกมมาออร์ซานอลด้วยวิธี Ultrasonic extraction ในเวลาต่างกัน.....	79
4.13 ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ด้วยวิธี Ultrasonic extraction ในเวลาต่างกัน.....	80

# สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว .....	4
2.2 โครงสร้างของเมล็ดข้าว .....	5
2.3 ขั้นตอนการสีข้าว .....	12
2.4 สารต้านออกซิเดชันบางชนิดที่ได้จากการสังเคราะห์ .....	21
2.5 กลไกการต้านออกซิเดชันของสารจำพวกฟีนอล .....	21
2.6 กลไกการเสริมฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของ 3-BHA และ BHT .....	23
2.7 สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical) .....	25
2.8 คลื่นความถี่ของอัลตราซาวด์ในช่วงต่างๆ .....	27
2.9 ลิควิดไคร์ฟเวเนทรานส์ติวเซอร์ .....	28
2.10 แมกนีโตสตรีกทรานส์ติวเซอร์ .....	29
2.11 พิโซอิเล็กตริกทรานส์ติวเซอร์ .....	30
2.12 อ่างอัลตราโซนิก .....	31
2.13 อ่างอัลตราโซนิกแบบคัพฮอร์น .....	32
2.14 ลักษณะของฮอร์นชนิดต่างๆ .....	33
2.15 ระบบอัลตราซาวด์แบบโพล .....	33
2.16 การเกิดฟองอากาศในตัวกลาง .....	36
2.17 การเกิดฟองอากาศในตัวกลาง .....	36
2.18 Soxhlet extractor .....	38
3.1 เครื่องสีข้าวกล้องและข้าวขาว รุ่น MS 300 RM .....	45
3.2 ช่องใส่รำข้าวกับเกลบ .....	48
3.3 ช่องใส่ข้าวเปลือก .....	48
3.4 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการขัดสี .....	49
3.5 ตะแกรงร่อน .....	49
3.6 ชุด Soxhlet .....	50
3.7 Evaporator (a) ชุด evaporator (b) ลักษณะขวดที่ทำการระเหย .....	51
3.8 อัลตราโซนิก (a) ลักษณะขวดที่กำลังโซนิเคต (b) เครื่องอัลตราโซนิก .....	52
3.9 การทดสอบอุณหภูมิระหว่างน้ำในขวดสีชา สารตัวอย่างที่อยู่ในขวดสีชาและน้ำในอ่าง .....	53
4.1 น้ำหนักเฉลี่ยของรำข้าวที่ได้จากการร่อน .....	59
4.2 เปอร์เซนต์สะสมของน้ำหนักเฉลี่ยของรำข้าว .....	60
4.3 ปริมาณน้ำมันฐานแห้งจากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction .....	63
4.4 ปริมาณแกมมาออริซานอลจากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction .....	65
4.5 ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction .....	67
4.6 ปริมาณน้ำมันฐานแห้งจากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction .....	70
4.7 ค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของตัวทำละลาย .....	73
4.8 ปริมาณแกมมาออริซานอลจากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction .....	73

## สารบัญรูป(ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.9 ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction .....	75
4.10 ปริมาณน้ำมันฐานแห้งจากการสกัดรอบ1 2 และ 3 .....	76
4.11 ปริมาณแกมมาออร์ิซานอลจากการสกัดรอบ1 2 และ 3 .....	76
4.12 ปริมาณน้ำมันฐานแห้งในเวลาต่างกัน .....	78
4.13 ปริมาณแกมมาออร์ิซานอลในเวลาต่างกัน .....	79
4.14 ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระในเวลาต่างกัน .....	80



# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

ข้าวเป็นอาหารหลักที่สำคัญของคนไทย คนเอเชีย และอีกหลายชนชาติในโลก ในปี 2554 มีรายงานทั่วโลกมีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 981.32 ล้านไร่ มีปริมาณข้าวสารโดยรวมประมาณ 453.22 ล้านตัน ในจำนวนผลผลิตข้าวดังกล่าว ประเทศจีนเป็นประเทศผู้ผลิตข้าวรายใหญ่ของโลกซึ่งผลิตได้มากถึง 137.00 ล้านตัน รองลงมาได้แก่ อินเดีย และอินโดนีเซีย มีปริมาณผลผลิต 95.98 และ 35.50 ล้านตัน ตามลำดับ สำหรับประเทศไทยเป็นผู้ผลิตข้าวลำดับที่ 6 ของโลกรองจากจีน อินเดีย อินโดนีเซีย บังคลาเทศ และเวียดนาม โดยมีผลผลิตข้าวประมาณ 20.26 ล้านตัน (USDA, 2015) อย่างไรก็ตามในด้านปริมาณการผลิตข้าวจัดเป็นผลิตผลทางการเกษตรที่ครองสถิติอันดับหนึ่งของประเทศไทยมาหลายทศวรรษ โดยตลอด 10 ปีที่ผ่านมา การส่งออกข้าวของประเทศไทยมีแนวโน้มสูงขึ้นจาก 6.37 ล้านตัน ในปี พ.ศ. 2541 เป็น 10.01 ล้านตัน ในปี พ.ศ. 2551 สำหรับปริมาณการส่งออกข้าวในปี 2554 ประเทศไทยมียอดการส่งออกข้าวมากถึง 10.50 ล้านตัน การให้ได้มาซึ่งข้าวสารที่ใช้ในการบริโภคดังกล่าว ข้าวเปลือกต้องผ่านกระบวนการขัดสีข้าว กระบวนการสีข้าว นอกจากจะได้เมล็ดข้าวเป็นผลผลิตหลักกว่าร้อยละ 69.5 แล้ว ยังมีผลิตผลพลอยได้ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการได้แก่ เปลือกข้าวร้อยละ 20 จมูกข้าว และเยื่อหุ้มเมล็ดหรือที่เรียกว่า “รำข้าว” อีกประมาณร้อยละ 10.5 ของข้าวทั้งเมล็ด (กิตติมา และสาโรจน์, 2555) จากข้อมูลส่วนประกอบดังกล่าว หากเราคิดเทียบปริมาณรำข้าวที่เกิดขึ้นจากปริมาณผลผลิตข้าวที่ประเทศไทยผลิตได้ในปี 2554 จะมีปริมาณสูงถึง 2.16 ล้านตัน ในปีการผลิต 2556/57 ผลผลิตข้าวโลก ประมาณ 476.4 ล้านตัน ซึ่งเพิ่มขึ้นจากปีก่อนร้อยละ 2.0 มีพื้นที่เก็บเกี่ยว 1,004.6 ล้านไร่ พื้นที่เก็บเกี่ยวและผลผลิตเพิ่มขึ้นจากปีก่อนร้อยละ 1.6 และร้อยละ 0.9 ตามลำดับ ส่วนผลผลิตต่อไร่ 707 กิโลกรัม ลดลงจากปีก่อนร้อยละ 0.7 โดยประเทศที่มีผลผลิตเพิ่มขึ้น เช่น บังคลาเทศ เมียนมาร์ อินเดีย เวียดนาม และไทย เป็นต้น ส่วนประเทศที่มีผลผลิตลดลง ได้แก่ จีน อินโดนีเซีย และสหรัฐอเมริกา (ธนาคารแห่งประเทศไทย สำนักงานภาคตะวันออกเฉียงเหนือ, 2557; USDA, 2015)

รำข้าวเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด ได้แก่ วิตามินอี แกมมาออริซานอล และสารพอลิฟีนอล (ได้แก่กรดเฟอร์ูลิกเป็นส่วนใหญ่) สารเหล่านี้มีประโยชน์ต่อสุขภาพร่างกายเป็นอย่างมาก อันได้แก่ ลดคลอเรสเตอรอล ป้องกันโรคหัวใจ ป้องกันโรคทางประสาท (กิตติมา และสาโรจน์, 2555) สารต้านอนุมูลอิสระแต่ละชนิดถึงแม้จะมีกลไกการทำงานที่แตกต่างกันแต่สามารถทำงานเสริมกันให้มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระมากยิ่งขึ้นได้ (Devi และ Arumugha, 2007) เนื่องด้วยรำข้าวมีคุณประโยชน์มากมายจึงมีนักวิจัยจำนวนมากศึกษาการสกัดสารเหล่านี้จากรำข้าว (Taylor และคณะ, 1997; Goufo และคณะ, 2014) ซึ่งมีวิธีการสกัดหลายวิธี (Wang และ Weller, 2006) ได้แก่ การสกัดด้วยตัวทำละลาย (solvent extraction) (Ruen-ngam และคณะ,

2014) การสกัดสารโดยใช้เครื่องซอกซ์เลต (Soxhlet extraction method) (Nandi และ Ghosh 2015; Sahar และ Mohamed, 2013) การสกัดสารโดยใช้เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic-assisted extraction method) (Tabaraki และ Nateghi, 2011) การสกัดสารโดยใช้เครื่องไมโครเวฟ (Microwave-assisted extraction method) (Zigoneanu และคณะ, 2008) การสกัดสารใช้เทคนิคซูเปอร์คริติคัลฟลูอิด (Supercritical fluid extraction method) (Jesus และคณะ, 2010) การสกัดเพียงบางส่วน (Partial extraction method) (Lilitchan และคณะ, 2008) และ การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายในสภาวะเร่ง (Accelerated solvent extraction method) (Abdel-Aal และคณะ 2014) นอกจากนี้ยังมีวิธีที่ง่ายและยังมีการศึกษาในวงจำกัดคือ การสกัดด้วยคลื่นเสียงร่วมด้วยในการสกัด อุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับคลื่นเสียงที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการและสะดวกต่อการใช้งานคือ เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic) ที่มีลักษณะแบบอ่าง สภาวะที่เหมาะสมในการสกัดเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องทำการศึกษาเนื่องจากจะแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ ดังนั้น เพื่อให้การสกัดเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพมากที่สุดจึงทำการศึกษาการสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญโดยใช้เครื่อง Ultrasonic ในการสกัดน้ำมันและสารต้านอนุมูลอิสระ และได้จะทำการเปรียบเทียบกับ การสกัดสารโดยใช้เครื่องสำเร็จซอกซ์เลต (Soxhlet) เพื่อหาสภาวะในการสกัดที่มีคุณภาพและปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง

## 1.2 วัตถุประสงค์

- 1.2.1 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันรำข้าวและสารแกมมาออริซานอล ( $\gamma$ -oryzanol) จากรำข้าวหอมมะลิและข้าวไร้ดอกพะยอมด้วยวิธีดั้งเดิม (การใช้ซูด Soxhlet)
- 1.2.2 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันรำข้าวและสารแกมมาออริซานอล ( $\gamma$ -oryzanol) จากรำข้าวหอมมะลิและข้าวไร้ดอกพะยอมด้วยวิธีการใช้เครื่องเสียงช่วยในการสกัด
- 1.2.3 เพื่อทดสอบฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดด้วยวิธีใช้คลื่นเสียงช่วยในการสกัด

## 1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

1.3.1 การสกัดสารจะใช้วิธีการใช้คลื่นเสียงช่วยในการสกัดโดยเป็นการใช้เครื่อง Ultrasonic แบบอ่าง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีตัวทำละลายที่ใช้คือ คือ เฮกเซน (Hexane) อะซิโตน (Acetone) อะซิโตนไนไตรล์ (Acetonitrile) เมทานอล (Methanol) และเอทานอล (Ethanol) ใช้อัตราส่วนรำข้าว:ตัวทำละลายเป็น 1:4 1:6 1:8 และ 1:10 กรัม:มิลลิลิตร (w/v) ตามลำดับ ใช้เวลาในการสกัดสาร 5 10 20 และ 30 นาที เครื่องมือที่ใช้มีความถี่ในช่วง 20-40 KHz ผลการสกัดที่ได้จะนำไปเปรียบเทียบกับ การสกัดแบบดั้งเดิม

1.3.2 วิธีการสกัดแบบดั้งเดิม (Soxhlet) ซึ่งเป็นระบบหมุนวนของตัวทำละลายบริสุทธิ์โดยใช้ อัตราส่วนรำข้าว: ตัวทำละลาย เป็น 1:30 กรัมต่อมิลลิลิตร เป็นเวลา 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะมีการวัดกราฟปริมาณ  $\gamma$ -oryzanol โดยใช้ HPLC และมีการทดสอบฤทธิ์ของน้ำมันที่สกัดได้ด้วยวิธี DPPH

- 1.3.3 วัตถุประสงค์ รำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมมะลิ (Khao Dawk KhaoHom Mali; KDML105 ซึ่งในการรายงานผลนับตั้งแต่บัดนี้จะใช้สัญลักษณ์ย่อเป็น HM) และข้าวดอกพะยอม (Dawk Pa-yawm; DY) ซึ่งระยะเวลาเก็บรักษารำข้าวตั้งแต่ 1 กรกฎาคม 2557 ถึง 30 เมษายน 2558 ตลอดระยะเวลาการทดลองเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สารมาตรฐานที่ใช้ในการเปรียบเทียบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ คือ บีเอชที(butylated hydroxytoluene;BHT) และวิตามินซี (vitaminC) ซึ่งจากรายงานของ Lee และคณะ ในปี ค.ศ.2012 ใช้บีเอชทีและวิตามินซีในการเปรียบเทียบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระในใบฝรั่ง (*Psidium guajava* L)

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถทราบสภาวะที่เหมาะสมและเลือกวิธีในการสกัดน้ำมันรำข้าวและสารแกมมาออริซานอลที่มีคุณภาพในการต้านทานอนุมูลอิสระได้



## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 เมล็ดข้าว

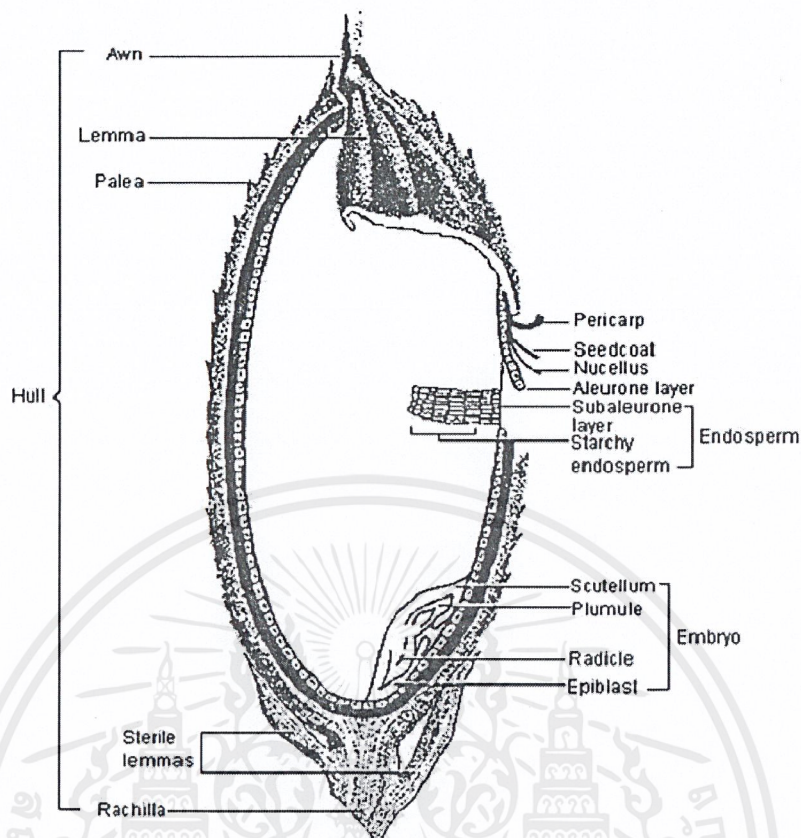
ข้าว เป็นคำที่ใช้เรียก เมล็ดข้าว (Rice Grain) หรือข้าวเปลือก ประกอบด้วย 2 ส่วนที่สำคัญ คือ ส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าวเรียกว่า แกลบ (Hull หรือ Husk) และส่วนเนื้อผลหรือข้าวกล้อง (Brown Rice) และข้าวขาว (white rice) ซึ่งห่อหุ้มด้วยรำข้าว (Rice Bran) (ฉลุย และคณะ, 2555)

กระบวนการสีข้าว นอกจากจะได้เมล็ดข้าวเป็นผลผลิตหลักกว่าร้อยละ 69.5 แล้ว ยังมีผลพลอยได้เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการได้แก่ เปลือกข้าวร้อยละ 20 โดยน้ำหนักของข้าวทั้งเมล็ด จมูกข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดซึ่งรวมเรียกว่า “รำข้าว” อีกประมาณร้อยละ 10.5 โดยน้ำหนักของข้าวทั้งเมล็ด โดยแสดงส่วนประกอบของข้าวดังรูปที่ 2.1 เมื่อนำแต่ละส่วนของเมล็ดข้าวมาวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนพบว่า รำข้าวให้ปริมาณโปรตีนสูงสุดเมื่อเทียบกับส่วนอื่นๆ ในเมล็ดข้าว โดยมีโปรตีนสูงถึง 11.3-14.9\* ในขณะที่ในข้าวสารมีโปรตีนอยู่ที่ 6.3-7\* และปริมาณโปรตีนต่ำสุดในเปลือกข้าว 2.0-2.8\* หมายเหตุ \* คือ โปรตีนที่คิดเทียบจากรัมของธาตุ N ( $g\ N \times 5.95$ ) เป็นหน่วยของการวิเคราะห์โปรตีน และโครงสร้างของเมล็ดข้าว แบ่งออกเป็น 3 ส่วนใหญ่ๆ ด้วยกัน ดังรูป 2.2 ประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้



รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว

ที่มา: <http://www.mfu.ac.th/school/agro2012/events/298> สืบค้นวันที่ 04/01/2558



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

ที่มา: [http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2548/post0348yt\\_ch2.pdf](http://archive.lib.cmu.ac.th/full/T/2548/post0348yt_ch2.pdf). สืบค้นวันที่ 04/01/2558

2.1.1 เปลือกแข็งหุ้มเมล็ดหรือแกลบ (hull) เป็นส่วนของกลีบดอก (palea และ lemma) ซึ่งห่อหุ้มเมล็ดเอาไว้ภายใน ส่วนนี้มีน้ำหนักประมาณร้อยละ 20 ของน้ำหนักเมล็ดข้าว มีปริมาณเซลลูโลส (cellulose) สูงถึงร้อยละ 25 ลิกนิน (lignin) ร้อยละ 30 เพนโทแซน (pentosans) ร้อยละ 15 และปริมาณเถ้าร้อยละ 21 ซึ่งในส่วนนี้จะเป็ซิลิกา (silica) ถึงร้อยละ 95 และเนื่องจากแกลบมีปริมาณลิกนินและซิลิกาสูงจึงทำให้มีสารอาหารต่ำ ทั้งยังมีมูลค่าต่ำในทางการค้า

2.1.2 เปลือกหุ้มผล (pericarp) เป็นเซลล์รูปแท่งห่อหุ้มอยู่รอบเมล็ดตามความยาวของเมล็ด มีอยู่ด้วยกัน 6 ชั้น มีผนังเซลล์บางอยู่ชั้นนอกสุด ผนังเซลล์ของเปลือกหุ้มผลมีความหนา 2 ไมโครเมตร มีองค์ประกอบทางเคมีเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ให้โครงร่างเป็นเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส นอกจากนี้ยังมีโปรตีน ไขมัน รวมทั้งแร่ธาตุต่างๆ มีรายงานกล่าวว่าเปลือกหุ้มผลมีปริมาณประมาณร้อยละ 5 ของเมล็ด ประกอบด้วยโปรตีนร้อยละ 6 เถ้าร้อยละ 2 เซลลูโลสร้อยละ 20 ไขมันร้อยละ 0.5 อีกร้อยละ 71.5 เป็นส่วนประกอบที่ไม่ใช่สตาร์ช (nonstarch constituents) และยังมีพบรงควัตถุแอนโทไซยานิน (anthocyanin pigment) ในชั้นนี้อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.3 เมล็ด ภายในเมล็ดประกอบด้วย

2.1.3.1 เปลือกหุ้มเมล็ด (tegmen หรือ seed coat) เป็นเซลล์ที่มีผนังเซลล์บาง รูปร่างยาวรี อาจมีหนึ่งแถว สองแถวหรือมากกว่านั้น เซลล์ชั้นในมีสารให้สีอยู่ด้วยทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดมีสีต่างๆ นอกจากนี้ยังเป็นชั้นที่อุดมไปด้วยไขมันจึงมีคุณสมบัติในการป้องกันน้ำไม่ให้เข้าสู่เนื้อเมล็ด ชั้นนี้มีความหนาประมาณ 5 ถึง 8 ไมโครเมตร

2.1.3.2 ชั้นเยื่อโปร่งใส (hyaline layer หรือ nucellus) อยู่ติดกับชั้นเปลือกหุ้มเมล็ด มีลักษณะโปร่งใสและยังประกอบด้วยสารให้สีเช่นเดียวกับชั้นเปลือกหุ้มเมล็ด

2.1.3.3 ชั้นแอลิวโรนหรือเยื่อหุ้มเมล็ด (aleurone layer) มีลักษณะเป็นเซลล์รูปสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ มีนิวเคลียสอยู่ตรงกลาง ผนังเซลล์หนา ประกอบด้วยโปรตีน เฮมิเซลลูโลสและเซลลูโลส โดยในข้าวประกอบด้วยเซลล์ในชั้นนี้ 1-7 ชั้น เป็นชั้นที่อุดมไปด้วยองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิด ภายในเซลล์แอลิวโรนจะมีเมล็ดแอลิวโรน (aleurone grain) อยู่มากมาย ซึ่งภายในเมล็ดเป็นกรดไฟติก (สารประกอบของธาตุฟอสฟอรัส) มีเกลือโพแทสเซียมและแมกนีเซียมรวมทั้งยังอุดมด้วยโปรตีนและไขมันสะสมอยู่ ซึ่งห่อหุ้มเมล็ดแอลิวโรนเอาไว้และยังอุดมไปด้วยวิตามินต่างๆ เช่น วิตามินบี 1 (thiamine) วิตามินบี 2 (riboflavin) และวิตามินบี 3 (niacin) ซึ่งพบในชั้นนี้มากกว่าในส่วนอื่น

2.1.3.4 คัพภะ (germ หรือ embryo) เป็นส่วนที่เจริญเป็นต้นอ่อนของเมล็ดหรือจุดกำเนิดของต้น มีชั้นแอลิวโรนล้อมรอบอยู่ภายในคัพภะแบ่งออกเป็น 2 ส่วนใหญ่คือ ส่วนสกุเทิลัม (scutellum) เป็นเกราะป้องกันอยู่ระหว่างเนื้อเมล็ดกับคัพภะและส่วนของคัพภะ (embryonic axis) ซึ่งพร้อมจะเจริญเป็นยอดอ่อน ต้นและรากต่อไป ในส่วนนี้จะอุดมไปด้วยสารอาหาร แร่ธาตุและวิตามินเพื่อการเจริญเติบโต สารอาหารที่มีมากคือโปรตีนซึ่งอยู่ในรูป protein bodies และไขมันซึ่งอยู่ในรูป lipid bodies ส่วนวิตามินที่มีมากคือ วิตามินบีและวิตามินอี (tocopherol)

2.1.3.5 เนื้อเมล็ด (endosperm) แบ่งเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่ติดกับชั้นแอลิวโรน (subaleurone layer) มีขนาดเล็กรูปร่างเหมือนลูกบาศก์ ส่วนที่อยู่ถัดไปเป็นเซลล์เนื้อเมล็ด (inner endosperm) ประกอบด้วยเซลล์รูปร่างยาวเป็นแนวรัศมีเข้าสู่จุดกลางเมล็ด มีผนังเซลล์บาง ซึ่งถือเป็นกำแพงห่อหุ้มเนื้อเมล็ดประกอบด้วย เฮมิเซลลูโลส เพนโทแซนและเบต้ากลูแคน ( $\beta$ -glucan) ส่วนภายในเซลล์เนื้อเมล็ดประกอบด้วยสตาร์ช (starch granule) ซึ่งเม็ดแป้งของข้าวจะมีขนาด 3-5 ไมโครเมตร เป็นรูปเหลี่ยม อยู่รวมกันเป็นกลุ่มมากถึง 150 เม็ดต่อกลุ่ม โปรตีนที่พบในเนื้อเมล็ดจะอยู่รวมกับเม็ดสตาร์ช โดยเกาะรวมกันเป็นรูปร่างกลมซึ่งพบอยู่ในชั้นที่ติดกับชั้นแอลิวโรนเป็นส่วนใหญ่ เนื้อเมล็ดจะเป็นส่วนของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสีข้าว ในการสีข้าวจะนำเมล็ดมาเกเทาะเปลือกแข็งหุ้มเมล็ดออกได้เป็นข้าวกล้อง นำข้าวกล้องที่ได้มาขัดสีเอาส่วนต่างๆ ที่ไม่ใช่เนื้อเมล็ดออกไปเพื่อให้ได้เป็นข้าวสาร ผลพลอยได้จากกระบวนการนี้คือ แกลบและรำข้าว

## 2.2 กรรมวิธีการสีข้าว (สกว., 2546)

การสีข้าว (rice milling process) เป็นขั้นตอนเบื้องต้นในการแปรรูปข้าวเปลือกให้เป็นข้าวสารหรือข้าวกล้องที่เหมาะสมกับการนำไปรับประทานหรือแปรรูป ข้าวเปลือกที่จะนำมาสีต้องมีความชื้นร้อยละ 13-15 ข้าวเปลือกจะถูกกะเทาะเปลือกด้วยเครื่องกะเทาะ ซึ่งใช้ลักษณะของเปลือกที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าวเป็นหลักในการออกแบบ เครื่องกะเทาะที่นิยมใช้คือ แบบโม้หิน(Under Runner Disc) และแบบลูกยาง (Rubber Rolls)

เครื่องกะเทาะแบบโม้หิน จะกะเทาะเปลือกโดยใช้ลักษณะที่ปลายเมล็ดข้าวทั้งสองด้านมีช่องว่างระหว่างเมล็ดและเปลือก ในระหว่างการกะเทาะเมล็ดข้าวเปลือกจะถูกกดที่ปลายทั้งสองด้าน ทำให้เปลือกที่ขบกันอยู่แตกออกจากกัน เมล็ดข้าวกล้องจึงหลุดออกจากเปลือก การกะเทาะลักษณะนี้จะมีต้นอ่อนและจมูกข้าวที่แตกหักระหว่างการกะเทาะหลุดมากับเปลือกด้วย ส่วนการกะเทาะด้วยลูกยางกะเทาะจะใช้ลักษณะการขบตัวของเปลือกเป็นหลัก โดยมี ลูกยาง 2 ลูกหมุนด้วยความเร็วไม่เท่ากัน ทำหน้าที่ฉีกเปลือกของเมล็ดออก การกะเทาะในลักษณะนี้จึงไม่มีจมูกข้าวและต้นอ่อนมากับเปลือกข้าวเมื่อผ่านการกะเทาะและแยกเปลือกออกแล้วจะถูกนำมาขัดขาวซึ่งเป็นการขัดเอาชั้นรำออกให้เหลือแต่ชั้นแป้งเพื่อใช้สำหรับบริโภค ซึ่งทำให้เกิดการสูญเสียคุณค่าทางอาหารไป

### 2.2.1 ประสิทธิภาพการสีข้าว

จากที่ได้กล่าวมาในตอนต้นว่า ข้าวต้องผ่านการขัดสีเพื่อให้ได้ข้าวขาวหรือข้าวกล้องซึ่งประสิทธิภาพในการสีข้าวขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย ได้แก่

- อัตราการสีข้าว หรืออัตราการแปรรูปข้าวเปลือกเป็นข้าวสาร เป็นส่วนหนึ่งที่ใช้ในการวัดประสิทธิภาพของโรงสีได้ ผลผลิตข้าวสารที่ได้้นอกจากจะขึ้นอยู่กับคุณภาพของข้าวเปลือก สภาพบรรยากาศแวดล้อมและความชื้นของเมล็ดแล้ว ยังขึ้นอยู่กับสภาพเครื่องสีข้าวด้วย ผลผลิตที่ได้จากการสีข้าวเปลือก แบ่งเป็นต้นข้าว ปลายข้าวท่อน ปลายข้าวเล็ก รำละเอียดและรำหยาบ สำหรับการสีข้าวในประเทศไทย ข้าวสารจากโรงสีข้าวมีปริมาณ 1,000 กิโลกรัม ได้เป็นข้าวสารร้อยละ 44 จะได้ต้นข้าวและปลายข้าวรวมกันร้อยละ 66 โรงสีระบบทันสมัยนิยมใช้กันมากในประเทศญี่ปุ่น ยุโรป และอเมริกาที่มีการสีข้าวเปลือกทั้งเมล็ดสั้นและเมล็ดยาว ประเทศไทยเริ่มมีโรงสีข้าวแบบทันสมัยเมื่อประมาณ 10-15 ปีมาแล้ว ระบบการทำงานก็คล้ายกับระบบเก่าแตกต่างกันที่ต้นกำลังและรายละเอียดของเครื่องจักรที่ทำงานไม่เหมือนกัน

- คุณภาพของข้าวเปลือกที่นำมาสี ได้แก่ พันธุ์ข้าว ความแข็งแรงของเมล็ด ความชื้นเป็นต้น ซึ่งเป็นปัจจัยที่ทำให้อัตราการสีข้าวแตกต่างกันไป

- ขนาดของโรงสีและสภาพของเครื่องสีมีผลต่ออัตราการสีข้าวน้อยกว่าคุณภาพข้าวเปลือก โดยโรงสีขนาดใหญ่จะมีแนวโน้มการสีข้าวมากกว่าโรงสีขนาดเล็ก แต่ก็ขึ้นอยู่กับสภาพของเครื่องจักร การควบคุมดูแลและการปรับสภาพเครื่องจักรให้เหมาะสมกับสภาพข้าวเปลือกที่จะนำมาสี

- มาตรฐานของข้าวที่ต้องการ คือ คุณภาพของข้าวสารที่สีออกมา เช่น ความขาวของข้าวสาร ชนิดของข้าวสาร เป็นต้น ซึ่งเป็นส่วนที่ทำให้อัตราการสีข้าวของโรงสีเปลี่ยนแปลงไป เนื่องจากต้องทำการขัดสีมากน้อยต่างกันออกไป

- ปัจจัยอื่นๆ ได้แก่ สภาพแวดล้อมของการสี เช่น อุณหภูมิของอากาศ ถ้าทำการสีในตอนบ่ายซึ่งมีอุณหภูมิสูงกว่าตอนเช้า จะได้ข้าวสารในปริมาณต่ำกว่าการสีในตอนเช้า

ตารางที่ 2.1 อัตราการสีข้าวเปลือก 1,000 กิโลกรัม. เป็นข้าวสารเฉลี่ยร้อยละ 5 จากสำนักงานสถิติของสมาคมโรงสีข้าวและกรมเศรษฐกิจการพาณิชย์ (กิโลกรัม)

สิ่งที่ได้จากการสี	จำนวนเฉลี่ย (กิโลกรัม)
ต้นข้าว 5 %	423.17
ปลายข้าว เอ1	173.21
ปลายข้าว ซี1, ซี3	66.68
รวมต้นและปลาย	663.06
รำละเอียด	72.84
รำหยาบ	29.04
แกลบและสิ่งเจือปน	235.06
รวมทั้งสิ้น	1,000

### 2.2.2 คุณภาพข้าวเปลือกกับการสีข้าว

ข้าวเปลือกที่โรงสีรับซื้อจากเกษตรกรในท้องถิ่นส่วนใหญ่จะมีคุณภาพไม่ได้มาตรฐาน บางครั้งอาจจะมีสิ่งเจือปนมากับข้าวมากเกินไปหรือมีความชื้นสูงเกินไปทำให้เมื่อนำไปสีเป็นข้าวสารจะได้รับเนื้อข้าวค่อนข้างน้อย นอกจากนั้นยังมีการแตกหักค่อนข้างสูงมาก เนื่องจากข้าวมีการแตกร้าวภายในอยู่แล้วซึ่งอาจเกิดจากกรรมวิธีในการนวดและการเก็บรักษาคุณภาพของข้าวเปลือก (Quality aspects of paddy) ดังนั้นในการรับซื้อข้าวเปลือกจะต้องคำนึงถึงคุณภาพของข้าวเปลือกที่จะมีผลต่อการสีข้าวซึ่งมีรายการคุณภาพของข้าวเปลือกที่ต้องพิจารณาดังต่อไปนี้

- ความชื้น
- ปริมาณสิ่งเจือปน
- ปริมาณการแตกร้าวภายใน
- ปริมาณเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์
- ปริมาณเมล็ดที่เสื่อมคุณภาพ
- ปริมาณข้าวแดง
- ความบริสุทธิ์ของพันธุ์ข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.2.3 การแตกร้าวของข้าวเปลือก

จากการสีข้าวเปลือกที่มีความชื้นประมาณร้อยละ 14 โดยเมล็ดข้าวไม่มีการแตกร้าว และมีความสมบูรณ์เต็มที่ พบว่าจะได้เปลือกหรือแกลบประมาณร้อยละ 23 ได้ข้าวกล้องประมาณร้อยละ 77 เมื่อนำข้าวกล้องไปขัดขาวจะได้รำประมาณร้อยละ 8 และได้ข้าวสารรวมปลายข้าวประมาณร้อยละ 69 แต่หลังจากผ่านตะแกรงแล้วจะได้รับเนื้อข้าวสารทั้งสิ้นร้อยละ 68 เนื้อข้าวสารที่ได้จะถูกนำไปแยกออกเป็นต้นข้าวและปลายข้าวขนาดต่างๆ แต่ถ้าข้าวมีการแตกร้าวก่อนการสีจะทำให้ร้อยละของต้นข้าวที่ได้มีปริมาณลดลง ในการขัดข้าวกล้องให้เป็นข้าวขาวนอกจากลูกหินจะขัดเอารำและเยื่อเจริญออกจากเมล็ดข้าวแล้วยังจะขัดเอาฝุ่นแป้งและเนื้อข้าวที่แตกจากรอยร้าวออกมารวมกับรำทำให้ได้จำนวนรำมากขึ้น ซึ่งเกิดจากการมีพื้นที่ผิวในการขัดมากขึ้น เมื่อเมล็ดข้าวแตกหินขัดจะขัดลบมุมของข้าวที่หักจนกลม ดังนั้นยังมีการแตกหักในการสีมากก็ยิ่งจะทำให้มีรำและปลายข้าวเล็กๆ เพิ่มขึ้น ซึ่งทำให้เนื้อข้าวที่ควรจะได้รับลดปริมาณลง

### 2.2.4 เมล็ดข้าวเปลือกที่ไม่สมบูรณ์

ในการสีข้าวเปลือกโดยทั่วไปจะได้แกลบประมาณร้อยละ 20 ของน้ำหนักข้าวเปลือก แต่บางครั้งอาจสูงถึงร้อยละ 22-23 ขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว ในบางครั้งจะได้ปริมาณแกลบที่ลดลงซึ่งมีสาเหตุจากเมล็ดข้าวมีขนาดความหนาแน่นมากจึงทำให้น้ำหนักแกลบลดลง ยกตัวอย่างการขัดสีข้าวพันธุ์จาโปนิกา (Japonica) เป็นข้าวที่มีขนาดเมล็ดสั้นและกลม ลักษณะของความสั้นทำให้น้ำหนักของแกลบเพียงร้อยละ 17 ลักษณะความกลมทำให้ข้าวมีการแตกหักได้ยากทำให้ได้ปริมาณรำและปลายข้าวลดลงจึงทำให้ได้เนื้อข้าวค่อนข้างสูง หากทำการเก็บเกี่ยวเมื่อข้าวมีอายุที่เหมาะสมจะทำให้ได้ปริมาณเมล็ดข้าวที่ไม่สมบูรณ์ลดลง นอกจากนั้นการผัดข้าวหลังการนวดจะแยกเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ออกไป ทำให้อายุข้าวมีคุณภาพดีขึ้นและได้รับเนื้อข้าวเพิ่มมากขึ้น

### 2.2.5 เทคนิคการตรวจสอบคุณภาพข้าวเปลือก

เนื่องจากข้าวเปลือกที่ผลิตในประเทศไทยมีหลายพันธุ์และมีคุณสมบัติที่แตกต่างกัน ในการซื้อขายข้าวเปลือกจึงมีการแบ่งชั้นข้าวเปลือกและเนื่องจากผู้ซื้อข้าวเปลือกส่วนใหญ่จะนำไปสีเป็นข้าวสาร ดังนั้นชั้นข้าวเปลือกจึงมีความสัมพันธ์กับมาตรฐานข้าวสารซึ่งเน้นในเรื่องความยาวของเมล็ด และสัดส่วนของข้าวหักชนิดต่างๆ โดยนำข้าวเปลือกที่จะซื้อไปสีออกมาเป็นข้าวสาร เมื่อรู้ว่าข้าวสารที่ได้เป็นชนิดใดจึงจะนำผลที่ได้จากการตรวจสอบไปตีราคาซื้อขายข้าวเปลือก การตรวจสอบคุณภาพข้าวเปลือกประกอบด้วยกระบวนการ 3 ขั้นตอนคือ

1. การเก็บตัวอย่างข้าวเปลือก มีวิธีการเก็บตัวอย่างแตกต่างกันออกไปตามสถานที่เก็บหรือวิธีการขนส่งได้แก่ การเก็บตัวอย่างข้าวเปลือกในยุ้งฉาง จะเก็บตัวอย่างโดยใช้มือหรือกระดิ่งผัดข้าวจากริมกองเข้าไปหากลางกอง โดยทำไปเรื่อยๆ จนรอบกองข้าวหรือใช้หลาวสุมที่สามารถแทงลงไปเก็บตัวอย่างข้าวภายใต้กองข้าวได้ การเก็บตัวอย่างข้าวเปลือกที่บรรจุในกระสอบ จะใช้ฉ้อนแทงข้าวแทงข้าวทุก ๆ กระสอบทั้งทางปากกระสอบ กลางกระสอบและก้นกระสอบสลับกันไปเพื่อเก็บตัวอย่างข้าวใส่กระดิ่งผัดข้าว และการเก็บตัวอย่างข้าวเปลือกที่บรรจุในรถบรรทุกหรือเรือกระแจะ จะ

ใช้หลาวส้อมที่มีความยาวมากๆ ทั้งหลาวส้อมมือถือหรือส่วนส้อมข้าว แทะลงไปภายในกองข้าวลึกลงๆ ทุกระดับความลึกและหลายจุด นำมาผสมกันก่อนตรวจสอบ หากไม่มีหลาวส้อมก็จะเก็บตัวอย่างข้าวส่วนบนไปตรวจสอบก่อนแล้วจึงตกลงราคากัน เมื่อขณะขนถ่ายข้าวลงก็จะทำการส้อมข้าวที่อยู่ลึกลงๆ มาทำการตรวจสอบใหม่อีกครั้งเพื่อนำไปเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ส้อมครั้งแรก หากคุณภาพข้าวที่ได้ไม่เหมือนกันก็จะมีผลการตกลงราคาใหม่

2. ตรวจสอบคุณภาพข้าวเปลือกคือ การพิจารณาตรวจสอบ ความชื้น สิ่งเจือปน ข้าวเสื่อมคุณภาพและข้าวเป็นโรค โดยมีวิธีการตรวจสอบดังนี้ การตรวจสอบความชื้น ซึ่งมีผลต่อน้ำหนักของข้าวเปลือกและคุณภาพการสีข้าวเปลือกที่มีความชื้นสูงจะแตกหักได้ง่ายเมื่อนำไปสี ซึ่งโดยทั่วไปความชื้นของข้าวเปลือกที่เหมาะสมจะมีค่าระหว่างร้อยละ 14-15 ถ้าข้าวเปลือกมีความชื้นเกินปริมาณดังกล่าว ก็จะถูกตัดราคาหรือตัดน้ำหนักข้าว เพราะผู้ซื้อจะต้องเสียค่าใช้จ่ายในการลดความชื้นของข้าวเปลือก ให้อยู่ในระดับความเหมาะสมกับการสีหรือการเก็บรักษา การวัดความชื้นโดยทั่วไปโรงสีจะมีเครื่องวัดความชื้น เพื่อตรวจสอบความชื้นข้าวเปลือกแต่ถ้าไม่มี ผู้ซื้อจะใช้วิธีการประมาณความชื้นโดยการบีบอัดเมล็ดข้าว หรือดูจากการบดข้าว การตรวจสอบสิ่งเจือปนที่ติดมากับข้าวเปลือก ซึ่งอาจก่อให้เกิดอันตรายต่อเครื่องจักรได้ ถ้ามีสิ่งเจือปนอยู่มากโรงสีจะไม่รับซื้อแต่ถ้ามีสิ่งเจือปนเล็กน้อย โรงสีจะใช้วิธีหักน้ำหนักของสิ่งเจือปนจากน้ำหนักของข้าวเปลือกที่ชั่งได้ การตัดน้ำหนักสิ่งเจือปนทำได้โดยการประมาณด้วยตาหรืออาจนำตัวอย่างมาเทลงบนพื้นที่สะอาด ผสมคลุกเคล้าแล้วตักข้าวเปลือกมาชั่งน้ำหนักแล้วใส่กระตังฝังหรือตะแกรงร่อน เพื่อแยกเอาสิ่งเจือปนออกจากข้าวเปลือกให้หมด จากนั้นนำข้าวเปลือกที่ได้ไปชั่งน้ำหนักอีกครั้งหนึ่งและนำตัวเลขมาคำนวณหาน้ำหนักของสิ่งเจือปน การตรวจสอบข้าวเสื่อมคุณภาพ ข้าวที่เสื่อมคุณภาพมักเกิดจากการเก็บไว้นานเกินไป หรือเก็บไว้อย่างไม่เหมาะสม เมื่อนำไปสีจะได้ข้าวหักสูงและเมล็ดข้าวมีสีเหลือง ซึ่งการค้ำข้าวเรียกว่า ข้าวพันหนู ข้าวเปลือกที่เสื่อมคุณภาพจะถูกตัดราคา การตรวจสอบทำได้โดยการดูด้วยตา หรือบดข้าว แล้วประเมินปริมาณข้าวเสื่อมราคา และการตรวจสอบข้าวเป็นโรค เมล็ดข้าวเปลือกที่ไม่สมบูรณ์หรือมีอาการผิดปกติเนื่องจากถูกทำลายโดยแมลงและเชื้อรา ทำให้เมล็ดลีบหรือมีสีคล้ำ เมื่อนำไปสีจะได้ข้าวสารที่มีเมล็ดผอมบาง ขัดไม่มัน มีน้ำหนักรวมและแตกหักง่าย พ่อค้าจะตัดราคาข้าวเปลือก หากตรวจพบเมล็ดที่เป็นโรค หรือ ได้รับความเสียหายอาจไม่รับซื้อเลย การตรวจสอบทำได้โดยการดูด้วยตา หรือการบดข้าว

3. การตรวจสอบอัตราการกะเทาะ เมื่อตรวจสอบคุณภาพข้าวเบื้องต้นแล้วก็ตรวจสอบอัตราการกะเทาะ เพื่อดูปริมาณข้าวหัก พื้นข้าวและความยาวเมล็ดข้าวสารเพื่อนำไปแบ่งชั้นข้าว การตรวจสอบทำได้หลายรูปแบบคือ การบดข้าวบนกระดานบดและการใช้เครื่องตรวจสอบการบดข้าวบนกระดานบด ทำได้โดยนำตัวอย่างข้าวเปลือกเทลงบนกระดานบดแล้วใช้ไม้บดข้าวตรงส่วนที่เป็นปลายเล็กเกลี่ยข้าวเปลือกให้กระจายเต็มกระดานบด จากนั้นใช้มือที่ถนัดจับไม้บดตรงส่วนที่เป็นปลายใหญ่เพื่อกันไม่ให้หลุดจากมือ แล้วจึงใช้อีกมือหนึ่งจับไม้บดข้าวตรงส่วนที่เป็นปลายเล็กดันไม้บดข้าวให้หมุนไปรอบๆ ให้ทั่วกระดานบดข้าว โดยไม่ยกไม้บดออกจากกระดานบดข้าวเลย

บดไปเรื่อยๆ จนกระทั่งข้าวเปลือกแตกออกร้อยละ 80 ขึ้นไป หากออกแรงบดข้าวเปลือกน้อยเกินไป เมล็ดข้าวเปลือกจะไม่กะเทาะ แต่ถ้าออกแรงมากเกินไปเมล็ดข้าวจะแตกหักหมด หลังจากบดข้าวเปลือกแล้ว จะใช้แปรงกวาดข้าวเปลือกจากระดานบดลงไปบนกระดั่งฝัดข้าว แล้วฝัดข้าวเพื่อแยกเอาเปลือก (แกลบ) ออกจนหมด แล้วเขย่าข้าวบนกระดั่งฝัดที่วางเอียงกับแนวราบเบาๆ เพื่อให้ข้าวบนกระดั่งที่มีน้ำหนักแตกต่างกันแยกออกจากกัน แล้วจึงนำต้นข้าวและปลายข้าวไปพิจารณาว่าข้าวเปลือกควรอยู่ในชั้นใด โดยพิจารณาจากความยาว รูปร่างและนำไปชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาอัตราการกะเทาะหรือร้อยละการแตกหัก การตรวจสอบโดยใช้เครื่องบด สามารถทำได้หลายแบบ ทั้งที่ใช้ลูกหินบดและลูกยางบดเมล็ดข้าวเปลือก แล้วนำไปฝัดแยกแกลบและต้นข้าวหรือใช้ตะแกรงคัดขนาดความยาวทำการคัดแยกต้นข้าว เพื่อคำนวณหาอัตราการกะเทาะหรือร้อยละของการแตกหักต่อไป ตัวอย่างวิธีการตรวจสอบคุณภาพข้าว เครื่องบดที่โรงสีโดยทั่วไป จะเป็นแบบลูกหินบดที่ควบคุมการกะเทาะเปลือกโดยใช้ตุ้มน้ำหนักมาตรฐานในการบดข้าวเปลือกให้กะเทาะมาก หรือ น้อยตามต้องการ จากนั้นจึงนำไปคัดแยกโดยใช้กระดั่งฝัด หรือ ตะแกรงคัดขนาด แต่ปัจจุบันหน่วยงานราชการได้ออกประกาศให้โรงสีมีเครื่องบดข้าวลาดกระบัง 02/2 เอาไว้ตรวจสอบการกะเทาะ โดยเครื่องบดประกอบด้วยลูกหินกะเทาะที่มีตุ้มน้ำหนัก กดควบคุมการกะเทาะและตะแกรงคัดขนาดความยาวอยู่ในเครื่องเดียวกัน การตรวจสอบส่วนผสมข้าวที่กะเทาะได้ สามารถทำได้ทั้งการตรวจสอบด้วยสายตาซึ่งต้องใช้ความชำนาญของผู้ตรวจสอบ การตรวจสอบด้วยวิธีการคัดข้าวแล้วนำมาชั่งน้ำหนักโดยชั่งข้าวตัวอย่าง 50 หรือ 100 กรัม มาคัดแยกเมล็ดข้าวออกจากกัน แล้วนำแต่ละส่วนที่ได้ไปชั่งน้ำหนักมาเทียบเป็นร้อยละ ซึ่งเป็นวิธีที่ถูกต้องมากที่สุดและการตรวจสอบด้วยวิธีวัดปริมาตรโดยใช้หลอดแก้วขนาด 100 มิลลิลิตร ใส่เมล็ดข้าวให้เต็มแล้วเคาะกับพื้นโต๊ะเบาๆ เพื่อให้เมล็ดเรียงตัวอัดแน่นเต็มหลอด จากนั้นเทข้าวลงบนโต๊ะเพื่อคัดแยกข้าวขนาดต่างๆ ออกจากกัน แล้วนำเมล็ดแต่ละขนาดเทลงในหลอดแก้วเพื่อวัดปริมาตรของแต่ละส่วนแล้วเทียบเป็นร้อยละของข้าวชนิดนั้นๆ

## 2.2.6 การสีข้าว

ก่อนการสีข้าวต้องมีการตรวจสอบคุณภาพทุกขั้นตอนอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ขั้นตอนการรับซื้อวัตถุดิบ คือข้าวเปลือก ผ่านขั้นตอนการผลิตต่างๆ จนกระทั่งการบรรจุหีบห่อ โดยประกอบด้วยขั้นตอนหลักดังนี้

1. ทำความสะอาดข้าวเปลือกแบบแห้ง เพื่อแยกแวกสิ่งแปลกปลอม เช่น ฟาง เศษพืช ผุ่น ผง กรวด ทราย ออกจากข้าวเปลือก เช่น แยกสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดต่างจากข้าวเปลือก เช่น ผุ่น ฟาง กรวด ทรายและสิ่งเจือปนอื่นๆ อาจใช้ตะแกรงร่อน หรือ ใช้ลมเป่าเครื่องจักร เรียกว่า Grain Separator แยกสิ่งแปลกปลอมที่มีขนาดเล็กใกล้เคียงกับข้าวเปลือก ซึ่งแยกจากความหนาแน่น หรือ ความถ่วงจำเพาะโดยใช้เครื่องจักรที่เรียกว่า เครื่องแยกเม็ดหิน (destoner) และแยกโลหะด้วยเครื่องจับโลหะ

2. การกะเทาะเปลือก เพื่อแยกแกลบออกจากเมล็ดข้าว ในขั้นตอนนี้จะใช้เครื่อง

กะเทาะซึ่งเป็นลูกยางสองลูกหมุนเข้าหากันด้วยความเร็วต่างกัน หรือใช้เครื่องกะเทาะที่ทำจากแผ่นโลหะสองแผ่นบดด้วยหินหยาบ เพื่อให้เกิดการเสียดสีของเมล็ดข้าวทำให้แกลบหลุดออกจากตัวเมล็ดข้าว เรียกข้าวที่ได้จากขั้นตอนนี้ว่า ข้าวกล้อง ซึ่งยังมีเยื่อหุ้มเมล็ดและคัพพะติดอยู่ จากนั้นจึงแยกแกลบ และข้าวเปลือกที่ยังไม่ถูกกะเทาะออกจากข้าวกล้องจะได้แกลบเป็นผลพลอยได้ ซึ่งอาจนำไปใช้เป็นเชื้อเพลิง



รูปที่ 2.3 ขั้นตอนการสีข้าว

ที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3644/การสีข้าว-rice-milling>.

