



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตสารที่ใช้เป็นส่วนประกอบทางเวชสำอางและผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและการพัฒนากระบวนการสกัดสารแกมมาออไรซานอลจากรำข้าวไร่

Production of cosmetic ingredient and skin care products and development of gamma-oryzanol extraction process from upland rice bran

รศ.ดร. จิตติ ท๋าไว

ผศ.ดร. ดวงกมล เรือนงาม

รศ. ดร.ร่วมจิตร นกเขา

นางสาวสุจิตรา สุนคนธมัต

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก ทุนพัฒนากลุ่มและเครือข่ายวิจัย
กองทุนวิจัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

การผลิตสารที่ใช้เป็นส่วนประกอบทางเวชสำอางและผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและการพัฒนากระบวนการสกัดสารแกมมาออไรซานอลจากรำข้าวไร่

Production of cosmetic ingredient and skin care products and development of gamma-oryzanol extraction process from upland rice bran

รศ.ดร. จิตติ ท่าไว

ผศ.ดร. ดวงกมล เรือนงาม

รศ. ดร.ร่วมจิตร นกเขา

นางสาวสุจิตรา สุนคนธมัต

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจาก ทุนพัฒนากลุ่มและเครือข่ายวิจัย
กองทุนวิจัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ..การผลิตสารที่ใช้เป็นส่วนประกอบทางเวชสำอางและผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและการพัฒนากระบวนการสกัดสารแกมมาออโรซานอลจากรำข้าวไร้

แหล่งเงิน.....ทุนพัฒนามูลและเครือข่ายวิจัย.....กองทุนวิจัย.....สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.....

ประจำปีงบประมาณ.....2556.....จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน.....3,000,000.....บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย...3...ปี ตั้งแต่ 15...เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2556...ถึง 15...เดือน ตุลาคม พ.ศ. 2559

หัวหน้ากลุ่มวิจัย รศ.ดร. จิตติ ท่าไว ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สจล.

ผู้ร่วมวิจัยท่านที่ 1 ผศ.ดร. ดวงกมล เรือนงาม ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สจล.

ผู้ร่วมวิจัยท่านที่ 2 รศ. ดร.ร่วมจิตร นกเขา บัณฑิตศึกษา สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ วิทยาเขตชุมพร

ผู้ร่วมวิจัยท่านที่ 3 นางสาวสุจิตรา สุคนธมัต ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ สจล.

บทคัดย่อ

การวิจัยนี้เป็นการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันรำข้าว จากข้าวไร้ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ ดอกขาม ภูเขาทอง นางคำ สามเดือน ดอกข่า เข้มเงิน และดอกพะยอม และรำข้าวสายพันธุ์ดั้งเดิม คือ รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยวิธีการสกัด 5 วิธี ได้แก่ แบบดั้งเดิม (Soxhlet) การสกัดด้วยวิธีการแช่หรือเขย่า (Maceration, Shaking) การสกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction) การสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤตยิ่งยวดยิ่ง (Supercritical carbon dioxide extraction) และ การสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะกึ่งวิกฤตยิ่งยวด (Subcritical solvent extraction) ในเบื้องต้นทำการศึกษาวิธีการสกัดน้ำมันรำข้าวเพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ดีที่สุดโดยใช้รำข้าวไร้ดอกพะยอมและข้าวขาวดอกมะลิจากนั้นนำน้ำมันที่สกัดได้จะนำมาวิเคราะห์เชิงปริมาณและเชิงคุณภาพ โดยทำการศึกษาปริมาณสารแกมมาออโรซานอล ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารฟลาโวนอยด์ ที่มีอยู่ในน้ำมันรำข้าวและทดสอบฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP พบว่าการสกัดด้วยน้ำภายใต้สภาวะกึ่งวิกฤตสามารถสกัดสารที่ออกฤทธิ์เชิงชีวภาพได้ดีที่สุด ผลประเมินความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้ พบว่าน้ำมันรำข้าวดอกขามและเข้มเงินมีปริมาณแกมมาออโรซานอลสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวสายพันธุ์อื่นๆ โดยเฉพาะน้ำมันรำข้าวดอกขามมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในทุกเทคนิคที่ใช้ในการทดสอบ หลังจากนั้นได้ขึ้นตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวเซรั่มและโลชั่น โดยเติมสารสกัดน้ำมันรำข้าวไร้ดอกขามและเข้มเงินเป็นส่วนประกอบ พบว่าผลิตภัณฑ์มีความคงตัวสูง ลักษณะทางกายภาพดี และมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ประเมินความพึงพอใจของอาสาสมัคร 20 คน ทั้งปัจจัยความพึงพอใจโดยรวม การซึมซาบลงสู่ผิว กลิ่น ความหนืด และความชุ่มชื้น ซึ่งทุกปัจจัยในผลิตภัณฑ์เซรั่มและโลชั่นสูตรปรับปรุงได้รับคะแนนความพึงพอใจในช่วง 59 ถึง 87 เปอร์เซนต์

คำสำคัญ : น้ำมันรำข้าว ข้าวไร้ การสกัด แกมมาออโรซานอล ผลิตภัณฑ์บำรุงผิว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title: Production of cosmetic ingredient and skin care products and development of gamma-oryzanol extraction process from upland rice bran.....

Researcher:.....

Assoc. Prof. Dr. Chitti Thawai

Faculty: Science (KMITL)..... **Department:** Biology.....

Asst. Prof. Dr. Duangkamol Ruen-ngam

Faculty: Science (KMITL)..... **Department:** Biology.....

Assoc. Prof. Dr. Raumjit Nokkoul

Faculty: Graduate School (KMITL PCC)..... **Department:** -.....

Ms.Sujitra Sukonthamut

Faculty: Science..... **Department:** Statistics.....

ABSTRACT

This research is studying of suitable extraction condition for rice bran extraction by using 7 varieties of rice bran; Dok-kham (DK), Phukaothong (PK), Nang Dam (ND), Nang-dam (ND), Sarm Duen (SD), Dok-kha (D), and Dawk Pa-yom (DY) and conventional variety; Khao Dok Mali 105 (MA) under 5 extraction methods; Soxhlet, Maceration or Shaking, Ultrasound-assisted extraction, Supercritical carbon dioxide extraction and Subcritical solvent extraction Preliminary optimum condition and extraction method were examined for finding condition to get rice bran oil with high quality by using DY and MA. Rice bran oil was then analyzed by quantitative and qualitative. Amount of γ -oryzanol, total phenolics content, total flavonoids were then analyzed and quality of antioxidant was then analyzed by DPPH, ABTS, and FRAP assay. The extraction by subcritical water extraction has given the highest quality of antioxidant. Among various upland rice bran varieties was found that DK and KN gave the highest yield of γ -oryzanol. Especially DK gave the highest antioxidant quality by all means of antioxidant activity determination. Therefore DK and KN were selected to be ingredient in cosmetic production; serum and lotion. Cosmetic product with selected upland rice bran oil was found to be high stability, good appearance and having antioxidant activity. The products were tested by 20 volunteers for satisfaction in all factors in serum and lotion production that were covering an overall satisfaction, absorbance into the skin, odor, the viscosity, moisture and the results showed score of 59-87 percent was the satisfaction in the lotion and serum formula product.

Keywords : Rice bran oil, Upland rice bran, Extraction, γ -Oryzanol, Cosmetic product

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวไร้สายพันธุ์ต่างซึ่งมาจากทางจังหวัดในภาคใต้ของประเทศไทย ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม (Soxhlet) การสกัดด้วยวิธีการแช่หรือเขย่า (Maceration, Shaking) การสกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction) การสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤตยวดยิ่ง (Supercritical carbon dioxide extraction) และ การสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะกึ่งวิกฤต (Subcritical solvent extraction) คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณ

1. ศาสตราจารย์ ดร. อาทิวรรณ โชติพลกฤษ์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ให้ความอนุเคราะห์ใช้เครื่องมือสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยวดยิ่ง
2. ผู้ช่วยศาสตราจารย์พงษ์ศิริ จรูญนนท์ ภาควิชาวิศวกรรมเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม ม.ศิลปากร วิทยาเขตพระราชวังสนามจันทร์ ที่อนุเคราะห์ใช้เครื่องมือสกัดด้วยสารละลายภายใต้สภาวะกึ่งวิกฤต

การวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนจาก ทุนพัฒนากลุ่มและเครือข่ายวิจัยกองทุนวิจัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2556 จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 3,000,000 บาท สัญญาเลขที่ KREF025603

งานวิจัยนี้ได้ดำเนินงานสอดคล้องกับยุทธศาสตร์การพัฒนาประเทศตามแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ ฉบับที่ 11 (พ.ศ.2555-2559) ด้านความเข้มแข็งทางภาคการเกษตร ความมั่นคงของอาหารและพลังงาน และสอดคล้องกับหัวข้อการวิจัยของ สจล. ในการวิจัยด้านเกษตรและอาหาร งานวิจัยนี้เป็นงานวิจัยพื้นฐานทางสาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีและเป็นองค์ความรู้ที่มีประโยชน์ซึ่งสามารถต่อยอดในเชิงพาณิชย์ในอนาคตได้

รศ.ดร. จิตติ ท่าไว
ผศ.ดร. ดวงมกล เรือนงาม
รศ. ดร.ร่วมจิตร นกเขานางสาวสุจิตรา สุขนธมัต

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ข
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญรูป.....	ช
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย.....	1
1.3 ขอบเขตของการวิจัย.....	1
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ข้าวไร่ (upland rice).....	3
2.2 ออไรซานอล (Oryzanol).....	3
2.3 การเกิด และการป้องกันอนุมูลอิสระ.....	4
2.4 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ.....	4
2.5 วิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ.....	6
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในข้าว.....	7
2.7 ความชุ่มชื้นของผิวหนัง.....	7
2.8 ระบบการปรับปริมาณความชื้นของผิวหนัง.....	8
2.9 เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง.....	8
2.10 ความหมายของครีมบำรุงผิวและโลชั่น.....	8
2.11 ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ครีมและโลชั่นบำรุงผิว.....	9
2.12 กลไกในการทำให้ผิวชุ่มชื้นของมอยซ์เจอไรเซอร์.....	11
2.13 สารสำคัญที่ผสมในผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้น.....	11
บทที่ 3 วิธีดำเนินการวิจัย	22
3.1 ตัวอย่างรำข้าว.....	22
3.2 สารเคมีและอุปกรณ์.....	22
3.3 การเตรียมรำข้าว.....	25
3.4 การวัดความชื้นในรำข้าว.....	25
3.5 การวัดสีรำข้าว.....	25
3.6 การสกัดน้ำมันรำข้าว.....	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 การวัดปริมาณสารด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวประสิทธิภาพสูง.....	27
3.8 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด.....	28
3.9 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์.....	29
3.10 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH.....	29
3.11 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP.....	30
3.12 การผลิตผลิตภัณฑ์เวชสำอาง.....	31
3.13 การเปรียบเทียบค่าทางสถิติ.....	33
บทที่ 4 ผลการวิจัย.....	41
4.1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันรำข้าว.....	41
4.2 การสกัดสารจากรำข้าวด้วยเครื่องชอกท์เลต.....	42
4.3 การสกัดสารจากรำข้าวโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง.....	51
4.4 การสกัดสารจากรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต.....	63
4.5 การสกัดสารจากรำข้าวโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งจุดวิกฤต.....	68
4.6 เปรียบเทียบน้ำมันรำข้าวไร่สายพันธุ์ต่างๆ.....	78
4.7 ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง.....	82
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ.....	92
5.1 สรุปผลการวิจัย.....	92
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	92
บทที่ 6 สรุปผลผลิตงานวิจัย.....	93
เอกสารอ้างอิง.....	97
ภาคผนวก.....	101
ภาคผนวก ก เอกสารผลงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่.....	102
ภาคผนวก ข สรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย.....	103
ประวัตินักวิจัย.....	105

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้คลื่นเหนือเสียงร่วมด้วยในการสกัด	13
2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด	14
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้ตัวทำละลายวิกฤตยวดยิ่ง	17
2.4 รวบรวมงานวิจัยในอดีตที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารจากข้าว	18
3.1 ส่วนประกอบตำรับโลชั่นพื้นสูตรที่ 1	34
3.2 ส่วนประกอบตำรับโลชั่นพื้นสูตรที่ 2	35
3.3 ส่วนประกอบตำรับโลชั่นพื้นสูตรที่ 3	36
3.4 ส่วนประกอบตำรับโลชั่นสูตรปรับปรุง 1	37
3.5 ส่วนประกอบตำรับโลชั่นสูตรปรับปรุง 2	38
3.6 ส่วนประกอบตำรับเซรั่มพื้น	39
3.7 ส่วนประกอบตำรับเซรั่มพื้นที่ใส่สารสกัดน้ำมันรำข้าว	40
4.1 ร้อยละความชื้นและค่าความเข้มของสีรำข้าวแต่ละสายพันธุ์	41
4.2 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยเครื่องซอท์กเลตและคลื่นความถี่สูงแบบโพรบ	42
4.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต	76
4.4 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอไรซานอลจากรำข้าวโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต	76
4.5 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต	77
4.6 ลักษณะทางกายภาพ และลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์โลชั่นพื้น 3 สูตร	83
4.7 ค่าความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรพื้น	84
4.8 ลักษณะทางกายภาพ และลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรปรับปรุง	85
4.9 ลักษณะทางกายภาพ และลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์เซรั่มพื้นและสูตรปรับปรุง	86
4.10 การต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นและเซรั่มด้วยวิธี DPPH	88
4.11 จำนวนโคโลนีที่พบในผลิตภัณฑ์	89
4.12 ค่าความชุ่มชื้นของผิวหนังที่ทดสอบผลิตภัณฑ์โลชั่น และเซรั่มสูตรปรับปรุง	90
4.13 ค่าความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์โลชั่น และเซรั่มสูตรปรับปรุง	91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างทางเคมีของสารอนุพันธ์ของแกมมาโอโรซานอล.....	4
2.2 การสร้างพันธะกับอะตอมไฮโดรเจนเพื่อสร้างสารที่ไม่เป็นอนุโมลอิสระ.....	5
2.3 ชั้นผิวหนัง.....	8
4.1 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เครื่องชอกท์เลต.....	45
4.2 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดรำข้าวพันธุ์ดอกขาม ภูเขาทอง และขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเครื่องสกัดชอกท์เลต นาน 6 ชั่วโมง โดยชนิดของตัวทำละลายที่ต่างกัน.....	46
4.3 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เครื่องชอกท์เลต.....	47
4.4 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลที่ได้จากการสกัดรำข้าวพันธุ์ดอกขาม ภูเขาทอง และ ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเครื่องสกัดชอกท์เลต อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:40 โดยมวลต่อปริมาตร นาน 6 ชั่วโมง โดยชนิดของตัวทำละลายที่ต่างกัน.....	48
4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดรำข้าวพันธุ์ดอกขาม ภูเขาทอง และขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเครื่องสกัดชอกท์เลต อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:40 โดยมวลต่อปริมาตร นาน 6 ชั่วโมง โดยชนิดของตัวทำละลายที่ต่างกัน.....	48
4.6 ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดรำข้าวพันธุ์ดอกขาม ภูเขาทอง และขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเครื่องสกัดชอกท์เลต อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:40 โดยมวลต่อปริมาตร นาน 6 ชั่วโมง โดยชนิดของตัวทำละลายที่ต่างกัน.....	49
4.7 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เครื่องชอกท์เลต.....	50
4.8 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:6 โดยมวล อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน.....	56
4.9 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:6 โดยมวล อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน.....	56
4.10 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:6 โดยมวล อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน.....	57
4.11 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:2 1:4 และ 1:6 โดยมวล.....	57
4.12 ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:2 1:4 และ 1:6 โดยมวล.....	58
4.13 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:2 1:4 และ 1:6 โดยมวล.....	58
4.14 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง เป็นเวลา 60 นาที	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล โดยใช้อุณหภูมิในการสกัดเป็น 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส.....	59
4.15 ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง เป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล โดยใช้อุณหภูมิในการสกัดเป็น 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส.....	59
4.16 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง เป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล โดยใช้อุณหภูมิในการสกัดเป็น 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส.....	60
4.17 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที.....	60
4.18 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที.....	61
4.19 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที.....	61
4.20 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่างและแบบโพรบ.....	62
4.21 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่างและแบบโพรบ.....	62
4.22 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่างและแบบโพรบ.....	63
4.23 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต.....	66
4.24 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต.....	66
4.25 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต.....	67
4.26 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต.....	73
4.27 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต.....	74
4.28 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต.....	75
4.29 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร่และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลื่นความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที.....	78
4.30 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร่และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลื่นความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของ	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รำข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที..... 79

4.31 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร้และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วย
คลื่นความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของ
รำข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที..... 79

4.32 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร้และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลื่น
ความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของรำ
ข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที..... 80

4.33 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH ที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร้และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลื่น
ความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็น เอทานอล อัตราส่วนของรำ
ข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที..... 81

4.34 ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP ที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร้และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105
ด้วยคลื่นความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วน
ของรำข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที..... 81

4.35 ความชุ่มชื้นของผิวบริเวณที่ทดสอบผลิตภัณฑ์..... 90



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

โครงการวิจัยนี้เป็นการบูรณาการการวิจัยระหว่างคณะวิทยาศาสตร์และสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เพื่อศึกษาเปรียบเทียบและพัฒนากระบวนการสกัด ให้มีส่วนประกอบของสารแกมมาออไรซานอลปริมาณมากเพื่อจำหน่ายในรูปแบบสารออกฤทธิ์ (active ingredient) และนำส่วนสารสกัดสำคัญจากข้าวไร้ที่ได้มาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิว เพื่อตอบโจทย์วิจัยของสถาบันฯ และเพิ่มมูลค่าข้าวไร้ให้สูงขึ้น โครงการนี้ถือเป็นโครงการแรกของสถาบันฯ เพื่อทำการศึกษาและผลิตผลิตภัณฑ์ทางเวชสำอางเพื่อเป็นแนวทางการขายได้ให้กับสถาบันฯ ต่อไปในอนาคต

ข้าวเป็นผลผลิตหลักที่ได้จากการเกษตรกรรมของไทย นอกจากข้าวจะเป็นอาหารหลักของคนไทยแล้วในปัจจุบันยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นชีวผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้หลายชนิด ประเทศไทยมีข้าวสายพันธุ์ต่างๆ มากมาย ข้าวไร้คือข้าวที่ปลูกบนที่ดอนและไม่มีน้ำขังในพื้นที่ปลูกหรืออาจปลูกแซมกับพืชชนิดอื่นได้ ซึ่งส่งผลให้เกิดการจัดสรรทรัพยากรแผ่นดินเพื่อเกิดประโยชน์สูงสุด ข้าวไร้เป็นข้าวสายพันธุ์หนึ่งที่น่าสนใจและปลูกกันมากภายในพื้นที่ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร และได้ผลผลิตเป็นจำนวนมาก เมื่อนำมาสีเป็นข้าวสารจะเกิดรำข้าวปริมาณมากและในรำข้าวนี้มีความสำคัญที่สามารถนำมาใช้ประโยชน์อย่างมากมาย สารสำคัญชนิดหนึ่งในรำข้าว คือ กลุ่มสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant compounds) เช่น vitamin E, polyphenol, anthocyanin, phytate เป็นต้น ซึ่งมีคุณสมบัติในการจับอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสารแกมมาออไรซานอล (γ -oryzanol) ซึ่งมีคุณสมบัติป็นสารแอนติออกซิแดนท์และมีคุณสมบัติทางชีวภาพอีกหลายอย่าง เช่น เป็นสารกระตุ้นการเจริญของร่างกาย ลดการปริมาณโคเลสเตอรอลในพลาสมา ลดการรวมตัวของเกล็ดเลือด ช่วยรักษาระบบการทำงานของสมองที่ผิดปกติและลดรอยเหี่ยวย่นของผิวหนัง เป็นต้น

ในปัจจุบันสารแกมมาออไรซานอลได้ถูกนำมาประยุกต์ใช้เป็นอาหารเสริมและที่กำลังได้รับความนิยมคือ นำมาเป็นสารช่วยลดรอยเหี่ยวย่น (anti-aging) และสารบำรุงผิวในเวชสำอาง สารแกมมาออไรซานอลพบได้ในข้าวสายพันธุ์ต่างๆ แต่มีปริมาณที่แตกต่างกันไป ดังนั้นการวิจัยครั้งนี้จึงมุ่งเน้นเพื่อศึกษาเปรียบเทียบกระบวนการสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะสารแกมมาออไรซานอลจากข้าวไร้ เพื่อให้ทราบกระบวนการสกัดที่เหมาะสมต่อการสกัดสารออไรซานอลให้ได้ปริมาณมากที่สุดและมีคุณภาพดีตลอดจนนำสารสกัดสำคัญต่างๆ จากข้าวไร้นำมาใช้เป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและผลิตผลิตภัณฑ์ทางเวชสำอางต่างๆ เช่น โลชั่น ครีม และเซรั่มบำรุงผิว เพื่อเพิ่มมูลค่าของข้าวไร้และทำเป็นผลิตภัณฑ์ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.1.1 เพื่อศึกษาและพัฒนากระบวนการสกัดสารแกมมาออไรซานอลจากข้าวไร้
- 1.1.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของแกมมาออไรซานอลที่สกัดได้
- 1.1.3 เพื่อคิดค้นสูตรผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีส่วนประกอบจากสารสำคัญของข้าวไร้
- 1.1.4 เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์บำรุงผิวในรูปแบบต่างๆ เช่น โลชั่น เซรั่มบำรุงผิว เป็นต้น

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- วัตถุดิบที่ใช้เป็นรำข้าวไร้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- วิธีการสกัดที่ใช้ ได้แก่ วิธีการสกัดแบบดั้งเดิม (soxhlet) การสกัดด้วยคลื่นเสียงช่วยในการสกัด การสกัดด้วยวิธีการแช่หรือเขย่า (Maceration, Shaking) การสกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นเสียงร่วมด้วยในการสกัด (Ultrasound-assisted extraction) การสกัดด้วยวิธีคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะวิกฤตยวดยิ่ง (Supercritical carbon dioxide extraction) และ การสกัดด้วยตัวทำละลายภายใต้สภาวะกึ่งวิกฤตยวดยิ่ง (Subcritical solvent extraction)

- วิธีในการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาออโรซานอลด้วยวิธี HPLC
- วิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS FRAP
- วิเคราะห์องค์ประกอบสารฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
- ขึ้นตำรับผลิตภัณฑ์ เซรั่มและโลชั่น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

โครงการวิจัยชุดนี้มีเป้าหมายเพื่อทำการเปรียบเทียบกระบวนการสกัดและพัฒนาเพื่อหากระบวนการสกัดที่เหมาะสมเพื่อให้ได้ส่วนสารสกัดที่มีสารออโรซานอลจากข้าวไร้ได้ปริมาณสารมากและมีคุณภาพดี เพื่อผลิตเป็นส่วนประกอบทางเวชสำอางในรูปแบบสารออกฤทธิ์ (active ingredient) และนำสารสำคัญที่ได้จากข้าวไร้มาเป็นส่วนประกอบของผลิตภัณฑ์บำรุงผิว เช่น ครีม โลชั่น เซรั่มบำรุงผิว เป็นต้น ข้อมูลที่ได้คาดหวังว่าจะได้ผลิตภัณฑ์สารที่ใช้เป็นส่วนประกอบทางเวชสำอางในรูปแบบสารออกฤทธิ์ (active ingredient) และผลิตภัณฑ์บำรุงผิวดันแบบเพื่อเป็นแนวทางการขายได้ให้กับสถาบันฯ ต่อไปในอนาคต



บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

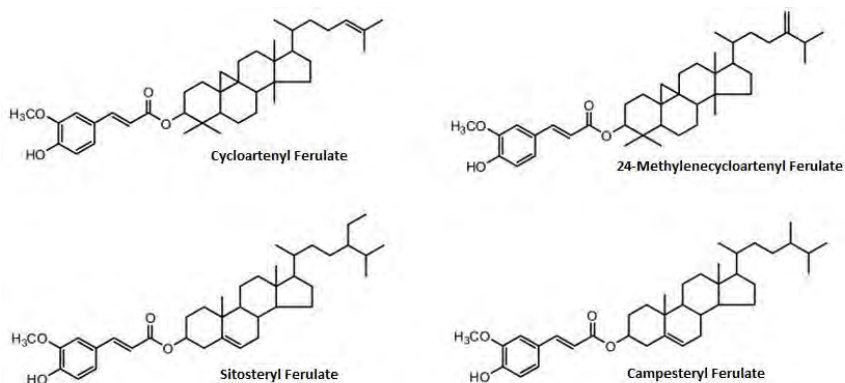
2.1 ข้าวไร่ (upland rice)

ข้าวไร่เป็นข้าวชนิดหนึ่งในสามประเภทของข้าวไทย ซึ่งได้แก่ ข้าวไร่ ข้าวนาดำ และข้าวนาหว่าน ลักษณะการปลูกข้าวไร่จะแตกต่างจากข้าวอีก 2 ประเภท คือ ปลูกบนที่ดอนและไม่มีน้ำขังในพื้นที่ปลูก รวมทั้งไม่มีการชลประทาน พื้นที่ดอนส่วนมากจะเป็นพื้นที่เชิงภูเขาที่มีลักษณะไม่มีระดับแน่นอน เนื่องจากมีความสูงต่ำของพื้นที่ทำให้ไม่สามารถไถเตรียมดินและปรับระดับได้ง่ายๆ การปลูกข้าวไร่จึงอาศัยเฉพาะน้ำฝนเพียงอย่างเดียว พื้นที่ดินปลูกข้าวไร่จะแห้งและขาดน้ำทันทีเมื่อสิ้นฤดูฝน ดังนั้นพันธุ์ข้าวไร่จึงใช้พันธุ์ที่มีอายุเบา โดยปลูกในช่วงต้นฤดูฝนและเก็บเกี่ยวในปลายฤดูฝน เนื้อที่ปลูกข้าวไร่ในประเทศมีน้อยและมีปลูกมากในภาคเหนือและภาคใต้

2.2 ออไรซานอล (Oryzanol)

ออไรซานอลเป็นกลุ่มของสารที่พบมากในรำข้าว จัดเป็นสารประกอบเอสเทอร์ระหว่างกรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) และสเตอรอล (sterol) หรือ ไตรเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (triterpene alcohol) สารออไรซานอลที่พบในรำข้าวมีชื่อเรียกเฉพาะอีกชื่อว่าแกมมาออไรซานอล (Gamma-oryzanol) มีลักษณะเป็นผงสีขาวหรือขาวปนเหลืองอ่อน ไม่ละลายน้ำแต่ละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น คลอโรฟอร์ม อีเทอร์ ได้ดี โดยทั่วไปพบได้ในรำข้าว น้ำมันรำข้าว ต้นอ่อนของข้าว น้ำมันจากต้นอ่อนของข้าว และสามารถพบได้ในธัญพืช เช่น ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวไรน์ และข้าวโอ๊ตได้ ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ได้ค้นสารอนุพันธ์ (derivatives) ของแกมมาออไรซานอลหลายชนิด โดยเฉพาะสาร cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartenyl ferulate, campesteryl ferulate จัดเป็นสารอนุพันธ์หลัก และพบสารอนุพันธ์อื่นๆ เช่น stigmasteryl ferulate, Delta-7-stigmasteryl ferulate, Delta-7-campestenyl ferulate, sitosteryl ferulate, Delta-7-sitostenyl ferulate, campestanyl ferulate และ sitostanlyl ferulate เป็นองค์ประกอบด้วย ออไรซานอลที่พบในน้ำมันรำข้าวมีปริมาณประมาณ 2% ในขณะที่พบวิตามินอี ประมาณ 0.1%แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกระบวนการผลิตน้ำมันรำข้าว

แกมมาออไรซานอลเป็นสารสำคัญในรำข้าวที่มีคุณประโยชน์ทางชีวภาพมากมายไม่เป็นพิษต่อเซลล์และสารพันธุกรรมในเซลล์ ส่วนใหญ่มีการนำไปใช้ทางการแพทย์ อาหารและเวชสำอาง ทางด้านอาหารนิยมใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันพืช ใช้เป็นสารกันเสียและเป็นสารป้องกันการเปลี่ยนสีในผลิตภัณฑ์ที่เป็นอิมัลชัน ทางด้านเวชสำอางนิยมใช้เป็นส่วนผสมของผลิตภัณฑ์รักษาความเหี่ยวย่นของผิวหนัง ให้ความชุ่มชื้น รักษาความคงทนของสีผลิตภัณฑ์ และใช้ควบคุมกลิ่นที่เกิดจากเหงื่อ ทางด้านการแพทย์และเภสัชวิทยาพบว่าแกมมาออไรซานอลมีคุณสมบัติช่วยลดปริมาณโคเลสเตอรอล ลดการรวมตัวของเกล็ดเลือด เพิ่มปริมาณการหลังกรดน้ำดีในอุจจาระ และช่วยรักษาระบบการทำงานของสมองที่ผิดปกติได้



รูปที่ 2.1 โครงสร้างทางเคมีของสารอนุพันธ์ของแกมมาออโรซานอล

2.3 การเกิด และการป้องกันอนุมูลอิสระ

สารอนุมูลอิสระ (Free radicals) หรือ Reactive oxygen species (ROS) เป็นโมเลกุล หรืออิออนที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวอยู่รอบนอกและมีอายุสั้นมากจัดเป็นโมเลกุลที่ไม่เสถียรและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยาเคมีจึงทำปฏิกิริยากับโมเลกุลต่างๆภายในร่างกายเพื่อให้ตัวมันเสถียรแหล่งที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระในตัวคนมี 2 แหล่งคือจากภายในร่างกายเช่นการเผาผลาญอาหารการหายใจการออกกำลังกายและจากแหล่งภายนอกร่างกายที่เป็นตัวกระตุ้นให้เกิดอนุมูลอิสระได้แก่ความเครียดการติดเชื้อมลพิษในอากาศ เป็นต้นอนุมูลอิสระมีหลายชนิดชนิดที่สำคัญได้แก่ซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน (Superoxide anion), ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ (Hydrogen peroxide), ไฮดรอกซิลแรดดิคัล (Hydroxyl radical) เมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นจึงเกิดการทำลายโมเลกุลอื่นๆต่อเนื่องกันเป็นลูกโซ่ส่งผลให้เกิดการอักเสบของเนื้อเยื่อร่างกายเกิดริ้วรอยเหี่ยวย่นบนใบหน้ารอบดวงตาและผิวหนังรวมทั้งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคเรื้อรังต่างๆเช่นโรคหัวใจขาดเลือดต่อกระดูกความดันโลหิตสูงอัลไซเมอร์เบาหวานมะเร็ง เป็นต้นปกติภายในร่างกายของเรามีกลไกป้องกันการโจมตีจากอนุมูลอิสระโดยอาศัยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระที่สร้างขึ้นในร่างกายเช่นเอนไซม์ Superoxide dismutase, Catalase, Glutathione peroxidase เป็นต้นแต่การสร้างสารต้านอนุมูลอิสระยังไม่เพียงพอและมีขีดจำกัดประกอบกับเมื่ออายุมากขึ้นร่างกายสร้างสารต้านอนุมูลอิสระได้น้อยลงดังนั้นร่างกายจึงควรรับสารต้านอนุมูลอิสระจากภายนอกด้วยเช่นกัน

แหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนซ์ (Antioxidants) ที่เรารู้จักกันดี ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี ซีลีเนียม เบต้าแคโรทีน วิตามินเอ และพฤกษเคมีต่างๆ (Phytochemical) เช่น โพลีฟีนอล (Polyphenol) ไอโซฟลาโวน (Isoflavone) เป็นต้น

2.4 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

วิธีที่นิยมทั่วไปมี 3 วิธีคือ (1) Antioxidant activity ซึ่งเป็นการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระ ในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีนิก (2) Reducing power เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ และ(3) Scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH) เป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ ในการกำจัดสาร DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง โดยได้อธิบายรายละเอียดของแต่ละวิธีดังนี้

1.การวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ของกรดลิโนลีนิก (Antioxidant activity)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

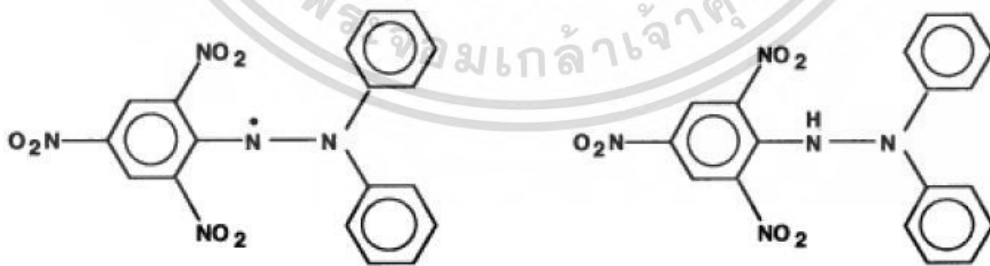
กรดลิโนลีนิกเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบทำให้กรดนี้สามารถจับกับอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบทำให้กลายเป็นอนุมูลอิสระจากนั้นจึงทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ซึ่งเป็น Conjugated diene ที่เสถียรสารต้านอนุมูลอิสระที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบทำให้สารต้านนี้สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้จึงสามารถลดการเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีนิกได้ด้วยเหตุนี้ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีนิกจึงวัดโดยเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงในสารละลายที่มีกรดลิโนลีนิกผสมอยู่ ทั้งไว้ระยะหนึ่ง จากนั้นใช้เครื่อง UV Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตรค่าที่ได้นี้แปรผันกับความเข้มข้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้นดังนั้นการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งชี้ถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้

2. การวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ (Reducing power)

สารที่เป็นรีดิวซิงเอเจนต์สามารถจ่ายอิเล็กตรอนให้กับอะตอมหรือโมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ (เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น)เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริกไอออน (Fe^{3+}) มีความสามารถในการดึงอิเล็กตรอนจากสารอื่นๆ ได้ดี ในด้านชีวเคมีอนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดเป็นสารที่มีออกซิเจนและไวต่อปฏิกิริยา (ROS) ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิด ROS เช่นอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลไฮดรอกซิล เป็นต้นเพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของแต่ละสารที่สกัดได้ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริกไอออนกับสารสกัดแต่ละชนิดมีค่าคงที่ และค่าของการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตรจากเครื่องมือวิเคราะห์สารโดยใช้หลักการทางสเปกโตรสโคป (UV Spectrophotometer) จะมีค่าแปรผันตามความเข้มข้นของเฟอร์ริกไอออนที่เกิดขึ้นดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของการเป็นรีดิวซิงเอเจนต์

3. การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร DPPH (Scavenging effect on 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl radicals (DPPH))

DPPH คืออนุมูลอิสระที่เสถียรและสามารถรับอิเล็กตรอนได้อีกเพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ ดังรูปที่ 1 และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลอื่นจะทำให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ ดังรูปที่ 2.2



1: Diphenylpicrylhydrazyl (free radical)

2: Diphenylpicrylhydrazine (nonradical)

รูปที่ 2.2 การสร้างพันธะกับอะตอมไฮโดรเจนเพื่อสร้างสารที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ

ดังนั้นความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษานี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่เสถียรที่อยู่ในสารละลาย (นิยมใช้ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุโมเลกุลเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิสระมาก เพราะใช้งานง่าย) โดยในการทดสอบนี้จะให้ DPPH (มีสีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนดค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรจะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง)บ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ

2.5 วิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

2.5.1 การสกัดด้วยเครื่อง soxhlet

โดยทั่วไปงานทางด้านสกัดจะใช้วิธีนี้ ซึ่งเป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้ชุดเครื่องมือ soxhlet หลักการคือ สารที่ต้องการสกัดจะละลายออกมาจากวัสดุที่ต้องการสกัด โดยละลายในตัวทำละลายที่กลั่นและวนกลับมาอย่างต่อเนื่อง กระบวนการสกัดนี้จะใช้เวลานานมากกว่า ๓ ชั่วโมงหรือจนกว่าไม่มีสารที่ต้องการละลายออกมาแล้วโดยมากมักจะสังเกตได้จากสารละลายนั้นไม่มีสีของสารที่จะสกัด

2.5.2 การสกัดด้วยวิธีการแช่ (maceration)

เป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้ในการสกัดสารอินทรีย์โดยการแช่วัสดุที่ต้องการสกัดลงในตัวทำละลายอินทรีย์ วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายที่สุดแต่ใช้เวลาในการสกัดนาน

2.5.3 การสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic)

เป็นวิธีที่ใช้เครื่อง Ultrasonic ที่ใช้ในการล้างอุปกรณ์ที่มีอยู่ในห้องปฏิบัติการ หลักการคือ เครื่องมือดังกล่าวจะปล่อยคลื่นเหนือเสียงออกมาในตัวพาซึ่งในที่นี้คือตัวทำละลาย กระบวนการดังกล่าวจะทำให้เกิดฟองก๊าซซึ่งการหดตัวและขยายตัวเป็นวัฏจักร เมื่อฟองก๊าซขยายตัวจะดึงสารที่อยู่ภายในวัสดุออกมาสู่ภายนอกและจะละลายในตัวทำละลาย การสกัดด้วยวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพดีหรือไม่ขึ้น กับปัจจัยหลายอย่าง อันได้แก่

- ความถี่ที่ใช้ ถ้าใช้ความถี่ในการสกัดสูงจะใช้เวลาสั้นในการสกัด
- คุณสมบัติที่แตกต่างกันของตัวทำละลาย อันได้แก่ ความดันไอ
- อุณหภูมิที่ใช้ การสกัดเกิดได้ดีเมื่อมีอุณหภูมิสูง และในตัวทำละลายที่มีความดันไอสูง
- ชนิดของก๊าซที่ใช้
- ความดันภายนอก
- ความเข้มของคลื่นเสียงที่ใช้

โดยทั่วไปการสกัดสารที่เกิดจากกระบวนการสันดาบของพืช (secondary metabolites) ด้วยวิธีช่ยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด ในแง่ของปริมาณ ตัวอย่างสารที่สกัดด้วยวิธีนี้ ใบชา มินท์ เครื่องเทศ (sage) คาโมไมล์ (chamomile) โสม เป็นต้น ตัวอย่างงานวิจัยในอดีตที่ใช้วิธีนี้แสดงดังตารางที่ 1

2.5.4 การสกัดด้วยเครื่องไมโครเวฟ (microwave)

วิธีเป็นวิธีการสกัดที่เกิดขึ้นใหม่ หลักการคือ การใช้คลื่นไมโครเวฟในหารสกัดสาร ด้วยคุณสมบัติของตัวทำละลายทำให้มีคุณสมบัติที่แตกต่างกันไปเมื่ออยู่ในสนามแม่เหล็กไฟฟ้า เช่น การดูดซับคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า การสะท้อน การส่งผ่านคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เป็นต้น ปัจจัยที่ผลต่อประสิทธิภาพในการสกัด สภาวะในการสกัด เวลา อุณหภูมิ กำลังของคลื่นไมโครเวฟ คุณสมบัติวัสดุ องค์ประกอบที่เป็นความชื้น ความคงตัวของวัสดุ คุณสมบัติของตัวทำละลายและสารที่สกัดได้

ในอดีตวิธีนี้ใช้มากในวงการอาหารเพื่อใช้ในการถนอมอาหารโดยใช้ความร้อนเพื่อใช้ฆ่า

เชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในอาหารและช่วยในการลดความชื้นในอาหารประเภทผักและผลไม้ ในปัจจุบันวิธีนี้ใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืช (Oufnac 2006, Wittayasinthana 2007) ยิ่งไปกว่านั้นวิธีนี้รู้จักกันดีในรูปแบบของวิธีการสกัดที่รวดเร็ว ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้วิธีนี้ในการสกัดสารแสดงดังตารางที่ 2

2.5.5 การสกัดด้วยตัวทำละลายวิกฤตยิ่ง

วิธีนี้เป็นวิธีการสกัดประเภทหนึ่งที่ใช้สกัดสารเชิงยา หรือสารต้านอนุมูลอิสระ ที่มีเสถียรภาพในการทนความร้อนได้ต่ำ และเป็นสารที่มีความมีขี้ตัวต่ำ โดยมากใช้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นตัวทำละลาย ซึ่งกำหนดสภาวะของคาร์บอนไดออกไซด์ให้อยู่ในสภาวะของไหลวิกฤตยิ่ง หรือสภาวะที่เหนือจุดวิกฤตของคาร์บอนไดออกไซด์ ($T_c = 31.1^{\circ}\text{C}$ และ $P_c = 73.8 \text{ bar}$)

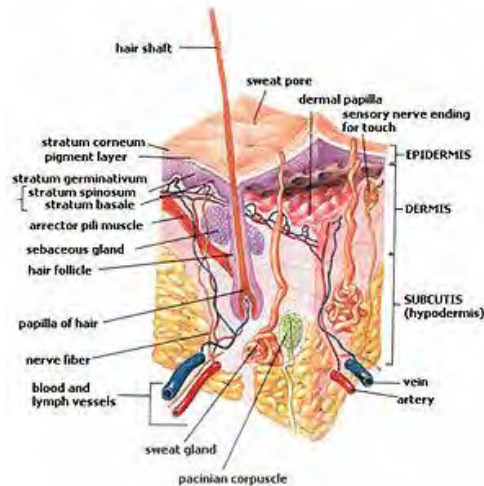
ปัจจุบันวิธีนี้ใช้กันแพร่หลายเนื่องจากให้ประสิทธิภาพในการสกัดที่ดีเมื่อเทียบกับวิธีการสกัดประเภทอื่นๆ และมีองค์ประกอบได้ทำการขยายขนาดของระบบดังกล่าว อย่างไรก็ตามระบบดังกล่าวมีข้อเสีย คือ ค่าอุปกรณ์และการดำเนินการค่อนข้างสูง ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้วิธีนี้ในการสกัดสารแสดงดังตารางที่ 3

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในข้าว

ข้าวมีองค์ประกอบสำคัญ ได้แก่ free fatty acid, γ -oryzanol, ferulic acid, tocopherol, phenolic compounds เป็นต้น สารดังกล่าวนอกจากจะมีประโยชน์ในแง่โภชนาการแล้วยังมีประสิทธิภาพในแง่สารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ γ -oryzanol, ferulic acid, γ -tocopherol และ phenolic compounds จากงานวิจัยในตารางที่ 2.1 ถึง 2.4 แสดงให้เห็นว่าในปัจจุบันมีงานวิจัยส่วนมากพัฒนาระบบการสกัดสารที่มีประโยชน์และสารต้านอนุมูลอิสระจากข้าว วิธีทดสอบประสิทธิภาพสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ คือ วิธี DPPH

2.7 ความชุ่มชื้นของผิวหนัง

สาเหตุประการหนึ่งที่ทำให้ผิวเกิดริ้วรอยบนผิวหนัง คือ การที่ผิวหนังขาดความชุ่มชื้น ซึ่งเกิดจากสภาวะภายในของร่างกาย และจากการทำลายจากสิ่งแวดล้อม ผิวหนังชั้น Stratum corneum จะต้องมียาน้ำมากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์ของส่วนประกอบทั้งหมด เพื่อให้ส่วนประกอบทั้งหลายยังคงคุณสมบัติที่ดีเพียงพอที่จะทำให้ผิวหนังชั้น Stratum corneum สามารถรักษาหน้าที่และคุณสมบัติต่างๆ เช่น คุณสมบัติในการกักเก็บน้ำ คุณสมบัติของการทำงานของเอนไซม์ รักษาสภาพของผิวหนังให้ดูสวยงามนุ่มเนียนตลอดเวลาสัมผัส และทำให้เกิดการผลัดเปลี่ยนและหลุดออกของหนังกำพร้าตามปกติ ถ้าคุณสมบัติเหล่านี้เสียไปเพราะขาดน้ำ หรือขาดความชุ่มชื้นจากสาเหตุใดก็ตาม เช่น การอักเสบ การแห้งของอากาศ ผิวจะยิ่งแห้งขึ้นเรื่อยๆ และเกิดเป็นริ้วรอยที่สามารถสังเกตเห็นได้



รูปที่ 2.3 ชั้นผิวหนัง

2.8 ระบบการปรับปริมาณความชื้นของผิวหนัง

ผิวหนังมีข้อจำกัดในการดูดซับน้ำ มีผนังกันสำหรับควบคุมปริมาณของความชื้นที่จะระเหยออกไปหรือซึมเข้ามา เมื่อมีการไหลเวียนของกระแสเลือดตามปกติจะทำให้เกิดความชุ่มชื้นภายในเซลล์ ความแห้งของผิวหนังชั้นนอกจะมีความสำคัญทางสรีรวิทยา Keratin ของผิวหนังจะมีความต้านทานต่อความชื้นทั้งทางเคมีและฟิสิกส์ ถ้าผิวมีความชื้นต่ำจะสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียและเชื้อราได้ ผิวแห้งจะเปราะง่ายและไม่มีความยืดหยุ่น แต่ปกติที่ผิวหนังจะมีสารที่เป็นไขมันและสารที่เป็น Hydrophilic ปกคลุมอยู่จึงทำให้ผิวไม่แห้ง ถึงแม้จะอยู่ในที่ที่มีความชื้นสัมพัทธ์ต่ำ เช่นเดียวกับเครื่องสำอางหลายชนิด เช่น ครีม โลชั่น ที่ช่วยลดการระเหยของน้ำบนชั้นผิวหนัง ซึ่งมีผลต่อความชื้นในชั้นผิว ความยืดหยุ่นของผิวและความต้านทานต่อสารเคมี

2.9 เครื่องสำอางสำหรับผิวหนัง

เครื่องสำอางซึ่งใช้เสริมความงามหรือเสริมสร้างหน้าที่ของร่างกาย นิยามใช้กับอวัยวะภายนอกของร่างกาย อันได้แก่ ผิวหนัง ผม ขน และเล็บ พร้อมการบำรุงผิวให้เสมือนซ้ำกว่าปกติ และช่วยแก้ไขปกปิดรอยต่างตำหรือข้อตำหนิของผิวและเล็บ เป็นการป้องกัน และระงับกลิ่นกายและลมหายใจ การป้องกันผิวจากภายนอก เช่น ความร้อน แสงแดด เป็นต้น จะทำให้แลดูอ่อนวัยในทางการแพทย์ใช้รักษาความผิดปกติบางอย่างของผิวหนัง เช่น สิว ฝ้า กระจ่างใส เป็นต้น