สืบค้นวันที่ 04/01/2558

3. การขัดข้าวและขัดมัน (whitening and polishing) เป็นการขัดชั้นรำ ซึ่งเป็นเยื่อหุ้มเมล็ดออกจากข้าวกล้องให้เหลือเฉพาะส่วนของเอนโดสเปอร์มและขัดมันเพื่อให้ผิวเรียบเป็นเงาสะอาด

4. การคัดขนาดข้าวสาร จะใช้ตะแกรงที่มีขนาดรูแตกต่างกัน เพื่อแยกข้าวสารเต็มเมล็ด ต้นข้าว ออกจากข้าวหักและปลายข้าว ซึ่งปลายข้าว นั้นจะมีความยาวประมาณเท่ากับหรือน้อยกว่า 6/8 ของความยาวเมล็ดเต็ม

### 2.2.7 คุณภาพข้าวสาร

เมื่อผ่านกระบวนการสีข้าว จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นข้าวสารประมาณร้อยละ 68-70 รำ ร้อยละ 8-10 และแกลบร้อยละ 20-24 ข้าวสารคุณภาพดีควรเป็นข้าวเต็มเมล็ด (whole kernels) และมีต้นข้าวมากโดยมีข้าวหักน้อย

ข้าวเต็มเมล็ด (whole kernels) หมายถึง เมล็ดข้าวที่อยู่ในสภาพเต็มเมล็ดไม่มีส่วนใดหัก ความยาวของเมล็ดข้าวเท่ากับ 9-10 ส่วนของความยาวเมล็ดข้าว

ชั้นของเมล็ดข้าว (classes of rice kernels) หมายถึง ชั้นของเมล็ดข้าวที่แบ่งตามระดับความยาวของข้าวเต็มเมล็ด ได้แก่ ข้าวขาวเมล็ดยาว ชั้น 1 (long grain class 1) คือ ข้าวเต็มเมล็ดที่มีขนาดความยาวเกิน 7.0 มิลลิเมตร ข้าวขาวเมล็ดยาว ชั้น 2 (long grain class 2) คือ ข้าว

เต็มเมล็ดที่มีขนาดความยาวเกิน 7.0 มิลลิเมตร และข้าวขาวเมล็ดยาว ชั้น 3 (long grain class 3) คือ ข้าวเต็มเมล็ดที่มีขนาดความยาวเกิน 7.0 มิลลิเมตร

ต้นข้าว (head rice) หมายถึง เมล็ดข้าวหักที่มีความยาวมากกว่าข้าวหักและให้รวมถึง เมล็ดข้าวแตกเป็นซีกที่มีเนื้อที่เหลืออยู่ตั้งแต่ร้อยละ 80 ของเมล็ด

ข้าวหัก (broken) หมายถึง เมล็ดข้าวหักที่มีความยาวตั้งแต่ 2.5 ส่วนขึ้นไป แต่ไม่ถึง ความยาวของต้นข้าวและให้รวมถึงเมล็ดข้าวแตกเป็นซีกที่มีเนื้อที่เหลืออยู่ไม่ถึงร้อยละ 80 ของเมล็ด

ปลายข้าวสีวัน (small broken C1) หมายถึง เมล็ดข้าวหักขนาดเล็กที่ร้อนผ่าน ตะแกรงโลหะรูกลมเบอร์ 7 ผ่าศูนย์กลางรู 1.75 มิลลิเมตร หนา 0.79 มิลลิเมตร

#### 2.2.8 ระดับการสีข้าวแบ่งออกเป็น 4 ระดับ ดังนี้

1. สีดีพิเศษ (extra well milled) คือ การสีขัดเอารำออกทั้งหมดจนเมล็ดข้าวมี ลักษณะสวยงามเป็นพิเศษ
2. สีดี (well milled) คือ การสีขัดเอารำออกทั้งหมดจนเมล็ดข้าวมีลักษณะสวยงามดี
3. สีปานกลาง (reasonably well milled) คือ การสีขัดเอารำออกเป็นส่วนมากจน เมล็ดข้าวมีลักษณะสวยงามพอสมควร
4. สีธรรมดา (ordinarily milled) คือ การสีขัดเอารำออกแต่เพียงบางส่วน

### 2.3 รำข้าว (ฉลุย, 2555)

รำข้าว (Rice Bran) หมายถึง เยื่อหุ้มเมล็ดและคัพภะของข้าว ในรำข้าวมีเอนไซม์ไลเปส จำนวนมาก ซึ่งเอนไซม์ไลเปสจะสลายไขมันทำให้ไขมันในรำข้าวลดลงและมีกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้น ดังนั้นไม่ควรเก็บรำข้าวไว้นานเกิน 24 ชั่วโมง โดยปกติน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ใหม่ ๆ จะมีปริมาณกรดไขมันอิสระต่ำ กรดไขมันอิสระนี้จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นร้อยละ 10 ภายใน 1 ชั่วโมง องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว ดังแสดงในตารางที่ 2.2 พบว่าในรำข้าวจะมีคาร์โบไฮเดรตเป็นองค์ประกอบหลัก (ร้อยละ 25-43) รองลงมาคือ ไขมัน (ร้อยละ 13-20) โปรตีน (ร้อยละ 12-14) เถ้า (ร้อยละ 12) และกากใย (ร้อยละ 8-14) จากองค์ประกอบดังกล่าวทำให้รำข้าวมักจะถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดเป็น น้ำมันรำข้าว ถูกนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์และในบางครั้งก็มีการผลิตโปรตีนเข้มข้นจากกากรำข้าวที่เหลือจากการสกัดน้ำมัน

จากรายงานซึ่งพบว่าปริมาณโปรตีนในรำข้าวนั้นมีค่าอยู่ประมาณร้อยละ 10-16 ซึ่งถือว่ามากเป็นอันดับ 2 รองจากไขมัน สามารถจำแนกโปรตีนออกได้เป็น 4 ประเภทตามความสามารถในการละลาย ได้แก่ อัลบูมินมีปริมาณร้อยละ 37 โกลบูลินมีปริมาณร้อยละ 31 โพรลามีนมีปริมาณร้อยละ 2 และกลูเตลินมีปริมาณร้อยละ 27 อย่างไรก็ตามชนิดและปริมาณของโปรตีนที่แสดงข้างต้นเป็นเพียง องค์ประกอบซึ่งมาจากตัวอย่างรำข้าวญี่ปุ่นเท่านั้น หากพิจารณาจากรำข้าวชนิดอื่นๆ จะได้สัดส่วนของโปรตีนแต่ละชนิดแตกต่างกันออกไป จากการศึกษาปริมาณโปรตีนจากรำข้าว 6 สายพันธุ์ พบว่า มีปริมาณโปรตีนเฉลี่ยแต่ละชนิดดังนี้ อัลบูมินมีปริมาณร้อยละ 34 โกลบูลินมีปริมาณร้อยละ 15 โพร-

ลามีนมีปริมาณร้อยละ 6 และกลูเตลินมีปริมาณร้อยละ 11 เมื่อวิเคราะห์ลึกลงไปถึงองค์ประกอบของกรดอะมิโน พบว่าโปรตีนรำข้าวประกอบไปด้วยกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกาย (essential amino acids) ในปริมาณที่สามารถเทียบเคียงได้กับโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลืองและเคซีนในนม (ตารางที่ 2.3) โดยพบว่าโปรตีนจากรำข้าวให้กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายบางตัว เช่น ฮิสทีดีน ทรีโอนีนและ วาลีน ดีกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลือง ในขณะที่กรดอะมิโนบางตัวมีปริมาณเทียบเคียงได้กับเคซีนในนม คือ ฮิสทีดีน ทรีโอนีน ทริโตนแฟนและวาลีน นอกจากนี้ประกอบไปด้วยโปรตีนและกรดอะมิโนที่จำเป็นแล้ว รำข้าวยังอุดมไปด้วยวิตามินซึ่งได้แก่ วิตามินอี (Vitamin E) วิตามินบี 1 (Vitamin B1) วิตามินบี 3 (Vitamin B3) รวมไปถึงเกลือแร่ เช่น อะลูมิเนียม (Aluminium) แคลเซียม (Calcium) คลอรีน (Chlorine) ธาตุเหล็ก (Iron) แมงกานีส (Manganese) แมกนีเซียม (Magnesium) ฟอสฟอรัส (Phosphorus) โพแทสเซียม (Potassium) โซเดียม (Sodium) และสังกะสี (Zinc) อีกด้วย (Sunders, 1990) รำข้าวยังประกอบไปด้วยสารออกฤทธิ์สำคัญในปริมาณสูง เช่น กรดเฟรูลิก (Ferulic acid) แกมมาออริซานอล ( $\gamma$ -oryzanol) กรดไฟติก (Inositol hexaphosphate) แคมเปสเตอร์อล (Campesterol) เบต้า-ซิโตสเตอรอล (b-sitosterol) กรดลิโนเลอิก (Linoleic acid) วิตามินอี ( $\alpha$ -tocopherol) กรดซาลิซิลิก (Salicylic acid) กรดคาเฟอิก (Caffeic acid) กรดพาราคูมาริก (Coumaric acid) และไตรซิน (Tricin) เป็นต้น ซึ่งสารดังกล่าวมีประโยชน์ต่อร่างกายอย่างยิ่งในป้องกันโรคร้ายต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจและโรคมะเร็ง

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง)

ชนิดของรำข้าว	โปรตีน	ไขมัน	เถ้า	กากใย	คาร์โบไฮเดรต
ไขมันเต็ม <sup>a</sup>	12.0	13.7	12.1	14.4	25.4
ไขมันเต็ม <sup>b</sup>	14.1	20.9	12.8	8.4	43.5
สกัดน้ำมันออก <sup>a</sup>	18.3	5.4	11.2	8.6	31.6
สกัดน้ำมันออก <sup>b</sup>	18.2	1.6	15.3	10.5	54.3
สกัดน้ำมันออก <sup>c</sup>	12.8	7.0	8.9	8.2	58.2

ที่มา: กิตติมา และสาโรจน์ (2012) <sup>a</sup>Connor (1976) <sup>b</sup>Prakash (1991) และ <sup>c</sup>Youssef (1974)

ตารางที่ 2.3 ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่จำเป็นในตัวอย่างโปรตีนอาหาร

กรดอะมิโน	กรัมของกรดอะมิโน/กรัมโปรตีน		
	โปรตีนรำข้าว	โปรตีนถั่วเหลือง เข้มข้น	เคซีน
ไลซีน	5.1	6.1	8.5
ฮิสทีดีน	3.0	2.5	3.2
ไฮโซลิวซีน	3.8	4.7	5.4
ลิวซีน	7.6	7.9	9.5
ทรีโอนีน	4.1	3.7	4.2
ทริปโตเฟน	1.0	1.2	1.4
วาเลีน	6.2	4.8	6.3

ที่มา: กิตติมา และสาโรจน์ (2012)

ตารางที่ 2.4 แสดงวิตามินและแร่ธาตุในน้ำมันรำข้าว

องค์ประกอบ	ปริมาณสาร ( $\mu\text{g/g}$ )
วิตามินบี1	10.1-26.9
วิตามินบี2	1.17-3.4
วิตามินบี3	241-590
วิตามินบี6	10.3-32.1
วิตามินบี7	0.16-0.47
วิตามินเอ	4.2
วิตามินอี	149.2
แคลเซียม	140-1310
ฟอสฟอรัส	14800-28680
เหล็ก	130-530
แมกนีเซียม	8650-12300
โพแทสเซียม	13650-22700
ออริซานอล	300

ที่มา: นฤมล และคณิต (2012)

## 2.4 น้ำมันรำข้าว (ทิพย์เนตร และกิตณา, 2552)

รำข้าวมีไขมันประมาณร้อยละ 12-20 เมื่อสกัดน้ำมันจะได้เป็นน้ำมันรำข้าวดิบ (crude rice brane oil) ซึ่งมีคุณค่าทางโภชนาการสูง น้ำมันรำข้าวดิบ ประกอบด้วยส่วนที่สะaponนิฟายได้ (saponifiable) ประมาณร้อยละ 90-96 นำไปสกัดเป็นน้ำมันรำข้าวบริสุทธิ์และส่วนที่สะaponนิฟายไม่ได้ (unsaponifiable) ประมาณร้อยละ 4-5 ซึ่งสูงกว่าน้ำมันพืชชนิดอื่นๆ ประมาณร้อยละ 80 ของส่วนที่สะaponนิฟายได้ในน้ำมันรำข้าวกรดไขมันไม่อิ่มตัว 1 ตำแหน่ง ได้แก่ กรดโอเลอิก ร้อยละ 38.4 และกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง ได้แก่ กรดลิโนเลอิก ร้อยละ 34.4 และกรดแอลฟาไลโนเลนิก ร้อยละ 2.2 ส่วนที่สะaponนิฟายไม่ได้ของน้ำมันรำข้าวมีแกมมาออริซานอลและวิตามินอีปริมาณค่อนข้างสูง ระหว่างกระบวนการทำให้รำข้าวบริสุทธิ์ด้วยวิธีทางเคมีมีผลให้สูญเสียแกมมาออริซานอลเป็นจำนวนมาก ปริมาณแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ผ่านการสกัดให้บริสุทธิ์ มีค่ากว้างมากตั้งแต่ร้อยละ 0.1 ถึง 2.5 ของน้ำหนัก โดยปริมาณที่พบในน้ำมันรำข้าวขึ้นกับหลายปัจจัย เช่น สายพันธุ์ข้าว ตัวทำละลายที่ใช้สกัดน้ำมันรำข้าว เป็นต้น

ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่มีขายตามท้องตลาด: น้ำมันรำข้าว อาหารฟังก์ชันในชีวิตประจำวันของบริษัท น้ำมันบริโภคนไทย จำกัด (น้ำมันรำข้าว อาหารฟังก์ชันในชีวิตประจำวัน, บริษัท น้ำมันบริโภคนไทย จำกัด, 2555)



บริษัท น้ำมันบริโภคนไทย จำกัด สร้างผลิตภัณฑ์จากส่วนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูงที่สุดในเมล็ดข้าว นั่นคือ รำข้าวและจมูกข้าว โดยอาศัยเทคโนโลยีสมัยใหม่ในการผลิต จนได้เป็นผลิตภัณฑ์น้ำมันรำข้าว “คิง” ตั้งแต่ปีพ.ศ. 2520 เป็นต้นมาและในปี พ.ศ. 2531 ก็ได้ขยายกำลังการผลิตน้ำมันรำข้าวให้เพียงพอต่อความต้องการของตลาดที่สูงขึ้น โดยก่อตั้งบริษัท ไทยร่วมใจน้ำมันพืช จำกัด เป็นฐานกำลังการผลิตน้ำมันรำข้าว ซึ่งปัจจุบันมีกำลังการผลิตโดยใช้รำข้าวเป็นวัตถุดิบประมาณ 300000 ตันต่อปี ซึ่งรำข้าว 100 กิโลกรัม จะสกัดออกมาเป็นน้ำมันรำข้าวได้ประมาณ 11-12 กิโลกรัม (แล้วแต่คุณภาพรำข้าว) เพราะในข้าวเปลือกมีรำข้าวและจมูกข้าวประมาณร้อยละ 8 โดยน้ำหนัก ซึ่งรำข้าว 100 กิโลกรัม มาจากข้าวเปลือก 1200 กิโลกรัม โดยปัจจุบันนับได้ว่าบริษัท น้ำมันบริโภคนไทย จำกัดเป็นโรงงานสกัดน้ำมันรำข้าวที่ใหญ่ที่สุดแห่งหนึ่งของโลก โดยทั่วไปน้ำมันรำข้าวที่มีกรดไขมัน

อิมตัวสูงจะเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลที่ไม่ดี (LDL-C) ส่วนน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวตำแหน่งเดียวสูงจะช่วยลดปริมาณคอเลสเตอรอลที่ไม่ดีและเพิ่มหรือคงระดับคอเลสเตอรอลที่ดี (HDL-C) ส่วนน้ำมันที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่งสูงจะช่วยลดทั้งปริมาณคอเลสเตอรอลที่ไม่ดีและคอเลสเตอรอลที่ดีอีกด้วย สำหรับจุดเด่นของน้ำมันรำข้าวที่สำคัญที่ผู้บริโภคให้ความสนใจและหันมานิยมบริโภคมากขึ้นคือ สัดส่วนของกรดไขมันในน้ำมันรำข้าวนี้ใกล้เคียงกับคำแนะนำขององค์การอนามัยโลก (WHO) และโครงการศึกษาคอเลสเตอรอลแห่งชาติของประเทศสหรัฐอเมริกา (NCEP) จึงมีคุณสมบัติที่ดีต่อสุขภาพมากกว่าน้ำมันพืชชนิดอื่นๆ อย่างไรก็ตาม สัดส่วนของกรดไขมันจะทำให้คุณสมบัติของน้ำมันแตกต่างกันและมีผลต่อสุขภาพแตกต่างกัน

## 2.5 ประโยชน์ของน้ำมันรำข้าว (ประเทืองศรี, 2551)

น้ำมันรำข้าวประกอบด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยวสูงกล่าวคือ มีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว: กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว: กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน เป็นสัดส่วน 0.5:1.2:1 ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับคำแนะนำการบริโภคน้ำมันที่เหมาะสมขององค์การอนามัยโลก (ตามการแนะนำขององค์การอนามัยโลก (WHO) แนะนำให้บริโภคน้ำมันที่มีองค์ประกอบของกรดไขมันผสมในสัดส่วน 1: 1.5: 1 ซึ่งได้แก่ กรดไขมันไม่อิ่มตัว: กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว: กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน) น้ำมันรำข้าวยังประกอบไปด้วยสารสำคัญต่างๆ มากมาย เช่น

- กลุ่มสารแกมมาออริซานอล ( $\gamma$ -Oryzanol) พบได้ในข้าวและธัญพืชชนิดต่างๆ ทำหน้าที่เป็นสารช่วยในการเจริญเติบโตของร่างกาย ช่วยควบคุมความสมดุลของระดับฮอร์โมน ลดความตึงเครียดในสุขภาพสตรีและสุขภาพบุรุษวัยทอง ปรับสมดุลของระบบประสาท เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าวิตามินอีถึง 6 เท่า สามารถลดปฏิกิริยาออกซิเดชันของคอเลสเตอรอลได้สูงกว่าวิตามินอี จึงช่วยให้น้ำมันมีความคงทนไม่เหม็นหืนง่าย ใช้ประโยชน์ในทางยาผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและเครื่องสำอาง ลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับและลดการดูดซึมของคอเลสเตอรอลในร่างกาย ทำให้ลดการตีตันของหลอดเลือด เพิ่มการไหลเวียนของโลหิตไปยังส่วนต่างๆ ของร่างกาย ลดภาวะเสี่ยงต่อโรคต่างๆ เช่น โรคความดันโลหิตสูง โรคเบาหวาน โรคสมองเสื่อมและอื่นๆ นอกจากนี้ยังช่วยรักษาอาการเครียด (anti-stress) ของชายหญิงวัยเจริญพันธุ์และวัยทองอีกด้วย ทั้งนี้ปริมาณสารมีตั้งแต่ร้อยละ 0.05-2 ขึ้นกับพันธุ์ข้าวและกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว

- กลุ่มทอคอล (Tocol) มีวิตามินอีเป็นสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติในรูปของโทโคฟีรอลและโทโคโทรอนอล มีประโยชน์ในการสร้างและซ่อมแซมเซลล์ต่างๆ ของร่างกาย ทำให้มีภูมิคุ้มกันโรคต่างๆ ช่วยยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดเนื้องอกมะเร็ง

- กลุ่มฟอสโฟลิปิด (Phospholipids) ได้แก่ เลซิธิน (Lecithin) เซฟฟาลิน (Cephalin) ไลโซเลซิธิน (Lysolecithin) ซึ่งมีความสำคัญในการนำไปสร้างและซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลล์ประสาทและสมอง อีกทั้งช่วยป้องกันเซลล์ประสาทจากสารที่เป็นพิษและสารอนุมูลอิสระต่างๆ ทั้งยังช่วยเสริมสร้างในด้านความจำ ลดความเครียดและอาการผิดปกติของระบบประสาท

- กลุ่มกรดไขมันโอเมก้า 6 และโอเมก้า 3 (Linoleic และ Linolenic) กรดไขมันลิโนเลอิก หรือโอเมก้า 6 เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ผิวหนังและเซลล์ในระบบอวัยวะสืบพันธุ์ ช่วยทำให้ผิวหนังสดใสและระบบสืบพันธุ์ให้ทำงานปกติ กรดไขมันลิโนเลนิก หรือโอเมก้า 3 เป็นส่วนประกอบของเซลล์ในระบบประสาทและสมอง ช่วยให้เซลล์ในระบบประสาทและสมองดีขึ้น

- กลุ่มเซราไมด์ (Ceramind) เป็นส่วนประกอบที่สำคัญในชั้นใต้ผิวหนัง มีอยู่ปริมาณมากในเด็ก และจะค่อยๆ ลดปริมาณลงจนเหลือน้อยในวัยสูงอายุ ทำให้ผิวหนังย่น หย่น เปล่งปลั่ง มีน้ำมีนวล ผุดผ่อง ชุ่มชื้น ปราศจากริ้วรอยเหี่ยวย่น เป็นสารให้ความขาว (Whitener) ที่ช่วยยับยั้งการสังเคราะห์ เมลานิน (Melanin) เป็นสาเหตุของฝ้า กระและจุดด่าง

- สารอาหารอื่นๆ ได้แก่ วิตามิน ได้แก่ วิตามินเอ วิตามินบีรวม บีตาแคโรทีน (Beta-Carotene) ช่วยให้การทํางานระบบประสาทดีขึ้น ไฟโทสเตอรอล (Phytosterol) ได้แก่ (Sitosterol) (Campesterol) ช่วยให้การทํางานของร่างกายมีประสิทธิภาพ ลดภาวะท้องผูกเป็นผลให้ลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคริดสีดวงทวารและมะเร็งลำไส้ใหญ่ สารเมลาโทนิน (Melatonin) ช่วยให้นอนหลับสบาย คลายเครียด แร่ธาตุต่างๆ เช่น แคลเซียม เหล็ก ซีลีเนียม สังกะสีและแมงกานีส ฯลฯ โปรตีน (Protein) ช่วยซ่อมแซมส่วนสึกหรอของร่างกาย

## 2.6 อนุมูลอิสระ (มันทนา และคณะ, 2552)

อนุมูลอิสระ (free radicals) เป็นสารที่มีอิเล็กตรอนอิสระ (unpaired electron) อยู่ในวงนอกของอะตอมหรือโมเลกุลในวงจรดำรงชีวิตของสิ่งมีชีวิตทุกชนิดที่ใช้ออกซิเจนจะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนอย่างเช่น hydroxyl radical ( $\text{OH}^{\bullet}$ ) superoxide anion ( $\text{O}_2^{\bullet -}$ ) hydroperoxyl radical ( $\text{HOO}^{\bullet}$  และ alkoxy radical ( $\text{RO}^{\bullet}$ ) เป็นต้น ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการใช้ออกซิเจนในกระบวนการเมตาบอลิซึมต่างๆ ของเซลล์ซึ่งเกิดขึ้นตลอดเวลา นอกจากนี้ปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก ได้แก่ รังสียูวี (UV ray) โอโซน (o-Ozone) ควันจากท่อไอเสียรถยนต์และควันบุหรี่ ยังสามารถเหนี่ยวนำให้มีการก่อตัวของอนุมูลอิสระเหล่านี้เพิ่มขึ้นได้อีกด้วย อนุมูลอิสระส่วนใหญ่มีความไม่คงตัวและไวต่อการทำปฏิกิริยา โดยเฉพาะอย่างยิ่งอนุมูลไฮดรอกซิล (hydroxyl radical) ซึ่งจัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูง (reactive oxygen species, ROS) ที่มีความว่องไวสูงสุดสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่อยู่รอบข้างในทันทีที่ถูกสร้างขึ้น มีผลทำให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ภายในร่างกาย ไม่ว่าจะเป็นการทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนแปลงสภาพโปรตีน ตลอดจนไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ หรือการสร้างพันธะโควาเลนต์ (covalent bond) กับโปรตีนหรือเอนไซม์บางชนิดจนทำให้การทำงานของโปรตีนหรือเอนไซม์นั้นๆ ผิดปกติไป อย่างไรก็ตาม ในสิ่งมีชีวิตทุกชนิดไม่ว่าจะเป็นพืชหรือสัตว์ต่าง ๆ ก็มีระบบที่เรียกว่า antioxidant defense system เพื่อดำรงไว้ซึ่งสมดุลของอนุมูลอิสระภายในร่างกายทั้งสิ้น ระบบกำจัดอนุมูลอิสระดังกล่าวเกิดจากการทํางานของสารต่างๆ ที่รวมเรียกว่า สารต้านการออกซิเดชัน (antioxidants) ตัวอย่างเช่น (catalase) เอนไซม์กลูตาไทโอนเปอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase) และซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส

(superoxide dismutase) หรือสารประกอบโปรตีนบางอย่างเช่น กลูตาไธโอน (glutathione) ยูเรต (urate) บิลิรูบิน (bilirubin) ยูบิควินอล (ubiquinol) อัลบูมิน (albumin) เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin) และ transferrin เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่างๆ ให้อยู่ในระดับพอเหมาะ แต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินกว่าที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมด จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้น ภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระส่วนที่ยังหลงเหลืออยู่อาจไปทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งถ้าสะสมมากๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติหรือพยาธิสภาพหลายอย่าง เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรค Parkinson โรค Alzheimer ไชข้ออักเสบและต้อกระจก เป็นต้น ดังนั้นการได้รับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกจึงน่าจะเป็นหนทางหนึ่งที่จะช่วยเสริมการควบคุมและป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระเหล่านี้ได้ เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์นั้น ถึงแม้จะมีประสิทธิภาพสูง แต่ก็มีข้อจำกัดของการใช้และมีปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค จึงทำให้มีการเสาะแสวงหาสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ มีรายงานว่า สารประกอบกลุ่ม polyphenols โดยเฉพาะอย่างยิ่งแซนโธน (xanthones) และฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งพบในพืชธรรมชาติหลายชนิด สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดี ทั้งในหลอดทดลอง (in vitro) และในสัตว์ทดลอง (in vivo) ประกอบกับประเทศไทยเป็นแหล่งอุดมสมบูรณ์ด้วยพรรณไม้และสมุนไพรหลากหลายชนิด ซึ่งมีศักยภาพในการรักษาโรคต่างๆ อันเนื่องมาจากอนุมูลอิสระได้ดี จึงทำให้การทดสอบสารสกัดจากพืชสมุนไพรไทยเพื่อสำรวจหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

## 2.7 สารต้านอนุมูลอิสระ (มณฑนา และคณะ, 2552)

สารต้านอนุมูลอิสระคือ สารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกัน หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ได้ สารเหล่านี้มีกลไกการต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระ หรือเข้าจับ (chelate) กับเหล็ก ( $Fe^{2+}$ ) ป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เป็นต้น โดยปกติร่างกายคนเรานั้นจะมีสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติหลากหลายชนิดทั้งที่เป็นเอนไซม์ เช่น ซูเปอร์ออกไซด์ ดิสมิวเทส เอนไซม์คาตาเลสและเอนไซม์กลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดสและสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น ยูเรต บิลิรูบินและtransferrin เป็นต้น เนื่องจากสารเหล่านี้มีจำนวนจำกัด ดังนั้นเมื่อใดก็ตามที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเกินกว่าจะกำจัดได้หมด อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ดังที่กล่าวมาแล้ว นอกจากนี้วิตามินบางชนิด เช่น บีตาแคโรทีน วิตามินซี วิตามินอี รวมทั้งสารประกอบกลุ่มโพลีฟีนอลต่างๆ ซึ่งพบมากในพืช ผักและผลไม้ทั่วไปและยังจัดเป็นสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากแหล่งธรรมชาติที่ดีอีกกลุ่มหนึ่ง สารต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งเป็น 2 ประเภทตามลักษณะการออกฤทธิ์ คือ

### 2.7.1 สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ

เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระโดยการให้อนุมูลไฮโดรเจน ( $H^+$ ) หรืออิเล็กตรอน แก่อนุมูลอิสระโดยตรง เป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้น สารออกฤทธิ์ในลักษณะ

ดังกล่าว ได้แก่สารประกอบกลุ่มฟีนอลิก เช่น ฟลาโวนอยด์ ยูจีนอลและวานิลลิน เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระชนิดนี้จะทำหน้าที่ได้ดีที่ความเข้มข้นต่ำๆ แต่เมื่อมีความเข้มข้นสูงขึ้นอาจกลายเป็นสารเสริมฤทธิ์ออกซิเดชันได้

### 2.7.2 สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ

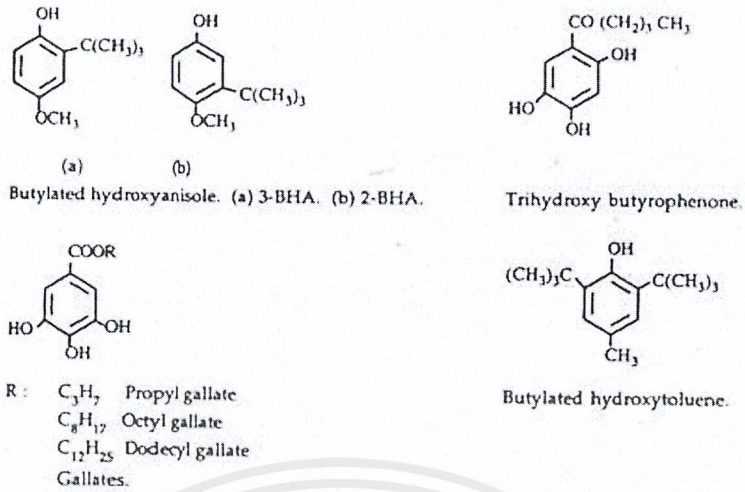
สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระ แต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในลักษณะต่างๆ เช่น จับกับ  $Fe^{2+}$  ดักจับออกซิเจน ดูดซับรังสียูวีไว้ เป็นต้น

## 2.8 สารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าว

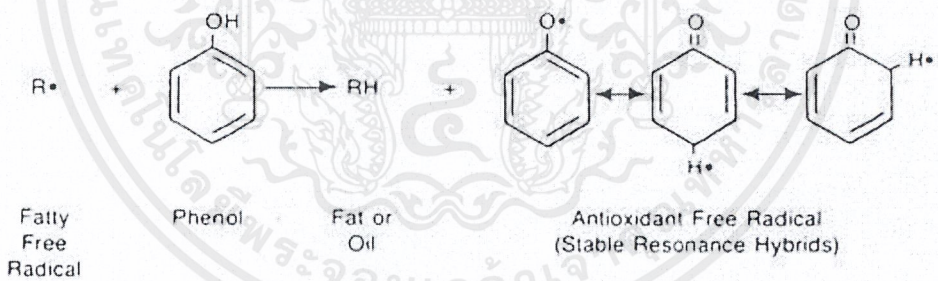
น้ำมันรำข้าวเป็นแหล่งที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี โทโคเฟอรอล แคโรทีนอยด์ และแกมมาออริซานอล คุณสมบัติที่โดดเด่นของน้ำมันรำข้าว คือ มีส่วนประกอบเป็นสารสำคัญ คือ แกมมาออริซานอลและโทโคไตรอีนอล ซึ่งพบว่า สามารถช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและลดอัตราการเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจได้ บทบาทของสารแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวคือ ลดคอเลสเตอรอลชนิดที่ไม่ดี (LDL) และลดระดับไตรกลีเซอไรด์ โดยแกมมาออริซานอลจะไปจับกับคอเลสเตอรอลในน้ำดี แล้วเพิ่มการขับน้ำดีเข้าไปในลำไส้ จากนั้นป้องกันไม่ให้มีการดูดซึมกลับเข้ามาใหม่ แกมมาออริซานอลยังช่วยเพิ่มระดับการสร้างฮอร์โมนเทสโตสเตอโรน (Testosterone) ในผู้ชายและช่วยกระตุ้นสมองให้หลั่งเอนโดฟิน (Endorphine) ซึ่งเป็นสารแห่งความสุขเพิ่มขึ้นด้วย (Rosenbloom และคณะ 2535) มีหลายการศึกษาวิจัยพบว่า แกมมาออริซานอลช่วยเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลชนิดดี (HDL) และช่วยลดอัตราเสี่ยงของโรคที่เกิดจากหลอดเลือดแข็งตัว (ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว 2010)

## 2.9 กลไกการต้านอนุมูลอิสระ (สารต้านออกซิเดชัน, 2549)

สารต้านออกซิเดชัน คือ สารที่ช่วยยับยั้งหรือชะลอการเกิดออกซิเดชันซึ่งมีทั้งชนิดที่พบในวัสดุธรรมชาติและชนิดที่มีการสังเคราะห์มาใช้ ซึ่งหากแบ่งตามชนิดของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะแบ่งเป็น 2 ชนิดคือ ชนิดแรกจะเป็นสารที่ตัดลูกโซ่ของปฏิกิริยาที่เกิดขึ้น โดยสามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระก่อนที่อนุมูลอิสระนั้นจะเกิดปฏิกิริยากับไขมันที่ไม่อิ่มตัว เช่น สารจำพวกฟีนอล เช่น butylated hydroxyanisole (BHA) butylated hydroxytoluene (BHT) เป็นต้น ดังสูตรโครงสร้างในรูปที่ 2.4 ซึ่งสารดังกล่าวให้อนุมูลไฮโดรเจนได้ง่ายและเมื่อให้อนุมูลไฮโดรเจนแล้วอนุมูลอิสระที่เหลือมีปฏิกิริยาต่ำจึงไม่ทำปฏิกิริยากับกรดไขมันอีก อนุมูลไฮโดรเจนจากสารต้านออกซิเดชันจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระจึงทำให้ลดอัตราการเกิดออกซิเดชันได้ดังรูปที่ 2.4 แสดงกลไกการต้านออกซิเดชันของสารจำพวกฟีนอลและสมบัติของสารเหล่านี้ ดังแสดงในตารางที่ 2.5 บางครั้งมีการใช้สารต้านออกซิเดชันมากกว่า 1 ชนิดเพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชันสองชนิดร่วมกันดังตัวอย่างรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.4 สารต้านออกซิเดชันบางชนิดที่ได้จากการสังเคราะห์  
 ที่มา: Rajalakshmi และ Narasimham, 1996



รูปที่ 2.5 กลไกการต้านออกซิเดชันของสารจำพวกฟีนอล  
 ที่มา Richard, 1990

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.5 สมบัติของสารต้านออกซิเดชันจำพวกฟีนอล

ชนิด	น้ำหนัก โมเล- กุล	จุด หลอมเหลว (องศา- เซลเซียส)	การคง คุณสมบัติ	การเสริมฤทธิ์กับ สารต้าน- ออกซิเดชัน ชนิดอื่น	ความสามารถในการละลาย (ร้อยละ)		
					ในน้ำ	ใน ไขมัน สัตว์	ใน ไขมัน พืช
BHT	180	52-55	ดีมาก	BHTและ gallate	0	30-40	40
BHT	220	69-70	ค่อนข้างดี	BHA	0	20-30	20-30
Propyl gallate	212	146-148	ไม่ดี	BHA	0.35	1	-
dodacyl gallate	338	95-98	ค่อนข้างดี	BHA	0.0001	1	1
tertiary butyl hydroquinone	166	26.5-128.5	ดี	-	1	5-10	-5

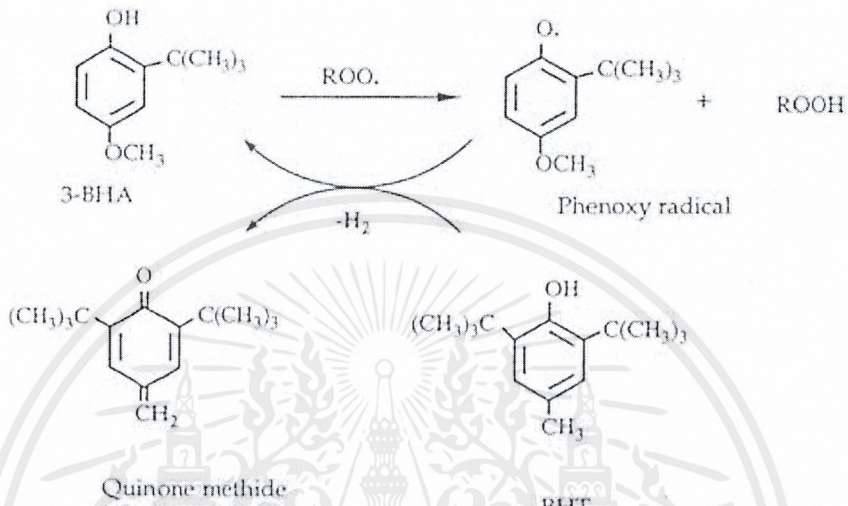
ที่มา: Coppen, 1994

สารต้านออกซิเดชันชนิดที่สองจะทำหน้าที่ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาเริ่มต้น โดยสามารถจับกับไอออนของโลหะที่เป็นตัวเร่งของการเกิดปฏิกิริยาเริ่มต้น เช่น Ethylene diamine trichloroacetic acid (EDTA) กรดซิตริกและกรดฟอสฟอริกและอนุพันธ์ หรือเป็นสารที่ทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้ดี เช่น กรดแอสคอบิก เกลือปาล์มิเตทของกรดแอสคอบิก กรดอีรีโทริกและเกลือโซเดียมของกรดชนิดนี้ จากตารางที่ 2.5 จะพบว่า เมื่อมีการใช้ BHA และ BHT ร่วมกัน จะทำให้ได้ค่า AF เพิ่มขึ้น ทั้งนี้เพราะสารทั้ง 2 ชนิดมีการเสริมฤทธิ์ซึ่งกันและกัน โดยกลไกการเกิดปฏิกิริยา ดังรูปที่ 2.6 โดย BHA จะทำหน้าที่ก่อน จากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับ BHT แล้ว BHA ก็จะมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านออกซิเดชันได้อีกรอบ ส่วน BHT จะทำให้ตัวเองอยู่ในสภาพที่เสถียรไม่ทำให้เกิดอนุมูลในไขมันเพิ่มเติม

ความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสารต้านออกซิเดชันแต่ละชนิดในน้ำมันหรือไขมันชนิดใดชนิดหนึ่งแตกต่างกันไปซึ่งสามารถวัดได้จากค่า Antioxidation fator (AF) ซึ่งได้จากการหาอัตราส่วนระหว่างระยะเวลาเหนี่ยวนำในการเกิดออกซิเดชันของไขมันเมื่อมีการเติมสารต้านออกซิเดชัน (IA) และระยะเวลาเหนี่ยวนำในการเกิดออกซิเดชันของไขมันเมื่อไม่มีสารออกซิเดชัน (Io)

ดังสูตรด้านล่าง ตัวอย่างค่า antioxidative factor ของสารต้านออกซิเดชันบางชนิดในน้ำมัน ดังแสดงในตารางที่ 2.6 ซึ่งชนิดที่มีค่าสูงกว่าจะมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันได้ดีกว่าชนิดที่มีค่าต่ำกว่า

$$AF = \frac{I_A}{I_0}$$



รูปที่ 2.6 กลไกการเสริมฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของ 3-BHA และ BHT  
ที่มา : Rajalakshmi และNarasimhan, 1996

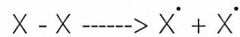
ตารางที่ 2.6 ค่า Anioxidative factor (AF) ของสารต้านออกซิเดชันบางชนิดในน้ำมันหมูบริสุทธิ์

ชนิดของสารต้านออกซิเดชัน	ค่า AF
ดี-แอลฟา-โทโคเฟอรอล (D-α-tocopherol)	5
ดีแอล-โทโคเฟอรอล (DL-tocopherol)	12
บีเอชเอ (BHA)	9.5
บีเอชที (BHT)	6
ออกทิลแกลเลต (octylgallate)	6
แอสคอบิลพาล์มมีเตต (Ascorbyl palmitate)	4
บีเอชเอและบีเอชที (BHA และ BHT)	12

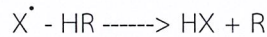
ที่มา : Belitz and Grosch, 1987

หลักการทางเคมีของอนุมูลอิสระและ ROS เกิดโดย

1. ปฏิกิริยาการแยกอย่างสมมาตร (symmetric separation)



2. อนุมูลอิสระอื่นๆ



จากที่กล่าวมาแล้วว่าอนุมูลอิสระถูกสร้างขึ้นมาจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของร่างกายเอง และในภาวะที่ผิดปกติ เช่น ภาวะของโรค หรือภาวะที่ร่างกายแวดล้อมด้วยมลพิษ โดยในภาวะที่ผิดปกติจะส่งผลให้ร่างกายเกิดการสะสมของอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ดังนั้นจำเป็นที่ร่างกายต้องหาทางป้องกัน การโดนทำลายจากอนุมูลอิสระเหล่านั้น สิ่งที่ร่างกายสร้างขึ้นเพื่อปกป้องตัวเองก็คือระบบการต้านอนุมูลอิสระซึ่งประกอบไปด้วยสาร หรือเอนไซม์ต่างๆ ที่ความเข้มข้นต่ำๆ ก็สามารถจะชะลอหรือป้องกันปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารตั้งต้น ที่ไวต่อการเกิดปฏิกิริยา โดยสารตั้งต้นเหล่านี้รวมถึงสารเกือบทุกชนิดในร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต ดีเอ็นเอ แต่อย่างไรก็ตาม มีบางภาวะที่ปริมาณอนุมูลอิสระมีมากเกินไปที่ระบบแอนตี้ออกซิแดนซ์จะจัดการได้ จะเกิดภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้นมาซึ่งจะส่งผลกระทบต่อเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น การทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของดีเอ็นเอ โปรตีน คาร์โบไฮเดรตและเกิดการทำลายของกลุ่มโมเลกุลที่มีพันธะ S-H และเยื่อหุ้มเซลล์ ก่อให้เกิดผลเสียต่อเซลล์และการทำลายเซลล์ ซึ่งเป็นสาเหตุของการแก่และรุนแรงไปถึงการเกิดเป็นโรคร้ายไข้เจ็บต่างๆ เช่น เส้นเลือดตีบ โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน โรคที่เกิดจากการที่เลือดกลับไปเลี้ยงอวัยวะที่เคยมีการตีบตันของเส้นเลือดในระยะสั้นๆ มาก่อน (reoxxygenation injury, reperfusion injury) รวมไปถึงโรคมะเร็ง เป็นต้น โดยระบบ Antioxidant (ต้านอนุมูลอิสระ) จะมีอยู่ 2 ระบบ คือ

1. ระบบ Antioxidant (ต้านอนุมูลอิสระ) โดยให้ Enzyme เป็น Enzyme ที่มีในการทำลาย Free radical (อนุมูลอิสระ) ในร่างกาย ได้แก่

- เอนไซม์ Superoxide dismutase (SOD)
- เอนไซม์แคทาเลส (Catalase)
- เอนไซม์กลูตาไธโอน เพอร์ออกไซด์ (Glutathione peroxide or GSH.Px)

2. ระบบ Antioxidant (ต้านอนุมูลอิสระ) โดยไม่ใช่ Enzyme ได้แก่

- วิตามินอี (Tocopherol)
- วิตามินซี (Ascorbic Acid)
- เบต้าแคโรทีน ( $\beta$ -carotene)
- สารเคมีกันหืนต่างๆ เช่น BHT และ BHA
- ผลิตภัณฑ์ยาบางชนิด
- สารพฤกษเคมี (Phytonutrients) ในอาหาร ในผักผลไม้ที่มีฤทธิ์ต้านการออกซิเดชัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.7 แหล่งที่พบสารต้านอนุมูลอิสระในธรรมชาติ

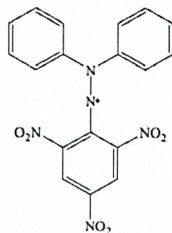
Antioxidant	แหล่งที่พบ
วิตามินซี	ฝรั่ง ส้ม มะขามป้อม มะละกอสุก พริกชี้ฟ้าเขียว บล็อกโคลี ผักคะน้า ยอดสะเดา ใบปอ ผักหวาน ผักกาดเขียว เป็นต้น
วิตามินอี	น้ำมันจากจมูกข้าวสาลี น้ำมันดอกทานตะวัน น้ำมันข้าวโพด น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันดอกคำฝอย เมล็ดทานตะวัน เมล็ดอัลมอนด์ จมูกข้าวสาลี เป็นต้น
วิตามินเอ	ตับ หมู ตับไก่ ไข่โดยเฉพาะไข่แดง นํ้านม พืชผักที่มีสีเหลืองเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ เป็นต้น
ซีลีเนียม	อาหารทะเล ปลาทูน่า เนื้อสัตว์ ตับ บะหมี่ ไข่ ปลาและขนมปังโฮลวีต เป็นต้น
แคโรทีนอยด์ (บีตาแคโรทีน ลูทีน ไลโคปีน)	ผักที่มีสีเหลืองเข้ม ผลไม้ที่มีสีเหลืองส้ม เช่น ผักตำลึง ผักกวางตุ้ง ผักบุ้ง ฟักทอง มะม่วงสุก มะละกอสุก มะเขือเทศ เป็นต้น

ที่มา : Chanwitheesuk และคณะ, 2005

## 2.10 การทดสอบฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระและกลไกการเกิดปฏิกิริยา

2.10.1 การทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay (เพชรรุ่ง และคณะ, 2555) และกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ DPPH<sup>•</sup> กับสาร antioxidant (ปริยพันธ์, 2546)

DPPH หรือ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) สามารถรับ electron หรือ hydrogen radical ได้ ซึ่งเมื่อ DPPH อยู่ในรูปสารละลายใน absolute ethanol จะมีสีม่วง และเมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จะทำให้มีสีจางลง โดยใช้ BHT (Butylated hydroxytoluene) เป็นสารมาตรฐานที่ให้ผลบวก ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีนี้ ค่าที่ได้จากการทดสอบจะแสดงเป็นค่า IC<sub>50</sub> โดยต้องมีค่าต่ำกว่า 100 มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร จึงจะถือว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ



รูปที่ 2.7 สูตรโครงสร้างของ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical (DPPH radical)

ที่มา: ปริยพันธ์, 2546

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดย DPPH• จะเกิดปฏิกิริยากับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species (R•) ได้ ดังสมการที่ (1) และ(2) แสดงกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ DPPH• กับสาร antioxidant (RO-H)



ถ้าตัวอย่างมีความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้สูง ความเข้มของสารละลายสีม่วงก็จะลดลง ซึ่งการรายงานในรูปของค่า IC<sub>50</sub> ซึ่งทำโดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %Inhibition DPPH• กับความเข้มข้นของสารตัวอย่างเพื่อหาค่า IC<sub>50</sub> โดยคำนวณ % Inhibition DPPH•

เตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 100 μM ในสารละลาย absolute ethanol ทดสอบ โดยเตรียมสารตัวอย่าง และสารมาตรฐานที่ความเข้มข้นเท่ากับ 1 10 50 และ 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายตัวอย่าง และสารละลาย DPPH อย่างละ 100 มิลลิลิตรลงใน 96-well microplate ตามลำดับ จากนั้นเก็บไว้ที่มืด ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที นำมาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วย 96-well microplate readers วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer (Jenway 6305, UK) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (triplicate) นำไปคำนวณ % inhibitory concentration (IC<sub>50</sub>) ดังสมการ (เพชรรุ่ง และคณะ, 2555)

$$\% \text{inhibition} = \frac{(\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{blank}}) - (\text{OD}_{\text{sample}} - \text{OD}_{\text{blank}})}{(\text{OD}_{\text{control}} - \text{OD}_{\text{blank}})} \times 100$$

หมายเหตุ Control = ตัวทำละลายของตัวอย่างนั้น + DPPH  
Blank = ตัวทำละลายของตัวอย่างนั้น + สารละลายตัวอย่าง

#### 2.10.2 การทดสอบด้วยวิธี FRAP assay (เพชรรุ่ง และคณะ, 2555)

FRAP (Ferric reducing antioxidant power) assay เป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระ (reducing agent) โดยอาศัยคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวซ์ในปฏิกิริยา redox-linked colorimetric method โดยที่ ferric tripyridyltriazine (Fe<sup>3+</sup>-TPTZ) complex จะถูกรีดิวซ์ด้วยสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ ทำให้เกิด Fe<sup>2+</sup>-TPTZ complex ดังนั้นวิธีนี้ สามารถใช้วัด total reducing power ของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการถ่ายทอดอิเล็กตรอนให้ Fe<sup>3+</sup> เปลี่ยนเป็น Fe<sup>2+</sup> ได้ เทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานคือ FeSO<sub>4</sub> และ Trolox (Trolox) สร้างกราฟมาตรฐานในการหาปริมาณ Fe<sup>2+</sup> ที่เกิดจากปฏิกิริยาของ Trolox หรือสารสกัดสมุนไพร แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นค่า FRAP value (Fe(II)/g) และ ค่า TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) (mg Trolox/g)

การเตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสม 300 mM acetate buffer (pH 3.6) กับ 20 mM Ferric chloride solution และ 10 mM TPTZ (2,4,6-Tris(2-pyridyl)-1,3,5-

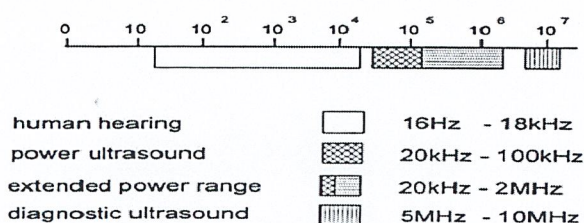
triazine) solution ให้เข้ากัน ในอัตราส่วน 10:1:1 แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาทีและเตรียมสารสกัดตัวอย่างให้ได้ความเข้มข้น 1 mg/ml ด้วยตัวทำละลายแต่ละชนิด วัดค่าการดูดกลืนแสงในนาที่ที่ 8 ที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน Ferrous sulfate และ Trolox คำนวณหาปริมาณ Relative antioxidant activity (FRAP value) และ ค่า TEAC (Trolox equivalent antioxidant capacity) จากกราฟมาตรฐานของ FeSO<sub>4</sub> และ Trolox ที่แสดงความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของ FeSO<sub>4</sub>, Trolox กับค่า absorbance โดยต้องเจือจางสารสกัดตัวอย่างให้อยู่ในช่วงกราฟมาตรฐาน

## 2.11 Sonications หรือ Ultrasonic (การใช้รูปอัลตราซาวด์ในกระบวนการแปรรูปอาหาร, 2556)

ความหมายของคลื่นอัลตราซาวด์ หรือคลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic waves) หมายถึงพลังงานที่เกิดจากคลื่นเสียงที่มีการสั่นของคลื่นประมาณ 20,000 ครั้งต่อวินาที หรือหมายถึงคลื่นความดัน (pressure waves) ที่มีความถี่สูงกว่าคลื่นเสียงปกติ (สูงกว่า 20,000 กิโล-เฮิร์ต, kHz) ส่วนอัลตราโซนิกส์ (Ultrasonics) หรือโซนิเคชันส์ (sonications) หมายถึง การศึกษาเกี่ยวกับคลื่นเสียงหรืออัลตราซาวด์ในช่วงความถี่ดังกล่าว ซึ่งมนุษย์ไม่สามารถได้ยิน

โดยทั่วไปแล้วคลื่นเสียง ที่มนุษย์ได้ยินนั้นเกิดจากการสั่นสะเทือนของตัวกลางที่ยืดหยุ่น (elastic medium) ที่มีความถี่อยู่ในช่วง 20–20,000 kHz คลื่นเสียงผ่านเข้าสู่ตัวกลางที่ยืดหยุ่นในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาว (longitudinal waves) แต่คลื่นเสียงที่ผ่านเข้าไปภายในวัตถุที่เป็นของแข็งอาจอยู่ในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาว หรือคลื่นตามขวาง (transverse waves)

ในการศึกษาการใช้ประโยชน์จากอัลตราซาวด์ ตั้งแต่ต้นจนถึงปัจจุบัน พบว่ามีการนำอัลตราซาวด์มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม หรือในกระบวนการแปรรูปอาหาร โดยสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่ การใช้อัลตราซาวด์กำลังต่ำและความถี่สูง (low power and high frequencies) ซึ่งใช้ในด้านการวิเคราะห์ (diagnostic ultrasound) เป็นส่วนใหญ่และการใช้อัลตราซาวด์กำลังสูงและความถี่ต่ำ (high power and low frequencies) หรือที่เรียกว่า พาวเวอร์อัลตราซาวด์ (power ultrasound) ที่มักนำมาประยุกต์ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร



รูปที่ 2.8 คลื่นความถี่ของอัลตราซาวด์ในช่วงต่างๆ

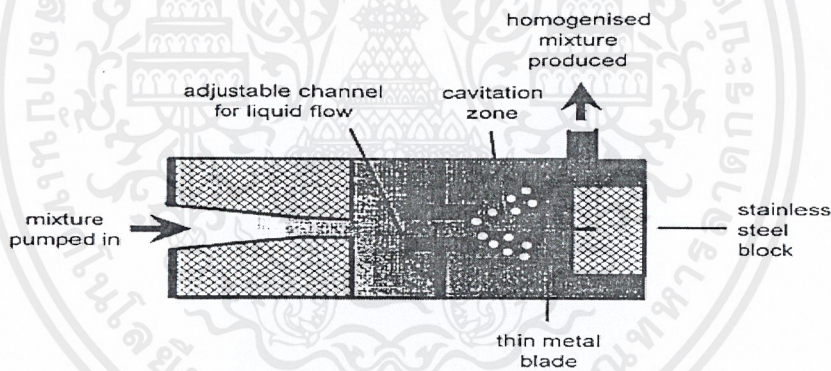
ที่มา: [http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79\\_file.pdf](http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79_file.pdf) สืบค้นวันที่

04/01/2558

## การสร้างคลื่นอัลตราซาวด์

การใช้ประโยชน์จากคลื่นอัลตราซาวด์ในกระบวนการแปรรูปอาหารจำเป็นต้องรู้และเข้าใจถึง การเกิดคลื่น รวมทั้งวิธีการนำพลังงานคลื่นที่สร้างขึ้นไปใช้ในกระบวนการดังกล่าว แหล่งของคลื่น อัลตรา-ซาวด์และชนิดของอุปกรณ์ให้กำเนิดคลื่นที่สร้างขึ้นจากทรานสดิวเซอร์ (transducer) ซึ่งเป็น อุปกรณ์ที่เปลี่ยนพลังงานกล หรือพลังงานไฟฟ้าไปเป็นพลังงานเสียงเป็นสิ่งสำคัญอันดับแรก ในการ ตัดสินใจนำอัลตราซาวด์มาประยุกต์ใช้ในกระบวนการแปรรูปอาหาร โดยทั่วไปสามารถแบ่ง ทรานสดิวเซอร์เป็นประเภทใหญ่ๆ ได้ 3 ประเภท ได้แก่

1. ลิกวิดไดรฟ์เวนทรานสดิวเซอร์ (liquid driven transducer) ลักษณะการทำงานของ ทรานสดิวเซอร์ชนิดนี้ ทำให้เกิดคลื่นอัลตราซาวด์ได้ โดยการบังคับของเหลวให้เคลื่อนที่ผ่านช่องขนาด เล็กและผ่านไปกระทบกับแผ่นโลหะขนาดบาง (thin blade) ซึ่งวาง อยู่ในทิศทางการเคลื่อนที่ของ ของเหลว ทำให้แผ่นโลหะดังกล่าวเกิดการสั่นไปมา ในการสั่นแต่ละครั้งจะทำให้ผิวหน้าของแผ่นโลหะ เกิดการปะทะกับของเหลว เป็นผลทำให้เกิดคลื่นความดันขึ้นและทำให้เกิดปรากฏการณ์แคปพิเตชัน ขึ้นภายในของเหลวนั้น การเกิดคลื่นความดันสลับกับแคปพิเตชันเป็นผลทำให้ของเหลวสามารถผสม เข้ากันได้ดียิ่งขึ้น ลักษณะของทรานสดิวเซอร์ชนิดนี้ แสดงดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 ลิกวิดไดรฟ์เวนทรานสดิวเซอร์

ที่มา: [http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79\\_file.pdf](http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79_file.pdf) สืบค้นวันที่

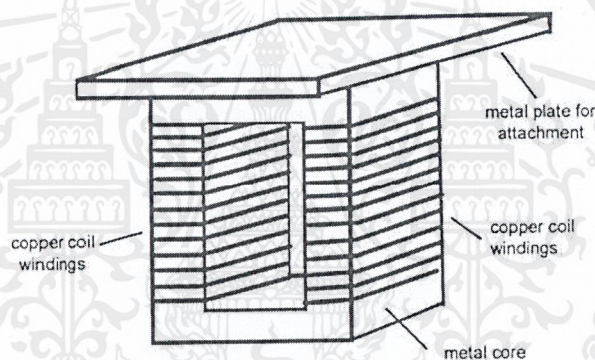
04/01/2558

2. แมกนีโตสตริกทีฟทรานสดิวเซอร์ (magnetostrictive transducer) ทรานสดิวเซอร์ชนิด นี้เป็นอุปกรณ์ที่เปลี่ยนพลังงานไฟฟ้าไปเป็นพลังงานกล โดยใช้คุณสมบัติแมกนีโตสตริกชัน (Magnetostriction) ซึ่งเป็นผลมาจากการที่สารเฟอร์แมกเนติก (ferromagnetic materials) เช่น นิกเกิล (nickel) หรือเหล็ก (iron) ซึ่งจะเกิดการเปลี่ยนแปลงของมิติ หรือขนาดเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็ก (magnetic field) ลักษณะของทรานสดิวเซอร์ชนิดนี้คล้ายกับโซลินอยด์ (solenoid) ที่ใช้สาร เฟอร์โรแมกเนติกเป็นแกน โดยแกนดังกล่าวประกอบขึ้นจากแผ่นนิกเกิล หรือนิกเกิลอัลลอย (nickel

alloy) ขนาดบางจำนวนหลายชั้น โดยรูปที่ง่ายที่สุดจะมีลักษณะเป็นวงสี่เหลี่ยมที่พันด้วยลวดทองแดง ในแต่ละด้านที่อยู่ตรงข้ามกันดังรูปที่ 2.10

จากภาพเมื่อผ่านกระแสไฟฟ้าเข้าสู่ขดลวด จะทำให้เกิดการลดขนาดของแกนซึ่งผลิตจากสารเฟอร์โรแมกเนติก (เรียกว่าเกิดแมกนีโตสตริกชัน-magnetostriction) และทำให้ขนาดของทรานส์ดิวเซอร์ลดลงไปด้วยและเมื่อหยุดให้กระแสไฟฟ้าจะทำให้แกน หรือทรานส์ดิวเซอร์กลับมามีขนาดเท่าเดิม ดังนั้นการให้และหยุดให้กระแสไฟฟ้าแก่ตัวแกนจะทำให้แกนมีการเปลี่ยนแปลงของขนาดอย่างต่อเนื่องและทำให้เกิดแรงสั่นที่ต้องการขึ้นได้ ทั้งนี้ต้องออกแบบทรานส์ดิวเซอร์ให้มีขนาดที่เหมาะสม เพื่อทำให้เกิดการสั่นตามความถี่ของคลื่นที่กำหนดไว้

ข้อเสียของทรานส์ดิวเซอร์ชนิดนี้ ได้แก่ สามารถสร้างคลื่นอัลตราซาวด์ได้ต่ำกว่า 100 kHz และระบบมีประสิทธิภาพในการใช้กระแสไฟฟ้าได้เพียงร้อยละ 60 โดยจะสูญเสียพลังงานในรูปของความร้อน ระบบนี้จึงมักต้องใช้การทำความเย็นภายนอกควบคู่กันไปด้วย ส่วนข้อดี ได้แก่ การที่ระบบนี้มีโครงสร้างที่แข็งแรงและทนทาน

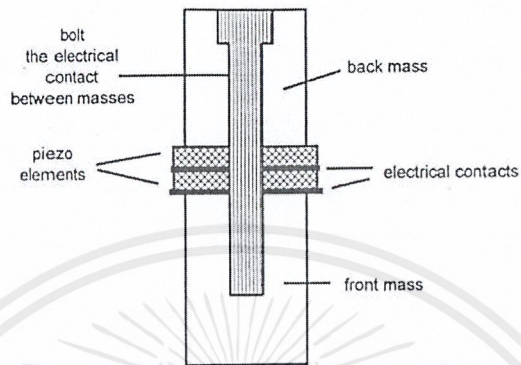


รูปที่ 2.10 แมกนีโตสตริกทรานส์ดิวเซอร์

ที่มา: [http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79\\_file.pdf](http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79_file.pdf) สืบค้นวันที่ 04/01/2558

3. พิโซอิเล็กทริกทรานส์ดิวเซอร์ (piezoelectric transducer) ทรานส์ดิวเซอร์ชนิดนี้เป็นที่นิยมใช้กันทั่วไปในการทำให้เกิดคลื่นอัลตราซาวด์โดยใช้เซรามิกส์ (ceramics) ที่มีส่วนผสมของสารพิโซอิเล็กทริก (piezoelectric materials) เช่น แบเรียมไทเทเนต (barium titanate) หรือเลดเมตาไนโอเบต (lead metaniobate) สารพิโซเซรามิกส์ ดังกล่าวนิยมใช้ในเครื่องอัลตราซาวด์ที่ใช้หะสิ่งสกปรกที่ติดอยู่ให้หลุดออก หรือเพื่อทำความสะอาด หรือใช้กับระบบโพรบ (probe systems) โดยจะมีลักษณะเป็นแผ่นที่มีรูตรงกลางทรานส์ดิวเซอร์เซรามิกส์นี้มีความเปราะและแตกหักง่ายมาก ดังนั้นจึงต้องใช้แท่งโลหะมาประกบทั้งด้านหน้าและด้านหลัง ซึ่งนอกจากจะช่วยป้องกันการแตกหักแล้ว ยังช่วยป้องกันความเสียหายที่เกิดจากความร้อนส่วนเกิน โดยทำหน้าที่เป็นตัวรับความร้อน โดยทั่วไปโครงสร้างของทรานส์ดิวเซอร์ชนิดนี้จะประกบกันโดยใช้แผ่นพิโซเซรามิกส์สองชนิด

(เรียกว่า sandwich construction) ซึ่งจะทำให้การสั่นสะเทือนเพิ่มมากขึ้นกว่าการใช้เพียงชนิดเดียว พีโออิเล็กทรอนิกส์ทรานส์ดิวเซอร์แสดงดังรูปที่ 2.11 โดยทรานส์ดิวเซอร์นี้ มีประสิทธิภาพในการใช้ กระแสไฟฟ้าสูงกว่าร้อยละ 95 และสามารถปรับใช้งานได้ทุกช่วงของของคลื่นอัลตราซาวด์



รูปที่ 2.11 พีโออิเล็กทรอนิกส์ทรานส์ดิวเซอร์

ที่มา: [http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79\\_file.pdf](http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79_file.pdf) สืบค้นวันที่ 04/01/2558

#### การออกแบบระบบอัลตราซาวด์

ระบบอัลตราซาวด์ที่ใช้ลิควิดทรานส์ดิวเซอร์นั้นเป็นระบบหนึ่งที่ย่างที่สุดและมีความทนทาน แต่ในการใช้งานจะขึ้นอยู่กับความเร็วในการบีบของเหลวให้เคลื่อนที่ผ่านรูขนาดเล็กไปยังแผ่นโลหะ ขนาดบาง ดังนั้นการนำไปประยุกต์ใช้งานของระบบอัลตราซาวด์ที่ใช้ลิควิดทรานส์ดิวเซอร์ จึงได้แก่ การผสม (mixing) และการโฮโมจีไนส์ (homogenization) ซึ่งช่วยให้กระบวนการดังกล่าวมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้น อุปกรณ์ส่วนใหญ่ที่ใช้เป็นตัวให้กำเนิดทาวเวอร์อัลตราซาวด์ในปัจจุบัน ได้แก่ ระบบที่ใช้ไฟฟ้าเพื่อทำให้เกิดคลื่นเสียง (electroacoustic systems) เช่น พีโออิเล็กทรอนิกส์หรือแมกนีโตสตริกที่ฟทรานส์ดิวเซอร์ หลังจากที่ใช้อุปกรณ์ดังกล่าวให้กำเนิดคลื่นแล้วจะต้องมีอุปกรณ์ที่ใช้ในการส่งถ่ายคลื่นอัลตราซาวด์ไปยังของเหลว โดยสรุปแล้วระบบอัลตราซาวด์จะต้องมีอุปกรณ์ที่สำคัญและจำเป็นอยู่ 3 ส่วน ได้แก่

- เครื่องกำเนิดกระแสไฟฟ้า (generator) โดยการเปลี่ยนกระแสไฟฟ้ากระแสตรงไปเป็นกระแสสลับที่ความถี่ที่ต้องการและผ่านเข้าสู่ทรานส์ดิวเซอร์
- ทรานส์ดิวเซอร์ ซึ่งทำหน้าที่เปลี่ยนไฟฟ้ากระแสสลับความถี่สูงไปเป็นการสั่น เนื่องจากพลังงานกล ทรานส์ดิวเซอร์ที่นิยมในปัจจุบัน คือ ชนิดที่ใช้เทคโนโลยีพีโออิเล็กทรอนิกส์ โดยที่รูปร่างและขนาดของทรานส์ดิวเซอร์ที่นำมาประกบกันจะขึ้นอยู่กับความถี่ที่ต้องการใช้งานและพลังงานจากทรานส์ดิวเซอร์แต่ละชนิดจะแปรผกผันกับกำลังสองของความถี่ ดังนั้นในการประยุกต์ใช้ทาวเวอร์

อัลตราซาวด์ จึงมักใช้ในช่วงความถี่ต่ำ โดยตัวทรานส์ดีวเซอร์จะอยู่ติดกับบูสเตอร์ (booster) หรือ ฮอร์น (horn) ด้านบนและเชื่อมต่อกับระบบส่งถ่ายพลังงาน

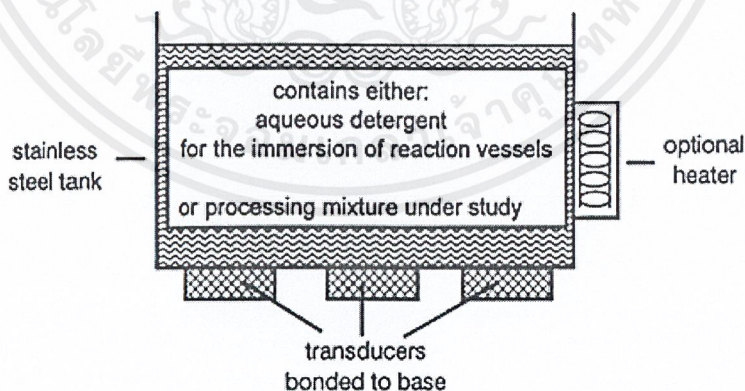
- ระบบส่งถ่ายพลังงาน (delivery systems) ซึ่งจะทำหน้าที่ส่งถ่ายพลังงานจากการสั่นสะเทือนไปยังของเหลว ในกรณีที่เป็นอ่างอัลตราซาวด์ (Ultrasonic bath) ตัวทรานส์ดีวเซอร์จะอยู่บริเวณฐานตรงด้านล่างของตัวอ่างหรือถังและส่งถ่ายพลังงานโดยตรงไปยังของเหลวที่อยู่ภายในอ่าง ส่วนระบบที่ต้องการพลังงานสูงกว่านี้จะใช้วิธีขยายสัญญาณ หรือพลังงานและส่งถ่ายพลังงานไปยังของเหลว โดยใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า ฮอร์น ซึ่งเป็นแท่งโลหะที่มีรูปร่างแตกต่างกันและจะติดกับทรานส์ดีวเซอร์ โดยตัวฮอร์นมักทำจากวัสดุที่ทำให้เกิดขนาดของความยาวคลื่นครึ่งหนึ่งหรือเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนเท่าตัวของความยาวคลื่นเสียง หลังการใช้งานเป็นเวลานานจะทำให้บริเวณส่วนปลายของฮอร์นเกิดการกัดกร่อนและมีผลต่อความยาวของฮอร์น โดยทำให้สั้นลง จึงนิยมใช้ส่วนปลายฮอร์นชนิดที่ถอดเข้าออกได้และเป็นเกลียว ซึ่งสามารถเปลี่ยนได้ง่าย

### ประเภทของเครื่องอัลตราซาวด์ (Ultrasonic reactor)

เครื่องอัลตราซาวด์ที่ใช้อยู่ทั่วไปในปัจจุบันมีความแตกต่างกันตรงที่การออกแบบแหล่งกำเนิดไฟฟ้า แหล่งกำเนิดคลื่นและตัวเครื่องหรือเซลล์ที่ใช้ร่วมกับแหล่งกำเนิดคลื่น โดยสามารถแบ่งเป็นชนิดต่างๆ ดังนี้

อ่างอัลตราซาวด์ (Ultrasonic baths)

อ่างอัลตราซาวด์เป็นอุปกรณ์ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายและมีการนำมาใช้เป็นเวลานานแล้วโดยเฉพาะในห้องปฏิบัติการ เนื่องจากมีราคาไม่แพง เมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องที่ใช้ระบบโพรวโดยทั่วไปทรานส์ดีวเซอร์จะติดอยู่กับบริเวณฐานด้านล่างของอ่างและความถี่ที่ใช้งานส่วนใหญ่ประมาณ 40 kHz อ่างอัลตราซาวด์มีลักษณะดังรูปที่ 2.12



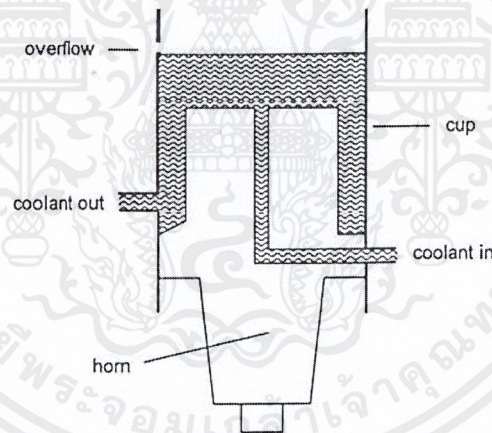
รูปที่ 2.12 อ่างอัลตราซาวด์

ที่มา: [http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79\\_file.pdf](http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79_file.pdf) สืบค้นวันที่

04/01/2555

สำหรับอ่างอัลตราซาวด์ จะสร้างพลังงานสูงสุดได้จะอยู่ตรงบริเวณระดับความสูงค่าหนึ่ง ตลอดความลึกของอ่าง ทั้งนี้เนื่องจากการเกิดคลื่นจากการสะท้อน (reflection) ของคลื่นอัลตราซาวด์ที่ถูกสร้างขึ้นตรงบริเวณรอยต่อระหว่างอากาศและของเหลว ซึ่งแยกโดยระยะทางที่เทียบเท่ากับครึ่งหนึ่งของความยาวคลื่นเสียงของของเหลวภายในอ่าง (สำหรับน้ำค่า  $\lambda = 37$  มิลลิเมตรที่ความถี่ 40 kHz) ดังนั้นถ้าระดับน้ำในอ่างลดลงต่ำกว่าค่า  $\lambda$  จะมีผลทำให้ไม่สามารถทำให้เกิดคลื่นเสียงที่มีพลังงานสูงได้ อ่างอัลตราซาวด์นั้นมีอุปกรณ์เสริมประเภทต่างๆ ที่นำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานให้ดีขึ้น เช่น อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ (thermostatically controlled heating) อุปกรณ์กระจาย (frequency sweeps) ที่ทำให้แคปพิเทชันเกิดขึ้นอย่างสม่ำเสมอ อุปกรณ์ปรับระดับพลังงาน สวิตช์เปิดปิดแบบจังหวะ หรือนาฬิกาจับเวลา เป็นต้น อ่างอัลตราซาวด์ทั่วไปมักจะให้พลังงานต่ำ เพื่อหลีกเลี่ยงความเสียหายจากแคปพิเทชันที่เกิดขึ้นตรงบริเวณผนังด้านในของอ่าง นอกจากนั้นของเหลวที่เติมในอ่างมักมีปริมาณมากทำให้ปริมาณพลังงานมีค่าลดลง

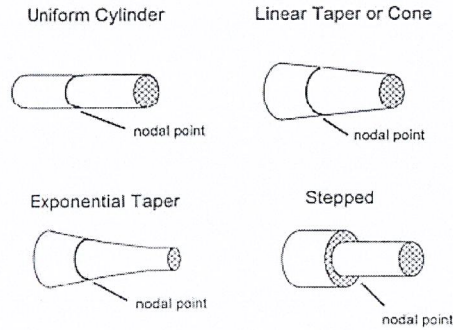
รูปแบบของอ่างอัลตราซาวด์อีกประเภทหนึ่ง เรียกว่า คัพฮอร์น (cup horn) แสดงดังรูปที่ 2.13 โดยจัดว่าเป็นอ่างอัลตราซาวด์ที่สร้างพลังงานได้สูงมาก ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณผิวหน้าที่เกิดคลื่นอัลตราซาวด์ ซึ่งติดอยู่กับทรานส์ดิวเซอร์ จะสัมผัสโดยตรงกับของเหลวและลักษณะการทำให้เกิดพลังงานหรือคลื่นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้องและระดับของของเหลว ซึ่งมีความสำคัญมาก



รูปที่ 2.13 อ่างอัลตราซาวด์แบบคัพฮอร์น

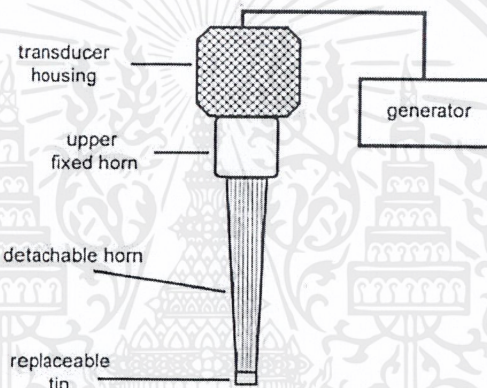
ที่มา: [http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79\\_file.pdf](http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79_file.pdf) สืบค้นวันที่ 04/01/2558

อัลตราซาวด์แบบโพรบ (Ultrasonic probe systems) ในการขยายพลังงานหรือคลื่นเสียงที่เกิดขึ้นจากทรานส์ดิวเซอร์นั้น โดยทั่วไปจะนำทรานส์ดิวเซอร์มาต่อเข้ากับอุปกรณ์ที่เรียกว่า ฮอร์น (horn) ลักษณะของฮอร์นจะมีความแตกต่างกันออกไปดังรูปที่ 2.14 โดยฮอร์นส่วนใหญ่จะให้ขนาดของความยาวคลื่นครึ่งหนึ่งหรือเป็นพหุคูณกับความยาวของคลื่นเสียงของวัสดุที่นำมาผลิตระบบอัลตราซาวด์แบบโพรบแสดงดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.14 ลักษณะของฮอร์นชนิดต่างๆ

ที่มา: [http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79\\_file.pdf](http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79_file.pdf) สืบค้นวันที่ 04/01/2558



รูปที่ 2.15 ระบบอัลตราซาวด์แบบไพโร

ที่มา: [http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79\\_file.pdf](http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79_file.pdf) สืบค้นวันที่ 04/01/2558

แอมพลิฟิเคชันที่สร้างขึ้นจากระบบนี้จะขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะของฮอร์น สำหรับฮอร์นที่มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอก (uniform cylinder) นั้นแอมพลิฟิเคชันจะไม่มีการเปลี่ยนแปลง แต่ฮอร์นจะทำหน้าที่ขยาย หรือเพิ่มการส่งถ่ายพลังงานเสียงขนาดความยาวที่ได้จากตัวขยาย (amplifier) สามารถคำนวณได้จากอัตราส่วนของเส้นผ่านศูนย์กลางของผิวหน้าตัดในฮอร์น ระหว่างสองพื้นที่ คือ driven face (D) และ emitting face (d) ตัวอย่างเช่น ในฮอร์นที่มีรูปร่างเป็น exponential หรือ linear tapered (cone) (รูปที่ 2.14 บนขวาหรือล่างซ้าย) จะมีอัตราส่วนเท่ากับ  $D/d$  ในขณะที่ฮอร์นที่มีลักษณะเป็น stepped (รูปที่ 2.14 ล่างขวา) จะมีอัตราส่วนเท่ากับ  $(D/d)^2$  ซึ่งจะเห็นได้ว่าฮอร์นแบบ stepped จะมีความสามารถในการขยายสัญญาณได้สูงกว่าเสมอ แต่เพื่อเป็นการหลีกเลี่ยงความเสียหายจากความเค้นภายในตัววัสดุ (internal stress) อัตราส่วนเท่ากับ  $D/d$  จะต้องมีค่าไม่สูงจนเกินไป ในทางปฏิบัติขนาดของพลังงานสูงสุดที่ได้จากแหล่งกำเนิดพลังงานนั้นขึ้นอยู่กับ

ปัจจัยที่สำคัญสองส่วน ได้แก่ คุณสมบัติของวัสดุที่ใช้ในการผลิตทรานส์ดีวเซอร์และพื้นผิวที่ปลดปล่อยคลื่น (emitting surface) ในส่วนของวัสดุที่นำมาใช้ผลิตทรานส์ดีวเซอร์นั้น นิยมใช้วัสดุที่สามารถยึดและคืนตัวกลับได้ดี เช่น ไทเทเนียม (titanium) หรืออะลูมิเนียมอัลลอย (aluminium alloy) ซึ่งวัสดุทั้งสองชนิดมีความทนต่อการล้าเนื่องจากแรงกลแต่อะลูมิเนียมอัลลอยนั้นไม่เหมาะสมที่จะสัมผัสกับของเหลวที่เกิดปฏิกิริยาแคปรีเตชัน เนื่องจากถูกกัดกร่อนได้ง่าย จึงควรใช้วัสดุพวกไทเทเนียมอัลลอยแทน สำหรับพื้นผิวที่ปลดปล่อยคลื่นนั้น พบว่าพื้นที่ขนาดเล็กจะให้ประสิทธิภาพที่สูงกว่าแต่ที่แอมพลิจูดสูงจะมีข้อจำกัด เนื่องจากฟองอากาศที่ผุดหน้าจากปฏิกิริยาแคปรีเตชันจะรบกวนการส่งถ่ายของพลังงานไปยังของเหลว

1. อุปกรณ์ที่ใส่ระบบแผ่นสั่นคู่ขนาน (equipment involving parallel vibrating plates) ระบบนี้พบว่าเป็นทางเลือกที่ดีในการนำคลื่นอัลตราซาวด์มาใช้กับงานที่มีลักษณะต่อเนื่อง โดยผลิตภัณฑ์จะได้รับคลื่นอัลตราซาวด์อย่างสม่ำเสมอในระหว่างทางที่ไปยังเครื่องอัลตราซาวด์ ซึ่งทำให้เกิดการสั่นที่บริเวณผนังด้านในตัวเครื่อง เมื่อแผ่นดังกล่าวเคลื่อนที่เข้ามาใกล้กันมากขึ้นจะมีผลทำให้การลดทอนพลังงาน (attenuation) ของคลื่นเสียงภายในของเหลวมีค่าต่ำสุดและไม่เกิดคลื่น ข้อดีของระบบแผ่นสั่นคู่ที่ติดตั้งในแต่ละด้านของของเหลว เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้ระบบแผ่นสั่นแผ่นเดียว คือ คลื่นพลังงานที่เกิดขึ้นก่อนที่จะส่งถ่ายไปยังของเหลวจะสะท้อนไปยังแผ่นที่สั่นอีกแผ่นหนึ่งที่อยู่ตรงกันข้ามทำให้ผลที่เกิดจากแรงกลมีค่าสูงสุด

2. ระบบการสั่นตามแนวรัศมี (radial vibrating systems) ในการให้พลังงานคลื่นอัลตราซาวด์กับของเหลวที่ไหลอยู่ภายในท่อนั้นวิธีที่ดีที่สุด คือ การใช้การสั่นของท่อเพื่อทำให้เกิดคลื่นพลังงานขึ้น ซึ่งจะช่วยให้อัตราการไหลมีค่าสูงขึ้นรวมทั้งใช้ได้กับผลิตภัณฑ์ที่มีความข้นหนืดสูงได้ ลักษณะการตัดขวางของท่อดังกล่าวมีความสำคัญ โดยท่อทรงกระบอกที่สั่นจะทำให้เกิดคลื่นอัลตราซาวด์สูงสุดตรงบริเวณกึ่งกลางของท่อเช่นเดียวกับท่อที่มีลักษณะหกเหลี่ยมและการเกิดพลังงานน้อยกว่าตรงบริเวณที่ใกล้พื้นผิวด้านในของท่อมีผลคือ ช่วยลดปัญหาที่เกิดจากการกัดกร่อนตรงบริเวณดังกล่าว การนำทรานส์ดีวเซอร์เชื่อมติดกับท่อโลหะโดยตรง ทำให้สามารถเกิดคลื่นในแนวรัศมี และเกิดบัพ (nodes) และปฏิบัพ (antinodes) เป็นช่วงระยะเท่ากับ  $\lambda/2$  ตามความยาวของท่อ

### เทคนิคการใช้คลื่นอัลตราซาวด์

เทคนิคหรือวิธี การในการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สำหรับการใช้ประโยชน์ต่างๆ สามารถแบ่งเป็นหัวข้อต่างๆได้ดังนี้

- 1) การทำให้เกิดการสั่นโดยตรง เช่น ใช้ในการทำความสะอาดพื้นผิวหรือการผสมต่างๆ
- 2) เทคนิคพัลส์เอคโค (the pulse-echo ultrasound) ซึ่งได้รับการพัฒนาขึ้นในปี ค.ศ. 1940 เพื่อใช้ในการตรวจสอบตำหนิของโลหะ เทคนิคนี้มีหลักการที่ว่า จะสัมผัสกับตัวอย่าง จากนั้นปล่อยคลื่นอัลตราซาวด์เป็นระยะๆ ไปยังตัวอย่าง ถ้าคลื่นอัลตราซาวด์ที่ถูกปล่อยเข้าภายในตัวอย่างไปกระทบกับความหนาแน่น (density) หรือความยืดหยุ่น (elasticity) ที่แตกต่างออกไปจากเดิมจะทำให้มีพลังงานบางส่วนสะท้อนกลับมายังทรานส์ดีวเซอร์ ซึ่งสัญญาณที่ส่งกลับมายังจะถูกเปลี่ยนไปเป็น

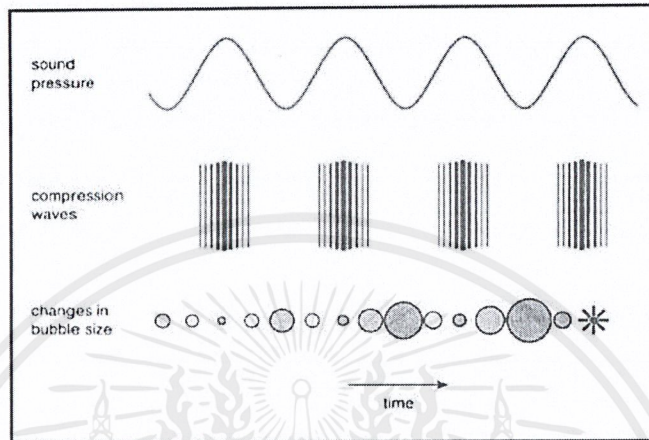
สัญญาณไฟฟ้า จากนั้นจะถูกขยาย (amplified) ปรับแต่ง (conditioned) และแสดงภาพ (displayed) ของโครงสร้างหรือลักษณะภายในดังกล่าวออกมาให้เห็นได้ เทคนิคนี้ใช้ในการควบคุมการไหลของของไหลวัดความหนาของชั้นไขมันในสัตว์ วัดความหนาของวัสดุต่างๆ รวมทั้งใช้ในการวิเคราะห์ทางการแพทย์

3) การใช้ผลที่เกิดจากปรากฏการณ์ดอปเปลอร์ (the Doppler effect) เทคนิคนี้ใช้ในการตรวจสอบการเคลื่อนไหวและทิศทางการเคลื่อนที่ โดยใช้หลักการที่ว่าความถี่ของเสียงสะท้อน (the echoes) จากสิ่งที่เคลื่อนที่ จะค่อยๆ เปลี่ยนแปลงไปตามความถี่ของสัญญาณที่ปล่อยออกมาเป็นจังหวะ เนื่องจากระยะทางไปยังจุดหมายเกิดการเปลี่ยนแปลง เมื่อจุดหมายเคลื่อนที่เข้ามาใกล้หรือเคลื่อนที่ไกลออกจากทรานส์ดิวเซอร์ จะทำให้ความถี่ที่ตรวจวัดได้ใหญ่ขึ้น หรือเล็กลงกว่าความถี่ที่ส่งผ่านออกมา (เช่นเดียวกับการที่หูของเราได้ยินเสียงหวูดของรถไฟ เมื่อรถไฟเคลื่อนที่เข้ามาใกล้หรือเคลื่อนที่ไกลออกไป) ซึ่งเทคนิคนี้ใช้ในการวิเคราะห์ทางการแพทย์ เช่น การตรวจอัตราการไหลของเลือดและการตรวจหัวใจ

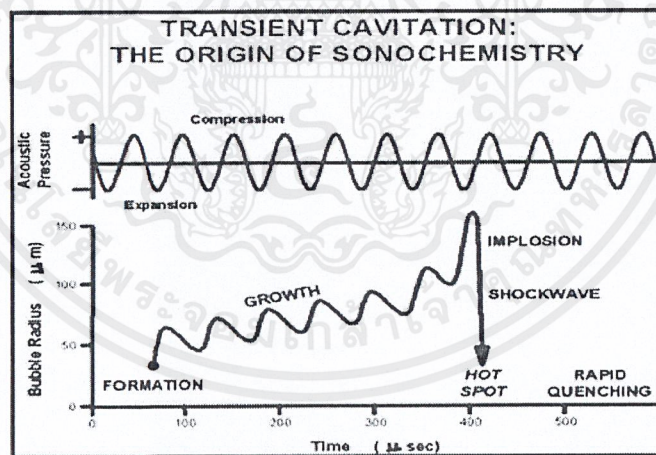
### ปรากฏการณ์แคปิวเทชัน (Cavitation)

ปรากฏการณ์แคปิวเทชัน หมายถึง กระบวนการที่เกิดขึ้นในตัวกลาง หรือสารละลายที่ได้รับคลื่นเสียงอัลตราซาวด์ โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและทางกายภาพ (จากแรงกล) เนื่องมาจากฟองอากาศ (bubbles) ที่เกิดขึ้น ซึ่งการที่ฟองอากาศเกิดขึ้นได้นั้น เนื่องมาจากโครงสร้างของของเหลวที่ได้รับคลื่นอัลตราซาวด์จะถูกบีบอัด (compress) และคลายตัว (stretch) ซ้ำไปมาเป็นจำนวนหลายพันรอบ ทำให้เกิดฟองอากาศขึ้นแสดงดังรูปที่ 2.15 และฟองอากาศที่เกิดขึ้นภายในของเหลวนี้จะสัมผัสกับแรงสั่นที่เกิดจากคลื่นอัลตราซาวด์เป็นระยะและเกิดการแลกเปลี่ยนแก๊สระหว่างกัน (Atchley และ Crum, 1998) เป็นผลให้ฟองอากาศมีขนาดใหญ่ขึ้นไปเรื่อยๆ จนกระทั่งแตกออกในที่สุดแสดงดังรูปที่ 2.16 แคปิวเทชันสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท ได้แก่ แคปิวเทชันแบบถาวร (stable cavitation) และแคปิวเทชันแบบชั่วคราว (transient cavitation) ซึ่งแต่ละแบบจะมีผลทำให้เกิดพฤติกรรม หรือลักษณะของฟองแก๊สที่ได้รับคลื่นอัลตราซาวด์แตกต่างกันออกไป โดยแคปิวเทชันแบบถาวรจะเกิดขึ้นเมื่อฟองอากาศ หรือฟองแก๊สเกิดการสั่นแกว่ง (oscillate) เมื่อได้รับคลื่นอัลตราซาวด์เป็นจำนวนหลายของการสั่น แต่ไม่เกิดการแตกของฟองอากาศหรือฟองแก๊สดังกล่าว ซึ่งฟองอากาศ หรือฟองแก๊สนี้ อาจจะมีขนาดขึ้นจนถึงขนาดเรโซแนนซ์ (resonance size) (เป็นขนาดของฟองแก๊สที่มีความถี่ธรรมชาติเท่ากับกับความถี่ ในการสั่นแบบบังคับ) ส่วนแคปิวเทชันแบบชั่วคราวนั้น เกิดขึ้นในระยะการบีบอัดของฟองแก๊ส (compression phase) ในของเหลวที่มีความเครียด (tension stress) ที่เกิดขึ้นขณะเริ่มเกิดการขยายตัวของฟองแก๊ส ซึ่งมีผลทำให้การแตกของฟองแก๊สเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว หรืออาจเกิดจากฟองแก๊สเกิดการสั่นแกว่งและขยายขนาดเพิ่มขึ้นในลักษณะคงที่ในระยะเวลาหนึ่งก่อนที่จะแตกออกอย่างรวดเร็ว เมื่อฟองแก๊สนั้นขยายขนาดขึ้น เมื่อถึงขนาดที่จำเพาะ

ในสภาวะที่ฟองอากาศแตกนั้น พบว่าทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นถึง 5,000 เคลวิน (K) และความดันสูงถึง 2,000 atm ในบริเวณจุดที่เกิดคลื่นกระแทก (shock waves) ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่างการเกิดการขยายและหดตัวของฟองแก๊สนั้น จะเกิดสมดุคลื่นระหว่างความดันไอน้ำภายในและภายนอกฟองแก๊สและพื้นที่ผิวของฟองแก๊สขณะขยายตัวจะมีมากกว่าพื้นที่ผิวของฟองแก๊สขณะหดตัว จึงเป็นผลให้การซึมผ่านของแก๊สในขณะที่ขยายตัวเกิดขึ้นได้มากกว่าและฟองแก๊สนี้จะขยายตัวเพิ่มขึ้น



รูปที่ 2.16 การเกิดฟองอากาศในตัวกลาง เนื่องจากคลื่นอัลตราซาวด์  
ที่มา: [http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79\\_file.pdf](http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79_file.pdf) สืบค้นวันที่ 04/01/2558



รูปที่ 2.17 การเกิดฟองอากาศในตัวกลางเนื่องจากคลื่นอัลตราซาวด์  
ที่มา: [http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79\\_file.pdf](http://conf.agi.nu.ac.th/agmis/download/publication/79_file.pdf) สืบค้นวันที่ 04/01/2558

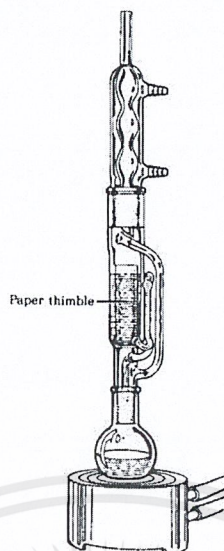
เมื่อจำนวนรอบความถี่เพิ่มขึ้น โดยอัตราส่วนของอัตราการซึมผ่านของแก๊สในขณะที่ขยายตัวต่ออัตราการซึมผ่านของแก๊สในขณะที่หดตัวจะเพิ่มมากขึ้นในแต่ละรอบ จนกระทั่งฟองแก๊สมีขนาดเรโซแนนซ์ ซึ่งทำให้ช่องว่างภายในฟองแก๊สมีขนาดโตขึ้นอย่างรวดเร็วภายในหนึ่งรอบของการสั่นและ

เนื่องจากพลังงานที่ได้รับจากคลื่นอัลตราซาวด์ไม่เพียงพอในการคงสถานะของแก๊ส หรือไอน้ำจึงทำให้เกิดการควบแน่น (condensation) ขึ้นทันทีทันใด โดยโมเลกุลที่ควบแน่นนั้นจะชนซึ่งกันและกันอย่างรุนแรง ทำให้เกิดคลื่นกระแทกขึ้นและเกิดจุดหรือบริเวณเล็กๆ ที่มีอุณหภูมิและความดันที่สูงมาก (Suslick, 1988) และเป็นที่เชื่อกันว่าปรากฏการณ์นี้เป็นปรากฏการณ์ที่สำคัญ เกิดในระหว่างที่ของเหลวได้รับคลื่นอัลตราซาวด์ ซึ่งทันทีที่เกิดฟองแก๊ส หรือฟองอากาศแตกจะเกิดการปลดปล่อยพลังงานที่ใช้ในการเร่งปฏิกิริยาเคมี หรือสร้างวิถีของปฏิกิริยา (reaction pathway) หรือทำให้เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่ที่แตกต่างกันจากปฏิกิริยาเดิมจากสถานะปกติ ในการพุดคุยทั่วไป พบว่ากำลังของเสียง (sound power levels) มีค่าประมาณ  $10^{-7} \text{ Wm}^{-2}$  และเครื่องขุดเจาะถนน (pneumatic drill) ที่มีความดังของเสียง 110 dB จะทำให้ค่ากำลังของเสียงที่ประมาณ  $10^{-1} \text{ Wm}^{-2}$  แต่ในส่วนของคลื่นอัลตราซาวด์กำลังสูง (high power ultrasound) พบว่าค่าระดับกำลังของเสียงอยู่ในช่วง  $10^3 - 10^6 \text{ Wm}^{-2}$  (ที่  $10^6 \text{ Wm}^{-2}$  พบว่าอัลตราซาวด์จะสามารถเจาะทะลุแผ่นอะลูมิเนียมพอลียได้ภายใน 30 วินาที) และความดันที่เกิดขึ้นจะสูงถึง  $10^4 \text{ atm}$  และมีอุณหภูมิสูงประมาณ 1,000 ถึง 1,500 K (Williams, 1994)

## 2.12 Soxhlet extractor (การสกัดด้วยตัวทำละลาย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย)

Soxhlet extractor เป็นการสกัดของแข็ง (Extraction of Solids) ถ้าตัวถูกละลายที่ต้องการสกัดอยู่ในสารตัวอย่างที่เป็นของแข็งสามารถทำการสกัดด้วยตัวละลายของเหลว เรียกว่าวิธีการสกัดนี้ว่า Solid-liquid extraction การสกัดจะทำได้ดีหรือไม่ ขึ้นอยู่กับการละลายของตัวถูกละลายในตัวสกัดหรือตัวทำละลายของเหลวและเวลาที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้จะสั้นหรือนานขึ้นอยู่กับลักษณะของตัวถูกละลายที่อยู่ในสารตัวอย่างของแข็ง ถ้าตัวถูกละลายเพียงดูดซับที่ผิวของของแข็ง การสกัดจะใช้เวลาสั้น แต่ถ้าวถูกละลายอยู่ในภายในของแข็ง จะต้องใช้เวลามากกว่าและถ้าการกระจายของตัวทำละลายสูง ภายในของแข็งเกิดขึ้นได้ช้ามาก จำเป็นต้องบดของแข็งให้ละเอียดก่อนทำการสกัด การสกัดของแข็ง หรือการทำ Solid-liquid extraction สามารถนำมาประยุกต์ใช้กับการสกัดสารทางชีววิทยา สารอินทรีย์ ตลอดจนเกลือของสารอินทรีย์ได้ ตัวอย่างเช่น การสกัดแยกแคลเซียมออกจากสทรอนิเยียม ถ้าแคลเซียมอยู่ในรูปของเกลือไนเตรตจะสกัดแยกออกจากสารตัวอย่างได้ โดยใช้แอลกอฮอล์ที่บริสุทธิ์ผสมกับเอทิลเอเทอร์ หรือถ้าต้องการแยกโซเดียมออกจากโพแทสเซียม ทำได้โดยสกัดเกลือโซเดียมเปอร์คลอเรตออกจากสารตัวอย่างด้วยเอทิลอะซิเตต เป็นต้น

ตัวถูกละลายเป็นสารประกอบอินทรีย์ หรือสารทางชีววิทยา ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีการละลายในตัวสกัดต่ำ หรือการสกัดจะสมบูรณ์ได้ ต้องใช้เวลานานๆ จำเป็นต้องใช้ เทคนิคของการสกัดอย่างต่อเนื่อง เครื่องมือที่ใช้สำหรับทำการสกัดอย่างต่อเนื่องมีอยู่ 2 แบบ คือ continuous infusion extractor และ discontinuous-infusion extractor ซึ่งมีชื่อเรียกที่รู้จักกันดีคือ เครื่องสกัดของชอกเลต (Soxhlet extractor) ดังแสดงในรูปที่ 2.18 ที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้



รูปที่ 2.18 Soxhlet extractor

ที่มา: [http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course\\_info/2302275/chapter8.pdf](http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302275/chapter8.pdf). สืบค้น

วันที่ 04/01/2558

### 2.13 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

อนรรฆอร ศรีไสยเพชรและมานิชย์ ถนอมวัฒน์ (2555) ได้ศึกษาการสกัดสารจากของแข็งโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ (ตัวย่อว่า K) ของ สารระหว่างเฟสของแข็งและเฟสตัวทำละลายในสถานะสมดุล จากการศึกษาพบว่า การสกัดน้ำมันจากรำละเอียด ข้าวโพดบด กากถั่ว เหลือง ปลาป่น อาหารสุกรระยะรุ่นและระยะเลี้ยงลูก มีประสิทธิภาพสูงสุดเมื่อใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลาย ซึ่งสูงกว่า เฮกเซน โดยปริมาณน้ำมันรวม (ร้อยละโดยน้ำหนักแห้ง) ที่สกัดและคำนวณได้ด้วยค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ เมื่อใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายของรำละเอียด ข้าวโพดบด กากถั่ว เหลืองปลาป่น อาหารสุกรระยะรุ่นและระยะเลี้ยงลูก มีค่าร้อยละ 16.984 (K=3.32) ร้อยละ 11.091 (K=2.12) ร้อยละ 7.718 (K=1.11) ร้อยละ 5.813 (K=2.80) ร้อยละ 7.290 (K=1.28) และ ร้อยละ 14.816 (K=1.79) ตามลำดับ กรดไขมันอิสระของน้ำมันที่สกัดได้ วิเคราะห์ด้วยเทคนิคแก๊สโครมาโตกราฟี พบกรดไขมันอิ่มตัว คือ (Lauric acid Myristic acid Palmitic acid Stearic acid Arachidic acid และ Behenic acid) และกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่พบ คือ (Vaccenic acid และ Linoleic acid) จากนั้นศึกษาคุณภาพของน้ำมันโดยอาศัยข้อมูล ค่ากรด ค่าไอโอดีน ค่าสaponนิฟิเคชันและค่าเปอร์ออกไซด์ จากข้อมูลดังกล่าวพบว่า ค่ากรด ค่าไอโอดีน ค่าสaponนิฟิเคชันและค่าเปอร์ออกไซด์ของน้ำมันที่สกัดได้จากรำละเอียด คือ 45.22 74.05 175.42 และ 9.80 ตามลำดับ น้ำมันจากข้าวโพดบดค่าที่ได้ คือ 29.31 85.72 172.53 และ 9.30 น้ำมันจากกากถั่วเหลือง ค่าที่ได้ คือ 6.73 70.57 192.56 และ 7.79 น้ำมันจากปลาป่น ค่าที่ได้ คือ 5.23 73.98 161.46 และ 8.72 น้ำมันจากอาหารสุกรระยะรุ่น ค่าที่ได้ คือ 35.67 75.81 172.52 และ 8.52 และน้ำมันจากอาหารสุกรระยะ

เลี้ยงลูก ค่าที่ได้ คือ 38.33 80.63 167.69 และ 7.45 จากผลการทดลองพบว่าค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับเป็นเทคนิคใหม่อีกเทคนิคหนึ่งในการสกัดน้ำมันที่มีประสิทธิภาพสูง

ปรีตาวรรณ ขอช่วยกลางและวรรณุช ศรีใจษฎารักษ์ (2556) ได้ศึกษาการเปรียบเทียบวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายต่อการสกัดวิตามินอีและแกมมาออริซานอลจากรำข้าวพันธุ์ กข 6 ศึกษาชนิดของตัวทำละลายชนิด ไอโซโพรพานอล เอทานอล เปรียบเทียบกับ การใช้เฮกเซนที่สภาวะการสกัดเดียวกันพบว่า รำข้าวที่ผ่านการคงสภาพด้วยวิธีการนี้และสกัดด้วยไอโซโพรพานอล จะให้ปริมาณน้ำมัน วิตามินอีและแกมมาออริซานอลได้สูงที่สุด จากการศึกษาผลของอัตราส่วนรำข้าวต่อไอโซโพรพานอล (1:30, 1:45 และ 1:60 กรัม/มิลลิลิตร) อุณหภูมิ (50 60 และ 70 °C) และเวลา (1 10 และ 20 ชั่วโมง) ในการสกัดต่อคุณภาพน้ำมัน พบว่าทั้ง 3 ปัจจัยมีผลต่อค่าปริมาณน้ำมัน วิตามินอีและแกมมาออริซานอล โดยพบว่า สภาวะที่มีสารดังกล่าวมากที่สุดคือ สภาวะการสกัดที่ใช้รำข้าวต่อไอโซโพรพานอล 1:30 กรัม/มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 70 °C และเวลา 20 ชั่วโมง

อาจารย์ธิดารัตน์ หน่อสุวรรณ (2550) ได้ทำการศึกษาการสกัดวิตามินอีจากดิสทิลเลตของน้ำมันรำข้าว ด้วยสัดส่วนของดิสทิลเลตต่ออะซิโตนไตรลเท่ากับ 1:4 (W/V) โดยวิธี winterization ที่อุณหภูมิ 0 และ -20 °C ตามลำดับ ทำบริสุทธิ์สารสกัดที่ได้ด้วยการทำสะปอนนิฟิเคชันแบบเย็น (cold saponification) วิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอีด้วยเทคนิค Reversed-phase HPLC พบว่าความเข้มข้นของวิตามินอี เท่ากับ 6,788.186+55.039 mg/kg สารสกัดวิตามินอีที่สกัดได้จากดิสทิลเลตของน้ำมันรำข้าวเข้มข้น 0.1 mg/kg มีค่า DPPH scavenging effect สูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 98.178±0.004 และมากกว่าแอลฟา-โทโคฟีรอลสังเคราะห์ BHT TBHQ และ BHA ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ ) และสามารถยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดลิโนเลอิกได้มากกว่าร้อยละ 90 ภายในเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อทดสอบโดยวิธี reducing power และวิธี ferric thiocyanate นอกจากนี้ยังมีสมบัติต้านการเกิดออกซิเดชันและความสามารถในการจับอนุมูลอิสระซูเปอร์ออกไซด์มากกว่าแอลฟาโทโคฟีรอลสังเคราะห์ BHT TBHQ และ BHA ตามลำดับ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p<0.05$ )

Reza Tabaraki และ Ashraf Nateghi (2554) ได้ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติจากรำข้าวโดยใช้วิธีการตอบสนองของพื้นผิว เทคโนโลยีอัลตราซาวด์ที่ถูกนำมาใช้ในการสกัดโพลีฟีนและสารต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวโดยใช้เอทานอลเกรดอาหารเป็นตัวทำละลาย วิธีการตอบสนองของพื้นผิวถูกนำมาใช้เพื่อเพิ่มการศึกษาสภาพการทดลองสำหรับการสกัดโพลีฟีนและสารต้านอนุมูลอิสระ สามตัวแปรอิสระ เช่น ร้อยละตัวทำละลาย (%) อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส) และเวลา (นาที) ในการศึกษา ผลของความเข้มข้นของเอทานอลจะพบว่ามีผลต่อการตอบสนองทั้งหมด สารฟีนอลทั้งหมดจะแตกต่างกันที่ 2.37-6.35 มิลลิกรัมกรดแกลลิกเทียบเท่า/กรัมตัวอย่างแห้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจะถูกพิจารณาจากวิธี ferric reducing

antioxidant power (FRAP) assay และวิธีการต้านอนุมูลอิสระของ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) วิธี FRAP และ DPPH มีการประเมินค่าที่แตกต่างกันที่ 31.74-57.23  $\mu\text{mol Fe}^{2+}$  / กรัมตัวอย่างแห้งและร้อยละ 16.88-55.61 ของการยับยั้งตามลำดับ อัตราผลตอบแทนจากการสกัดอยู่ระหว่างร้อยละ 11-20.2 การสกัดที่ดีที่สุดของอัลตราซาวด์ จะใช้เป็นเอ-ทานอลร้อยละ 65-67 อุณหภูมิ 51-54 องศาเซลเซียส และ 40-45 นาที ค่าการทดลองเป็นไปตามผู้ที่คาดการณ์ไว้โดยรุ่น SRM จะแสดงให้เห็นความเหมาะสมของรูปแบบและความสำเร็จของวิธี Response surface methodology (RSM) ในการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด

ผดุงขวัญ จิตโรภาส และคณะ (2547) ได้ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการต้านออกซิเดชันและแกมมาออริซานอลในเมล็ดรำข้าวหอมดอกมะลิ 105 (RBT) ที่พัฒนาขึ้น การพัฒนาเมล็ดรำข้าวหอมมะลิ 105 เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการต้านออกซิเดชันและแกมมาออริซานอลในสภาวะที่เก็บรักษา RBT มีส่วนประกอบ คือ รำข้าวและ microcrystalline cellulose อย่างละร้อยละ 42.9 และ Polyvimyl pyrrolidone ร้อยละ 12.9 เตรียมโดยวิธีแกรนูลเปียกได้ RBT ที่มีน้ำหนักเฉลี่ย 468.2 มิลลิกรัม มีการแตกตัวในเวลา 13.6 นาทีและมีความกร่อนร้อยละ 0.13 เมื่อนำไปสกัดและทดสอบการต้านออกซิเดชันด้วย 2,2-diphenyl-1-picryl hydrazyl (DPPH) ได้ค่า  $IC_{50}$  เทียบเป็นรำข้าว 18.66 มิลลิกรัม ซึ่งเทียบเท่าวิตามินซี 0.01 มิลลิกรัม หรือวิตามินอี 0.03 มิลลิกรัม การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย HPLC ทำให้แยกสารหลักสำคัญในกลุ่มแกมมาออริซานอลคือ cycloartamyl ferulate และ 24-metylenecycloartamyl ferulate ซึ่งมีค่าตั้งต้น 1.03 และ 2.14 มิลลิกรัมต่อกรัมของ RBT เมื่อเก็บ RBT ไว้ 2 และ 4 เดือน ในของสุญญากาศที่อุณหภูมิ -20, 4, 25 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเวลา 4 เดือนโดยทั่วไปลักษณะทางกายภาพของ RBT ไม่เปลี่ยนแปลง แต่จะมีความแข็งมากขึ้นและการแตกตัวช้าลงการต้านออกซิเดชันเริ่มลดลงและปริมาณสารทั้งสองตัวที่ทำการวิเคราะห์ลดลงข้อมูลนี้ช่วยในการพัฒนาสูตรตำรับของเมล็ดรำข้าวต่อไป

M.-H. Chen และ C.J. Bergman (2005) ได้ศึกษาขั้นตอนอย่างรวดเร็วสำหรับการวิเคราะห์โทโคฟีรอล โทโคไตรอีนอลและแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าว โคฟีรอล โทโคไตรอีนอลและแกมมาออริซานอล มีสารอาหารจากพืชที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ วิธีการที่รวดเร็วที่สามารถสกัดสารและปริมาณสารของในรำข้าวเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการปรับปรุงพันธุ์ตัวอย่างน้ำมันที่สกัดจะถูกวิเคราะห์โดยใช้คอลัมน์ reversed-phase (RP) ด้วยเครื่อง HPLC การสกัดจะใช้เวลา 1 นาทีที่อัตราส่วนรำข้าวต่อเมทานอล 1:60 (w / v) ตัวทำละลายไอโซโพรพานอลและเมทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดดีกว่าเมื่อเทียบกับเฮกเซน การปรับเปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่ที่มีร้อยละ 10 ของเฟสน้ำใน 3 นาทีแรก จะช่วยขจัดสารรบกวนของสารละลายเมทานอล วิธีการสกัดนี้มีข้อดีกว่าวิธีการที่มีอยู่ในปัจจุบันดังนี้ คือ มีความรวดเร็วในการสกัด ไม่ต้องการเครื่องมือในการสกัดเป็นพิเศษและตัวทำละลายการสกัดคือเมทานอล ซึ่งสามารถทำงานร่วมกับ RP-HPLC ได้