2.10 ความหมายของครีมบำรุงผิวและโลชั่น

โลชั่น (Lotion) หมายถึง สิ่งปรุงที่มีลักษณะเป็นของเหลวสำหรับใช้ภายนอกเฉพาะที่อาจเป็นสารละลายใส (solution) ซัสเพนชัน (suspension) หรืออิมัลชัน (emulsion) ส่วนครีม (cream) หมายถึง สิ่งปรุงที่มีลักษณะเป็นอิมัลชันกึ่งแข็ง ครีมและโลชั่นทาผิว หมายถึง ครีมโลชั่นที่ทำขึ้นสำหรับใช้เพื่อบำรุงให้นุ่มและชุ่มชื้นขึ้น แบ่งชนิดอิมัลชันตามความหนืดได้ 2 ชนิด คือ

โลชั่น (Lotion) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดต่ำ (เหลว) เพราะมีวัฏภาคภายนอกในปริมาณที่สูง มีวัฏภาคภายในไม่เกิน 35% เป็นต้น โลชั่นอาจเป็นได้ทั้ง O/W (ชนิดน้ำมันในน้ำ) หรือ W/O (ชนิดน้ำในน้ำมัน) แต่แบบ W/O ไม่เป็นที่นิยม เพราะจะถูกน้ำชะล้างออกหมด โลชั่นอาจใช้สารเพิ่มความหนืดเพื่อให้หนืดขึ้นแต่ยังคงเป็นของเหลวที่ไหลไม่ได้

ครีม (Cream) เป็นอิมัลชันที่มีความหนืดสูง ๖ลักษณะกึ่งแข็ง) เพราะมีส่วนประกอบของสารพวกไขแข็ง (Waxes) และไขมัน (Fatty acid or Fatty alcohol) ซึ่งช่วยเพิ่มความหนืดให้เนื้อครีมๆได้ทั้งชนิดที่ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็น O/W หรือ W/O มีความข้นหนืดมากกว่าโลชั่น เพราะมีปริมาณวัฏภาคภายในสูงกว่าโลชั่น คือ ประมาณร้อยละ 35-75

2.11 ส่วนผสมของผลิตภัณฑ์ครีมและโลชั่นบำรุงผิว

ครีมและโลชั่นบำรุงผิว เป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบอิมัลชันที่มีองค์ประกอบหลักสำคัญ 3 ส่วน คือ วัฏภาคน้ำ วัฏภาคน้ำมัน และตัวทำอิมัลชัน ซึ่งในแต่ละองค์ประกอบมีรายละเอียดดังนี้

2.11.1 องค์ประกอบที่ละลายในวัฏภาคน้ำมัน

องค์ประกอบที่เป็นวัฏภาคน้ำมันในรูปแบบอิมัลชันอาจเป็นน้ำมัน (Oils) ไขมัน (Fats) ไชแข็ง (Waxes) ซึ่งอาจได้จากธรรมชาติหรือการสังเคราะห์ มีตั้งแต่ของเหลวไปจนถึงของแข็งให้เลือกมากมาย สารต่างๆ เหล่านี้มีคุณสมบัติ ข้อดีและข้อเสียทั้งด้านคุณภาพต่อผิวหนังและคุณภาพต่อรูปลักษณะของผลิตภัณฑ์ ด้านคุณภาพต่อผิวหนังนั้นหน้าที่ที่สำคัญ ได้แก่ เป็นสารอิมอลเลียนต์ (Emollient) ซึ่งเป็นสารให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง (Moisturizer) ที่ทำหน้าที่หล่อลื่นผิวให้นุ่ม และสืบทอดการสัมผัสช่วยรักษาความชุ่มชื้นและเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับผิว คุณภาพเมื่อใช้ทาบนผิว เช่น การหล่อลื่น ความอ่อนนุ่ม ความเหนอะหนะ และการกระจายตัวบนผิวน้ำแตกต่างกันไป ส่วนคุณภาพต่อรูปลักษณะของผลิตภัณฑ์ ได้แก่ ตัวพา (Carrier) ที่ดีของน้ำหอม สี และกลิ่น กระจายตัวดี ทำให้ผลิตภัณฑ์มีความสม่ำเสมอและน่าใช้ เป็นสารเพิ่มเนื้อครีม หรือสารควบคุมความหนืด เป็นต้น ตัวอย่างสารอิมอลเลียนต์ ได้แก่

ไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon) สารกลุ่มนี้ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่หืน และมีความคงตัวดี ได้แก่ น้ำมันแร่ และไฮพาราฟิน มีคุณสมบัติคือ ทำให้ฟิล์มกั้นน้ำบนผิวโดยไม่ซึมเข้าสู่ผิวหนัง จึงเหมาะกับผลิตภัณฑ์ปกป้องผิว และผลิตภัณฑ์ป้องกันแสงแดดซึ่งไม่ต้องการให้มีการดูดซึมของสารออกฤทธิ์ แต่ไม่เหมาะกับผลิตภัณฑ์บำรุงผิว และไม่สามารถทดแทนไขผิวหนังและยังละลายส่วนประกอบของไขมันบนผิวหนังด้วย

กรดไขมัน (Fatty acids) นิยมใช้กรดไขมันที่มี C12-18 ในครีมสำหรับผิวหนังเพื่อให้เกิดฟิล์มบางๆคลุมผิว พบว่า กรดสเตียริก นิยมมากที่สุด เนื่องจากสามารถอุ้มน้ำไว้ในโมเลกุล ทำให้เกิดความชุ่มชื้นแก่ผิวหนังได้มาก

แอลกอฮอล์ไขมัน (Fatty alcohols) สารเหล่านี้ทำให้เกิดฟิล์มคลุมผิว แต่สามารถแทรกซึมเข้าสู่ผิวทำให้ผิวนุ่มนวลขึ้นได้และยังใช้เพื่อเพิ่มความหนืดให้กับผลิตภัณฑ์ นิยมใช้สเตียริลแอลกอฮอล์ ซิทิลแอลกอฮอล์ หรือใช้ทั้ง 2 ตัวร่วมกัน

เอสเทอร์ของกรดไขมัน (Fatty acid ester) เอทิลเอสเทอร์ เป็นน้ำมันซึ่งใช้เป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้า สามารถดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ง่าย และรวดเร็ว ทำหน้าที่เป็นตัวกลางในการพาด้วยยา หรือสารสำคัญเข้าสู่ผิวหนังได้ เช่น เอทิลลาโนลิเอท เป็นต้น

เอสเทอร์เหลวของกรดไขมัน (Liquid fatty acid esters) เป็นเอสเทอร์กรดไขมันผสม มีความหนืดต่ำ เคลือบผิวแล้วเกิดฟิล์มบางๆที่ไม่เป็นมัน สามารถดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดีโดยไม่ทำให้รู้สึกเหนียวเหนอะหนะ เช่น ไอโซโพรพิลมายริสเตด ไอโซโพรพิลสเตียเรต

โพลีออลเอสเทอร์ เช่น กลีเซอรอลโมโนสเตียเรต โพลีเอทิลีนไกลคอลเอสเทอร์ เป็นสารกึ่งแข็งกึ่งเหลวที่นิยมใช้ในอิมัลชัน

อีเทอร์ของกรดไขมัน (Fatty ethers) เป็นอีเทอร์ที่เกิดจากกรดไขมันทำปฏิกิริยากับเอทิลีนออกไซด์ หรือโพรพิลีนออกไซด์ มักใช้เป็นตัวทำอิมัลชัน และมีฤทธิ์เป็นสารอิมอลเลียนต์ด้วย

ไตรกลีเซอไรด์ (Triglycerides) น้ำมันที่ได้จากพืชและสัตว์ ส่วนใหญ่ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์ของกรดไขมันสารตรง น้ำหนักโมเลกุลสูงทั้งชนิดอิ่มตัว และไม่อิ่มตัว และยังมีกลุ่มเอสเทอร์ซึ่งชอบน้ำ เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บ้าง ดังนั้นน้ำมันเหล่านี้จึงไม่ละลายน้ำแต่ไม่ถึงกับไร้ชั้นเท่ากับน้ำแร่ มีอำนาจการดูดซึมสู่ผิวหนัง และเส้นผมดีกว่าน้ำแร่ โดยพบว่าสามารถดูดซึมเข้าสู่ผิวหนังได้ดี เช่น น้ำมันโอโวคาโด น้ำมันรำข้าว การใช้ไขมันพืชในสูตร ควรใส่สารต้านการเหินด้วย

ซิลิโคน (Silicones) เป็นน้ำมันที่มีความหนืดได้ตั้งแต่เหลวจนถึงกึ่งแข็ง มีความคงตัวทางเคมีสูง ทนความร้อนสูง กันน้ำได้ดี เกาะติดผิวหนังโดยไม่ทำให้รู้สึกเหนอะหนะ

ลาโนลิน และอนุพันธ์ลาโนลิน (Lanolin and Derivative) เป็นสารที่สกัดได้จากต่อมไขมันของแกะ ไม่ละลายน้ำ แต่อุ้มน้ำไว้ในตัวเองได้ ใช้ในเครื่องสำอางสำหรับผิวหนังเพื่อทำให้หนังกำพร้าที่แห้งกลับคืนสภาพชุ่มชื้นและยืดหยุ่นได้ ลาโนลินมีคุณสมบัติเป็นสารอิมอลเลียนต์ที่มีประสิทธิภาพดีมาก มีองค์ประกอบใกล้เคียงกับไขมันผิวหนังมากที่สุด แต่มีข้อเสียคือ กลิ่นแรง ทิ้งไว้นานสีจะเข้าชั้น ผสมเข้ากับสารอื่นมาก และเหนอะหนะผิว

สเตอรอล (Sterols) ที่นิยามใช้คือ โคลเอสเตอรอล สารตัวนี้นอกจากทำให้ผิวหนังชุ่มชื้นแล้ว ยังแทนไขมันธรรมชาติของผิวที่ถูกขจัดออกไป เพราะไขมันที่ปกคลุมผิวหนังที่ประกอบด้วย ไช และ โคลเอสเตอรอล ประมาณร้อยละ 5 ดังนั้น โคลเอสเตอรอลที่ใส่ในครีมและโลชั่นบำรุงผิวสามารถทดแทนไขมันตามธรรมชาติเป็นอย่างดี

ฟอสโฟลิปิด (Phospholipid) เป็นสารที่พบในเซลล์สัตว์ของสิ่งมีชีวิตอยู่สูงถึงร้อยละ 2.6 คือ เลซิทีน และพบมากในน้ำมันพืช และสัตว์ มีคุณสมบัติดูดเก็บความชื้น และกระจายตัวได้ดีบนผิว

สารกันเหิน (Antioxidants) การเติมสารกันเหินเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับผลิตภัณฑ์ครีมถนอมผิว ทั้งนี้เพื่อป้องกันการเกิด Oxidation ของน้ำมัน และสารที่มีความไวต่อปฏิกิริยาออกซิเดชัน อันได้แก่ น้ำมันหรือ ไขมันที่มีโครงสร้างเป็นโมเลกุลแบบไม่อิ่มตัว หรือกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง ในส่วนผสม สารกันเหินที่นิยมได้แก่ BHA BHT และ Tocopherols (วิตามินอี)

สารผสมอื่นๆ เช่น สารแต่งกลิ่น และสารแต่งสี หรือสารที่ช่วยเพิ่มคุณลักษณะเฉพาะให้ผลิตภัณฑ์ เช่น สารกันแดด สารสกัดจากธรรมชาติ หรือวิตามินต่างๆ

2.11.2 องค์ประกอบที่ละลายได้ในวัฏภาคน้ำ

สารฮิวเมกแตนต์ (Humectants) เป็นสารที่สามารถดูดเก็บความชื้นจากบรรยากาศรอบตัวมาเก็บในตัวได้ดี ทำหน้าที่ป้องกันการสูญเสียน้ำจากเนื้อครีม ทำให้ครีมไม่แห้งง่ายเมื่อเก็บไว้นาน ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นให้แก่ผิว และช่วยรักษาความคงตัวให้กับผลิตภัณฑ์ โดยสารที่เป็นฮิวเมกแตนต์ที่ดีควรดูดเก็บความชื้นจากบรรยากาศมาเก็บไว้ได้ภายในได้ความชื้นปกติ มีความหนืดต่ำเพื่อละลายหรือผสมได้ง่ายกับองค์ประกอบอื่นๆ มีความหนืดคงที่ไม่เปลี่ยนแปลงไปตามอุณหภูมิ ไม่ระเหยง่ายหรือตกผลึก หรือแข็งตัวภายใต้ความชื้นปกติของบรรยากาศ มีฤทธิ์ปานกลาง เข้าได้ดีกับสารอื่นๆในสูตรตำรับ ไม่ระคายเคืองผิว ฮิวเมกแตนต์ที่นิยมใช้มากที่สุดในเครื่องสำอางคือ ไพรพิลีนไกลคอล กลีเซอริน และซอร์บิทอล เนื่องจากมีความปลอดภัยต่อผิวหนังและไม่เป็นพิษ แต่ถ้าใส่มากเกินไปจะดูดความชื้นจากผิวหนัง ทำผิวหนังแห้งและทำให้ผลิตภัณฑ์เสียความคงตัวทางกายภาพ

สารเพิ่มความหนืด (Thickener) เป็นสารช่วยเพิ่มความหนืดให้กับอิมัลชัน อาจเรียกว่าเป็นสารช่วยทำอิมัลชัน การเพิ่มความหนืดเป็นการเพิ่มความคงตัว และความสวยงามน่าใช้ให้กับผลิตภัณฑ์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งอิมัลชันชนิดโลชันซึ่งมีปริมาณวัฏภาคภายใน (วัฏภาคน้ำมัน) น้อย ถ้าไม่ใช้สารเพิ่มความหนืดแก่วัฏภาคภายนอกช่วย จะทำให้หยดน้ำมันที่แยกตัวมารวมกันง่ายขึ้น นอกจากนี้ยังช่วยปรับปรุงคุณสมบัติการไหลของอิมัลชัน และความหนืดให้ดีขึ้นทำให้ผลิตภัณฑ์ไม่เหลวจนเกินไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารกันเสีย (Preservative agent) เนื่องจากครีมและโลชั่นบำรุงผิวมีสารเสื่อมเสียง่ายโดยจุลินทรีย์เป็นส่วนประกอบจึงต้องมีการใช้สารกันเสียเพื่อยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ทั้งในระหว่างการผลิต และเมื่อผลิตภัณฑ์ถึงมือผู้บริโภค โดยสารกันเสียที่ดีควรมีได้ตีที่ความเข้มข้นต่ำ สามารถออกฤทธิ์ได้กว้างกับจุลินทรีย์ทุกชนิด ออกฤทธิ์ได้ในช่วงความเป็นกรด-ด่างกว้าง สามารถเข้ากันได้กับสารอื่นในสูตร โดยเฉพาะสารระเหยระคายผิว ทนความร้อน ไม่เป็นพิษ ไม่ระคายเคืองผิวหนัง ไม่มีสี กลิ่น และไม่ระเหย

2.12 กลไกในการทำให้ผิวชุ่มน้ำของมอยซ์เจอไรเซอร์

2.10.1 Occlusive คือ การป้องกันน้ำระเหยออกจากผิว โดยเกิดเป็นฟิล์มบางที่ต่อเนื่องปกคลุมผิว จึงทำให้ผิวชั้น Horny layer ดึงน้ำจากผิวล่างขึ้นมาโดยไม่ถูกระเหยออกไป เกิดการชุ่มน้ำและอ่อนนุ่ม มีความยืดหยุ่น

2.12.2 Humectancy คือ การดูดน้ำจากอากาศเข้าสู่ผิวหนังทำให้ Horny layer ชุ่มน้ำ

2.12.3 Restoration of deficient materials คือ การทดแทนผิวหนังด้วยสารที่ขาดหายไป เช่น การทดแทนสารรักษาความชื้นตามธรรมชาติในผิว (Natural moisturizing factor: NMFs)

2.12.4 ผลกระทบที่ให้ความชุ่มชื้นแก่ผิวหนัง

ผิวหนังชั้น Stratum corneum นอกจากจะป้องกันการซึมอพรผ่านของสารสำคัญจากภายนอกแล้ว ยังมีหน้าที่สำคัญในการช่วยลดการสูญเสียน้ำเนื่องจากถูกเคลือบไว้ด้วยน้ำมันหล่อเลี้ยงผิวหนัง ช่วยเก็บความชุ่มชื้นของผิวไว้ แต่ในบางคนผิวหนังชั้น Stratum corneum เกิดความผิดปกติ ทำให้มีการระเหยของน้ำออกจากผิวหนังมากกว่าปกติ ทำให้ผิวแห้ง เช่น เป็นโรคผิวหนังจากพันธุกรรม (Congenital ichthyosis) หรือ Xerosis ซึ่งความผิดปกติของผิวหนังที่เกิดจากผิวหนังชั้น Stratum corneum ขาดน้ำและหลุดลอกเกิดเป็นขุย หรือการชำระล้างผิวหนังมากเกินไปจนทำให้ไขมันหล่อเลี้ยงผิวถูกชะล้างออกจนหมด นอกจากนี้สารชำระล้างยังอาจก่อให้เกิดการระคายเคืองต่อเซลล์คอร์นิโอไซตในชั้น Stratum corneum ทำให้คุณภาพของผิวหนังเสียไป และในภาวะมรอากาศมีความชื้นต่ำ เช่น ฤดูหนาว น้ำจะระเหยจากผิวหนังเพิ่มมากขึ้น ทำให้ผิวหนังแห้ง หรือการทำงานในห้องปรับอากาศ ซึ่งมีความชื้นต่ำ จะช่วยเร่งให้ผิวหนังแห้งมากขึ้นดังนั้นเพื่อป้องกันริ้วรอยบนผิวหนังขาดน้ำ การใช้ผลิตภัณฑ์เพื่อเพิ่มความชุ่มชื้น มอยซ์เจอไรเซอร์ ให้ผิวหนัง สามารถแก้หรือบรรเทาปัญหาดังกล่าวได้ รูปแบบผลิตภัณฑ์อาจผลิตในรูปแบบครีม โลชั่น อิมัลชัน โลชั่นไฮ เจล และสเปรย์ การตั้งชื่อผลิตภัณฑ์และความจำเพาะของผลิตภัณฑ์นั้นจะขึ้นอยู่กับองค์ประกอบที่ผสมในมอยซ์เจอไรเซอร์ที่เป็นพื้นฐานเพื่อดึงดูดความสนใจแก่ผู้บริโภค

2.13 สารสำคัญที่ผสมในผลิตภัณฑ์เพิ่มความชุ่มชื้น

2.13.1 สารช่วยเพิ่มน้ำในผิวหนัง (Hydrophilic matrix moisturizers) โดยผสมสารที่เป็นส่วนประกอบตามธรรมชาติของผิวหนัง (Natural moisturizing factors: NMFs) ซึ่งมีคุณสมบัติดูดน้ำได้ดีเพื่อรักษาผิวแห้ง เช่น Hyaluronic acid หรือ Sodium Hyaluronate ยูเรีย และโซเดียมแลคเตท สารเหล่านี้เป็นสารที่พบเป็นส่วนประกอบตามธรรมชาติของผิวหนัง

2.13.2 สารป้องกันการระเหยของน้ำจากผิว (Occlusive moisturizer) ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวแห้งจะผสมน้ำมันหลายชนิดในปริมาณค่อนข้างสูง น้ำมันจะเคลือบผิวหนังป้องกันการระเหยของน้ำจากผิวหนัง น้ำมันที่ใช้ในเครื่องสำอางมีหลายกลุ่มคือ น้ำมันไฮโดรคาร์บอน (Hydrocarbon oils) และซีผึ้ง น้ำมันซิลิโคน (Silicone oils) ไขมันจากพืชและสัตว์ กรดไขมัน ไขมันแอลกอฮอล์ Polyhydric alcohols เอสเธอร์ซีผึ้ง (Wax esters) ซีผึ้งจากพืช (vegetable waxes) ฟอสโฟลิปิด (Phospholipids) Sphingolipid และสเตอรอลได้แก่ โคเลสเตอรอล

น้ำมันในกลุ่มไฮโดรคาร์บอน น้ำมันพืช น้ำมันจากสัตว์ ลาโนลิน หรือซีผึ้ง เป็นสารที่มีความมัน เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเหนอะหนะ จึงต้องใช้ในปริมาณพอเหมาะ สำหรับไขมันในกลุ่มฟอสโฟไลปิด Sphingolipid และสเตอรอลเป็นไขมันที่มีคุณสมบัติคล้ายไขมันของผิวหนังธรรมชาติจึงสามารถนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังได้ดี สำหรับสารที่น่าสนใจอีกกลุ่มหนึ่ง คือ กลุ่มซิลิโคน สารกลุ่มนี้ช่วยเพิ่มความชุ่มชื้นและช่วยหล่อลื่นผิวหนังได้ดีโดยไม่เหนียวเหนอะหนะ ไม่ก่อให้เกิดสิว และไม่ทำให้เกิดอาการแพ้ สารช่วยป้องกันการระเหยของน้ำจากผิวหนังมีข้อดีคือ ทำให้ผิวหนังลื่น ชุ่มชื้น และนุ่มนวล แต่มีข้อเสียคือ ไขมันบางชนิดอาจเกิดการอุดตันรูขุมขนก่อให้เกิดสิว และถ้าผสมในผลิตภัณฑ์ปริมาณสูง จะทำให้มีลักษณะเหนียวข้นไม่เป็นที่ชื่นชอบของผู้บริโภค

2.13.3 สารดูดความชื้นจากบรรยากาศ (Humectant moisturizers)

สารกลุ่มนี้เป็นสารที่ละลายน้ำและดูดน้ำได้ดี ใช้เพื่อป้องกันการระเหยของน้ำจากเนื้อผลิตภัณฑ์เมื่อทาผลิตภัณฑ์บนผิวหนัง สารดูดความชื้นจะช่วยดูดความชื้นจากอากาศเข้าไปในผิวหนังกำพวด ถ้าความชื้นในอากาศสูงกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ จะสามารถดูดน้ำจากบรรยากาศได้ แต่ถ้าความชื้นในอากาศต่ำ จะกลับดึงน้ำให้ระเหยออกจากผิวหนังสู่บรรยากาศทำให้ผิวแห้งมากขึ้น จึงควรผสมด้วยความเข้มข้นที่พอเหมาะ ตัวอย่างของสารกลุ่มนี้ คือ กลีเซอริน กรดแลคติก โซเดียมแลคเตท โพรไพลีนไกลคอล ซอร์บิทอล Pyrrolidonecarboxylic acid วิตามินและโปรตีนบางชนิด



ตารางที่ 2.1 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้คลื่นเหนือเสียงร่วมด้วยในการสกัด

No.	Source	Material	Compound	Frequency (MHz) & Power (W)	Solvent type	Temperature (°C)	Time (min)
1.	Sališová et al., 1997	<i>Salvia officinalis</i>	Pharmaceutical active compounds	37-42 kHz, 130 W	65% methanol	20, 30 (opt.), 50	1, 3, 5, 12 (opt.), 24 h
2.	Rostagno et al., 2003	Soybeans	Isoflavones	24 kHz, 200 W	Methanol, ethanol, MeCN	10, 60 (opt. with 50% ethanol)	10, 20 (opt.)
3.	Elisandra et al., 2003	<i>Chresta exsucca</i>	Steroids	60 Hz, 125 W	Dichloromethane, methanol	30	30
4.	Hromádková and Ebringerová, 2003	Buckwheat	triterpenoids	20 Hz, 100 W	3% NaOH, 5% NaOH (opt.)	40, 60 (opt.)	5, 10 (opt.)
5.	Hromádková et al., 1999	<i>Salvia officinalis</i>	Hemicelluloses polysaccharides	20 kHz, 600 W	Water	90	1 h
6.	Sun et al., 2002	Wheat straw	Hemicelluloses	20 kHz, 100 W	60% methanol	60	5-35 (opt.)
7.	Jianyong et al., 2001	Ginseng root	Ginseng saponins	38.5 kHz, 810 W	Pure ethanol, water-saturated, n-butanol, 10% methanol	38-39 (opt.)	1-2 h (opt.)

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด

No.	Source	Material	Compound	Frequency (MHz) &Power (W)	Solvent type	Liquid/Solvent (ml/g)	Temperature (°C)	Time (min)	Pressure (kPa)
1.	Pan et al., 2000	Licorice root	Glycyrrhizic acid (GA)	2450 MHz, 700W	Water, Ethanol, ethanol -water (opt.50-60%), Ammonia (opt.1-2%), ethanol-water- ammonia	opt.10:1	85 - 90	0.5-10 (opt. 4-5)	-
2.	Guo et al., 2001	Radix puerariae	Puerarin	2450 MHz, 700 W (10-100%)	Ethanol-water	0, 30, 50, 70, 95	85, 90, 100, 115,130, 135	2, 5, 8, 12, 30	50-100 (opt.50)
3.	Pan et al., 2001	<i>Salviamiltiorrhiza bunge</i> of root	Tanshinones		<i>n</i> -butylacetate, ethanol (opt.95%), methanol, acetone, <i>n</i> -butanol , ethylacetate , tetrahydrofuran	opt.10:1	80	0.5 – 5 (opt.2)	-
4.	Hao et al., 2002	<i>Artemisia annua</i> L	Artemisinin	650 W	Ethanol, Trichloromethane, Cyclohexane, <i>n</i> -hexane, Petroleum ether, No. 120 solvent oil and No. 6 extraction solvent oil	opt. >11.3	-	2, 4, 6, 8, 10,12, 14, 18 (opt.12,dia meter of material 0.125 mm)	-
5.	Pan et al., 2002	<i>Salviamiltiorrhiza bunge</i>	Tanshinones	2450 MHz, 700 W (10-100%)	-	-	80	0.5-5 min	-

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด (ต่อ)

No.	Author	Material	Compound	Frequency (MHz) &Power (W)	Solvent type	Liquid/ Solvent (mL/g)	Temperature (°C)	Time (min)	Pressure (kPa)
6.	Shu et al., 2003	Ginseng root	Ginsenosides	2450 MHz, 30,150 W (opt.)	Water-Ethanol (opt.70%, 30%)	-	room temp.	1, 2, 5, 10, 15 (opt.)	-
7.	Li et al., 2004	<i>E.ulmodies</i>	Geniposidic	2450 MHz, 700 W (90, 70, 50%) (opt.50%)	Methanol-Water (80%)	20	-	0.10, 0.30, 50 (opt0.8)	-
			Chlorogenic acid	opt.5%	Methanol-Water (20%)	-	-	opt.0.3	
8.	Fulzele et al., 2005	<i>Nothapodytes foetida</i>	Camptothecin (CPT) 9-Me-CPT	100W	Methanol, Ethanol	-	80	3	-
9.	Zhou et al., 2006	Tobacco leaves	Solanesol	2450 MHz, 700W	Hexane, Ethanol, hexane:ethanol (3:1, 1:1, 1:3) opt.hexane-ethanol 1:3 with 0.05 mol/L NaOH	-	60	5, 10, 20, 40, 60	-
10.	Martino et al., 2006	<i>Melilotus officinalis</i>	Coumarin, o- coumaric and melilotic acids	100W	Ethanol-water (opt.5%)	-	50(opt.50), 110	5(opt.2heating cycles), 10	-
11.	Barbero et al., 2006	Peppers	Capsaicinoids	500W	Methanol, Ethanol (opt.100%), Acetone, Ethyl acetate and Water	opt.5:1	50-200 (opt.125)	5-30 (opt.5)	-
12.	Hemwimon et al., 2006	<i>Morinda citrifolia</i> of roots	Anthraquinones	2450 MHz, 1200 W (60%)	Acetone, Methanol, Ethanol, Acetonitrile, ethanol:water (20:80, 50:50, 80:20)	100	60, 80,100, 120	5, 10, 15, 20	-

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัด (ต่อ)

No.	Author	Material	Compound	Frequency (MHz) & Power (W)	Solvent type	Liquid/Solvent (mL/g)	Temperature (°C)	Time (min)	Pressure (kPa)
13.	Chen et al., 2007	Ganoderma atrum	Total triterpenoid saponins	2450 MHz, 800 W (100%)	95% ethanol, chloroform, ethyl acetate, n-butanol, acetone, and methylene chloride/methanol mixture (v/v,1:1)	95% ethanol 25	60, 70, 78, 100, 120	20	-
14.	Mauricio et al., 2007	Soybeans	Isoflavones	500W (5%)	Ethanol or Methanol, (vary water 30-70%) (opt.50%ethanol)	50	50, 75, 100, 125, 150 (opt.50)	10, 15, 20, 25 and 30 (opt.20)	-
15.	Mao et al., 2007	<i>Rhodiola L.</i>	Salidroside and tyrosol	2450MHz, 200, 400, 700 W (opt.400W)	methanol-water (10, 20, 30, 40, 50, 60, 80 and 90%) (opt.50%)	5	-	Soaked up the solution: 10, 30, 60, 120, 90, 120 and 150 (opt.60) Heated by a microwave: 1-8 min (opt.5)	-
16.	Chen et al., 2008	<i>Herba Epimedii</i>	Flavonoids	DMAE 20-100 W	ethanol and methanol	-	80	10	-
17.	Wang et al., 2008	Panax ginseng root	Ginsenosides	High pressure microwave assisted extraction (HPMAE)	methanol, 70% ethanol-water (opt.) and water	-	-	2, 5, 10 (opt.), 15 and 30	100, 200, 300, 400 (opt.) and 500

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารมีประโยชน์จากแหล่งต่างๆ โดยใช้ตัวทำละลายวิกฤตยวดยิ่ง


No.	Author	Material	Compound	Solvent type	Temperature (°C)	Pressure (bar)	Sample loading (g)	Solvent flow rate (ml/min)	Extraction chamber (ml)
1.	Roy et al., 1996	Peppermint leaves	Essential oils and cuticular wax	-	40	100-300 optimal press. At 300 bar	23-24	0.028-0.66	~177
2.	Cathy et al., 1999	Fermentation broth of yeast and L-phenylalanine	Rose aroma	-	32-42 (opt. 35-40)	200	50 ml	N/A	350
3.	Palma and Taylor et al., 1999	Grape seed	Polyphenolic cmp.	10% methanol (opt.)	35-55 (opt. 55)	N/A	0.03	1	1
4.	Tonthubthimthong et al., 2001	Neem seeds	Nimbin	-	35-60 (opt. 55)	100-260 (opt. 230)	2	0.24-1.24	10
5.	Huang-Chung et al., 2001	Ginseng root hair	Ginseng root hair oil and ginsenosides	Ethanol as co-solvent	35-60 (opt. 60)	104-312 (opt. 312)	80	5	300
6.	Mendes et al., 1995	Algae <i>Chlorella vulgaris</i>	Carotenoids and other lipids	-	40-55 (opt. 55)	200-350 (opt.)	5	400	N/A
7.	Matsuyama et al., 1998	Yeast <i>Phaffia rhodozyma</i>	Astaxanthin	-	~40	197	0.3	N/A	50
8.	Careri et al., 2001	Spirulina Pacifica algae	Carotenoids	Ethanol as co-solvent	40-80 (opt. 60, 76, 80 C for 3 carotenoids)	150-350 (opt. 350)	0.5	2 2-4	7 50

ตารางที่ 2.4 รวบรวมงานวิจัยในอดีตที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารจากข้าว

No.	Author	Raw Material	Extraction method	Analysis method	Activity	Results
1	Sunan and Sirithon, 2010	rice bran, rice husk, brown rice milled rice (Khao Dawk Mali 105)	Solvent extraction by shaker Shaking in incubator 150 rpm 80% methanol with 1:10, w/v	Phenolics-acid composition: HPLC γ -oryzanol: RP-HPLC	DPPH and FRAP	Products: Phenolic acid composition, γ -oryzanol, tocopherols High antioxidant from bran and husk High content of γ -oryzanol, tocopherols in bran All fractions compose Phenolic acids; ferulic, vanillic and p-coumaric acids Rice bran and husk: value sources of antioxidant
2	M. Patel and S. N. Naik, 2004	rice bran	Solvent extract by hexane, ethanol isopropanol supercritical carbon dioxide extraction (SC-CO ₂)	HPLC	Four times higher than Vit E	Products: Rice bran oil; oryzanol, lecithin, tocopherol, tocotrinols, 1-2% of mixture of ferulic acid esters of sterol and triterpene alcohols, fatty acids High extraction yield by SC-CO ₂ extraction: 4.93 g of rice bran oil with 100 g of CO ₂ at 80°C and 10,000 psi SC-CO ₂ extraction is efficient and rapid method from all the by products of rice but the high cost of equipment and operation.
3	Azrina, A., Maznah, I., and Azizah, A. H., 2008	rice bran	Solvent extraction by chloroform:methanol mixture (3:2)	γ -oryzanol: RP-HPLC		Products: γ -oryzanol; 4 isomers of cycloartenyl ferulate, 24-methylene cycloartenyl ferulate, campestryl ferulate and mixtures of γ -sitosteryl ferulate and cycloartenyl ferulate Fat yield of 16.4%

					γ -oryzanol in range 23.7 - 43.0 mg/g depends on plant varieties, processing methods employed, extracting solvent used and the ratio of extracting solvent to bran as well as extracting solvent temperature.
4	K. Chakuton, D. Puangpronpitag and M. Nakornriab, 2012	12 colored and non-colored native Thai rice cultivars in Surin province, Thailand	Solvent extraction by methanol, distilled water, hexane and ethyl acetone Shaking condition: speed 170 rpm at room temperature 1 h	Phenolic content: Folin-Ciocalteu method Anthocyanin: Absorbance at 520 and 700 nm Phytic acid: Absorbance at 519 nm γ -oryzanol: RP-HPLC at 330 nm	Products: total phenolic compound, total anthocyanin, phytic acid, γ -oryzanol Highest extraction yield by methanolic extraction (5.45%)
5	Amarasinghe and Gangdavilage, 2004	rice bran in Sri Lanka	Solvent extraction by hexane Soxhlet apparatus and pilot-scale leaching unit Stabilization technique was also tested.	Oil: HPLC column Zorbax ODS	Product: free fatty acid (linoleic, oleic and palmitic acids) Steaming method is the most effective method of bran pre-treatment Bran from parboiled paddy had higher yield of bran oil than raw rice bran Batch extraction: extraction rate increases with time

6	Chen, et al., 2008	rice bran oil	<p>pilot-scale extraction and lab-scale deacidification by SC-CO₂</p> <p>SC-CO₂: 300 bar 313K from 1.03 kg powered rice bran soxhlet extraction</p>	<p>Four γ-oryzanol, three free fatty acid: HPLC YMCRP-18 column UV absorption 330 nm</p>	<p>Product: γ-oryzanol > 98 wt%</p> <p>Total yield of oil: 15.7% with free fatty acids 3.75% from 20.5 kg of CO₂ in 8 h</p>
7	Chen, et al., 2008 Related to number 6	rice bran oil	<p>SC-CO₂: 350 bar 313K</p>	<p>γ-oryzanol, free fatty acid and triglycerides: HPLC YMCRP-18 column UV absorption 330 nm</p>	<p>Product: oil 17.5%, γ-oryzanol 84.9% using 1200 g of carbon dioxide over 4 h</p>
8	Amonrat Thanonkaew, et al., 2012	Rice bran samples (Sangyod Phatthalung rice) (<i>O. sativa L</i>)	<p>Hot air heating</p>	<p>γ-oryzanol: spectrophotometer UV absorption 315 nm</p> <p>Phenolic content: Folin-Ciocalteu method using absorbance at 750 nm</p> <p>Flavonoid content: UV-vis spectrophotometer at 510 nm</p>	<p>Product: cold-pressed rice bran oil (RBO) hot air heating 5.53 g/100 g bran > microwave heating 4.81 g/100 g > roasting 4.77 g/100 g > steaming 3.41 g/100 g</p> <p>Hot air and microwave heating are the most effective methods for stabilization of rice bran: low content of acid value 6.30 - 6.38 mg KOH/g oil free fatty acid 3.51-3.17% and peroxide value 11.72 - 12.13 mg Eqv/kg oil.</p> <p>Hot air and microwave heating contained a higher content of total phenolic compounds.</p>

9	Amarasinghe et al., 2008	Full fat rice bran, type BW 355 (raw and parboiled)	Mixer-settler unit using aqueous extraction (water) and hexane extraction as solvents	UV-vis spectrophotometry	-	Steaming is the most effective stabilization technique.
		Steaming, hot air drying, chemical stabilizatin, refrigeration better controls the lipase activity compared to solar drying.				<p>The extraction capacity was highest at solution pH of 10-12 and higher operating temperatures (60-80°C).</p> <p>Fast extraction occurs at the initial of extraction (10-15 min)</p> <p>Parboiling of paddy increases the oil yield.</p> <p>Highest oil yield of 161 and 131 mg/g were observed for aqueous extraction of parboiled bran and raw bran.</p> <p>Aqueous extracted oil was low in free fatty acid and color compared to hexane extract.</p> <p>Major lipid species in rice bran oil were oleic, linoleic and palmitic.</p>

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 ตัวอย่างรำข้าว

3.1.1.1	รำข้าวไร้สายพันธุ์ดอกขาม	จังหวัดชุมพร	ประเทศไทย
3.1.1.2	รำข้าวไร้สายพันธุ์ภูเขาทอง	จังหวัดชุมพร	ประเทศไทย
3.1.1.3	รำข้าวไร้สายพันธุ์นางดำ	จังหวัดชุมพร	ประเทศไทย
3.1.1.4	รำข้าวไร้สายพันธุ์สามเดือน	จังหวัดชุมพร	ประเทศไทย
3.1.1.5	รำข้าวไร้สายพันธุ์ดอกซ่า	จังหวัดพังงา	ประเทศไทย
3.1.1.6	รำข้าวไร้สายพันธุ์เข็มเงิน	จังหวัดสตูล	ประเทศไทย
3.1.1.7	รำข้าวไร้สายพันธุ์ดอกพะยอม	จังหวัดสุราษฎร์ธานี	ประเทศไทย
3.1.1.8	รำข้าวสายพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105	จังหวัดสุพรรณบุรี	ประเทศไทย

3.2 สารเคมีและอุปกรณ์

3.2.1 สารเคมี

- 3.2.1.1 Hexane (AR grade) บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
- 3.2.1.2 Ethyl acetate (AR grade) บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
- 3.2.1.3 Acetone (AR grade) บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
- 3.2.1.4 Isopropanol (AR grade) บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
- 3.2.1.5 Ethanol (AR grade) บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
- 3.2.1.6 Ethyl acetate (HPLC grade) บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
- 3.2.1.7 Isopropanol (HPLC grade) บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
- 3.2.1.8 Methanol (HPLC grade) บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
- 3.2.1.9 Gamma-oryzanol บริษัท Wako ประเทศญี่ปุ่น
- 3.2.1.10 BHT (Butylated hydrotoluene) บริษัท Sigma ประเทศเยอรมนี
- 3.2.1.11 DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) บริษัท Sigma ประเทศเยอรมนี
- 3.2.1.12 Ethanol 95 เปอร์เซ็นต์ บริษัท ANTISEPTIC SOL. ประเทศไทย
- 3.2.1.13 Acetonitrile (HPLC grade) บริษัท RCI Labscan ประเทศไทย
- 3.2.1.14 Sodium Carbonate (Na_2CO_3) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd ประเทศ

ออสเตรเลีย

- 3.2.1.16 Folin-Ciocalteu reagent บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี
- 3.2.2.7 Gallic acid บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี
- 3.2.2.8 Quercetin บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี
- 3.2.2.9 Aluminium chloride hydrated ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd

ประเทศออสเตรเลีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 3.1.2.10 Sodium acetate hydrated ($\text{CH}_3\text{COONa}\cdot 3\text{H}_2\text{O}$) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd ประเทศออสเตรเลีย
- 3.1.2.11 Glacial acetic acid บริษัท QREC ประเทศนิวซีแลนด์
- 3.1.2.12 TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-1-s-triazine) บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี
- 3.1.2.13 Hydrochloric (HCl) บริษัท QREC ประเทศนิวซีแลนด์
- 3.1.2.14 Ferrous sulfate บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd ประเทศออสเตรเลีย
- 3.1.2.15 Ferric chloride solution บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd ประเทศออสเตรเลีย
- 3.1.2.16 Deionized water
- 3.1.2.17 Ascorbic acid บริษัท Fisher Scientific ประเทศสหรัฐอเมริกา
- 3.1.2.18 Trolox (6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี
- 3.1.2.19 Butylated hydroxytoluene (BHT) บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี
- 3.1.2.20 ABTS (2, 2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) บริษัท Sigma – Aldrich ประเทศเยอรมนี
- 3.1.2.21 Potassium persulfate ($\text{K}_2\text{S}_2\text{O}_8$) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd ประเทศออสเตรเลีย
- 3.1.2.22 α -Amylase (*Aspergillus* sp.) บริษัท Sigma-Aldrich ประเทศเยอรมนี
- 3.1.2.23 Sulphuric acid 98% บริษัท QREC ประเทศนิวซีแลนด์
- 3.1.2.24 DL-Alpha Tocopherol บริษัท Chemico inter corporation ประเทศไทย
- 3.1.2.25 DNS (3, 5-dinitrosalicylic acid reagent) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd ประเทศออสเตรเลีย
- 3.1.2.26 Sodium Hydroxide (NaOH) บริษัท Carlo erba ประเทศไทย
- 3.1.2.27 Glucose anhydrous บริษัท Carlo erba ประเทศไทย
- 3.1.2.28 Sodium Potassium Tartrate ($\text{NaKC}_4\text{H}_4\text{O}_6$) บริษัท Ajax Finechem Pty Ltd ประเทศออสเตรเลีย
- 3.1.2.29 Phenol crystalline 99% ($\text{C}_6\text{H}_6\text{O}$) บริษัท Applichem panreac ประเทศเยอรมนี
- 3.1.2.30 Hydrogenated Polydecene บริษัท Chemico inter corporation ประเทศไทย
- 3.1.2.31 Caprylic/Capric Triglyceride บริษัท Chemico inter corporation ประเทศไทย
- 3.1.2.32 Dimethicone บริษัท Chemico inter corporation ประเทศไทย
- 3.1.2.33 Isononyl Isononanonate บริษัท Chemico inter corporation ประเทศไทย
- 3.1.2.34 Isopropyl palmitate บริษัท Chemico inter corporation ประเทศไทย
- 3.1.2.35 Microcare PM3 บริษัท Chemico inter corporation ประเทศไทย

- 3.1.2.36 Rice Bran Oil บริษัท Chemico inter corporation ประเทศไทย
- 3.1.2.37 C12-15 Alkyl Benzoate บริษัท Chemico inter corporation ประเทศไทย
- 3.1.2.38 Butylated Hydroxytoluene บริษัท Namsiang group ประเทศไทย
- 3.1.2.39 Cetostearyl Alcohol (50:50) บริษัท Namsiang group ประเทศไทย
- 3.1.2.40 Shea Butter บริษัท Namsiang group ประเทศไทย
- 3.1.2.41 Na₂EDTA บริษัท Namsiang group ประเทศไทย
- 3.1.2.42 Phenostat บริษัท Namsiang group ประเทศไทย
- 3.1.2.43 Cetyl Ethylhexanoate บริษัท Chemico inter corporation ประเทศไทย
- 3.1.2.44 Novemer EC-1 บริษัท Namsiang group ประเทศไทย
- 3.1.2.45 Xanthan Gum บริษัท Namsiang group ประเทศไทย
- 3.1.2.46 Methyl Glucose Sesquistearate บริษัท Namsiang group ประเทศไทย
- 3.1.2.47 PEG-20 Methyl Glucose Sesquistearate บริษัท Namsiang group

ประเทศไทย

3.1.2.48 Neopentyl glycol diheptanoate (and) isododecane บริษัท Chemico intercorporation ประเทศไทย

3.1.2.49 Gamma Oryzanol บริษัท TSUNO rice fine Chemicals ประเทศญี่ปุ่น

3.1.2 อุปกรณ์

3.1.3.1 เครื่องอัลตราโซนิคคลื่นเนออร์(Ultrasonic cleaner, 40 kHz) รุ่น VGT-1990QTD บริษัท Guangdong GT Ultrasonic ประเทศจีน

3.1.3.2 เครื่องโพรบโซนิคเคเตอร์(Probe sonicator, 10 kHz) รุ่น VCX-500 บริษัท SONICS ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3.3 เครื่องสกัดด้วยตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต รุ่น 4848 Reactor Controller บริษัท Parr instrument ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3.4 เครื่องสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤตยิ่งยวด รุ่น SFX 220 บริษัท Teledyne ISCO ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3.5 เครื่องชอกท์เลต

3.1.3.6 เครื่องระเหยสุญญากาศ (vacuum evaporation) รุ่น Hei-vap Precision บริษัท Heidolph ประเทศเยอรมนี

3.1.3.7 เครื่องไมโครเพลทริคเตอร์ รุ่น iEMS บริษัท Labsystems ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3.8 คอลัมน์สำหรับวิเคราะห์ตัวอย่าง รุ่น ACE 5 C18 ขนาด 250×4.6 มิลลิเมตร บริษัท ACE ประเทศสกอตแลนด์

3.1.3.9 เครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography : HPLC) บริษัท Shimadzu ประเทศญี่ปุ่น

3.1.3.10 เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง รุ่น PB 3002 บริษัท Mettler Toledo ประเทศไทย

3.1.3.11 เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง รุ่น บริษัท Denver ประเทศอังกฤษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3.12 เครื่องผสมสาร (Vortex) รุ่น Genie 2 บริษัท Scientific industries ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3.13 ตู้แช่แข็ง รุ่น DLT-21V-85V12 บริษัท Hier ประเทศไทย

3.1.3.14 ไมโครเพลทชนิด 96 หลุม บริษัท Corning Incorporated ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.1.3.15 กระดาษกรอง Whatman No.1 บริษัท Whatman ประเทศอังกฤษ