I.G. Zigoneanu , L. Williams , Z. Xu และ C.M. Sabliov (2008) ได้ศึกษาการวิเคราะห์หาส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระในการสกัดน้ำมันรำข้าวโดยวิธีไมโครเวฟ การสกัดน้ำมันรำข้าวโดยการสกัดด้วยวิธีไมโครเวฟกับตัวทำละลาย ไอโซโพรพานอลและเฮกเซน จะใช้อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 3:1 (w/w) ในการทดลองทำสามซ้ำที่ 40 60 80 100 และ 120 องศาเซลเซียส ใช้เวลาสกัดทั้งหมด 15 นาที/ตัวอย่าง ส่วนประกอบน้ำมันถูกแยกจากกันโดยเฟส HPLC และวัดปริมาณด้วยเครื่องตรวจจับการเรืองแสง ทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลของน้ำมันด้วยวิธี DPPH ซึ่งแสดงเป็นหน่วย ไมโครโมลต่อ 100 กรัม ร้อยละ 59.63 มีการเพิ่มขึ้นของวิตามินอีเมื่อสกัดด้วยไอโซโพรพานอลที่อุณหภูมิ 40-120 องศาเซลเซียส และ ร้อยละ 342.01 ที่สกัดด้วยเฮกเซน ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดสำหรับการสกัดโทโคฟีรอล-โทโคไตรอีนอล เมื่อเทียบกับเฮกเซนทั้งการสกัดด้วยวิธีไมโครเวฟและการสกัดแบบธรรมดา ไอโซโพรพานอลจะมีผลการสกัดน้ำมันรำข้าวที่ดีที่สุดที่อุณหภูมิสูง ตัวอย่างสกัดด้วย ไอโซโพรพานอลที่ 120 องศาเซลเซียสมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ไม่มีความแตกต่างในอัตราผลผลิตน้ำมันทั้งวิตามินอีรวมและสารต้านอนุมูล-อิสระของน้ำมันที่ 40 องศาเซลเซียส ไม่มีการย่อยสลายของโทโคฟีรอลในระหว่างกระบวนการ

Apirak Sakunpak และคณะ (2014) ได้ศึกษาการวิเคราะห์เชิงปริมาณของแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสกัดเย็น โดยวิธีการวิเคราะห์ TLC-image มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาและตรวจสอบวิธีการวิเคราะห์ภาพสำหรับการวิเคราะห์เชิงปริมาณของแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสกัดเย็น โดย TLC-densitometric และ TLC-image เป็นวิธีการวิเคราะห์ ในการเปรียบเทียบน้ำมันรำข้าวสกัดเย็น ผลที่ได้รับทั้งสองวิธีการมีปริมาณที่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบโดยการจับคู่ t-test ซึ่งการตรวจทั้งสองวิธีจัดให้เป็นเชิงเส้นที่ดีมีความถูกต้องในการทำซ้ำและนำมาเลือกสำหรับการหาปริมาณแกมมาออริซานอล สรุป:วิธีการวิเคราะห์ TLC-densitometric และ TLC-image ให้ความแม่นยำในการทำซ้ำที่คล้ายกันและการเลือกสำหรับการกำหนดปริมาณของแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสกัดเย็น การเปรียบเทียบทางสถิติของการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาออริซานอลในตัวอย่างไม่ได้แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่าง TLC-densitometric และ TLC ภาพวิธีการวิเคราะห์ จากที่วิธีการทั้งสองวิธีมีค่าเท่าเทียมกันดังนั้นจึงสามารถนำมาใช้ในการตรวจวัดแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสกัดแบบเปียกเย็น

## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัสดุดิบและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

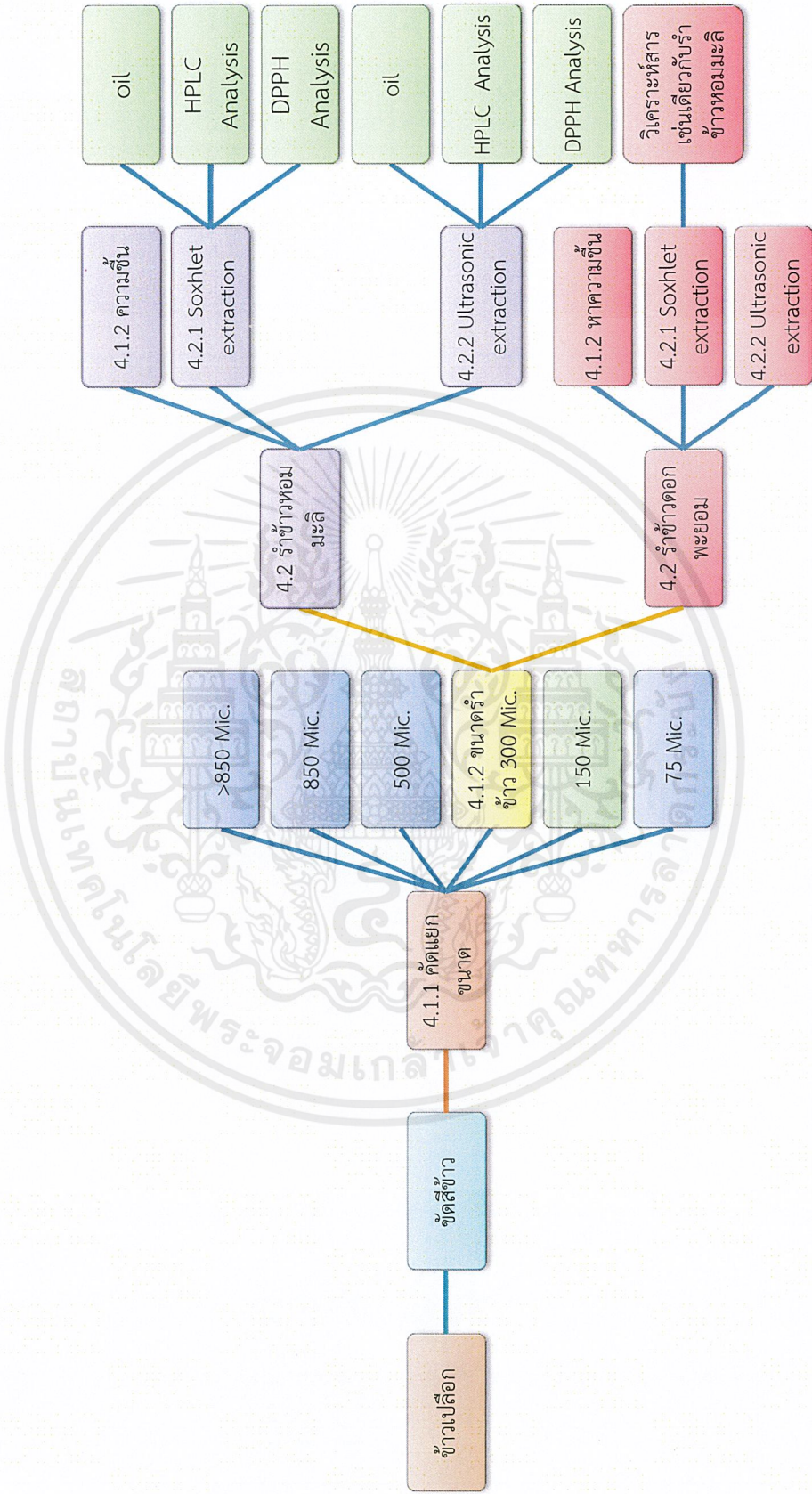
1. รำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมมะลิ (Khao Dawk KhaoHom Mali; KDML105) และข้าวดอกพะยอม (Dawk Pa-yawm; DY) ซึ่งระยะเวลาเก็บรักษารำข้าวตั้งแต่ 1 กรกฎาคม 2557 ถึง 30 เมษายน 2558 ตลอดระยะเวลาการทดลองเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส
2. Methanol AR Grade ยี่ห้อ Ajax บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd, Australian และ HPLC Grade ยี่ห้อ Burdick & Jackson บริษัท SK Chemicals (Seoul, South Korea)
3. Ethyl Acetate HPLC Grade ยี่ห้อ Burdick & Jackson บริษัท SK Chemicals (Seoul, South Korea)
4. Propanol HPLC Grade ยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific บริษัท Fisher Scientific UK.
5. Acetonitile AR Grade ยี่ห้อ RCI Labscan บริษัท RCI Labscan Limited, Thailand
6. Acetone ยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific บริษัท Fisher Scientific UK
7. Ethanol ยี่ห้อ กรมสรรพสามิต บริษัท องค์การสุรา กรมสรรพสามิต ฉะเชิงเทรา, ประเทศไทย
8. Hexane ยี่ห้อ Burdick & Jackson บริษัท SK Chemicals (Seoul, South Korea) และ ยี่ห้อ Ajax บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd, Australian
9. DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ยี่ห้อ Aldrich บริษัท Sigma-Aldrich Pte Ltd, Singapore
10. BHT (Butylhydroxytoluene) ยี่ห้อ Fluka บริษัท Sigma-Aldrich Pte Ltd, Singapore
11. Vitamin C (L-Ascorbic Acid) ยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific บริษัท Fisher Scientific UK
12. Sodium Hydroxide ยี่ห้อ Ajax บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd, Australian
13. Boric Acid ยี่ห้อ Ajax บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd, Australian
14. Hydrochloric Acid ยี่ห้อ Ajax บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd, Australian
15. Sulphuric Acid ยี่ห้อ Ajax บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd, Australian และยี่ห้อ Thermo Fisher Scientific บริษัท Fisher Scientific UK
16. Potassium Hydroxide ยี่ห้อ Ajax บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd, Australian

#### 3.2 อุปกรณ์

1. เครื่องสีข้าว Min Sen Machinery รุ่น MS 300 RM ประเทศไทย
2. เครื่องสกัดสาร Soxhlet จะมีเตาให้ความร้อนแบบหลุมยี่ห้อ M TOPs รุ่น MS-E103 บริษัท misung scientific co. ltd, Korea Utara
3. เครื่อง Ultrasonic ยี่ห้อ BEC THAI รุ่น DT 103 H บริษัท Becthai Bangkok Equipment & Chemical Co., Ltd.

4. ตะแกรงร่อน ยี่ห้อ ENDECOTTS รุ่น ASTM E11 บริษัท Endecotts Limited.London, England.
5. Syringe
6. Nylon Syringe Filters ขนาด 13 มิลลิเมตร รูพรุน 0.45 และ ขนาด 0.22 ไมโครเมตร รุ่น NO1345
7. เครื่อง Rotary Evaporator ยี่ห้อ Heidolph รุ่น Heizbad Hei-VAP บริษัท Heidolph Instruments GmbH & Co. KG
8. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) สำหรับอบแห้งอุปกรณ์ ยี่ห้อ Contherm รุ่น Thermotech 2000 oven บริษัท CONTHERM SCIENTIFIC LTD, New Zealand และยี่ห้อ BINDER รุ่น ED 53 บริษัท BINDER GmbH, Germany
9. ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven) สำหรับอบแห้งวัสดุเปียก ยี่ห้อ WTC binder รุ่น FD Series บริษัท BINDER GmbH, Germany
10. โถดูดความชื้น
11. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ SHIMADZU ประเภท LIBROR EB-4000H รุ่น 00117 บริษัท Shimadzu Corporation, Japan และยี่ห้อ OHAUS รุ่น AV-3100 Item No.ARC120 บริษัท Ohaus Corporation, U.S.A
12. หัวสำหรับ Evaporator
13. จุกขวดนม
14. เครื่อง HPLC HPLC Shimadzu รุ่น LC-20A กับ Software รุ่น LCsolution
15. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ OHAUS รุ่น AV-3100 Item No.ARC120 บริษัท Ohaus Corporation, U.S.A
16. ชุดกรอง HPLC
17. กระดาษกรอง PTFE Membrane Filters ขนาด 47 มิลลิเมตร รูพรุน 0.20  $\mu\text{m}$  รุ่น P14722
18. ออโตปิเปตต์
19. คอลัมน์ HPLC สำหรับวิเคราะห์สาร แกมมาออริซานอล (C 18)
20. เข็มฉีดยาตัวอย่าง Hamilton 80665 รุ่น 403472
21. เครื่อง microplate reader รุ่น N12648 Thermo Labsystems IEMS MF Type 1401
22. ขวดปรับปริมาตร
23. แท่งแก้วคนสาร
24. กระดาษกรอง เบอร์ 1 ยี่ห้อ what man, UK
25. ปีกเกอร์
26. ไมโครเพลท 96 หลุม
27. ภาชนะอลูมิเนียมสำหรับหาความชื้น (Moisture can)

แผนการทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมรำข้าวไร้สายพันธุ์กู่เมืองหลวงเก็บเกี่ยวจากจังหวัดสุราษฎร์ธานี  
การสีข้าวไร้ จะใช้ตัวแทนเป็นข้าวไร้สายพันธุ์กู่เมืองหลวงเก็บเกี่ยวจากจังหวัดสุราษฎร์ธานีและใช้เครื่องสีข้าวรุ่น MS 300 RM เพื่อให้ได้รำข้าว ข้าวขาว แกลบ



รูปที่ 3.1 เครื่องสีข้าวกล้องและข้าวขาว รุ่น MS 300 RM

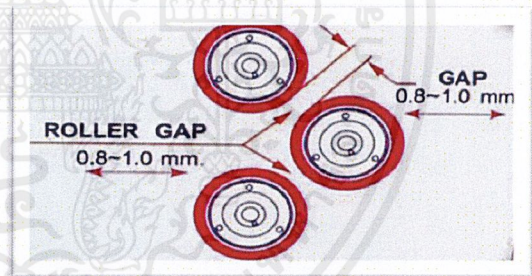
ที่มา: จากสาขาวิชาพัฒนาการเกษตรและการจัดการทรัพยากร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สจล. รหัส  
ครุภัณฑ์ 53กข-3870-01-31-001(1) (a) ด้านหน้า (b) ด้านข้างขวาทางออกของรำข้าว (c)  
ด้านหลัง (d) ด้านข้างซ้าย

ตารางที่ 3.1 ข้อมูลเครื่องสีข้าวกล้อง และข้าวขาว สิงห์สยาม SINGHA SIAM รุ่น MS 300 RM

รุ่น	MS 300 RM
ลักษณะการใช้งาน	สีข้าวกล้อง และข้าวขาว
ขนาดมอเตอร์ (แรงม้า)	3 แรงม้า
รอบการทำงานของมอเตอร์ / นาที	1,440 รอบ/นาที
กำลังไฟฟ้าที่ใช้ (โวลต์)	220 โวลต์
ระบบส่งกำลัง	สายพาน
ลูกกลิ้งกระเทาะเปลือก	ลูกยาง
ขนาดลูกกลิ้ง Diameter (มม.)	152.40 x 76.20 มม.
ขนาดตัวเครื่อง (ก x ย x ส) ซม.	90 x 57 x 142 ซม.
น้ำหนักเครื่องมาตรฐาน	165 กิโลกรัม
ประสิทธิภาพการทำงาน	150 - 160 กิโลกรัม / ชั่วโมง

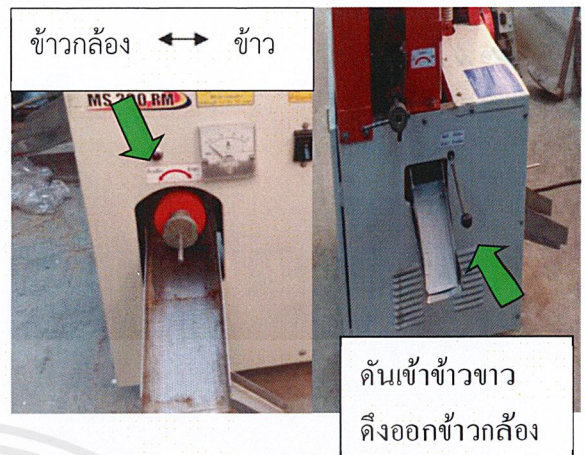
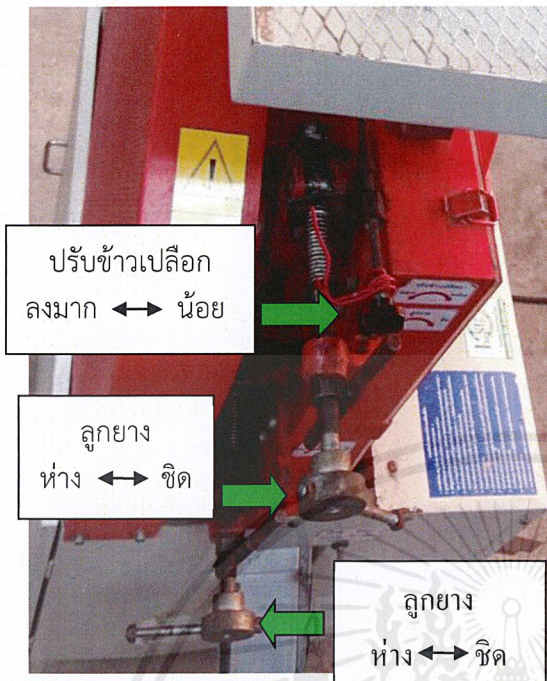
ที่มา: [http://www.minsen.co.th/rice\\_milling\\_machine.php](http://www.minsen.co.th/rice_milling_machine.php) สืบค้นวันที่ 09/08/2557

#### จุดเด่นของเครื่องสีข้าว

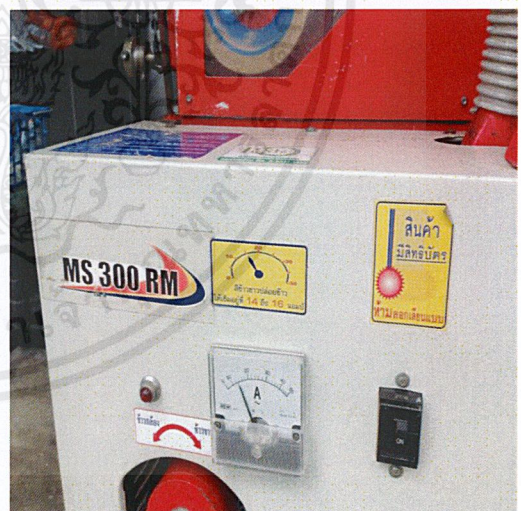


1. ลูกยางกระเทาะเปลือก ใช้ลูกยางกระเทาะเปลือกทำให้ข้าวออกมาไม่มีเศษหินปะปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



2. สี่ได้ทั้งข้าวกล้อง และข้าวขาว เมื่อคันเข้าข้าวขาวจะออกมา เมื่อดึงออกข้าวกล้องจะออกมา และสามารถเลือกปรับความขาวได้ตามต้องการ



3. ตะแกรงแยกข้าว สามารถแยกข้าวสาร และปลายข้าว (germ+เศษเมล็ดข้าวที่แตกหัก) ได้

4. มิเตอร์วัดกระแสไฟฟ้า มิเตอร์ วัดกระแสไฟฟ้า พร้อมสวิตช์ ปิด-เปิด ใช้งานง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### การปรับตั้งก่อนการใช้งานเครื่องสีข้าว

1. ตรวจสอบเช็คน็อต สกรู ให้แน่น พร้อมอัตรจารบีตามจุดต่างๆ
2. ผูกถุงผ้าใส่แกลบ และรำข้าว เข้ากับช่องปล่อยแกลบและรำข้าว ดังรูปที่ 3.2
3. ปรับลูกยางให้มีความห่างประมาณ 1 มิลลิเมตร

โดยปรับได้จากแกนกลางของตัวเครื่อง (หมายเลข 1 และหมายเลข 2) ถ้าหมุนไปด้านขวาจะทำให้ลูกยางชิดกัน ถ้าหมุนไปด้านซ้ายจะทำให้ลูกยางห่างกัน

4. ปรับลิ้นสำหรับปล่อยข้าวเปลือกให้ห่างแกนประมาณ 5-6 มิลลิเมตร โดยปรับที่แกนด้านบนตรงช่องใส่ข้าวเปลือกโดยหมุนไปด้านขวาจะทำให้ลิ้นเปิดกว้างขึ้น

5. ใส่ข้าวเปลือกลงในช่องใส่ข้าวเปลือก (อย่าลืมดึงตัวกันข้าวไม่ให้ข้าวเปลือกไหลลงเครื่อง) ดังรูปที่ 3.3



รูปที่ 3.2 ช่องใส่รำข้าวกับแกลบ



รูปที่ 3.3 ช่องใส่ข้าวเปลือก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ปรับตัวสีข้าวขาวด้านหน้าของตัวเครื่อง ซึ่งถ้าหมุนไปด้านขวาจะทำให้สามารถสีข้าวได้ขาวขึ้น และถ้าหมุนไปด้านซ้ายจะทำให้ข้าวขาวน้อยลง
9. เมื่อเสร็จสิ้นการทำงานให้ดันลินไม่ให้ข้าวเปลือกไหลลงมาในตัวเครื่องสีข้าว แล้วรองจนข้าวเปลือกที่อยู่ในเครื่องหมด จึงค่อยปิดสวิตซ์ไฟ
10. ดึงแกนตรงกลางตัวปรับข้าวขาว เพื่อให้ข้าวที่อยู่ในช่องสีข้าวไหลลงมา ป้องกันไม่ให้มอเตอร์ทำงานหนักเกินไปเมื่อใช้งานครั้งต่อไป
11. นำถุงใส่แกลบ และรำข้าวไปเทออก และทำความสะอาดผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการสีข้าว



แกลบ

รำข้าว

ข้าวขาว

รูปที่ 3.4 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการขัดสี

3.3.2 แยกขนาดรำข้าวโดยใช้ตะแกรงร่อน (sieves) โดยมีขนาด >850, 850, 500, 300, 150 และ 75 ไมโครเมตร (Mic.) โดยใส่รำข้าวหนัก 100 g ลงบนตะแกรงร่อน เขย่าทุกทิศทาง ครึ่งละ 5 นาที นำขนาด 300 Mic ซึ่งน้ำหนักแล้วทำการทดลองต่อไป



รูปที่ 3.5 ตะแกรงร่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.3 การวัดความชื้นในรำข้าวกล้อง (AOAC)

ชั่วโมง

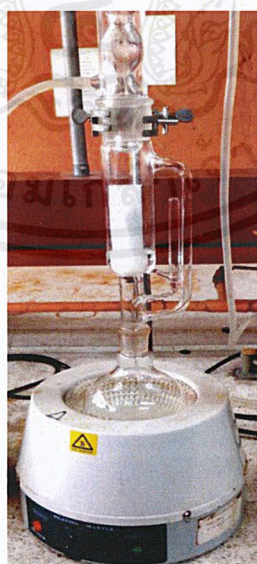
1. นำ moisture can ล้างทำความสะอาด อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง
2. นำ moisture can วางใน desiccators 30 นาที
3. ชั่งน้ำหนัก moisture can
4. ใส่รำข้าว 5 กรัมใน moisture can
5. อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง
6. นำ moisture can + รำข้าว วางใน desiccators 30 นาที
7. ชั่งน้ำหนัก moisture can + รำข้าว
8. คำนวณร้อยละของความชื้น

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

### 3.3.4 การสกัดสารแกมมาออริซานอล

#### 3.3.4.1 การสกัดรำข้าวด้วยวิธี Soxhlet extraction (ตามรูปที่ 3.6)

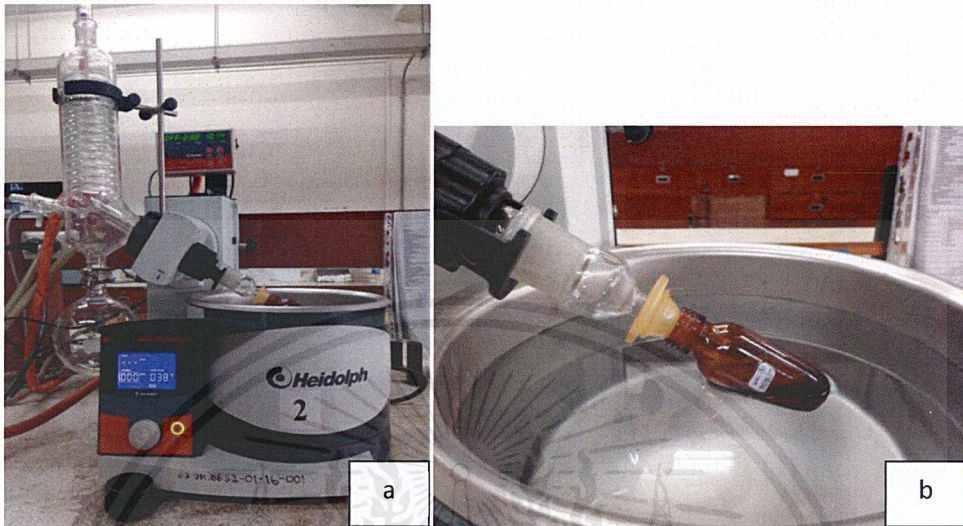
1. ชั่งรำข้าวขนาด 300 Micหนัก 5 g ใส่ใน thimble แล้วนำ thimble ใส่ chamber โดยทำการทดลองทั้งหมดสามซ้ำ
2. ตวงตัวทำละลาย 150 ml ใส่ใน chamber
3. ให้ความร้อนมีถึงระดับ 5 และระดับ High เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ซึ่งระดับความร้อนที่ใช้ขึ้นอยู่กับจุดเดือดของตัวทำละลายแต่ละชนิด จะใช้ระดับเดียวกันไม่ได้



รูปที่ 3.6 ชุด Soxhlet

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นำสารละลายผสม (สารที่กลั่นออกมาจากตัวอย่าง+ตัวทำละลาย) ทำการระเหยด้วยเครื่อง Evaporator ในขวดสีชา (ขวดสีชาที่ผ่านการซังน้ำหนัก) จะได้น้ำมันเพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป



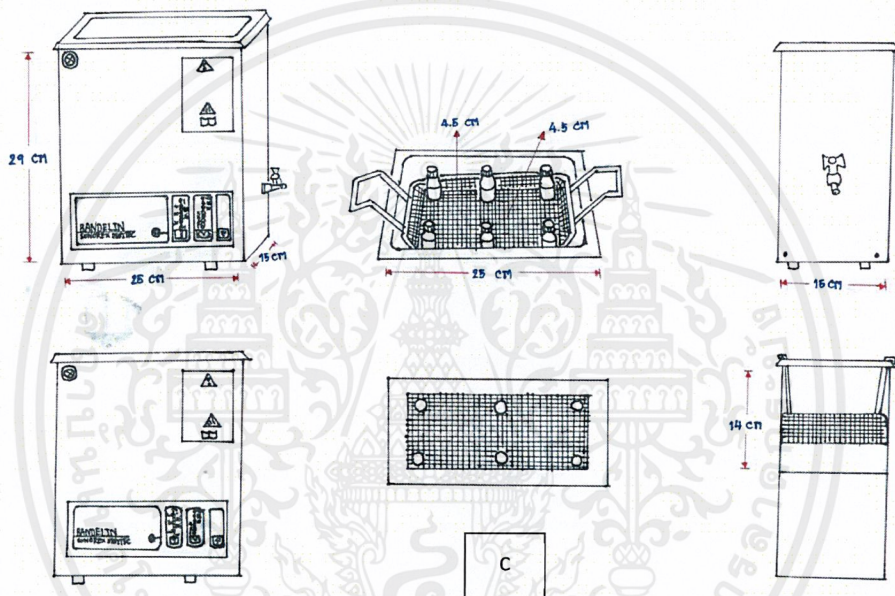
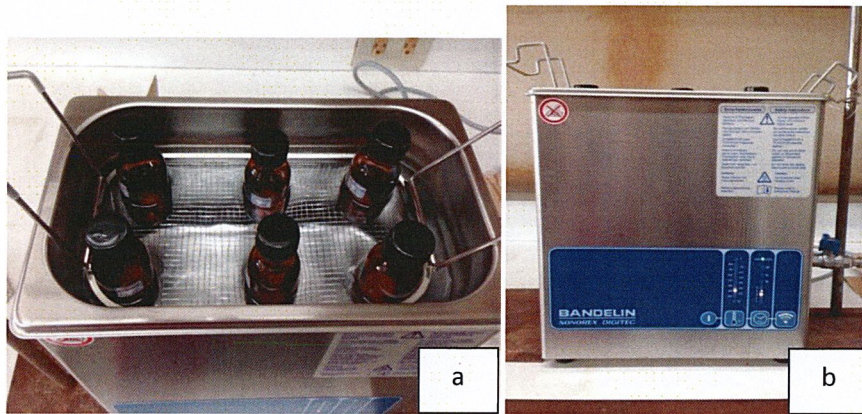
รูปที่ 3.7 Evaporator (a) ชุด evaporator (b) ลักษณะขวดที่ทำการระเหย

5. ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

6. เก็บในตู้เย็น -4 องศาเซลเซียส

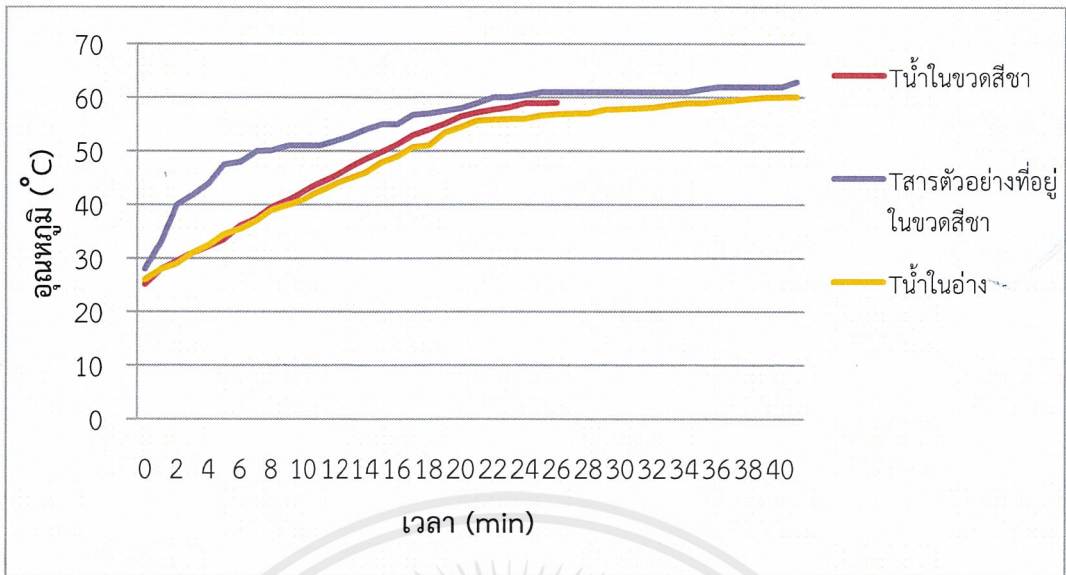
#### 3.3.4.2 การสกัดด้วยวิธีอัลตราโซนิค

1. ตีฉลาก และระบุข้อมูลบนขวดสีชา แล้วซังร่าข้าวขนาด 300 Mic หนัก 1 g ใส่ขวดสีชา (ขวดที่ซังที่ผ่านการซังน้ำหนัก)
2. ตวงตัวทำละลายใส่ลงไปในขวดสีชาในอัตราส่วนร่าข้าว: ตัวทำละลาย 1:4, 1:6, 1:8 และ 1:10 (กรัม: มิลลิลิตร; w/v) ตามลำดับ อัตราส่วนละสามซ้ำ จากนั้นปิดฝาให้เรียบร้อย
3. นำขวดสีชาที่มีร่าข้าว และตัวทำละลายมาวางในเครื่องอัลตราโซนิค (Ultrasonic) กำหนดให้มีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของน้ำจะต้องคงที่ จึงต้องเปลี่ยนน้ำเมื่ออุณหภูมิมีการเปลี่ยนแปลง ระยะเวลาที่ใช้ในการควบคุมคือ 20 นาที โดยที่ระดับน้ำในเครื่อง ต้องท่วมปริมาณสารในขวดสีชา และอยู่พอดีกับขีดจำกัดของเครื่อง



รูปที่ 3.8 อัลตราโซนิก (a) ลักษณะขวดที่กำลังโซนิเคต (b) เครื่องอัลตราโซนิก  
(c) ภาพวาดแสดงขนาดของเครื่องอัลตราโซนิก

4. เมื่อผ่านกระบวนการการสกัดด้วยเครื่อง Ultrasonic แล้ว ให้นำสารในขวดสีขามากรองโดยใช้กระบอกฉีดยา ฉีดผ่าน Nylon Syringe Filters ขนาด 13 mm รูพรุน 0.45  $\mu\text{m}$  ให้ของเหลวนั้นใสเก็บไว้ในขวดสีขาที่ติดฉลาก และชั่งน้ำหนักแล้ว
5. จากนั้นนำสารที่ได้ไประเหยเพื่อระเหยตัวทำละลายออกโดยใช้เครื่องระเหยสุญญากาศ (Vacuum evaporation) จนเหลือแค่น้ำมันเท่านั้น จากนั้นนำไปชั่ง แล้วบันทึกผล



รูปที่ 3.9 การทดสอบอุณหภูมิระหว่างน้ำในขวดสีชา สารตัวอย่างที่อยู่ในขวดสีชาและน้ำในอ่าง โดยใช้เครื่อง Ultrasonic

### 3.3.5 การวิเคราะห์สารแกมมาออริซานอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าว

#### 3.3.5.1 การวิเคราะห์สารแกมมาออริซานอล และวิตามินอีด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟี

ของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC)

คอลัมน์ : C18

อัตราเร็วการไหลของสารละลาย (Flow rate): 1 มิลลิลิตรต่อนาที

ระบบที่ใช้ : 1) Keep = Methanol = 100

2) Clean = Methanol: Isopropanol = 60:40

3) Mobile phase = Methanol: Isopropanol: Ethyl acetate = 47.5: 40: 12.5

\* สารที่ใช้ในระบบจะต้องเป็น HPLC Grade

การไล่ระบบ: Keep 30 นาที --> Clean 30 นาที --> Mobile phase 30 นาที --> sample 30 นาที

--> Mobile phase 30 นาที --> Clean 30 นาที --> Keep 30 นาที

#### ขั้นตอนการเตรียมระบบ

1. ตวงสารที่กล่าวมาให้ได้ปริมาณเท่ากับที่กำหนดไว้กรองสารละลายด้วยระบบสุญญากาศโดยใช้ กระดาษกรอง PTFE Membrane Filters ขนาด 47 mm รูพรุน 0.20  $\mu\text{m}$  เพื่อกรองสิ่งสกปรกที่ติดมากับภาชนะไม่ให้มีตะกอนเข้าไปในคอลัมน์
2. นำสารละลายไป Sonicate เป็นเวลา 30 นาที เพื่อไล่อากาศที่อยู่ในสารละลายซึ่งก่อนทำ จะต้องคลายเกลียวขวดออกเล็กน้อยเพื่อไล่ออกซิเจนออกไป

- สารละลายที่ได้มาสามารถนำไปใช้ได้เลยหรือเก็บไว้ที่เย็นอุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส แต่ไม่ควรเก็บไว้นานเกินไปเพราะจะทำให้อัตราส่วนผสมของสารละลายเปลี่ยนได้

#### การเตรียมตัวอย่าง

##### วิธีการเตรียมตัวอย่าง

- ชั่งน้ำมันใส่ใน Eppendorf tube ขนาด 1.5 มิลลิลิตร 1 มิลลิกรัมจากนั้นเติม Mobile phase 1000 ไมโครลิตรหรือสามารถชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่ยอมรับได้ดังนี้

ตัวอย่างน้ำมัน (กรัม)	Mobile Phase (ไมโครลิตร)
0.0008	800
0.0009	900
0.0010	1000
0.0011	1100
0.0012	1200

- เขย่าให้ตัวอย่างผสมกับ Mobile phase กรองผ่าน Nylon Syringe Filters ขนาด 13 มิลลิเมตร รูพรุน 0.22 ไมโครเมตร จากนั้นดูดมา 30 ไมโครลิตรแล้วเติม Mobile phase 970 ไมโครลิตร (เป็นการเจือจาง 3.33 เท่า )


##### วิธีการใช้เครื่อง HPLC

- เปิดเครื่องสำรองไฟ คอมพิวเตอร์ ปุ่ม และ Detector ตามลำดับ
- ต่อคอลัมน์ในลักษณะที่ลูกศรชี้ขึ้น โดยใส่ด้านบนก่อนหมุนคอลัมน์ให้แน่นจากนั้นใส่ด้านล่างพยายามดันสายให้เข้าไปให้สุดแล้วหมุนที่ฝาปิดให้แน่น
- เปิดโปรแกรม LC solution กดที่รูปตัวเครื่องจากนั้นกด Project in แล้วเลือกไฟล์ที่เก็บข้อมูลและสภาวะการฉีดจากนั้นแก้ไขสภาวะที่ในการวิเคราะห์สารแกมมาออริซานอล เมื่อแก้ไขเสร็จกด Applied to all-->save method file
- เริ่มดำเนินการระบบโดยใช้ Keep ปิดปั๊มแล้วกด purge เพื่อทำความสะอาดสายยางให้มีเฉพาะสารที่ต้องการให้อยู่ในระบบตอนนั้น
- เมื่อ purge เพื่อล้างระบบก่อนใช้งาน และเพื่อไล่ solvent เก้าออกเสร็จแล้วให้เปิดปั๊มที่ตัวเครื่องและหน้าจอโปรแกรม จากนั้นค่อย ๆ เพิ่มอัตราเร็วของไหลที่ละ 0.1 มิลลิลิตรต่อนาทีโดยเริ่มจาก 0 มิลลิลิตรต่อนาทีจนกระทั่งอัตราเร็วของไหลเป็น 1 มิลลิลิตรต่อนาที รอให้สารอยู่ในระบบ 30 นาที จากนั้นลดอัตราเร็วลงที่ละ 0.1 มิลลิลิตรต่อนาที จนกระทั่งอัตราเร็วของไหลเป็น 0 มิลลิลิตรต่อนาที ปิดปั๊มที่คอม และตัวเครื่อง
- เปลี่ยนขวดสารจาก Keep เป็น Clean จากนั้นทำเหมือนขั้นตอนที่ 4-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. เปลี่ยนขวดสารจาก Clean เป็น Mobile phase จากนั้นทำตามขั้นตอนที่ 4-5 แต่ไม่ต้องลดอัตราเร็วของไหลลง และเปลี่ยน detector จาก off เป็น D2
8. กด Zero Detector A 1 ครั้งแล้วไปที่ Acquisition ตั้งชื่อไฟล์ที่ Data file
9. ล้างเข็มฉีดยาด้วย Mobile phase ทุกครั้งก่อนใช้งาน
10. ล้างหัวฉีดที่เครื่องประมาณ 10 เข็ม ด้วย Mobile phase (ต้องอยู่ในตำแหน่ง Load) ทำเฉพาะก่อนฉีดเข็มแรกเท่านั้น
11. จากนั้นฉีดตัวอย่างที่เตรียมไว้ โดยตัวอย่างที่ดูดขึ้นมาด้วยเข็มฉีดยาต้องไม่มีฟองอากาศเลย เพราะหากมีฟองอากาศจะทำให้คอลัมน์เสื่อมประสิทธิภาพได้ ปริมาณตัวอย่างที่ฉีดคือ 30 ไมโครลิตร ในครั้งแรกจะฉีด 2 เข็ม เข็มแรกยังไม่ต้อง Inject เข้าไปเมื่อฉีดครบ 2 เข็มจึงจะ Inject เข้าไปได้
12. หน้าจอจะขึ้นว่า Running ตัวสีฟ้า
13. รอ 30 วินาที ให้ย้ายหัวฉีดมาที่ตำแหน่ง Load ล้างหัวฉีดด้วย Mobile phase 3 เข็มแล้วย้ายหัวฉีดไปที่ตำแหน่ง Inject
14. รอให้เครื่องวิเคราะห์ตัวอย่าง 20 นาที เมื่อเสร็จแล้วจะขึ้นว่า Ready ตัวสีเขียว ยกหัวกลับไปตำแหน่ง Load เพื่อฉีดตัวอย่างที่ 2 ต่อไป
15. เมื่อจะฉีดตัวอย่างใหม่ให้กด Zero Detector A และกดเปลี่ยนชื่อไฟล์ที่ Acquisition ทุกครั้ง
16. เมื่อฉีดตัวอย่างจนครบหมดแล้วให้รัน Mobile phase อยู่ในระบบต่ออีก 30 นาที และปิด Lamp ของ Detector
17. เมื่อครบ 30 นาทีให้ลดอัตราเร็วของไหลลงมาจนเหลือ 0 มิลลิลิตรต่อนาที เปลี่ยนขวดจาก Mobile phase เป็น Clean กด Purge แล้วเพิ่มอัตราเร็วของไหลที่ละ 0.1 มิลลิลิตรต่อนาที จนอัตราเร็วของไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที ให้ Clean อยู่ในระบบเป็นเวลา 30 นาที
18. เมื่อครบกำหนดให้เปลี่ยนขวดจาก Clean เป็น Keep แล้วทำตามขั้นตอนข้อ 17 จากนั้นปิด Detector ปัม คอมพิวเตอร์และเครื่องสำรองไฟตามลำดับ

#### การดูพื้นที่ได้กราฟ

1. เปิดไฟล์ที่บันทึกไว้ กด Data report
2. คลิกที่สัญลักษณ์  แล้วลากบนพื้นที่ว่าง จะแสดงตารางเวลาและพื้นที่ได้กราฟ
3. บันทึกหน้าที่มีพื้นที่ได้กราฟ กด Print screen แล้ววางใน Word

\*หากมีข้อผิดพลาดขณะฉีด (สารเข้าไปอยู่ในคอลัมน์แล้ว) ให้รอ 15 นาทีก่อนจะฉีดใหม่

3.3.5.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical method

#### วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายของ DPPH° ใน Ethanol 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1 เตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ (mM) ปริมาตร 25 มิลลิลิตร (ml) โดยชั่งน้ำหนัก 0.002 กรัม (g) ละลาย และปรับปริมาตรให้ครบ 25 ml ด้วย absolute ethanol แล้วใช้ทันที

1.2 การคำนวณความเข้มข้น DPPH (ถ้าน้ำหนักโมเลกุลของ DPPH = 394.32)

$$\text{สูตร } \frac{g}{MW} = \frac{MV}{1000}$$

ถ้าต้องการเตรียม 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

$$\text{จะได้ } g = \frac{394.32 \times 0.2 \text{ mM} \times 25 \text{ ml}}{1000}$$

$$= 2 \text{ มิลลิกรัม}$$

$$= 0.002 \text{ กรัม}$$

## 2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

สารมาตรฐานที่ใช้ คือ BHT และวิตามินซี โดย BHT เตรียมให้มีความเข้มข้น 400, 300, 200, 100 และ 80 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ( $\mu\text{g/ml}$ ) ส่วน Vit.C เตรียมให้มีความเข้มข้น 40, 30, 20, 10 และ 5 ไมโครกรัม/มิลลิลิตรความเข้มข้นละ 500 ไมโครลิตร ( $\mu\text{l}$ ) โดยใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

## 3. การเตรียมสารตัวอย่าง

เตรียมสารละลายของสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 8, 6, 4, 2 และ 1  $\mu\text{g/ml}$  ความเข้มข้นละ 500  $\mu\text{l}$  สำหรับสารสกัดที่เตรียมด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น acetone extract, chloroform extract และ alcohol extract จะใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย ส่วนสารตัวอย่างที่เป็น water extract จะใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย ในการทดลองใช้ ethanol 95%

## 4. วิธีการทดสอบ

4.1 เปิดสารละลายตัวอย่าง 100  $\mu\text{l}$  ใส่ในหลุม Microtiter plate ในแต่ละความเข้มข้น

4.2 เติมสารละลายของ DPPH ใน absolute ethanol 100  $\mu\text{l}$  (ความเข้มข้นสุดท้ายของตัวอย่าง คือ 8, 6, 4, 2 และ 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ตามลำดับ)

4.3 นำไปเขย่าให้สารผสมเข้ากันดี ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืด

4.4 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 492 นาโนเมตร (nm) โดยใช้สารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ 100  $\mu\text{l}$  ผสมกับ absolute ethanol 100 ไมโครลิตร เป็น blank ของสารละลายตัวอย่าง

4.5 วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน BHT วิตามินซี และ control ที่ 517 นาโนเมตรโดยที่ control ประกอบด้วยน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร และ DPPH 100  $\mu\text{l}$  และใช้น้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร ผสมกับ absolute ethanol 100 ไมโครลิตร เป็น blank ของ control

หมายเหตุ ในแต่ละความเข้มข้นทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (Triplicate)

5. การคำนวณ % Inhibition concentration (IC<sub>50</sub>)

$$\% \text{ inhibition} = \frac{(\text{OD. control} - \text{OD. blank}) - (\text{OD. sample} - \text{OD. blank})}{(\text{OD. control} - \text{OD. blank})} \times 100$$

การคำนวณค่าเฉลี่ยของ % Inhibition ในแต่ละความเข้มข้น แล้วนำไปทำ linear regression เพื่อหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถยับยั้งการเกิด oxidation ได้ร้อยละ 50 (IC<sub>50</sub>)



## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

#### 4.1 ลักษณะทางกายภาพของรำข้าว

##### 4.1.1 การคัดแยกขนาดรำข้าว

ในการคัดแยกขนาดรำข้าวด้วยตะแกรงร่อน โดยนำรำข้าวที่ผ่านการขัดสีแล้ว 5 กิโลกรัม และร่อนครั้งละ 100 กรัม เป็นเวลา 5 นาที จำนวนทั้งหมด 50 ครั้ง ซึ่งแสดงน้ำหนักเฉลี่ยและขนาดดังตารางที่ 4.1 จากการทดลองผลของน้ำหนักเฉลี่ยของรำข้าวที่คำนวณได้เปรียบเทียบกับน้ำหนักที่ชั่งได้จริง น้ำหนักที่ขาดหายไป และเปอร์เซ็นต์สะสมจากตารางที่ 4.1 สามารถบอกคุณภาพเครื่องสีข้าวได้ว่ามีประสิทธิภาพในการสีข้าว หรือสามารถบอกอัตราการแปรสภาพข้าวเปลือกเป็นข้าวสาร เป็นส่วนหนึ่งที่ใช้ในการวัดหาประสิทธิภาพของโรงสีได้ ทั้งนี้อัตราการสีข้าวยังขึ้นอยู่กับคุณภาพของข้าวเปลือก สภาพแวดล้อมขณะสีข้าว ความชื้นของเมล็ด เครื่องสีข้าว พันธุ์ข้าว ความแข็งแรงของเมล็ด และขนาดของโรงสีโดยโรงสีขนาดใหญ่จะมีแนวโน้มจะสีได้ต้นข้าวมากกว่าโรงสีขนาดเล็ก แต่การที่จะมีประสิทธิภาพที่ดีของเครื่องจักรต้องมีการควบคุมดูแล และปรับสภาพเครื่องจักรให้เหมาะสมกับสภาพข้าวเปลือกที่จะนำมาสี (สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร, 2546) ซึ่งผลิตผลที่ได้จากการสีข้าวเปลือกโดยปกติจะจัดแบ่งเป็นต้นข้าว ปลายข้าวท่อน ปลายข้าวเล็ก รำละเอียด และรำหยาบ จากการทดลองนี้ใช้เครื่องสีข้าวขนาดเล็ก เพราะมีปริมาณข้าวเปลือกประมาณ 1 กิโลกรัม พบว่าขนาดของรำข้าวที่สีได้ 500 ไมโครเมตร มีปริมาณมากที่สุด รองลงมา 850, 300, >850, 150 และไม่พบรำข้าวขนาด 75 ไมโครเมตรดังรูปที่ 4.1 และแสดงเปอร์เซ็นต์สะสมของน้ำหนักเฉลี่ยของรำข้าวที่ได้จากการร่อนดังรูปที่ 4.2

##### 4.1.2 การวิเคราะห์ความชื้นของรำข้าวขนาด 300 ไมโครเมตร

ตัวอย่างรำข้าวที่ใช้ในการสกัดน้ำมันรำข้าวไม่ควรสูงเกินไปเนื่องจากความชื้นเป็นปัจจัยสำคัญต่อคุณภาพของรำข้าว โดยทั่วไปความชื้นในรำข้าวที่ได้ไม่ควรเกินร้อยละ 13 คือ อยู่ในสภาวะที่จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้และไม่เกิดการออกซิเดชันของน้ำมันในรำข้าว (อนรรฆอรและมานิชย์, 2555) เป็นระดับปลอดภัยในการเก็บรักษา จากการทดลองเป็นการวิเคราะห์ความชื้นของรำข้าวหอมมะลิ และดอกพะยอม โดยการนำตัวอย่างรำข้าวไปอบด้วยตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนกว่าน้ำหนักจะคงที่แล้วนำมาคำนวณหาร้อยละความชื้น ดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักเฉลี่ยและขนาดของรำข้าวที่คำนวณได้เทียบกับน้ำหนักที่ซั่งได้จริงและที่ขาดหายไป

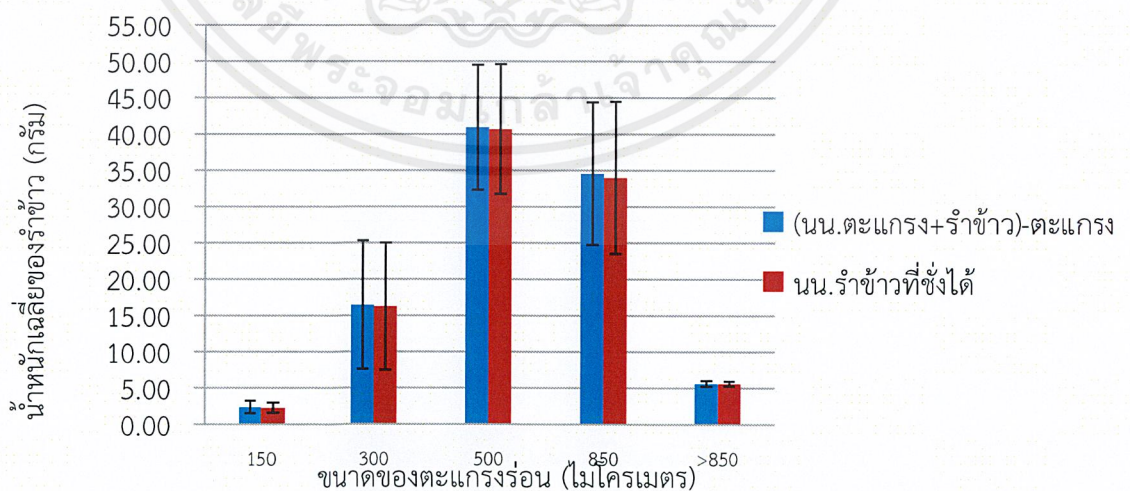
ขนาดของตะแกรงร่อน (ไมโครเมตร)	น้ำหนักเฉลี่ยของรำข้าว (กรัม)		
	(นน.ตะแกรง+รำข้าว)-ตะแกรง <sup>a</sup>	นน.รำข้าว <sup>b</sup>	นน.ขาดหาย <sup>c</sup>
75	0.00±0.00	0.00±0.00	0.00±0.00
150	2.39±2.87	2.30±2.73	0.08±1.37
300	16.46±8.83	16.26±8.74	0.19±2.64
500	40.94±8.61	40.67±8.96	0.27±3.83
850	34.56±9.82	33.99±10.47	0.57±4.60
>850	5.65±3.71	5.62±3.10	0.03±1.84
รวม	100.00	98.85	1.15

หมายเหตุ: <sup>a</sup> น้ำหนักที่ได้จากการคำนวณ: น้ำหนักที่ร่อนได้ในแต่ละขนาด/จำนวนครั้งในการร่อน = น้ำหนักเฉลี่ย

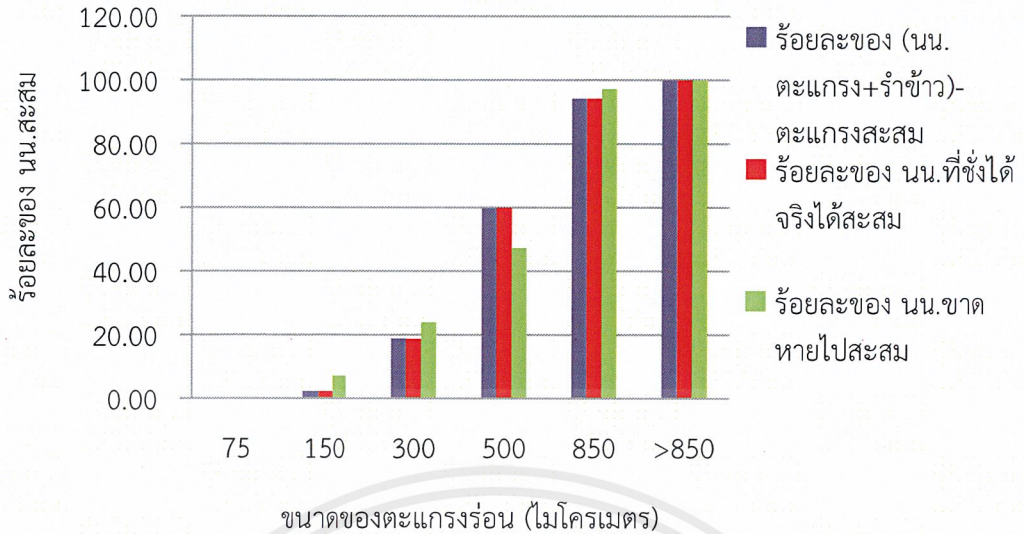
<sup>b</sup> น้ำหนักที่ซั่งได้จริง

<sup>c</sup> น้ำหนักเฉลี่ยที่ขาดหายไป: น้ำหนักเฉลี่ยที่คำนวณได้-น้ำหนักเฉลี่ยที่ซั่งได้จริง = น้ำหนักเฉลี่ยที่ขาดหายไป

$$\text{เปอร์เซ็นต์สะสม} = \frac{\text{ค่าสะสม}}{\text{จำนวนทั้งหมด}} \times 100$$



รูปที่ 4.1 การกระจายของน้ำหนักเฉลี่ยของรำข้าวที่ได้จากการร่อน คือ (นน.ตะแกรง+รำข้าว)-ตะแกรงเทียบกับน้ำหนักเฉลี่ยรำข้าว



รูปที่ 4.2 เปอร์เซนต์สะสมของน้ำหนักเฉลี่ยของรำข้าวที่ได้จากการร่อน คือ (นน.ตะแกรง+รำข้าว)- ตะแกรงเทียบกับน้ำหนักเฉลี่ยรำข้าวและน้ำหนักเฉลี่ยขาดหายไป

ตารางที่ 4.2 การวิเคราะห์ความชื้นของรำข้าว

รอยละความชื้น สายพันธุ์ข้าว	ฐานเปียก	
	ฐานเปียก	ฐานแห้ง
HM	11.43±0.45	12.91±0.58
DY	11.66±0.82	13.20±1.05

หมายเหตุ: HM แทน KhaoHom Mali, DY แทน Dawk Pa-yawm

## 4.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน ปริมาณแกมมาออร์ซานอล และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวหอมมะลิ และดอกพะยอมจากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction

### 4.2.1 ปริมาณน้ำมัน

ปริมาณน้ำมันที่ได้จะแสดงเป็น 2 รูปแบบ ได้แก่ แบบฐานแห้ง และฐานเปียก โดยการสกัดจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ด้วยวิธี Soxhlet extraction โดยอัตราส่วนรำข้าว: ตัวทำละลาย 1:30 กรัม: มิลลิลิตร เพื่อศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมคือ เมทานอล เอทานอล เฮกเซน อะซิโตน และอะซิโตนไตรลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าว 2 สายพันธุ์คือ ข้าวหอมมะลิและดอกพะยอมดังตารางที่ 4.3

จากการศึกษาปริมาณน้ำมันรำข้าวแบบฐานแห้งที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet จากตารางที่ 4.3 พบว่าปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยเมทานอล เอทานอล เฮกเซน อะซิโตน และอะซิโตนไตรลของรำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ส่วน

ปริมาณน้ำมันรำข้าวดอกพะยอมที่สกัดด้วยเฮกเซน อะซิโตน และอะซิโตนไไตรล์ มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) แต่เมทานอล เอทานอล อะซิโตน และอะซิโตนไไตรล์ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) เมื่อนำปริมาณน้ำมันรำข้าวของ 2 สายพันธุ์เปรียบเทียบกัน พบว่าตัวทำละลายทุกชนิดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.3

ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันฐานแห้งของรำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิเปรียบเทียบกับดอกพะยอม พบว่าตัวทำละลายทุกชนิดไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ส่วนปริมาณน้ำมันรำข้าวดอกพะยอมที่สกัดด้วยเฮกเซนอะซิโตน และอะซิโตนไไตรล์ นั้นมีความแตกต่างกันผลมาจากความมีขั้ว (Polarity) จุดเดือด (boiling point) ความหนืด (Viscosity) อุณหภูมิ (Temperature) โดยเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่สกัดน้ำมันได้มากที่สุด เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วเช่นเดียวกันน้ำมันดังแสดงในรูปที่ 4.7 ซึ่งงานวิจัยของ (Zhang และคณะ, 2015) ได้สกัดน้ำมันจากเมล็ดพริกเสฉวนด้วยวิธี Soxhlet โดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย พบว่าผลได้ของน้ำมันมากที่สุดเช่นเดียวกัน

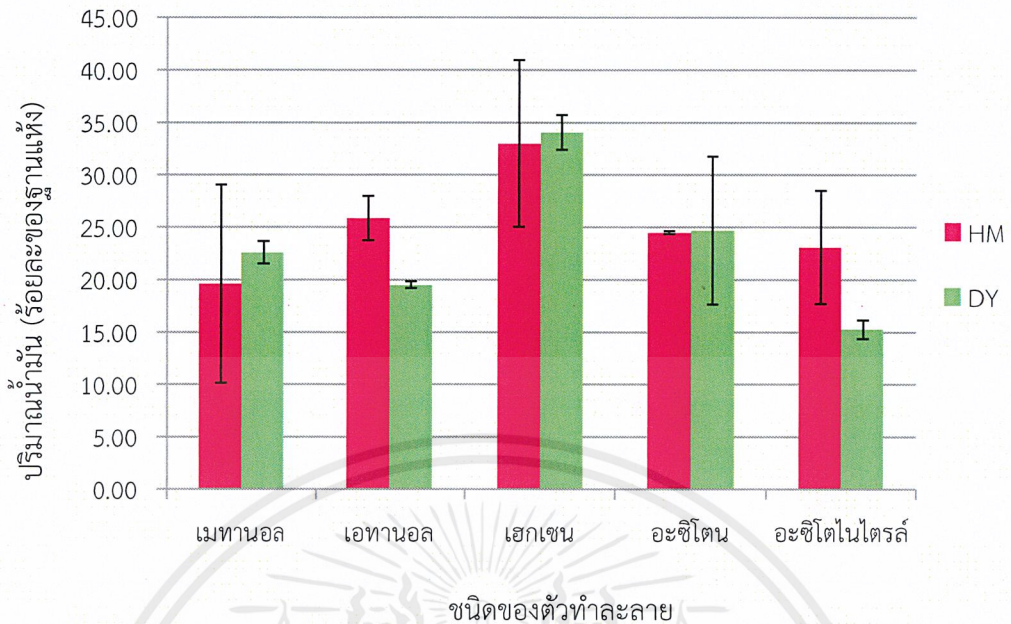


ตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำมันรำข้าว (กรัม) แบบฐานแห้ง และฐานเปียก ที่ได้จากการสกัดน้ำมันรำข้าวด้วยวิธี Soxhlet extraction

สายพันธุ์ และตัวทำละลาย	ปริมาณน้ำมัน (กรัม)			ร้อยละของฐานแห้ง			ร้อยละของฐานเปียก		
	รอบ1	รอบ2	รวม	รอบ1	รอบ2	รวม	รอบ1	รอบ2	รวม
หอมมะลิ (HM)									
เมทานอล	0.89±0.42 <sup>a</sup>	0.29±0.37 <sup>b</sup>	1.18±0.42 <sup>a</sup>	18.88±9.00 <sup>a</sup>	6.04±7.95 <sup>b</sup>	24.92±16.95 <sup>a</sup>	17.80±8.49 <sup>a</sup>	5.70±7.50 <sup>b</sup>	23.50±15.98 <sup>a</sup>
เอทานอล	1.20±0.08 <sup>a</sup>	0.15±0.19 <sup>b</sup>	1.35±0.08 <sup>a</sup>	25.45±1.80 <sup>a</sup>	3.08±4.05 <sup>b</sup>	28.53±5.85 <sup>a</sup>	24.00±1.70 <sup>a</sup>	2.90±3.82 <sup>b</sup>	26.90±5.52 <sup>a</sup>
เฮกเซน	1.41±0.51 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>b</sup>	1.45±0.51 <sup>a</sup>	32.13±7.65 <sup>a</sup>	0.85±0.30 <sup>b</sup>	32.98±7.95 <sup>a</sup>	28.20±10.18 <sup>a</sup>	0.80±0.28 <sup>b</sup>	29.00±10.47 <sup>a</sup>
อะซิโตน	1.07±0.07 <sup>a</sup>	0.09±0.06 <sup>b</sup>	1.16±0.07 <sup>a</sup>	22.69±1.50 <sup>a</sup>	1.80±1.35 <sup>b</sup>	24.50±0.15 <sup>a</sup>	21.40±1.41 <sup>a</sup>	1.70±1.27 <sup>b</sup>	23.10±0.14 <sup>a</sup>
อะซิโตนไตรัล	0.87±0.23 <sup>a</sup>	0.22±0.03 <sup>a</sup>	1.09±0.23 <sup>a</sup>	18.45±4.80 <sup>a</sup>	4.67±0.60 <sup>b</sup>	23.12±5.40 <sup>a</sup>	17.40±4.53 <sup>a</sup>	4.40±0.57 <sup>b</sup>	21.80±5.09 <sup>a</sup>
ดอกพะยอม (DY)									
เมทานอล	0.98±0.01 <sup>b</sup>	0.08±0.04 <sup>b</sup>	1.07±0.01 <sup>bc</sup>	20.89±0.15 <sup>b</sup>	1.70±0.90 <sup>b</sup>	22.59±1.05 <sup>bc</sup>	19.70±0.14 <sup>b</sup>	1.60±0.85 <sup>b</sup>	21.30±0.99 <sup>bc</sup>
เอทานอล	0.88±0.04 <sup>cb</sup>	0.04±0.02 <sup>b</sup>	0.92±0.04 <sup>bc</sup>	18.56±0.75 <sup>cb</sup>	0.95±0.45 <sup>b</sup>	19.51±0.30 <sup>bc</sup>	17.50±0.71 <sup>cb</sup>	0.90±0.42 <sup>b</sup>	18.40±0.28 <sup>bc</sup>
เฮกเซน	1.58±0.33 <sup>a</sup>	0.02±0.00 <sup>b</sup>	1.61±0.02 <sup>a</sup>	33.51±1.20 <sup>a</sup>	0.53±0.45 <sup>b</sup>	34.04±1.65 <sup>a</sup>	31.60±1.13 <sup>a</sup>	0.50±0.42 <sup>b</sup>	32.10±1.56 <sup>a</sup>
อะซิโตน	0.98±0.33 <sup>b</sup>	0.18±0.00 <sup>a</sup>	1.17±0.33 <sup>b</sup>	20.89±7.05 <sup>b</sup>	3.82±0.00 <sup>a</sup>	24.71±7.05 <sup>bc</sup>	19.70±6.65 <sup>b</sup>	3.60±0.00 <sup>a</sup>	23.30±6.65 <sup>bc</sup>
อะซิโตนไตรัล	0.56±0.08 <sup>c</sup>	0.16±0.04 <sup>a</sup>	0.72±0.08 <sup>c</sup>	11.98±1.65 <sup>c</sup>	3.29±0.75 <sup>a</sup>	15.27±0.90 <sup>c</sup>	11.30±1.56 <sup>c</sup>	3.10±0.71 <sup>a</sup>	14.40±0.85 <sup>c</sup>

หมายเหตุ: a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงปริมาณน้ำมันรำข้าว ในสภาวะการสกัดต่างๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(P≤0.05) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test (DMRT)



รูปที่ 4.3 ปริมาณน้ำมันฐานแห้งที่ได้จากการสกัดน้ำมันทั้งสองรอบของรำข้าว 2 สายพันธุ์ด้วยวิธี Soxhlet extraction

#### 4.2.2 ปริมาณแกมมาออริซานอล

จากการสกัดรำข้าวหอมมะลิด้วยวิธี Soxhlet โดยอัตราส่วนรำข้าว: ตัวทำละลาย 1:30 กรัม: มิลลิลิตร เพื่อศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมคือ เมทานอล เอทานอล เฮกเซน อะซิโตน และอะซิโตนไตรล ต่อการสกัดน้ำมันรำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวหอมมะลิ และดอกพะยอม ผลการศึกษาปริมาณแกมมาออริซานอลที่ได้จากการสกัดรำข้าวหอมมะลิ แสดงได้ดังตารางที่ 4.4 พบว่า เมทานอลสามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้ปริมาณสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ  $2.4975 \pm 1.40$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนอะซิโตนไตรล, อะซิโตน, เอทานอล และ เฮกเซน มีปริมาณแกมมาออริซานอลน้อยลงตามลำดับ เนื่องจากแกมมาออริซานอลมีขั้วค่อนข้างสูงทำให้สารละลายที่มีขั้วสูงสามารถดึงแกมมาออริซานอลออกมาจากรำข้าวได้ดีกว่า

ผลการศึกษาปริมาณแกมมาออริซานอลที่ได้จากการสกัดรำข้าวดอกพะยอมด้วยวิธี Soxhlet แสดงได้ดังตารางที่ 4.4 พบว่า เอทานอล สามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้ปริมาณเฉลี่ยสูงที่สุดมีค่าเท่ากับ  $3.3745 \pm 2.24$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วน เฮกเซน, เมทานอล, อะซิโตนไตรล และ อะซิโตน มีปริมาณแกมมาออริซานอลน้อยลงตามลำดับ ตารางที่ 4.5 จะเห็นว่า เมทานอล มีขั้วสูงที่สุดในตัวทำละลายทั้งหมดที่ใช้ในการสกัดแต่จากผลพบว่า เอทานอล สามารถสกัดแกมมาออริซานอลออกมาได้ปริมาณมากกว่าการใช้ เมทานอล ในการสกัดอาจเป็นเพราะลักษณะโครงสร้างอนุภาคของรำข้าวดอกพะยอมมีความแตกต่างกับรำข้าวหอมมะลิจึงทำให้ตัวทำละลายที่ใช้แตกต่างกัน และตัวทำละลายแต่ละตัวก็มีคุณสมบัติทางเคมีแตกต่างกันเช่น ความแรงของขั้ว จุดเดือด ความดันไอ ซึ่ง

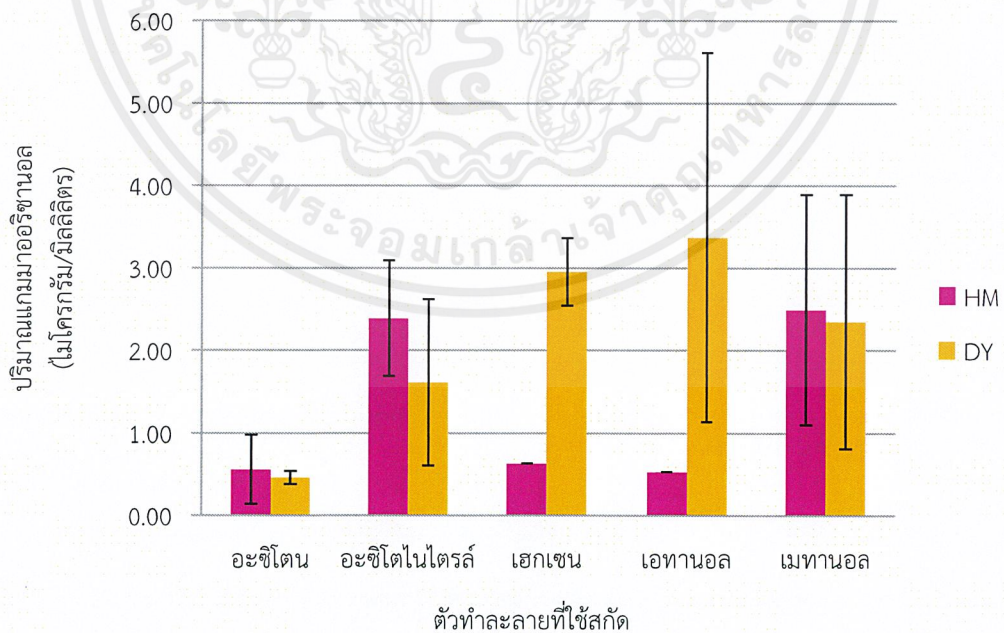
ทำให้สามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้ในปริมาณที่แตกต่างกันดังแสดงในรูปที่ 4.4 ในการสกัดรำข้าวหอมมะลิโดยใช้ตัวทำละลายต่างชนิดกันด้วยวิธี Soxhlet พบว่าเมื่อสกัดรอบที่ 1 ตัวทำละลายแต่ละชนิดสามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้ในปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) เมื่อสกัดรอบที่ 2 พบว่าปริมาณแกมมาออริซานอลที่ได้จากการสกัดด้วยเมทานอลมีผลแตกต่างกับตัวทำละลายอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) แต่เมื่อรวมผลในรอบที่ 1 และ 2 พบว่าอะซิโตนไทรลอสสกัดแกมมาออริซานอลแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ดังตารางที่ 4.5 เนื่องจากอะซิโตนไทรลอสมีค่าสูงสุด อีกทั้งคุณสมบัติทางเคมีอื่นๆที่ส่งผลต่อการสกัดด้วยเช่นกัน แต่เมื่อสกัดรำข้าวดอกพะยอมโดยใช้ตัวทำละลายเหมือนกับรำข้าวหอมมะลิพบว่าในการสกัดรอบที่ 1 เมทานอลสามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้ดีที่สุดซึ่งมีความแตกต่างกับตัวทำละลายชนิดอื่นอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยที่ตัวทำละลายทุกชนิดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และรวมรอบที่ 1 และ 2 เข้าด้วยกัน พบว่าทุกตัวทำละลายสามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ซึ่งสามารถใช้ตัวทำละลายชนิดใดก็ได้ในการสกัด แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างรำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิและรำข้าวสายพันธุ์ดอกพะยอมพบว่าเมื่อสกัดรอบที่ 1 จะไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อสกัดในรอบที่ 2 กลับมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อนำผลจากรอบที่ 1 มารวมกับผลจากรอบที่ 2 พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากในรอบที่ 1 ตัวทำละลายแต่ละตัวสกัดแกมมาออริซานอลได้อย่างเต็มที่ ทำให้ปริมาณแกมมาออริซานอลได้มากแต่เมื่อนำมาสกัดรอบที่ 2 ซึ่งเหลือแกมมาออริซานอลน้อยลงทำให้ตัวทำละลายสกัดแกมมาออริซานอลได้แตกต่างเล็กน้อยโดยขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีของแต่ละตัวทำละลายหากตัวทำละลายชนิดใดมีความแรงของขั้วมากกว่าก็จะสามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้ดีกว่า ดังรูปที่ 4.7 และคุณลักษณะทางกายภาพของรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ (Kochayklang และ Srijesdaruk, 2013)

จากรูปที่ 4.4 จะเห็นว่า เมทานอล มีค่าสูงสุดในตัวทำละลายทั้งหมดที่ใช้ในการสกัด และมีจุดเดือดต่ำทำให้มีการหมุนเวียนตัวทำละลายในเครื่อง Soxhlet ได้หลายรอบและยังใช้ความร้อนที่ต่ำกว่า 140 องศาเซลเซียสซึ่งไม่ทำให้สารแกมมาออริซานอลเสียหายเมื่อสกัดรำข้าวรอบที่ 2 พบว่า เมทานอลยังสามารถดึงแกมมาออริซานอลที่เหลืออยู่ออกมาได้อีก

ตารางที่ 4.4 ปริมาณแกมมาออริซานอลที่พบจากการสกัดรำข้าวหอมมะลิและดอกพะยอมด้วยวิธี Soxhlet ในอัตราส่วนของรำข้าว:ตัวทำละลายเป็น 1:30 กรัม: มิลลิลิตร เวลา 4 ชั่วโมง

ตัวทำละลาย	ปริมาณแกมมาออริซานอล (ไมโครกรัม:มิลลิลิตร)		
	รอบที่ 1	รอบที่ 2	รวม
หอมมะลิ (HM)			
เมทานอล	1.8145 <sup>a</sup>	0.6830 <sup>a</sup>	2.4975 <sup>bc</sup>
เอทานอล	0.3752 <sup>a</sup>	0.0000 <sup>b</sup>	0.3752 <sup>ab</sup>
เฮกเซน	0.8265 <sup>a</sup>	0.0000 <sup>b</sup>	0.8265 <sup>abc</sup>
อะซิโตน	0.2972 <sup>a</sup>	0.2623 <sup>b</sup>	0.5595 <sup>c</sup>
อะซิโตนไตรล์	1.4441 <sup>a</sup>	0.9470 <sup>ab</sup>	2.3911 <sup>a</sup>
ดอกพะยอม (DY)			
เมทานอล	2.0126 <sup>ab</sup>	0.9141 <sup>a</sup>	2.9267 <sup>a</sup>
เอทานอล	1.7927 <sup>a</sup>	1.1974 <sup>a</sup>	2.9901 <sup>a</sup>
เฮกเซน	1.6630 <sup>ab</sup>	1.5769 <sup>a</sup>	3.2399 <sup>a</sup>
อะซิโตน	0.4036 <sup>b</sup>	0.0000 <sup>a</sup>	0.4036 <sup>a</sup>
อะซิโตนไตรล์	0.9010 <sup>b</sup>	0.7713 <sup>a</sup>	1.6723 <sup>a</sup>

หมายเหตุ: a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงปริมาณแกมมาออริซานอลจากการสกัดโดยวิธี Soxhlet ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานโดยวิธี DMRT



รูปที่ 4.4 ปริมาณแกมมาออริซานอลที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.2.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

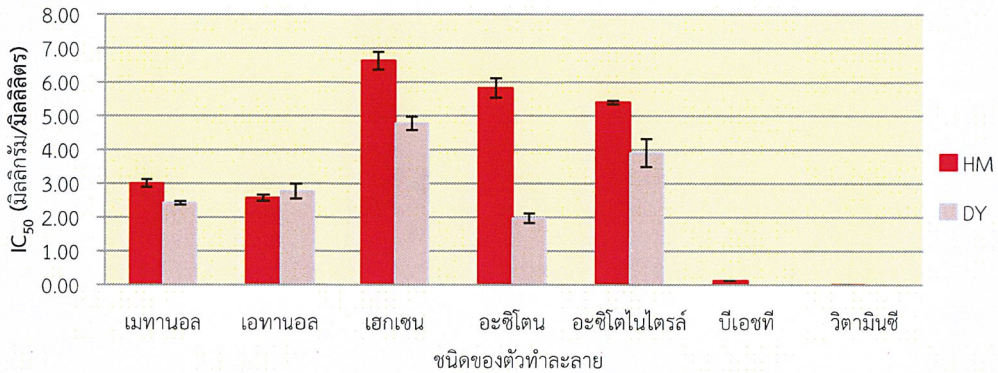
จากการสกัดน้ำมันรำข้าวด้วยวิธี Soxhlet extraction วัดค่าที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ดังตารางที่ 4.6 และนำมาเปรียบเทียบกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระกับสารมาตรฐาน 2 ชนิด คือ บิวทิลเลเตดไฮดรอกซิลทอลูอิน (บีเอชที;BHT) และวิตามินซี (VitaminC) มีค่า  $IC_{50}$  เท่ากับ  $0.122 \pm 0.003$  และ  $0.017 \pm 0.001$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของการสกัดน้ำมันทั้งสองสายพันธุ์ด้วยวิธี Soxhlet จากตารางที่ 4.5 พบว่ารำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด เอทานอลมีความสามารถในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด เมทานอล อะซิโตน ไนไตรล์ อะซิโตน และเฮกเซน มีความสามารถในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระรองลงมาตามลำดับซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) รำข้าวสายพันธุ์ดอกพะยอมตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด อะซิโตน มีความสามารถในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด เมทานอล เอทานอล อะซิโตน ไนไตรล์ และเฮกเซน มีความสามารถในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระรองลงมาตามลำดับซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เมื่อเปรียบเทียบทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า อะซิโตนมีความสามารถในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในรำข้าวดอกพะยอมมากกว่ารำข้าวหอมมะลิ เนื่องจากลักษณะทางกายภาพของข้าวแต่ละชนิดไม่เหมือนกัน ทำให้ตัวทำละลายดึงสารสกัดออกจากรำข้าวหอมมะลิได้ยากกว่ารำข้าวดอกพะยอม และอีกอย่างหนึ่งอาจเป็นเพราะองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวดอกพะยอมมีสูงกว่ารำข้าวหอมมะลิ (Tabaracic และคณะ, 2011) และเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานจะพบว่า สารมาตรฐานใช้เพียงเล็กน้อยสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าน้ำมันรำข้าวดังรูปที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จากการสกัดน้ำมันรำข้าว 2 สายพันธุ์ด้วยวิธี Soxhlet extraction

Strain	ค่า $IC_{50}$ (mg/ml)				
	เมทานอล	เอทานอล	เฮกเซน	อะซิโตน	อะซิโตนไนไตรล์
HM	$3.006 \pm 0.11^b$	$2.576 \pm 0.09^a$	$6.629 \pm 0.26^e$	$5.824 \pm 0.28^d$	$5.401 \pm 0.05^c$
DY	$2.424 \pm 0.05^b$	$2.776 \pm 0.22^c$	$4.778 \pm 0.20^e$	$1.972 \pm 0.14^a$	$3.908 \pm 0.41^d$

หมายเหตุ: a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดน้ำมัน ด้วยวิธี Soxhlet ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ ) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี DMRT



รูปที่ 4.5 ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของการสกัดน้ำมันทั้ง 2 สายพันธุ์ด้วยวิธี Soxhlet extraction

### 4.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน ปริมาณแกมมาออริซานอล และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวหอมมะลิ และดอกพะยอมจากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction

#### 4.3.1 ปริมาณน้ำมัน (กรัม) แบบฐานแห้ง และฐานเปียกที่สกัดจากตัวทำละลายชนิดต่างๆ ด้วยวิธี Ultrasonic extraction

ผลของปริมาณน้ำมันรำข้าวจากการสกัดด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิดนี้ ในรำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ดังแสดงในตารางที่ 4.8 เนื่องจากคุณสมบัติของตัวทำละลายแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันออกไปรวมทั้งในการสกัดโดยใช้เครื่อง Ultrasonic มีคลื่นเสียงที่สามารถทำให้เกิดฟองจากเล็กจนมีขนาดใหญ่ได้ ซึ่งเมื่อฟองแตกจะเกิดความดันและความร้อนขึ้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้มีผลต่อการสกัดทำให้ตัวทำละลายสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับตัวอย่างได้ดียิ่งขึ้น (Lijun Wang และ Curtis L.Weller, 2006) จึงส่งผลให้ปริมาณน้ำมันที่ได้ไม่แตกต่างกันมาก ส่วนปริมาณน้ำมันรำข้าวดอกพะยอมที่สกัดด้วยเฮกเซน อะซิโตน และอะซิโตนไตรโซลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เพราะสภาพขี้ของตัวทำละลาย โดยเฮกเซนจะมีขี้่น้อยรองมาคือ อะซิโตน และอะซิโตนไตรโซลมีขี้มากที่สุด การที่เฮกเซนสกัดปริมาณน้ำมันได้สูงเพราะน้ำมันเป็นสารที่ไม่มีขี้เหมือนกันทำให้สกัดได้ในปริมาณสูง (Tian et al. 2013) ตรงกับหลักการ like dissolve like แต่เมทานอล เอทานอล อะซิโตน และอะซิโตนไตรโซลไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) เพราะเป็นสารที่มีขี้สูงเหมือนกันเมื่อนำมาสกัดจึงมีความแตกต่างกันไม่มาก จากการนำปริมาณน้ำมันรำข้าวในการสกัดรอบแรกของสองสายพันธุ์เปรียบเทียบชนิดของตัวทำละลายพบว่า เฮกเซน อะซิโตน และอะซิโตนไตรโซลมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) และเมื่อเปรียบเทียบอัตราส่วนพบว่าที่อัตราส่วน 1:8 มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) อย่างไรก็ตามปัจจัยในการสกัดน้ำมันรำข้าวอาจขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพ ปริมาณของตัวทำละลายที่ใช้ควรมีปริมาณที่เหมาะสม (อนรรฆอร และมาโนชย์, 2555) และชนิดของตัวทำละลายนั้นก็มีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดน้ำมัน ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำมันที่ได้จากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction

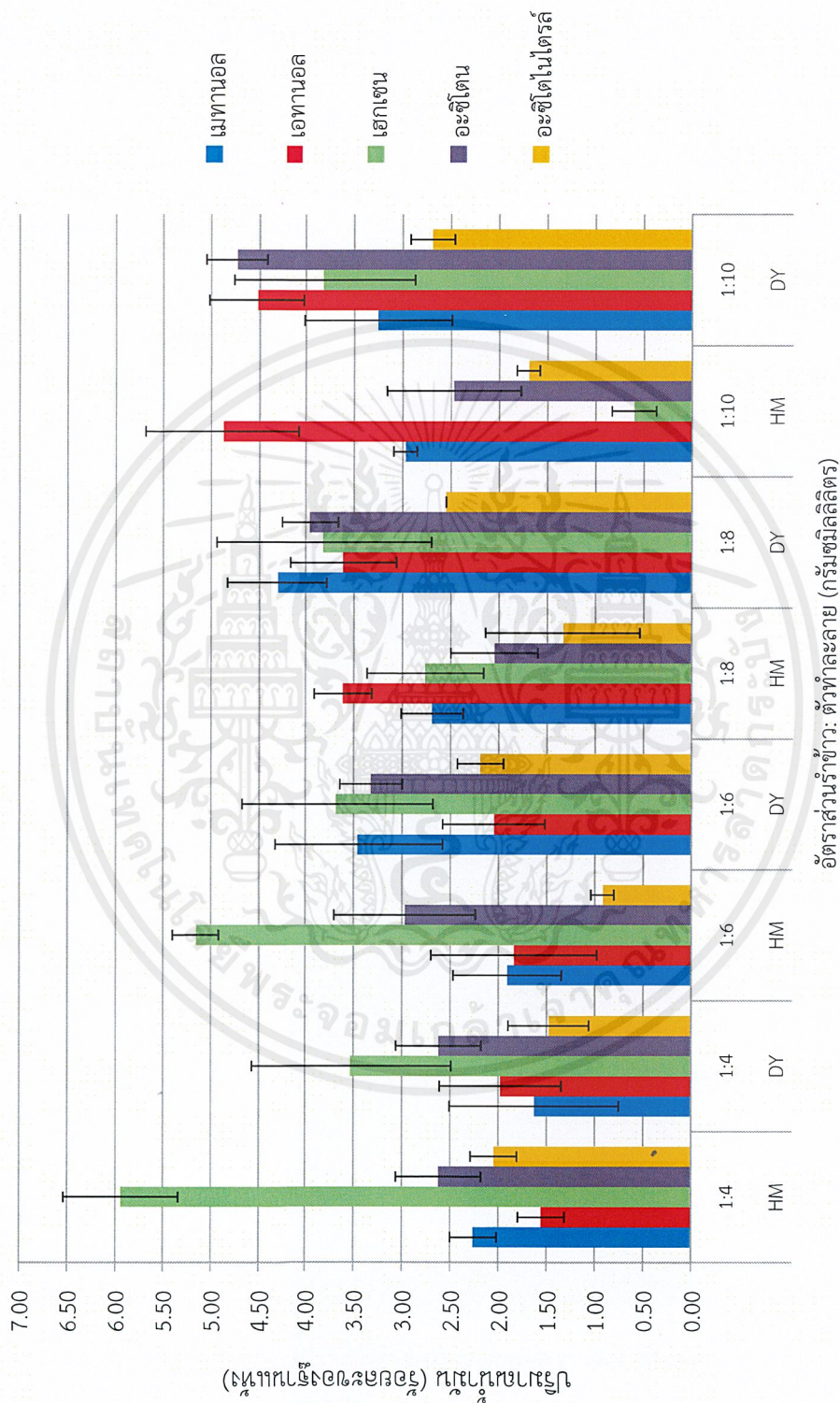
อัตราส่วนรำข้าว:ตัวทำละลาย	ปริมาณน้ำมัน (กรัม)			
	1:4	1:6	1:8	1:10
สายพันธุ์และชนิดตัวทำละลาย				
ข้าวหอมมะลิ				
สกัดรอบที่1				
เมทานอล	0.11±0.01 <sup>abc</sup>	0.09±0.03 <sup>c</sup>	0.13±0.02 <sup>abc</sup>	0.14±0.00 <sup>a</sup>
เอทานอล	0.07±0.01 <sup>c</sup>	0.09±0.04 <sup>c</sup>	0.17±0.01 <sup>b</sup>	0.23±0.01 <sup>a</sup>
เฮกเซน	0.28±0.03 <sup>a</sup>	0.24±0.01 <sup>ab</sup>	0.13±0.03 <sup>c</sup>	0.03±0.01 <sup>b</sup>
อะซิโตน	0.12±0.02 <sup>a</sup>	0.14±0.03 <sup>a</sup>	0.10±0.02 <sup>a</sup>	0.12±0.01 <sup>a</sup>
อะซิโตนไตรคลอไรด์	0.10±0.01 <sup>a</sup>	0.04±0.01 <sup>d</sup>	0.06±0.01 <sup>c</sup>	0.08±0.00 <sup>b</sup>
ข้าวดอกพะยอม				
สกัดรอบที่1				
เมทานอล	0.08±0.04 <sup>b</sup>	0.16±0.04 <sup>a</sup>	0.20±0.03 <sup>a</sup>	0.15±0.04 <sup>a</sup>
เอทานอล	0.09±0.04 <sup>b</sup>	0.10±0.03 <sup>b</sup>	0.17±0.04 <sup>a</sup>	0.21±0.01 <sup>a</sup>
เฮกเซน	0.17±0.05 <sup>a</sup>	0.17±0.05 <sup>a</sup>	0.18±0.02 <sup>a</sup>	0.16±0.05 <sup>a</sup>
อะซิโตน	0.12±0.02 <sup>c</sup>	0.16±0.02 <sup>bc</sup>	0.19±0.01 <sup>ab</sup>	0.22±0.06 <sup>a</sup>
อะซิโตนไตรคลอไรด์	0.07±0.02 <sup>a</sup>	0.10±0.01 <sup>a</sup>	0.12±0.03 <sup>a</sup>	0.13±0.05 <sup>a</sup>
สกัดรอบที่2				
เอทานอล	0.07±0.02 <sup>a</sup>	0.08±0.01 <sup>a</sup>	0.11±0.03 <sup>a</sup>	0.11±0.03 <sup>a</sup>
เฮกเซน	0.11±0.02 <sup>a</sup>	0.10±0.01 <sup>a</sup>	0.08±0.02 <sup>a</sup>	0.11±0.06 <sup>a</sup>
สกัดรอบที่3				
เอทานอล	0.10±0.05 <sup>a</sup>	-	0.10±0.04 <sup>a</sup>	-
เฮกเซน	0.06±0.02 <sup>a</sup>	-	0.09±0.01 <sup>a</sup>	-

หมายเหตุ: a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำมันรำข้าว ในสภาวะการสกัดต่างๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี DMRT

ตารางที่ 4.7 ปริมาณน้ำมันเฉลี่ย แบบฐานแห้ง (%dry basis; %db) และฐานเปียก (%dry basis; %db) ของรำข้าวสาลีที่สกัดออกหยาบจากการสกัดรอบ 1 2 และ 3 ด้วยวิธี Ultrasonic extraction โดยอัตราส่วนรำข้าว: ตัวทำละลายชนิดต่างๆ (กรัม:มิลลิลิตร)

ชนิดของตัวทำละลาย	1:4		1:6		1:8		1:10	
	%db	%wb	%db	%wb	%db	%wb	%db	%wb
ข้าวหอมมะลิ (HM)								
การสกัดรอบที่ 1								
เมทานอล	2.26±0.24 <sup>abc</sup>	2.13±0.23 <sup>abc</sup>	1.91±0.56 <sup>c</sup>	1.80±0.53 <sup>c</sup>	2.69±0.3 <sup>abc</sup>	2.53±0.3 <sup>abc</sup>	2.97±0.12 <sup>a</sup>	2.80±0.00 <sup>a</sup>
เอทานอล	1.56±0.24 <sup>c</sup>	1.47±0.23 <sup>c</sup>	1.84±0.86 <sup>c</sup>	1.73±0.81 <sup>c</sup>	3.61±0.30 <sup>b</sup>	3.40±0.28 <sup>b</sup>	4.88±0.81 <sup>a</sup>	4.60±0.28 <sup>a</sup>
เฮกเซน	5.94±0.60 <sup>a</sup>	5.60±0.57 <sup>a</sup>	5.16±0.24 <sup>ab</sup>	4.87±0.23 <sup>ab</sup>	2.76±0.60 <sup>c</sup>	2.60±0.57 <sup>c</sup>	0.60±0.23 <sup>b</sup>	0.57±0.14 <sup>b</sup>
อะซิโตน	2.62±0.44 <sup>a</sup>	2.47±0.42 <sup>a</sup>	2.97±0.73 <sup>a</sup>	2.80±0.69 <sup>a</sup>	2.05±0.45 <sup>a</sup>	1.93±0.31 <sup>a</sup>	2.47±0.69 <sup>a</sup>	2.33±0.23 <sup>a</sup>
อะซิโตนไตรล์	2.05±0.24 <sup>a</sup>	1.93±0.23 <sup>a</sup>	0.92±0.12 <sup>d</sup>	0.87±0.12 <sup>d</sup>	1.34±0.80 <sup>c</sup>	1.27±0.12 <sup>c</sup>	1.70±0.12 <sup>b</sup>	1.60±0.00 <sup>b</sup>
ข้าวดอกพะยอม (DY)								
การสกัดรอบที่ 1								
เมทานอล	1.63±0.88 <sup>b</sup>	1.53±0.83 <sup>b</sup>	3.46±0.88 <sup>a</sup>	3.27±0.83 <sup>a</sup>	4.31±0.53 <sup>a</sup>	4.07±0.50 <sup>a</sup>	3.25±0.76 <sup>a</sup>	3.07±0.70 <sup>a</sup>
เอทานอล	1.98±0.63 <sup>b</sup>	1.87±0.54 <sup>b</sup>	2.05±0.53 <sup>b</sup>	1.93±0.50 <sup>b</sup>	3.61±0.55 <sup>a</sup>	3.40±1.06 <sup>a</sup>	4.52±0.50 <sup>a</sup>	4.27±0.12 <sup>a</sup>
เฮกเซน	3.53±1.04 <sup>a</sup>	3.33±0.98 <sup>a</sup>	3.68±1.00 <sup>a</sup>	3.47±0.95 <sup>a</sup>	3.82±1.12 <sup>a</sup>	3.60±1.06 <sup>a</sup>	3.82±0.95 <sup>a</sup>	3.27±0.95 <sup>a</sup>
อะซิโตน	2.62±0.44 <sup>c</sup>	2.47±0.42 <sup>c</sup>	3.32±0.32 <sup>bc</sup>	3.13±0.31 <sup>bc</sup>	3.96±0.30 <sup>ab</sup>	3.73±0.23 <sup>ab</sup>	4.74±0.31 <sup>a</sup>	4.47±1.10 <sup>a</sup>
อะซิโตนไตรล์	1.48±0.42 <sup>a</sup>	1.40±0.40 <sup>a</sup>	2.19±0.24 <sup>a</sup>	2.07±0.23 <sup>a</sup>	2.55±0.00 <sup>a</sup>	2.40±0.69 <sup>a</sup>	2.69±0.23 <sup>a</sup>	2.53±0.90 <sup>a</sup>
การสกัดรอบที่ 2								
เอทานอล	1.48±0.42 <sup>a</sup>	1.40±0.40 <sup>a</sup>	1.63±0.12 <sup>a</sup>	1.53±0.12 <sup>a</sup>	2.26±0.74 <sup>a</sup>	2.13±0.70 <sup>a</sup>	2.33±0.56 <sup>a</sup>	2.20±0.53 <sup>a</sup>
เฮกเซน	2.23±0.19 <sup>a</sup>	2.10±0.18 <sup>a</sup>	2.19±0.24 <sup>a</sup>	2.07±0.23 <sup>a</sup>	1.77±0.58 <sup>a</sup>	1.67±0.55 <sup>a</sup>	2.26±1.17 <sup>a</sup>	2.13±1.10 <sup>a</sup>
การสกัดรอบที่ 3								
เอทานอล	2.12±1.10 <sup>a</sup>	2.00±1.04 <sup>a</sup>	-	-	2.05±0.68 <sup>a</sup>	1.93±.64 <sup>a</sup>	-	-
เฮกเซน	1.27±0.42 <sup>a</sup>	1.20±0.40 <sup>a</sup>	-	-	1.91±0.30 <sup>a</sup>	1.80±.28 <sup>a</sup>	-	-

หมายเหตุ: a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำมันรำข้าว ในสภาวะการสกัดต่างๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ± ค่า เบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี DMR



รูปที่ 4.6 ร้อยละปริมาณน้ำมันฐานแห้งที่ได้จากการสกัดน้ำมันน้ำชาหอมมะลิ และดอกพะยอม ด้วยวิธี Ultrasonic extraction

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4.3.2 ปริมาณแกมมาออริซานอลที่ได้จากการสกัดรำข้าวหอมมะลิ และรำข้าวดอกพะยอม ด้วยวิธี Ultrasonic Extraction

ในการสกัดรำข้าวหอมมะลิโดยใช้ตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด คือ เมทานอล เอทานอล เฮกเซน อะซิโตนและอะซิโตนไตรล์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แต่ที่อัตราส่วน 1:6 ตัวทำละลายอะซิโตนและอะซิโตนไตรล์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญซึ่งแตกต่างจากเมทานอล เอทานอลและเฮกเซนอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) เนื่องจากอะซิโตนไตรล์และอะซิโตนมีขั้วสูงจึงสามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้ดีกว่า แต่เมื่อสกัดรำข้าวดอกพะยอมด้วยตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิดที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) แต่ที่อัตราส่วน 1:4 ตัวทำละลายอะซิโตนมีปริมาณแกมมาออริซานอลมากที่สุด ซึ่งแตกต่างกับเอทานอลและเมทานอลอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) ส่วนเฮกเซนและอะซิโตนไตรล์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ในอัตราส่วน 1:10 มีผลเหมือนกับอัตราส่วน 1:4 แต่ว่าเมทานอล เฮกเซนและอะซิโตนไตรล์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) ทั้งนี้ปริมาณแกมมาออริซานอลของแต่ละและตัวทำละลาย และแต่ละสายพันธุ์ไม่แตกต่างกันมากนัก แต่จะมีอะซิโตนไตรล์ที่สามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้มากที่สุดเนื่องจากมีขั้วมากที่สุด

ผลการศึกษการสกัดรำข้าวหอมมะลิอัตราส่วนและตัวทำละลายที่เหมาะสมพบว่าเมื่อใช้อะซิโตนเป็นตัวทำละลายอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดคือ 1:4 สามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้มากถึง  $14.6303 \pm 6.77$  ไมโครกรัม/มิลลิลิตร เมื่อสกัดแกมมาออริซานอลจากรำข้าวดอกพะยอมอัตราส่วนและตัวทำละลายที่เหมาะสมพบว่าเมื่อใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายอัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดคือ 1:8 สามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้มากถึง  $0.8382 \pm 0.28$  ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ดังตารางที่ 4.9 ดังนั้นหากใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายจะต้องใช้รำข้าวในปริมาณมากกว่าตัวทำละลายอื่นๆ เช่นเดียวกับรำข้าวหอมมะลิ จากรูปที่ 4.8 พบว่าอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายที่สกัดแกมมาออริซานอลได้มากจะอยู่ที่อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายที่ 1:4 เนื่องจากอัตราส่วนนี้มีปริมาณตัวทำละลายที่น้อยทำให้สามารถดูดซับคลื่นได้มากกว่าจึงทำให้เกิดฟองที่มีความดันสูงเข้าไปสัมผัสอนุภาคของรำข้าวได้ดี ทำให้สามารถดึงแกมมาออริซานอลได้ดีกว่าทั้งนี้ขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้สกัดด้วยเช่นกันเพราะตัวทำละลายแต่ละชนิดมีสมบัติทางเคมีที่แตกต่างกันจึงมีผลต่อการสกัดด้วยเหมือนกัน ซึ่งงานวิจัย Sala และคณะ (1995) รายงานว่าในสภาวะที่ฟองอากาศแตกนั้นทำให้เกิดอุณหภูมิสูงขึ้นถึง 5,000 เคลวิน (K) และความดันสูงถึง 2,000 atm ในบริเวณจุดที่เกิดคลื่นกระแทก (shock waves) ทั้งนี้เนื่องจากในระหว่งการเกิดการขยายและหดตัวของฟองแก๊สนั้นจะเกิดสมมูลขึ้นระหว่างความดันไภายในและภายนอกฟองแก๊สและพื้นที่ผิวของฟองแก๊สขณะขยายตัวจะมีมากกว่าพื้นที่ผิวของฟองแก๊สขณะหดตัว จึงเป็นผลให้การซึมผ่านของแก๊สในขณะที่ขยายตัวเกิดขึ้นได้มากกว่าและฟองแก๊สนี้จะขยายตัวเพิ่มขึ้นเมื่อจำนวนรอบความถี่เพิ่มขึ้น โดยอัตราส่วนของอัตราการซึมผ่านของแก๊สในขณะที่ขยายตัวต่ออัตราการซึมผ่านของแก๊สในขณะที่ถูกอัดจะเพิ่มมากขึ้นในแต่ละรอบ จนกระทั่งฟองแก๊สมีขนาดเรโซแนนซ์ซึ่งทำให้ของว่างภายในฟองแก๊สมีขนาดโตขึ้นอย่างรวดเร็วภายในหนึ่ง

รอบของการสั้นและเนื่องจากพลังงานที่ได้รับจากคลื่นอัลตราซาวด์ไม่เพียงพอในการคงสภาวะของแก๊สหรือไอ จึงทำให้เกิดการควบแน่น (condensation) ขึ้นทันทีทันใด โดยโมเลกุลที่ควบแน่นนั้นจะชนซึ่งกันและกันอย่างรุนแรง ทำให้เกิดคลื่นกระแทกขึ้นและเกิดจุดหรือบริเวณเล็กๆ ที่มีอุณหภูมิและความดันที่สูงมาก

ตารางที่ 4.8 ปริมาณแกมมาออริซานอลที่ได้จากการสกัดรำข้าวหอมมะลิและรำข้าวดอกพะยอมด้วยวิธี Ultrasonic extraction โดยอัตราส่วนรำข้าว: ตัวทำละลายชนิดต่างๆ (กรัม:มิลลิลิตร)

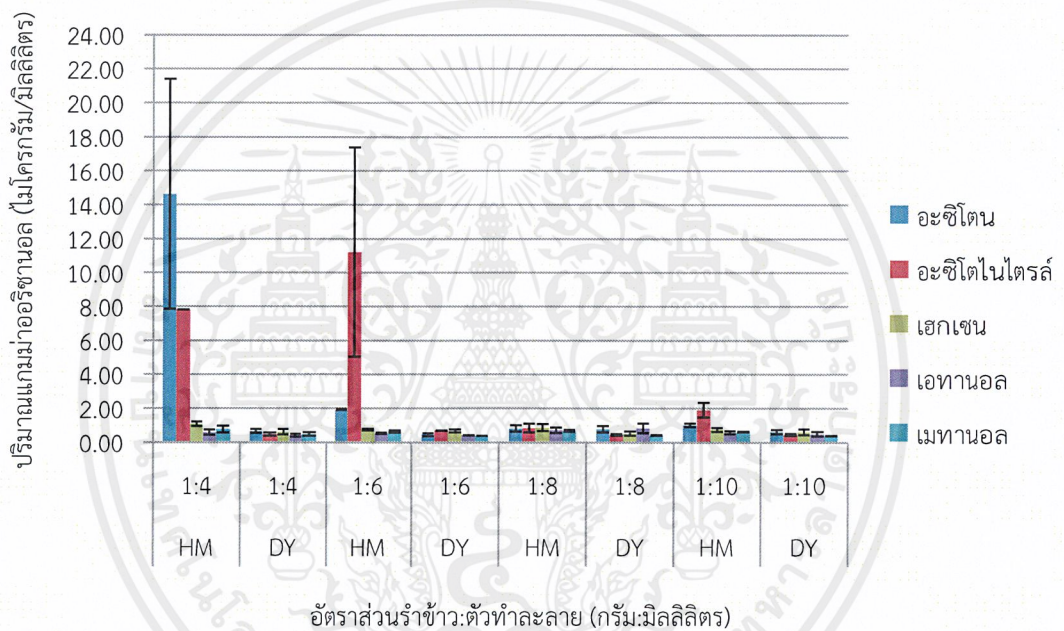
อัตราส่วนรำข้าว:ตัวทำละลาย	ปริมาณแกมมาออริซานอล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)			
	1:4	1:6	1:8	1:10
ชนิดของตัวทำละลาย				
ข้าวหอมมะลิ				
เมทานอล	0.5980±0.14 <sup>a</sup>	0.5347±0.03 <sup>b</sup>	0.7128±0.17 <sup>a</sup>	0.5791±0.08 <sup>a</sup>
เอทานอล	0.7681±0.20 <sup>a</sup>	0.6364±0.07 <sup>b</sup>	0.6792±0.06 <sup>a</sup>	0.6322±0.02 <sup>a</sup>
เฮกเซน	1.0835±0.13 <sup>a</sup>	0.7500±0.05 <sup>b</sup>	0.8625±0.21 <sup>a</sup>	0.7497±0.12 <sup>a</sup>
อะซิโตน	14.6303±6.77 <sup>a</sup>	1.9367±0.63 <sup>a</sup>	0.8158±0.19 <sup>a</sup>	1.0173±0.10 <sup>a</sup>
อะซิโตนไตรล	7.8250±0.00 <sup>a</sup>	11.2120±6.16 <sup>a</sup>	0.8415±0.26 <sup>a</sup>	1.9141±0.44 <sup>a</sup>
ข้าวดอกพะยอม				
สกัดรอบที่1				
เมทานอล	0.4207±0.08 <sup>b</sup>	0.4199±0.01 <sup>a</sup>	0.8382±0.28 <sup>a</sup>	0.5027±0.13 <sup>ab</sup>
เอทานอล	0.4868±0.10 <sup>b</sup>	0.3885±0.00 <sup>a</sup>	0.4260±0.02 <sup>a</sup>	0.3998±0.01 <sup>b</sup>
เฮกเซน	0.6167±0.16 <sup>ab</sup>	0.6658±0.08 <sup>a</sup>	0.5207±0.12 <sup>a</sup>	0.6161±0.16 <sup>ab</sup>
อะซิโตน	0.6635±0.11 <sup>a</sup>	0.4543±0.08 <sup>a</sup>	0.7764±0.19 <sup>a</sup>	0.6193±0.12 <sup>a</sup>
อะซิโตนไตรล	0.4871±0.09 <sup>ab</sup>	0.6913±0.01 <sup>a</sup>	0.4527±0.04 <sup>ar</sup>	0.4618±0.05 <sup>ab</sup>
สกัดรอบที่2				
เอทานอล	0.5080±0.08 <sup>a</sup>	0.3859±0.03	0.5089±0.12 <sup>a</sup>	0.5138±0.14
เฮกเซน	-	-	-	-
สกัดรอบที่3				
เอทานอล	-	-	-	-
เฮกเซน	-	-	-	-

หมายเหตุ: a, b ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงปริมาณแกมมาออริซานอล ในสภาวะการสกัดต่างๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานโดยวิธี DMRT

Aprotic solvents				Protic solvents	
Nonpolar		Polar			
Hexane	1.9	Pyridine	12	Acetic acid	6.1
Carbon tetrachloride	2.2	Acetone	21	Trifluoroacetic acid	8.6
Dioxane	2.2	Hexamethylphosphoramide	30	<i>t</i> -Butyl alcohol	12.5
Benzene	2.3	Nitromethane	36	Ammonia	(22)
Diethyl ether	4.3	Dimethylformamide	37	Ethanol	24.5
Chloroform	4.8	Acetonitrile	38	Methanol	32.7
Tetrahydrofuran	7.6	Dimethyl sulfoxide	47	Water	78

a. Dielectric constant data are abstracted from the compilation of solvent properties in J. A. Riddick and W. B. Bunger, eds., *Organic Solvents*, Vol. II of *Techniques of Organic Chemistry*, 3rd ed., Wiley-Interscience, New York, 1970.