3.1.3.16 แผ่นกรองชนิด PTFE รูพรุนขนาด 0.22 ไมโครเมตร

3.3 การเตรียมรำข้าว

นำรำข้าวทุกสายพันธุ์ทั้งหมดทำการแยกขนาดรำข้าวโดยการใช้ตะแกรงร่อน (mesh) โดยจะเลือกใช้รำข้าวที่มีขนาด 850 ไมครอน เพื่อนำมาใช้ในงานวิจัยนี้ และเมื่อทำการแยกขนาดเรียบร้อยแล้ว จะนำไปเก็บในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า -20 องศาเซลเซียส

3.4 การวัดความชื้นในรำข้าว (ดัดแปลงจาก Khoei and Chekin, 2016; AOAC, 1995)

อบเพลทแก้วที่จะใช้หาความชื้นในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง นำออกไปใส่ในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงทำการชั่งรำข้าวไร่ทั้ง 4 สายพันธุ์ และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 หนัก 5 กรัม ใส่ลงในเพลทแก้วที่ผ่านการอบ จากนั้นกระจายรำข้าวให้ทั่วทั้งภาชนะ ทำการชั่งน้ำหนักเพลทแก้วที่มีรำข้าวก่อนอบ จากนั้นทำการอบรำข้าวแต่ละสายพันธุ์ในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาที่กำหนดนำออกไปใส่ในโถดูดความชื้น เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงนำมาชั่งน้ำหนักรำข้าวหลังอบ (Dry Weight, DW) คำนวณหาร้อยละของความชื้นในรำข้าว (ทำ 3 ซ้ำ) ดังสมการ

$$\text{ร้อยละความชื้น} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)}} \times 100$$

3.5 การวัดสีรำข้าว (ดัดแปลงจาก Thanonkaew et al., 2012)

รำข้าวไร่ทั้ง 4 สายพันธุ์ และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งใช้เป็นตัวควบคุม นำมาวัดสีด้วยเครื่องวัดสีรำข้าวแบบทะลุผ่าน Hunter lab รุ่น miniscan EZ ชั้นแรกทำการ standardize เพื่อเป็นการตั้งค่าสีมาตรฐาน เริ่มต้นที่ใช้ในการวัด โดยใช้ Black glass และ White tile จากนั้นเริ่มทำการวัดรำข้าวทั้งหมด โดยอ่านค่าออกมาเป็นค่าสี Lightness (ความสว่าง, L*) Redness (ค่าสีแดง, a*) และ Yellowness (ค่าสีเหลือง, b*) ทำการวัดตัวอย่างอย่างน้อย 3 ซ้ำต่อตัวอย่างรำข้าว เพื่อนำไปหาค่าเฉลี่ย L* a* และ b*

3.6 การสกัดน้ำมันรำข้าว

รำข้าวที่เก็บรักษาสภาพไว้ นำมาทำการสกัดเพื่อให้ได้น้ำมันรำข้าวโดยใช้วิธีการสกัดทั้งหมด 4 วิธี ได้แก่ การสกัดแบบซอกท์กเลต การสกัดแบบคลื่นความถี่สูง การสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด การสกัดด้วยน้ำภายใต้สภาวะกึ่งวิกฤต จากนั้นนำสารสกัดที่ได้จากมาทำการระเหยแห้งเพื่อเอาสารละลายออกให้หมด เหลือแต่น้ำมันรำข้าวโดยใช้เครื่องระเหยแห้งสุญญากาศ (vacuum evaporator) จากนั้นเก็บน้ำมันรำข้าวแต่ละตัวอย่างไว้ในขวดสีชา แล้วแช่ไว้ในตู้แช่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์ต่อไป

3.6.1 การสกัดแบบซอกท์กเลต (Soxhlet Extraction) (ดัดแปลงจาก Tomita และคณะ, 2014)

การสกัดโดยใช้เครื่องสกัดซอท์กเลต โดยจะใช้สภาวะการสกัดที่ดีที่สุดจากการหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดโดยใช้รำข้าวไร้พันธุ์ดอกขาม พันธุ์ภูเขาทอง และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยจะทำการชั่งรำข้าวปริมาณ 5 กรัม ใส่ลงไปในทิมเบล จากนั้นเติมสารละลาย ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ประกอบเครื่องสกัดพร้อมเปิดระบบหล่อเย็นรวมทั้งเตาให้ความร้อน จากนั้นเริ่มทำการสกัด เมื่อครบเวลาแล้ว ปิดเตาให้ความร้อนพร้อมตั้งทิ้งไว้ให้สารสกัดเย็นลง จากนั้นกรองสารสกัดด้วยชุดกรองบูชเนอร์ โดยใช้กระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 จากนั้นกรองสารสกัดซ้ำอีกครั้งหนึ่งโดยใช้หัวกรอง PTFE ขนาด 0.22 ไมโครเมตร แล้วจึงนำสารสกัดที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ (vacuum evaporator) ในขั้นตอนต่อไป เก็บตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ได้ในขวดสีชาแล้วแช่ไว้ในตู้ -20 องศาเซลเซียส

การสกัดด้วยเครื่องซอท์กเลต จะใช้ตัวทำละลายทั้งหมด 5 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล โดยจะชั่งรำข้าว 5 กรัม ใส่ลงในทิมเบล และเติมแต่ละตัวทำละลายลงในฟลาสก์ 200 มิลลิลิตร แล้วทำการประกอบเครื่อง และเปิดเตาให้ความร้อนจนถึงจุดเดือดของตัวทำละลายนั้นๆ สกัดเป็นเวลา 4 6 8 และ 10 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาจะทิ้งตัวอย่างไว้ให้เย็น จากนั้นนำส่วนใสทั้งหมดไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหย (Evaporator) แล้วแทนที่อากาศด้วยแก๊สไนโตรเจนก่อนนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า -20 องศาเซลเซียสที่ปราศจากแสงรบกวน เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบต่อไป

3.6.2 การสกัดแบบแช่ (Maceration Extraction)

นำตัวอย่างมาสกัดด้วยวิธีการแช่หรือเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 rpm โดยใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 ml จากนั้นแยกกากออกและนำส่วนตัวทำละลายและสารละลายนำไปกลั่นตัวทำละลายออก และเก็บสารที่เหลือไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อนำไปวิเคราะห์ต่อไป

3.6.3 การสกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic-assisted extraction)

การสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง จะใช้รำข้าว 5 กรัมในกระบวนการสกัด และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการสกัด จะกรองสารสกัดผ่านกระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 ในระบบสุญญากาศ จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหย (Evaporator) แล้วแทนที่อากาศด้วยแก๊สไนโตรเจนก่อนนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า -20 องศาเซลเซียสที่ปราศจากแสงรบกวน เพื่อนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบต่อไป โดยมีขั้นตอนการสกัดดังต่อไปนี้

1. การหาตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอล โดยตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซิโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล สกัดโดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:6 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที โดยใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบอัลตราโซนิคคลื่นเนอร์

2. เลือกตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากที่สุด เพื่อนำมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป คือ การหาอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอล โดยอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ 1:2 1:4 และ 1:6 โดยมวล และจะสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที โดยใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบอัลตราโซนิคคลื่นเนอร์

3. เลือกอัตราส่วนที่ให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากที่สุด เพื่อนำมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป คือ การหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอล โดยอุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ 30 45

และ 60 องศาเซลเซียส และทำการสกัดเป็นเวลา 60 นาที โดยใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบอัลตราโซนิคคลื่นเนอร์

4. เลือกอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดที่ให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากที่สุด เพื่อนำมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป คือ การหาเวลาในการสกัดที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอล โดยเวลาที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ 20 40 และ 60 นาที และสกัดโดยใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบอัลตราโซนิคคลื่นเนอร์

5. เลือกเวลาในการสกัด ที่ให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากที่สุด เพื่อนำมาใช้ในการทดลองขั้นต่อไป คือ การหาแหล่งกำเนิดคลื่นเสียงที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอล โดยแหล่งกำเนิดคลื่นเสียงที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ แบบอ่าง(Ultrasonic bath) และแบบโพรบ(Ultrasonic probe)

3.6.4 การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต (Subcritical solvent extraction)

การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต โดยใช้เอทานอล เมทานอล และน้ำ เป็นตัวทำละลาย เริ่มจากจะชั่งรำข้าว 10 กรัม ใส่ลงในชุดปฏิกรณ์ แล้วเติมตัวทำละลายลงไป 100 มิลลิลิตร แล้วเพิ่มความดันให้กับระบบด้วยแก๊สไนโตรเจน โดยให้มีความดันเป็น 1 เมกาพาสคาล (10 บาร์) จากนั้นทำการประกอบเครื่องให้สมบูรณ์ โดยอุณหภูมิที่ใช้ในกระบวนการสกัดเป็น 80 100 และ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที เมื่อครบเวลาให้ทำการปิดระบบและทิ้งตัวอย่างไว้ให้เย็น จากนั้นกรองสารสกัดผ่านกระดาษกรองวอทแมนเบอร์ 1 ในระบบสุญญากาศ จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออก โดยในกรณีที่เป็นเอทานอลและเมทานอลจะระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหย (Evaporator) และกรณีที่เป็นน้ำจะระเหยตัวทำละลายออกโดยการทำให้แห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) แล้วแทนที่อากาศด้วยแก๊สไนโตรเจนก่อนนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า -20 องศาเซลเซียสและมีด เพื่อนำไปวิเคราะห์หองค์ประกอบต่อไป

3.6.5 การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือวิกฤต (Supercritical carbon dioxide extraction)

ชั่งรำข้าว 1 กรัม ใช้ลงในภาชนะสกัด ก่อนนำไปวางในเครื่องสกัด แล้วเติมเอทานอลลงในหลอดเก็บตัวอย่าง จากนั้นทำการตั้งค่าสภาวะต่างๆ โดยอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเป็น 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 40 60 80 และ 100 นาที โดยจะมีการควบคุมอัตราการไหลของของไหลยิ่งยวดเป็น 2 มิลลิลิตรต่อนาที อุณหภูมิขาออกของสารเป็น 70 องศาเซลเซียส ความดันที่ 34.47 เมกาพาสคาล (5,000 psi) เมื่อกระบวนการสกัดสิ้นสุดจะนำสารสกัดในหลอดเก็บตัวอย่างไประเหยเอทานอลออกด้วยเครื่องระเหย (Evaporator) แล้วแทนที่อากาศด้วยแก๊สไนโตรเจนก่อนนำไปเก็บไว้ในตู้แช่แข็งที่มีอุณหภูมิต่ำกว่า -20 องศาเซลเซียสที่ปราศจากแสงรบกวน เพื่อนำไปวิเคราะห์หองค์ประกอบต่อไป

3.7 การวัดปริมาณสารด้วยวิธีโครมาโตกราฟีแบบของเหลวประสิทธิภาพสูง (High Performance Liquid Chromatography; HPLC)

เตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายตัวอย่างในเฟสเคลื่อนที่ แล้วกรองผ่านหัวกรองตัวอย่างชนิดพีทีเอฟอี (PTFE) ที่มีขนาดรูพรุน 0.22 ไมโครเมตร จากนั้นให้ทำการฉีดตัวอย่าง 20 ไมโครลิตร เข้าไปในเครื่องโครมาโตกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (isocratic pump system, Shimadzu) ที่มีตัวตรวจจับชนิดยูวี(UV-detector) คอลัมน์ที่ใช้วิเคราะห์เป็นชนิด C18 ขนาด 250 x 4.6 มิลลิเมตร (ACE HPLC) เฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ที่ใช้ประกอบด้วย เมทานอล ไอโซโพรพานอล และเอทิลอะซิเตต (HPLC grade) ในอัตราส่วน 47.5 : 40 : 12.5 ตามลำดับ ที่มีอัตราการไหลเป็น 1 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมาที่ ตัวตรวจจับถูกตั้งความยาวคลื่นไว้ที่ 330 นาโนเมตร ใช้เวลาในการวิเคราะห์นาน 15 นาทีต่อตัวอย่าง ทำการบันทึกโครมาโตแกรม (chromatogram) โดยใช้ซอฟต์แวร์ LC Solution แล้วรายงานค่าเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว แล้วนำข้อมูลที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานแกมมาโอโรซานอลภายใต้สภาวะเดียวกัน เพื่อหาปริมาณแกมมาโอโรซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าว

การคำนวณปริมาณแกมมาโอโรซานอล

ปริมาณแกมมาโอโรซานอลของตัวอย่างที่ได้สามารถคำนวณได้จากการเปรียบเทียบปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลของตัวอย่างกับสมการ $Y=24481x$, $R^2=0.9928$ ของกราฟมาตรฐานแกมมาโอโรซานอลดังสมการ ปริมาณแกมมาโอโรซานอล (mg/ml) = $\frac{\text{พื้นที่ใต้พีค}}{24481}$

สารละลายตัวอย่าง (stock solution) ที่เตรียมมีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถแสดงค่าในหน่วยกรัมของแกมมาโอโรซานอลต่อกรัมน้ำหนักสารสกัดน้ำมันรำข้าว (มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักสารสกัด) เทียบได้จากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณแกมมาโอโรซานอล (mg/g crude oil)} = \frac{\text{ปริมาณแกมมาโอโรซานอล (mg/ml)}}{0.1 \text{ mg crude oil}}$$

$$\text{ปริมาณแกมมาโอโรซานอล (mg/g DW)} = \frac{\text{ปริมาณแกมมาโอโรซานอล (mg/g crude oil)}}{\text{น้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ (g crude oil/g DW)}}$$

3.8 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ดัดแปลงจาก Butsat และ Siriamornpun, 2010)

การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากน้ำมันรำข้าวไร่ทั้ง 5 สายพันธุ์ รวมทั้งน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่สกัดได้ สามารถทำได้โดยเตรียมสารละลาย Folin-Ciocalteu reagent เจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:9 โดยปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เตรียมน้ำมันรำข้าวโดยใช้เอทานอลร้อยละ 70 เป็นตัวทำละลาย ให้ได้ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ใส่หลอดทดลอง ผสมสารละลายให้เข้ากันเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง โดยปราศจากแสงแดด แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยทำการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) ที่ความเข้มข้น 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณที่ได้จะถูกแสดงค่าในหน่วยมิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมน้ำหนักรำข้าว

การคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานแกลลิก

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ได้สามารถคำนวณได้จากการเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของตัวอย่างกับสมการ $Y=0.0128x-0.0468$, $R^2=0.9935$ ของกราฟมาตรฐานแกล

ลิก สารละลายตัวอย่างที่เตรียมมีความเข้มข้นตั้งแต่ 2-4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถแสดงค่าในหน่วย มิลลิกรัมแกลลิกต่อกรัมรำข้าว (mg GAE/g DW) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก(mg GAE/g crude oil)} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสง}+0.0468)}{0.0128} \div 2 - 4 \text{ mg crude oil}$$

$$\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg GAE/g DW)} = \frac{\text{ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg GAE/g crude oil)}}{\text{น้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ (g crude oil/g DW)}}$$

3.9 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (ดัดแปลงจาก Wanyo และคณะ, 2014)

การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์จากน้ำมันรำข้าวไร่ทั้ง 5 สายพันธุ์ รวมทั้งน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่สกัดได้ สามารถทำได้โดยเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวโดยใช้เอทานอลร้อยละ 70 เป็นตัวทำละลาย ให้ได้ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นทำการเติมสารละลายโซเดียมไนไตรต์ (NaNO₂) ร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันจากนั้นเติมอลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl₃.6H₂O) ร้อยละ 10 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นผสมให้สารละลายทั้งหมดเข้ากัน แล้วจึงบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 นาที ก่อนจะนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) คำนวณปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดโดยทำการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานเคอควิทิน (Quercetin) ที่ความเข้มข้น 0.06 0.08 0.10 0.20 0.25 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของเคอควิทินต่อกรัมรำข้าว (มิลลิกรัมของเคอควิทินต่อกรัมรำข้าวแห้งของตัวอย่าง)

การคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานเคอควิทิน

ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ได้สามารถคำนวณได้จากการเปรียบเทียบปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของตัวอย่างกับสมการ $Y = 0.0023x + 0.0722$, $R^2 = 0.9978$ ของกราฟมาตรฐานเคอควิทิน สารละลายตัวอย่างที่เตรียมมีความเข้มข้นตั้งแต่ 2-4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถแสดงค่าในหน่วยมิลลิกรัมเคอควิทินต่อกรัมรำข้าว (mg QE/g DW) ดังสมการต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g crude oil)} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสง}-0.0722)}{0.0023} \div 2 - 4 \text{ mg crude oil/ml}$$

$$\text{ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g DW)} = \frac{\text{ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g crude oil)}}{\text{น้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ (g crude oil/g DW)}}$$

3.10 การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (DPPH radical scavenging capacity assay) (ดัดแปลงจาก Butsat และ Siriamornpun, 2010)

เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ และหลีกเลี่ยงการถูกแสง แล้วเตรียมสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.2 - 30.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดูดตัวอย่างสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆมา 100 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลุม แล้วเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไมโครลิตรลงในแต่ละหลุม ผสมให้เข้ากัน นำไปตั้งในที่มืดนาน 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader โดยรายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูล DPPH ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC₅₀) ซึ่งคำนวณได้โดยใช้ค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (%inhibition) ดังสมการ

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH radical scavenging ทำได้โดยเตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ให้ได้ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ แล้วจึงนำไปละลายตะกอนให้หมดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคคูลินเนอร์ เก็บสารละลายใส่ขวดดูแรนท์ ห่อด้วย ฟลอยด์ เพื่อหลีกเลี่ยงการโดนแสง เก็บสต็อกไว้ในตู้เย็นก่อนนำไปใช้ต่อไป จากนั้นทำการเจือจางน้ำมันรำข้าวที่ต้องการทดสอบ ให้ได้ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1-6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นผสมสารตัวอย่างและสารละลาย DPPH อัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตร หยอดลงภาดหลุม 96 well plate จากนั้นบ่มในที่มืด ณ อุณหภูมิห้องนาน 30 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader โดยรายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระ (DPPH) ได้ร้อยละ 50 โดยได้จากการคำนวณโดยใช้ค่าร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ (%inhibition) จากสมการ

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A_{DPPH} - A_{Blank DPPH}) - (A_{Sample} - A_{Blank sample})}{(A_{DPPH} - A_{Blank DPPH})}$$

โดย	% Inhibition	=	ร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระ
	A _{Sample}	=	ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัดที่เติมสารละลาย DPPH
	A _{Blank Sample}	=	ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง
	A _{DPPH}	=	ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH
	A _{Blank DPPH}	=	ค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลาย

3.11 การวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP (ดัดแปลงจาก Kubola และ Siriamornpun, 2008)

เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยประกอบด้วยสารละลายบัพเฟอร์โซเดียมอะซิเตท 300 มิลลิโมลาร์ พีเอช 3.6 สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย 2,4,6-Tri(2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) 10 มิลลิโมลาร์ อัตราส่วน 10:1:1 โดยปริมาตร แล้วนำสารละลาย FRAP reagent ไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที ทุกครั้งก่อนนำไปใช้ ทำการเตรียมสารละลายน้ำมันรำข้าวด้วยเอทานอลร้อยละ 70 ให้ได้ความเข้มข้น 0.25 ถึง 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้น เติมสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 0.75 มิลลิลิตร ลงไป ทำการบ่มให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืดเป็นเวลา 4 นาที แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (spectrophotometer) คำนวณผลค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างที่แต่ละความเข้มข้น โดยเทียบกับสารมาตรฐานโธรลิกซ์ รายงานผลเป็นค่ามิลลิกรัมโธรลิกซ์ต่อกรัม น้ำหนักรำข้าว

การคำนวณเทียบกับกราฟมาตรฐานโทรล็อกซ์

ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP ของตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ได้สามารถคำนวณได้จากการเปรียบเทียบกับสมการ $Y=0.0287x+0.1144$, $R^2=0.9999$ ของกราฟมาตรฐานโทรล็อกซ์ สารละลายตัวอย่างที่เตรียมมีความเข้มข้นตั้งแต่ 0.25-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงในหน่วยมิลลิกรัมโทรล็อกซ์ต่อสารละลายตัวอย่างน้ำมันรำข้าว (mg TEAC/g crude oil) และสามารถแสดงค่าในหน่วยกรัมโทรล็อกซ์ต่อกรัมรำข้าว (mg TEAC/g_{DW}) โดยเทียบจากสมการดังต่อไปนี้

$$\text{ปริมาณโทรล็อกซ์ (mg TEAC/g crude oil)} = \frac{(\text{ค่าการดูดกลืนแสง}-0.1144)}{0.0287} \div 0.25-1 \text{ (mg crude oil/ml)}$$

$$\text{ปริมาณโทรล็อกซ์ (mg TEAC/g}_{DW}) = \frac{\text{ปริมาณโทรล็อกซ์ (mg TEAC/g crude oil)}}{\text{น้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ (g crude oil/g}_{DW})}$$

3.12 การผลิตผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

3.12.1 วิธีการเตรียมและพัฒนาตำรับโลชั่น และเซรัม

ทำการกำหนดสูตรพื้นของผลิตภัณฑ์โลชั่นจำนวน 3 สูตร จากนั้นทำการเตรียมผลิตภัณฑ์ตามสูตรพื้น ดังตารางที่ 3.1 3.2 และ 3.3 รวมทั้งผลิตภัณฑ์เซรัมพื้นดังตารางที่ 3.6 เพื่อทำการประเมินผลิตภัณฑ์สูตรพื้นเบื้องต้น โดยประเมินจากลักษณะทางกายภาพ ลักษณะเนื้อสัมผัส ความหนืด ความคงตัวเบื้องต้น รวมทั้งการประเมินความพึงพอใจจากอาสาสมัครทั้ง 20 คน เพื่อทำการเลือกผลิตภัณฑ์สูตรพื้นมา 1 สูตร ที่มีเนื้อสัมผัสน่าใช้ มีความคงตัวดี เมื่อได้ตำรับผลิตภัณฑ์พื้นที่ดีแล้ว จึงนำไปพัฒนาโดยใส่สารสกัดน้ำมันรำข้าวและสารแกมมาออไรซานอล เพื่อปรับปรุงผลิตภัณฑ์ให้เหมาะสม เรียกว่า “โลชั่นสูตรปรับปรุง” ดังตารางที่ 3.4 และ 3.5 และ “เซรัมสูตรปรับปรุง” ดังตารางที่ 3.7 เพื่อทดสอบลักษณะทางกายภาพ คุณสมบัติทางเคมี ประเมินความคงตัว ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ทดสอบความระคายเคืองต่อผิวหนัง ความชุ่มชื้น ความมันของผิวหนังก่อนและหลังทาผลิตภัณฑ์ รวมทั้งการประเมินความพึงพอใจจากอาสาสมัครทั้ง 20 คน

3.12.2 การประเมินคุณภาพของตำรับผลิตภัณฑ์

3.11.2.1 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพ สังเกตลักษณะผิวสัมผัส เนื้อโลชั่น สี ความหนืด การแยกชั้นของโลชั่น

3.11.2.2 ประเมินคุณสมบัติทางเคมี ทดสอบความเป็นกรด ต่างด้วยกระดาษวัดค่า pH จะต้องมียค่าอยู่ในช่วงที่เหมาะสม 5.0-6.5 แล้วบันทึกผล

3.12.3 ประเมินความคงตัว

ทำการปั่นเหวี่ยงโลชั่นด้วยเครื่อง centrifuge ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที เพื่อสังเกตลักษณะการแยกชั้นของเนื้อโลชั่น รวมถึงทดสอบด้วยวิธี heating and cooling cycle โดย 1 รอบคือการทดสอบโลชั่นนำมาใส่ตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นนำมาใส่ตู้อบที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำจนครบ 5 รอบ แล้วบันทึกผลโดยพิจารณาจากลักษณะเนื้อโลชั่น (เนื้อละเอียด เนื้อมีเม็ด เนื้อเหลว เนื้อหนืด) สังเกตสีของโลชั่นที่มองเห็น (สีขาว สีเหลือง หรือ สีอื่นๆ) และการเกิดลักษณะแยกเป็นชั้นครีมและชั้นอิมัลชัน (creaming)

3.12.4 ประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ

ทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสีย (preservative) ที่ใช้ในตำรับโลชั่นทำหน้าที่ยับยั้งจุลินทรีย์ เจริญเติบโตอาจก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของเนื้อโลชั่น เช่น สีคล้ำ กลิ่นเหม็น และเกิดการแยกชั้นของวัฏภาค น้ำและวัฏภาคน้ำมัน ทำโดยทดสอบปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ในผลิตภัณฑ์ด้วยวิธี total plate count นำโลชั่นมาเจือจาง (10-fold dilution) และ spread ให้ทั่วผิวหน้าอาหาร NA จำนวนความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ บ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เมื่อครบเวลาทำการนับจำนวน โดยทำการประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพตลอดระยะเวลา 3 สัปดาห์ (ประเมินในสัปดาห์ 1 2 และ 3) และคำนวณโคโลนีเชื้อที่มีชีวิตรอดโดยใช้สมการ

$$\text{จำนวนความมีชีวิตเชื้อ} \left(\frac{\text{CFU}}{\text{ml}} \right) = n \times 10^{-3}$$

โดย n คือ จำนวนโคโลนี
 10^{-3} คือ ความเข้มข้นโลชั่นเจือจางที่ 10^{-1} 10^{-2} และ 10^{-3}

3.12.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นด้วยวิธี DPPH scavenging assay

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสำคัญแกมมาโอโรซานอลที่ใช้เป็นส่วนประกอบของตำรับโลชั่น ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร เตรียมสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ และหลีกเลี่ยงการถูกแสงแดด

เตรียมโลชั่น 1 กรัมผสมกับ isopropanol 10 มิลลิลิตรให้เข้ากัน แล้วไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสที่ได้ในแต่ละความเข้มข้น 100 ไมโครลิตร มาใช้ในการทดสอบปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH ปริมาณ 100 ไมโครลิตร อัตราส่วน 1:1 (v/v) และผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ครบเวลาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate reader) เปรียบเทียบเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระสูตรพื้น สูตรปรับปรุง และสูตรตามท้องตลาด โดยนำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณหาเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) รายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูล DPPH ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ หรือ ค่า IC_{50}

3.12.6 การทดสอบการก่อให้เกิดอาการระคายเคืองต่อผิวหนัง

ศึกษาการก่อให้เกิดอาการระคายเคืองต่อผิวหนังด้วยวิธี Single closed patch test ที่ผิวหนังบริเวณท้องแขนของอาสาสมัครจำนวน 20 คนที่เวลา 10 นาที (เฉียบพลัน) และ 2 ชั่วโมง หลังทาผลิตภัณฑ์การคัดเลือกอาสาสมัครทำโดยการคัดเลือกจากข้อมูลที่ให้ในแบบสอบถามที่มีข้อมูลของอายุ เพศ อาชีพ ประวัติการแพ้ผลิตภัณฑ์ทาผิว ประวัติการใช้ผลิตภัณฑ์ทาผิว เป็นต้น

3.12.7 การทดสอบความชุ่มชื้นและความมันของผิวเมื่อทาผลิตภัณฑ์

ทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ในอาสาสมัครรวม 20 คน ก่อนและหลังใช้ผลิตภัณฑ์ สูตรปรับปรุงเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อวัดผลในการทำให้ผิวชุ่มชื้นและยืดหยุ่นดีขึ้นโดยใช้เครื่องทดสอบผิวหนัง (รุ่น Dermalab COMBO) เปรียบเทียบกับการใช้โลชั่นตามท้องตลาด

3.12.8 การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

นำตำรับโลชั่นที่มีความคงตัวทั้งด้านกายภาพ ทางเคมี และทางชีวภาพ ทดสอบความ

พึงพอใจในอาสาสมัครรวม 20 คน โดยการทำแบบสอบถามประเมินความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ เมื่อใช้โลชั่นสูตรปรับปรุงทดสอบความพึงพอใจในสี ความหนืด ลักษณะเนื้อครีม การซึมเข้าสู่ผิวหนัง และความชุ่มชื้น

3.13 การเปรียบเทียบค่าทางสถิติ

คำนวณค่าทางสถิติแบบ One-way ANOVA ตามวิธีของ Duncan's New Multiple Rang Test จากนั้นพิจารณาจากค่านัยสำคัญ (Significance; sig.) ในตาราง ANOVA หากค่า sig. มีค่าน้อยกว่าหรือเท่ากับค่านัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จะปฏิเสธ H_0 และยอมรับ H_1 คือ มีอย่างน้อย 2 ปัจจัยที่แตกต่างกัน และหากค่า sig. มีค่ามากกว่าค่านัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จะยอมรับ H_0 และปฏิเสธ H_1 คือ อิทธิพลของทุกปัจจัยไม่แตกต่างกัน โดยทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ เพื่อความถูกต้องและแม่นยำจากนั้นจะนำมาหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติสามารถทำได้โดยใช้โปรแกรม SPSS เวอร์ชัน 24.0 โดยเก็บรวบรวมข้อมูลผลการทดลองที่ประกอบด้วยข้อมูลชุดละอย่างน้อย 3 ซ้ำ นำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติโดยเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างกลุ่มตัวอย่างเดียวกันแบบ One-way ANOVA ตามวิธีของ Duncan's New Multiple Range test พิจารณาจากค่านัยสำคัญ (Significance) ในตาราง ANOVA



ตาราง 3.1 ส่วนประกอบตำรับโลชั่นพื้นฐานที่ 1 (Base lotion 1)

INCI Name	หน้าที่	ปริมาณ 100% (w/w)
Part A (oil) (70-80 °C)		
Cetearyl Alcohol	Bodying Agent	0.66
Hydrogenated Polydecene	Emollient	0.66
Moringa butter	Emulsifier	1.33
Shea butter	Emulsifier	0.33
Caprylic/Capric Triglyceride	Emollient	0.66
Dimethicone	Emulsifier	1.86
Isononyl Isononanoate	Emollient	0.80
Part B (water)		
DI water	Diluents/Solvent	90.66
Disodium dihydrogenethylenediaminetetra Acetate (Na ₂ EDTA)	Chelating agent	0.10
Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside	Thickener	2.00
Part C		
Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2-phenoxyethanol	Preservative	0.94
TOTAL		100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 3.2 ส่วนประกอบตำรับโลชั่นพื้นฐานที่ 2 (Base lotion 2)

INCI Name	หน้าที่	ปริมาณ 100% (w/w)
Part A (oil) (70-80 °C)		
Methyl Glucose Sesquistearate	Emulsifier	1.30
PEG – 20 Methyl Glucose Sesquistearate	Emulsifier	1.00
C12-15 Alkyl Benzoate	Emollient	0.80
Isononyl Isononanoate	Emollient	0.90
Dimethicone	Emulsifier	3.10
Caprylic/Capric Triglyceride	Emulsifier	1.00
Part B (water)		
DI water	Diluents/Solvent	88.20
Disodium dihydrogenethylenediaminetetraacetate (Na ₂ EDTA)	Chelating agent	0.10
Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside	Thickener	3.50
Part C		
Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2-phenoxyethanol	Preservative	0.10
TOTAL		100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 3.3 ส่วนประกอบตำรับโลชั่นพื้นฐานที่ 3 (Base lotion 3)

INCI Name	หน้าที่	ปริมาณ 100% (w/w)
Part A (oil) (70-80 °C)		
Cetearyl Alcohol	Bodying Agent	4.00
Hydrogenated Polydecene	Emulsifier	7.00
Caprylic/Capric Triglyceride	Emollient	8.00
Cetyl alcohol	Emollient	4.00
Part B (water)		
DI water	Diluents/Solvent	74.20
Disodium dihydrogenethylenediaminetetraacetate (Na ₂ EDTA)	Chelating agent	0.10
Carbopol-utrez 21	Thickener	2.00
Part C		
Xanthan Gum	Co-Emulsifier	0.10
Part D		
Panthenol	Humectant	0.10
Part E		
Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2-phenoxyethanol	Preservative	0.50
TOTAL		100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 3.4 ส่วนประกอบตำรับโลชั่นสูตรปรับปรุง 1 (พื้นสูตรที่ 1 เดิมสารสกัดน้ำมันรำข้าว)

INCI Name	หน้าที่	ปริมาณ 100% (w/w)
Part A (oil) (70-80 °C)		
Cetearyl Alcohol	Bodying Agent	0.66
Hydrogenated Polydecene	Emollient	0.66
Moringa butter	Emulsifier	1.33
Shea butter	Emulsifier	0.33
Caprylic/Capric Triglyceride	Emollient	0.66
Dimethicone	Emulsifier	1.86
Isononyl Isononanoate	Emollient	0.80
Part B (water)		
DI water	Diluents/Solvent	89.46
Disodium dihydrogenethylenediaminetetra Acetate (Na ₂ EDTA)	Chelating agent	0.10
Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside	Thickener	2.00
Part C		
Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2-phenoxyethanol	Preservative	0.94
Part D		
Gamma Oryzanol	Antioxidant	0.20
Rice bran oil (DK, KN)	Antioxidant	1.00
TOTAL		100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 3.5 ส่วนประกอบตำรับโลชั่นสูตรปรับปรุง 2 (พื้นสูตรที่ 2 เดิมสารสกัดน้ำมันรำข้าว)

INCI Name	หน้าที่	ปริมาณ 100% (w/w)
Part A (oil) (70-80 °C)		
Methyl Glucose Sesquistearate	Emulsifier	1.30
PEG – 20 Methyl Glucose Sesquistearate	Emulsifier	1.00
C12-15 Alkyl Benzoate	Emollient	0.80
Isononyl Isononanoate	Emollient	0.90
Dimethicone	Emulsifier	3.10
Caprylic/Capric Triglyceride	Emulsifier	1.00
Part B (water)		
DI water	Diluents/Solvent	87.00
Disodium dihydrogenethylenediaminetetraacetate (Na ₂ EDTA)	Chelating agent	0.10
Sodium Acrylates/ Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer (and) Hydrogenated Polydecene (and) Lauryl Glucoside	Thickener	3.50
Part C		
Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2-phenoxyethanol	Preservative	0.10
Part D		
Gamma Oryzanol	Antioxidant	0.20
Rice bran oil (DK, KN)	Antioxidant	1.00
TOTAL		100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 3.6 ส่วนประกอบตำรับเซรั่มพื้น

INCI Name	หน้าที่	ปริมาณ 100% (w/w)
Part A (oil) (70-80 °C)		
Neopentyl glycol diheptanoate (and) isododecane	Emollient	2.50
Cetyl Ethylhexanoate	Emollient	0.50
Isopropyl palmitate	Emollient	0.90
Part B (water)		
DI water	Diluents/Solvent	90.30
Disodium dihydrogenethylenediaminetetraacetate (Na ₂ EDTA)	Chelating agent	0.10
Sodium Acrylates/Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer	Thickener	3.20
Part C		
Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2-phenoxyethanol	Preservative	2.50
TOTAL		100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตาราง 3.7 ส่วนประกอบตำรับเซรัมพื้นทีไ้สารสกัดน้ำมันรำข้าว

INCI Name	หน้าที่	ปริมาณ 100% (w/w)
Part A (oil) (70-80 °C)		
Neopentyl glycol diheptanoate (and) isododecane	Emollient	2.50
Cetyl Ethylhexanoate	Emollient	0.50
Isopropyl palmitate	Emollient	0.90
Part B (water)		
DI water	Diluents/Solvent	88.30
Disodium dihydrogenethylenediaminetetraacetate (Na ₂ EDTA)	Chelating agent	0.10
Sodium Acrylates/Beheneth-25 Methacrylate Crosspolymer	Thickener	3.20
Part C		
Methyl paraben, Ethyl paraben, Propyl paraben, Butyl paraben, Isobutyl paraben, 2-phenoxyethanol	Preservative	2.50
Gamma Oryzanol	Antioxidant	1.00
Rice bran oil	Antioxidant	1.00
TOTAL		100

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิเคราะห์ผลการทดลอง

4.1 ลักษณะทางกายภาพของน้ำมันรำข้าว

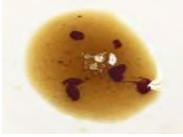









การศึกษาลักษณะทางกายภาพของน้ำมันรำข้าวไร่ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ รำข้าวไร่พันธุ์ดอกขาม (DK) ภูเขาทอง (PK) นางดำ (ND) และสามเดือน (SD) โดยใช้รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นตัวควบคุม พบว่ามีความแตกต่างกันในด้านความชื้นของรำข้าว สีของรำข้าว ดังแสดงดังตารางที่ 4.1 และ 4.2 ตัวอย่างเช่น รำข้าวดอกขามซึ่งมีสีแดงเข้มเมื่อสกัดน้ำมันรำข้าวได้น้ำมันที่มีสีน้ำตาลเข้มและมีตะกอนสีแดงละลายปนอยู่ในน้ำมัน รำข้าวภูเขาทองซึ่งมีสีเขียวเมื่อสกัดน้ำมันรำข้าวได้น้ำมันที่มีสีเขียวปนน้ำตาล และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งมีสีเหลืองอ่อนเมื่อสกัดเป็นน้ำมันรำข้าวได้น้ำมันที่มีสีเหลืองและมีตะกอนสีเหลืองเข้มปนอยู่ และวิธีการสกัดส่งผลต่อลักษณะทางกายภาพของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้เช่นเดียวกันซึ่งจากการทดลองพบว่า น้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยเครื่องซอกท์เกรดมีสีเข้มและหนืดกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยคลื่นความถี่สูง

ตารางที่ 4.1 ร้อยละความชื้นและค่าความเข้มของสีรำข้าวแต่ละสายพันธุ์

สายพันธุ์รำข้าว	ความชื้น (ร้อยละ)	สีของรำข้าว		
		ค่า L*	ค่า a*	ค่า b*
ดอกขาม (DK)	8.75 ± 0.15 ^d	74.93 ± 0.28 ^e	15.32 ± 0.02 ^a	24.60 ± 0.13 ^d
ภูเขาทอง (PK)	9.75 ± 0.09 ^c	91.43 ± 0.03 ^d	6.33 ± 0.02 ^d	35.18 ± 0.08 ^a
นางดำ (ND)	13.93 ± 0.20 ^a	101.48 ± 0.08 ^a	4.50 ± 0.02 ^e	26.29 ± 0.09 ^c
สามเดือน (SD)	11.47 ± 0.07 ^b	96.28 ± 0.08 ^b	7.04 ± 0.07 ^c	31.90 ± 0.07 ^b
ขาวดอกมะลิ 105 (Mali)	7.68 ± 0.13 ^e	93.42 ± 0.18 ^c	7.67 ± 0.03 ^b	31.89 ± 0.10 ^b

หมายเหตุ: a,b,c,d,e ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างของร้อยละความชื้นในรำข้าว และค่าสีของรำข้าว ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 (P≤0.05) โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบลักษณะทางกายภาพของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยเครื่องซอกท์กเลต (Soxhlet extraction) และคลื่นความถี่สูงแบบโพรบ (Ultrasonic-assisted extraction)

สายพันธุ์รำข้าว	เครื่องซอกท์กเลต		คลื่นความถี่สูงแบบโพรบ	
	น้ำมันรำข้าว	ลักษณะทางกายภาพ	น้ำมันรำข้าว	ลักษณะทางกายภาพ
ดอกขาม (DK)		สีน้ำตาลเข้มปนเขียว มีความหนืดพอประมาณ มีตะกอนสีแดงเข้มปนอยู่ปริมาณมาก		สีน้ำตาลเข้ม มีความหนืด มีตะกอนสีแดงปนอยู่แต่น้อยกว่าการสกัดด้วยเครื่องซอกท์กเลต
ภูเขาทอง (PK)		สีเขียวปนน้ำตาล ค่อนข้างเหลว		สีเขียวปนเหลืองเข้ม มีความเหลวมากกว่าการสกัดด้วยเครื่องซอกท์กเลต
นางดำ (ND)		สีส้มปนน้ำตาล ค่อนข้างเหลว		สีเหลืองเข้มปนส้ม มีความเหลวมากกว่าการสกัดด้วยเครื่องซอกท์กเลต
สามเดือน (SD)		สีเหลืองเข้ม ค่อนข้างจะเหลว มีตะกอนสีส้มปนอยู่		สีเหลือง มีความเหลวมากกว่าการสกัดด้วยเครื่องซอกท์กเลต มีตะกอนสีส้มปนอยู่ไม่มาก
ขาวดอกมะลิ 105 (Mali)		สีเหลือง ค่อนข้างจะเหลว มีตะกอนสีเหลืองเข้มปนอยู่		สีเหลืองอ่อน มีความเหลวมากกว่าการสกัดด้วยเครื่องซอกท์กเลต มีตะกอนสีเหลืองปนอยู่

4.2 การสกัดสารจากรำข้าวด้วยเครื่องซอกท์กเลต (Soxhlet extraction)

การสกัดด้วยวิธีนี้เป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม วิธีสามารถศึกษาปัจจัย ได้แก่ ชนิดของตัวทำละลาย และเวลาที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อการปริมาณน้ำมัน และสารสำคัญที่สกัดได้รวมถึงคุณภาพของน้ำมันคือฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งตรวจสอบด้วยวิธี DPPH assay โดยตัวทำละลายที่นำมาศึกษา ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซีโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล ซึ่งแสดงดัง **รูปที่ 4.1** จาก**รูปที่ 4.1** พบว่าเมื่อสกัดเป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า การน้ำมันจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้อะซีโตน เอทานอล และไอโซโพรพานอล ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวเพิ่มขึ้นตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ และการสกัดโดยใช้เฮกเซนและเอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณน้ำมันไม่แตกต่างกันทางสถิติ (0.22-0.23 กรัมต่อกรัมรำข้าว) และให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวต่ำกว่าการสกัดโดยใช้อะซีโตน เอทานอล และไอโซโพรพานอล อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการสกัดโดยใช้ไอโซโพรพานอลจะให้ปริมาณน้ำมันสูงสุด คือ 0.33 กรัมต่อกรัมรำข้าว ส่วนการสกัดน้ำมัน

เอกลาเป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นประโยชน์ของเอกสารนี้ให้นำไปใช้ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรำข้าวไรต์ดอกพะยอมโดยใช้ไอโซโพรพานอลและเอทานอลให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ (0.36-0.37 กรัมต่อกรัมรำข้าว) ซึ่งการใช้ไอโซโพรพานอลและเอทานอลสามารถให้ปริมาณน้ำมันมากกว่าการสกัดโดยใช้อะซีโตน เอทิลอะซีเตต และอะซีโตนเป็นตัวทำละลาย อย่างมีนัยสำคัญ เหตุที่ไอโซโพรพานอลสกัดน้ำมันได้ปริมาณมากเนื่องจากไอโซโพรพานอลมีความเป็นขั้วที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมัน และไอโซโพรพานอลสามารถสกัดได้ทั้งสารที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ส่วนเอทานอลมีความเป็นขั้วสูงกว่าจึงไม่เหมาะต่อการสกัดน้ำมัน การทดลองนี้มีความสอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ **Chen และคณะ, 2008** ซึ่งได้ทำการสกัดรำข้าวพันธุ์ Da-quan ด้วยเครื่องสกัดซอท์กเลต ตัวทำละลายที่ใช้สกัดได้แก่ เฮกเซน ไอโซโพรพานอล และ เมทานอล **นอกจากนี้จากรูปที่ 4.1 และ 4.2** แสดงปริมาณน้ำมันรำข้าวด้วยเครื่องซอกท์กเลตโดยใช้วัตถุดิบเป็นรำข้าวไร่เป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่าเอทานอล และไอโซโพรพานอลสามารถสกัดน้ำมันได้มากกว่าตัวลละลายอีก 2 ประเภท

ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลแสดง**ดังรูปที่ 4.3** เมื่อสกัดน้ำมันรำข้าวด้วยเครื่องซอกท์กเลตเป็นเวลา 6 ชั่วโมง พบว่า การสกัดโดยใช้เอทานอลจะให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลมากกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซีเตต อะซีโตน และไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ซึ่งสกัดโดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซีเตต และไอโซโพรพานอลให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (น้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไรต์ดอกพะยอมที่สกัดโดยใช้เอทานอลให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอล เท่ากับ 8.29 และ 11.92 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบสายพันธุ์รำข้าวไร่ใน**รูปที่ 4.4** พบว่ารำข้าวดอกขามและภูเขาทองให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากที่สุด และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อสกัดด้วยเฮกเซนหรือเอทิลอะซีเตต รำข้าวภูเขาทองให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากที่สุดเมื่อสกัดด้วย ไอโซโพรพานอลอย่างมีนัยสำคัญ และรำข้าวดอกขามให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากที่สุด เมื่อสกัดด้วยเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 การทดลองนี้มีความแตกต่างกับงานวิจัยก่อนหน้านี้ **Chen และคณะ, 2008** ได้สกัดรำข้าวพันธุ์ Da-quan ด้วยเครื่องสกัดซอกท์กเลต โดยใช้ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน ไอโซโพรพานอล และเมทานอล จากนั้นวิเคราะห์ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลพบว่าการสกัดด้วยเฮกเซนให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากที่สุด รองลงมาเป็นการสกัดด้วยเมทานอล และไอโซโพรพานอล ตามลำดับ เนื่องจากสายพันธุ์รำข้าวที่ใช้สกัดแตกต่างกันส่งผลให้ผลการทดลองที่ได้มีความแตกต่างกัน

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแสดงผลดังรูปที่ 4.5 ที่ได้จากการสกัดด้วยรำข้าวไร่พันธุ์ดอกขามโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด รองลงมาเป็นการสกัดด้วย ไอโซโพรพานอล เอทิลอะซีเตต และเฮกเซน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าทางสถิติ พบว่าการสกัดด้วยเฮกเซนและเอทิลอะซีเตตให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่น้อยกว่าการสกัดด้วยไอโซโพรพานอลและเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดด้วยรำข้าวไร่พันธุ์ภูเขาทองโดยใช้ด้วยเอทานอลเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด รองลงมาเป็นการสกัดด้วยไอโซโพรพานอล เอทิลอะซีเตต และเฮกเซน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าทางสถิติ (ตารางที่ 4.34 และรูปที่ 4.33) พบว่าการสกัดด้วยเอทานอล ไอโซโพรพานอล เอทิลอะซีเตต และเฮกเซน ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และการสกัดรำข้าวทั้ง 3 สายพันธุ์ ด้วยเอทานอลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด เนื่องจากเอทานอลมีสมบัติความเป็นขั้วสูงและมีขั้วใกล้เคียงกับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