รูปที่ 4.7 ค่าคงที่ไดอิเล็กทริกของตัวทำละลายโดยทั่วไป (Francis et al. 2006)



รูปที่ 4.8 ปริมาณแกมมาเออร์โซลที่ได้จากการสกัดรำข้าวดอกพะยอมด้วยวิธี Ultrasonic

#### 4.3.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

จากการศึกษาความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้ร้อยละ 50 ของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยวิธี Ultrasonic ดังตารางที่ 4.10 พบว่ารำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิที่สกัดด้วยตัวทำละลายอะซิโตน สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้มากที่สุด และดีที่สุดที่อัตราส่วน 1:4 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) เนื่องจากอะซิโตน มีคุณสมบัติของตัวทำละลายอินทรีย์ที่แตกต่างจากตัวทำละลายชนิดอื่น คือ มีความดันไอสูงกว่าสารอื่น ความหนืดต่ำ (ฤติมาศ, 2555) จึงทำให้สกัดสารต้านอนุมูลอิสระออกมาได้มากและเป็นตัวทำละลายที่มีขี้เข้นเดียวกับเมทานอล เอทานอล และอะซิโตนไนไตรล์ ส่วนความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 ของน้ำมันรำข้าวดอกพะยอมที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้มากที่สุด และดีที่สุดที่อัตราส่วน 1:8 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) และเมื่อนำสองสายพันธุ์มา

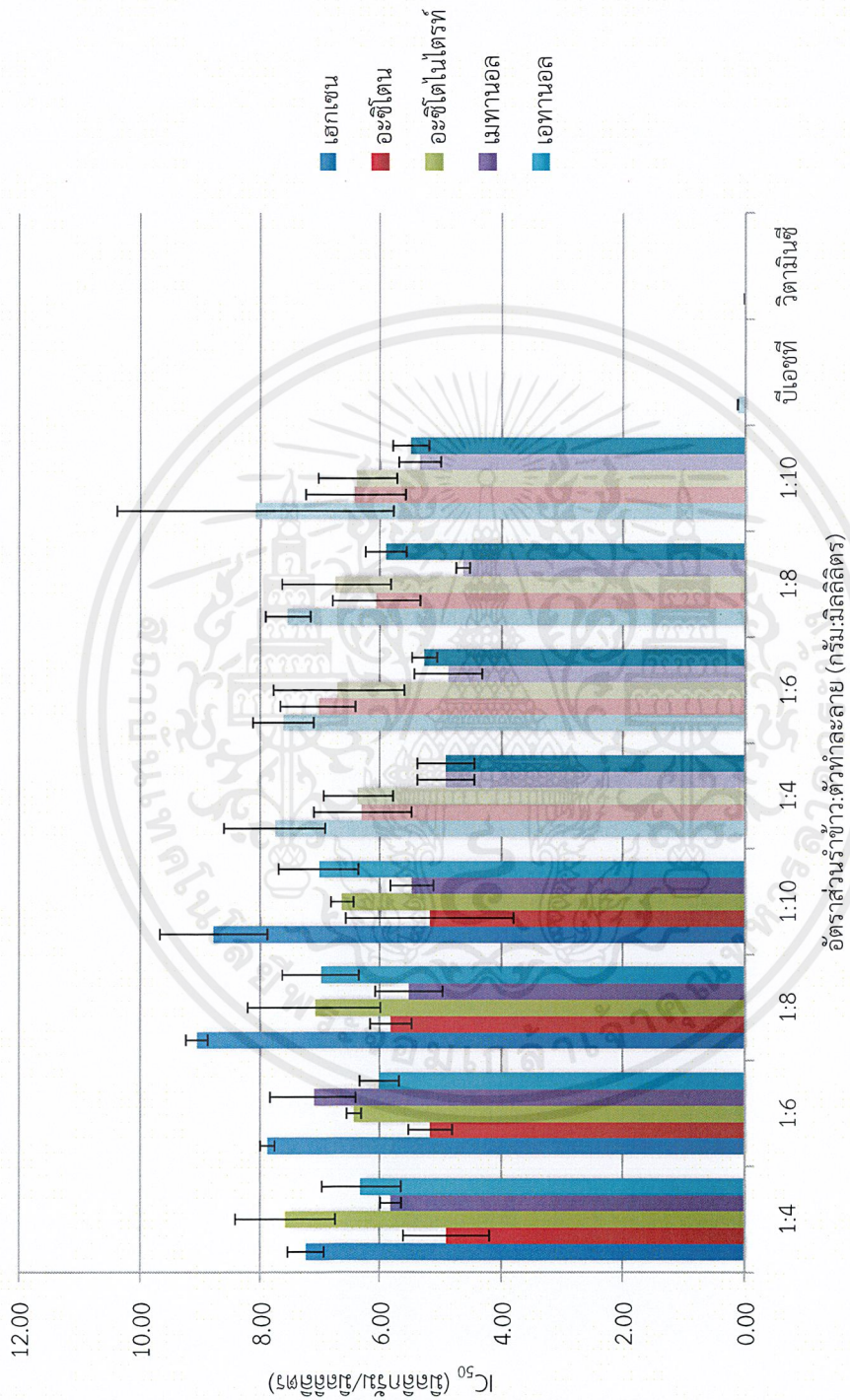
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบกันพบว่าอัตราส่วน 1:4 1:6 1:8 และ 1:10 และชนิดของตัวทำละลายไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งแสดงได้ดังรูปที่ 4.8

ตารางที่ 4.9 ทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH จากการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction ของน้ำมันรำข้าวสองสายพันธุ์จากการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 20 นาที โดยอัตราส่วนรำข้าว: ตัวทำละลายชนิดต่างๆ (กรัม:มิลลิลิตร)

สายพันธุ์	อัตราส่วน	ค่า IC <sub>50</sub> (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร)				
		เมทานอล	เอทานอล	เฮกเซน	อะซิโตน	อะซิโตนไทรท
HM	1:4	5.818±0.17 <sup>ab</sup>	6.315±0.66 <sup>bc</sup>	7.241±0.30 <sup>cd</sup>	4.905±0.71 <sup>a</sup>	7.576±0.85 <sup>d</sup>
	1:6	7.118±0.73 <sup>cd</sup>	6.003±0.32 <sup>ab</sup>	7.886±0.11 <sup>d</sup>	5.171±0.36 <sup>a</sup>	6.418±0.12 <sup>c</sup>
	1:8	5.521±0.55 <sup>a</sup>	6.991±0.65 <sup>bc</sup>	9.058±0.19 <sup>d</sup>	5.815±0.34 <sup>ab</sup>	7.095±1.11 <sup>c</sup>
	1:10	5.472±0.35 <sup>a</sup>	7.025±0.68 <sup>b</sup>	8.779±0.89 <sup>c</sup>	5.176±1.38 <sup>a</sup>	6.617±0.19 <sup>ab</sup>
DY	1:4	4.917±0.47 <sup>a</sup>	4.917±0.47 <sup>a</sup>	7.770±0.85 <sup>c</sup>	6.299±0.82 <sup>b</sup>	6.366±0.58 <sup>b</sup>
	1:6	4.878±0.21 <sup>a</sup>	5.270±0.56 <sup>a</sup>	7.621±0.49 <sup>b</sup>	7.039±0.64 <sup>b</sup>	6.697±1.10 <sup>b</sup>
	1:8	4.642±0.33 <sup>a</sup>	5.897±0.11 <sup>b</sup>	7.552±0.37 <sup>c</sup>	6.058±0.72 <sup>b</sup>	6.732±0.91 <sup>bc</sup>
	1:10	5.347±0.30 <sup>a</sup>	5.492±0.34 <sup>a</sup>	8.077±2.30 <sup>b</sup>	6.415±0.84 <sup>ab</sup>	6.382±0.67 <sup>ab</sup>

หมายเหตุ: a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดน้ำมันด้วยวิธี Ultrasonic ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี DMRT

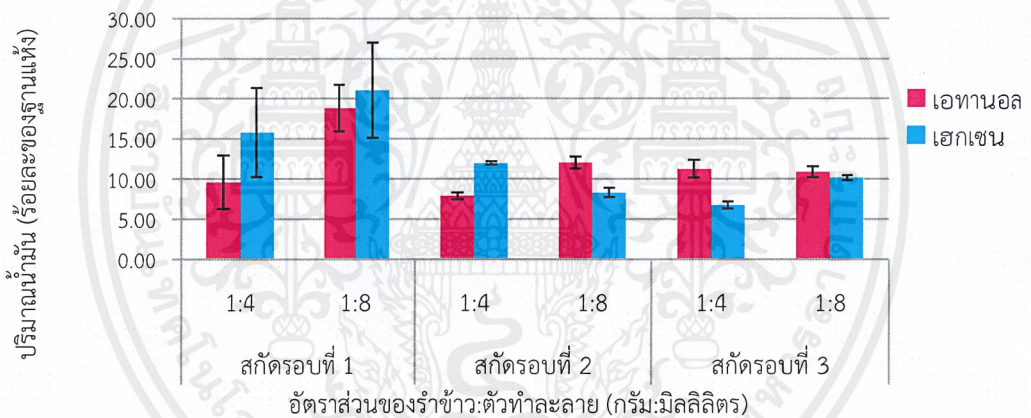


รูปที่ 4.9 กราฟแสดงค่า IC<sub>50</sub> ของสารสกัดน้ำเมธานอลและเอทานอลด้วยวิธี Ultrasonic extraction

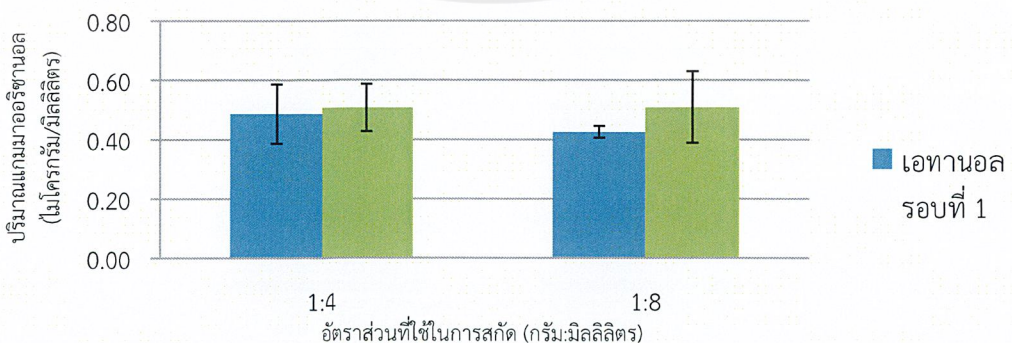
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4 การวิเคราะห์ร้อยละของปริมาณน้ำมันฐานแห้ง และปริมาณแกมมาออริซานอลที่จากการสกัดรอบ 1 2 และ 3 ของรำข้าวสาลีพันธุ์ดอกพะยอม ด้วยวิธี Ultrasonic extraction

จากการสกัดปริมาณน้ำมันรอบที่ 2 และ 3 จากตารางที่ 4.7ที่อัตราส่วน 1:4 และ 1:8 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) นั่นก็แสดงว่ารำข้าวที่นำมาสกัดยังคงมีปริมาณน้ำมันเหลืออยู่ จึงสามารถสกัดน้ำมันซ้ำ 2-3 รอบได้ แต่ถ้าปริมาณน้ำมันเพียงพอ ไม่จำเป็นต้องสกัดอาจเป็นการเสียเวลา และสิ้นเปลืองค่าใช้จ่าย และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณแกมมาออริซานอลจากตารางที่ 4.8 ในการสกัดรอบที่ 1 และ 2 พบว่าผลของอัตราส่วนที่ 1:4 และ 1:8 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ( $p > 0.05$ ) เนื่องจากเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วทำให้สกัดแกมมาออริซานอลออกมาได้น้อย จึงเลือกวิเคราะห์เฉพาะตัวทำละลาย เอทานอล ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสามารถดึงแกมมาออริซานอลที่เป็นสารที่มีขั้วเช่นเดียวกันออกมาได้ในปริมาณมาก ดังรูปที่ 4.10 ในการวิเคราะห์การสกัดซ้ำถือเป็นการวิเคราะห์สารอย่างหนึ่งเพื่อตั้งสารทั้งหมดที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวออกมาให้หมด



รูปที่ 4.10 ร้อยละของปริมาณน้ำมันฐานแห้ง รำข้าวดอกพะยอม ที่ผ่านการสกัดรอบ 1 2 และ 3 ในอัตราส่วน 1:4 และ 1:8 ด้วยวิธี Ultrasonic extraction



รูปที่ 4.11 ปริมาณแกมมาออริซานอลดอกพะยอมที่ผ่านการสกัดรอบ 1 และ 2 ในอัตราส่วน 1:4 และ 1:8 ด้วยวิธี Ultrasonic extraction

4.3.5 การวิเคราะห์ร้อยละของปริมาณน้ำมันฐานแห้ง ปริมาณแกมมาออริซานอลและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในเวลาต่างกันของรำข้าวสาลีพันธุ์ดอกพะยอม

จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมัน ปริมาณแกมมาออริซานอล และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยทดสอบในเวลาต่างกันดังตารางที่ 4.11 4.12 และ 4.13 เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณน้ำมัน แกมมาออริซานอล และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้น และเริ่มคงที่เมื่อเวลาผ่านไปประมาณ 10 นาที และจะลดลงเมื่อใช้เวลาเพิ่มขึ้น ดังนั้นควรศึกษาสภาวะ (Tian และคณะ, 2013) และเวลา (Zhang และคณะ, 2008) ที่เหมาะสมต่อการสกัด เพื่อไม่ให้เกิดการสูญเสียสารสำคัญที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าว และเพิ่มต้นทุนในการซื้ออุปกรณ์ และสารเคมี

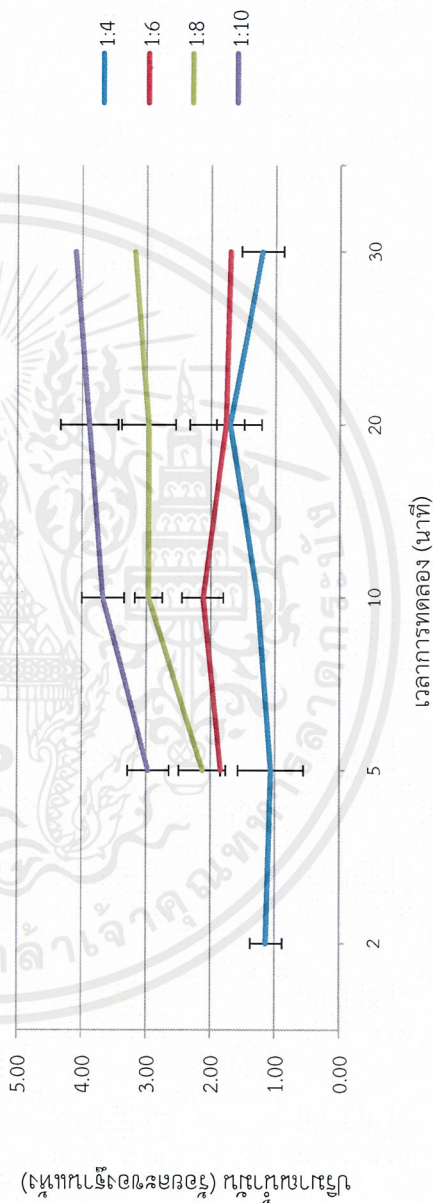
ตารางที่ 4.10 ปริมาณน้ำมันรำข้าวสาลีพันธุ์ดอกพะยอมที่เวลาต่างด้วยวิธี Ultrasonic extraction สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 2, 5, 10, 20 และ 30 นาที

อัตราส่วน เวลา	ปริมาณน้ำมัน (กรัม)				
	2	5	10	20	30
1:4	0.05±0.02 <sup>b</sup>	0.06±0.02 <sup>ab</sup>	0.06±0.00 <sup>ab</sup>	0.08±0.01 <sup>a</sup>	0.06±0.02 <sup>ab</sup>
1:6	-	0.09±0.00 <sup>a</sup>	0.10±0.00 <sup>a</sup>	0.08±0.02 <sup>a</sup>	0.08±0.03 <sup>a</sup>
1:8	-	0.10±0.00 <sup>a</sup>	0.14±0.02 <sup>a</sup>	0.14±0.02 <sup>a</sup>	0.15±0.02 <sup>a</sup>
1:10	-	0.14±0.00 <sup>a</sup>	0.17±0.02 <sup>a</sup>	0.18±0.02 <sup>a</sup>	0.19±0.02 <sup>a</sup>

หมายเหตุ: a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำมันรำข้าว ในสภาวะการสกัดต่างๆ ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P \leq 0.05$ ) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี DMRT (ค่าทางสถิติของปริมาณน้ำมันฐานแห้ง และฐานเปียกมีค่าเหมือนกับปริมาณน้ำมัน (กรัม))

ตารางที่ 4.11 ปริมาณน้ำมีฐานแห้ง และสถานะเปียก ที่อัตราส่วนร้ำข้าว:ตัวทำละลาย (กรัม:มิลลิลิตร) ของร้ำข้าวสายพันธุ์ดอกพะยอมจากการสกัดที่เวลาต่าง ด้วยวิธี Ultrasonic extraction สภาวะการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 2, 5, 10, 20 และ 30 นาที

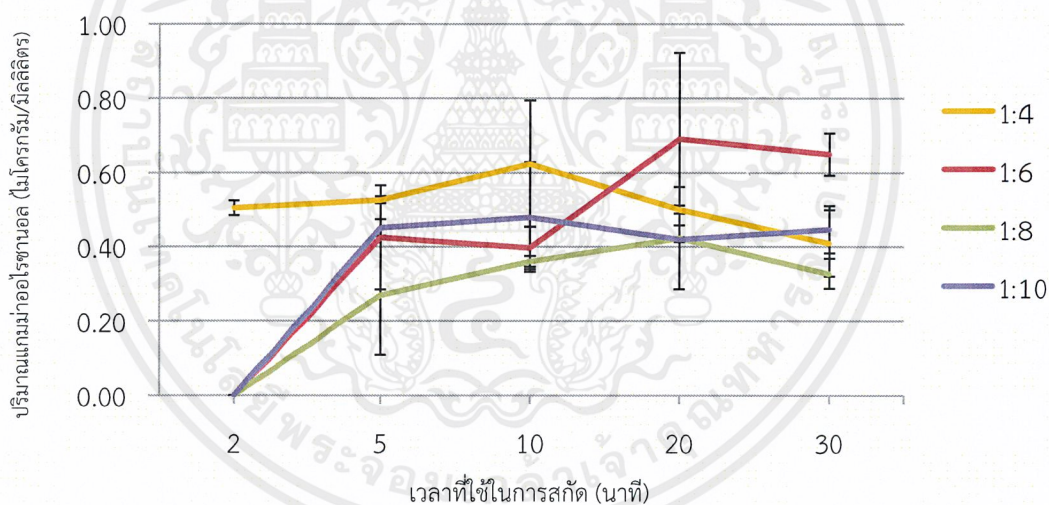
อัตราส่วน เวลา	1:4		1:6		1:8		1:10	
	%d.b	%w.b	%d.b	%w.b	%d.b	%w.b	%d.b	%w.b
2	1.13±0.24 <sup>b</sup>	1.07±0.20 <sup>b</sup>	-	-	-	-	-	-
5	1.06±0.51 <sup>ab</sup>	1.00±0.65 <sup>ab</sup>	1.84±0.44 <sup>a</sup>	1.73±0.32 <sup>a</sup>	2.12±0.42 <sup>a</sup>	2.00±0.23 <sup>a</sup>	2.97±0.64 <sup>a</sup>	2.80±0.35 <sup>a</sup>
10	1.27±0.00 <sup>ab</sup>	1.20±0.00 <sup>ab</sup>	2.12±0.00 <sup>a</sup>	2.00±0.00 <sup>a</sup>	2.97±0.37 <sup>a</sup>	2.80±0.12 <sup>a</sup>	3.68±0.32 <sup>a</sup>	3.47±0.21 <sup>a</sup>
20	1.70±0.21 <sup>a</sup>	1.60±0.12 <sup>a</sup>	1.77±0.32 <sup>a</sup>	1.67±0.32 <sup>a</sup>	2.97±0.21 <sup>a</sup>	2.80±0.12 <sup>a</sup>	3.89±0.32 <sup>a</sup>	3.67±0.14 <sup>a</sup>
30	1.20±0.32 <sup>ab</sup>	1.13±0.14 <sup>ab</sup>	1.70±0.56 <sup>a</sup>	1.60±0.12 <sup>a</sup>	3.18±0.32 <sup>a</sup>	3.00±0.23 <sup>a</sup>	4.10±0.44 <sup>a</sup>	3.87±0.32 <sup>a</sup>



รูปที่ 4.12 ปริมาณน้ำมีฐานแห้งของร้ำข้าวดอกพะยอมในเวลาที่ต่างกัน

ตารางที่ 4.12 ปริมาณแกมมาออริซานอลด้วยวิธี Ultrasonic extraction ในเวลาแตกต่างกันจากการสกัดรำข้าวดอกพะยอมโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในอัตราส่วนรำข้าว: ตัวทำละลายเป็น (กรัม:มิลลิลิตร)

เวลา (นาที)	ปริมาณแกมมาออริซานอล (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)			
	อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย (กรัม:มิลลิลิตร)			
	1:4	1:6	1:8	1:10
2	0.5044±0.02	-	-	-
5	0.5266±0.01	0.4256±0.14	0.5198±0.13	0.4515±0.02
10	0.6235±0.17	0.3971±0.06	0.3607±0.01	0.4799±0.15
20	0.5007±0.01	0.6904±0.23	0.4235±0.14	0.4200±0.01
30	0.4096±0.09	0.6494±0.06	0.3276±0.04	0.4464±0.06

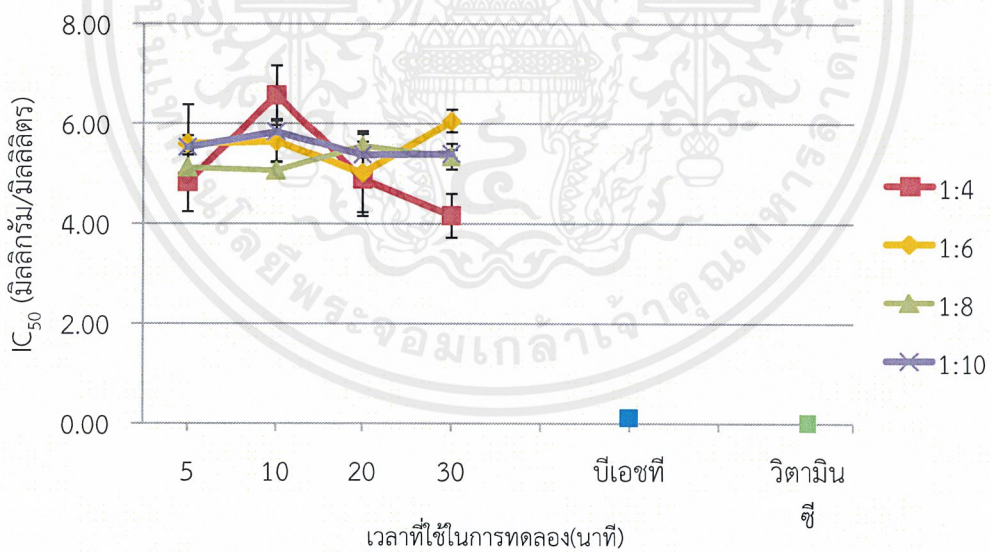


รูปที่ 4.13 ปริมาณแกมมาออริซานอลของรำข้าวดอกพะยอมในเวลาต่างกัน

ตารางที่ 4.13 ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ด้วยวิธี Ultrasonic extraction ที่เวลาแตกต่างกันจากการสกัดสกัดน้ำมันรำข้าวสองสายพันธุ์จากการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 5 10 20 และ 30 นาที โดยอัตราส่วนรำข้าว: ตัวทำละลายชนิดต่างๆ (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)

สายพันธุ์	เวลาที่ใช้ในการทดลอง (นาที)	ค่า IC <sub>50</sub> (มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ของข้าวดอกพะยอมที่อัตราส่วนของรำข้าว:ตัวทำละลาย(กรัม:มิลลิลิตร)			
		1:4	1:6	1:8	1:10
DY	5	4.838±0.60 <sup>a</sup>	5.604±0.16 <sup>a</sup>	5.128±0.24 <sup>a</sup>	5.532±0.85 <sup>a</sup>
	10	6.563±0.60 <sup>c</sup>	5.643±0.41 <sup>ab</sup>	5.065±0.16 <sup>a</sup>	5.839±0.24 <sup>bc</sup>
	20	4.891±0.74 <sup>a</sup>	5.015±0.79 <sup>a</sup>	5.558±0.23 <sup>a</sup>	5.381±0.47 <sup>a</sup>
	30	4.160±0.44 <sup>a</sup>	6.053±0.23 <sup>c</sup>	5.341±0.26 <sup>b</sup>	5.399±0.08 <sup>b</sup>

หมายเหตุ: a, b, c ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงค่าเฉลี่ยของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดน้ำมันด้วยวิธี Ultrasonic ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย  $\pm$  ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี DMRT



รูปที่ 4.14 ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวดอกพะยอมในเวลาต่างกัน

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองการสกัดน้ำมันรำข้าวด้วยวิธี Soxhlet extraction ในการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันรำข้าว 2 สายพันธุ์ จะพบว่าตัวทำละลายที่สามารถสกัดน้ำมันได้มากที่สุดคือ เฮกเซน เนื่องจากเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วจึงสามารถสกัดน้ำมันที่เป็นสารไม่มีขั้วได้มาก เมื่อนำมาวิเคราะห์สารแกมมาออริซานอลด้วยวิธี HPLC จะพบว่าในการสกัดน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิ ตัวทำละลายที่สามารถสกัดได้ปริมาณแกมมาออริซานอลได้มากที่สุดคือ เมทานอล แต่เมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ตัวทำละลายที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุดคือ เอทานอล และการวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์ดอกพะยอมตัวทำละลายที่สามารถสกัดแกมมาออริซานอลได้ปริมาณมากที่สุดคือ เอทานอล

จากผลการทดลองการสกัดน้ำมันรำข้าวด้วยวิธี Ultrasonic extraction ในการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิที่ตัวทำละลายทั้ง 5 ชนิด ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนในการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์ดอกพะยอมที่ใช้ตัวทำละลาย อะซิโตน สามารถสกัดน้ำมันออกมาได้มากที่สุด เมื่อนำน้ำมันที่สกัดได้มาวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาออริซานอลของรำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิ พบว่าในการสกัดด้วยตัวทำละลาย อะซิโตน สามารถสกัดสารแกมมาออริซานอลได้มากที่สุด ส่วนการวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาออริซานอลของรำข้าวสายพันธุ์ดอกพะยอม พบว่าในการสกัดด้วยตัวทำละลาย เมทานอล สามารถสกัดสารแกมมาออริซานอลได้มากที่สุด และเมื่อนำน้ำมันที่สกัดได้มาวิเคราะห์การยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ของรำข้าวหอมมะลิ พบว่าการสกัดด้วย อะซิโตน มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด และเมื่อวิเคราะห์รำข้าวดอกพะยอมผลของ เมทานอล มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้มากที่สุด

จากผลการศึกษาการสกัดปริมาณน้ำมันและแกมมาออริซานอลรอบที่ 2 และ 3 ที่อัตราส่วน 1:4 และ 1:8 โดยใช้ตัวทำละลายคือ เอทานอล และเฮกเซน พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

จากการศึกษาปริมาณน้ำมันรำข้าว ปริมาณแกมมาออริซานอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่เวลาต่างกันของข้าวสายพันธุ์ดอกพะยอม พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณน้ำมัน ปริมาณแกมมาออริซานอล และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เพิ่มมากขึ้นในช่วง 2-10 นาที และจะคงที่หรืออาจลดลง หากใช้เวลานานส่งผลให้คุณภาพของน้ำมัน ปริมาณแกมมาออริซานอล และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระลดน้อยลง

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของการสกัดระหว่างวิธี Soxhlet และวิธี Ultrasonic พบว่าหากเทียบจากการสกัดรำข้าว 1 กรัมถ้าสกัดด้วยวิธี Soxhlet จะได้ปริมาณน้ำมันมากกว่าการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic ส่วนในการวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาออริซานอลการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic จะได้ปริมาณแกมมาออริซานอลมากกว่าการสกัดด้วยวิธี Soxhlet และเมื่อนำมาศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าแกมมาออริซานอลที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic ซึ่งการศึกษาในครั้งนี้ทำให้ทราบสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมัน สารแกมมาออริซานอล และประสิทธิภาพในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้วิธีคลื่นเสียงร่วมในการสกัด สามารถนำมาเป็นทางเลือกหนึ่งที่ประหยัดเวลา และค่าใช้จ่ายในการสกัดน้ำมันรำข้าว และสารแกมมาออริซานอลที่มีคุณภาพในการต้านอนุมูลอิสระได้

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

- ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ในการสกัดด้วยวิธี Ultrasonic extraction เช่น อุณหภูมิ และเวลา
- ควรศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมีและสาระสำคัญที่มีอยู่ในรำข้าว
- ควรศึกษาสายพันธุ์ข้าวให้มีความหลากหลายมากขึ้น
- มีการวางแผนการทดลองอย่างเป็นระบบ

## บรรณานุกรม

- กิตติมา และสาโรจน์. 2555. รำข้าวจากอาหารหมู่อำหารเพื่อสุขภาพของคน. [ออนไลน์].  
แหล่งที่มา:<http://www.mfu.ac.th/school/agro2012/events/298>. สืบค้นวันที่  
4/01/2558
- จักรพงษ์ ไพบุลย์. สารต้านอนุมูลอิสระ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.thaiclinic.com> สืบค้น  
วันที่ 25/09/2557
- จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. Soxhlet extraction. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
[http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course\\_info/2302275/chapter8.pdf](http://www.chemistry.sc.chula.ac.th/course_info/2302275/chapter8.pdf).  
สืบค้นวันที่ 04/01/2558
- ฉลวย ทับศรี ม่วงพรวน. 2555. การศึกษาผลการบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันรำข้าวและจมูก  
ข้าว P2PLUS. บริษัทปทุมสิทธิ์จำกัดประเทศไทย จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย  
ทิพย์เนตร อริยพิติพันธ์, กิตติมา แมคิเนน. 2552. น้ำมันรำข้าว. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
[http://www.nutritionthailand.or.th/upload/magazine/  
JNAT52-1Website\\_reduce.pdf](http://www.nutritionthailand.or.th/upload/magazine/JNAT52-1Website_reduce.pdf)
- ธิดารัตน์ หนองสุวรรณ. 2550. การสกัดวิตามินอีจากดิสทิลเลตของน้ำมันรำข้าว. มหาวิทยาลัยราชภัฏ  
เชียงใหม่. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://research.cmru.ac.th/2014/journal/file/13-  
01-006.pdf](http://research.cmru.ac.th/2014/journal/file/13-01-006.pdf)
- ธนาคารแห่งประเทศไทย สำนักงานภาคตะวันออกเฉียงเหนือ. 2557. สถานการณ์สินค้าเกษตรปี  
2557 และแนวโน้มปี 2558. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
[https://www.bot.or.th/Thai/MonetaryPolicy/  
NorthEastern/Doclib\\_CommodityYearly/Yearly-2557\\_Trend-2558\\_final.pdf](https://www.bot.or.th/Thai/MonetaryPolicy/NorthEastern/Doclib_CommodityYearly/Yearly-2557_Trend-2558_final.pdf).
- นฤมล จิย์โชค และคณิต กฤษณังกูร. 2012. วิตามินและแร่ธาตุในไขรำข้าว.  
[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.force.kmutt.ac.th/index.php?option=  
com\\_content&view=article&id=60:2012-12-21-03-58-  
30&catid=36:research&Itemid=63](http://www.force.kmutt.ac.th/index.php?option=com_content&view=article&id=60:2012-12-21-03-58-30&catid=36:research&Itemid=63).
- ประเทืองศรี สิ้นชัยศรี. 2551. รำข้าวและจมูกข้าว (คัพภะ) เพื่อสุขภาพและความงาม. วารสาร  
วิทยาศาสตร์. ปีที่ 62 ฉบับที่ 3 พฤษภาคม-มิถุนายน 2551: 37-39
- ปริตดาวรรณ ขอช่วยกลาง, วรณู ศรีเจษฎารักษ์. 1013. การเปรียบเทียบวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย  
ต่อการสกัดวิตามินอีและแกมมา-โอโรซานอลจากรำข้าวพันธุ์ กข6. แหล่งที่มา:  
<http://gsbooks.gs.kku.ac.th/56/grc14/files/bmp17.pdf>.

## บรรณานุกรม(ต่อ)

- ปรียนันท์ บัวสอด. 2546. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay) และกลไกการเกิดปฏิกิริยาของ DPPH [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.thapra.lib.su.ac.th/objects/thesis/fulltext/snamcn/Preeyanan\\_Buasod/Fulltext.pdf](http://www.thapra.lib.su.ac.th/objects/thesis/fulltext/snamcn/Preeyanan_Buasod/Fulltext.pdf)
- ผดุงขวัญ จิตโรภาส, อรุณศรี ปรีเปรม, บุญมี ศิริ, ชิตชนก คำเลิศ, บังอร ศรีพานิชกุลชัย. 2547. ปัจจัยที่มีผลต่อการต้านออกซิเดชันและแกมมาออริซานอลในเมล็ดรำข้าวหอมดอกมะลิ 105 (RBT).มหาวิทยาลัยขอนแก่น.[http://www.resjournal.kku.ac.th/article/9\\_2\\_59.pdf](http://www.resjournal.kku.ac.th/article/9_2_59.pdf)
- พิมพ์เพ็ญและนิธิยา. การสีข้าว (Rice milling). [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3644/การสีข้าว-rice-milling>.
- เพชรรุ่ง เทพทอง, จิตพิสุทธิ จันทร์ทองอ่อน, อรณณี ประจวบจินดา, ศรีโสภา เรืองหนู และอรุณพร อิฐรัตน์. 2555. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity). [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.tu.ac.th/org/research/GS-NETT2012/GS-NETT2012%20Web-%20proceedings\\_files/fullpaper/Sci-Health%20020.pdf](http://www.tu.ac.th/org/research/GS-NETT2012/GS-NETT2012%20Web-%20proceedings_files/fullpaper/Sci-Health%20020.pdf).
- มัทธนา บัวหนองมณี, ชัย วงษ์อารี, ชัยรัตน์ เตชะวุฒิพร. 2552. บทบาทของเอทีฟอน สภาพเครียดจากการขาดน้ำและความชื้นสัมพันธ์ต่อการเสื่อมสภาพของบัวหลวงตัดดอก [http://doi1.nrct.go.th/?page=download\\_digital\\_file&bibid=6645&file\\_id=57001&id=cb63a3d0009e1893e00f3adb6af443f2](http://doi1.nrct.go.th/?page=download_digital_file&bibid=6645&file_id=57001&id=cb63a3d0009e1893e00f3adb6af443f2)
- รำข้าวแหล่งสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.4care.co.th/th/articles/interesting-articles/18-2009-08-28-10-15-58/174-2011-01-29-05-52-55.html>
- รัชนี คงคาฉุยฉาย, ริญ เจริญศิริ, อภิชาติ วรรณวิจิตร และศิริพัฒน์ เรืองพยัคฆ์. อนุมูลอิสระ (free radical). [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: at [www.ORAC.com](http://www.ORAC.com)
- ฤดีมาศ พุ่มกล้า. 2555. มหาวิทยาลัยศิลปากร. ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเปลือกอบเชยอินโดนีเซีย.[ออนไลน์] แหล่งที่มา: [http://www.thapra.lib.su.ac.th/objects/thesis/fulltext/snamcn/Ruedeemas\\_Pumklam/fulltext.pdf](http://www.thapra.lib.su.ac.th/objects/thesis/fulltext/snamcn/Ruedeemas_Pumklam/fulltext.pdf)
- สารต้านออกซิเดชัน. 2549. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://coursewares.mju.ac.th:81/e-learning50/FT320/0311.html>
- สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร (องค์การมหาชน), 2546. กรรมวิธีการสีข้าว. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://www.arda.or.th/kasetinfo/rice/rice\\_product/rice-product4\\_1.html](http://www.arda.or.th/kasetinfo/rice/rice_product/rice-product4_1.html)

## บรรณานุกรม(ต่อ)

- อนรรฆอร ศรีไสยเพชร และ มาโนชญ์ณอมวัฒน์. 2555. มหาวิทยาลัยแม่โจ้. การพัฒนาวิธีการสกัด แยกและวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันโดยใช้ค่าสัมประสิทธิ์การดูดซับ.(ออนไลน์).  
แหล่งที่มา:[http://librae.mju.ac.th/goverment/20111119104834\\_librae/File20121108140524\\_7768.pdf](http://librae.mju.ac.th/goverment/20111119104834_librae/File20121108140524_7768.pdf)
- Abdel-Aal, El-Sayed M., Humayoun Akhtar, Iwona Rabalski, and Michael Bryan. 2014. Accelerated, Microwave-Assisted, and Conventional Solvent Extraction Methods Affect Anthocyanin Composition from Colored Grains. *Journal of Food Science* 79(2): C138–146.
- Chen, M.-H. Bergman, C.J. 2005. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and  $\gamma$ -oryzanol contents. Original Article, 139–151
- Connor, M.A., Saunders, R.M., & Kohler, G.O. 1976. Rice bran protein concentrates obtained by wet alkaline extraction. *Cereal Chemistry*, 53(4), 488.
- Food Network Solution. 2010. การสีข้าว. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3644/%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%AA%E0%B8%B5%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7-rice-milling>.
- Francis A. Carey, Richard J. Sundberg. 2006. *Advanced Organic Chemistry: Part A: Structure and Mechanisms*. New York: Springer Science & Business Media, 2006
- James B. Taylor, Sparta; Thomas M. Richar, Long Valley; Carolyn L. Wilhelm, Hackettstown; Michael M. Chrysam, Blairstown; Michael Otterburn, Randolph; Gilbert A. Leveille, Denville, all of N. J. 1997. *Trends in Food Science & Technology* 8(6): 207.
- Jesus, Susana P., Renato Grimaldi, and Haiko Hense. 2010. Recovery of  $\gamma$ -Oryzanol from Rice Bran Oil Byproduct Using Supercritical Fluid Extraction. *The Journal of Supercritical Fluids* 55(1): 149–155.
- Lee, Wei Cai, Roziahanim Mahmud, Suthagar Pillai, Shanmugapriya Perumal, and Sabariah Ismail. 2012. Antioxidant Activities of Essential Oil of *Psidium Guajava* L. Leaves. *APCBEE Procedia* 2. 3<sup>rd</sup> International Conference on Biotechnology and Food Science (ICBFS 2012), April 7-8, 2012: 86–91.

## บรรณานุกรม(ต่อ)

- Lijun Wang and Curtis L.Weller. 2006. Recent Advances in Extraction of Nutraceuticals from Plants. *Trends in Food Science & Technology*.17: 300–312
- Lilitchan, Supathra, Cholticha Tangprawat, Kornkanok Aryusuk, et al. .2008 Partial Extraction Method for the Rapid Analysis of Total Lipids and  $\gamma$ -Oryzanol Contents in Rice Bran. *Food Chemistry* 106(2): 752–759.
- Nandi, Isita, and Mahua Ghosh. 2015. Studies on Functional and Antioxidant Property of Dietary Fibre Extracted from Defatted Sesame Husk, Rice Bran and Flaxseed. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 5(2): 129–136.
- Panthiwa Khamdee, 2015. การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (Moisture) หรือวัตถุแห้ง (Dry matter, DM), การวิเคราะห์หาโปรตีน (Crude protein, CP). [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.academia.edu/6264640/การวิเคราะห์หาปริมาณความชื้นMoisture หรือวัตถุแห้ง DrymatterDM>.
- Piebiep Goufoa, José Pereiraa, b, Nuno Figueiredoc, M.Beatriz P.P. Oliveirad, Corina Carrancac, e, Eduardo A.S. Rosaa, Henrique Trindadea. 2014. Effect of Elevated Carbon Dioxide (CO<sub>2</sub>) on Phenolic Acids, Flavonoids, Tocopherols, Tocotrienols,  $\gamma$ -Oryzanol and Antioxidant Capacities of Rice (*Oryza Sativa* L.). *Journal of Cereal Science* 59(1): 15–24.
- Prakash, J. (1991). Studies on Rice Bran Proteins and Their Use in Food Formulations, Ph.D. dissertation, University of Mysore, Mysore, India.
- Predawan Kochayklang and Voranuch Srijesdaruk, 2013. Comparison of Solvent Extraction on Extractable Vitamin E and Gamma Oryzanol from Rice Bran (RD 6). *KKU Res J (GS)* 13 (2): April June 2013.
- Renuka Devi, R., and C. Arumughan. 2007. Antiradical Efficacy of Phytochemical Extracts from Defatted Rice Bran. *Food and Chemical Toxicology* 45(10): 2014–2021.
- Ruen-ngam, D. Tawai, C. Nokkoul, R. and Sukonthamut, S. 2014.  $\gamma$ -Gamma-Oryzanol Extraction from Upland Rice Bran, *IJBB*, ISSN 2010-3638. 4(4): 252-255. July 2014.

## บรรณานุกรม(ต่อ)

- Sala, F. J., J. Burgos, S. Condon, P. Lopez and J. Raso. 1995. Effect of heat and ultrasound on microorganisms and enzymes. pp. 176-204. In " New methods of food preservation". G. W. Gould (ed.). Blackie Academic & Professional, Glasgow.
- Sahar Y AL-Okbi, Doha A. Mohamed, 2013. COMPARATIVE STUDY ON EGYPTIAN RICE BRAN EXTRACTED BY SOLVENTS AND SUPERCRITICAL CO 2.
- Tabaraki, Reza, and Ashraf Nateghi. 2011. Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Natural Antioxidants from Rice Bran Using Response Surface Methodology. *Ultrasonics Sonochemistry* 18(6): 1279–1286.
- Tian, Yuting, Zhenbo Xu, Baodong Zheng, and Y. Martin Lo. 2013. Optimization of Ultrasonic-Assisted Extraction of Pomegranate (*Punica Granatum L.*) Seed Oil. *Ultrasonics Sonochemistry* 20(1): 202–208.
- Wang, Lijun, and Curtis L. Weller, 2006. Recent Advances in Extraction of Nutraceuticals from Plants. *Trends in Food Science & Technology* 17(6): 300–312.
- Zhang, Lei, Hai-Tang Wu, Fang-Xia Yang, and Jun-Hua Zhang, 2015. Evaluation of Soxhlet Extractor for One-Step Biodiesel Production from *Zanthoxylum Bungeanum* Seeds. *Fuel Processing Technology* 131: 452–457.
- Zhang, Zhen-Shan, Li-Jun Wang, Dong Li, et al., 2008. Ultrasound-Assisted Extraction of Oil from Flaxseed. *Separation and Purification Technology* 62(1): 192–198.
- Zigoneanu, I. G., L. Williams, Z. Xu, and C. M. Sabliov, 2008. Determination of Antioxidant Components in Rice Bran Oil Extracted by Microwave-Assisted Method. *Bioresource Technology* 99(11). *Exploring Horizons in Biotechnology: A Global Venture*: 4910–4918.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมสารละลาย

#### 1. การเตรียมสารละลาย HPLC

##### 1.1 Keep

สารละลาย Keep จะใช้ Methanol 100 เปอร์เซ็นต์ เช่น ถ้าต้องการเตรียมสารละลาย ปริมาณ 250 มิลลิลิตร ก็ตวง Methanol 250 มิลลิลิตร

##### 1.2 Clean

สารละลาย Clean จะใช้สารเคมี 2 ตัวคือ Methanol และ Isopropanol ที่อัตราส่วน 60:40

ตามลำดับ เช่น ถ้าต้องการเตรียมสารละลาย 250 มิลลิลิตร

##### วิธีคำนวณ

$$\begin{array}{rclcl} 100 & = & 60 & & \\ 250 & = & \frac{250 \times 60}{100} & = & 150 \end{array}$$

ดังนั้น จะต้องตวง Methanol 150 มิลลิลิตร

$$\begin{array}{rclcl} 100 & = & 40 & & \\ 250 & = & \frac{250 \times 40}{100} & = & 100 \end{array}$$

ดังนั้น จะต้องตวง Isopropanol 100 มิลลิลิตร

##### 1.3 Mobile phase

สารละลาย Mobile phase จะใช้สารเคมี 3 ตัว คือ Methanol Isopropanol และ Ethyl acetate ที่ อัตราส่วน 47.5: 40: 12.5 ตามลำดับ เช่น ถ้าต้องการเตรียมสารละลาย 250 มิลลิลิตร

#### 2. การเตรียมสารละลายในการทดสอบฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

##### 2.1 การเตรียมสารละลาย DPPH

การเตรียมสารละลาย DPPH ใน Ethanol ความเข้มข้น 0.2 mM บีเบตใส่ microplate

## ภาคผนวก ก(ต่อ)

หุ้ลุมละ 100 ไมโครลิตร หลังจกใส่ตัวอย่าง

วิธีคำนวณ

ถ้าต้องการสารละลาย DPPH 0.2 mM 25 ml

$$\text{ใช้สูตร } \frac{g}{mM} = \frac{MV}{1000}$$

$$g = \frac{394.36 \times 0.2 \times 25}{1000} = 0.2 \text{ mg}$$

2.2 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน BHT และ วิตามินซี

สารมาตรฐานที่ใช้ คือ BHT และวิตามินซี โดย BHT เตรียมให้มีความเข้มข้น 400, 300, 200, 100 และ 80 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร Vit.C เตรียมให้มีความเข้มข้น 30, 20, 10 และ 5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ความเข้มข้นละ 500 ไมโครลิตร โดยใช้ ethanol 95% เป็นตัวทำละลาย

โดยใช้สูตร  $C_1 V_1 = C_2 V_2$

2.3 การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

เตรียมสารละลายของสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 8, 6, 4, 2 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยความเข้มข้นของตัวอย่างเปลี่ยนตามความเหมาะสมของการทดลอง ความเข้มข้นละ 500 ไมโครลิตร สำหรับสารสกัดที่เตรียมด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ จะใช้ ethanol 95%

โดยใช้สูตร  $C_1 V_1 = C_2 V_2$

## ภาคผนวก ข

การหาปริมาณน้ำมันโดยการชั่งน้ำหนัก

1. หาปริมาณความชื้นในรำข้าว เพื่อนำน้ำหนักรำข้าวก่อนอบ และหลังอบที่อุณหภูมิ 105 °C หาปริมาณน้ำมันรำข้าวแบบ dry และ wet basis โดยมีวิธีการดังนี้

- 1.1 นำ moisture can ล้างทำความสะอาด อบที่อุณหภูมิ 105 °C 24 ชั่วโมง
- 1.2 นำ moisture can วางใน desiccators 30 นาที
- 1.3 ชั่งน้ำหนัก moisture can
- 1.4 ใส่รำข้าว 5 กรัมใน moisture can
- 1.5 อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 24 ชั่วโมง
- 1.6 นำ moisture can + รำข้าว วางใน desiccators 30 นาที
- 1.7 ชั่งน้ำหนัก moisture can + รำข้าว
- 1.8 คำนวณร้อยละของความชื้น

$$\text{จากสูตรร้อยละของความชื้นฐานเปียก (Wet basis)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

$$\text{จากสูตรร้อยละของความชื้นฐานแห้ง (Dry basis)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ}} \times 100$$

2. หาปริมาณน้ำมันจากการสกัดน้ำมันด้วยวิธี Soxhlet และ Ultrasonic extraction หน่วยเป็นกรัม แบบ dry และ wet basis

- 2.1 นำขวดสีชาล้างทำความสะอาด อบที่อุณหภูมิ 70 °C จนขวดแห้งสนิท
- 2.2 นำขวดสีชาวางใน desiccators 30 นาที
- 2.3 ชั่งน้ำหนักขวดสีชา
- 2.4 นำสารละลาย (ตัวทำละลาย+น้ำมัน) ที่สกัดได้ใส่ขวดสีชา
- 2.5 ระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง vacuum evaporation
- 2.6 นำปริมาณน้ำมันที่ได้มาชั่งน้ำหนัก (กรัม)
- 2.7 นำมาหาปริมาณน้ำมันในหน่วยฐานเปียก และฐานแห้ง

$$\text{จากสูตรร้อยละของปริมาณน้ำมันฐานเปียก (Wet basis)} = \frac{\text{น้ำหนักน้ำมัน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ}} \times 100$$

## ภาคผนวก ข(ต่อ)

จากสูตรร้อยละของปริมาณน้ำมันฐานแห้ง (Dry basis) =  $\frac{\text{น้ำหนักน้ำมัน (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างแห้ง}} \times 100$

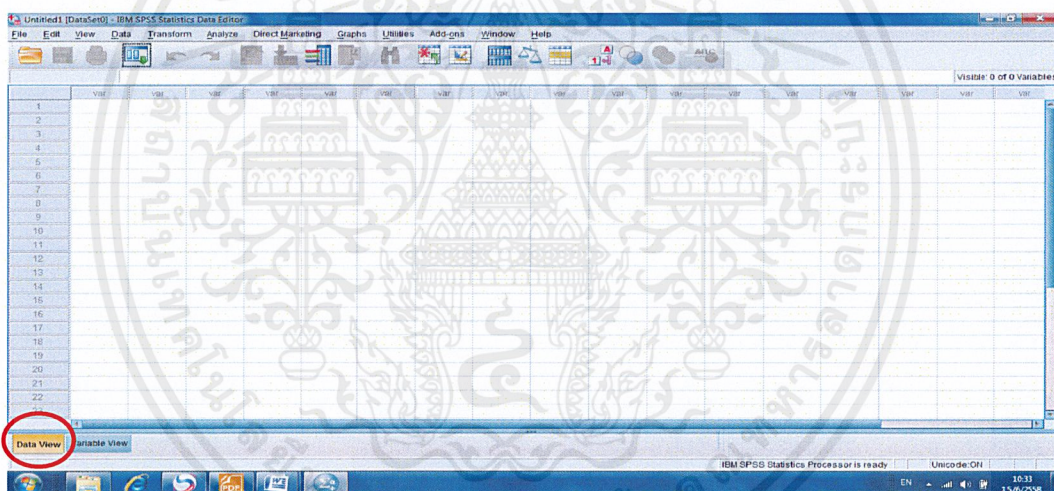
3. การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณน้ำมัน โดยโปรแกรม SPSS ตั้งตัวอย่างของปริมาณน้ำมันที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction ในการสกัดจากสายพันธุ์หอมมะลิรอบ1 (cycle1HL) และ 2 (cycle2HL) สายพันธุ์ดอกพะยอมรอบ1 (cycle1PY) และ 2 (cycle2PY)

วิธีการใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 22

3.1 Double clicks ที่ภาพโปรแกรม

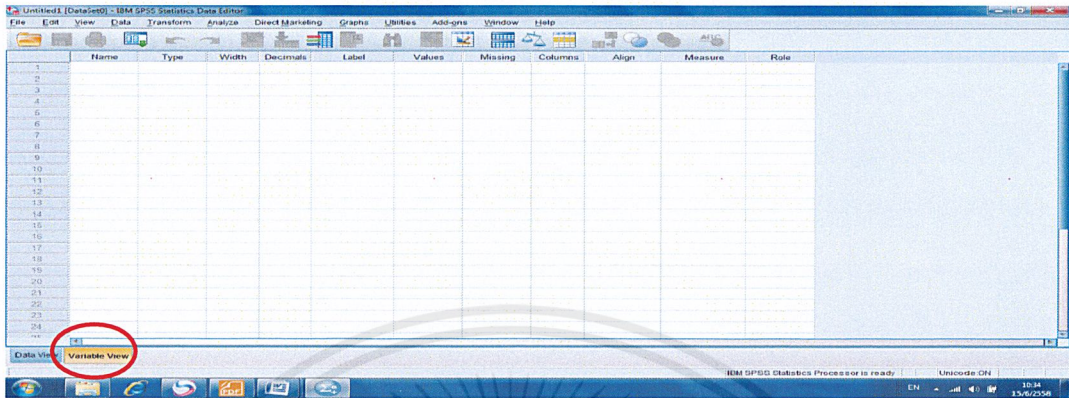


3.2 จะพบหน้าจอนี้ เมื่อเปิดโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS for Windows ขึ้นมา จะมีหน้าจอ SPSS Data Editor 2 Tab คือ Data View และ Variable View

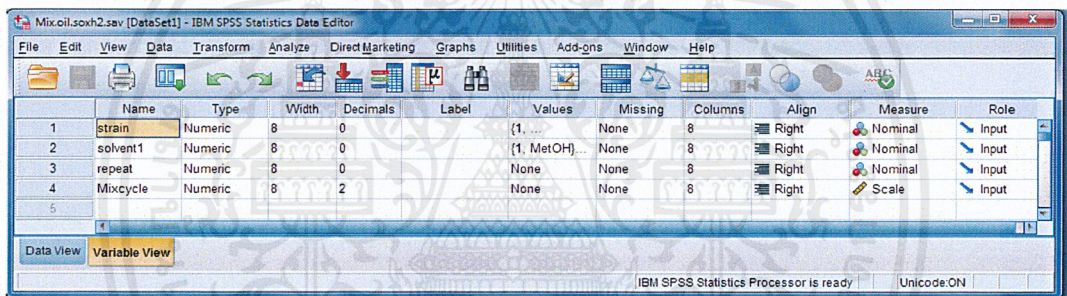


3.3 Variable View เป็นหน้าจอให้สร้าง หรือแก้ไขตัวแปร

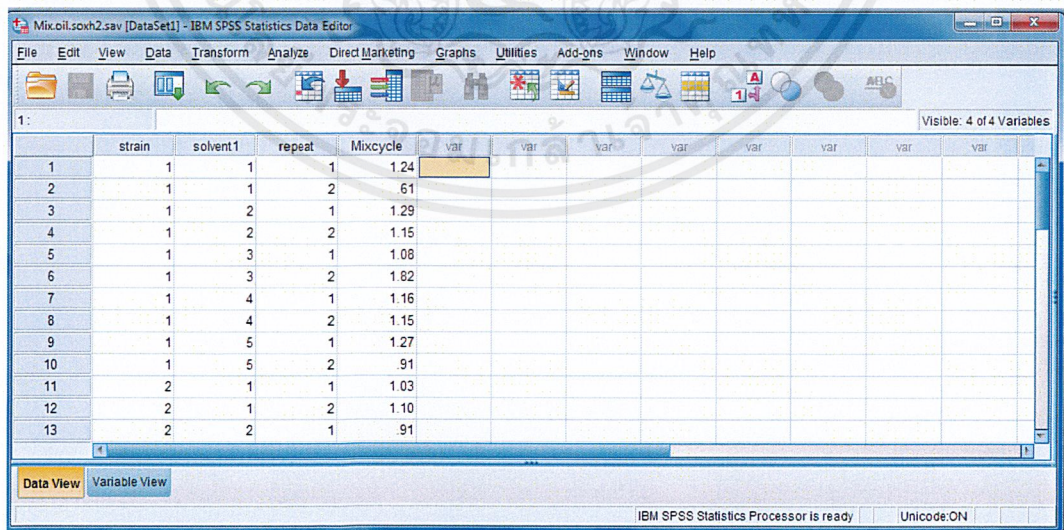
## ภาคผนวก ข(ต่อ)