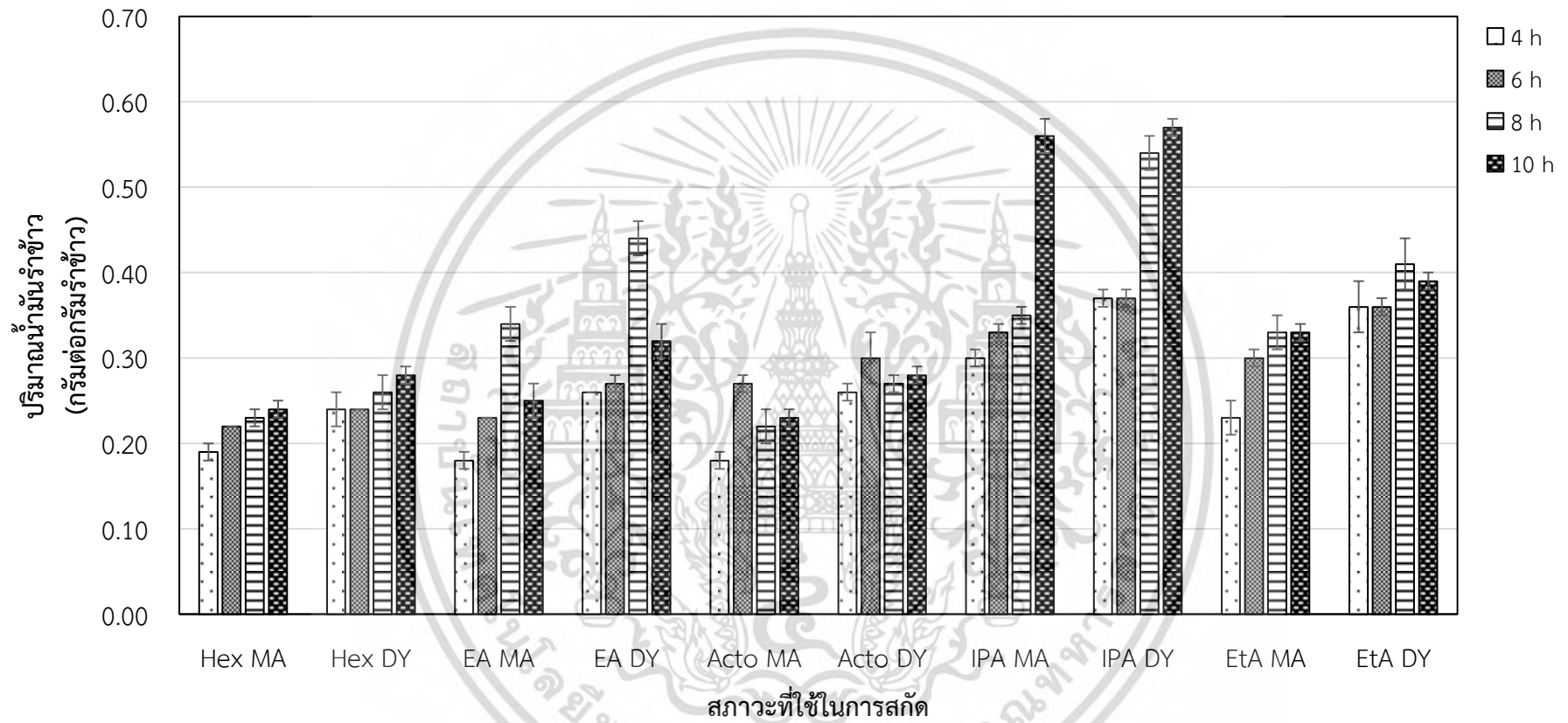
สารประกอบฟีนอลิกทำให้เอทานอลสามารถละลายสารประกอบฟีนอลิก ออกมาได้มากกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่นจึงได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด

ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ได้ผลแสดง**ดังรูปที่ 4.6** ได้จากการสกัดด้วยรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขามโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด รองลงมาเป็นการสกัดด้วยไอโซโพรพานอล เอทิลอะซีเตต และเฮกเซน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าทางสถิติ พบว่าการสกัดด้วยเฮกเซนและเอทิลอะซีเตตให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่น้อยกว่าการสกัดด้วยไอโซโพรพานอล และเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดด้วยรำข้าวไร้พันธุ์ภูเขาทองโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายพบว่าให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด รองลงมาเป็นการสกัดโดยใช้ ไอโซโพรพานอล เอทิลอะซีเตต และเฮกเซน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าทางสถิติ พบว่าการสกัดด้วยเอทานอล ไอโซโพรพานอล เอทิลอะซีเตต และเฮกเซน ให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดด้วยรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอลให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด รองลงมาเป็นการสกัดด้วยไอโซโพรพานอล เอทิลอะซีเตต และเฮกเซน ตามลำดับ เมื่อพิจารณาค่าทางสถิติ พบว่าการสกัดด้วยเฮกเซนและเอทิลอะซีเตตให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญแต่น้อยกว่าการสกัดด้วยไอโซโพรพานอลและเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบสายพันธุ์รำข้าวพบว่าการสกัดรำข้าวทั้งหมดให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อสกัดด้วยเฮกเซนและเอทิลอะซีเตต และการสกัดด้วยรำข้าวดอกขามให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุดเมื่อสกัดด้วยไอโซโพรพานอลหรือเอทานอลอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และรำข้าวทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยเอทานอลให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด เนื่องจากเอทานอลมีสมบัติความเป็นขั้วสูงและมีขั้วใกล้เคียงกับสารฟลาโวนอยด์ทำให้เอทานอลสามารถละลาย สารฟลาโวนอยด์ออกมามากกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดอื่น จึงได้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด

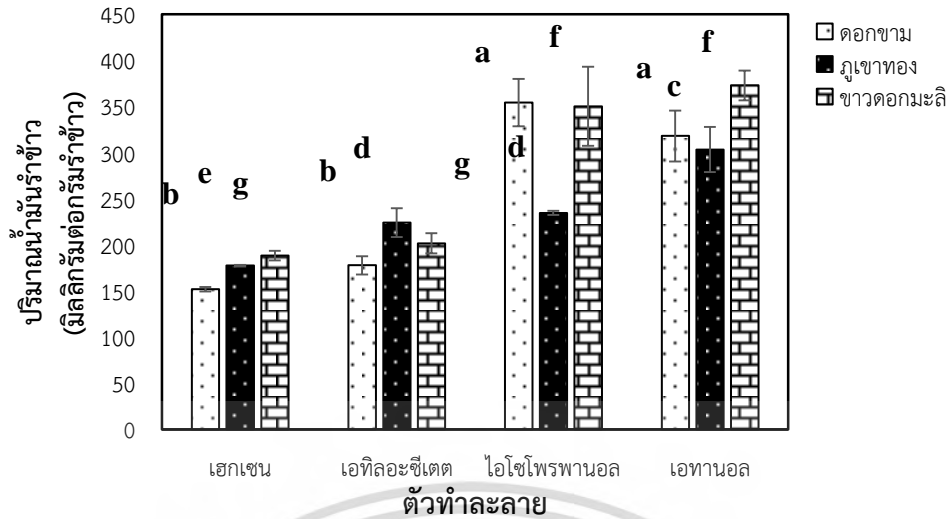
การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เครื่องชอกท์เลตเป็นเวลา 4 ชั่วโมง แสดง**ดังรูปที่ 4.7** พบว่า น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้เฮกเซน ไอโซโพรพานอล เอทิลอะซีเตต อะซีโตน และเอทานอลเป็นตัวทำละลายให้น้ำมันรำข้าวที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซีเตต อะซีโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอลเป็นตัวทำละลายให้น้ำมันรำข้าวที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นตามลำดับอย่างมีนัยสำคัญ โดยน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้อะซีโตนและไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซนและเอทิลอะซีเตตเป็นตัวทำละลาย และไม่แตกต่างกันทางสถิติ (7.36-7.60 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย) ส่วนการใช้เอทานอลจะฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการใช้ตัวทำละลายอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญ(2.06 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย)

น้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องชอกท์เลต พบว่า การสกัดโดยใช้เอทานอลให้น้ำมันรำข้าวที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด เนื่องจากเอทานอลมีความเป็นขั้วสูงที่สุด เมื่อเทียบกับเฮกเซน เอทิลอะซีเตต อะซีโตน และไอโซโพรพานอล การที่เอทานอลมีความเป็นขั้วสูงนี้ ทำให้เอทานอลสามารถสกัดสารที่มีความเป็นขั้วใกล้เคียงกันและสารที่มีความเป็นขั้วต่ำกว่าออกมาได้ ส่วนการสกัดโดยใช้อะซีโตนเป็นตัวทำละลายให้น้ำมันที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระรองจากเอทานอล เนื่องจากมีความเป็นขั้วรองจากเอทานอล ส่วนการสกัดโดยใช้เฮกเซนและเอทิลอะซีเตตมีความเป็นขั้วต่ำกว่าเอทานอลและอะซีโตน จึงสกัดได้น้ำมันที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าเอทานอลและอะซีโตน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



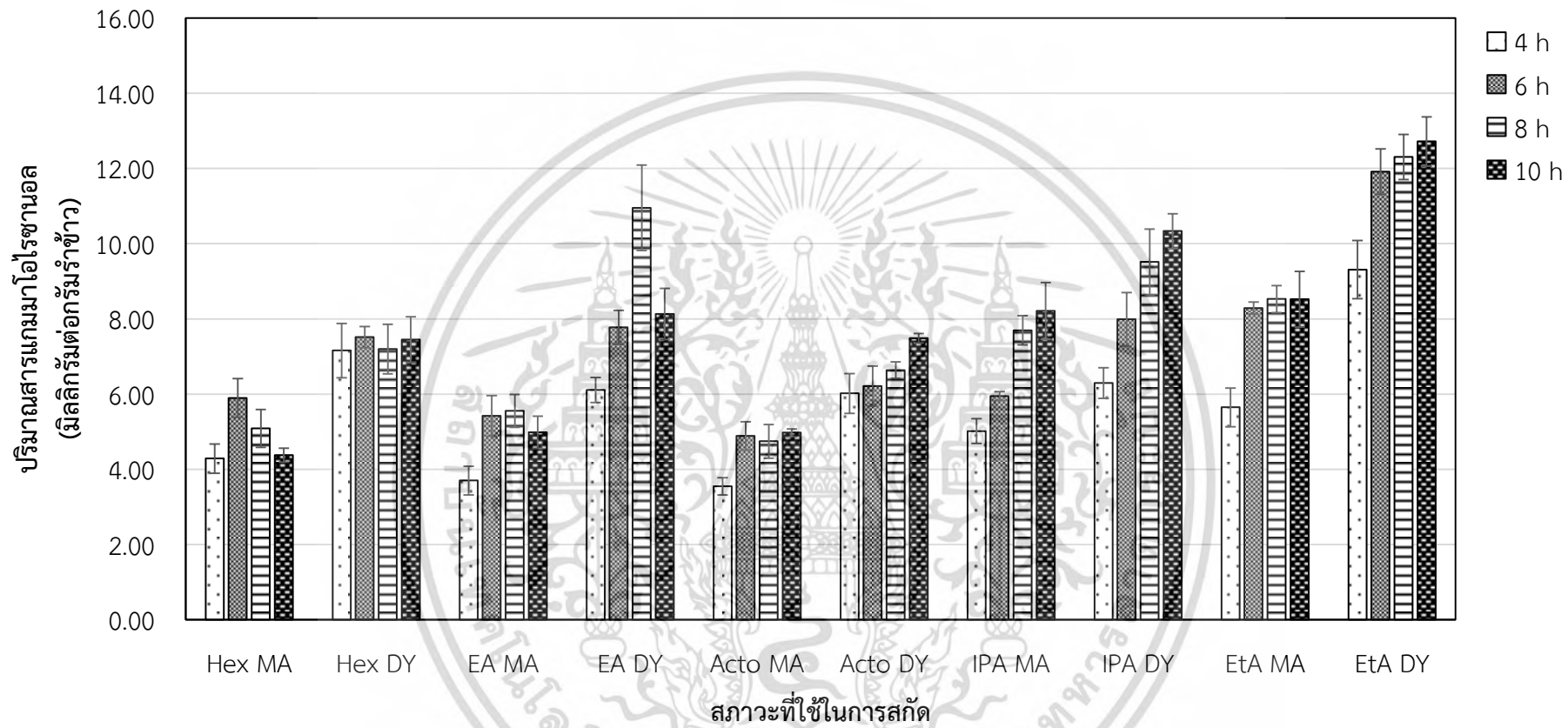
รูปที่ 4.1 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เครื่องซอกท์เลต



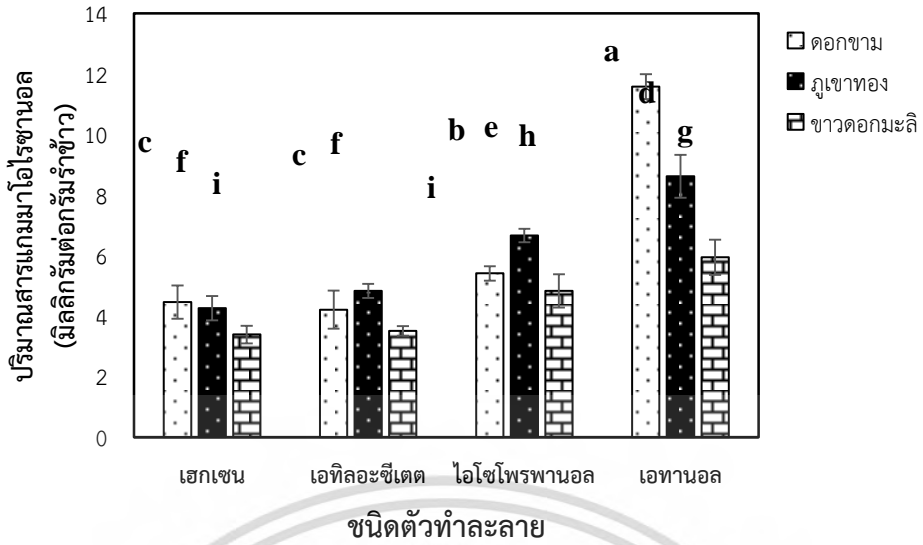
รูปที่ 4.2 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดรำข้าวพันธุ์ดอกขาม ภูเขาทอง และขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเครื่องสกัดซอท์กเลต นาน 6 ชั่วโมง โดยชนิดของตัวทำละลายที่ต่างกัน



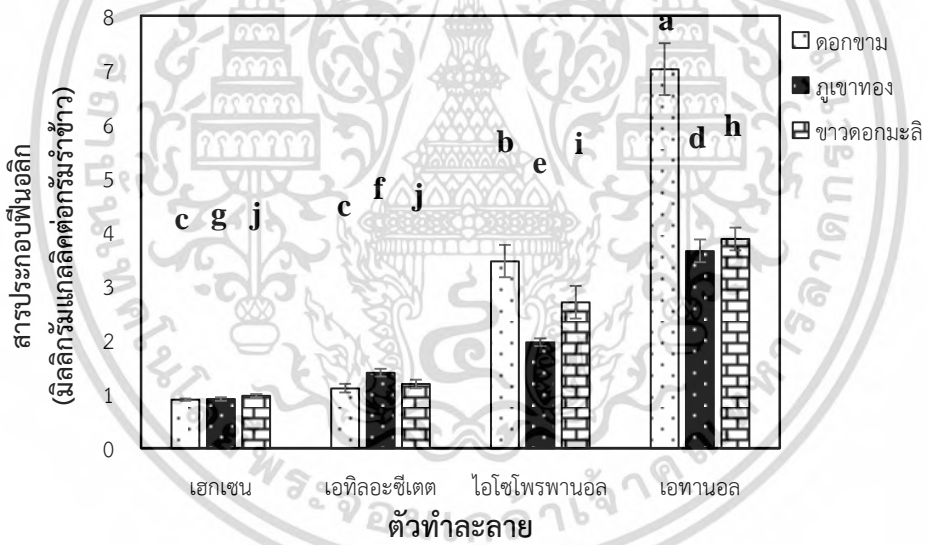
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



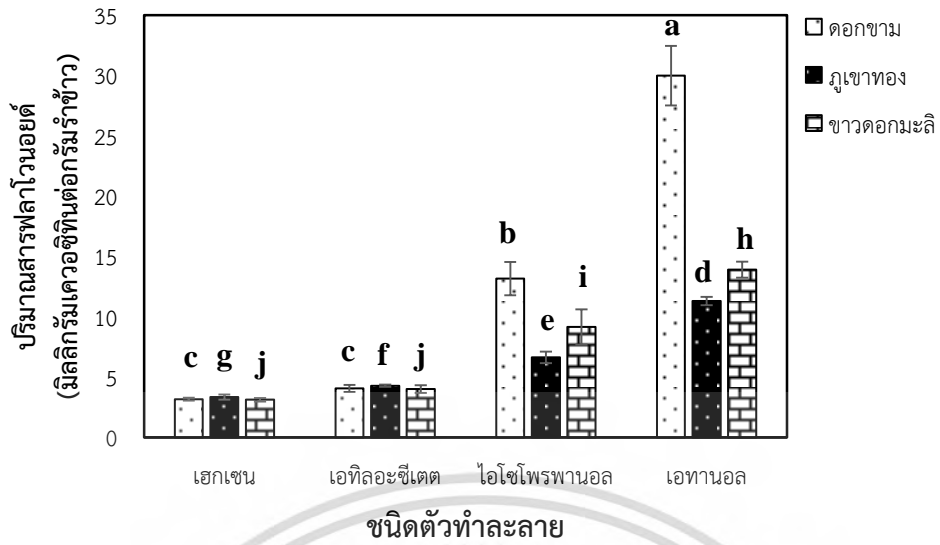
รูปที่ 4.3 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เครื่องชอกท์เลต



รูปที่ 4.4 ปริมาณสารแกมมาไฮโรซานอลที่ได้จากการสกัดรำข้าวพันธุ์ดอกขาม ภูเขาทอง และ ขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเครื่องสกัดซอท์กเลต อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:40 โดยมวลต่อปริมาตร นาน 6 ชั่วโมง โดยชนิดของตัวทำละลายที่ต่างกัน



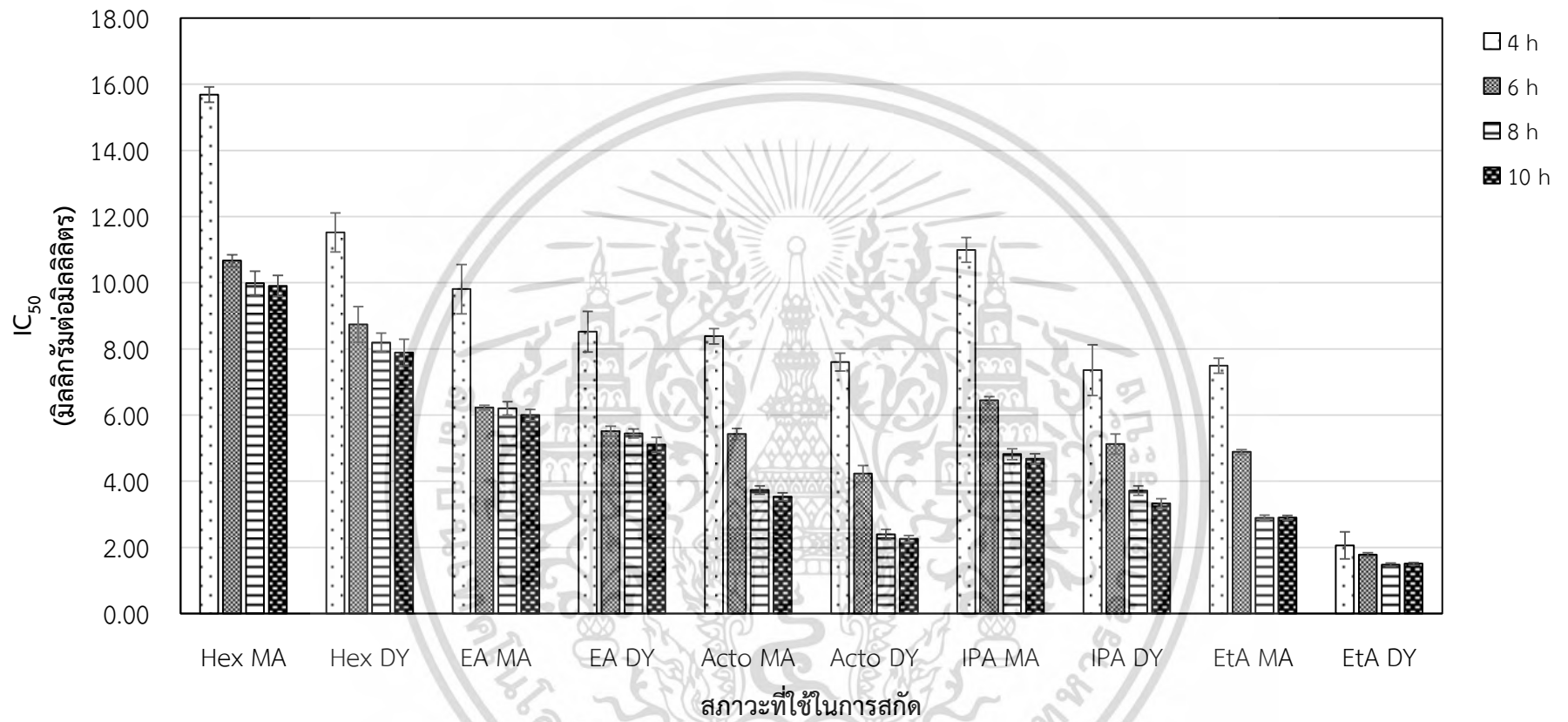
รูปที่ 4.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดรำข้าวพันธุ์ดอกขาม ภูเขาทอง และขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเครื่องสกัดซอท์กเลต อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:40 โดยมวลต่อปริมาตร นาน 6 ชั่วโมง โดยชนิดของตัวทำละลายที่ต่างกัน



รูปที่ 4.6 ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดรำข้าวพันธุ์ดอกขาม ภูเขาทอง และขาวดอกมะลิ 105 ด้วยเครื่องสกัดซอท์กเกลต อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:40 โดยมวลต่อปริมาตร นาน 6 ชั่วโมง โดยชนิดของตัวทำละลายที่ต่างกัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เครื่องชอกห์เลต

4.3 การสกัดสารจากรำข้าวโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูง (Ultrasonic-assisted extraction)

การศึกษาศักดิ์น้ำมันรำข้าวจากรำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงแบบอ่าง (Ultrasonic bath) อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย เป็น 1:6 โดยมวล อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยตัวทำละลายที่นำมาศึกษา ได้แก่ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซีโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอล ปริมาณน้ำมันรำข้าว **แสดงดังรูปที่ 4.8**

การสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซีโตน และไอโซโพรพานอล เป็นตัวทำละลาย ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวใกล้เคียงกัน และการสกัดสกัดด้วยเอทานอลให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวต่ำที่สุด **แสดงดังรูปที่ 4.8** เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดโดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซีโตน และไอโซโพรพานอล ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอมไม่แตกต่างกันในทางสถิติ (0.21-0.22 กรัมต่อกรัมรำข้าว) และให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย (0.19 กรัมต่อกรัมรำข้าว) การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซีโตน และไอโซโพรพานอล ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวสูงกว่าการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย เนื่องจากน้ำมันรำข้าวเป็นสารที่มีความเป็นขี้ดต่ำ จึงสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีความเป็นขี้ดต่ำ เพราะฉะนั้น ตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันรำข้าว คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซีโตน และไอโซโพรพานอล นอกจากนี้ยังพบว่า รำข้าวไร้ดอกพะยอมสามารถให้ปริมาณน้ำมันได้มากกว่ารำข้าวขาวดอกมะลิ 105

ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอล การศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าว โดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงแบบอ่าง (Ultrasonic bath) **แสดงดังรูปที่ 4.9**

การสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้เอทานอล ไอโซโพรพานอล และอะซีโตนเป็นตัวทำละลาย สามารถสกัดสารแกมมาโอโรซานอลได้ใกล้เคียงกันและมากกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซน และเอทิลอะซิเตต เป็นตัวทำละลาย เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า ส่วนการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้อะซีโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอลเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ และมากกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซน และเอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลาย น้ำมันขาวดอกมะลิ 105 และน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอมที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอล ไอโซโพรพานอล และอะซีโตนเป็นตัวทำละลาย มีปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอื่นๆ เนื่องจากเอทานอล และอะซีโตนมีความเป็นขี้ดสูงกว่าเอทิลอะซิเตตและเฮกเซน การใช้เอทานอล ไอโซโพรพานอล และอะซีโตน จึงสามารถละลายสารสำคัญจากรำข้าวออกมาได้มากกว่าเอทิลอะซิเตตและเฮกเซน เช่นเดียวกันงานวิจัยของ Chen และ Bergman (2005) ได้ศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวสายพันธุ์ไซเพรส(Cypress) และเบงกอล(Bengal) โดยตัวทำละลายที่นำมาใช้ในการศึกษา ได้แก่ เฮกเซน และ ไอโซโพรพานอล พบว่า น้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้ไอโซโพรพานอลมีปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย โดยน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไซเพรสโดยใช้เฮกเซนและไอโซโพรพานอลมีปริมาณแกมมาโอโรซานอล เท่ากับ 3.4 และ 3.7 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว ตามลำดับ น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวเบงกอลปริมาณแกมมาโอโรซานอล เท่ากับ 3.8 และ 4.1 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว ตามลำดับ

การศึกษาศักดิ์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวจากการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงแบบอ่าง (Ultrasonic bath) **แสดงดังรูปที่ 4.10** น้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอมที่สกัดโดยใช้ไอโซโพรพานอลมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซนและเอทิลอะซิเตต น้ำมันที่สกัดโดยใช้อะซีโตนและเอทานอลเป็นตัวทำละลายมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า น้ำมันที่สกัดโดยใช้อะซีโตนและเอทานอลเป็นตัวทำละลายมีความสามารถในการต้านอนุมูล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อิสระไม่แตกต่างกันทางสถิติ(2.46-3.02 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรของตัวทำละลาย) และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้เฮกเซน อะซีโตน ไอโซโพรพานอล และเอทานอลเป็นตัวทำละลาย จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 น้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เฮกเซน เอทิลอะซิเตต อะซีโตน และไอโซโพรพานอล เนื่องจากเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูง จึงสามารถสกัดสารสำคัญจากรำข้าวได้มากกว่าตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วต่ำ ดังนั้น น้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย จึงมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Tabaraki และ Nateghi (2011) ศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวทารอม (Tarom) ที่สกัดด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง(Ultrasonic bath, 35 kHz, 140W) ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตต และเอทานอล พบว่า น้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้เฮกเซนและเอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลาย ซึ่งน้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้เฮกเซนมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด

อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดให้ได้ปริมาณน้ำมันรำข้าวปริมาณมาก **แสดงดังรูปที่ 4.11** การสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ปริมาณน้ำมันรำข้าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตามอัตราส่วนที่เพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบทางสถิติ พบว่า การเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายจาก 1:2 ไปเป็น 1:6 โดยมวล ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันรำข้าวเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ การสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมในอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:6 โดยมวล ให้ปริมาณน้ำมันมากที่สุด คือ 0.19 กรัมต่อกรัมรำข้าว การสกัดน้ำมันจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอมที่อัตราส่วน 1:2 โดยมวล ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวใกล้เคียงกัน และน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมมีปริมาณมากกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการละลายของสารภายในรำข้าว และช่วยลดความอึดตัวของตัวทำละลาย จึงสามารถละลายสารภายในรำข้าวออกมาได้มากขึ้น เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Hu และคณะ (1996) ศึกษาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันรำข้าว โดยอัตราส่วนที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ 1:2 และ 1:3 โดยมวล ใช้เฮกเซนและไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า การสกัดรำข้าวที่อัตราส่วน 1:3 โดยมวล ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดที่อัตราส่วน 1:2 โดยมวล อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งการสกัดด้วยเฮกเซนและไอโซโพรพานอล การศึกษาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวได้ผล **แสดงดังรูปที่ 4.12** ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลที่ได้จากการสกัดน้ำมันจากรำข้าวไร้ดอกพะยอม ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดทำให้ได้ปริมาณน้ำมันรำข้าวเพิ่มขึ้น โดยการสกัดที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 และ 1:6 โดยมวล สามารถสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวได้ใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ(ตารางที่ 4.5) พบว่า การสกัดที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 และ 1:6 โดยมวล มีปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (6.48-6.76 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว) และมีปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าการสกัดที่อัตราส่วนของตัวทำละลายเป็น 1:2 โดยมวลอย่างมีนัยสำคัญ (2.10 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว) การเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดทำให้สามารถสกัดแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวได้มากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทั้งรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พะยอม เนื่องจากการเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลายเป็นการช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการละลายของสารภายในรำข้าว และช่วยลดความอืดตัวของตัวทำละลาย จึงสามารถละลายสารภายในรำข้าวออกมาได้มากขึ้น ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Hu และคณะ (1996) ศึกษาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าว โดยอัตราส่วนที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ 1:2 และ 1:3 โดยมวล ใช้เฮกเซนและไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า การสกัดรำข้าวที่อัตราส่วน 1:3 โดยมวล มีปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวสูงกว่าการสกัดที่อัตราส่วน 1:2 โดยมวล อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งการสกัดด้วยเฮกเซนและไอโซโพรพานอล การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงแบบอ่าง **แสดงดังรูปที่ 4.13** น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอม เมื่อเพิ่มอัตราส่วนของตัวทำละลาย ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจะลดลง เมื่อเปรียบเทียบค่าทาสติติพบว่า น้ำมันรำข้าวมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน ทั้งอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:2 1:4 และ 1:6 โดยมวล (2.30-2.42 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรของตัวทำละลาย) นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 อย่างเห็นได้ชัด การศึกษาการสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าว 2 สายพันธุ์โดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 โดยมวล โดยอุณหภูมิในการสกัดที่นำมาศึกษา ได้แก่ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำมันรำข้าว **แสดงดังรูปที่ 4.14** การสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวใกล้เคียงกัน และมีปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันน้อยที่สุดเมื่อเทียบการสกัดที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส ส่วนการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกัน (0.21-0.22 กรัมต่อกรัมรำข้าว) และมีปริมาณมากกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส น้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมมีปริมาณมากกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และการเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดทำให้สามารถสกัดน้ำมันรำข้าวออกมาได้มากขึ้น เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดทำให้เกิดเป็นแรงดันไอ ซึ่งเมื่อแรงดันไอกายในภาชนะสกัดเพิ่มสูงขึ้น จะช่วยส่งเสริมให้เกิดปรากฏการณ์ควิวเทชันได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดและการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงยังทำให้โครงสร้างของรำข้าวมีความอ่อนตัว ส่งผลให้ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าสู่รำข้าวได้ดียิ่งขึ้น ทั้งนี้หากใช้อุณหภูมิในการสกัดสูงเกินไปจะทำให้ความรุนแรงปรากฏการณ์ควิวเทชันลดลง ซึ่งจะเห็นได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างจากการสกัดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Khoei และ Chekin (2016) ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวทารอม(Tarom mahali) ด้วยคลื่นเสียงความถี่สูง สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย เป็นเวลา 15 นาที โดยอุณหภูมิที่นำมาใช้ในการศึกษา ได้แก่ 25 45 65 85 และ 105 องศาเซลเซียส พบว่า ปริมาณน้ำมันรำข้าวจะเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 25 เป็น 45 องศาเซลเซียส และเมื่อใช้อุณหภูมิในการสกัดสูงกว่า 45 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำมันรำข้าวจะลดลงตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีงานวิจัยของ Hu และคณะ (1996) ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันจากรำข้าว โดยอุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ 40 และ 60 องศาเซลเซียส ใช้เฮกเซนและไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า ปริมาณน้ำมันรำข้าวเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดรำข้าวเพิ่มขึ้น ทั้งการสกัดโดยใช้เฮกเซนและไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลาย

การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าว **แสดงผลดังรูปที่ 4.15**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 อย่างเห็นได้ชัด และการเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดช่วยให้สามารถสกัดสารแกมมาโอโรซานอลได้มากขึ้น เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดทำให้เกิดการระเหยของตัวทำละลายสู่ช่องว่างด้านบนของภาชนะสกัดจนเกิดเป็นแรงดันไอ ซึ่งเมื่อแรงดันไอบนภาชนะสกัดเพิ่มสูงขึ้น จะช่วยส่งเสริมให้เกิดปรากฏการณ์คาพิเทชันได้ดียิ่งขึ้น นอกจากนี้การเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดและการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงยังทำให้โครงสร้างของรำข้าวมีความอ่อนตัว ส่งผลให้ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าสู่รำข้าวได้ดียิ่งขึ้น จึงเป็นการช่วยเร่งอัตราการแพร่ของตัวทำละลายและส่งเสริมกระบวนการสกัด ทั้งนี้หากใช้อุณหภูมิในการสกัดสูงจนเกินไปจะทำให้ความรุนแรงปรากฏการณ์คาพิเทชันลดลง ซึ่งจะเห็นได้จากการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างจากการสกัดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอม **แสดงดังรูปที่ 4.16** มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ(ตารางที่ 4.9) พบว่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญ และน้ำมันที่ได้จากการสกัดรำข้าวที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างทางสถิติ และการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่าความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 คือ 4.46 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรของตัวทำละลาย การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าว พบว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 60 องศาเซลเซียส น้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอม มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ส่วนการสกัดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน และการสกัดรำข้าวที่อุณหภูมิต่ำจะให้น้ำมันรำข้าวมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดรำข้าวที่อุณหภูมิสูง ผลของเวลาที่มีต่อน้ำมันสารแกมมาโอโรซานอล และฤทธิ์แสดงผล**ดังรูปที่ 4.17 4.18 และ 4.19 ตามลำดับ** การสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เมื่อเพิ่มเวลาที่ใช้ในการสกัด ปริมาณน้ำมันรำข้าวมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดเป็นเวลา 40 และ 60 นาที ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ (0.20-0.21 กรัมต่อกรัมรำข้าว) และมีปริมาณน้ำมันมากกว่าการสกัดเป็นเวลา 20 นาที (0.19 กรัมต่อกรัมรำข้าว) การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าว พบว่า ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอม ให้ปริมาณสูงกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ทั้งการสกัดเป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที และปริมาณน้ำมันรำข้าวจะใกล้เคียงกันแม้ว่าเวลาที่ใช้ในการสกัดจะเพิ่มขึ้น ส่วนผลการสกัดแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้เวลาในการสกัดเป็น 20 และ 40 นาที ให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลใกล้เคียงกัน และการสกัดเป็นเวลา 60 นาที ให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอม เป็นเวลา 60 นาที (7.55 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว) ให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าการสกัดที่เวลา 20 และ 40 นาที อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการสกัดเป็นเวลาในการสกัดเป็น 20 และ 40 นาที ให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าว น้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกพะยอม มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ส่วนน้ำมันรำข้าวที่ใช้เวลา 60 นาที ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีความใกล้เคียงกับน้ำมันรำข้าวดอกพะยอม ซึ่งการสกัดเป็นเวลา 20 และ 40 นาที ให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดรำข้าวเป็นเวลา 60 นาที อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากปรากฏการณ์คาพิเทชัน เป็นปรากฏการณ์ที่ทำให้เกิดฟองอากาศขนาดเล็ก เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จำนวนมากในตัวทำละลาย หลังจากนั้นจะมีการระเบิดอย่างรุนแรงของฟองอากาศเหล่านั้น ด้วยแรงดันและความร้อนจากการระเบิดนี้ อาจส่งผลต่อการสกัดเพียงระยะเวลาสั้นๆ เท่านั้น ซึ่งหากใช้เวลาในการสกัดนานจนเกิดไปอาจทำให้สารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระถูกทำลายได้

แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงความถี่สูง การศึกษาการสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าว 2 สายพันธุ์ ใช้สภาวะในการสกัดเดียวกัน โดยแหล่งกำเนิดคลื่นเสียงที่นำมาศึกษา ได้แก่ แบบอ่าง (Ultrasonic bath) และแบบโพรบ (Ultrasonic probe) รำข้าวที่สกัดโดยใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบโพรบสามารถสกัดน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าการสกัดโดยใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบอ่าง **แสดงดังรูปที่ 4.20** และน้ำมันที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกพะยอมจะให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่ารำข้าวขาวดอกมะลิ 105 พบว่า การใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบโพรบ สามารถนำมันจากรำข้าวได้มากกว่าการใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบอ่างอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้น การสกัดรำข้าวโดยใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบโพรบจะได้ปริมาณน้ำมันมากที่สุด และรำข้าวไร้ดอกพะยอมจะให้ปริมาณน้ำมันมากกว่ารำข้าวขาวดอกมะลิ 105 อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงแบบโพรบเป็นการผ่านคลื่นเสียงสู่ตัวกลางที่เป็นตัวทำละลายโดยตรง ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อการเกิดปรากฏการณ์คาวีเทชันของตัวทำละลาย ทั้งยังทำให้รำข้าวเกิดการฉีกขาดเป็นชิ้นเล็ก ซึ่งทำให้ง่ายต่อการแทรกผ่านของตัวทำละลายเข้าไปในรำข้าว ส่วนการสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงแบบอ่างเป็นการผ่านคลื่นเสียงผ่านตัวกลาง 3 ตัวกลาง คือ น้ำ ภาชนะสกัด และตัวทำละลาย ตามลำดับ ส่งผลให้ความรุนแรงของการเกิดปรากฏการณ์คาวีเทชันต่ำกว่าการสกัดแบบโพรบโซนิเคเตอร์ จึงทำให้การสกัดโดยใช้คลื่นเสียงความถี่สูงแบบอ่างมีอัตราการสกัดต่ำกว่าการสกัดแบบโพรบ และปริมาณสารแกมมาโอโรซานอล

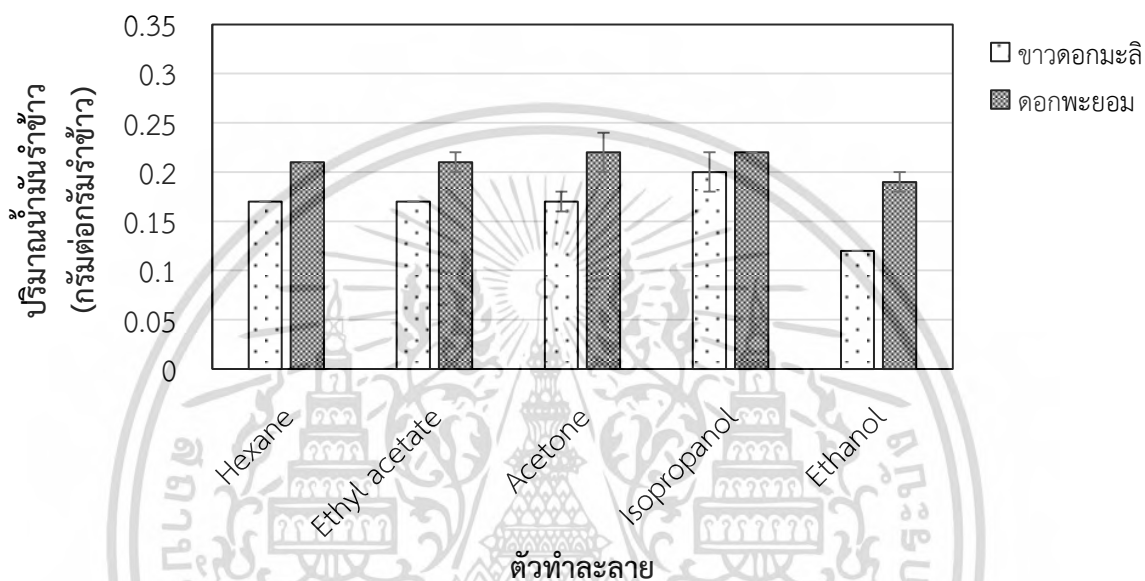
แสดงผลดังรูปที่ 4.21 การสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบโพรบให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลมากกว่าการสกัดโดยใช้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงแบบอ่าง เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติพบว่า การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้อัลตราโซนิกแบบอ่างและแบบโพรบให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (5.37-6.02 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว) เมื่อสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้อัลตราโซนิกแบบโพรบให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าการใช้อัลตราโซนิกแบบอ่างอย่างมีนัยสำคัญ และให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงสุด คือ 9.38 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว เนื่องจากการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิกแบบโพรบเป็นการผ่านคลื่นเสียงสู่ตัวกลางที่เป็นตัวทำละลายโดยตรง ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อการเกิดปรากฏการณ์คาวีเทชันของตัวทำละลาย ทั้งยังทำให้รำข้าวเกิดการฉีกขาดเป็นชิ้นเล็ก ซึ่งทำให้ง่ายต่อการแทรกผ่านของตัวทำละลายเข้าไปในรำข้าวและละลายสารภายในรำข้าวออกมาได้มากขึ้น ส่วนการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิกแบบอ่างเป็นการผ่านคลื่นเสียงผ่านตัวกลาง 3 ตัวกลาง คือ น้ำ ภาชนะสกัด และตัวทำละลาย ตามลำดับ ส่งผลให้ความรุนแรงของการเกิดปรากฏการณ์คาวีเทชันต่ำกว่าการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิกแบบโพรบ จึงทำให้การสกัดโดยใช้อัลตราโซนิกแบบอ่างมีอัตราการสกัดต่ำกว่าการสกัดโดยใช้อัลตราโซนิกแบบโพรบ การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวจากการสกัดโดยใช้คลื่นเสียง

ความถี่สูง **แสดงดังรูปที่ 4.22** น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง เมื่อสกัดรำข้าวด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง พบว่า น้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกับน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และเมื่อสกัดรำข้าวด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบพบว่า น้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 เล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า น้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอมและน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่างจะให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบ พบว่า น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอก

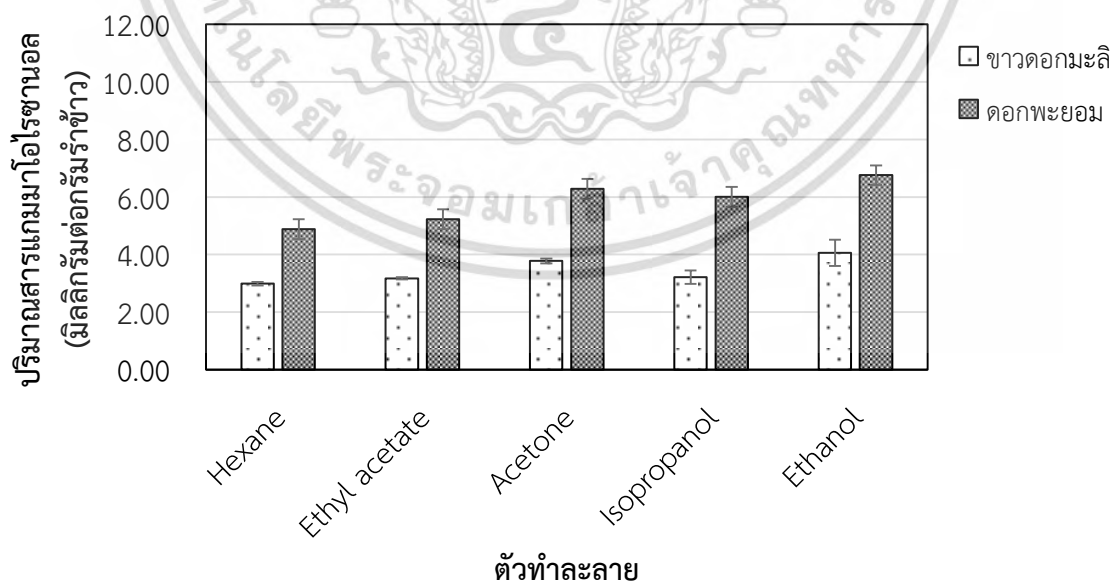
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พะยอม มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และดีกว่าการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคแบบอ่างอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการสกัดแบบโพรบเป็นการผ่านคลื่นเสียงสู่ตัวกลางที่เป็นตัวทำละลายโดยตรง ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อการเกิดปรากฏการณ์ควิเทชันของตัวทำละลาย ทั้งยังทำให้รำข้าวเกิดการฉีกขาดเป็นชิ้นเล็ก ซึ่งทำให้ง่ายต่อการแทรกผ่านของตัวทำละลายเข้าไปในรำข้าวและละลายสารภายในรำข้าวที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระออกมาได้มากขึ้น ส่วนการสกัดแบบอ่างเป็นการผ่านคลื่นเสียงผ่านตัวกลาง 3 ตัวกลาง คือ น้ำ ภาชนะสกัด และตัวทำละลาย ตามลำดับ ส่งผลให้ความรุนแรงของการเกิดปรากฏการณ์ควิเทชันต่ำกว่าการสกัดแบบโพรบ จึงทำให้การสกัดแบบอัลตราโซนิคแบบอ่างมีอัตราการสกัดต่ำกว่าการสกัดแบบโพรบ

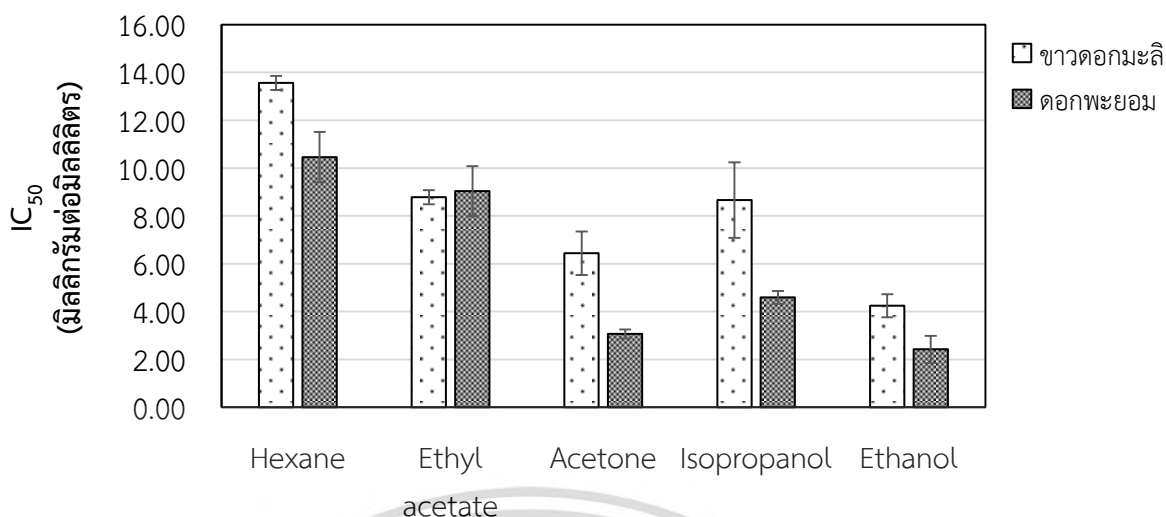


รูปที่ 4.8 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:6 โดยมวล อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน



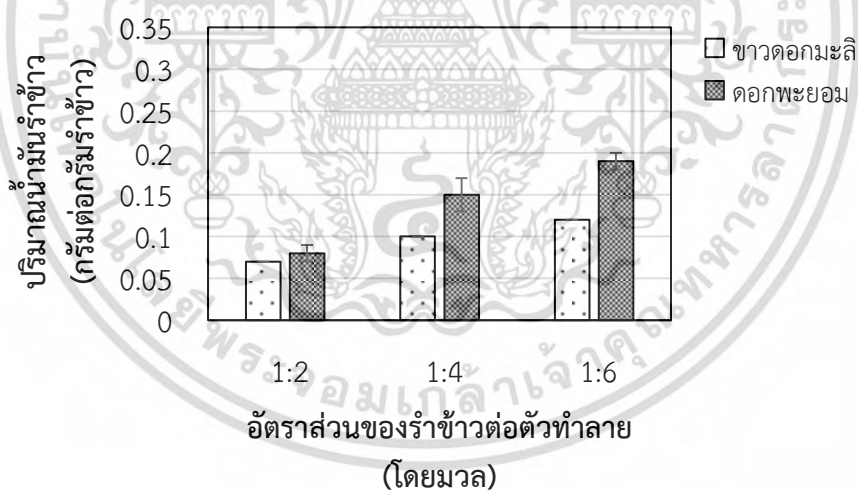
รูปที่ 4.9 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:6 โดยมวล อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

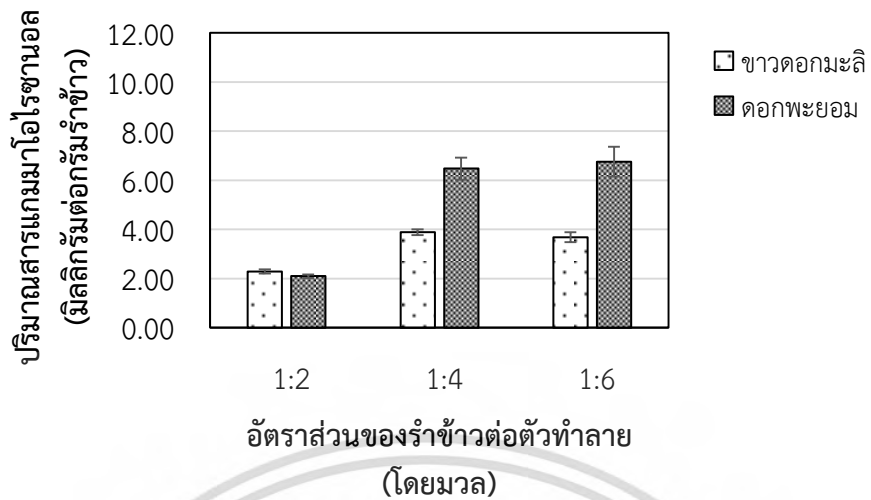


ตัวทำละลาย

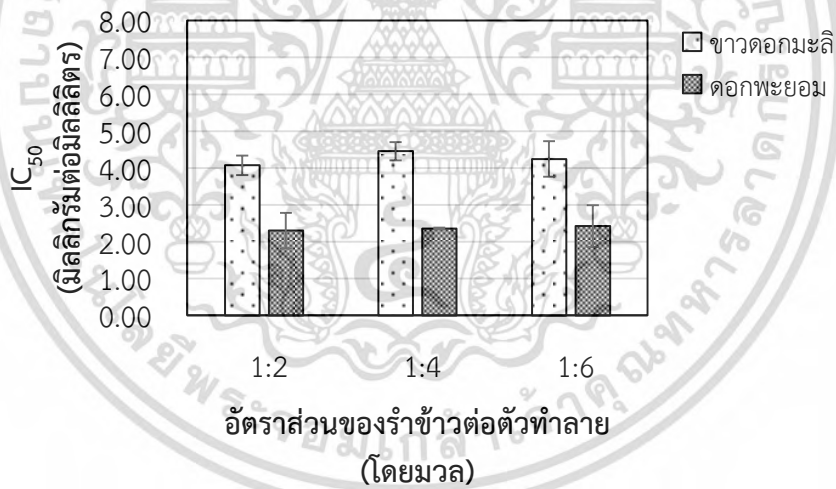
รูปที่ 4.10 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:6 โดยมวล อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน



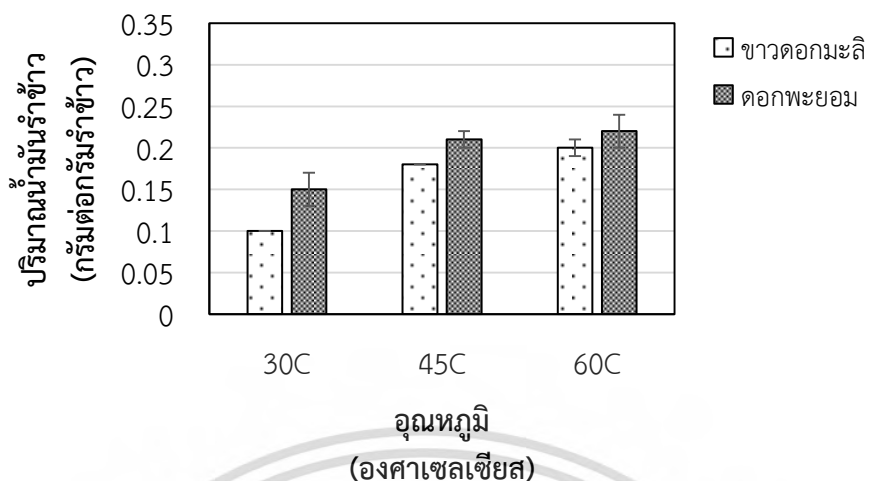
รูปที่ 4.11 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคแบบอ่าง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:2 1:4 และ 1:6 โดยมวล



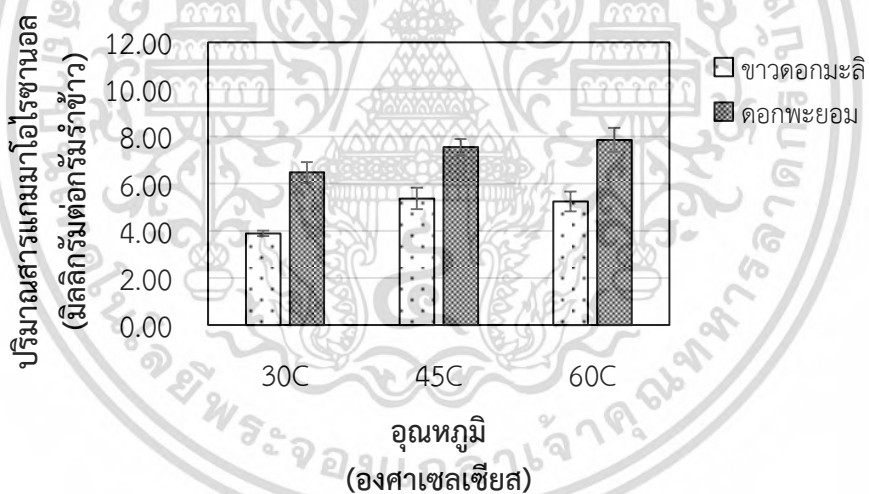
รูปที่ 4.12 ปริมาณแกมมาไอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง ที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:2 1:4 และ 1:6 โดยมวล



รูปที่ 4.13 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที โดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:2 1:4 และ 1:6 โดยมวล

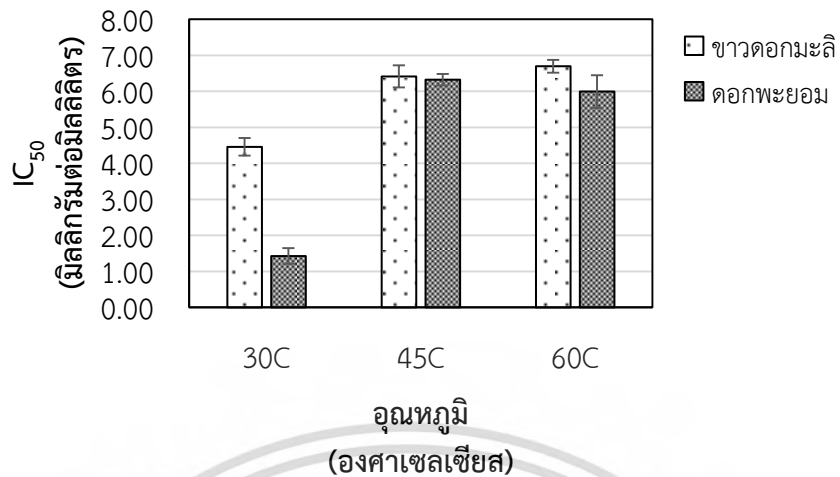


รูปที่ 4.14 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง เป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล โดยใช้อุณหภูมิจากไมโครเวฟในการสกัดเป็น 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส

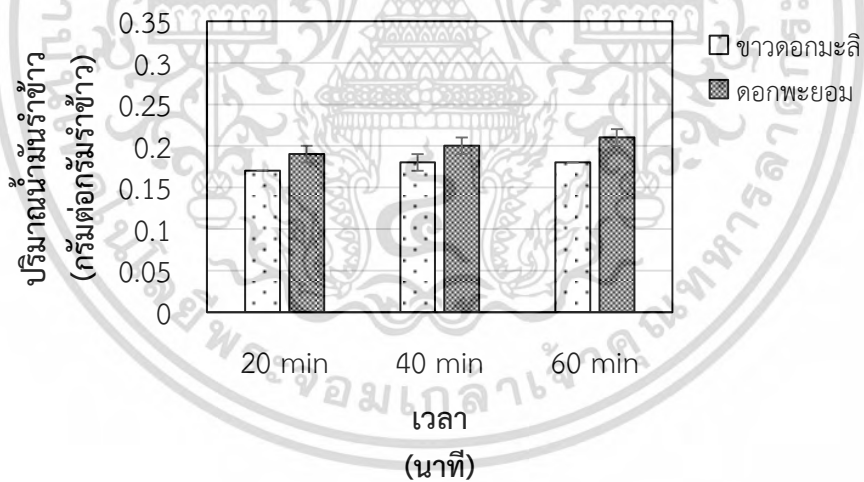


รูปที่ 4.15 ปริมาณแกมมาโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง เป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล โดยใช้อุณหภูมิจากไมโครเวฟในการสกัดเป็น 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

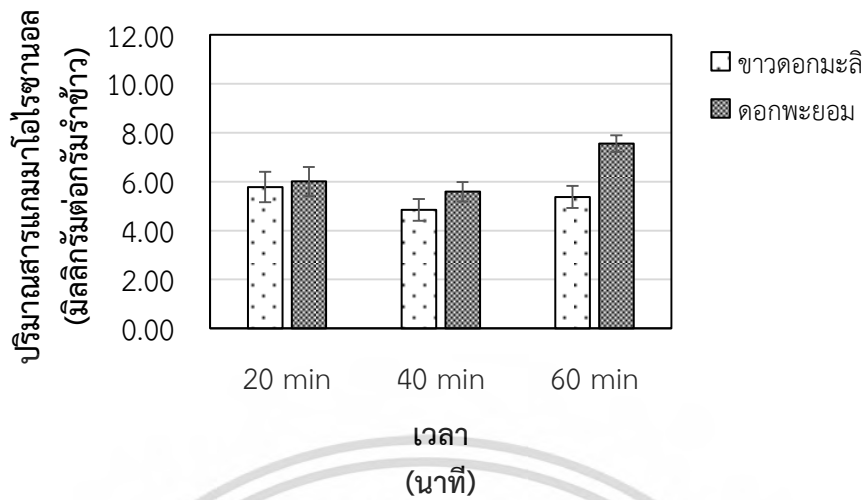


รูปที่ 4.16 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคแบบอ่าง เป็นเวลา 60 นาที ที่อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล โดยใช้อุณหภูมิในการสกัดเป็น 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส

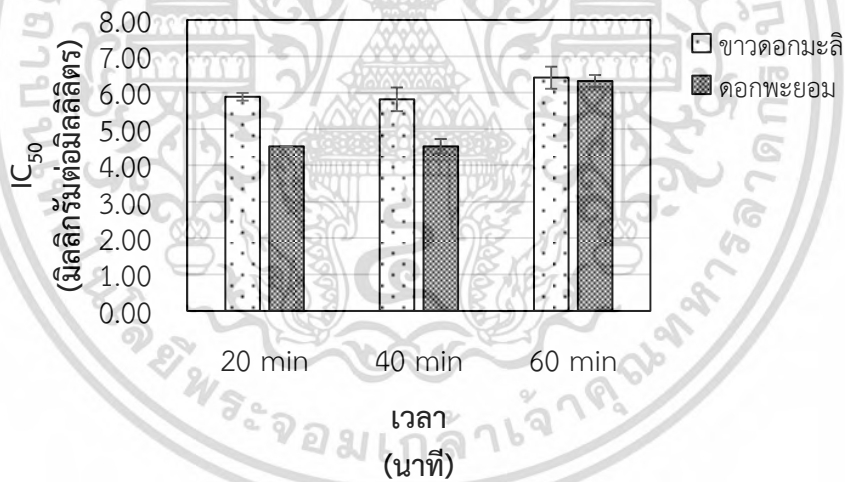


รูปที่ 4.17 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิคแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

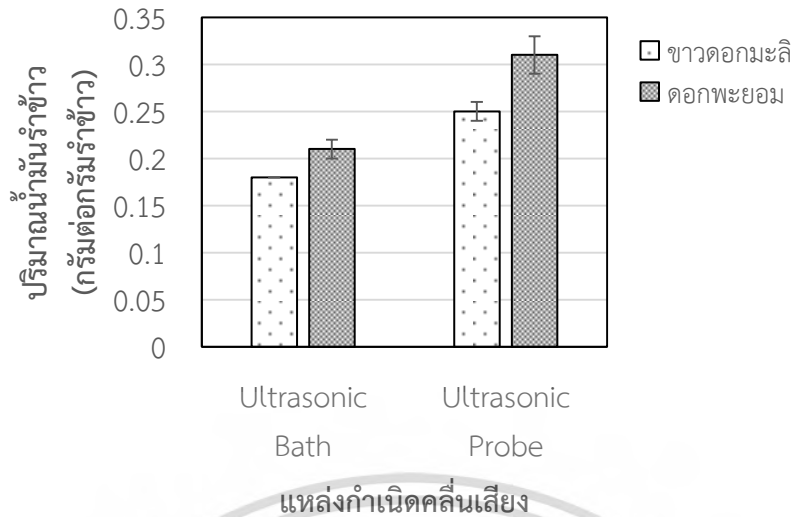


รูปที่ 4.18 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที

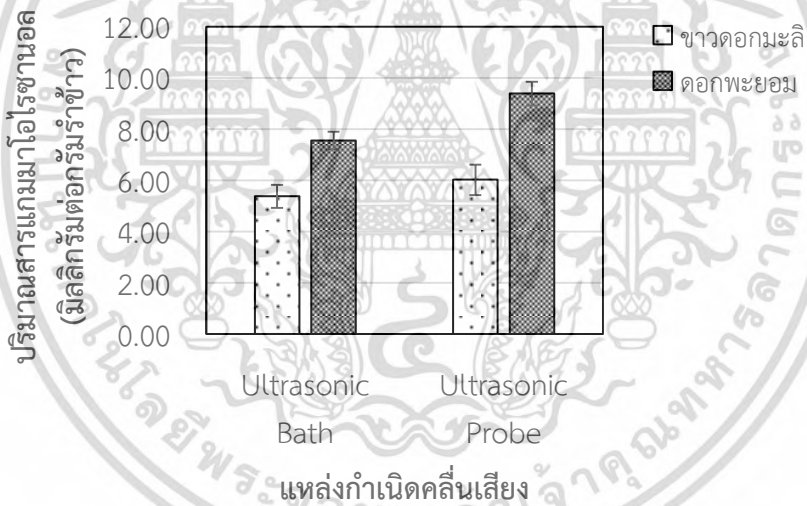


รูปที่ 4.19 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่าง อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอลเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที

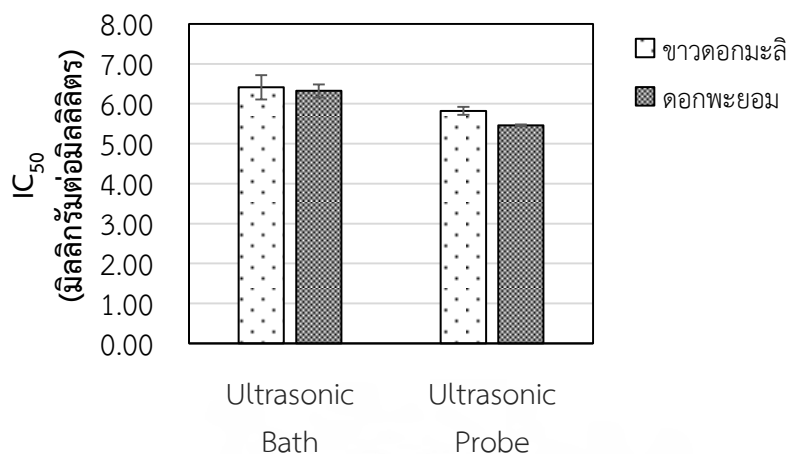
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.20 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่างและแบบโพรบ



รูปที่ 4.21 ปริมาณสารแกมมาโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่างและแบบโพรบ



แหล่งกำเนิดคลื่นเสียง

รูปที่ 4.22 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ในอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:4 โดยมวล ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ด้วยเครื่องอัลตราโซนิกแบบอ่างและแบบโพรบ

4.4 การสกัดสารจากรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต (Supercritical carbon dioxide extraction)

การสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต **แสดงดังรูปที่ 4.23** พบว่าการสกัดรำข้าวเป็นเวลา 20 นาที รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวใกล้เคียงกัน ทั้งการสกัดที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ส่วนรำข้าวไร้ดอกพะยอม ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ส่วนการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ และการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการสกัดรำข้าวเป็นเวลา 40 นาที ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวใกล้เคียงกัน เมื่ออุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้น ทั้งการสกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดรำข้าวที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งการสกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 (0.17-0.18 กรัมต่อกรัมรำข้าว) และรำข้าวไร้ดอกพะยอม (0.20-0.22 กรัมต่อกรัมรำข้าว) ส่วนการสกัดรำข้าวเป็นเวลา 60 นาที มีแนวโน้มเช่นเดียวกับการสกัดเป็นเวลา 20 นาที คือ การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ(0.18 กรัมต่อกรัมรำข้าว) ส่วนการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ (0.21-0.22 กรัมต่อกรัมรำข้าว) และการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อสกัดรำข้าวเป็นเวลา 80 นาที รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวใกล้เคียงกัน ทั้งการสกัดที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ส่วนรำข้าวไร้ดอกพะยอม ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวเพิ่มขึ้น เมื่ออุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้น เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดรำข้าวที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งการสกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 (0.18 กรัมต่อกรัมรำข้าว) และรำข้าวไร้ดอกพะยอม และการสกัดรำข้าวเป็นไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เวลา 100 นาที มีแนวโน้มเช่นเดียวกับการสกัดเป็นเวลา 20 นาที คือ การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ(0.17-0.18 กรัมต่อกรัมรำข้าว) ส่วนการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ และการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญ การสกัดน้ำมันจากรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤตยิ่งยวด พบว่า การเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดไม่มีผลต่อปริมาณน้ำมันรำข้าว เนื่องจากคาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤตยิ่งยวดอาจมีสภาพความเป็นขั้วไม่เหมาะต่อการสกัดน้ำมัน ทำให้ได้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกัน แม้ใช้อุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Chen และคณะ (2008) สกัดรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤตยิ่งยวด ที่อัตราการไหลเท่ากับ 5 ลิตรต่อนาที ที่ความดัน 250 300 และ 350 บาร์ พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะได้ปริมาณน้ำมันใกล้เคียงกัน ทั้งการสกัดที่ความดัน 250 บาร์(0.82-0.86 กรัม) 300 บาร์(1.43-1.52 กรัม) และ 350 บาร์(1.73-1.75 กรัม)

การสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต แสดง **ดังรูปที่ 4.24** พบว่า เมื่อสกัดเป็นเวลา 40 นาที น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 มีปริมาณแกมมาโอโรซานอลใกล้เคียงกันทั้งการสกัดที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ส่วนการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมให้น้ำมันรำข้าวที่มีแกมมาโอโรซานอลเพิ่มขึ้น เมื่อใช้อุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดน้ำมันจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันทางสถิติ(4.47-4.97 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว) ส่วนการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้น้ำมันรำข้าวที่มีแกมมาโอโรซานอลมากกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียสอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการสกัดที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียสให้น้ำมันรำข้าวที่มีแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ เมื่อสกัดเป็นเวลา 60 นาที มีแนวโน้มเช่นเดียวกับการสกัดเป็นเวลา 40 นาที ส่วนการสกัดเป็นเวลา 80 นาที น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้แกมมาโอโรซานอลมากกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส และการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลเพิ่มขึ้นเล็กน้อยเมื่ออุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้น การสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลใกล้เคียงกัน การสกัดแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤตยิ่งยวด พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดจะช่วยให้สามารถสกัดแกมมาโอโรซานอลออกมาได้มากขึ้น เนื่องจากการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดทำให้ความหนาแน่นของคาร์บอนไดออกไซด์ลดลง ส่งผลให้คาร์บอนไดออกไซด์สามารถแพร่เข้าไปในรำข้าวที่ดียิ่งขึ้น และสกัดแกมมาโอโรซานอลออกมาได้มากขึ้น เช่นเดียวในหลายงานวิจัยได้กล่าวไว้ คือ Photchanathip และคณะ (2008) สกัดรำข้าวที่ได้จากจังหวัดฉะเชิงเทราประเทศไทย ซึ่งสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤตยิ่งยวด ที่ความดัน 48 เมกาพาสกาล และอัตราการไหลเท่ากับ 0.45 มิลลิลิตรต่ออนาที พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดจาก 45 ไปถึง 65 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวเพิ่มขึ้น ส่วน Xu และ Godber (2000) สกัดรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤตยิ่งยวด ที่ความดัน 68,901 กิโลพาสกาล และอัตราการไหลเท่ากับ 250 มิลลิลิตรต่ออนาที เป็นเวลา 20 นาทีพบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดจาก 30 ไปถึง 60 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวเพิ่มขึ้น และ Karin และคณะ (2014) สกัดรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤตยิ่งยวด ที่ความดัน 40 เมกาพาสกาล พบว่า น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวที่อุณหภูมิ 60 และ 80 องศาเซลเซียสมีปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส ซึ่งน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวที่อุณหภูมิ 60 และ 80 องศาเซลเซียสมีปริมาณแกมมาโอโรซานอลใกล้เคียงกัน ส่วนงานวิจัยของ Chen และคณะ (2008) สกัดรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะวิกฤตยิ่งยวด ที่อัตราการไหลเท่ากับ 5 ลิตรต่อนาที ที่ความดัน 250 300 และ 350 บาร์ พบว่า เมื่อเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะได้ปริมาณน้ำมันใกล้เคียงกัน ทั้งการสกัดที่ความดัน 250 บาร์(0.82-0.86 กรัม) 300 บาร์(1.43-1.52 กรัม) และ 350 บาร์(1.73-1.75 กรัม)

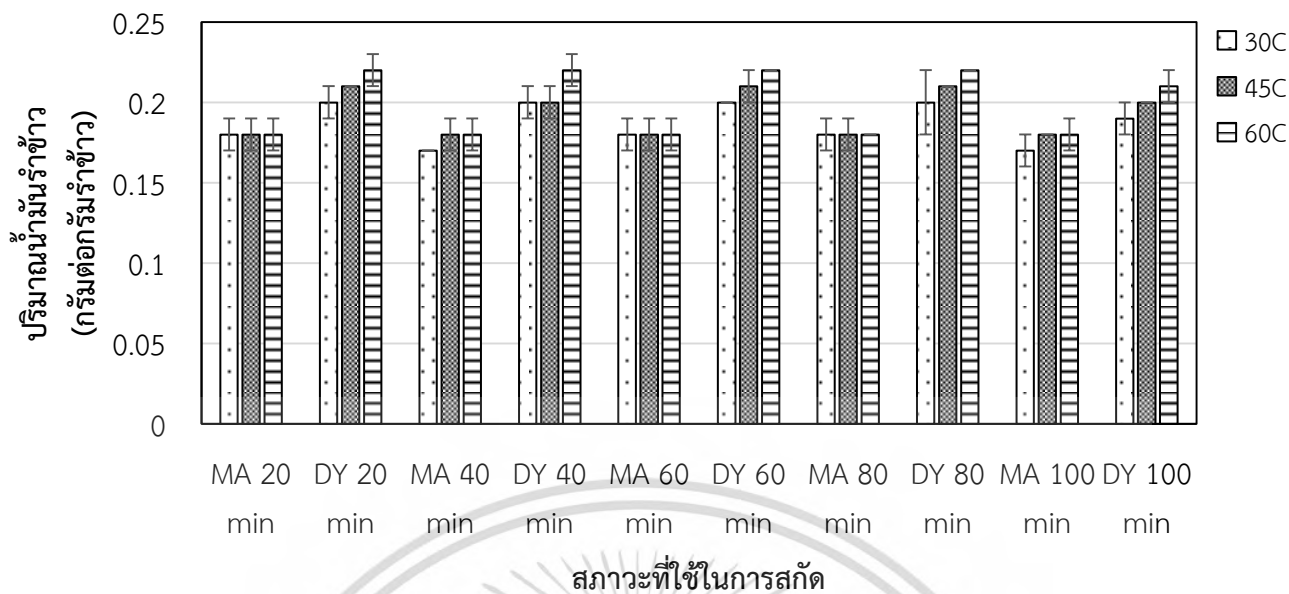
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต **แสดงดังรูปที่ 4.25** พบว่า การสกัดน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีขึ้น เมื่อเพิ่มอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันทางสถิติ(9.47-9.71 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรของตัวทำละลาย) และการสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอม ที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันทางสถิติ(6.46-7.06 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรของตัวทำละลาย) และการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอม ที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ เมื่อสกัดรำข้าวเป็นเวลา 60 นาที มีแนวโน้มเช่นเดียวกับการสกัดเป็นเวลา 40 นาที คือ การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันทางสถิติ

สรุปสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารจากรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต การสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต พบว่า การสกัดน้ำมันจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 จะให้ปริมาณน้ำมันไม่แตกต่างกันทั้งสกัดที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ส่วนการสกัดน้ำมันจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมที่อุณหภูมิ 45 และ 60 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวใกล้เคียงกัน และมากกว่าการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส อย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการเพิ่มเวลาที่ใช้ในการสกัด จะไม่มีผลต่อปริมาณน้ำมัน ดังนั้น สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต คือ การสกัดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

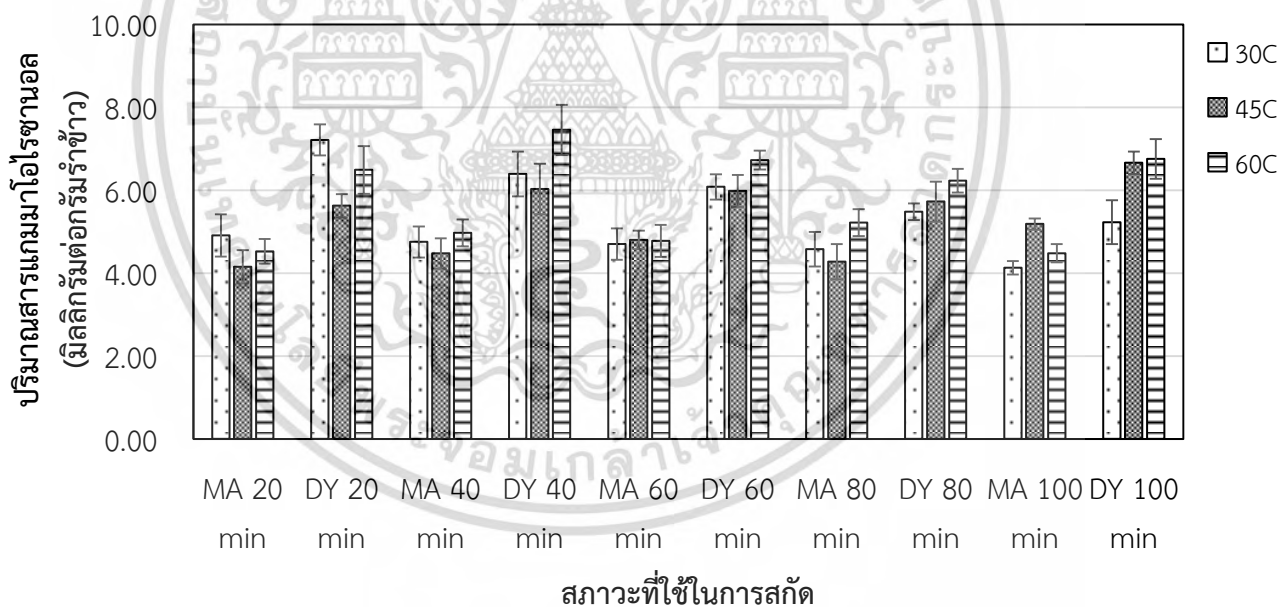
การสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต พบว่า ปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 จะใกล้เคียงกันทั้งการสกัดที่อุณหภูมิ 30 45 และ 60 องศาเซลเซียส ส่วนปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอมจะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้น การสกัดแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่า การสกัดเป็นเวลา 40 นาที จะให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงที่สุด ดังนั้น สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต คือ การสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต พบว่า เมื่ออุณหภูมิในการสกัดเพิ่มขึ้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวจะเพิ่มขึ้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พบว่า ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวจะเพิ่มขึ้น เมื่อใช้เวลาในการสกัดมากขึ้น ซึ่งสกัดเป็นเวลา 100 นาที จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ดังนั้น สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤตให้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด คือ การสกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 100 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

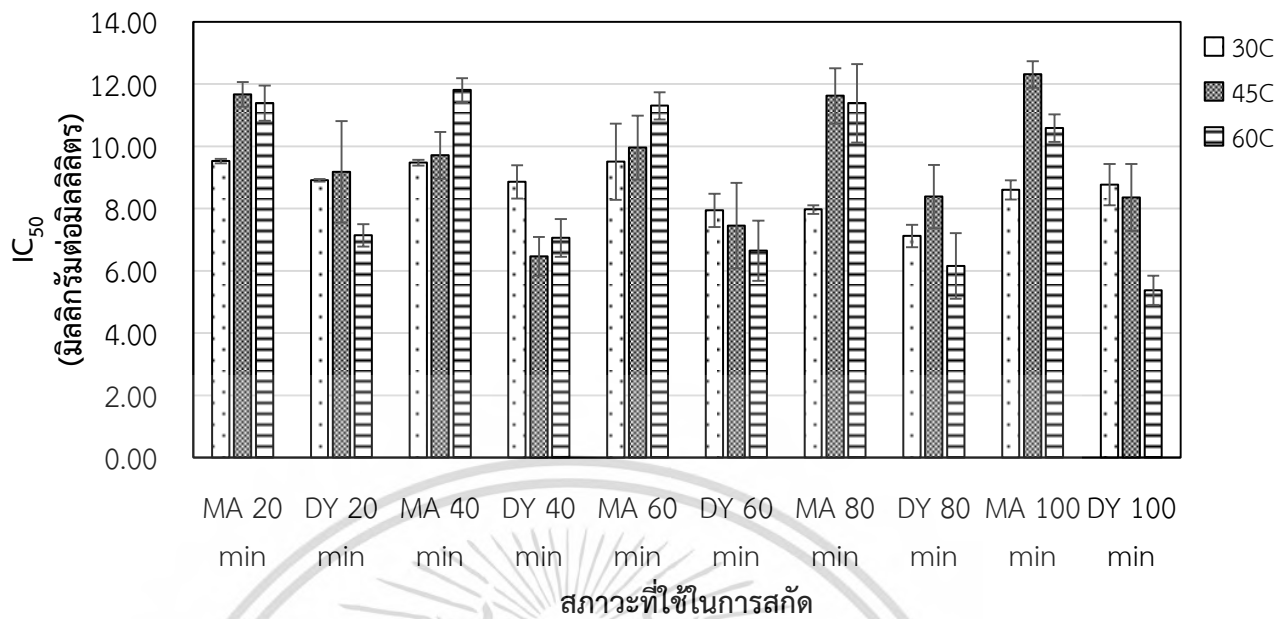


รูปที่ 4.23 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤต



รูปที่ 4.24 ปริมาณสารแกมมาโอไรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สถานะเหนือจุดวิกฤต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์ที่สภาวะเหนือจุดวิกฤต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 การสกัดสารจากรำข้าวโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต (Subcritical solvent extraction)

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต โดยแสดงผลในรูปที่ 4.26 4.27 และ 4.28 และได้แสดงตารางสรุปสภาวะที่ดีที่สุดแสดงดังตารางที่ 4.3 4.4 และ 4.5

การสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที การสกัดน้ำมันจากรำข้าวไร้ดอกพะยอม พบว่า การสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถให้ปริมาณมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและน้ำอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งการสกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 (0.23 กรัมต่อกรัมรำข้าว) และรำข้าวไร้ดอกพะยอม(0.33 กรัมต่อกรัมรำข้าว) การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่น้อยที่สุด เมื่อเพิ่มเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 40 นาที จะมีแนวโน้มเช่นเดียวกับการสกัดเป็นเวลา 20 นาที เมื่อเพิ่มการสกัดในเวลา 60 นาที รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดน้ำมันรำข้าวได้ใกล้เคียงกับการสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย และมากกว่าการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย และรำข้าวไร้ดอกพะยอมที่ใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าการใช้เอทานอลและน้ำ ซึ่งการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่น้อยที่สุด เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ(ตารางที่ 4.16) พบว่า รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ใช้เอทานอลและเมทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดน้ำมันรำข้าวได้ไม่แตกต่างกันทางสถิติและมากกว่าการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายอย่างมีนัยสำคัญ และการสกัดน้ำมันจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถให้ปริมาณมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและน้ำอย่างมีนัยสำคัญ การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่น้อยที่สุด การสกัดน้ำมันจากรำข้าวที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส พบว่า การสกัดรำข้าวโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดน้ำมันจากรำข้าวได้มากกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและน้ำ และการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดน้ำมันจากรำข้าวได้น้อยที่สุด ทั้งการสกัดเป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที ซึ่งการสกัดโดยใช้เมทานอลสามารถให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวสูงที่สุด เนื่องจากการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่สูงกว่าจุดเดือดของเมทานอล (65 องศาเซลเซียส) ทำให้เมทานอลเข้าสู่สภาวะกึ่งวิกฤต และเมื่อเมทานอลเข้าสู่สภาวะกึ่งวิกฤตทำให้เมทานอลมีความเป็นขั้วต่ำลงจนสามารถสกัดสารพวกน้ำมันได้ นอกจากนี้ยังทำให้ความดันภายในระบบเพิ่มขึ้นอันเนื่องมาจากแรงดันไอของเมทานอลและความดันเริ่มต้นในการสกัด (1 เมกาพาสกาล) จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดให้ดียิ่งขึ้น ส่วนการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีความสามารถในการสกัดน้ำมันต่ำกว่าเมทานอล เนื่องจากเอทานอลมีจุดเดือดใกล้เคียงกับอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด(79 องศาเซลเซียส) ซึ่งที่สภาวะนี้ทำให้เอทานอลเข้าสู่สภาวะกึ่งวิกฤตช่วงต้น จึงทำให้คุณสมบัติของเอทานอลเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อย อันเนื่องมาจากความร้อนและความดันเริ่มต้นในการสกัด(1 เมกาพาสกาล) ส่วนการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวต่ำที่สุด เนื่องจากการสกัดที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่ต่ำกว่าจุดเดือดของน้ำ (100 องศาเซลเซียส) ซึ่งที่สภาวะนี้มีการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติเพียงเล็กน้อย อันเนื่องมาจากความร้อนและความดันเริ่มต้นในการสกัด การสกัดน้ำมันจากรำข้าวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส พบว่า การสกัดรำข้าวโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดน้ำมันจากรำข้าวได้ใกล้เคียงกับการสกัดโดยใช้เมทานอล และการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดน้ำมันจากรำข้าวได้น้อยที่สุด ทั้งการสกัดเป็นเวลา 20 40 และ 60 นาที ซึ่งการสกัดโดยใช้เอทานอลสามารถให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวใกล้เคียงกับเมทานอล เนื่องจากการสกัดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ทำให้เอทานอลเข้าสู่สภาวะกึ่งวิกฤต และเมื่อเอทานอลเข้าสู่สภาวะกึ่งวิกฤตทำให้เอทานอลมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเป็นขี้ต่ำลง นอกจากนี้ยังทำให้ความดันภายในระบบเพิ่มขึ้นอันเนื่องมาจากแรงดันไอของเอทานอล และความดันเริ่มต้นในการสกัด จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดให้ดียิ่งขึ้น ส่วนการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวต่ำที่สุด เนื่องจากการสกัดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เป็นจุดเดือดของน้ำ ซึ่งที่สภาวะนี้ทำให้น้ำเข้าสู่สภาวะกึ่งวิกฤตช่วงต้น จึงทำให้คุณสมบัติของน้ำเปลี่ยนแปลงไปเพียงเล็กน้อย อันเนื่องมาจากความร้อนและความดันเริ่มต้นในการสกัด(1 เมกาพาสกาล)

การศึกษาปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลที่สกัดได้จากรำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต โดยตัวทำละลายที่นำมาศึกษา ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และน้ำ นอกจากนี้ยังศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด คือ 80 100 และ 120 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด คือ 20 40 และ 60 นาที จะแสดงดังรูปที่ 4.17

การสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าว **แสดงดังรูปที่ 4.27** ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที พบว่า การใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวได้มากกว่าการใช้เอทานอล ทั้งการสกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะไม่พบสารแกมมาโอโรซานอล เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายสามารถสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวได้มากกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งการสกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอมเมื่อเพิ่มเวลาที่ใช้ในการสกัดเป็น 40 นาที น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้เอทานอลและเมทานอลให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลใกล้เคียงกัน และน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะไม่พบสารแกมมาโอโรซานอล เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้เอทานอลและเมทานอลให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ(5.37-5.87 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว) และน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนการสกัดเป็นเวลา 60 นาที มีแนวโน้มเช่นเดียวกับการสกัดเป็นเวลา 40 นาที

การสกัดแกมมาโอโรซานอลที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส พบว่า การสกัดเป็นเวลา 20 นาที การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าการสกัดโดยใช้เมทานอล และการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้เอทานอลและเมทานอลให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลใกล้เคียงกัน การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะไม่พบสารแกมมาโอโรซานอล เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย(6.98 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว)ให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าการสกัดโดยใช้เมทานอลอย่างมีนัยสำคัญ และการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้เอทานอลและเมทานอลให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ (8.55-8.68 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว) เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดเป็น 40 นาที การสกัดรำข้าวโดยใช้เอทานอลและเมทานอลให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลใกล้เคียงกัน ทั้งการสกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะไม่พบสารแกมมาโอโรซานอล เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดรำข้าวโดยใช้เอทานอลและเมทานอลให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งการสกัดจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม ส่วนการสกัดเป็นเวลา 60 นาที พบว่า การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้เอทานอลและเมทานอลให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลใกล้เคียงกัน และการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอล การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะไม่พบสารแกมมาโอโรซานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า การสกัดรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้เอทานอลและเมทานอลให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ(7.40-7.71 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว) และการสกัดรำข้าวไร้ดอกพะยอมโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย(12.12 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว) ให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอล(9.96 มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว) อย่างมีนัยสำคัญ

การสกัดน้ำมันจากรำข้าวที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส พบว่า มีแนวโน้มของปริมาณแกมมาโอโรซานอลใกล้เคียงกับการสกัดที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส คือ ยิ่งเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้น เมทานอลซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีจุดเดือดต่ำกว่าเอทานอล จึงยิ่งทำให้การสกัดโดยใช้เมทานอลจะมีแรงดันไอสะสมมากกว่าเอทานอล การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายจะไม่พบสารแกมมาโอโรซานอล เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วสูงมาก ถึงแม้การสกัดที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 1 เมกาพาสคาล จะทำให้ความเป็นขั้วของน้ำต่ำลง แต่ยังคงมีความเป็นขั้วต่ำไม่เพียงพอต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอลได้

การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าว 2 สายพันธุ์ **แสดงดังรูปที่ 4.28** การสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที น้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและเมทานอล ทั้งน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอม และน้ำมันที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า น้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและเมทานอล อย่างมีนัยสำคัญ ทั้งน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอม และน้ำมันที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด ส่วนการสกัดเป็นเวลา 40 นาที มีแนวโน้มของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวเช่นเดียวกับการสกัดเป็นเวลา 20 นาที คือ น้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและเมทานอลอย่างมีนัยสำคัญ และน้ำมันที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด ซึ่งการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย เป็นเวลา 40 นาที น้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอม จะมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 เท่ากับ 0.55 และ 0.54 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย ตามลำดับ เมื่อเพิ่มเวลาในการสกัดเป็น 60 นาที น้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและเมทานอล ทั้งน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอม และน้ำมันที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด ส่วนน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอม สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและเมทานอล ซึ่งการสกัดโดยใช้เอทานอลและเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติ พบว่า น้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย(0.54 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและเมทานอลอย่างมีนัยสำคัญ และน้ำมันที่ได้จากการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด ส่วนน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอม สกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย(0.52 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรตัวทำละลาย) มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและ เมทานอลอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งการสกัดโดยใช้เอทานอลและเมทานอลมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันทางสถิติ

การสกัดน้ำมันจากรำข้าวที่อุณหภูมิ 80 100 และ 120 องศาเซลเซียส พบว่า น้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าการสกัดโดยใช้เอทานอลและเมทานอล เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอล ซึ่งการสกัดโดยใช้เอทานอลให้น้ำมันรำข้าวที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด เนื่องจากในรำข้าวมีสารที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากมายที่นอกเหนือไปจากแกมมาโอโรซานอล และยังแบ่งออกเป็นสารที่มีความเป็นขี้ดต่ำและขี้ดสูง ซึ่งการใช้น้ำในการสกัดสามารถสกัดสารที่มีความเป็นขี้ดสูงออกมาได้มาก และเป็นสารที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี จึงทำให้น้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี ส่วนการสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายให้น้ำมันรำข้าวที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าการสกัดโดยใช้เมทานอล เนื่องจากเอทานอลมีจุดเดือดสูงกว่าเมทานอล จึงทำให้มีการสะสมแรงดันไอน้ำในมีความแตกต่างกัน ซึ่งเมทานอลจะมีแรงดันไอน้ำสูงกว่าเอทานอล เมทานอลจึงมีประสิทธิภาพในการสกัดสูงกว่าเอทานอล

สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารจากรำข้าวโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต การศึกษาการสกัดน้ำมันจากรำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต โดยตัวทำละลายที่นำมาศึกษา ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และน้ำ นอกจากนี้ยังศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด คือ 80 100 และ 120 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด คือ 20 40 และ 60 นาที **แสดงดังตารางที่ 4.3** พบว่า เมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันรำข้าว ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม เท่ากับ 0.36 และ 0.39 กรัมต่อกรัมรำข้าว ตามลำดับ ส่วนการใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันรำข้าว ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกัน ทั้งการสกัดเป็นเวลา 40 และ 60 นาที และเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันรำข้าว ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที จะให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และน้ำมันรำข้าวไร้ดอกพะยอม เท่ากับ 0.17 และ 0.20 กรัมต่อกรัมรำข้าว ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติระหว่างปริมาณน้ำมันที่สกัดโดยใช้เอทานอล เมทานอล และน้ำ เป็นตัวทำละลาย พบว่า การสกัดโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที และการสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 และ 60 นาที ในการสกัดน้ำมันจากรำข้าวไร้ดอกพะยอม จะให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวสูงที่สุด คือ 0.39-0.41 กรัมต่อกรัมรำข้าว