3.3 Variable View เป็นหน้าจอให้สร้าง หรือแก้ไขตัวแปร โดยต้องกำหนดสายพันธุ์ของร่าข้าว ชนิดของตัวทำละลาย และความหมายของตัวแปร และใช้ตรวจสอบรายละเอียดของตัวแปร ดังภาพ



3.4 Data View เป็นหน้าจอให้พิมพ์ข้อมูลตามตัวแปรที่กำหนดในVariable View ดังภาพ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข(ต่อ)

3.5 แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Random Design, CRD) และการวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One-Way ANOVA; F-test)

การวางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดเป็นแผนการทดลองแบบหนึ่งซึ่งผู้ทำการทดลองนิยมใช้กันมาก เพราะมีความง่าย และสะดวกต่อการปฏิบัติ แต่แผนการทดลองนี้จะมีความแม่นยำก็ต่อเมื่อสิ่งที้นำมา ทดลอง หรือ ซ้ำของการทดลองทุกๆ ซ้ำ จะต้องมีความสม่ำเสมอคล้ายคลึงกันมากที่สุด เช่นอายุ น้ำหนัก ขนาด สายพันธุ์ เป็นต้น

การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียวเป็นการจำแนกข้อมูลด้วยตัวแปรหรือปัจจัยเพียงปัจจัยเดียวเป็นการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตัวแปรเชิงกลุ่มที่สนใจเปรียบเทียบตั้งแต่ 2 กลุ่มขึ้นไป

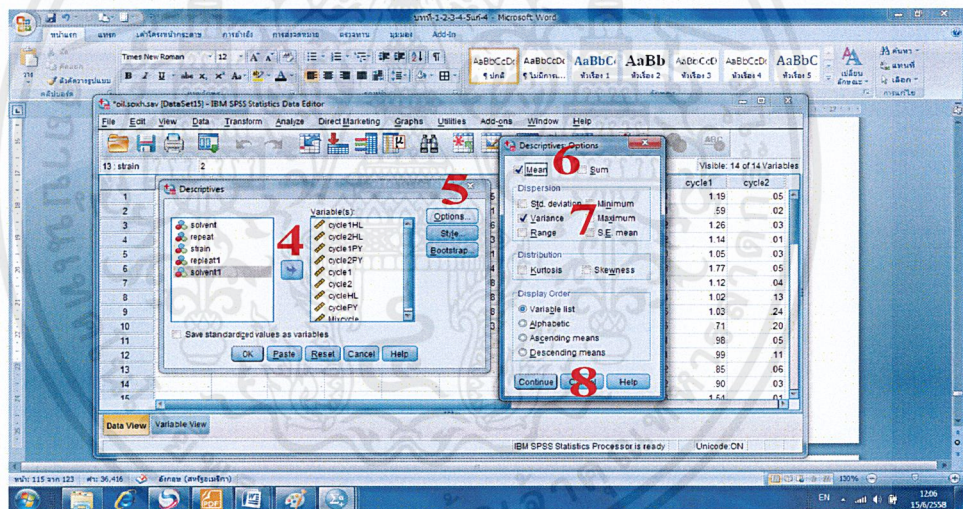
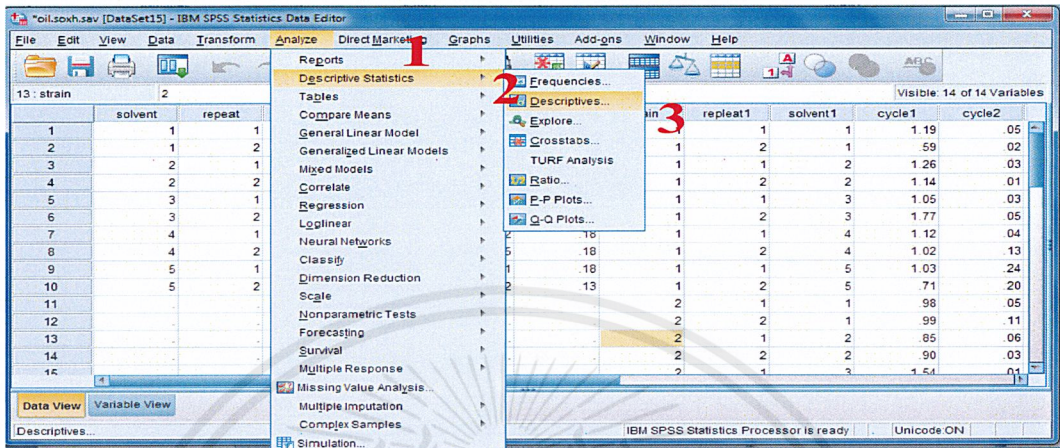
Source of variation	Sum of square	Degrees of freedom	Mean square (Variance)
Between Groups	$S_2$	$i-1$	$S_2^2 = S_2 / i-1$
Within Groups (residual variance)	$S_1$	$N-i$	$S_1^2 = S_1 / N-1$
Total	$S_T$	$N-1$	

ทดสอบด้วย F-test  $F = S_2^2 / S_1^2$

ในการทดสอบใช้ error mean square เป็นมาตรฐานในการทดสอบว่า ความแตกต่างระหว่าง between groups นั้นมีมากเกินกว่าระดับที่กำหนดให้หรือไม่ ถ้ามากกว่าสรุปผลว่า ความแตกต่างนั้นๆ เนื่องมาจากผลของ within groups จริง

3.6 พิจารณาว่าข้อมูลมีการกระจายแบบปกติหรือไม่ โดยพิจารณาค่าของ mean และ variance ของค่าปริมาณน้ำมันที่สกัดในแต่ละตัวทำลาย โดยไปที่เมนู Analyze --> Descriptive Statistics --> Descriptive-->เลือกข้อมูลที่นำมาหา -->Options --> Mean --> Variance--> Continue ดังภาพ

## ภาคผนวก ข(ต่อ)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข(ต่อ)

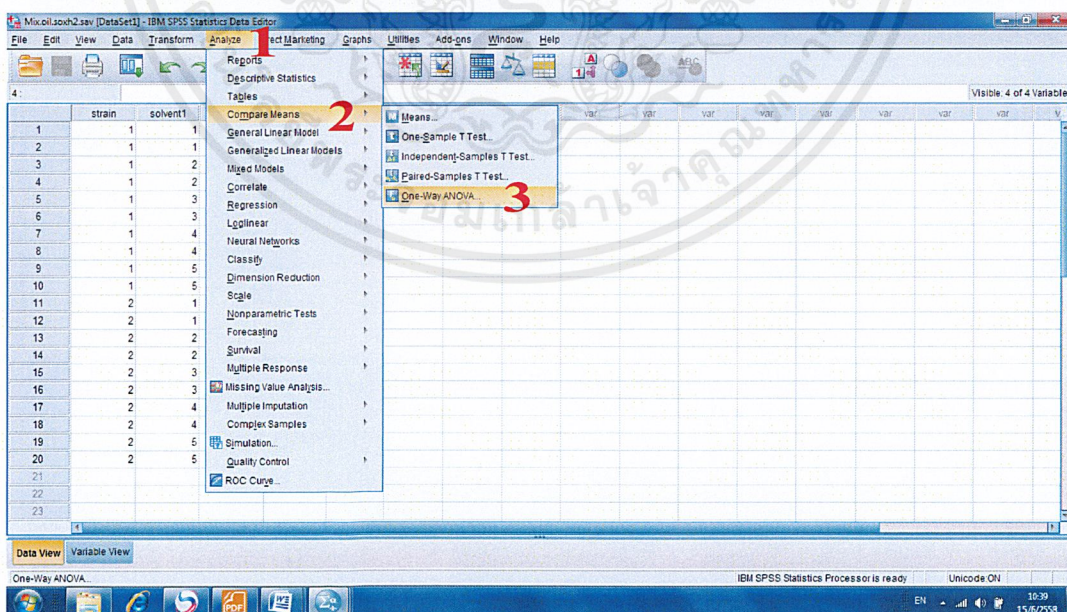
3.7 จะได้ตารางแสดงค่าเฉลี่ย และค่าความแปรปรวน

Descriptive Statistics			
	N	Mean	Variance
cycle1HL	10	1.0880	.101
cycle2HL	10	.0800	.007
cycle1PY	10	.9980	.134
cycle2PY	10	.0970	.005
Valid N (listwise)	10		

หมายเหตุ: cycle1HL: การสกัดรอบ1 รำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิ, cycle2HL: การสกัดรอบ2 รำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิ, cycle1PY: การสกัดรอบ1 รำข้าวสายพันธุ์ดอกพะยอม, cycle2PY: การสกัดรอบ1 รำข้าวสายพันธุ์ดอกพะยอม

จากตาราง ค่า mean ของปริมาณน้ำมันของรอบในการสกัดมีค่ามากกว่าค่า variance แสดงว่าข้อมูลมีการกระจายแบบปกติ

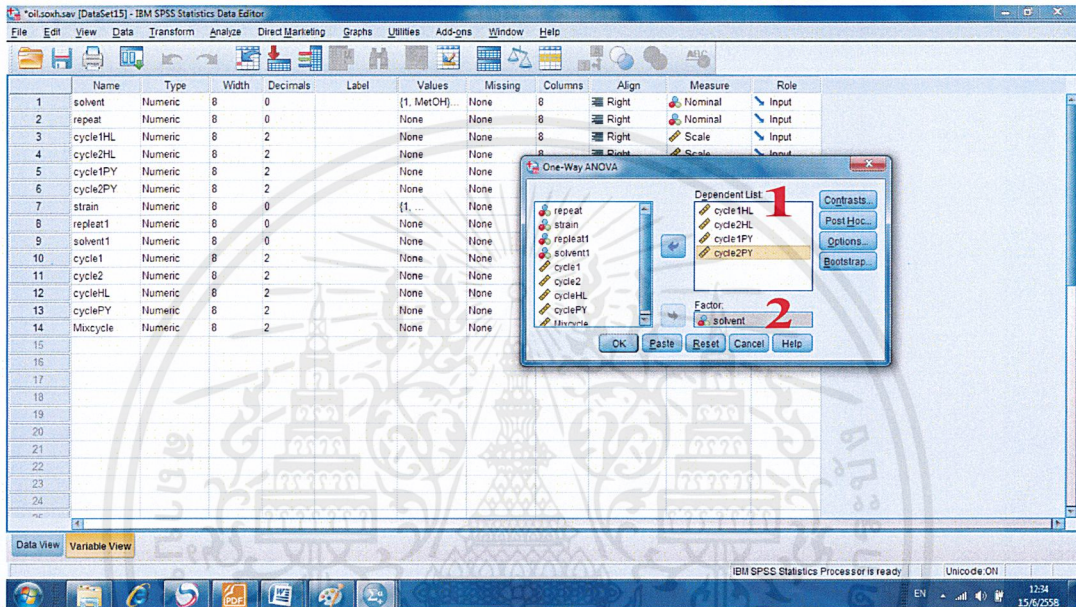
3.8 เมื่อได้ข้อมูลเรียบร้อยแล้ว ไปที่เมนู Analyze --> Compare Means --> One-Way ANOVA ดังภาพ



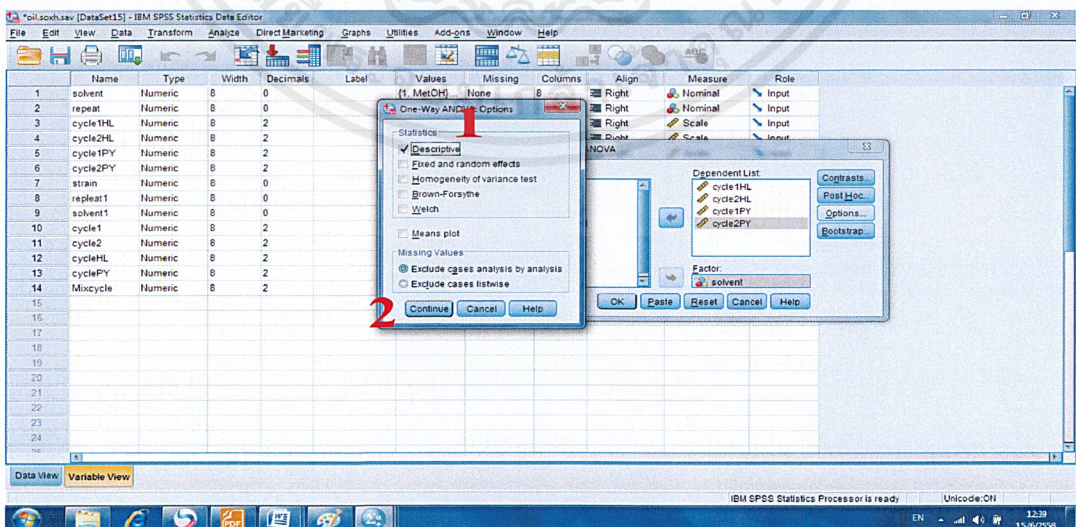
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข(ต่อ)

3.9 จะปรากฏหน้าต่างดังภาพ แล้วเลือกค่าตัวแปรที่ต้องการทดสอบ (ในที่นี้ คือ cycle1HL cycle2HL cycle1PY และ cycle2PY) ไปทางด้านขวาในช่อง Dependent List และเลือกกลุ่มที่ต้องการเปรียบเทียบ (ในที่นี้ คือ solvent (ชนิดของตัวทำละลาย)) ใส่ในช่อง Factor ดังภาพ



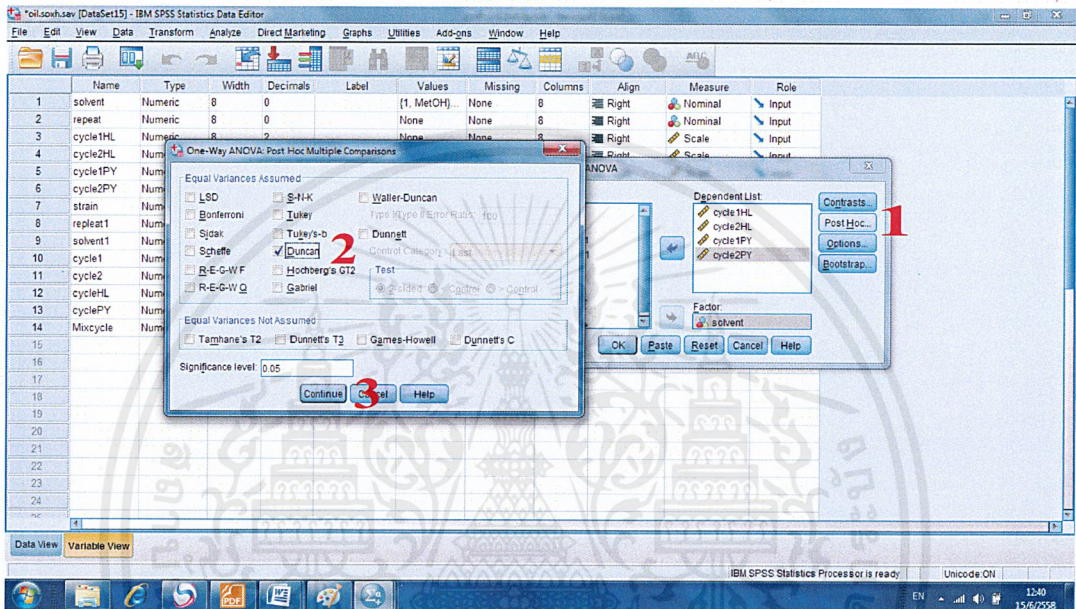
3.10 กด Options ถ้าต้องการแสดงค่าสถิติพื้นฐาน คลิก box ของ Descriptive แล้วกด Continue



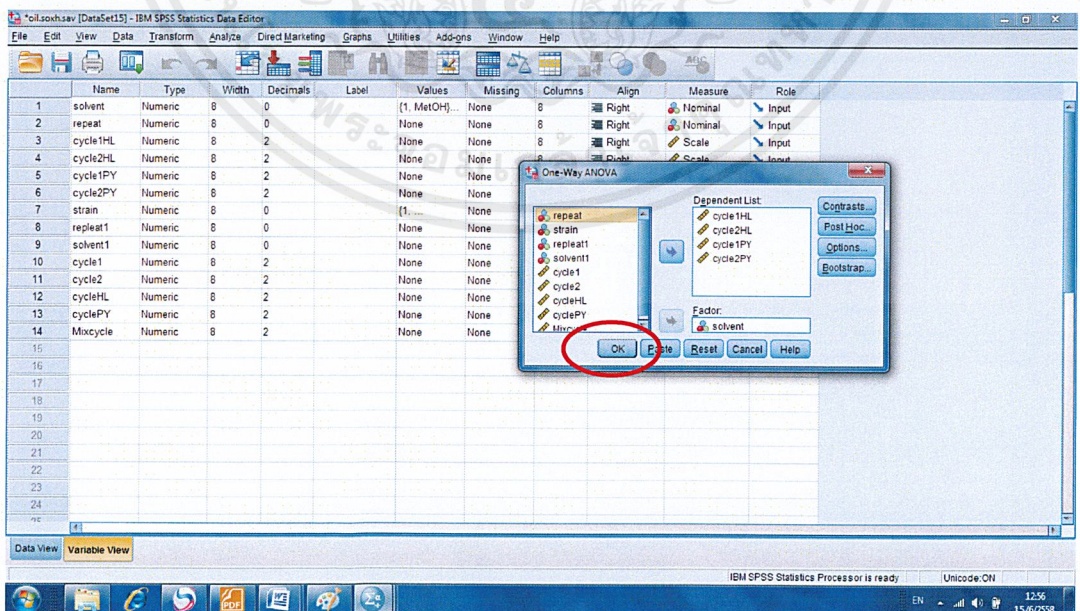
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข(ต่อ)

3.11 หากผลการทดสอบทางสถิติที่ได้พบว่ามีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และถ้าต้องการเปรียบเทียบเชิงซ้อนว่าค่าเฉลี่ย station ไตแตกต่างกันบ้าง ให้ กด Post Hoc โดยเลือกวิธีการต่าง ๆ ได้ (ในที่นี้เลือกDuncan) แล้วกด Continue



3.12 เมื่อกดOK จะได้ Output ออกมาดังนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข(ต่อ)

ตาราง ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation;SD) ของปริมาณน้ำมันจากการสกัดด้วย Soxhlet extractio

		Descriptives						
	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
cycle1HL	MetOH	.8900	.42426	.30000	-2.9219	4.7019	.59	1.19
	EtOH	1.2000	.08485	.06000	.4376	1.9624	1.14	1.26
	Hexane	1.4100	.50912	.36000	-3.1642	5.9842	1.05	1.77
	Acetone	1.0700	.07071	.05000	.4347	1.7053	1.02	1.12
	Acetonitrile	.8700	.22627	.16000	-1.1630	2.9030	.71	1.03
Total	10	1.0880	.31783	.10051	.8606	1.3154	.59	1.77
cycle2HL	MetOH	.0350	.02121	.01500	-.1556	.2256	.02	.05
	EtOH	.0200	.01414	.01000	-.1071	.1471	.01	.03
	Hexane	.0400	.01414	.01000	-.0871	.1671	.03	.05
	Acetone	.0850	.06364	.04500	-.4868	.6568	.04	.13
	Acetonitrile	.2200	.02828	.02000	-.0341	.4741	.20	.24
Total	10	.0800	.08124	.02569	.0219	.1381	.01	.24
cycle1PY	MetOH	.9850	.00707	.00500	.9215	1.0485	.98	.99
	EtOH	.8750	.03536	.02500	.5573	1.1927	.85	.90
	Hexane	1.5800	.05657	.04000	1.0718	2.0882	1.54	1.62
	Acetone	.9850	.33234	.23500	-2.0010	3.9710	.75	1.22
	Acetonitrile	.5650	.07778	.05500	-.1338	1.2638	.51	.62
Total	10	.9980	.36581	.11568	.7363	1.2597	.51	1.62

## ภาคผนวก ข(ต่อ)

ตาราง ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation;SD) ของปริมาณน้ำมันจากการสกัดด้วย Soxhlet extraction

		Descriptives							
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
						Lower Bound	Upper Bound		
MetOH	2	.0800	.04243	.03000	-.3012	.4612	.05	.11	
EtOH	2	.0450	.02121	.01500	-.1456	.2356	.03	.06	
Hexane	2	.0250	.02121	.01500	-.1656	.2156	.01	.04	
Acetone	2	.1800	.00000	.00000	.1800	.1800	.18	.18	
Acetonitrile	2	.1550	.03536	.02500	-.1627	.4727	.13	.18	
Total	10	.0970	.06734	.02129	.0488	.1452	.01	.18	

## ภาคผนวก ข(ต่อ)

ตาราง ANOVA ของปริมาณน้ำมันจากการสกัดด้วย Soxhlet extraction

ANOVA						
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
cycle1HL	Between Groups	.407	4	.102	1.011	.481
	Within Groups	.503	5	.101		
	Total	.909	9			
cycle2HL	Between Groups	.054	4	.013	11.776	.009
	Within Groups	.006	5	.001		
	Total	.059	9			
cycle1PY	Between Groups	1.083	4	.271	11.192	.010
	Within Groups	.121	5	.024		
	Total	1.204	9			
cycle2PY	Between Groups	.037	4	.009	11.665	.009
	Within Groups	.004	5	.001		
	Total	.041	9			

## ภาคผนวก ข(ต่อ)

การอ่านผลการทดสอบทางสถิติ

จากตาราง พบว่า ค่า P-value ของ cycle2HL cycle1PY และ cycle2PY เท่ากับ 0.009 0.010 และ 0.009 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าระดับความเชื่อมั่น 0.05 (95%) แสดงว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำมันจาก cycle2HL cycle1PY และ cycle2PY ในรอบของการสกัดแต่ละตัวทำละลายมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่า P-value ของ cycle1HL เท่ากับ 0.481 ซึ่งมีค่ามากกว่าระดับความเชื่อมั่น 0.05 (95%) แสดงว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำมันจาก cycle1HL ในรอบของการสกัดแต่ละตัวทำละลายไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

### Post Hoc Tests

		cycle1HL Duncan <sup>a</sup>	
solvent	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	
Acetonitrile <sup>a</sup>	2	.8700	
MetOH <sup>a</sup>	2	.8900	
Acetone <sup>a</sup>	2	1.0700	
EtOH <sup>a</sup>	2	1.2000	
Hexane <sup>a</sup>	2	1.4100	
Sig.		.161	

		cycle2HL Duncan <sup>a</sup>	
solvent	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
EtOH <sup>b</sup>	2	.0200	
MetOH <sup>b</sup>	2	.0350	
Hexane <sup>b</sup>	2	.0400	
Acetone <sup>b</sup>	2	.0850	
Acetonitrile <sup>a</sup>	2		.2200
Sig.		.123	1.000

## ภาคผนวก ข(ต่อ)

cycle1PY

Duncan<sup>a</sup>

solvent	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
Acetonitrile <sup>c</sup>	2	.5650		
EtOH <sup>bc</sup>	2	.8750	.8750	
MetOH <sup>b</sup>	2		.9850	
Acetone <sup>b</sup>	2		.9850	
Hexane <sup>a</sup>	2			1.5800
Sig.		.103	.521	1.000

cycle2PY

Duncan<sup>a</sup>

solvent	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
Hexane <sup>b</sup>	2	.0250	
EtOH <sup>b</sup>	2	.0450	
MetOH <sup>b</sup>	2	.0800	
Acetonitrile <sup>a</sup>	2		.1550
Acetone <sup>a</sup>	2		.1800
Sig.		.116	.414

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 2.000.

การอ่านผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน Post Hoc Tests การรายงานผล: ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน เรียงลำดับจากน้อยไปมาก การสรุปผลการทดลองนิยมใช้ตัวอักษรบนค่า mean  $\pm$  S.D. ถ้าอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )

## ภาคผนวก ค

### การหาปริมาณแอมมาอริซานอล

#### 1. การวิเคราะห์แอมมาอริซานอลด้วยเครื่อง HPLC

การวัดปริมาณสารแอมมาอริซานอลด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

#### 2.1 การเตรียมเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase)

ล้างอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้องกับการเตรียมเฟสเคลื่อนที่ให้สะอาดปราศจากสารที่ไม่เกี่ยวข้องกับเฟสเคลื่อนที่ หลังจากนั้นนำมาล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วอบให้แห้งในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เมื่อนำมาใช้ให้ล้างด้วยเมทานอลก่อน

เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ประกอบไปด้วยเมทานอล ไอโซโพรพานอล และ เอทิลอะซิเตต (HPLC grade) ในอัตราส่วน 47.5 : 40 : 12.5 ตามลำดับ นำเฟสเคลื่อนที่ไปกรองผ่านแผ่นกรองขนาด 0.22 ไมโครเมตร จากนั้นนำไปแช่ในเครื่อง Ultrasonic sonicate ซึ่งจะสั่นสะเทือนด้วยคลื่นเสียงเพื่อไล่ฟองอากาศออกจากเฟสเคลื่อนที่

#### 2.2 การเตรียมกราฟมาตรฐานแอมมาอริซานอล

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแอมมาอริซานอลที่ใช้ได้แก่ 50 40 30 20 10 5 2.5 1.25 และ 0.625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีวิธีการเตรียมดังนี้

2.2.1 ชั่งผงแอมมาอริซานอลหนัก 0.0010 กรัม จากนั้นเติมเฟสเคลื่อนที่ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานแอมมาอริซานอลความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2.2 นำสารละลายมาตรฐานแอมมาอริซานอลความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 50 40 30 20 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2.3 นำสารละลายมาตรฐานแอมมาอริซานอลความเข้มข้น 10 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มาเจือจางให้ได้ระดับความเข้มข้นเท่ากับ 5 2.5 1.25 และ 0.625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2.2.4 นำสารละลายมาตรฐานแอมมาอริซานอลแต่ละความเข้มข้นมากรองผ่านหัวกรองตัวอย่างชนิด PTFE ที่มีขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร

2.2.5 ฉีดสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่าง ๆ เข้าไปในเครื่อง HPLC

2.2.6 นำข้อมูลที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของแอมมาอริซานอลกับพื้นที่ใต้กราฟ

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

### 2.3 การเตรียมตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายน้ำมันในเฟสเคลื่อนที่ แล้วกรองผ่านหัวกรองตัวอย่างชนิดพีทีเอฟอี (PTFE) ที่มีขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตรจากนั้นฉีดเข้าไปในเครื่อง HPLC แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปหาปริมาณแกมมาออริซานอลโดยคำนวณจากสมการจากกราฟมาตรฐาน

### 2.4 การคำนวณ

2.4.1 เตรียมสารละลายตัวอย่าง (stock solution) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารตัวอย่าง 1 มิลลิกรัม ละลายในเฟสเคลื่อนที่ปริมาตร 1 มิลลิลิตรจนได้เป็นสารละลายใส

2.4.2 กรองสารละลายตัวอย่างผ่านหัวกรองตัวอย่างชนิด PTFE ที่มีขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตรเจือจางสารละลายตัวอย่าง จากนั้นเจือจางสารละลายตัวอย่างจาก 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ให้ได้ความเข้มข้น 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดย

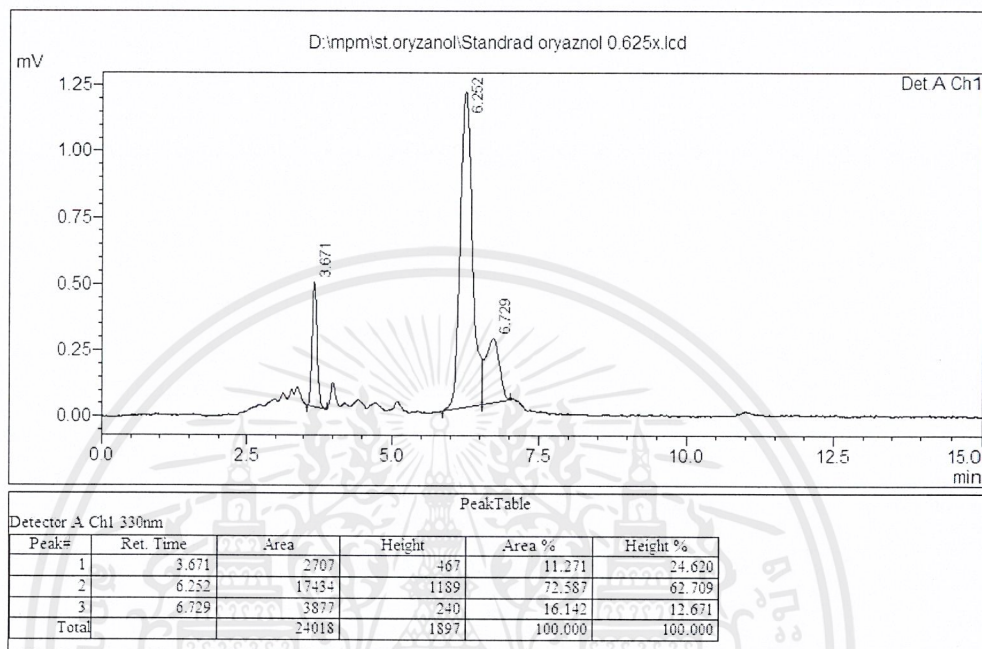
$$\begin{aligned}
 C_1V_1 &= C_2V_2 \\
 (1000 \mu\text{g/ml})(V_1) &= (30 \mu\text{g/ml})(1 \text{ ml}) \\
 V_1 &= \frac{(30 \mu\text{g/ml})(1 \text{ ml})}{(1000 \mu\text{g/ml})} \\
 V_1 &= 0.03 \text{ ml} \\
 &= 30 \mu\text{l}
 \end{aligned}$$

ดังนั้นจะต้องดูสารละลายตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นปริมาตร 30 ไมโครลิตรและเติมเฟสเคลื่อนที่เป็นปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นฉีดสารละลายตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตรในเครื่อง HPLC หาพื้นที่ใต้กราฟ ทำ 3 ซ้ำ

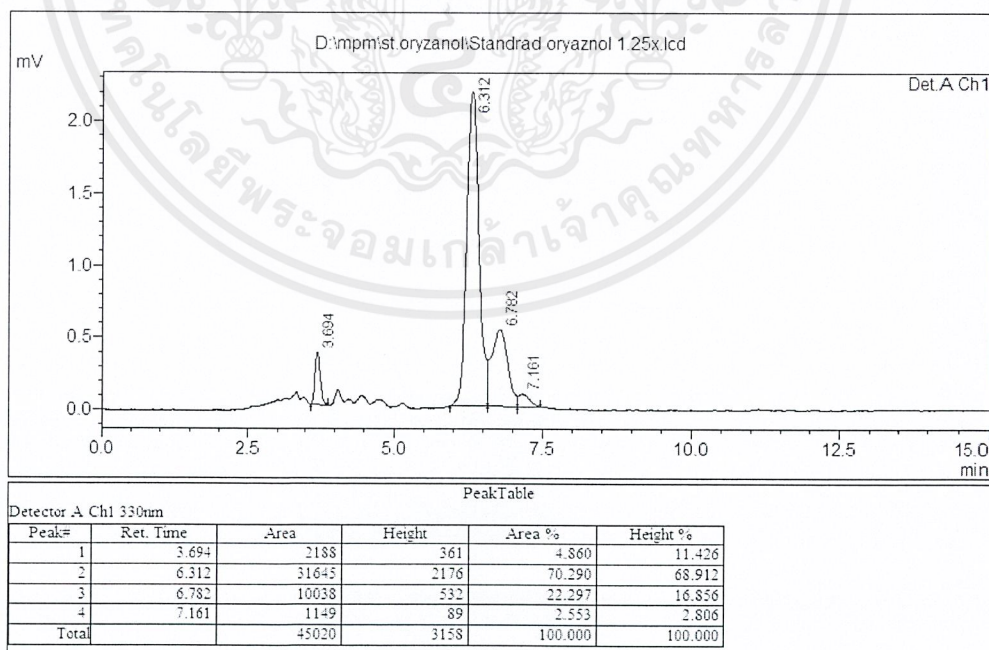
## ภาคผนวก ค(ต่อ)

### 2.5 กราฟสารละลายมาตรฐานแกมมาออริซานอล

#### 2.5.1 กราฟสารละลายมาตรฐานแกมมาออริซานอลความเข้มข้น 0.625 µg/ml



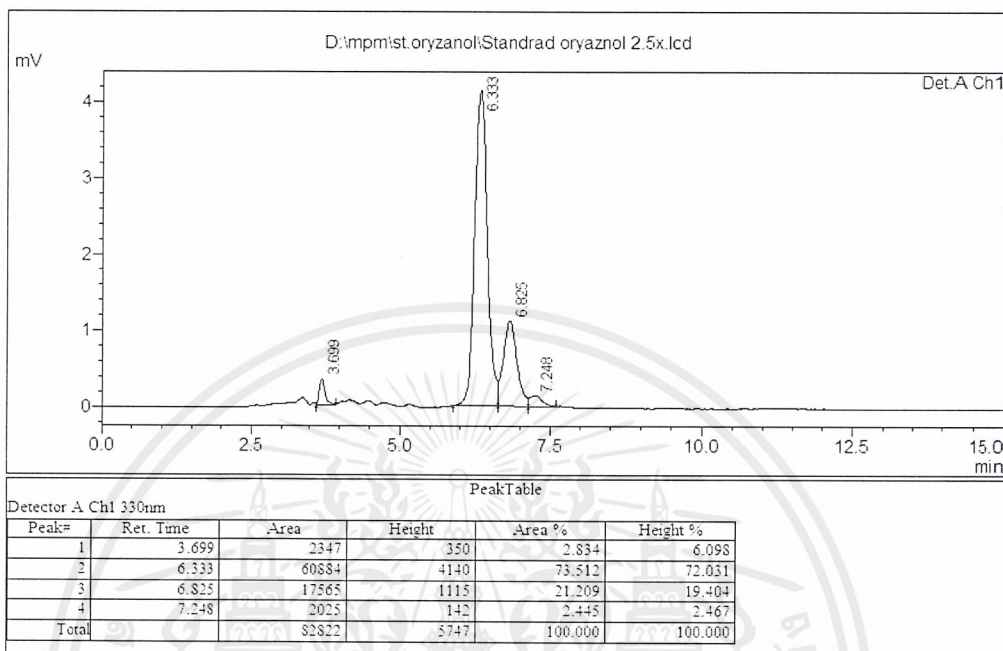
#### 2.5.2 กราฟสารละลายมาตรฐานแกมมาออริซานอลความเข้มข้น 1.25 µg/ml



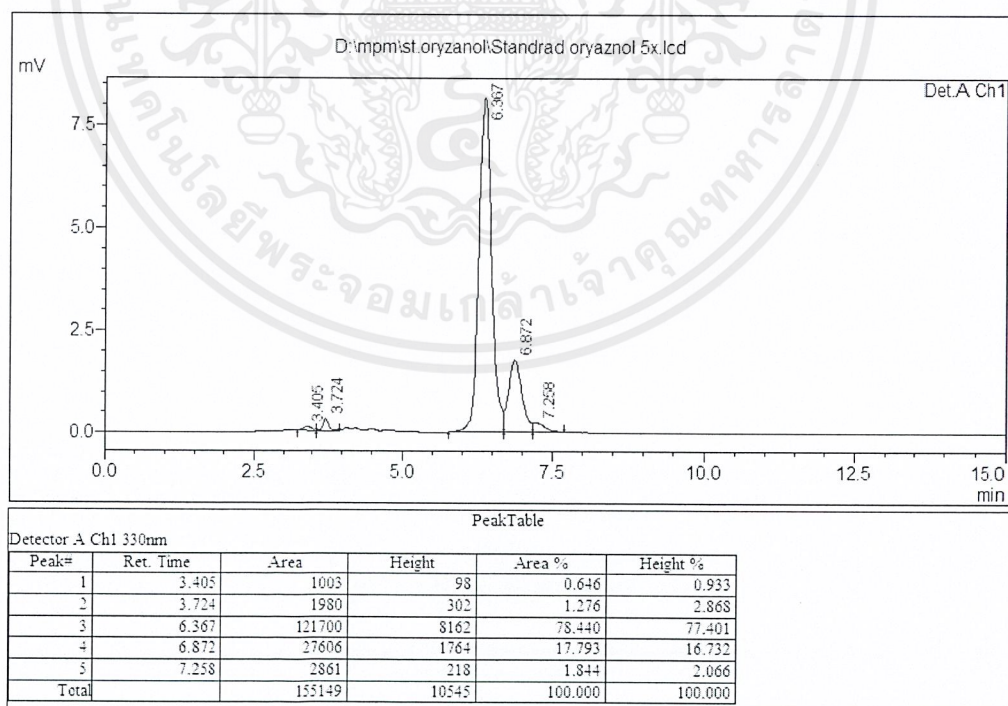
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

### 2.5.3 กราฟสารถ่ายมาตรฐานแกมมาออร์ิซานอลความเข้มข้น 2.5 µg/ml



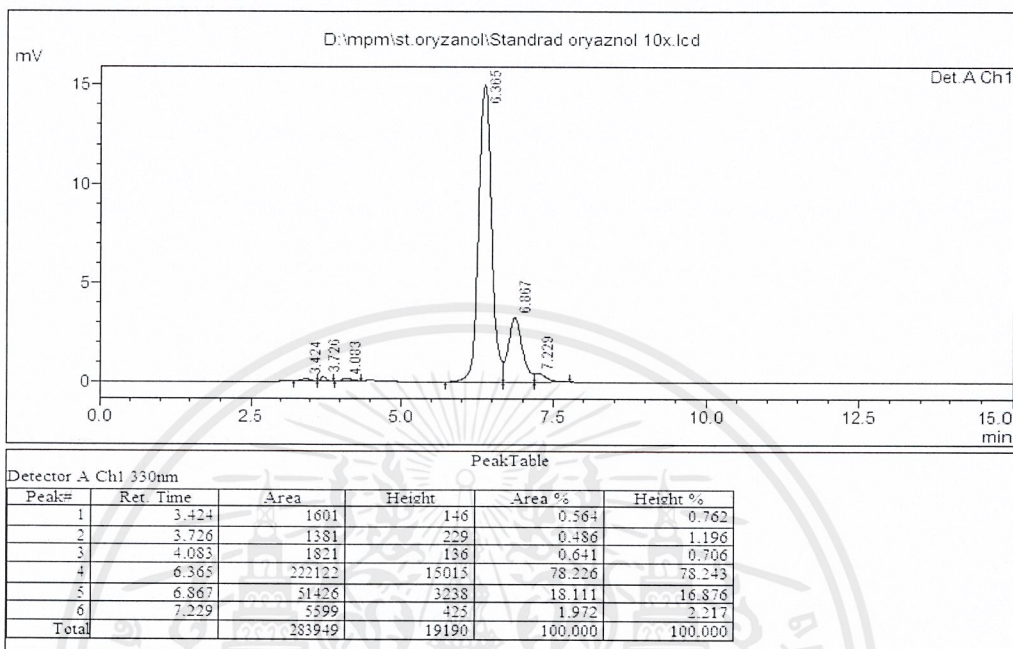
### 2.5.4 กราฟสารถ่ายมาตรฐานแกมมาออร์ิซานอลความเข้มข้น 5.0 µg/ml



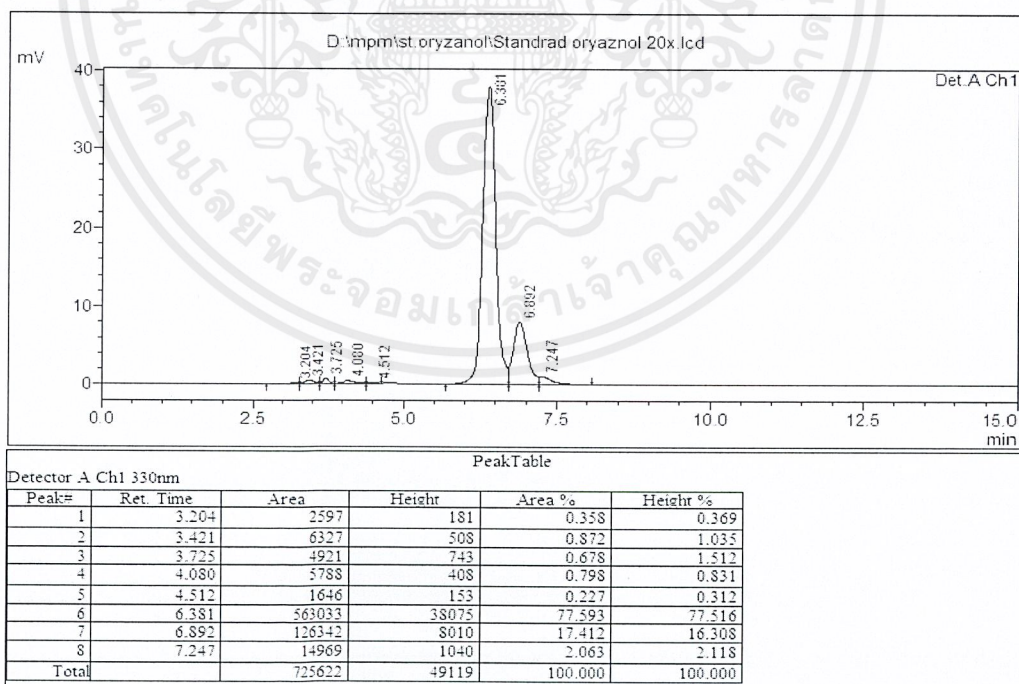
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

### 2.5.5 กราฟสารละลายมาตรฐานแกมมาออริซานอลความเข้มข้น 10.0 µg/ml



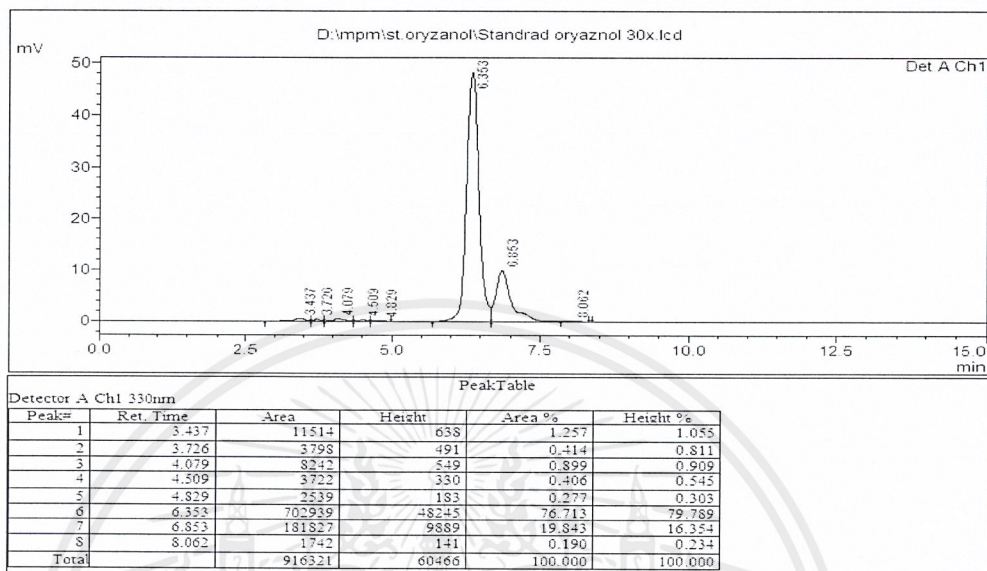
### 2.5.6 กราฟสารละลายมาตรฐานแกมมาออริซานอลความเข้มข้น 20.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร



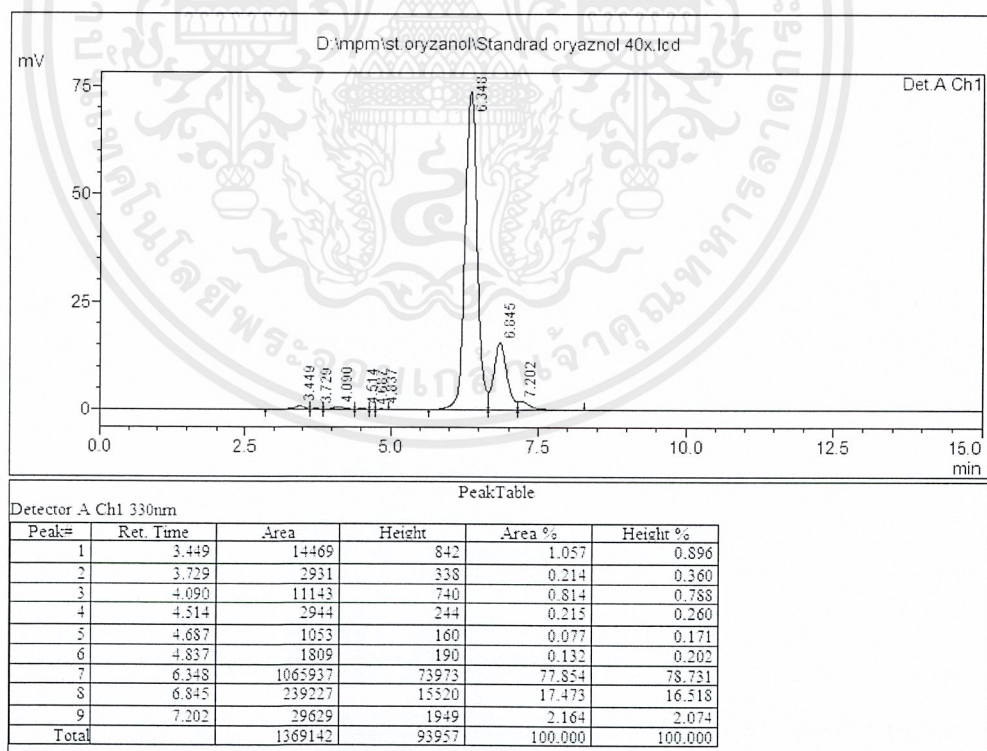
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

### 2.5.7 กราฟสารละลายมาตรฐานแกมมาออริซานอลความเข้มข้น 30.0 µg/ml



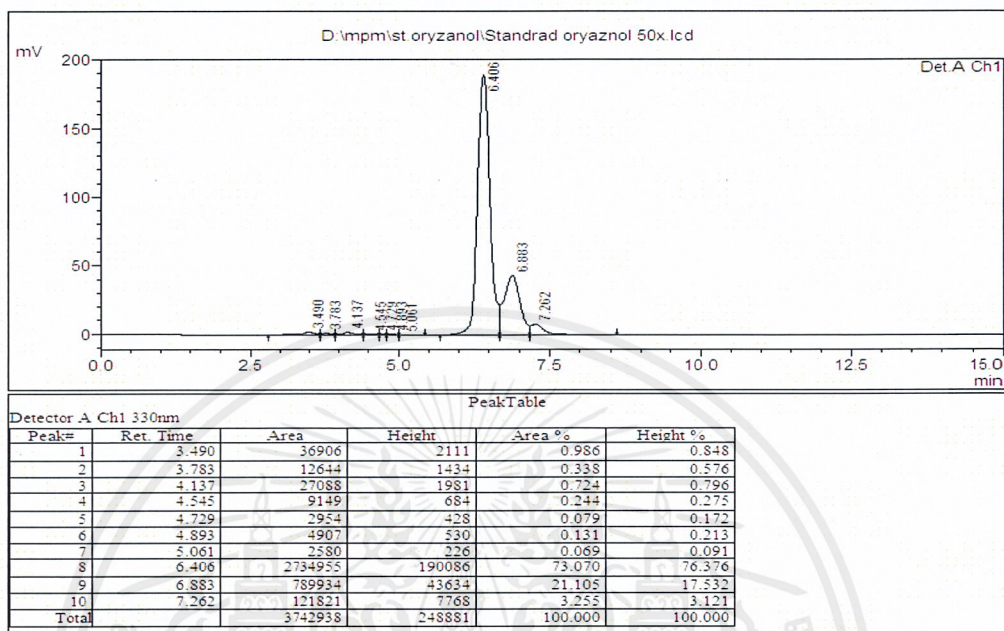
### 2.5.8 กราฟสารละลายมาตรฐานแกมมาออริซานอลความเข้มข้น 40.0 µg/ml



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

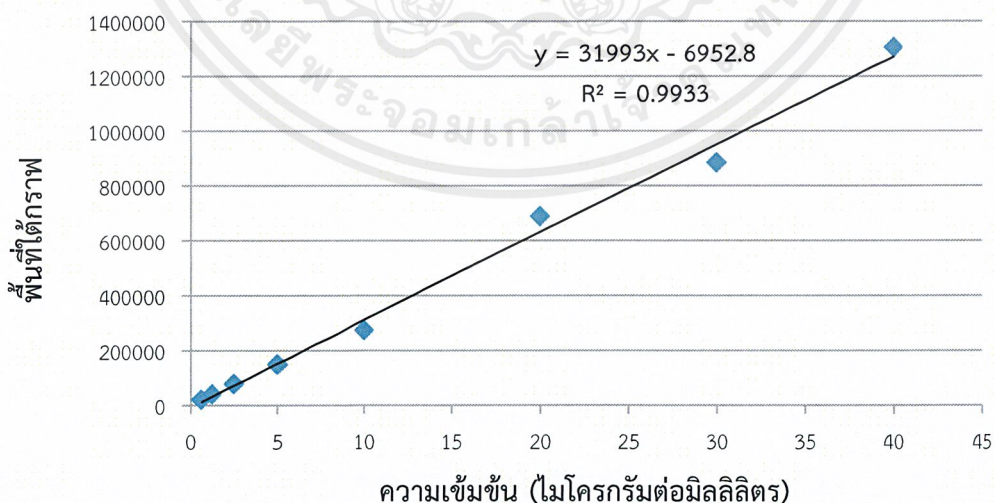
### 2.5.9 กราฟสารละลายมาตรฐานแกมมาออริซานอลความเข้มข้น 50.0 µg/ml



#### กราฟมาตรฐานแกมมาออริซานอล

ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานแกมมาออริซานอลที่ใช้ ได้แก่ 50 40 30 20 10 5 2.5 1.25 และ 0.625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถเขียนกราฟมาตรฐานได้ดังนี้

#### กราฟมาตรฐานแกมมาออริซานอล



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

2. การหาปริมาณแกมมาออริซานอล โดยใช้ Microsoft Excel

การคำนวณหาปริมาณแกมมาออริซานอล

ปริมาณแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวใช้หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งปริมาณแกมมาออริซานอลหาได้จากสมการ  $y=31993x+6952.8$

ให้  $y$  = ปริมาณแกมมาออริซานอล

$x$  = พื้นที่ใต้กราฟ

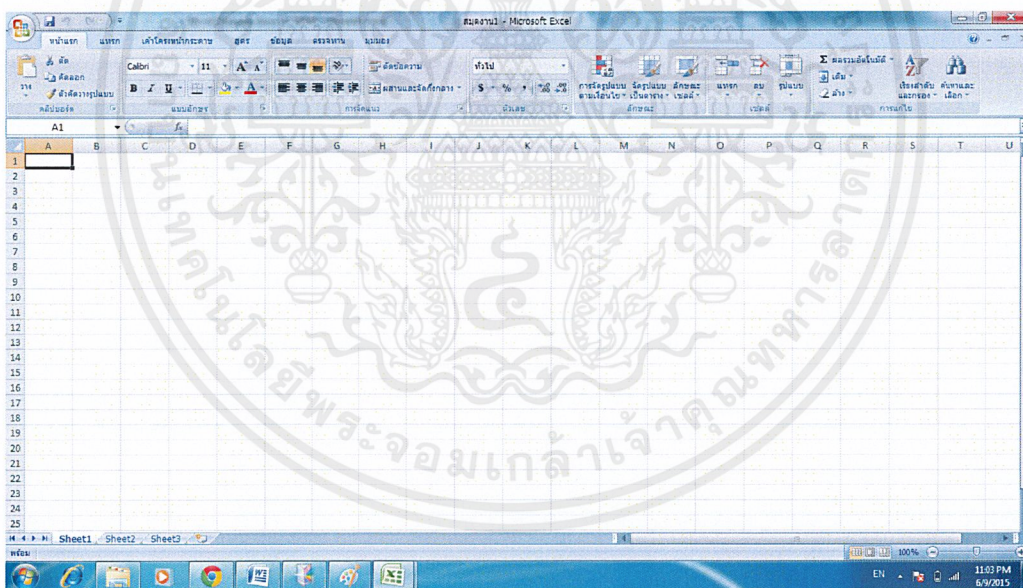
ซึ่งเป็นสมการที่ได้จากกราฟมาตรฐานแกมมาออริซานอลที่วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC

วิธีการเขียนกราฟมาตรฐาน

1. Double clicks ที่ภาพโปรแกรม



2. จะพบหน้าจอนี้



## ภาคผนวก ค(ต่อ)

3. กรอกค่าความเข้มข้นของสารสกัดน้ำมันรำข้าวจากข้อมูลในตาราง โดยความเข้มข้นของสารสกัด ได้แก่ 50 40 30 20 10 5 2.5 1.25 และ 0.625 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และพื้นที่ใต้กราฟดังตาราง