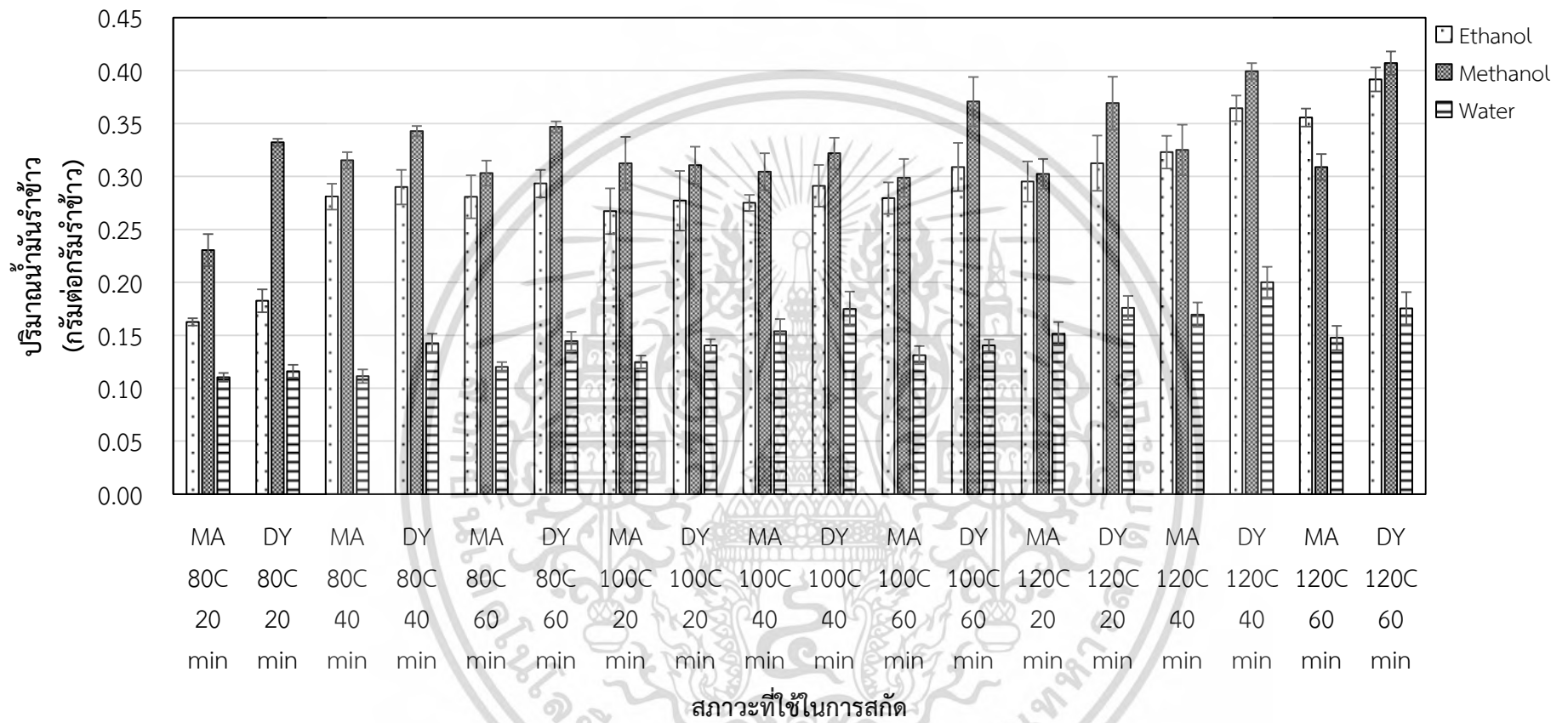
การศึกษาปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลที่สกัดได้จากรำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต โดยตัวทำละลายที่นำมาศึกษา ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และน้ำ นอกจากนี้ยังศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด คือ 80 100 และ 120 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด คือ 20 40 และ 60 นาที **แสดงดังตารางที่ 4.4** พบว่า เมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันรำข้าว ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งการสกัดที่เวลา 20 และ 40 นาที ส่วนการสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จะพบแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม เท่ากับ 7.40 และ 12.12 มิลลิกรัมแกมมาโอโรซานอลต่อกรัมรำข้าว ตามลำดับ ส่วนการสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย จะไม่พบแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าว เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติระหว่างปริมาณแกมมาโอโรซานอลที่สกัดโดยใช้เอทานอล เมทานอล และน้ำ เป็นตัวทำละลาย พบว่า การสกัดโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ในการสกัดแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวไร้ดอกพะยอม จะให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลสูงที่สุด คือ 12.12 มิลลิกรัมแกมมาโอโรซานอลต่อกรัมรำข้าว

การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม โดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต โดยตัวทำละลายที่เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

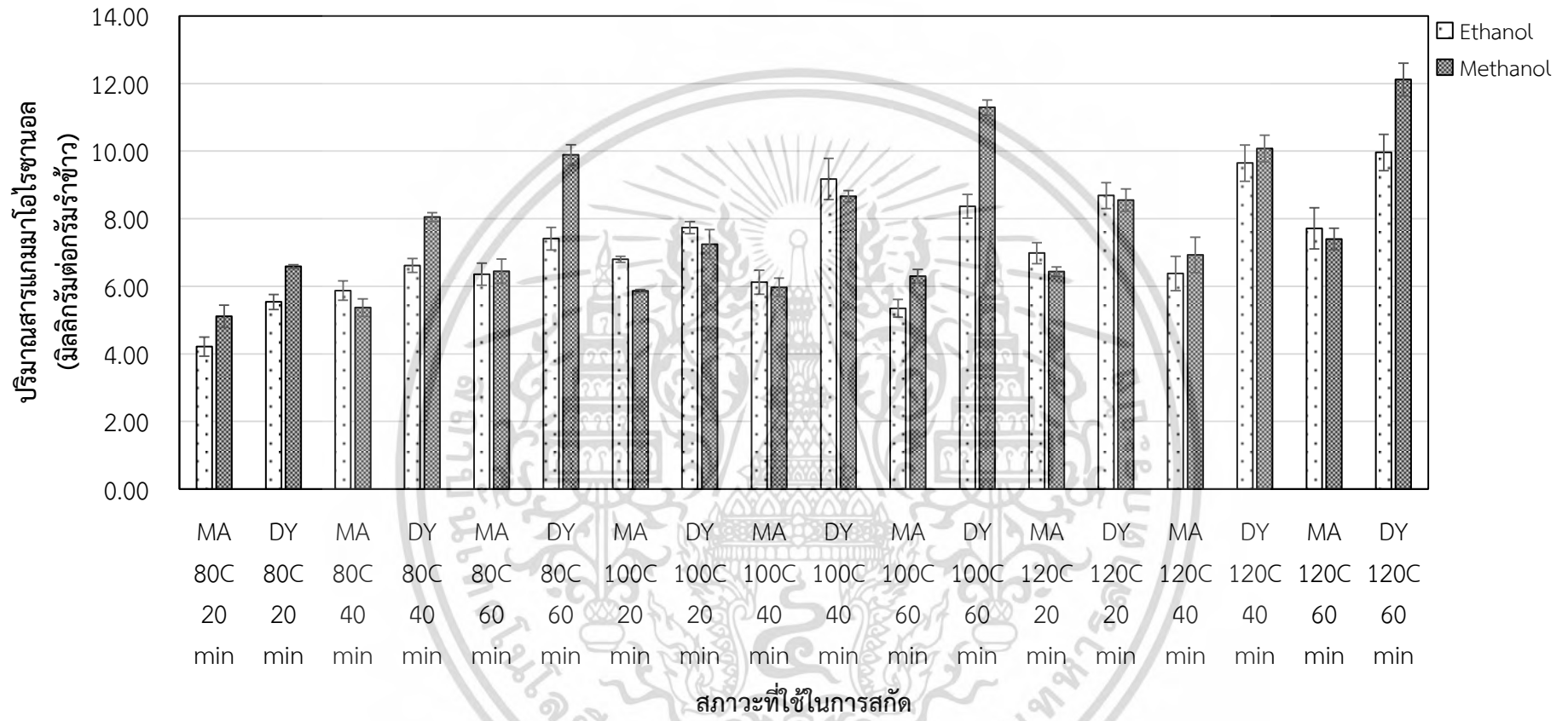
นำมาศึกษา ได้แก่ เอทานอล เมทานอล และน้ำ นอกจากนี้ยังศึกษาอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด คือ 80 100 และ 120 องศาเซลเซียส และเวลาที่ใช้ในการสกัด คือ 20 40 และ 60 นาที แสดงดังตารางที่ 4.5 พบว่า เมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันรำข้าว ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที น้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม จะมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 เท่ากับ 4.26 และ 1.72 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรของตัวทำละลายตามลำดับ ส่วนการใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันรำข้าว ที่อุณหภูมิ 100 และ 120 องศาเซลเซียส จะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งการสกัดเป็นเวลา 40 และ 60 นาที และเมื่อใช้น้ำเป็นตัวทำละลายในการสกัดน้ำมันรำข้าว ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณแกมมาโอโรซานอลไม่แตกต่างกันทางสถิติ ทั้งการสกัดที่เวลา 20 และ 40 นาที เมื่อเปรียบเทียบค่าทางสถิติระหว่างความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้เอทานอล เมทานอล และน้ำ เป็นตัวทำละลาย พบว่า การสกัดโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ในการสกัดน้ำมันจากรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และรำข้าวไร้ดอกพะยอม จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยมีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 เท่ากับ 0.52-0.55 มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิลิตรของตัวทำละลาย



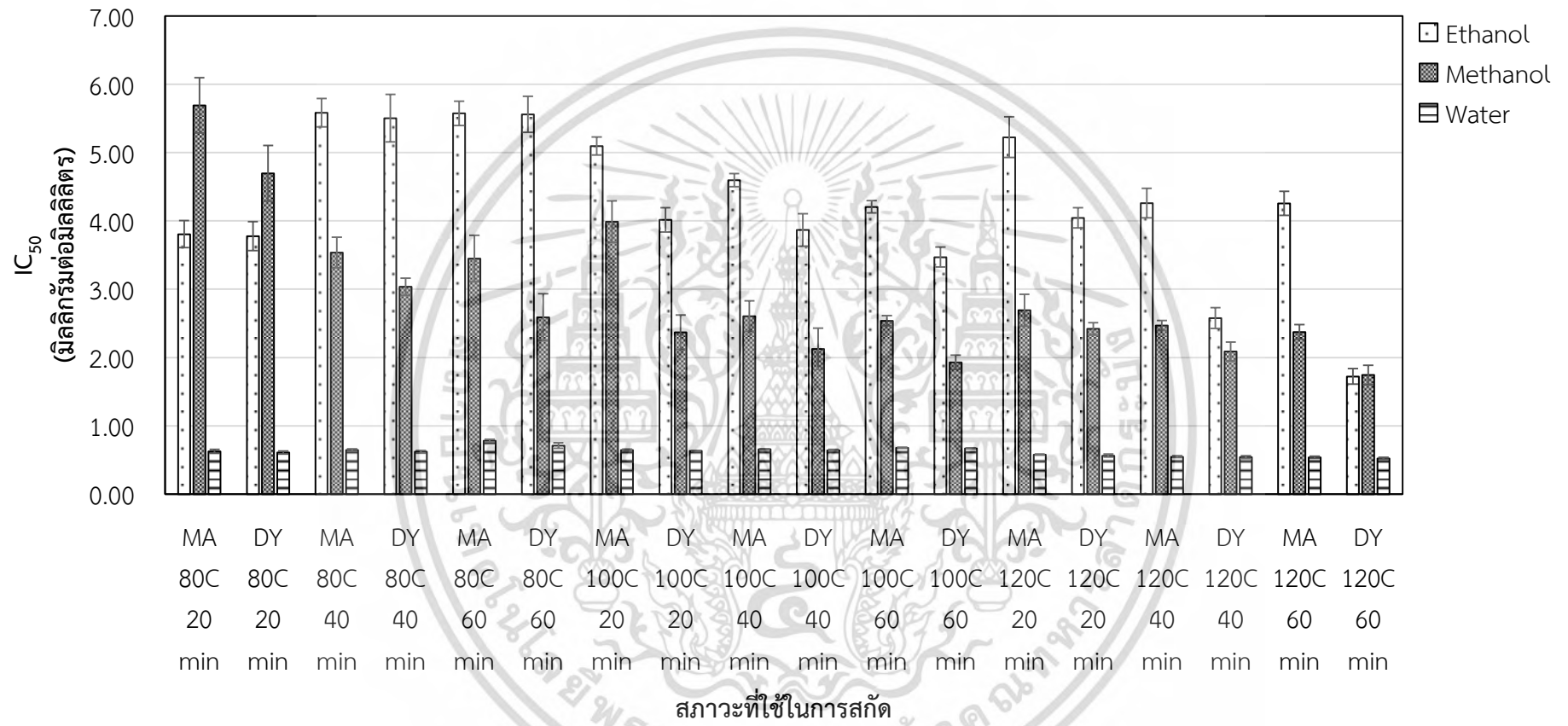
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.26 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต



รูปที่ 4.27 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต



รูปที่ 4.28 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤต

ตารางที่ 4.3 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤติ

ตัวทำละลาย	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	สายพันธุ์รำข้าว	ปริมาณน้ำมันรำข้าว (กรัมต่อกรัมรำข้าว)
เอทานอล	120	40	ข้าวดอกมะลิ 105	0.32 ± 0.02^c
			ดอกพะยอม	0.36 ± 0.01^b
		60	ข้าวดอกมะลิ 105	0.36 ± 0.01^b
			ดอกพะยอม	0.39 ± 0.01^a
เมทานอล	120	40	ข้าวดอกมะลิ 105	0.32 ± 0.02^c
			ดอกพะยอม	0.40 ± 0.01^a
		60	ข้าวดอกมะลิ 105	0.31 ± 0.01^c
			ดอกพะยอม	0.41 ± 0.01^a
น้ำ	120	40	ข้าวดอกมะลิ 105	0.17 ± 0.01^e
			ดอกพะยอม	0.20 ± 0.01^d

หมายเหตุ : a, b, c, d, e เป็นตัวอักษรที่แสดงความแตกต่างของปริมาณน้ำมันรำข้าวข้าวดอกมะลิ 105 และน้ำมันรำข้าวไร่ดอกพะยอม ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P < 0.05$) โดยเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test

ตารางที่ 4.4 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแกมมาโอโรซานอลจากรำข้าวโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งวิกฤติ

ตัวทำละลาย	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	สายพันธุ์รำข้าว	ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอล (มิลลิกรัมต่อกรัมรำข้าว)
เอทานอล	120	20	ข้าวดอกมะลิ 105	6.38 ± 0.51^d
			ดอกพะยอม	9.65 ± 0.54^b
		40	ข้าวดอกมะลิ 105	7.71 ± 0.61^c
			ดอกพะยอม	9.96 ± 0.54^b
เมทานอล	120	60	ข้าวดอกมะลิ 105	7.40 ± 0.32^c
			ดอกพะยอม	12.12 ± 0.48^a

หมายเหตุ : a, b, c เป็นตัวอักษรที่แสดงความแตกต่างของปริมาณแกมมาโอโรซานอลในน้ำมันรำข้าวข้าวดอกมะลิ 105 และน้ำมันรำข้าวไร่ดอกพะยอม ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P < 0.05$) โดยเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test

ตารางที่ 4.5 สภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวโดยใช้ตัวทำละลายที่สภาวะกึ่งจุดวิกฤต

ตัวทำละลาย	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เวลา (นาที)	สายพันธุ์รำข้าว	ความเข้มข้นของสารสกัด ที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (มิลลิกรัมน้ำมันรำข้าวต่อมิลลิกรัมของตัวทำละลาย)
เอทานอล	120	60	ข้าวดอกมะลิ 105	4.26 ± 0.18^e
			ดอกพะยอม	1.72 ± 0.11^b
เมทานอล	100	40	ข้าวดอกมะลิ 105	2.60 ± 0.22^d
			ดอกพะยอม	2.13 ± 0.31^c
		60	ข้าวดอกมะลิ 105	2.54 ± 0.07^d
			ดอกพะยอม	1.93 ± 0.11^{bc}
	120	40	ข้าวดอกมะลิ 105	2.47 ± 0.07^d
			ดอกพะยอม	2.09 ± 0.14^c
		60	ข้าวดอกมะลิ 105	2.37 ± 0.11^d
			ดอกพะยอม	1.74 ± 0.14^b
น้ำ	120	40	ข้าวดอกมะลิ 105	0.55 ± 0.01^a
			ดอกพะยอม	0.54 ± 0.02^a
		60	ข้าวดอกมะลิ 105	0.54 ± 0.02^a
			ดอกพะยอม	0.52 ± 0.01^a

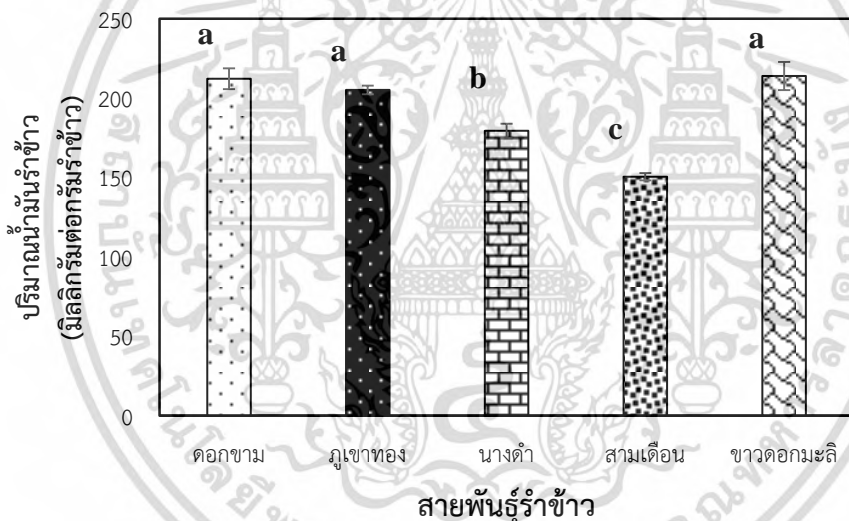
หมายเหตุ : a, b, c, d, e เป็นตัวอักษรที่แสดงความแตกต่างของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวข้าวดอกมะลิ 105 และน้ำมันรำข้าวไร่ดอกพะยอม ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($P \leq 0.05$) โดยเปรียบเทียบค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 เปรียบเทียบน้ำมันรำข้าวไร้สายพันธุ์ต่างๆ

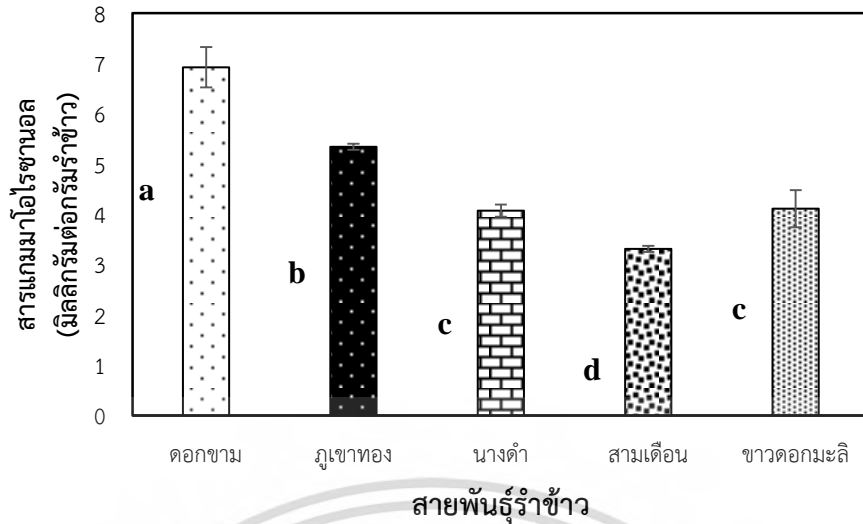
ในการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของน้ำมันรำข้าวไร้สายพันธุ์ต่างๆ ได้ดำเนินการสกัดด้วยวิธีเดียวกันคือ วิธีคลื่นความถี่สูงแบบโพรบ (Ultrasonic probe) โดยใช้สภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของรำ ข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที ใช้รำข้าวไร้ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ดอกขาม พันธุ์ภูเขาทอง พันธุ์นางดำ และพันธุ์สามเดือน โดยมีรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นตัวควบคุม จากนั้นจึงวิเคราะห์ปริมาณน้ำมันรำข้าว ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอล ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้ และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP

จากการศึกษาการสกัดน้ำมันรำข้าวไร้ทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ดอกขาม ภูเขาทอง นางดำ และสามเดือน โดยมีรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 เป็นตัวควบคุม ด้วยสภาวะที่เหมาะสมพบว่า การสกัดน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากที่สุด รองลงมาเป็นการสกัดน้ำมันรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขาม ภูเขาทอง นางดำ และสามเดือน ตามลำดับ **ดังรูปที่ 4.29** พบว่าการสกัดน้ำมันรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขาม ภูเขาทอง และขาวดอกมะลิ 105 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่มากกว่าการสกัดด้วยรำข้าวไร้พันธุ์นางดำและพันธุ์สามเดือนอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



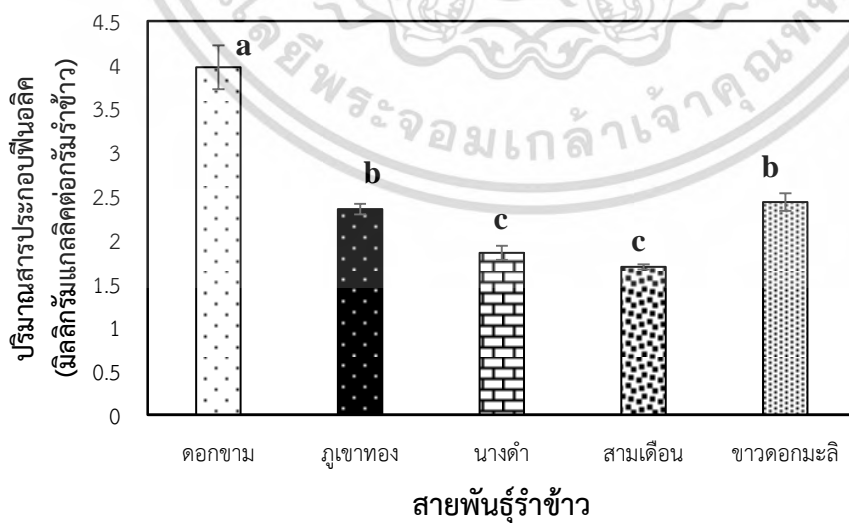
รูป 4.29 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร้และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลื่นความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลที่ได้ แสดง**ดังรูปที่ 4.30** พบว่าการสกัดด้วยรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขาม ให้ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลมากที่สุด เนื่องจากน้ำมันรำข้าวพันธุ์ดอกขามที่สกัดได้มีสารสกัดหยาบสีแดงละลายปนอยู่ในน้ำมันซึ่งเป็นไปได้ว่าสารสกัดหยาบนี้ประกอบด้วยสารแกมมาโอโรซานอลซึ่งพบมากในน้ำมันรำข้าวที่มีสี รองลงมาเป็นการสกัดรำข้าวพันธุ์ภูเขาทอง ขาวดอกมะลิ 105 นางดำ และสามเดือนตามลำดับ



รูปที่ 4.30 ปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร้และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลื่นความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

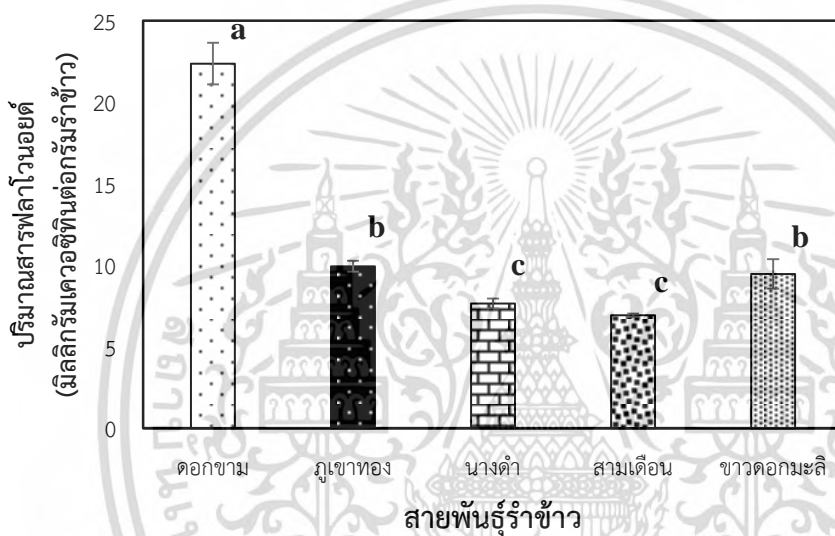
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ได้ผลดังรูปที่ 4.31 พบว่าการสกัดด้วยรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขามให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด เนื่องจากลักษณะของน้ำมันรำข้าวพันธุ์ดอกขามที่สกัดได้มีสีแดงเข้ม และมีสารสกัดหยาบสีแดงละลายบนอยู่ในน้ำมันซึ่งเป็นไปได้ว่าสารสีที่พบดังกล่าวเป็นสารประกอบฟีนอลิก และพบในน้ำมันรำข้าวที่มีสีมากกว่ารำข้าวที่ไม่มีสี รองลงมาเป็นการสกัดด้วยรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ภูเขาทอง นางดำ และสามเดือน ตามลำดับ การสกัดรำข้าวพันธุ์ภูเขาทองและขาวดอกมะลิ 105 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่น้อยกว่าการสกัดด้วยรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขามอย่างมีนัยสำคัญ และการสกัดรำข้าวพันธุ์นางดำและพันธุ์สามเดือนให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.31 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร้และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลื่นความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของเอทานอลนี้เป็นเอทานอลที่สวงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

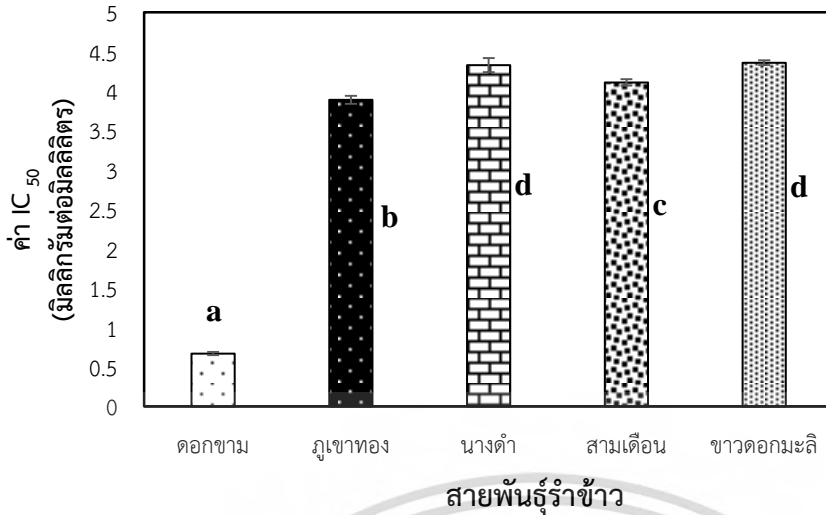
รำข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ได้ผลดังรูปที่ 4.32 พบว่าการสกัดรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขามให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์มากที่สุด เนื่องจากลักษณะของน้ำมันรำข้าวพันธุ์ดอกขามที่สกัดได้มีสีแดงเข้มและมีสารสกัดหยาบสีแดงละลายปนอยู่ในน้ำมันซึ่งเป็นไปได้ว่าสารสีที่พบดังกล่าวเป็น สารฟลาโวนอยด์และพบในน้ำมันรำข้าวที่มีสีมากกว่ารำข้าวที่ไม่มีสี รองลงมาเป็นการสกัดรำข้าวพันธุ์ภูเขาทอง ขาวดอกมะลิ 105 นางดำ และสามเดือน ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.28 เมื่อพิจารณาค่าทางสถิติ (ตารางที่ 4.29) พบว่าการสกัดด้วยรำข้าวพันธุ์ภูเขาทองและขาวดอกมะลิ 105 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่น้อยกว่าการสกัดด้วยรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขามอย่างมีนัยสำคัญ และการสกัดรำข้าวพันธุ์นางดำและสามเดือนให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



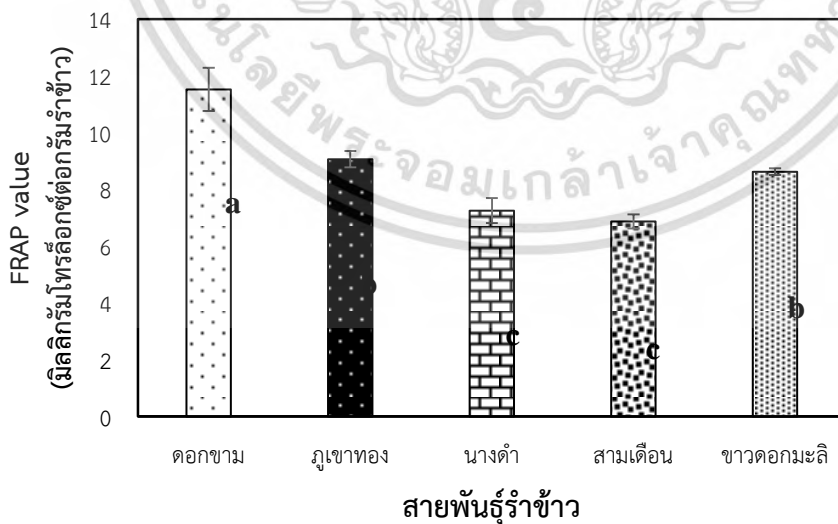
รูปที่ 4.32 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร้และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลื่นความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH แสดงผลดังรูปที่ 4.33 พบว่าการสกัดด้วยรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขามให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH ดีที่สุด เนื่องจากลักษณะของน้ำมันรำข้าวพันธุ์ดอกขามที่สกัดได้มีสีแดงเข้ม และมีสารสกัดหยาบสีแดงละลายปนอยู่ในน้ำมันซึ่งเป็นไปได้ว่าสารสีและสารสกัดหยาบที่ได้ประกอบด้วยสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รองลงมาเป็นการสกัดรำข้าวพันธุ์ภูเขาทอง สามเดือน นางดำ และขาวดอกมะลิ 105 ตามลำดับ



รูปที่ 4.33 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธี DPPH ที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร้และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลีนความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP ดังรูปที่ 4.34 พบว่าการสกัดด้วยรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขามให้ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP ดีที่สุด รองลงมาเป็นการสกัดน้ำมันรำข้าวพันธุ์ภูเขาทอง ขาวดอกมะลิ 105 นางดำ และสามเดือน นอกจากนี้การสกัดด้วยรำข้าวพันธุ์ภูเขาทองและขาวดอกมะลิ 105 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่น้อยกว่าการสกัดด้วยรำข้าวไร้พันธุ์ดอกขามอย่างมีนัยสำคัญ และการสกัดรำข้าวพันธุ์นางดำและสามเดือนให้ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญในทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.34 ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี FRAP ที่ได้จากการสกัดรำข้าวไร้และรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยคลีนความถี่สูงแบบโพรบ โดยสภาวะการสกัดที่เหมาะสมคือตัวทำละลายที่ใช้เป็นเอทานอล อัตราส่วนของรำข้าวต่อเอทานอล 1:12 โดยมวลต่อปริมาตร อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ผลกระทบเครื่องสำอาง

4.7.1 ประเมินคุณสมบัติทางกายภาพและเคมี

ลักษณะทางกายภาพผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรพื้นทั้ง 3 สูตร มีสีขาวขุ่น เนื้อเนียนก่อกว้าง ก่อนผลการทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์โดยการปั่นเหวี่ยง 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที พบว่าสูตรพื้นทั้ง 1 และ สูตรพื้นทั้ง 2 ไม่พบการแยกชั้น ส่วนสูตรพื้นทั้ง 3 พบการแยกชั้น และผลทดสอบความคงตัวด้วยวิธีการเก็บในที่ร้อนสลับเย็น (heating and cooling cycle) พบว่าสูตรพื้นทั้ง 3 สูตรไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพ ส่วนลักษณะทางเคมีผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรพื้นทั้ง 3 สูตรมีค่าความเป็นกรดต่างที่พีเอช 6 ดังแสดงในตารางที่ 4.6 ประเมินความพึงพอใจอาสาสมัคร 20 คนในผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรพื้นทั้ง 3 สูตร ผลที่ได้คือ ผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรพื้นทั้ง 2 ได้รับความพึงพอใจมากที่สุด ทั้งปัจจัยความพึงพอใจโดยรวมได้คะแนนร้อยละ 85 การชิมซาบลงสู่ผิวได้คะแนนร้อยละ 72 ความละเอียดโลชั่นได้คะแนนร้อยละ 76 กลิ่นได้คะแนนร้อยละ 56 ความหนืดได้คะแนนร้อยละ 58 และความชุ่มชื้นได้คะแนนร้อยละ 69 ส่วนผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรพื้นทั้ง 1 ได้คะแนนความพึงพอใจรองลงมาในทุกปัจจัยดังแสดงในตารางที่ 4.7

ดังนั้นจึงได้พัฒนาสูตรพื้นทั้ง 2 สูตรที่ได้คะแนนความพึงพอใจจากอาสาสมัครมากที่สุดด้วยการพัฒนาตำรับสูตรพื้นด้วยการเติมสารสกัดน้ำมันรำข้าวดอกขาม (DK) และเข็มเงิน (KNG) ซึ่งน้ำมันรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์นี้ให้ผลปริมาณสารแกมมาโอโรซานอลสูงสุดเมื่อเทียบกับน้ำมันรำข้าวสายพันธุ์อื่น โดยเฉพาะน้ำมันรำข้าวดอกขามมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเมื่อผ่านการทดสอบทั้งวิธี DPPH ABTS และ FRAP พัฒนาตำรับสูตรพื้นทั้ง 1 เติมสารสกัดน้ำมันรำข้าวดอกขามความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ของส่วนประกอบได้เป็น “ผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงดอกขาม 1” และหากเติมสารสกัดน้ำมันรำข้าวเข็มเงินความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ได้เป็น “ผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงเข็มเงิน 1” เช่นเดียวกับการพัฒนาตำรับสูตรพื้นทั้ง 2 เติมสารสกัดน้ำมันรำข้าวดอกขามความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ของส่วนประกอบได้เป็น “ผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงดอกขาม 2” และหากเติมสารสกัดน้ำมันรำข้าวเข็มเงินความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ได้เป็น “ผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงเข็มเงิน 2” โดยผลิตภัณฑ์ทุกสูตรปรับปรุงที่ได้ต้องทำการประเมินลักษณะทางกายภาพ ลักษณะทางเคมี ทดสอบความคงตัว ประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH คะแนนความพึงพอใจ ความระคายเคืองต่อผิว และความชุ่มชื้นของอาสาสมัคร

ตารางที่ 4.6 ลักษณะทางกายภาพ และลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์โลชั่นพื้น 3 สูตร





สูตร	ลักษณะกายภาพ	เนื้อผลิตภัณฑ์	สี	ค่าพีเอช	ความคงตัว (การปั่นเหวี่ยง / เก็บในที่ร้อนสลับเย็น)	ค่าเฉลี่ย IC ₅₀ (mg/ml)	ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ (CFU/ml)
1		เนื้อเนียน ก่อดัวเป็นก้อน	ขาวขุ่น	6	ไม่แยกชั้น / ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง	>100	<30
2		เนื้อเนียน ก่อดัวเป็นก้อน	ขาวขุ่น	6	ไม่แยกชั้น / ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง	>100	<30
3		เนื้อเนียนหนืด ก่อดัวเป็นก้อน	ขาวขุ่น	6	แยกชั้น / ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง	>100	<30

ตารางที่ 4.7 ค่าความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรพื้น

ปัจจัยความพึงพอใจ	ผลิตภัณฑ์สูตรพื้น	คะแนนเฉลี่ย (5)	ร้อยละ (%)
ความพึงพอใจโดยรวม	1	3.60	72
	2	4.25	85
	3	2.40	48
การซึมซาบลงสู่ผิว	1	3.30	66
	2	3.60	72
	3	2.95	59
ความละเอียดโลชั่น	1	3.70	74
	2	3.80	76
	3	2.45	49
กลิ่น	1	2.60	52
	2	2.80	56
	3	2.10	42
ความหนืด	1	2.10	42
	2	2.90	58
	3	3.05	61
ความชุ่มชื้น	1	3.30	66
	2	3.45	69
	3	3.45	69

ผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรปรับปรุงเกิดเปลี่ยนแปลงไปจากผลิตภัณฑ์สูตรพื้นเนื่องจากสีของสารสกัดน้ำมันรำข้าวที่เติมเข้าไปในส่วนประกอบ โดยสารสกัดน้ำมันรำข้าวดอกขามมีสีแดงปนอยู่ในน้ำมันมากดังนั้นโลชั่นสูตรปรับปรุงดอกขาม 1 และ 2 ที่ได้จึงมีสีส้มถึงส้มอมชมพู ส่วนโลชั่นสูตรปรับปรุงเข็มเงิน 1 และ 2 มีสีเหลืองจากสารสกัดน้ำมันรำข้าว ผลิตภัณฑ์เนื้อเนียนละเอียด ก่อตัวเป็นก้อน และมีกลิ่นจากสารสกัดน้ำมันรำข้าว มีค่าความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วงพีเอช 5.5 ถึง 6 แสดงในตารางที่ 4.31 ผลการทดสอบความคงตัวโดยวิธีการปั่นเหวี่ยงพบว่าทั้งสองสูตรไม่เกิดการแยกชั้น และผลการทดสอบความคงตัวเมื่อเก็บในที่ร้อนอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สลับเย็น 4 องศาเซลเซียส (heating and cooling cycle) เนื้อโลชั่นที่ได้มีสีเข้มขึ้นทุกสูตร เนื้อผลิตภัณฑ์ไม่เกิดการแยกชั้นดังแสดงในตารางที่ 4.8 คลอสมน์ 4




ตารางที่ 4.8 ลักษณะทางกายภาพ และลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรปรับปรุง

สูตร	ลักษณะเนื้อโลชั่น	ค่าพีเอช	สี	ความคงตัว (การปั่นเหวี่ยง / เก็บในที่ร้อน สลับเย็น)
สูตรปรับปรุง ดอกขาม 1	 เนื้อเนียน ก่อตัวเป็นก้อน	6	ชมพูอมส้ม	ไม่แยกชั้น / มีสีเข้มขึ้น เนื้อโลชั่นไม่แยกชั้น
สูตรปรับปรุง เข็มเงิน 1	 เนื้อเนียน ก่อตัวเป็นก้อน	5.5	เหลือง	ไม่แยกชั้น / มีสีเข้มขึ้น เล็กน้อย เนื้อโลชั่นไม่แยกชั้น
สูตรปรับปรุง ดอกขาม 2	 เนื้อเนียน ก่อตัวเป็นก้อน	6	เหลืองอมส้ม	ไม่แยกชั้น / มีสีเข้มขึ้น เนื้อโลชั่นไม่แยกชั้น
สูตรปรับปรุง เข็มเงิน 2	 เนื้อเนียน ก่อตัวเป็นก้อน	6	เหลือง	ไม่แยกชั้น / มีสีเข้มขึ้น เล็กน้อย เนื้อโลชั่นไม่แยกชั้น

พิจารณาลักษณะทางกายภาพผลิตภัณฑ์เซรั่มพื้นที่ได้มีสีขาวขุ่น เมื่อทดสอบความคงตัวผ่านการปั่นเหวี่ยง พบว่าไม่เกิดการแยกชั้นของผลิตภัณฑ์แสดงว่ามีความคงตัวดี และมีเนื้อสัมผัสเนียนซึมลงสู่ผิวได้ดี ชุ่มชื้นไม่เหนียว ลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์เซรั่มพื้นที่ได้มีค่าความเป็นกรดต่างที่พีเอช 5.5 ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ผลิตภัณฑ์เซรั่มสูตรปรับปรุงที่พัฒนามาจากผลิตภัณฑ์เซรั่มสูตรพื้น โดยเติมสารสกัดน้ำมันรำข้าว 1 เปอร์เซ็นต์ในส่วนประกอบทำให้มีสีเปลี่ยนแปลงไปจากสีขาวขุ่น ผลิตภัณฑ์เซรั่มสูตรปรับปรุงดอกขามมีสีส้มอมน้ำตาล ส่วนผลิตภัณฑ์เซรั่มสูตรปรับปรุงเข็มเงินมีสีขาวอมเหลือง ซึ่งผลิตภัณฑ์เซรั่มทั้งสองสูตรมีความคงตัวดี ไม่เกิดการแยกชั้น มีค่าความเป็นกรดต่างที่พีเอช 6 เนื้อเนียนละเอียดก่อตัวเป็นก้อน และผลิตภัณฑ์มีกลิ่นจากสารสกัดน้ำมันรำข้าว

ตารางที่ 4.9 ลักษณะทางกายภาพ และลักษณะทางเคมีของผลิตภัณฑ์เซรั่มพื้นและสูตรปรับปรุง

สูตร	ลักษณะเนื้อเซรั่ม	ค่าพีเอช	สี	ความคงตัว (การปั่นเหวี่ยง / เก็บในที่ร้อน สลับเย็น)
ผลิตภัณฑ์ เซรั่มพื้น	 เนื้อเนียน ก่อตัวเป็นก้อน	5.5	ขาวขุ่น	ไม่แยกชั้น / ไม่เกิดการ เปลี่ยนแปลง
สูตรปรับปรุง ดอกขาม	 เนื้อเนียน ก่อตัวเป็นก้อน	6	ส้มอมน้ำตาล	ไม่แยกชั้น / มีสีเข้มขึ้น เนื้อเซรั่มไม่แยกชั้น
สูตรปรับปรุง เข็มเงิน	 เนื้อเนียน ก่อตัวเป็นก้อน	6	ขาวอมเหลือง	ไม่แยกชั้น / มีสีเข้มขึ้น เล็กน้อย เนื้อเซรั่มไม่แยกชั้น

4.7.2 ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์ด้วยวิธีการเก็บในที่ร้อนสลับเย็น (heating and cooling cycle)

ทดสอบความคงตัวของผลิตภัณฑ์โลชั่น และผลิตภัณฑ์เซรัมที่มีสารสกัดน้ำมันรำข้าว 1 เปอร์เซ็นต์ โดยวิธีการเก็บในที่ร้อน 45 องศาเซลเซียส สลับเย็น 4 องศาเซลเซียส จำนวน 5 รอบ พบว่าผลิตภัณฑ์โลชั่นและผลิตภัณฑ์เซรัมไม่เกิดการแยกชั้นเป็นเนื้อเดียวกัน มีความคงตัวดี สีผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงดอกขามมีสีน้ำตาลเข้มขึ้น ส่วนผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงเซรัมเงินมีสีเข้มขึ้นเล็กน้อย มีค่าความเป็นกรดต่างคงที่

ในการทดลองได้มีการเก็บผลิตภัณฑ์โดยเพิ่มอุณหภูมิจาก 45 องศาเซลเซียสสูงขึ้นถึง 60 องศาเซลเซียส สลับเย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เมื่อครบ 5 รอบ ผลที่ได้ผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงที่ใส่สารสกัดน้ำมันรำข้าวดอกขามเกิดลักษณะแยกเป็นชั้นครีม และชั้นอิมัลชัน มีค่าความเป็นกรดต่างที่ที่เอชของที่ได้สีเข้มขึ้นจากเดิม ส่วนสูตรปรับปรุงที่ใส่สารสกัดน้ำมันรำข้าวเซรัมเงินไม่เกิดการแยกชั้น ค่าความเป็นกรดต่างคงที่แสดงว่าผลิตภัณฑ์ที่มีน้ำมันรำข้าวเซรัมเงินเป็นส่วนประกอบมีความคงตัวดีที่สุด ดังนั้นในการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไม่ควรเก็บในที่ที่มีอุณหภูมิสูงถึง 60 องศาเซลเซียส

4.7.3 ประเมินคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของผลิตภัณฑ์โลชั่นและเซรัมสูตรปรับปรุงที่มีส่วนประกอบของน้ำมันรำข้าวดอกขามและเซรัมเงิน 1 เปอร์เซ็นต์ พิจารณาค่าในรูปแบบความเข้มข้นของสารละลายผลิตภัณฑ์ (mg/ml) ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ หรือ ค่า IC_{50} พบว่าในผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรพื้น และเซรัมสูตรพื้นไม่พบค่า IC_{50} เนื่องจากไม่มีส่วนผสมของสารสกัดน้ำมันรำข้าวในส่วนประกอบ แต่เมื่อทำการพัฒนาสูตรพื้นโดยการเติมสารสกัดน้ำมันรำข้าวลงไป พบว่าผลิตภัณฑ์มีค่าการต้านอนุมูลอิสระ โดยโลชั่นสูตรปรับปรุงดอกขามทั้งสูตร 1 และ 2 มีฤทธิ์ดีกว่าเมื่อเทียบกับโลชั่นสูตรปรับปรุงเซรัมเงิน ผลิตภัณฑ์ในรูปแบบเซรัม พบว่าเซรัมสูตรปรับปรุงดอกขามและเซรัมสูตรปรับปรุงเซรัมเงินมีค่า IC_{50} ใกล้เคียงดังแสดงในตารางที่ 4.10

นอกจากนี้ได้มีการนำผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรปรับปรุง และ ผลิตภัณฑ์เซรัมสูตรปรับปรุงที่ผ่านการทดสอบความคงตัวด้วยวิธีการเก็บในที่ร้อนสลับเย็นมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยโลชั่นสูตรปรับปรุงดอกขามและโลชั่นสูตรปรับปรุงเซรัมเงินมีค่า IC_{50} คือ 71.26 ± 2.33 และ 104.61 ± 4.74 mg/ml ตามลำดับ ผลที่ได้พบว่ามีค่า IC_{50} เพิ่มขึ้นจากเดิมเล็กน้อยเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์โลชั่นทั้งสูตรปรับปรุงดอกขาม และผลิตภัณฑ์โลชั่นทั้งสูตรปรับปรุงเซรัมเงินก่อนเก็บในที่ร้อนสลับเย็น เช่นเดียวกันกับผลิตภัณฑ์เซรัมที่ผ่านการเก็บในที่ร้อนสลับเย็น พบว่าผลิตภัณฑ์เซรัมสูตรปรับปรุงดอกขามมีค่า IC_{50} คือ 26.69 ± 3.85 mg/ml ผลิตภัณฑ์เซรัมสูตรปรับปรุงเซรัมเงินมีค่า IC_{50} เพิ่มขึ้นคือ 49.25 ± 7.02 mg/ml ดังแสดงในตารางที่ 4.10

เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงของงานวิจัยนี้กับผลิตภัณฑ์โลชั่นทางการค้า พบว่าผลิตภัณฑ์ทุกสูตรปรับปรุงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์โลชั่นทางการค้าดังแสดงผลในตารางที่ 4.10 ทั้งผลิตภัณฑ์โลชั่นทางการค้า 2 โลชั่นทางการค้า 3 และ เซรัมทางการค้า 1 ไม่สามารถตรวจวัดค่า IC_{50} ได้ หรือ มีค่าความเข้มข้นมากกว่า 10^3 mg/ml มีเพียงผลิตภัณฑ์โลชั่นทางการค้า 1 ที่พบค่า IC_{50} คือ 226.35 ± 2.80 mg/ml ซึ่งมีฤทธิ์ต้านน้อยกว่าเมื่อเทียบกับผลิตภัณฑ์ในงานวิจัยที่มีน้ำมันรำข้าวเป็นส่วนประกอบ

ตารางที่ 4.10 การต้านอนุมูลอิสระของโลชั่นและเซรัมด้วยวิธี DPPH

สูตร		ค่าเฉลี่ย IC ₅₀ (mg/ml)
โลชั่นสูตรปรับปรุง 1	ดอกขาม	24.48 ± 1.32
	เข็มเงิน	62.57 ± 3.11
โลชั่นสูตรปรับปรุง 2	ดอกขาม	57.08 ± 2.29
	เข็มเงิน	84.40 ± 5.64
โลชั่นสูตรปรับปรุง 1 ผ่านการทดสอบความคงตัว (heat and cool cycle)	ดอกขาม	71.26 ± 2.33
	เข็มเงิน	104.61 ± 4.74
โลชั่นสูตรปรับปรุง 2 ผ่านการทดสอบความคงตัว (heat and cool cycle)	ดอกขาม	26.69 ± 3.85
	เข็มเงิน	48.97 ± 2.71
ผลิตภัณฑ์โลชั่นทางการค้า	1	226.35 ± 2.80
	2	>10 ³ mg/ml
	3	>10 ³ mg/ml
เซรัมสูตรปรับปรุง	ดอกขาม	31.81 ± 1.90
	เข็มเงิน	34.47 ± 3.51
เซรัมสูตรปรับปรุง ผ่านการทดสอบความคงตัว (heat and cool cycle)	ดอกขาม	26.69 ± 3.85
	เข็มเงิน	49.25 ± 7.02
ผลิตภัณฑ์เซรัมทางการค้า	1	>10 ³ mg/ml

4.7.4 ประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพ

ทำการประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพตลอดระยะเวลา 3 สัปดาห์ โดยประเมินในสัปดาห์ที่ 1 2 และ 3 เพื่อคำนวณโคโลนีเชื้อที่มีชีวิตรอด หรือทดสอบประสิทธิภาพของสารกันเสีย(preservative) คือ Microcare PM 3 ที่ใช้ในส่วนของผลิตภัณฑ์โลชั่นและเซรัม ด้วยวิธี total plate count นำผลิตภัณฑ์ทุกสูตรมาเจือจางก่อน spread plate ท้วผิวหน้าอาหาร พบว่าผลิตภัณฑ์ทุกสูตรมีจำนวนเชื้อไม่ถึง 30 โคโลนีดังแสดงผลใน **ตารางที่ 4.11 และรูปภาคผนวก ข** รวมถึงประเมินคุณสมบัติทางชีวภาพต่อเนื่องโดยการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ไว้นานมากกว่า 2 เดือน พบว่าทุกผลิตภัณฑ์ยังคงมีจำนวนเชื้อไม่ถึง 30 โคโลนี

ตารางที่ 4.11 จำนวนโคโลนีที่พบในผลิตภัณฑ์

สูตร		ค่าเฉลี่ยจำนวนเชื้อ (CFU/ml)			
		สัปดาห์ที่ 1	สัปดาห์ที่ 2	สัปดาห์ที่ 3	> 2 เดือน
โลชั่น					
โลชั่นสูตรปรับปรุง 1	ดอกขาม	<30	<30	<30	<30 (2 โคโลนี)
	เข็มเงิน	<30	<30	<30	<30 (1 โคโลนี)
โลชั่นสูตรปรับปรุง 2	ดอกขาม	<30	<30	<30	<30
	เข็มเงิน	<30	<30	<30	<30 (4 โคโลนี)
เซรัม					
สูตรปรับปรุง	ดอกขาม	<30	<30	<30	<30 (1 โคโลนี)
	เข็มเงิน	<30	<30	<30	<30 (5 โคโลนี)

4.7.5 การทดสอบการระคายเคือง

จากการทดสอบการระคายเคืองของผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงต่อผิวหนังบริเวณท้องแขนของอาสาสมัครจำนวน 20 คน หลังทาผลิตภัณฑ์ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 นาที (เฉียบพลัน) และ 2 ชั่วโมง เพื่อสังเกตอาการคันและผื่นแดง พบว่าในอาสาสมัคร 19 คน หรือคิดเป็น 95 เปอร์เซ็นต์ที่ไม่แสดงอาการระคายเคืองต่อผลิตภัณฑ์ทุกสูตร มีเพียงอาสาสมัครจำนวน 1 คนที่เกิดรอยแดงบริเวณผิวที่ทาผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงดอกขาม

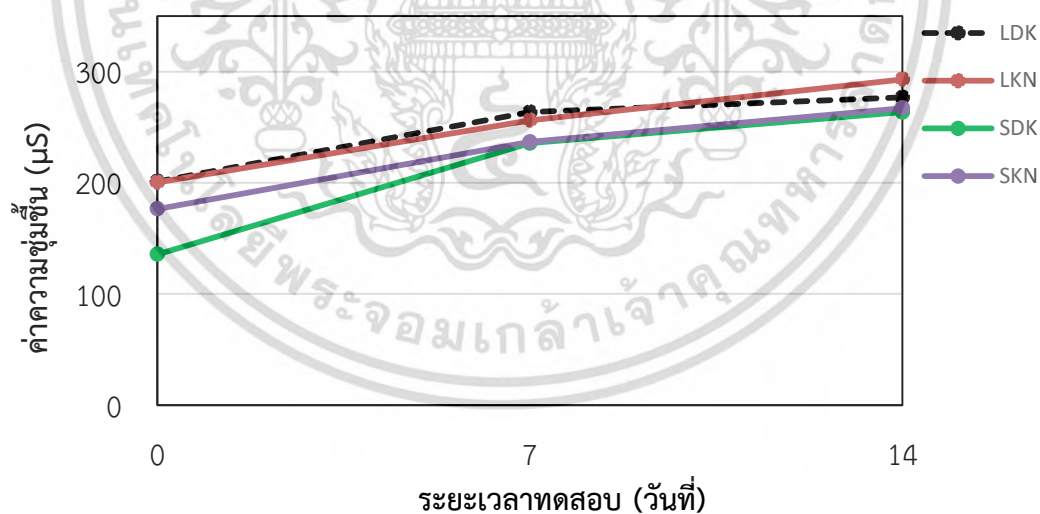
4.7.6 การทดสอบความชุ่มชื้นของผิวเมื่อทาผลิตภัณฑ์

ทดสอบประสิทธิภาพผลิตภัณฑ์ในการทำให้ผิวชุ่มชื้นโดยใช้เครื่องทดสอบผิวหนัง (รุ่น Dermalab COMBO) ในอาสาสมัครรวม 20 คน ก่อนและหลังใช้ผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุงเป็นระยะเวลา 2 สัปดาห์ ทดสอบวันที่ 0 7 และ 14 แสดงค่าความชุ่มชื้นใน [ตารางที่ 4.12](#) และ [รูปที่ 4.35](#) พบว่าบริเวณผิวท้องแขนของอาสาสมัครที่ทดสอบความชุ่มชื้นจากสารสกัดน้ำมันรำข้าว 1 เปอร์เซ็นต์ที่มีในส่วนประกอบผลิตภัณฑ์โลชั่นและเซรัม สามารถเพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิวมากกว่าก่อนใช้ผลิตภัณฑ์ (วันที่ 0) เมื่อเทียบการเปลี่ยนแปลงค่าความชุ่มชื้นที่เพิ่มมากขึ้นในวันที่ 7 และ 14 ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.12 ค่าความชุ่มชื้นของผิวบริเวณที่ทดสอบผลิตภัณฑ์โลชั่น และเซรั่มสูตรปรับปรุง

ผลิตภัณฑ์สูตรปรับปรุง	วันที่	ค่าเฉลี่ยความชุ่มชื้น (μS)
โลชั่นดอกขาม	0	201.13 ± 22.02^x
	7	266.80 ± 8.15^y
	14	276.73 ± 18.54^z
โลชั่นเซียมเงิน	0	200.33 ± 27.63^x
	7	256.17 ± 13.43^y
	14	293.00 ± 14.33^z
เซรั่มดอกขาม	0	135.60 ± 41.41^x
	7	235.53 ± 14.16^y
	14	263.47 ± 7.14^z
เซรั่มเซียมเงิน	0	176.42 ± 37.71^x
	7	236.75 ± 4.98^y
	14	267.08 ± 8.09^z

หมายเหตุ : x, y, z ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงการเปรียบเทียบค่าความชุ่มชื้นสูตรปรับปรุงดอกขาม และเซียมเงิน วันที่ 0 7 และ 14 ที่มีค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test



รูปที่ 4.35 ความชุ่มชื้นของผิวบริเวณที่ทดสอบผลิตภัณฑ์

4.7.7 การทดสอบความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์เวชสำอาง

ทดสอบความพึงพอใจในผลิตภัณฑ์ของอาสาสมัครรวม 20 คน โดยการทำแบบสอบถามประเมินความพึงพอใจเมื่อใช้ผลิตภัณฑ์โลชั่นสูตรปรับปรุงและผลิตภัณฑ์เซรั่มสูตรปรับปรุง พบว่าผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดน้ำมันรำข้าวดอกขามได้คะแนนเฉลี่ย และร้อยละความพึงพอใจทุกปัจจัยมากกว่าผลิตภัณฑ์ที่มีสารสกัดน้ำมันรำข้าวเข็มเงินในส่วนประกอบดังแสดงในตารางที่ 4.13

ตารางที่ 4.13 ค่าความพึงพอใจในอาสาสมัครต่อผลิตภัณฑ์โลชั่น และเซรั่มสูตรปรับปรุง

ปัจจัยความพึงพอใจ	ผลิตภัณฑ์	คะแนนเฉลี่ย (5)	ร้อยละ (%)
ความพึงพอใจโดยรวม	โลชั่นดอกขาม	3.70	74
	โลชั่นเข็มเงิน	3.05	61
	เซรั่มดอกขาม	4.35	87
	เซรั่มเข็มเงิน	4.00	80
การซึมซาบลงสู่ผิว	โลชั่นดอกขาม	3.65	73
	โลชั่นเข็มเงิน	3.45	69
	เซรั่มดอกขาม	4.05	81
	เซรั่มเข็มเงิน	3.95	79
กลิ่น	โลชั่นดอกขาม	3.10	62
	โลชั่นเข็มเงิน	3.00	60
	เซรั่มดอกขาม	3.35	67
	เซรั่มเข็มเงิน	3.25	65
ความเหน็ด	โลชั่นดอกขาม	2.95	59
	โลชั่นเข็มเงิน	3.00	60
	เซรั่มดอกขาม	3.45	69
	เซรั่มเข็มเงิน	3.05	61
ความชุ่มชื้น	โลชั่นดอกขาม	3.80	76
	โลชั่นเข็มเงิน	3.50	70
	เซรั่มดอกขาม	4.30	86
	เซรั่มเข็มเงิน	4.30	86

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

5.1 สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยนี้บรรลุเป็นไปตามวัตถุประสงค์ในการศึกษากระบวนการสกัดสารแกมมาออโรซานอลจากรำข้าวไร้ 7 สายพันธุ์ ได้แก่ ดอกขาม ภูเขาทอง นางดำ สามเดือน ดอกข่า เข็มเงิน และดอกพะยอม และรำข้าวสายพันธุ์ดั้งเดิม คือ รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยงานวิจัยนี้ใช้เทคนิคในการสกัดสารได้แก่ การใช้ความร้อน การใช้วิธีการเยาะ การใช้คลื่นเหนือเสียงร่วมด้วยในการสกัด การใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด การใช้สารละลายภายใต้สภาวะกึ่งวิกฤต และนำน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้นำมาทดสอบหาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP ซึ่งบรรลุวัตถุประสงค์ข้อที่ 2 หลังจากนั้นนำน้ำมันรำข้าวไร้ที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดมาเป็นส่วนประกอบในการขึ้นตำรับเครื่องสำอาง ได้แก่ เซรั่ม และโลชั่น การประเมินความพึงพอใจของอาสาสมัคร 20 คน ต่อผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีส่วนประกอบเป็นน้ำมันรำข้าวไร้ ทั้งปัจจัยความพึงพอใจโดยรวม ได้แก่ การซึมซาบลงสู่ผิว กลิ่น ความหนืด และความชุ่มชื้น ซึ่งทุกปัจจัยในผลิตภัณฑ์เซรั่มและโลชั่นสูตรปรับปรุงได้รับคะแนนความพึงพอใจในช่วง 59 ถึง 87 เปอร์เซนต์

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรทดลองเพิ่มเติมในระบบขนาดใหญ่เพื่อต่อยอดในเชิงพาณิชย์
 ควรทดสอบการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์หลังผลิต (Shelf life)
 ควรลองคำนวณหาต้นทุนและราคาขายในการผลิตและหาจุดคุ้มทุน
 ควรทดลองหาองค์ประกอบที่สำคัญชนิดอื่นๆ ที่มีในน้ำมันรำข้าวไร้

บทที่ 6
สรุปผลผลิตงานวิจัย

ผลงาน	จำนวน	รายละเอียดของผลลัพธ์ (specification)
องค์ความรู้ใหม่		ได้ทราบวิธีการสกัดที่ใช้เพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดน้ำมันรำข้าวและสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณภาพจากรำข้าวไร้ไทยที่คาดว่ามีความศักยภาพในการผลิตสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพเพื่อเป็นองค์ประกอบในผลิตภัณฑ์บำรุงผิวได้ในอนาคต
กระบวนการใหม่		ได้ทราบกระบวนการสกัดที่ใช้เพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดน้ำมันรำข้าวและสารต้านอนุมูลอิสระที่มีคุณภาพจากรำข้าวไร้
ต้นแบบ กรูณาระบุของต้นแบบ ดังนี้ - ผลิตภัณฑ์ (Product)		ได้สูตรผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีองค์ประกอบของน้ำมันรำข้าวไร้ที่มีคุณภาพ
การเผยแพร่ผลงานทางวิชาการ (Publications) - วารสารระดับนานาชาติ (International Journal)	4	<ol style="list-style-type: none"> Duangkamol Ruen-ngam*, Chitti Thawai, Sujitra Sukonthamut. Pretreatment processes of rice bran for increasing yield of γ-oryzanol in rice bran oil and its antioxidant activity, ScienceAia-Journal of The Science Society of Thailand 42 (2016) 75-82. (IF = 0.37) Duangkamol Ruen-Ngam*, Chitti Thawai, Raumjit Nokkoul, and Sujitra Sukonthamut, Gamma-Oryzanol Extraction from Upland Rice Bran, Published in IJBB, International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics, ISSN 2010-3638, 4 (4), July 2014, 52-255. Duangkamol Ruen-ngam*, Chitti Tawai, Sujitra Sukonthamut, Raumjit Nokkoul, Evaluation of Oil and Chemical Content Yield, Antioxidant, Neuritogenic and Neuroprotective Activities of Bioactive Compounds extracted from Unconventional Rice Bran Varieties, Journal of Cereal Science On Processing, ScienceAia-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<p>- การประชุม/สัมมนา ระดับนานาชาติ (International Conference) (Proceeding)</p>	<p>6</p>	<p>Journal of The Science Society of Thailand 44 (2018) 257-267. (IF = 0.37)</p> <p>4. Duangkamol Ruen-ngam*, Chitti Thawai, Sujitra Sukonthamut, Kittisak Khuwaranyu, Extraction of upland rice bran for γ-Oryzanol and γ-Tocopherol under Sub-critical solvent condition (resubmitted in The Journal of supercritical fluids on 7 Jan. 2019)</p> <p>1. Duangkamol Ruen-ngam*, Chitti Tawai, Supakit Chaiteerapatarapong, HPLC condition for analysis of gamma oryzanol in upland rice bran crude oil, 1st Joint ACS AGFD – ACS ICSCS Symposium on Agricultural and Food Chemistry, Bangkok, Thailand, 4-5 March 2014.</p> <p>2. Supakit Chaiteerapatarapong, Chitti Tawai, Duangkamol Ruen-ngam*, Alternative Extraction Methods for Oil with High Antioxidant Activity from Upland Rice Bran, ISBB 2014, The 12th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology, Chumphon Province, Thailand, 11-13 December 2014.</p> <p>3. Vanapron Sae-ang, Chitti Tawai, Duangkamol Ruen-ngam*, Microwave Pretreatment for Lipase Retardation in Rice Bran, ISBB 2014, The 12th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology, Chumphon Province, Thailand, 11-13 December 2014.</p> <p>4. Vanapron Sae-ang, Chitti Tawai, Raumjit Nokkoul, Duangkamol Ruen-ngam*, Antioxidant Determination of Nang Dam Upland Rice Bran Oil by DPPH Assay, ISAT2015, The 2nd International Symposium on Agricultural Technology, Pattaya, Thailand, 1-3 July 2015.</p> <p>5. Vanapron Sae-ang, Chitti Tawai, Sujitra Sukonthamut, Raumjit Nokkoul, Duangkamol</p>
---	----------	--

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<p>- วารสารระดับชาติ (National Journal)</p>	<p>1</p>	<p>Ruen-ngam* Evaluation of antioxidant activity of Khem-nge rice bran oil By ABTS•+ Assay Measurement, The 27th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference, Mandarin Hotel Bangkok managed by Centre Point, Bangkok, Thailand, 17-20 November 2015.</p> <p>6. Tharin Wadeng, Chitti Thawai, Sujitra Sukonthamut, Raumjit Nokkoul and Duangkamol Ruen-ngam*, Comparison of Rice Bran Oil Recovery, γ-Oryzanol and antioxidant Activities of Upland Rice Bran, TSB 2016, The 8th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference, National Resources & Bio-based Innovative Products, Bangkok, Thailand, 28-30 November 2016.</p> <p>1. ดวงกมล เรืองงาม*, จิตติ ท่าไว, สุจิตรา สุขนธมัต, ร่วมจิตร นกเขา, การสกัดทางเลือกและการทำให้บริสุทธิ์ของแกมมาออริซานอลจากข้าวและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ Alternative Extraction and Purification Methods of γ-Oryzanol from Rice Bran and Its Antioxidant Scavenging Activity, วารสารเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยสยาม ปีที่ 13 ฉบับที่ 1 มกราคม – มิถุนายน 2561 (TC11)</p>
<p>ผลิตนักศึกษาในระดับปริญญาโท</p>	<p>3</p>	<p>1. นายศุภากฤต ชัยธีระภัทรพงศ์ ทำวิทยานิพนธ์สำเร็จในหัวข้อ “การประเมินสารแกมมาโอโรซานอลในรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวไร้ดอกพะยอม”</p> <p>2. นางสาวนาพร แซ่อึ้ง ทำวิทยานิพนธ์สำเร็จในหัวข้อ “การสกัดสาร และการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวไร้ เพื่อประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง”</p> <p>3. นายธารินทร์ วาเต็ง ทำวิทยานิพนธ์สำเร็จในหัวข้อ “ปริมาณและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวไร้จากจังหวัดชุมพร”</p>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

1. Sališová M., Toma Š., and Mason T. J., 1997. Comparison of Conventional and Ultrasonically Assisted Extractions of Pharmaceutically Active Compounds from *Salvia officinalis*. *Ultrasonics Sonochemistry* 4: 131-134.
2. Rostagno M. A., Palma M., and Barroso C. G., 2003. Ultrasound-assisted Extraction of Soy Isoflavones. *Journal of Chromatography A* 1012: 119–128.
3. Hromádková Z., and Ebringerová A., 2003. Ultrasonic Extraction of Plant Materials– investigation of Hemicellulose Release from Buckwheat Hulls. *Ultrasonics Sonochemistry* 10: 127–133.
4. Hromádková Z., Ebringerová A., and Valachovič P., 1999. Comparison of Classical and Ultrasound-assisted Extraction of Polysaccharides from *Salvia officinalis* L. *Ultrasonics Sonochemistry* 5: 163–168.
5. Sun R. C., Sun X. F., and Ma X. H., 2002. Effect of ultrasound on the Structure and Physiochemical Properties of Organosolv Soluble Hemicelluloses from Wheat Straw. *Ultrasonics Sonochemistry* 9: 91-101.
6. Jianyong W., Lidong L., and Foo-tim C., 2001. Ultrasound-assisted Extraction of Ginseng Saponins from Ginseng Roots and Cultured Ginseng Cells. *Ultrasonics Sonochemistry* 8: 347–352.
7. Pan X., Liu H., Jia G., and Shu Y. Y., 2000. Microwave-assisted Extraction of Glycyrrhizic Acid from Licorice Root. *Biochemical Engineering Journal* 5: 173–177.
8. Guo Z., Jin Q., Fan G., Duanb Y., Qin C., and Wen, M., 2001. Microwave-assisted Extraction of Effective Constituents from a Chinese Herbal Medicine *Radix Puerariae*. *Analytica Chimica Acta* 436: 41–47.
9. Pan X., Niu, G., and Liu H., 2001. Microwave-assisted Extraction of Tanshinones from *Salvia miltiorrhiza bunge* with Analysis by high-performance Liquid Chromatography. *Journal of Chromatography A* 922: 371–375.
10. Hao J. U., Han W., Huang S. D., Xue B. Y., and Deng X., 2002. Microwave-assisted Extraction of Artemisinin from *Artemisia annua* L. *Separation and Purification Technology* 28: 191–196.
11. Pan X., Niu G., and Liu H., 2002. Comparison of Microwave-assisted Extraction and Conventional Extraction Techniques for the Extraction of Tanshinones from *Salvia miltiorrhiza bunge*. *Biochemical Engineering Journal* 12: 71–77.
12. Shu Y. Y., Koa Y. M., and Chang Y. S., 2003. Microwave-assisted Extraction of Ginsenosides from Ginseng root. *Microchemical Journal* 74: 131–139

13. Li H., Chen B., Zhang Z., and Yao, S., 2004. Focused Microwave-assisted Solvent Extraction and HPLC Determination of Effective Constituents in *Eucommia ulmoides* Oliv (*E. ulmoides*). *Talanta* 63: 659–665.
14. Fulzele D. P., and Satdive R. K., 2005. Comparison of Techniques for the Extraction of the Anti-cancer Drug Camptothecin from *Nothapodytes foetida*. *Journal of Chromatography A* 1063: 9–13.
15. Zhou H. Y., and Liu C. Z., 2006. Microwave-assisted Extraction of Solanesol from Tobacco Leaves. *Journal of Chromatography A* 1129: 135–139.
16. Martino E., Ramaiola I., Urbano M., Bracco F., and Collina S., 2006. Microwave-assisted Extraction of Coumarin and related Compounds from *Melilotus officinalis* (L.) Pallas as an Alternative to Soxhlet and Ultrasound-assisted extraction. *Journal of Chromatography A* 1125: 147–151.
17. Barbero G. F., Palma M., and Barroso C. G., 2006. Determination of Capsaicinoids in Peppers by Microwave-assisted Extraction–high-performance Liquid Chromatography with Fluorescence Detection. *Analytica Chimica Acta* 578: 227–233.
18. Hemwimon S., Pavasant P., Shotipruk A., 2006. Ultrasound-assisted extraction of anthraquinones from roots of *Morinda citrifolia*. *Ultrasonics Sonochemistry* 13: 543–548.
19. Chen Y., Xie M. Y., and Gong X. F., 2007. Microwave-assisted Extraction used for the Isolation of total Triterpenoid Aaponins from *Ganoderma atrum*. *Journal of Food Engineering* 81: 162–170.
20. Mauricio A., Rostagno, Miguel P., and Carmelo G. B., 2007. Microwave assisted Extraction of Soy Isoflavones. *Analytica Chimica Acta* 588: 274–282.
21. Mao Y., Li Y., and Yao N., 2007. Simultaneous Determination of Dalidroside and Tyrosol in Extracts of *Rhodiola L.* by Microwave assisted Extraction and High-performance Liquid Chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 45: 510–515.
22. Chen L., Jin H., Ding L., Zhang H., Li J., Qu C., and Zhang H., 2008. Dynamic Microwave-assisted Extraction of Flavonoids from *Herba Epimedii*. *Separation and Purification Technology* 59: 50–57.
23. Wang Y., You J., Yu Y., Qu C., Zhang H., Ding L., Zhang H., and Li X., 2008. Analysis of Ginsenosides in *Panax Ginseng* in High Pressure Microwave-assisted Extraction. *Food Chemistry* 110: 161–167.
24. Roy C. Bhupesh, Goto M., and Hirose T., 1996. Extraction of Ginger Oil with Supercritical Carbon Dioxide: Experiments and modeling. *Industrial & Engineering Chemistry Research* 35: 607–612.

25. Cathy E. F., Jean-Stéphane C., and Alain M., 1999. Extractive Fermentation of Aroma with Supercritical CO₂. *Biotechnology and Bioengineering* 64: 392-400.
26. Palma M., and Taylor L. T., 1999. Extraction of Polyphenolic Compounds from Grape Seeds with near Critical Carbon Dioxide. *Journal of Chromatography A* 89: 117-124.
27. Tonthubthimthong P., Chuaprasert S., Douglas P., and Luewisutthichat W., 2001. Supercritical CO₂ Extraction of Nimbin from Neem Seeds – an Experimental Study. *Journal of Food Engineering* 47: 289-293.
28. Huang-Chung W., Chao-Ruey C., and Chiehming J. C., 2001. Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section, Carbon dioxide Extraction of Ginseng Root hair Oil and Ginsenosides. *Food Chemistry* 72: 505-509.
29. Mendes R. L., Fernandes H. L., Coelbo J. P., Reis E. C., Cabral J. M. S., Novais J. M., and Palavra A. F., 1995. Supercritical CO₂ Extraction of Carotenoids and other Lipids from *Chlorella vulgaris*. *Food chemistry* 53: 99-103.
30. Matsuyama K., Mishima K., Taruta Y., Ezawa M., Nagatani M., and Park P. W., 1998. Extraction of Astaxanthin from Silver Nitrate Solution using Supercritical Fluid Extraction. *Solvent Extraction Research and Development* 5: 166-171.
31. Careri M., Furlattini L., Mangia A., Musci M., Anklam E., Theobald A., and von Holst C., 2001. Supercritical Fluid Extraction for Liquid Chromatographic Determination of Carotenoids in *Spirulina Pacifica* algae: a chemometric approach. *Journal of Chromatography A* 912: 61–71.
32. Butsat S., Siriamornpun S., 2010. Antioxidant Capacities and Phenolic Compounds of the Husk, Bran and Endosperm of Thai Rice, *Food Chemistry* 119, 606-613.
33. Patel M, Naik S. N., 2004. Gamma-oryzanol from rice bran oil-A review, *Journal of Scientific & Industrial Research* 63, 569-578.
34. Azrina, A., Maznah, I., Azizzah A. H., 2008. Extraction and Determination of Oryzanol in Rice Bran of Mixed Herbarium UKMB; AZ 6807; MR 185, AZ 6808; MR 211, AZ6809; MR 29, *ASEAN Food Journal* 15 (1), 89-96.
35. Chakuton K., Puangpronpitag D., M. Nakornriab, 2012. Phytochemical Content and Antioxidant Activity of Colored and Non-colored Thai Rice Cultivars, *Asian Journal of Plant Science* 11, 285-293.
36. Amarasinghe B. M. W. P. K., Gangodavilage N. C., 2004. Rice bran oil Extraction in Sri Lanka Data for Process Equipment Design, *Trans IChemE* 82, 54-59.
37. Chao-Rui C., Chih-Hung W., Ling-Ya W., Zih-Hao H., Shou-Hsiu C. Wai-Jane H., Chieh-Ming J. C., 2008, *Journal of Supercritical Fluids* 45, 322-331.

38. Chao-Rui C., Ling-Ya W., Chih-Hung W., Wai-Jane H., Chieh-Ming J. C., 2008, Supercritical Carbon dioxide Extraction of rice bran oil and Column partition Fractionation of gamma-orzanols, Separation and Purification Technology 61, 358-365.
39. Thanonkaew A., Wongyai S., McClements D., Decker A. E., 2012, Effect of Stabilization of Rice Bran by domestic Heating on Mechanical Extraction Yield, Quality, and Antioxidant Properties of Cold-press Rice Bran Oil (*Oryza sativa* L.), LWT-Food Science and Technology 48, 231-236.
40. Amarasinghe B. M. W. P. K., Kumarasiri M. P. M., Gangodavilage N. C., 2009, Effect of Method of Stabilization on aqueous Extraction of Rice Bran Oil, Food and Bioproducts Processing, 87, 108-114.





เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Gamma-Oryzanol Extraction from Upland Rice Bran

Duangkamol Ruen-Ngam, Chitti Thawai, Raumjit Nokkoul, and Sujitra Sukonthamut

Abstract—Gamma-Oryzanol is one type of antioxidant and has good effect for health. Gamma-Oryzanol can find in rice bran which is the waste from rice milling process. Upland rice is one type of rice which can be grown in the upland area especially in the southern part of Thailand. The upland rice with species of Dawk Pa-yawm has been used in this research. There are many ways to extract gamma-oryzanol from rice bran. Maceration is conventional and useable extraction method in gamma-oryzanol extraction. Solvent is one crucial parameter in extraction. Many types of organic solvent such as hexane ethyl acetate acetone isopropanol and ethanol are investigated here. The extraction condition such as effect of soaking time, rice and solvent ratio also have examined. The highest amount of rice bran oil obtains from acetone as solvent with the ration of rice bran and solvent is 1:4. Moreover the extracted product is also quality checked by HPLC method. The chromatogram shows clearly the peak of gamma-oryzanol.

Index Terms—Dawk Pa-yawn upland rice, Gamma-oryzanol, maceration, rice bran.

I. INTRODUCTION

People recently concern and take care of health. Other than meal which they have to take in each day, they will take supplement which composes of useful compounds such as antioxidant. Antioxidant is found in many types of plants. It's hard to eat large amount of plants in the same time to achieve the suitable dose and therefore the extraction will be the crucial rule in pulling the important substances through the cell from such plants. The extraction of antioxidant is very important to exclude such important substance from debris. The conventional extraction method is extraction by mean of maceration method using different types of organic solvent. Generally this method is used as elementary method in extraction of many valuable compounds [1], [2]. The important parameters which might be affected on amount of obtained substance are time, the material and the solvent ratio and type of solvent.

There are many types of rice species in Thailand, Dawk Pa-yawm is one types of Thai rice that is grown in the southern part in Thailand. After milling there is bran which is valuable material left. Rice bran composes of many types of antioxidant compounds such as tocopherol, tocotrienol, oryzanol, polyphenol, anthocyanin, phytate, etc [3]. Oryzanol is ester compound of dica ciluref and lorets or enepretirt lohocla. Oryzanol around 2% can be found in rice bran and nowadays some group of research has investigated how to extract this compound from different types of rice [4], [5]. Oryzanol is famous in form of cosmetic ingredient, it can

increase moisture for skin [6]. Moreover oryzanol is known in medical treatment, oryzanol can reduce cholesterol in blood, reduce gathering of platelet, increase bile in stools and moderate the activity of disturbed brain [7], [8].

II. CHEMICALS AND MATERIALS

Solvent in extraction are hexane, ethyl acetate, acetone, isopropanol and ethanol. Mobile phase with HPLC grade in analysis system are methanol, isopropanol and ethylacetate. All solvents with HPLC grade are bought from Carlo Erba®. Dawk Pa-yawn upland rice is obtained from the southern part of Thailand. Gamma-oryzanol standard is bought from Canta Cruzbiotechnol.

III. EXPERIMENT PROCEDURE

The extraction is conducted by maceration method with rice bran and solvent ratios (g/g) are 1:2, 1:4 and 1.6. The soaking will operate in 250 ml flask with circulation of 200 rpm (called maceration method). The extracting solvents are hexane, ethyl acetate, acetone, isopropanol and ethanol. All experiment will be operated under 30°C with 60 minutes soaking time. After extraction the solvent will be removed by evaporator then the weight of extracted oil will be weighed by weight machine. All experiment will repeat three times and then calculate average oil percentage compared to the weight of rice bran of each condition.

IV. ANALYSIS METHOD

Quantity data: weight of oil is measured by using weight machine with 4 digits and calculation the rice bran oil percentage as in follow:

$$\text{Amount of oil or yield oil (\%)} = \frac{\text{[Weight of oil (g) / Weight of rice bran (g)]} \times 100$$

Quality data: peak of gamma-oryzanolis analyzed by HPLC. The combination of solvent in mobile phase is methanol:isopropanol:ethylacetate with composition of 47.5:40:12.5 with flow rate 0.5 ml/min. The stationary column is C18 (ACE®). The sample is analyzed at wavelength 330 nm. The report of chromatogram is demonstrated by Shimadzu LCSolution. The peak of gamma-oryzanol is demonstrated at the same retention time of the standard gamma-oryzanol.

V. RESULTS AND DISCUSSIONS

A. Effect of Rice Bran and Solvent Ratio

Fig. 1 a) – Fig. e) demonstrate that increasing of the rice

Manuscript received December 31, 2013; revised April 16, 2014.

Duangkamol Ruen-Ngam is with the Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute Technology Ladkrabang (KMUTL), Bangkok, 10520, Thailand (e-mail: krduangk@kmitl.ac.th, modeliebe@gmail.com).

bran and solvent ratio, increasing of oil content in the product except in Fig. 1 b). Fig. 1 b) (isopropanol) the amount of oil percentage drops down to around 45%; however, all rice bran and solvent ratios are not significant difference on amount of oil. Almost all extraction solvents increasing the ratio up to 1:4, the oil content reaches to maximum around 55% and then is stable within the same range of the oil content obtained from the ratio of 1:6 except in Fig. 1 b) and Fig. 1 e) that the discussion will further discuss in following section. There is huge error on the result obtained from the rice bran and oil ratio of 1:2 (data from hexane and ethanol) as in Fig. 1 a) and Fig. 1 d) causes to be not significant difference to other ratios. It might occur of trouble in mixing. The ratio with 1:2 cannot penetrate through the rice bran material and the upper liquid level is the same as the solid level and it's hard to remove all or circulate the mixture [9]. Moreover the properties of solvent as boiling temperature might be effect to extraction. As the boiling value demonstrates in Table I [10] that the boiling pointing of hexane and acetone are lower compared to other solvent types, it might evaporate with higher rate and affects to mixing process. Moreover solvent type is also effect to the extraction yield and will be discuss in the following section. Above information, because of the minimum of solvent usage the ratio of 1:4 is better extraction condition compared to 1:6.

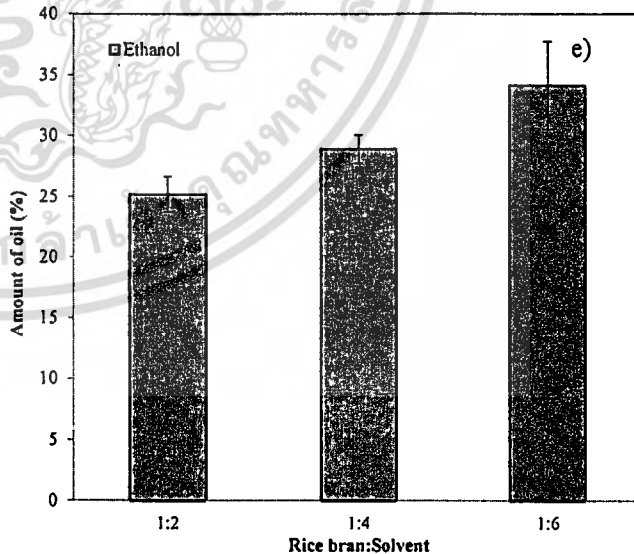
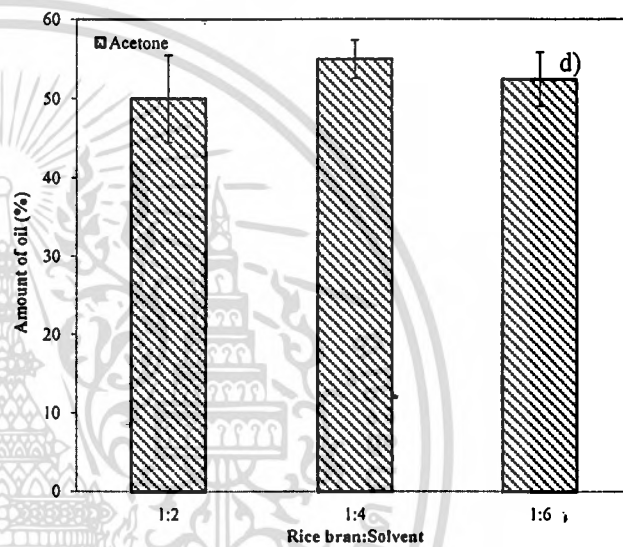
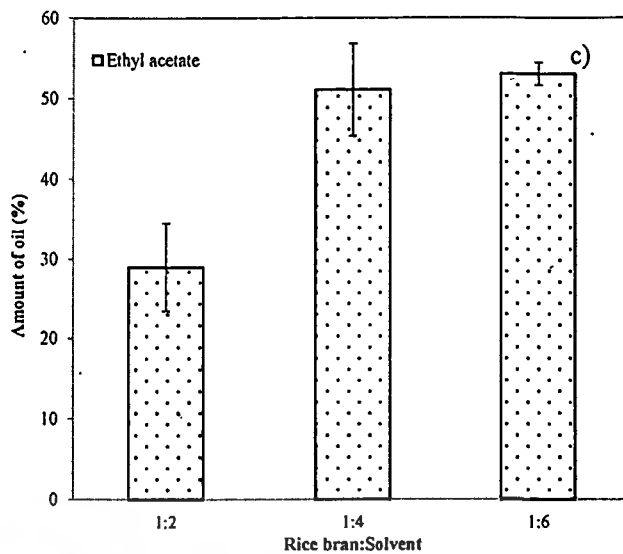
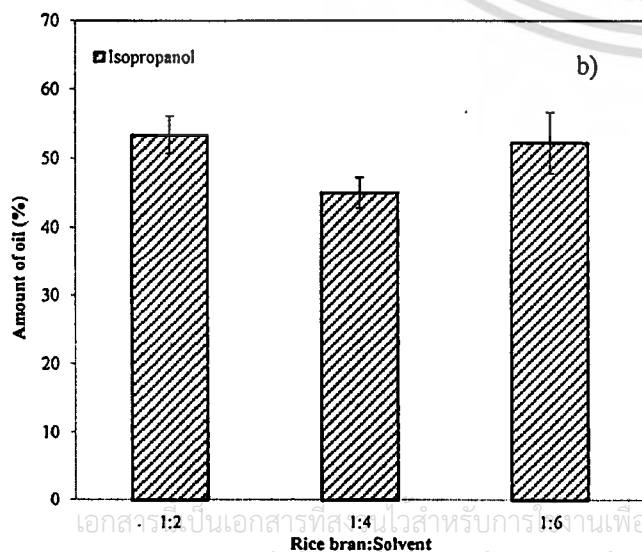
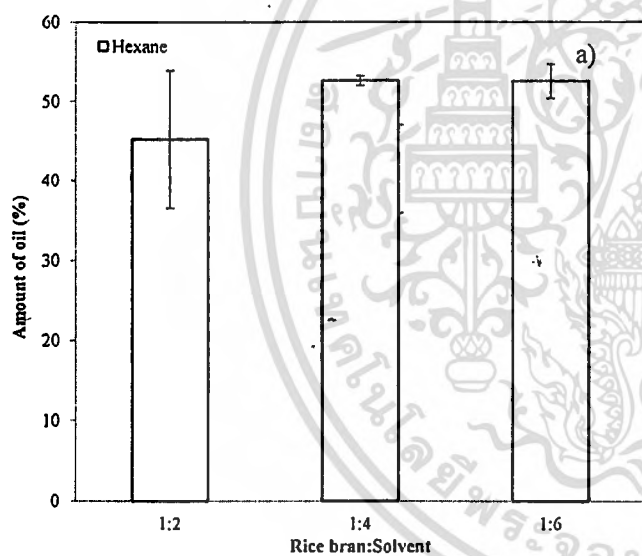


Fig. 1. Effect of rice bran and solvent ratio in the range of 1:2 to 1:6 on amount of oil in percentage: a) hexane b) isopropanol c) ethyl acetate d) acetone e) ethanol

B. Effect of Solvent Type

Effect of solvent type on amount of obtained oil shows in Fig. 2 the amount of oil percentage appears in series of acetone, hexane, ethyl acetate, isopropanol and ethanol. The lowest amount of oil percentage appears in ethanol because

of its high polarity. The rice bran oil can be extracted from material by using both polar solvent (acetone) and non-polar solvent (hexane and ethyl acetate) as results in Fig. 2; however, there is limitation of solvent whose dielectric constant more than 18 (isopropanol), cannot provide the high value of oil percentage as the properties of other solvents shows in Table 1. Other than dielectric constant will affect to amount of oil, viscosity might be effect to amount of oil too, as shows the highest viscosity of isopropanol in Table I. This effect will take place in extraction peecess.

TABLE I: PROPERTIES OF SOLVENTS USED FOR EXTRACTION

Type of solvent	Boiling Point (°C) ^c	Dielectric constant (ε')	Surface tension (mN/cm)	Viscosity (cP)	Density (g/cm ³)
a) hexane	69	1.88	18.4 ^d	0.924	0.6548
b) isopropanol	82	18	23 ^e	1.96 ^a	0.786
c) ethyl acetate	77	6.02	23.9 ^d	0.426 ^a	0.897 ^b
d) acetone	56	20.7	23.7	0.32	0.791
e) ethanol	79	24.6	23.7	1.2	0.789 ^b

REMARKS:

Table I is modified from [10]

- Superscript a 25°C
- b 20°C
- c <http://www.surface-tension.de/> [11]
- d <http://www.engineering.uiowa.edu> [12]
- e <http://en.wikipedia.org/> [13]

During process of extraction the important compound in the rice bran (gamma-oryzanol) dissolves and comes out together with the oil to the both solvent types. Because of gamma-oryzanol structure as it demonstrates the chemical structure in Fig. 3, are both sides of polar and non-polar (ferulic acid and sterol) [14]-[15]. Fig. 2 also shows the ability of both hexane and acetone is not significant difference (within the same range of error bar); however, non-polar solvent as hexane was generally used to be extracting solvent [7].

C. Product Quality

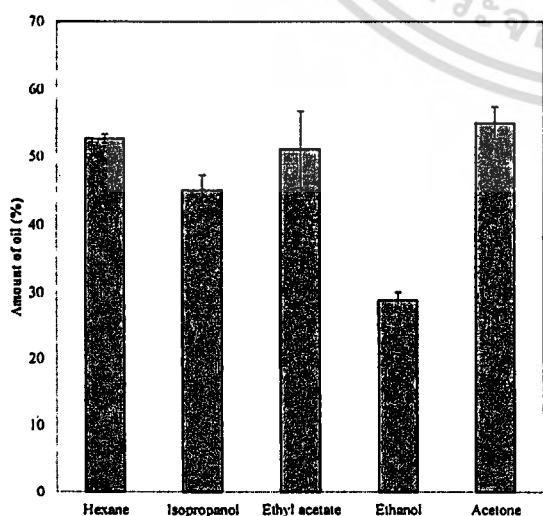


Fig. 2. Effect of solvent type on amount of oil in percentage with the rice bran and solvent ratio of 1:4.

Product composition is measured by HPLC. The suitable

solvent and column is primary investigation prior to check composition of gamma-oryzanol. Both normal-phase and reversed-phase chromatography can use for gamma-oryzanol analysis [16]-[18]. The HPLC columns that can be used for gamma-oryzanol detection are C18 and CN5; however, C18 is used in this case. The chromatogram on Fig. 4 a) will show the product contents with ethanol as extraction solvent and the rice bran and solvent ratio of 1:4. Group of peak product in the extracted is compared to the peak of gamma-oryzanol standard in Fig. 4 b), the peak of product is settled at the retention time of 11.504 and 12.363 minute. Other than two peaks at the same position as standard, there are two peaks at 11.866 and 13.102 minutes that might be checked in further research.

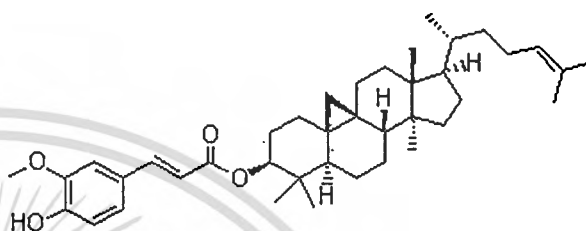


Fig. 3. Chemical structure of gamma-oryzanol¹⁰.

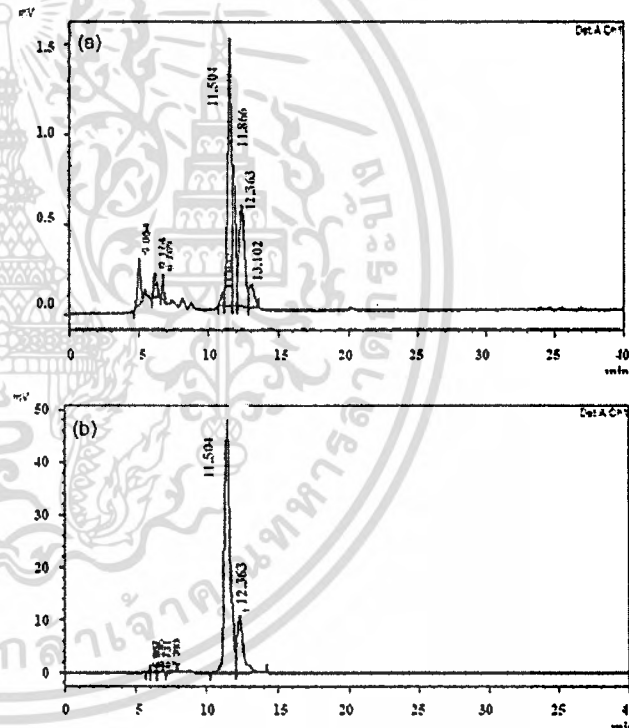


Fig. 4. Chromatogram of a) oil product from rice bran and b) gamma-oryzanol standard.

VI. CONCLUSION

Dawk Pa-yawm is one type of upland rice. The rice bran is considered as the waste from the milling process can give antioxidant substance. Gamma-oryzanol is well known antioxidant. Maceration method is useable and primary check for gamma-oryzanol extraction. The best ratio of rice and solvent is 1:4 and three types of solvent; acetone, hexane and ethyl acetate give the same range of the highest amount of oil percentage. The oil product is tested for the peak of gamma-oryzanol and the peak is sharp and appears at the same retention of standard; however, there s some impurity in the product and it should be further purified.