ความเข้มข้น $\mu\text{g/ml}$	พื้นที่ใต้กราฟ		
	1	2	รวม
0.625	17434	3877	21311
1.25	31645	10038	41683
2.5	60884	17565	78449
5	121700	27606	149306
10	222122	51426	273548
20	563033	126342	689375
30	702909	181827	884736
40	1065937	239227	1305164
50	2734955	789934	3524889



ความเข้มข้น $\mu\text{g/ml}$	1	2	รวม
0.3125	29288	10036	39324
0.625	17434	3877	21311
1.25	31645	10038	41683
2.5	60884	17565	78449
5	121700	27606	149306
10	222122	51426	273548
20	563033	126342	689375
30	702909	181827	884736
40	1065937	239227	1305164
50	2734955	789934	3524889

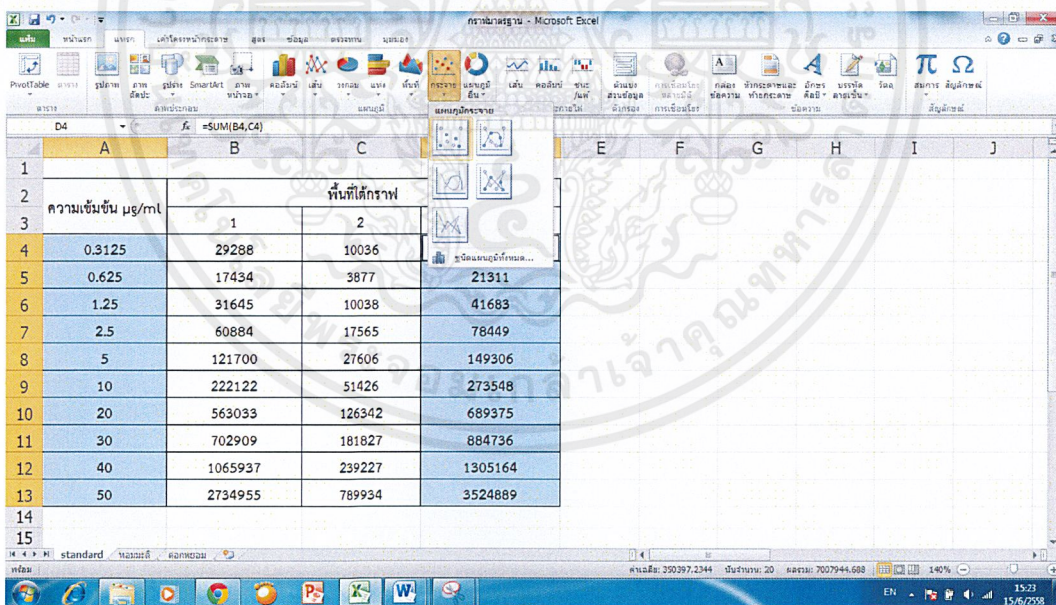
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

### 4. เลือกข้อมูลของซ้ำ

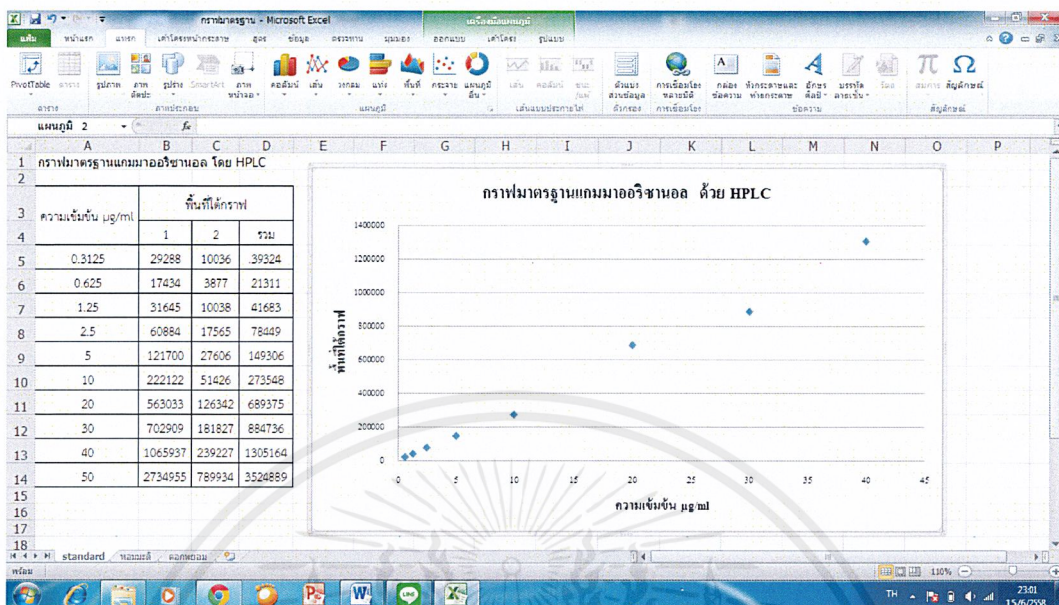
ความเข้มข้น µg/ml	พื้นที่กราฟ		
	1	2	รวม
0.3125	29288	10036	39324
0.625	17434	3877	21311
1.25	31645	10038	41683
2.5	60884	17565	78449
5	121700	27606	149306
10	222122	51426	273548
20	563033	126342	689375
30	702909	181827	884736
40	1065937	239227	1305164
50	2734955	789934	3524889

### 5. Plot กราฟ --> แทรก --> แผนภูมิการกระจาย ได้กราฟดังรูป

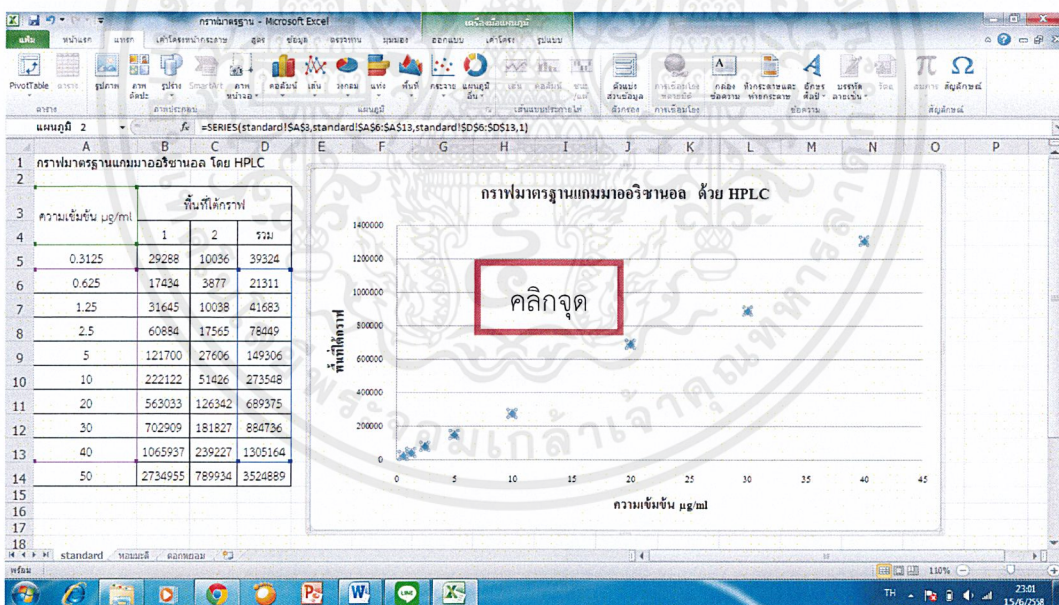


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

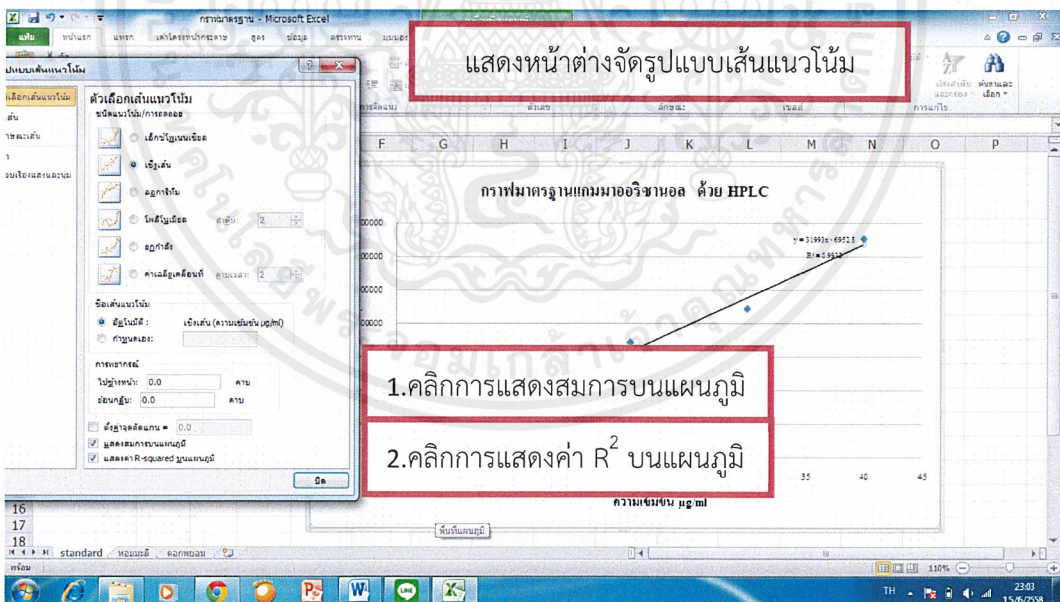
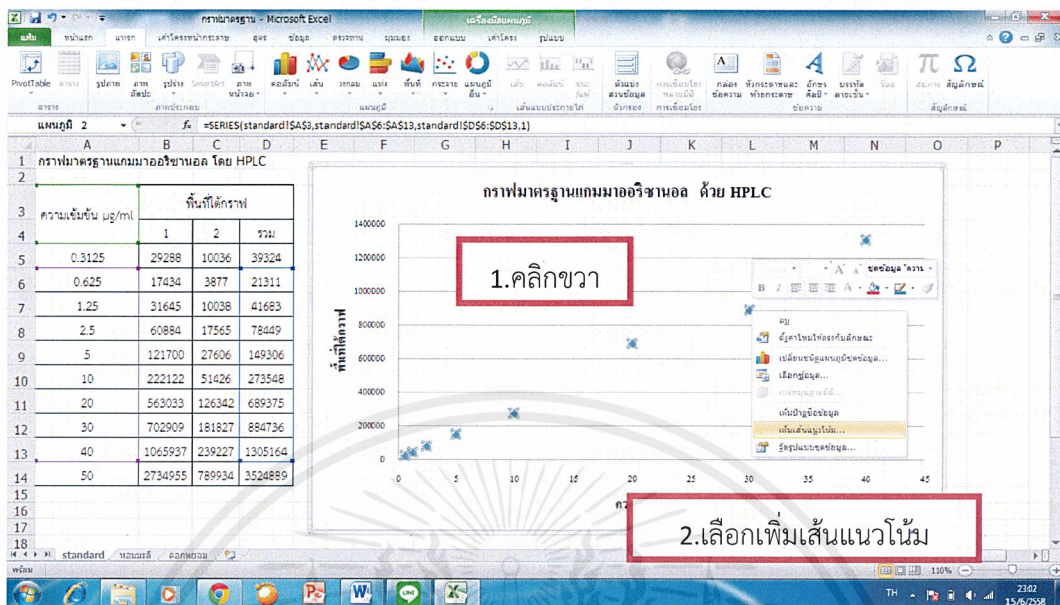


### 6. ขั้นตอนการสร้างสมการ $y = ax+c$



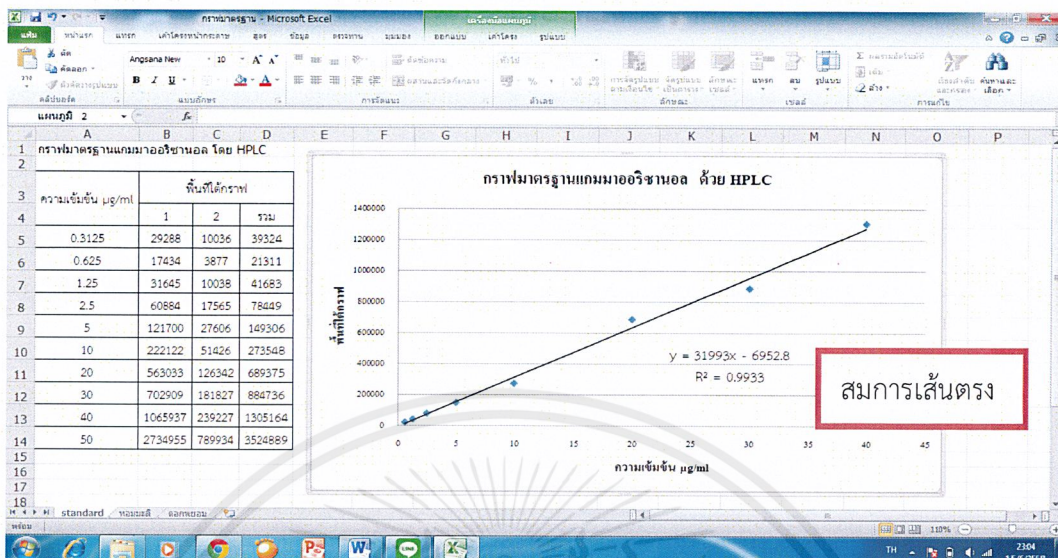
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค(ต่อ)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค(ต่อ)



7. นำสมการเส้นตรงหาปริมาณออร์ซานอล

ตัวอย่าง สมการเส้นตรง  $y=31993x+6952.8$

ให้  $y$  = ปริมาณแกมมาออร์ซานอล

$x$  = พื้นที่ที่ได้กราฟ

ดังนั้น  $x = (6952.8+15029)/31993$

จำนวนรอบของการสกัด	ชนิดของตัวทำละลายเมทานอล			รวม	y-oryzanol
	พท.ได้กราฟ1	พท.ได้กราฟ2			
1/1	9454	5575	15029	$= (6952.8 + D5) / 31993$	
1/2	12940	5230	18170	0.7853	
2/1	75041	37032	112073	3.7204	
2/2	7028	3374	10402	0.5425	
Average	26115.75	12802.75	38918.5	1.4338	



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

ปริมาณสารแกมมาออร์ชานอลในข้าวหอมมะลิ จากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction					
จำนวนรอบของการสกัด	ชนิดของตัวทำละลาย				y-oryzanol
	พท.ได้กราฟ1	พท.ได้กราฟ2	รวม	เมทานอล	
1/1	9454	5575	15029		0.6871
1/2	12940	5230	18170		0.7853
2/1	75041	37032	112073		3.7204
2/2	7028	3374	10402		0.5425
Average	26115.75	12802.75	38918.5		1.4338

3. การวิเคราะห์ผลทางสถิติของแกมมาออร์ชานอล โดยโปรแกรม SPSS จากการสกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction ของน้ำมันรำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์หอมมะลิรอบ1 (cycle1HL) และ 2 (cycle2HL) สายพันธุ์ดอกพะยอมรอบ1 (cycle1PY) และ 2 (cycle2PY) ขั้นตอนการใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 22 ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณน้ำมัน จะได้ผลการวิเคราะห์ คือ ตาราง Descriptives เป็นการแสดงของค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation;SD) ตาราง ANOVA เป็นการอ่านผลการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาออร์ชานอลในรอบของการสกัดแต่ละตัวทำละลายถ้าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไม่จำเป็นต้องทำ Post Hoc Tests แต่ถ้าไม่ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจำเป็นต้องทำ Post Hoc Tests

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

ตาราง ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation,SD) ของแก๊มมาออริซานอลจากการสกัดด้วย Soxhlet extraction

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean			Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound			
					Descriptives				
MetOH	2	1.8145	1.59438	1.12740	-12.5105	16.1395	.69	2.94	
EtOH	2	.7769	.34493	.24390	-2.3221	3.8759	.53	1.02	
Hexane	2	.6771	.06371	.04505	.1047	1.2496	.63	.72	
Acetone	2	.8866	.41330	.29225	-2.8268	4.5999	.59	1.18	
Acetonitrile	2	1.4468	.64000	.45255	-4.3033	7.1970	.99	1.90	
Total	10	1.1204	.75722	.23946	.5787	1.6621	.53	2.94	
MetOH	2	.6830	.19870	.14050	-1.1022	2.4682	.54	.82	
EtOH	2	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00	
Hexane	2	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00	
Acetone	2	.1312	.18547	.13115	-1.5353	1.7976	.00	.26	
Acetonitrile	2	.2564	.36260	.25640	-3.0015	3.5143	.00	.51	
Total	10	.2141	.30656	.09694	-.0052	.4334	.00	.82	

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

ตาราง ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation;SD) ของแก๊สมาออริชานอลจากการสกัดด้วย Soxhlet extraction(ต่อ)

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
					Descriptives			
MetOH	2	1.4388	.81155	.57385	-5.8527	8.7302	.86	2.01
EtOH	2	2.1772	.54369	.38445	-2.7078	7.0621	1.79	2.56
Hexane	2	1.3785	.40234	.28450	-2.2364	4.9934	1.09	1.66
Acetone	2	.4606	.08054	.05695	-.2631	1.1842	.40	.52
Acetonitrile	2	.8434	.08146	.05760	.1115	1.5753	.79	.90
Total	10	1.2597	.70937	.22432	.7522	1.7671	.40	2.56
MetOH	2	.9141	.72938	.51575	-5.6392	7.4673	.40	1.43
EtOH	2	1.1974	1.69338	1.19740	-14.0170	16.4118	.00	2.39
Hexane	2	1.5769	.00742	.00525	1.5101	1.6436	1.57	1.58
Acetone	2	.0000	.00000	.00000	.0000	.0000	.00	.00
Acetonitrile	2	.7713	1.09071	.77125	-9.0284	10.5709	.00	1.54
Total	10	.8919	.90279	.28549	.2461	1.5377	.00	2.39

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

ตาราง ANOVA ของเกมมาอริชานอลจากการสกัดด้วย Soxhlet extraction

ANOVA						
	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	
cycle1HL	Between Groups	1.915	4	.479	.738	.605
	Within Groups	3.246	5	.649		
	Total	5.160	9			
cycle2HL	Between Groups	.640	4	.160	3.898	.084
	Within Groups	.205	5	.041		
	Total	.846	9			
cycle1PY	Between Groups	3.400	4	.850	3.763	.089
	Within Groups	1.129	5	.226		
	Total	4.529	9			
cycle2PY	Between Groups	2.746	4	.687	.748	.599
	Within Groups	4.589	5	.918		
	Total	7.335	9			

## ภาคผนวก ค(ต่อ)

การอ่านผลการทดสอบทางสถิติ

จากตาราง พบว่า ค่า P-value ของ cycle1HL cycle2HL cycle1PY และ cycle2PY เท่ากับ 0.605 0.084 0.089 และ 0.599 ซึ่งมีค่ามากกว่าระดับความเชื่อมั่น 0.05 (95%) แสดงว่าค่าเฉลี่ยของปริมาณแกมมาออริซานอลในรอบของการสกัดแต่ละตัวทำละลายไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จึงไม่จำเป็นต้องทำ Post Hoc Tests

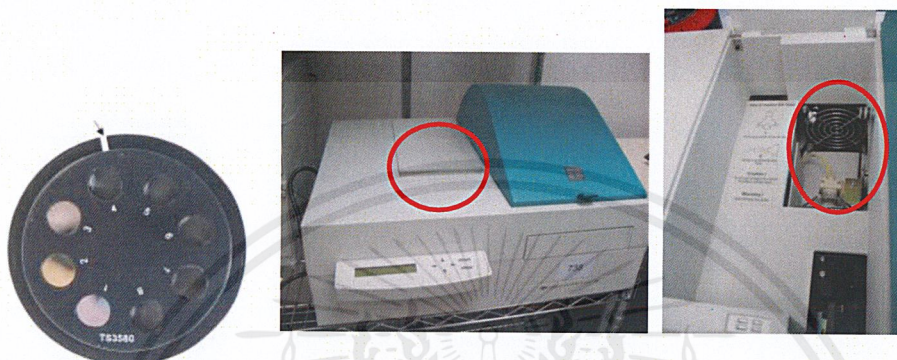


## ภาคผนวก ง

### การหาปริมาณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

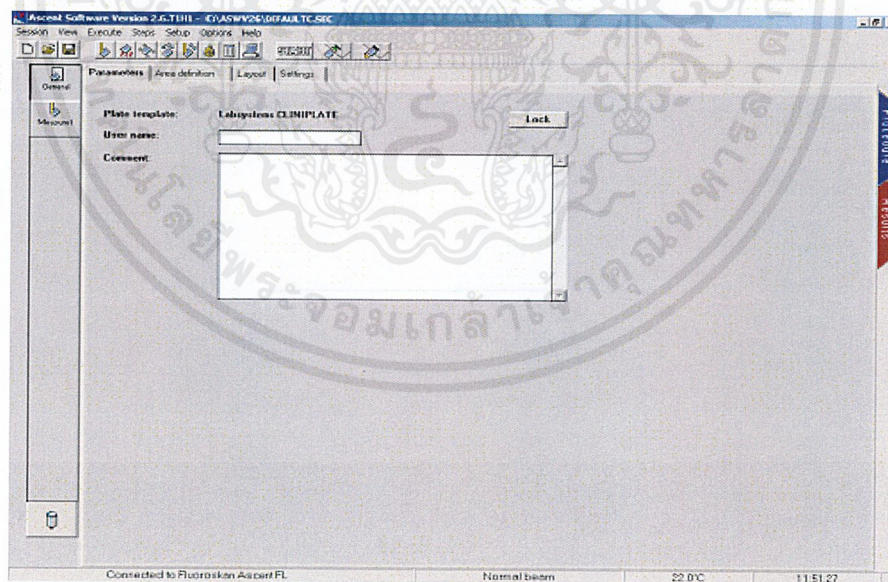
1. การวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยเครื่อง microplate reader (รุ่น N12648 Thermo Labsystems IEMS MF Type 1401 microplate reader)

1.1 นำ filters ใส่ลงในเครื่อง microplate reader



1.2 เปิดเครื่อง microplate reader และ computer

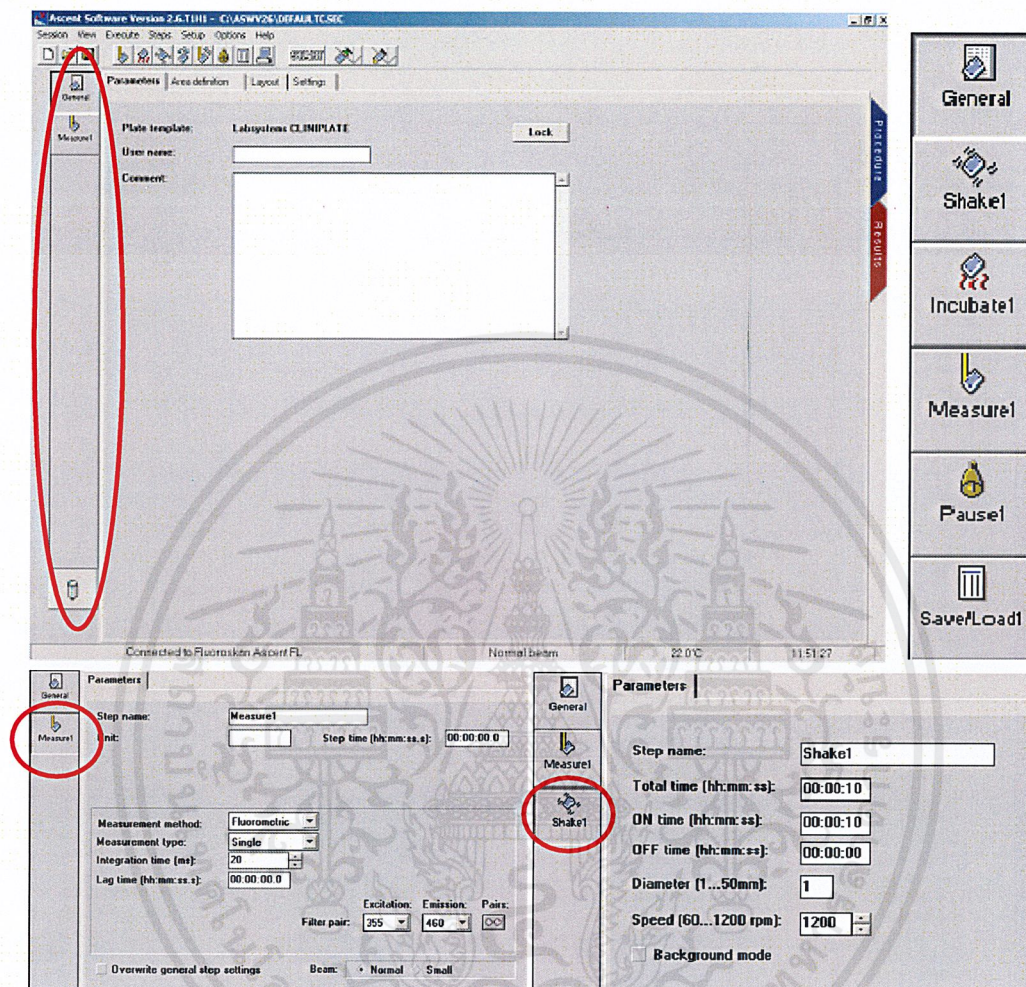
1.3 Double clicks ที่ภาพโปรแกรม  Ascent Software version 2.4.2 บนหน้าจอ computer จะพบหน้าจอนี้



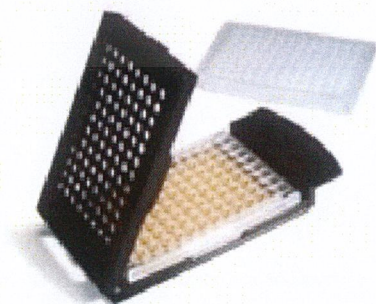
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง(ต่อ)

### 1.4 ตั้งค่าโปรแกรมก่อนวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง



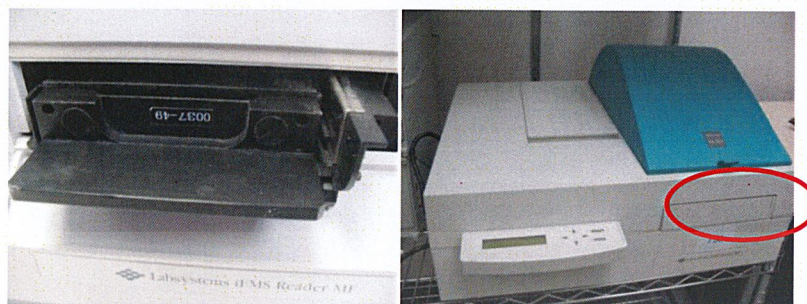
### 1.5 เตรียมตัวอย่างเพื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง



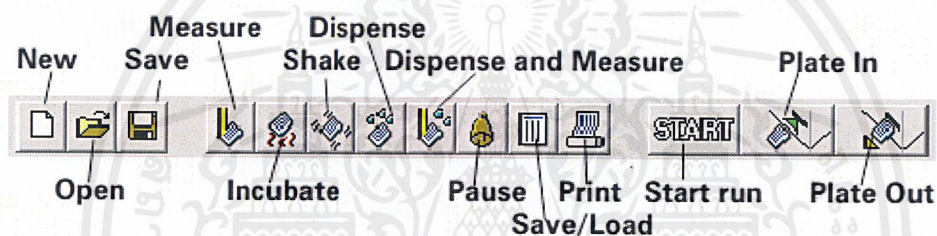
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง(ต่อ)

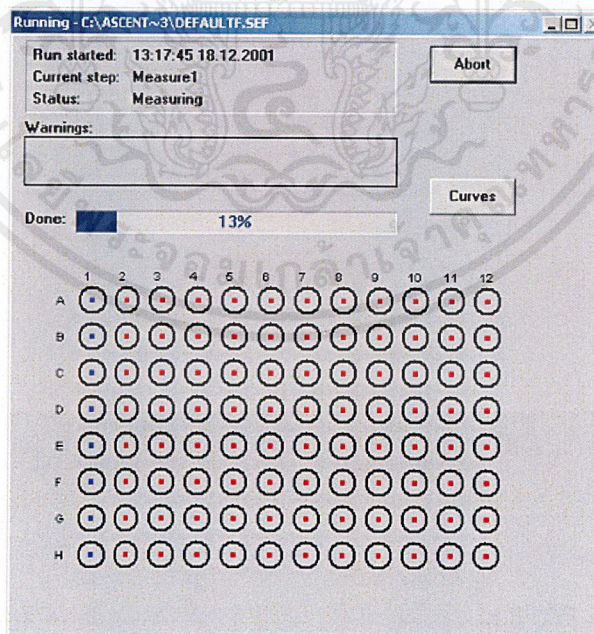
1.6 นำตัวอย่างมาใส่ในเครื่อง microplate reader เพื่อทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง



1.7 คลิก Plate In --> Start run



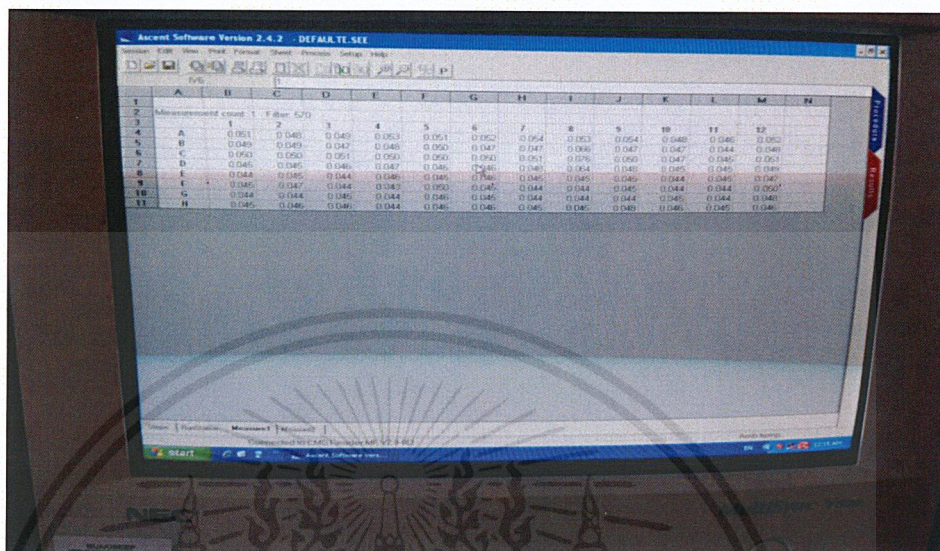
1.8 ระบบกำลังทำการวัดค่าการดูดกลืนแสง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง(ต่อ)

1.9 เมื่อทำการวัดค่าเรียบร้อยแล้ว จะพบหน้าจอนี้ save หรือถ่ายภาพ

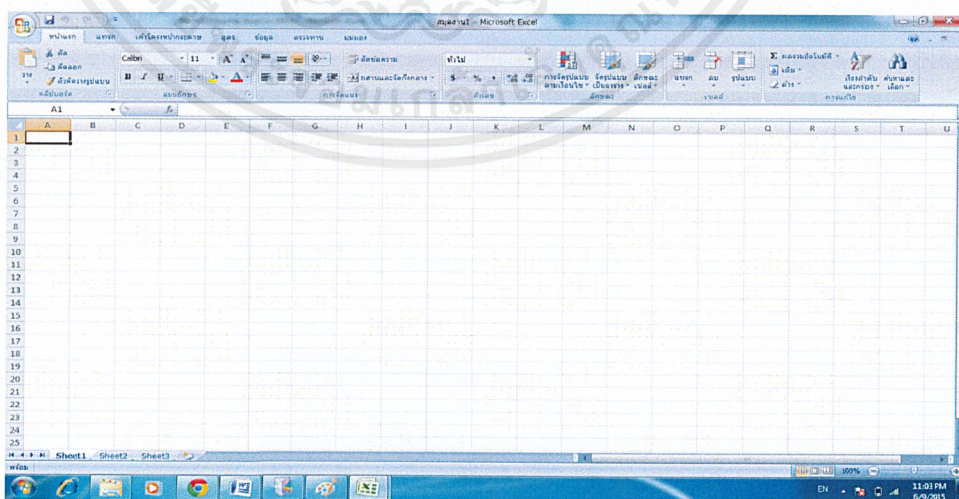


2. การหาปริมาณฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ Microsoft Excel  
 วิธีการใช้โปรแกรม Microsoft Excel

2.1 Double clicks ที่ภาพโปรแกรม



2.2 จะพบหน้าจอนี้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง(ต่อ)

2.3 กรอกราค่าความเข้มข้นของสารสกัดน้ำมันรำข้าวจากข้อมูลในตาราง โดยความเข้มข้นของสารสกัด ได้แก่ 2, 3, 4, 6 และ 8 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ( $IC_{50}$ ) มี 3 ซ้ำ ดังตาราง

ตัวอย่างข้อมูลที่ใช้ในการคำนวณ

[rice bran oil] mg/ml	$(IC_{50})$		
	ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3
2	25.054	22.022	22.455
3	35.668	30.253	31.769
4	39.350	38.267	36.968
6	52.780	47.798	52.780
8	58.412	56.679	58.845



	A	B	C	D	E	F	G
1	[rice bran oil] mg/ml		$(IC_{50})$				
2		ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3			
3	2	25.054	22.022	22.455			
4	3	35.668	30.253	31.769			
5	4	39.35	38.267	36.968			
6	6	52.78	47.798	52.78			
7	8	58.412	56.679	58.845			
8							
9							
10							

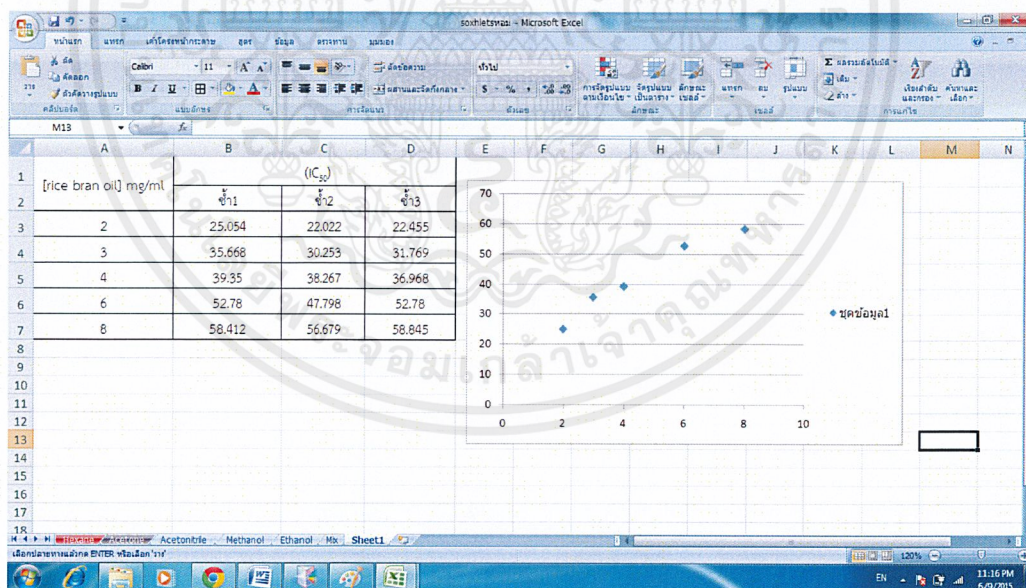
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง(ต่อ)

### 2.4 เลือกข้อมูลของซ้ำ1

	A	B	C	D	E	F	G
1	[rice bran oil] mg/ml		(IC <sub>50</sub> )				
2		ซ้ำ1	ซ้ำ2	ซ้ำ3			
3	2	25.054	22.022	22.455			
4	3	35.668	30.253	31.769			
5	4	39.35	38.267	36.968			
6	6	52.78	47.798	52.78			
7	8	58.412	56.679	58.845			

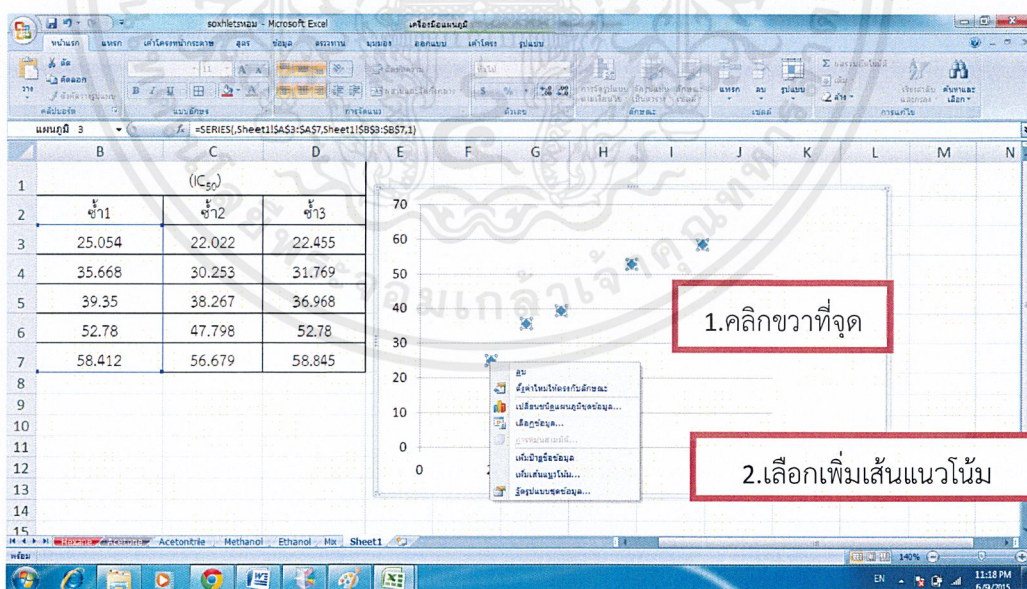
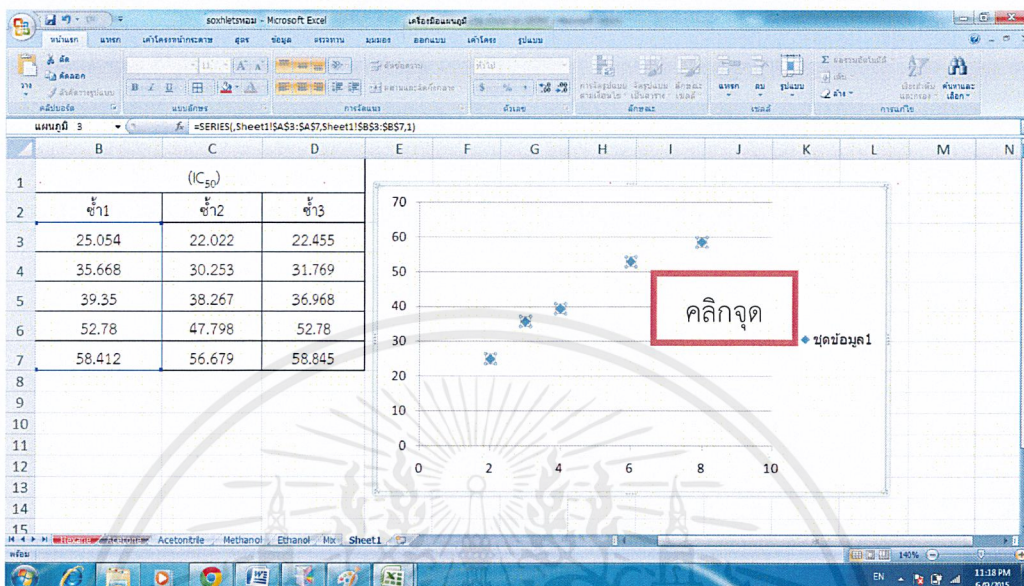
### 2.5 Plot กราฟ -->แทรก-->แผนภูมิการกระจาย ได้กราฟดังรูป



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

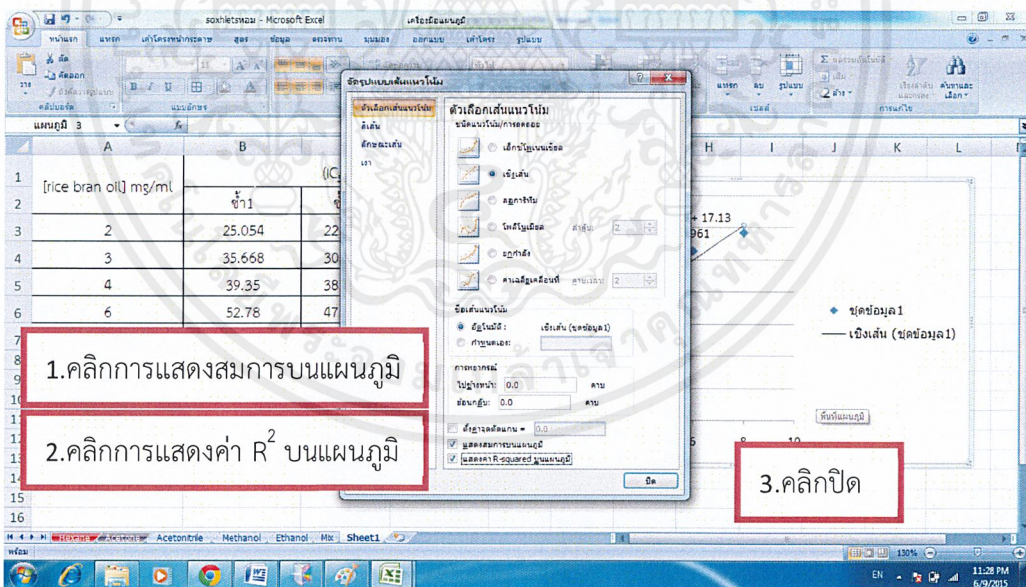
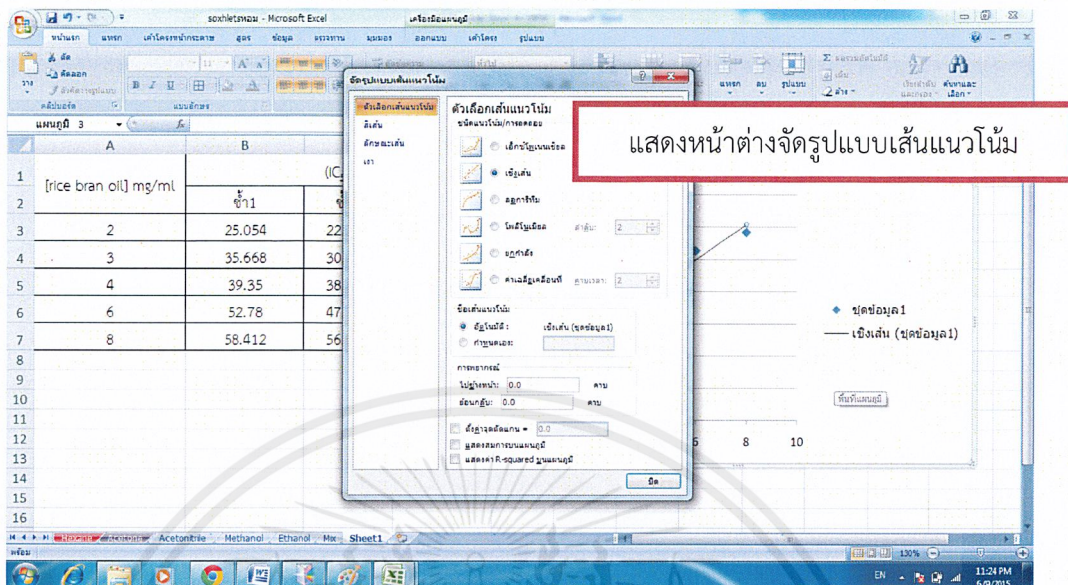
## ภาคผนวก ง(ต่อ)

### 2.6 ขั้นตอนการสร้างสมการ $y = ax+c$



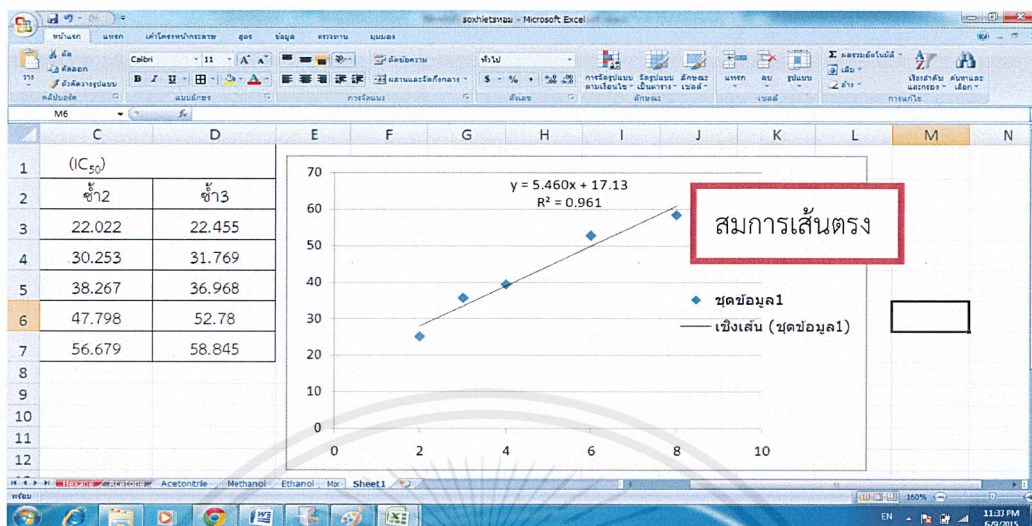
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง(ต่อ)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง(ต่อ)



2.7 นำสมการเส้นตรงหาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC<sub>50</sub>)

ตัวอย่าง สมการเส้นตรง  $y=5.460x+17.13$

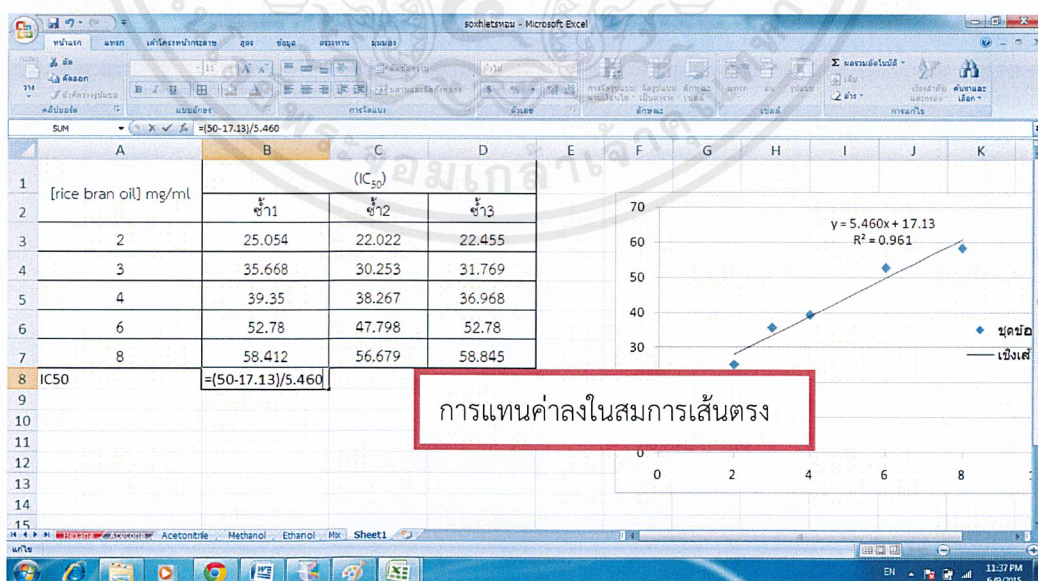
ให้ y แทน ความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50, X แทน ความเข้มข้นของสารสกัด จาก

น้ำมันรำข้าวที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50

ดังนั้น  $x = (50-17.13)/5.460$

$= 6.020$  mg/ml คือ ความเข้มข้นของสารสกัดจากน้ำมันรำข้าวที่ IC<sub>50</sub> ซ้ำ 1 ซึ่งซ้ำ 2, 3

ทำเช่นเดียวกัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง(ต่อ)

	A	B	C	D	E	F	G	H
1	[rice bran oil] mg/ml	(IC <sub>50</sub> )						
2		ซ้า1	ซ้า2	ซ้า3				
3	2	25.054	22.022	22.455				
4	3	35.668	30.253	31.769				
5	4	39.35	38.267	36.968				
6	6	52.78	47.798	52.78				
7	8	58.412						
8	IC50	6.020	ความเข้มข้นของน้ำมันรำข้าวที่ IC <sub>50</sub> ซ้า1					
9								
10						10		

3. การวิเคราะห์ผลทางสถิติของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยโปรแกรม SPSS ดังตัวอย่างของน้ำมันรำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ น้ำมันรำข้าวสายพันธุ์หอมมะลิ และสายพันธุ์ดอกพะยอม ที่สกัดด้วยวิธี Soxhlet extraction โดยใช้ตัวทำละลาย 5 ชนิด ได้แก่ เมทานอล เอทานอล เฮกเซน อะซิโตน และอะซิโตนไตรัล ขั้นตอนการใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 22 ทำเช่นเดียวกับการหาปริมาณน้ำมัน จะได้ผลการวิเคราะห์ คือ ตาราง Descriptives เป็นการแสดงของค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation;SD) ตาราง ANOVA เป็นการอ่านผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในรอบของการสกัดแต่ละตัวทำละลายถ้าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติไม่จำเป็นต้องทำ Post Hoc Tests แต่ถ้าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติจำเป็นต้องทำ Post Hoc Tests

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง(ต่อ)

ตาราง ค่าเฉลี่ย (Mean) และส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation;SD) ของพื้นที่ในการคำนวณผลสรจากจากการสกัดด้วย Soxhlet extraction

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	Descriptives			Minimum	Maximum
					95% Confidence Interval for Mean				
					Lower Bound	Upper Bound	Mean		
MetOH	6	3.00567	.114868	.046895	2.88512	3.12621	2.836	3.143	
EtOH	6	2.57633	.088489	.036125	2.48347	2.66920	2.461	2.673	
Hexane	6	6.62933	.260664	.106415	6.35578	6.90288	6.256	7.008	
Acetone	6	5.82400	.284438	.116121	5.52550	6.12250	5.573	6.333	
Acetonitril	6	5.40133	.049971	.020400	5.34889	5.45377	5.349	5.463	
Total	30	4.68733	1.640089	.299438	4.07491	5.29975	2.461	7.008	
MetOH	6	2.42367	.052370	.021380	2.36871	2.47863	2.351	2.500	
EtOH	6	2.77583	.215346	.087915	2.54984	3.00182	2.589	3.061	
Hexane	6	4.77783	.203367	.083024	4.56441	4.99125	4.514	5.033	
Acetone	6	1.97233	.136240	.055620	1.82936	2.11531	1.795	2.187	
Acetonitril	6	3.90783	.406589	.165989	3.48114	4.33452	3.396	4.314	
Total	30	3.17150	1.067216	.194846	2.77299	3.57001	1.795	5.033	

หมายเหตุ: HM แทน สายพันธุ์หอมมะลิ, DY แทน สายพันธุ์ดอกพะยอม

## ภาคผนวก ง(ต่อ)

ตาราง ANOVA ของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจากการสกัดด้วย Soxhlet extraction

### ANOVA

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	77.145	4	19.286	559.436	.000
HM Within Groups	.862	25	.034		
Total	78.007	29			
Between Groups	31.658	4	7.914	144.240	.000
DY Within Groups	1.372	25	.055		
Total	33.030	29			

หมายเหตุ: HM แทน สายพันธุ์หอมมะลิ, DY แทน สายพันธุ์ดอกพะยอม

การอ่านผลการทดสอบทางสถิติ

จากตาราง พบว่า ค่า P-value ของ HM และ DY เท่ากับ 0.000 ซึ่งมีค่าน้อยกว่าระดับความเชื่อมั่น 0.05 (95%) แสดงว่าค่าเฉลี่ยของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระจาก HM และ DY ในการสกัดแต่ละตัวทำละลายมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

HM

Duncan<sup>a</sup>

solvent	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
EtOH <sup>a</sup>	6	2.57633				
MetOH <sup>b</sup>	6		3.00567			
Acetonitril <sup>c</sup>	6			5.40133		
Acetone <sup>d</sup>	6				5.82400	
Hexane <sup>e</sup>	6					6.62933
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ง(ต่อ)

Duncan<sup>a</sup>

solvent	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
Acetone <sup>a</sup>	6	1.97233				
MetOH <sup>b</sup>	6		2.42367			
EtOH <sup>c</sup>	6			2.77583		
Acetonitril <sup>d</sup>	6				3.90783	
Hexane <sup>e</sup>	6					4.77783
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

การอ่านผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน Post Hoc Tests การรายงานผล: ผลการเปรียบเทียบเชิงซ้อน เรียงลำดับจากน้อยไปมาก การสรุปผลการทดลองนิยมใช้ตัวอักษรบนค่า mean  $\pm$  S.D. ถ้าอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P > 0.05$ )