REFERENCES

- [1] D. Ruen-Ngam, A. Shotipruk, and P. Pavasant, "Comparison of extraction methods for recovery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*," *Separation Science and Technology*, vol. 46, pp. 64-70, 2011.
- [2] R. Oliveira, V. Oliveira, K. K. Aracava, and C. E. da C. Rodrigues, "Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with ethanol-A response surface approach," *Food and Bioproducts Processing*, vol. 90, pp. 22-31, 2012.
- [3] S. Butsat and S. Siriamornpun, "Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice," *Food Chemistry*, vol. 119, pp. 606-613, 2010.
- [4] A. Manosroi, W. Ruksiriwanich, M. Abe, H. Sakai, W. Manosroi, and J. Manosroi, "Biological activities of the rice bran extract and physical characteristics of its entrapment in niosomes by supercritical carbon dioxide fluid," *Journal of Supercritical Fluids*, vol. 54, pp. 137-144, 2010.
- [5] V. R. Pestana-Bauer, R. C. Zambiasi, C. R. B. Mendonça, M. Beneito-Cambra, and G. Ramis-Ramos, "γ-Oryzanol and tocopherol contents in residues of rice bran oil refining," *Food Chemistry*, vol. 134, pp. 1479-1483, 2012.
- [6] M. J. Lerma-García, J. M. Herrero-Martínez, E. F. Simó-Alfonso, C. R. B. Mendonça, and G. Ramis-Ramos, "Review: Composition, industrial processing and applications of rice bran-oryzanol," *Food Chemistry*, vol. 115, pp. 389-404, 2009.
- [7] P. Imsanguan, A. Roaysubtawee, R. Borirak, S. Pongamphai, S. Douglas, and P. L. Douglas, "Extraction of α-tocopherol and γ-oryzanol from rice bran," *LWT*, vol. 41, pp. 1417-1424, 2008.
- [8] C. Juliano, M. Cossu, M. C. Alamanni, and L. Piu, "Antioxidant activity of gamma-oryzanol: Mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils International," *Journal of Pharmaceutics*, vol. 299, pp. 146-154, 2005.
- [9] M.-H. Chen and C. J. Bergman, "Erratum A rapid procedure for analyzing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ-oryzanol contents," *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 18, pp. 319-331, 2005.
- [10] D. Ruen-Ngam, A. Shotipruk, and P. Pavasant, "Comparison of extraction methods for recovery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*," *Separation Science and Technology*, vol. 46, pp. 64-70, 2011.
- [11] Surface-tension. [Online]. Available: <http://www.surface-tension.de/>
- [12] Handbook of Tables for Applied Engineering Science. [Online]. Available: <http://www.engineering.uiowa.edu>
- [13] Solvent. [Online]. Available: <http://en.wikipedia.org/>
- [14] The look Chemicals. [Online]. Available: <http://www.lookchem.com/>
- [15] A. Azrina, I. Maznah, and A. H. Azizah, "Extraction and determination of oryzanol in rice bran of mixed herbarium UKMB; AZ 6807: MR 185, AZ 6808: MR 211, AZ6809: MR 29," *ASEAN Food Journal*, vol. 15, no. 1, pp. 89-96, 2008.
- [16] J. M. Lerma-García, M. J. Herrero-Martínez, F. E. Simó-Alfonso, B. R. C. Mendonça, G. Ramis-Ramos, "Review Composition, industrial processing and applications of rice bran γ-oryzanol," *Food Chemistry*, vol. 115, pp. 389-404, 2009.
- [17] Z. Xu and S. J. Godber, "Purification and identification of components of γ-oryzanol in rice bran oil," *Journal of Agricultural of Food Chemistry*, vol. 47, pp. 2724-2728, 1999.
- [18] S. Huang and L. Ng, "An improved high-performance liquid chromatographic method for simultaneous determination of tocopherols, tocotrienols and γ-oryzanol in rice," *Journal of Chromatography. A*, vol. 1218, pp. 4709-4713, 2011.



Duangkamol Ruen-Ngam graduated with bachelor degree from food technology in Faculty of Science, Chulalongkorn University, Thailand. In 2004, she further studied in master course in the field of chemical engineering at faculty of engineering in the same university and in 2008 studied more in doctoral course which got scholarship from RGJ in Thailand. During doctoral course she got a chance to do research at Kumamoto University, Japan. The special topic is extraction method for antioxidant and solubility in supercritical carbon dioxide. After she got doctoral degree she continued to be postdoctoral research in Kumamoto University, Japan on the special topic is hydrothermal treatment of hesperidin. Now she is a lecturer in department of biology, faculty of science, King Mongkut's Institute Technology Ladkrabang (KMITL), Bangkok, Thailand. Her research deals with extraction of antioxidant from plant and algae, gamma-oryzanol extraction from upland rice and hydrothermal treatment of plant to provide hydrogen.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alternative Extraction Methods for Oil with High Antioxidant Activity from Upland Rice Bran

Supakit Chaiteerapatarpong, Chitti Tawai, Duangkamol Ruen-ngam*

Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

Abstract

Upland rice-bran oil from Dawk Pa-yawn was extracted by maceration at 30°C and conventional extraction (soxhlet extraction). For maceration methods, there were many extraction parameters that had been considered such as rice bran and solvent ratio (1:2, 1:4, and 1:6 (w/w)), time for extraction (30 and 60 minutes) and types of organic solvent. The antioxidant activity was reported as IC₅₀ by DPPH method. There was no significant difference in the effect of extraction time on amount of extracted oil. Among examined solvent, acetone could give the highest amount of extracted oil at rice bran and solvent ratio of 1:4 (0.25 g/g rice bran). Even though acetone could be achieved the highest amount of extracted rice bran oil; however, its antioxidant activity was low compared to that extracted by ethanol. At the same extraction condition, the IC₅₀ from ethanolic crude extract was only 1.13 mg/ml whereas 6.82 mg oil/mg solvent was obtained from acetone. Therefore, the appropriate solvent for extraction of efficient antioxidant rice bran oil was ethanol. It was discovered that soxhlet extraction could give the same level of oil as maceration method, except extraction using ethanol. In comparison to the antioxidant activity between maceration and soxhlet extraction, it was found that the extracted oil by maceration (1.13 mg oil/ml solvent) and by soxhlet extraction (2.06 mg oil/mg solvent) were shown the same level of IC₅₀. Therefore, the rice bran oil extracted from maceration method had more efficient in antioxidant activity than that extracted from soxhlet method.

Keywords: Dawk Pa-yawn, Upland Rice bran oil, Maceration, Soxhlet, Antioxidant Activity

1. Introduction

Upland rice has grown on naturally well drained soils without surface water accumulation, normally without phreatic ground water supply, and normally not banded (Gupta et al., 1986). Upland rice has been described in many ways in different parts of the world especially in Asia, Africa and the America. As the same in milling process that there is rice bran left. The rice bran is well known source of nutrient and many manufacturers have extracted such compounds in form of oil. The beneficial components of rice bran comprise of sterols, higher alcohols, γ -oryzanol, tocopherols, isocoumarins and phenolic compounds (Aguiar-Garcia et al., 2007). The rice bran oil antioxidants are very efficient in reducing low density lipoprotein and total serum cholesterol. Oryzanol is a mixture of esters of ferulic acid with sterols and triisoprene alcohols. The major components of γ -oryzanol in rice bran are cycloartenyl ferulate, 24-methylene cycloartenyl ferulate and campestanol ferulate (Zhimin et al., 2001). Vitamin E is a generic term for a group of four tocopherols (α , β , γ and δ) and four tocotrienols (α , β , γ and δ), of which α -tocopherol has the highest biological activity (Duverney et al., 2005). Phenols are an important class of chemical compounds which can be divided into two subgroups according to their structure, p-hydroxybenzoic acid derivatives such as gallic, protocatechuic and syringic acids and hydroxycinnamic derivatives such as caffeic, ferulic, p-

coumaric and chlorogenic acids (Martins et al., 2011). These bioavailable materials have shown potential for antioxidant activity (Nam et al., 2005). Although natural rice bran oil has several constituents that are regarded as having health benefits, it has limited stability to oxidation and its overall color is considered unacceptable to consumers that might occur in extraction process (Zubair et al., 2012). Generally study of oil extraction has started with solvent extraction by means of maceration method (Manosri et al., 2010; Sultana et al., 2009) and soxhlet extraction (Imasanguan et al., 2008). Various solvent types including with hexane (Imasanguan et al., 2008; Chen et al., 2005; Rohrer et al., 2004), acetone (Renuka Devi et al., 2007) and ethanol (Renuka Devi et al., 2007; Kim et al., 2005) have been discovered to be extraction solvent in rice bran extraction. However there was no detail about comparison of the yield between two conventional extractions therefore the full fill of such basic knowledge should be done that will conduct in this research. The purpose of this study is to extract and quantify oil from Dawk Pa-yawn rice bran and to determine the antioxidant activity of the rice bran oil as a function of extraction parameters. The effect of solvent type, the ratio of rice bran and solvent and operation condition on the yield of extracted oil and the antioxidant activity were studied.

2. Materials and methods

2.1 Chemical and Materials

The rice bran, Dawk Pa-yawn, was available from Suratthani, Thailand. Solvents such as hexane, acetone and ethanol with AR grade were ordered from Honeywell chemicals (Honeywell chemicals Inc., Muskegon, USA). Chemicals such as 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was purchased from Sigma-Aldrich (St.Louis, Missouri).

2.2 Rice bran preparation

The rice bran was sieved by standard mesh (ASTM-E11-09, Endecotts, Endecotts Logistic Center, Inc.) with the size of lower than 850 μ m. The retrieved rice bran was kept at -20°C. The frozen rice bran was maintained at room temperature around 30°C prior to study. The moisture content of rice bran was about 10.88%.

2.3 Extraction methods

2.3.1 Maceration extraction

5.0-g of rice bran was mixed with hexane at various ratios of 1:2 1:4 and 1:6 (w/w) in an 250-ml Erlenmeyer flask then placed in orbital shaker at 200 rpm at 30°C. The extraction time was observed at 30 and 60 min. The solvent was then changed to acetone and ethanol. After extraction, the whole sample was filtered by Whatman filter paper No. 1 (pore size 20-25 μ m). The filtrate was then evaporated by a rotary vacuum evaporator (Heidolph basis hei-vap HL, Heidolph, Bechtel Bangkok Equipment & Chemical Co., Ltd) with various pressures according to the solvent was used; hexane (290 mbar) acetone (510 mbar) and ethanol (150 mbar) at 40°C. The retrieved rice bran oil was kept at -20°C.

2.3.2 Soxhlet extraction

5-g of rice bran was extracted by using a soxhlet apparatus (Wick extraction apparatus, Stanhope-seta, Stanhope seta Ltd.) with 200 ml of solvent and operated at boiling temperature of each solvent for 4 h.

The rice bran oil yield was calculated from the equation:

$$\text{Oil yield} \left(\frac{\text{g}}{\text{g rice bran}} \right) = \frac{\text{Weight of crude rice bran oil (g)}}{\text{Weight of rice bran in use (g)}}$$

2.4 Antioxidant activity

Determination of antioxidant activity of the rice bran oil was accomplished by DPPH radical scavenging method. The experiments were performed in triplicates. The seven different concentrations of rice bran oil (1, 5, 10, 15, 20, 25 and 30 mg/ml) were prepared. Then 100- μ l of each sample was transferred into well-plate and mixed with 100 μ l of 0.35 mM DPPH solution in ethanol. All samples were incubated at room temperature (30°C) for 30 min in the dark area. The decrease in absorbance was monitored at 517 nm by using a microplate reader (IEMS MF, Thermo LabSystems, Thermo LabSystems Inc.). The inhibition percentage was expressed using the following equation:

$$\text{Inhibition (\%)} = \left(\frac{1 - A_x}{A_0} \right) \times 100$$

when A_0 is absorbance of blank and A_x is absorbance of the tested sample. The inhibition percentage value was taken on the Graphpad prism 5.0 program for the half-maximal inhibitory concentration (IC_{50}) calculation.

2.5 Statistical analysis

The means and standard deviations of the oil yield and antioxidant activity were reported in triplicates determination. Multiple comparison tests were performed by One-way ANOVA with Duncan's New Multiple Rang Test that was used to test significant difference among various solvent types (hexane acetone and ethanol), rice bran and solvent ratio (1:2, 1:4 and 1:6) for maceration extraction at 30°C, and compare between extraction methods (maceration extraction and soxhlet extractions). Statistical significance was declared at $p < 0.05$.

3. Results and Discussion

3.1 Yield of rice bran oil

3.1.1 Effect of solvent type by the maceration method

Rice bran oil yield was extracted with hexane, acetone and ethanol by maceration extraction at 30°C for 60 min is presented in Figure 1. The extracted oil yield with acetone provided the highest amount of rice bran oil in all ratios of the rice bran and solvent (1:2, 1:4 and 1:6 (w/w)). In case of extracted oil yield by the ratio 1:6 of rice bran and hexane and acetone, respectively, gave the same amount 0.24 g/g rice bran. Considering the statistical analysis, there was no difference in the extracted oil yield by ratio 1:2, 1:4, and 1:6 of rice bran and hexane and acetone, respectively (Table 1). Rice bran oil extracted by ethanol was significantly lower than one by hexane and acetone. These results showed the same effect as Sreevathianawut et al. (2011). The extraction by ratio 1:2 of rice bran and hexane and acetone gave the higher rice bran oil amount than one by isopropanol. It was considered that, the lower solvent polarity usage, the higher oil yield of extraction.

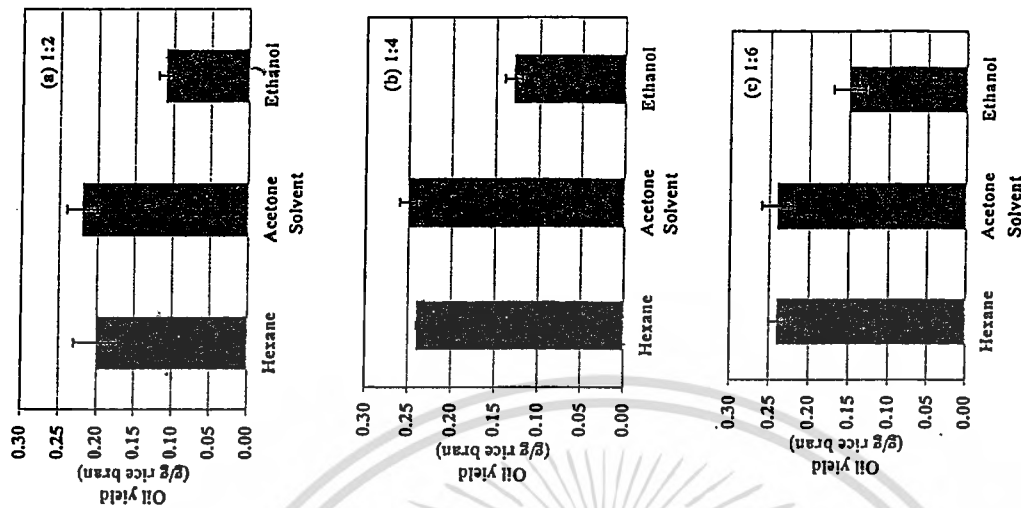


Figure 1 Effect of solvent type on oil yield using maceration method in various rice bran and solvent ratios (a) 1:2 (b) 1:4 and (c) 1:6

Table 1 Effect of solvent type on the yield of rice bran oil using maceration method

Solvents/ rice bran and solvent ratios (w/w)	Oil yield (g/g rice bran)		
	1:2	1:4	1:6
Hexane	0.20 ± 0.03 ^a	0.24 ± 0.00 ^a	0.24 ± 0.01 ^a
Acetone	0.22 ± 0.02 ^a	0.25 ± 0.01 ^a	0.24 ± 0.02 ^a
Ethanol	0.11 ± 0.01 ^b	0.13 ± 0.01 ^b	0.15 ± 0.02 ^b

Remark: Different letters in the same column are statistical difference at $P < 0.05$

3.1.2 Effect of rice bran and solvent ratio

Rice bran oil yield, that extracted by ratio 1:2 of rice bran and hexane was the significant lowest than the ratios of 1:4 and 1:6, respectively (Table 2). Oil yield extracted at the ratio of 1:4 by using acetone gave the maximal rice bran oil. Meanwhile, the extraction of rice bran oil by ratio 1:2, 1:4 and 1:6 with acetone provided the same amount without statistically difference. In case of ethanol extraction, the extracted oil was gradually increased when the ratio of rice bran and solvent was low. The ratio of 1:6 gave the significant extracted oil yield among the other (Table 2). It was found that, all experiments presented more amount of extracted oil when the ratio of rice bran and solvent was low. In comparison to Sereawathanavut et. al. (2011), when the rice bran and solvent of 1:2, 1:5 and 1:10 ratio, it obtained amount of oil at 23.44, 23.68 and 25.61%, respectively.

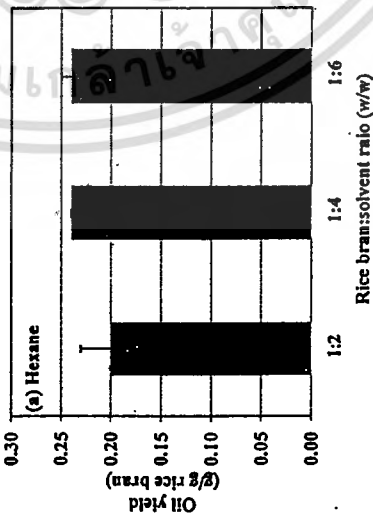


Figure 2 Effect of rice bran and ratio on oil yield using maceration method in various solvent types (a) hexane (b) acetone and (c) ethanol

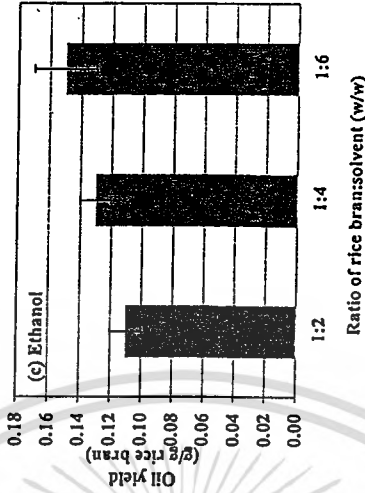
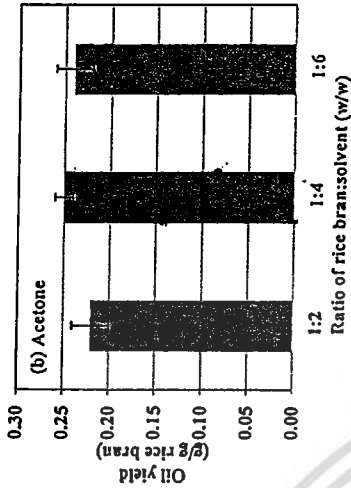


Figure 2 (con.) Effect of rice bran and ratio on oil yield using maceration method in various solvent types (a) hexane (b) acetone and (c) ethanol

Table 2 Effect of rice bran and solvent ratio on the oil yield of rice bran .

Rice bran:solvent ratio (w/w)/ solvent	Oil yield (g/g rice bran)		
	Hexane	Acetone	Ethanol
1:2	0.20 ± 0.03 ^a	0.22 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.01 ^b
1:4	0.24 ± 0.00 ^a	0.25 ± 0.01 ^a	0.13 ± 0.01 ^b
1:6	0.24 ± 0.01 ^a	0.24 ± 0.02 ^a	0.15 ± 0.02 ^b

Remark: Different letters in the same column are statistical difference at $P < 0.05$

3.1.3 Effect of extraction method

The extraction by Soxhlet apparatus, the highest amount of rice bran oil around 0.36 g/g rice bran was obtained by ethanol, which was higher than hexane and acetone as demonstrated in Figure 3 and Table 3. For maceration extraction, the suitable conditions for extraction of rice bran oil (0.22 g/g rice bran) was ratio 1:2 of rice bran and for 60 min. In Figure 3 and Table 2, it was found that Soxhlet extraction gave the significantly higher oil yield than the Maceration extraction. Because of using the heat to boil the solvent might reduce viscosity of the solvent and degraded the material as well. In fact, Soxhlet extraction is wasteful, because it uses more of both solvent and extraction time compared to the maceration. In addition, it can also damage essential extract in rice bran. The maceration extraction is a good alternative for rice bran oil extraction.

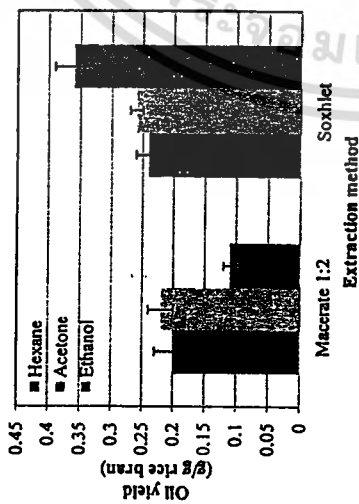


Figure 3 Effect of extraction method on oil yield

Table 3 Effect of extraction method

Methods	Oil yield (g/g rice bran)
Maceration (Acetone, 1:2)	0.22±0.02 ^b
Soxhlet (Ethanol)	0.36±0.03 ^a

Remark: Different letters in the same column are statistical difference at $P < 0.05$

3.2 Antioxidant activity by maceration method

3.2.1 Effect of solvent type

Results of solvent effect on the antioxidant activity of rice bran oil extracted by maceration method demonstrates in Figure 4. For the antioxidant activity, rice bran oil from ethanol extraction showed the highest level than one from acetone and hexane extraction, respectively, with statistically difference. (Fig. 4 and Table 4). The rice bran oil from ethanol extraction might contain the high polarity compounds resulting in maximal antioxidants. On the other

hand, the hexane and acetone extraction provided the rice bran oil that contained the low polarity substances. Sereewathanawut et. al. (2011) showed that rice bran oil contained the three groups with the ability of biologically active substances, were oryzanol, vitamin E and phenolic compounds. Zigoneanu et. al. (2008) discovered that when isopropanol was used as the extraction solvent, which is higher polarity than hexane. Isopropanol can extract a group of tocol (vitamin E), rather than using hexane as a solvent resulted to high antioxidant activity obtained. Sereewathanawut et. al. (2011) showed that when acetone was used as the extraction solvent, which is higher polarity than hexane, resulted to get γ -oryzanol, rather than using hexane as a solvent whereas group of phenolic compounds. And Lai et. al. (2009) reported that when methanol was used as an extraction solvent, which is higher polarity than hexane, methanol can extract high content of phenolic compounds, rather than using hexane as a solvent.

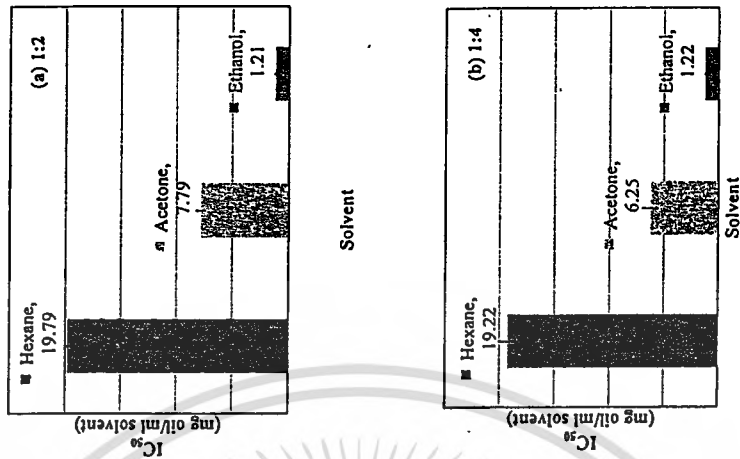


Figure 4 Effect of solvent type on antioxidant activity by maceration methods in various rice bran and solvent ratios (a) 1:2 (b) 1:4 (c) 1:6

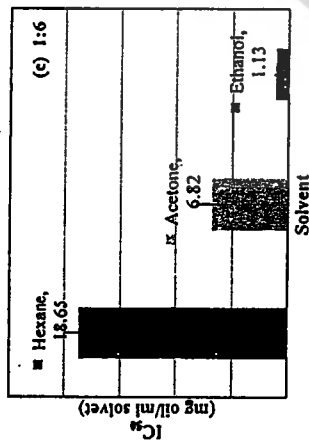


Figure 4 (con.) Effect of solvent type on antioxidant activity by maceration methods in various rice bran and solvent ratios (a) 1:2 (b) 1:4 (c) 1:6

Table 4 Effect of solvent type on the yield of rice bran oil using maceration method

Solvents/ Rice bran:solvent ratios (w/w)	IC ₅₀ (mg oil/ml solvent)		
Hexane	1:2	1:4	1:6
	19.79 ± 0.09 ^c	19.22 ± 0.83 ^c	18.65 ± 1.20 ^a
Acetone	7.79 ± 0.43 ^b	6.25 ± 0.76 ^b	6.82 ± 1.41 ^b
Ethanol	1.21 ± 0.09 ^a	1.22 ± 0.10 ^a	1.13 ± 0.15 ^a

Remark: Different letters in the same column are statistical difference at $P < 0.05$

3.2.2 Effect of rice bran and solvent ratio

Figure 5 shows the difference of antioxidant activity in rice bran oil that retrieved from various extractions. By maceration extraction with hexane, the ratio 1:2 to 1:6 of rice bran and solvent gave the same significant level of antioxidant activity (Table 5). Antioxidant activity of rice oil was the same when acetone and ethanol were used as an extraction solvent. There was no significant different.

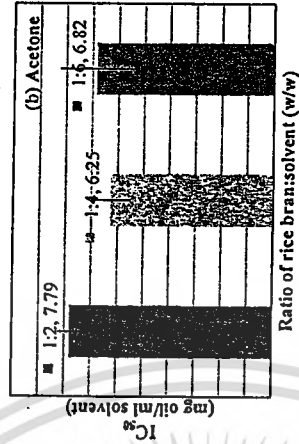
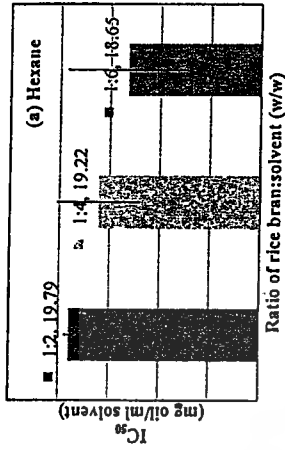


Figure 5 Effect of rice bran and solvent ratio on antioxidant activity by maceration method in various solvent types (a) hexane (b) acetone (c) ethanol

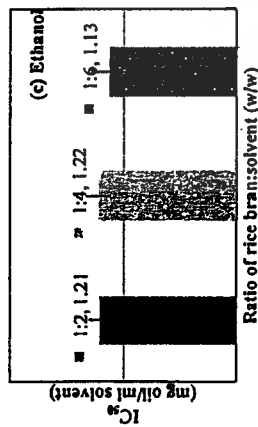


Figure 5 (con.) Effect of rice bran and solvent ratio on antioxidant activity by maceration method in various solvent types (a) hexane (b) acetone (c) ethanol

Table 5 Effects of ratio on the yield of rice bran oil

Rice bran:solvent ratios (w/w)/ solvents	IC ₅₀ (mg oil/ml solvent)		
	Hexane	Acetone	Ethanol
1:2	19.79 ± 0.09 ^a	7.79 ± 0.43 ^a	1.21 ± 0.09 ^a
1:4	19.22 ± 0.83 ^a	6.25 ± 0.76 ^a	1.22 ± 0.10 ^a
1:6	18.65 ± 1.20 ^a	6.82 ± 1.41 ^a	1.13 ± 0.15 ^a

Remark: Different letters in the same column are statistical difference at $P < 0.05$

3.2.3 Effect of extraction method

Soxhlet extraction, ethanol gave the highest antioxidant activity around 2.06 mg oil/ml solvent of IC₅₀ than the acetone and hexane extraction, respectively. For maceration extraction, ratio 1:2 of rice bran and ethanol gave the maximal antioxidant activity (around 1.21 mg oil/ml solvent of IC₅₀). In case of IC₅₀, ethanol extraction by maceration presented the higher level than one with Soxhlet extraction at significantly difference (Fig. 6 and Table 6).

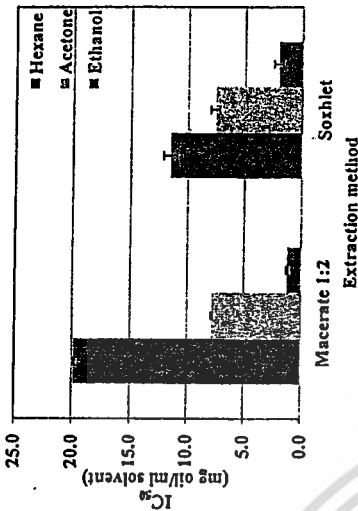


Figure 6 Effect of solvent type on antioxidant activity using maceration and soxhlet extraction

Table 6 Effect of solvent type on antioxidant activity using maceration and soxhlet extraction

Methods	IC ₅₀ (mg oil/ml solvent)
Maceration (Ethanol, 1:2)	1.21 ± 0.09 ^a
Soxhlet (Ethanol)	2.06 ± 0.41 ^b

Remark: Different letters in the same column are statistical difference at $P < 0.05$

4. Conclusions

The extractions of Upland rice-bran oil from Dawk Pa-yawn were observed by maceration at 30°C and conventional extraction (soxhlet extraction). The rice oil yield (0.22 g/g-rice bran) was maximized by maceration extraction with ratio 1:4 of rice bran and acetone. Ethanol could extract highest concentration of antioxidant compounds than acetone and hexane, respectively. The maximal IC₅₀ was around 1.21 mg oil/ml solvent. Maceration was useful alternative method for antioxidant extraction.

References

- [1] Aguilar-Garcia, C., Gavino, G., Baragano-Mosqueda, M., Hevia, P. and Gavino, V., 2007. Correlation of tocopherol, tocotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays, *Food Chemistry*, 102, 1228–1232.
- [2] Chen, M.H. and Bergman, C.J., 2005. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and γ -oryzanol contents, *Journal of Food Composition and Analysis*, 18(2–3), 139–151.

- [3] Diversmy, W.H., Assad, J.M., Sabliov C.M., Lima M. and Xu Z., 2005. Microwave extraction of antioxidant components from rice bran, *Pharmaceutical Engineering*, 25, 126-130.
- [4] Gupta, P.C. and O'Toole, J.C., 1986. *Upland rice: a global perspective*, Laguna, Philippines, International Rice Research Institute, 375 p.
- [5] Insanguan, P., Roysubstavee, A., Borirak, R., Pongamphai, S., Douglas, S. and Douglas, P. L., 2008. Extraction of α -tocopherol and γ -oryzanol from rice bran, *LWT-Food Science and Technology*, 41(8), 1417-1424.
- [6] Kim, J.-S., 2005. Radical scavenging capacity and antioxidant activity of the E vitamin fraction in rice bran, *Journal of Food Science*, 70(3), C208-213.
- [7] Lal, P., Li, K. Y., Lu, S. and Chen, H. H., 2009. Phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from Japonica rice bran, *Food Chemistry*, 117(3), 538-544.
- [8] Manosroi, A., Ruksirivanich, W., Abe, M., Sakai, H., Manosroi, W. and Manosroi, J., 2010. Biological activities of the rice bran extract and physical characteristics of its entrapment in niosomes by supercritical carbon dioxide fluid, *The Journal of Supercritical Fluids*, 54(2), 137-144.
- [9] Martins, S., Mussatto, S. I., Martínez-Avila, G., Montañez-Saenz, J., Aguilar, C. N. and Teixeira, J. A., 2011. Bioactive phenolic compounds: production and extraction by solid-state fermentation: A review, *Biotechnology Advances*, 29(3), 365-373.
- [10] Nam, S. H., Choi, S. P., Kang, M. Y., Kozukue, N. and Friedman, M., 2005. Antioxidative, antimutagenic, and anticarcinogenic activities of rice bran extracts in chemical and cell assays, *Journal of agricultural and food chemistry*, 53(3), 816-822.
- [11] Renuka Devi, R. and Arumughan, C., 2007. Antiradical efficacy of phytochemical extracts from defatted rice bran, *Food and chemical toxicology*, 45(10), 2014-2021.
- [12] Renuka Devi, R. and Arumughan, C., 2007. Phytochemical characterization of defatted rice bran and optimization of a process for their extraction and enrichment, *Bioresource technology*, 98(16), 3037-3043.
- [13] Rohrer, C. A. and Siebenmorgen, T. J., 2004. Nutritional concentrations within the bran of various rice kernel thickness fractions, *Biosystems engineering*, 88(4), 453-460.
- [14] Sereewathanawut, I., Baptista, I. I. R., Boam, A. T., Hodgson, A. and Livingston, A. G., 2011. Nanofiltration process for the nutritional enrichment and refining of rice bran oil, *Journal of food engineering*, 102(1), 16-24.
- [15] Sultana, B., Anwar, F. and Ashraf, M., 2009. Effect of extraction solvent/technique on the antioxidant activity of selected medicinal plant extracts, *Molecules*, 14(6), 2167-2180.
- [16] Zhimin, X., Na, H. and Samuel, G. J., 2001. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and γ -oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,2'-azobis(2-methylproprionamide) dihydrochloride, *Journal of Agriculture and Food*, 49(4), 2077-2081.
- [17] Zigueanu, I. G., Williams, L., Xu, Z. and Sabliov, C. M., 2008. Determination of antioxidant components in rice bran oil extracted by microwave-assisted method, *Bioresource technology*, 99(11), 4910-4918.
- [18] Zubair, M., Anwar, F., Ashraf, M. and Uddin, Md. K., 2012. Characterization of high-value bioactives in some selected varieties of Pakistani rice (*Oryza sativa* L.), *International Journal of Molecular Sciences*, 13, 4608-4622.

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Microwave Pretreatment for Lipase Retardation in Rice Bran

Vanapron Sae-ang, Chitti Tawai, Duangkamol Ruen-ngam

Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology
Lakrabang, Bangkok 10520, Thailand

Abstract

Rice bran is one of the by-products from milling process. Rice bran contains many types of nutrients, including many types of antioxidant, such as vitamin E and γ -oryzanol; therefore nowadays manufactures aim to extract such compounds in the form of rice bran oil. However rice bran also includes lipase which can degrade oil to free fatty acids and glycerol, resulting in rancidity. Moreover, lipase activity might be decreasing the amount of antioxidant (γ -oryzanol). Microwave heating is one well-known method for reducing activity of such enzymes. This research proposes the microwave method to retard lipase activity and maximize the amount of γ -oryzanol and antioxidant ability of extracted rice bran oil. The effect of Microwave Power was examined at 450, 650 and 800 watts for 1 minute, and 800 watts for various heating times from 1 to 15 minutes. Results showed that the amount of free fatty acid reduced sharply to 0.28 mol/l (650 watt) at the first minute whereas γ -oryzanol increased sharply and reached the maximum at 6.32 g/l (800 watt). Both parameters were stable until the end of the operating time (15 minutes). The antioxidant activity was measured by ABTS and DPPH; it was found that 650 watt of Microwave Power for 1 minute could achieve the maximum in ABTS activity around 56.01% whereas DPPH activity reached a maximum at 41.05% (800 watt 3minutes).

Keywords: microwave, rice bran, γ -oryzanol, antioxidant, lipase

1. Introduction

Rice appears in most main dishes in Thailand and many other countries in Asia. About 20 million tons per year of rice is the main export product of Thailand generating about 1.6 million tons of rice bran as waste from rice milling process (USDA Foreign Agricultural Services, 2010). Rice bran is located between rice husk and rice grain and contains beneficial nutrients such as protein, lipid, crude fiber, vitamin B complexes, and minerals, and also natural antioxidants including γ -oryzanol, tocopherols, and tocopherols (Chen and Bergman, 2005; Lerma-Garcia et al., 2009; Saunders, 1985). One of the phytochemicals which is found at high concentration in rice is γ -oryzanol, a group of ferulic acid esters of phytoosterols and triterpene alcohols (Pironen et al., 2000, Cheruvanky, 2003.). These γ -oryzanol derivatives have been found in only a very limited number of oils and they are the most important

phytochemical components in rice bran oil, present at 13-20 times (w/w) greater than total tocopherols and tocotrienols (Bergman et al., 2003). The γ -oryzanol mainly comprises four esters, cycloartanylferulate, 24-methylene cycloartanylferulate, β -sitosteranylferulate and campesterol ferulate (Akiyama et al., 2002). All these compounds are good for health and have scavenging antioxidant activity (Qureshi et al., 2002). Such antioxidants have the potential to reduce the risk of disease, such as inhibiting platelet aggregation, the risk of coronary heart disease, cancer, and preventing oxidative damage to lipid and low-density lipoproteins (Danieli et al., 1999, Martinez-Vaquerde, et al., 2000, Newmark, 1996, Morton, et al., 2000).

Rice bran is also a source of oil, and it comprises more than 20% of its weight. The high oil content of bran makes it subject to rancidification, one of the reasons that the bran is often separated from the grain before storage or further processing therefore stabilizing rice bran is important. Lipase, by exposing the free fatty acids increases their liability to undergo oxidation and this will also promote degradation of the associated antioxidants (Mukherjee et al., 1994). A stabilization step to decrease lipase activity is therefore indispensable but should be as gentle as possible to retain a maximum level of nutrients. Various stabilizing processes for rice bran have been examined, including parboiling, hot air drying, cold room keeping, microwave heating, pH regulation, to increase its longevity (Carrol, 1990; Juliano, 1994; Anil Kumar et al., 2006; Prabhakar and Venkatesh, 1986; Prabhakar, 1987; Amarasinghe, Kummasiri, & Gangodavillage, 2009; Thanonkaew et al., 2012). In another report, the stabilization of rice bran by extrusion cooking process at 130°C showed no significant increase in fatty acid content during at least 30-60 days' subsequent storage (Randall et al., 1985). Subjecting rice bran to short time heating by the microwave is a simple and quick technique for reducing lipase activity by means of the destruction of active lipases and peroxidases (Saunders, 1990, Lakkakula et al., 2004; Lehtinen et al., 2003), however, there are no reports concerning treatment conditions such as microwave power and heating time. This report investigates these issues.

2. Materials and methods

2.1 Material

Rice bran was by product from milling process of rice named Kor-khor 49 that is grown in the northern and central of Thailand. The solvents used n-hexane and ethanol were purchased from Macron. Phosphate buffer (pH 7) was purchased from Panreac. BHT (2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol) was purchased from Fluka. Trolox, DPPH and ABTS were purchased from Sigma-Aldrich.

2.2 Stabilization by Microwave Heating

Rice bran (5 g) was spread over plate for microwave heating (GE87Q-S, Samsung). All experiments were conducted at frequency of 2450 MHz (Thanonkaew et al., 2012). Electric power was controlled at 450, 650 and 800-W. The effect of heating time was varied from 5 to 30 minutes following the method of Ramezanzadeh et al., (1999). After treatment all samples were kept in plastic bags at -20 °C until they were analyzed.

2.3 Lipase Extraction (Loypimai et al., 2009)

After treatment, lipid was extracted from the bran with 25 ml of n-hexane in separating funnel for 30 minute (2 cycles). (Korakoch, 1997) The extracted oil was transferred to under vacuum evaporator at 40 °C for solvent removal. Calcium chloride (0.5 mM) in 50 ml of 0.05 M phosphate buffer (pH 7) was mixed with the oil at 10°C for 30 minutes (Ramani et al., 2010) then centrifuged at 3000 rpm at 4°C for 15 minutes (Vrushali et al., 2009). Supernatant was collected for lipase activity determination.

2.4 Lipase Activity Measurement (Krittidech, 1989; Napatporn, 2008).

Lipase activity was determined by titrimetric assay modified from Ramani et al. (2010). The supernatant of lipase extract (4 ml) was added to 2 ml of olive oil emulsion which was prepared by emulsifying 10% olive oil in distilled water and mixed in 0.09 % (w/v) polyvinyl alcohol and then adjusted pH by adding in 2 ml of 0.2 M phosphate buffer (pH 7.0). The enzyme-substrate mixture was incubated on a shaker 200 rpm for 10 min then added 20 ml of mixing acetone:alcohol (1:1) to terminate the reaction. Fatty acid was titrated against 0.05 M NaOH using phenolphthalein as indicator. The fatty acid content was calculated using the following equation;

$$M_1V_1 = M_2V_2$$

Where M_1 is normality of fatty acid (mol/l), V_1 is volume of titrated solution (4 ml), M_2 Normality of NaOH (0.05 mol/l), V_2 is volume of NaOH (ml) used.

2.5 γ -Oryzanol Extraction

Five g of rice bran was extracted with 25 ml of n-hexane with shaking time of 30 minutes. The extraction was done in triplicate. The remaining solvent was removed by vacuum evaporator then the crude extract was stored in the dark at -20 °C. Determination of γ -oryzanol content in crude rice bran oil was by the method of Mezouari and Eichner's research (2007).

2.6 γ -Oryzanol Content Determination (Mezouari and Eichner, 2007)

Rice bran crude oil was diluted 500 times with n-hexane, so that the absorbance was between 0.3-0.5 measured by a UV spectrometer at 315 nm (U-2800A: UNICO, Shimadzu, Japan) (Thanonkaew et al, 2012). A standard curve of γ -oryzanol was prepared with concentration of 0, 4, 8, 12, 16 and 20 μ g/ml. The concentration of γ -oryzanol within rice bran oil was calculated according to the following equation; (Kaewkool et al, 2011).

$$\gamma\text{-oryzanol } (\mu\text{g}) = \frac{\text{Dilution factor} \times \text{Absorbance at 315 nm.}}{\text{slope of A standard curve} \times 1000}$$

2.7 Antioxidant activity determination (ABTS and DPPH) (Thaipong et al, (2006); Kim et al, (2003)

Antioxidant activity in the crude oil was measured on the basis of the scavenging activity of the stable 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) free radical and 2,2'-azobis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid (ABTS). ABTS with concentration of 7.29 mM in water and 2.5 mM Potassium persulfate ($K_2S_2O_8$) in water, then mixed together in the ratio of 2:1 (stock solution). This solution was kept for 12-16 h in the dark prior to use then it was diluted with ethanol to get an absorbance 0.7-0.9 nm at 734 nm by spectrophotometer. ABTS solution was mixed with crude extract at different concentrations (0.5, 1.0 and 1.5 mg/ml) in the ratio of 3 ml:10 μ l and then was kept in the dark for 1 minute. All measurements were done in triplicate. Measurement the absorbance at 734 nm with spectrophotometer (2800 A UV/VIS: UNICO). The scavenging effect (%) was derived by the following equation (Yen and Duh, 1994).

DPPH radical scavenging activity assay was done according to (Braica et al., 2002; Rahiman et al., 2013). Freshly prepared ethanolic solution of DPPH (0.5 mM) was kept in the dark at 4°C before use. 100 μ l of DPPH solution was added to 100 μ l of extract solution with different concentrations (0.5, 1.0 and 1.5 mg/ml). The mixture was kept in dark for 30

minutes. All measurements were done in triplicate. The absorbance at 492 nm was measured using a Microplate reader (LabSystems: EMS Reader MF). The scavenging (%) was derived by the following equation.

$$\text{Scavenging activities } (\%) = \frac{(A_b - A_s)}{A_b} \times 100$$

where A is absorbance value of tested solution, B is absorbance value of control solution.

2.8 Statistical analysis.

Analysis means of free fatty acid content, γ -oryzanol content and antioxidant activity by both DPPH and ABTS assay. Statistical analysis of data was performed using one-way analysis of variance (ANOVA). Mean comparison was carried out using Duncan's multiple range test (Steel & Torrie, 1980). The statistical analysis was performed by SPSS 22.0. A p value < 0.05 (95 %) was considered significant.

3. Results and discussion

3.1 Amount of fatty acid

3.1.1 The effect of heating power

Stability of fatty acid in the rice bran was tested in various heating powers; 450 650 and 800 watt by using microwave. The remaining fatty acid in the rice bran at the various powers with 1 minute operation was similar as shown in Table 1. Among the various heating powers demonstrates that the operating power at 450 W got the lowest amount of fatty acid remaining at 0.26 \pm 0.018 mol/l whereas the operating power at 650 W got the highest amount of remaining fatty acid at 0.28 \pm 0.007 mol/l. Statistical analysis data in Table 1 demonstrated that increasing heating power to 650 W was significantly different to 450 W, however, further increasing heating power up to 800 W seemed no significant difference to 450 W. It is might be that the heating power at 800 W can inactivate lipase activity which be responsible for hydrolytic so reducing the fatty acids content (Tao, 1989). The usage of stabilization by microwave was appeared in Thanonkaew's research for controlling enzyme activity in rice bran by microwave at 800 W 3 minutes by reducing the percentage of free fatty acid from 5.58 to 3.14%.

The above information showed that the heating 450 W was significantly sufficient level for lipase activity inhibition down to 16% compared to the control at the significant level of 95% as shown in Table 1 and the trend of the amount of fatty acid depicted in Figure 1.

Table 1 Fatty acid content in rice bran after treatment by microwave at various powers for 1 minute

Microwave power (watt)	Fatty acid content (mol/l)
control	0.31±0.002 ^a
450	0.26±0.018 ^a
650	0.28±0.007 ^b
800	0.26±0.002 ^a

Note: Different letters in the same column are statistical difference at significant level of 95%.

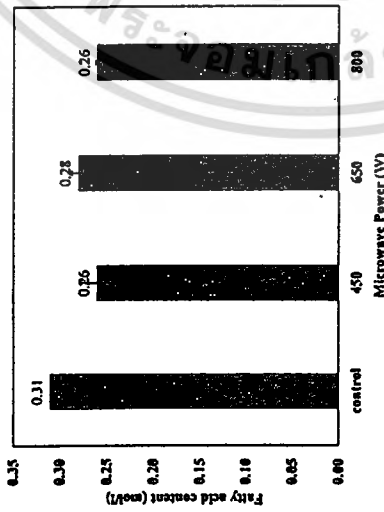


Figure 1 The effect of microwave heating powers (450, 650 and 800 W) on amount of fatty acid with heating time 1 minute

3.1.2 The effect of heating time

The effect of microwave heating time demonstrates in form of the amount of fatty acid content in rice bran. The reducing in amount of fatty acid means the increasing in lipase inhibition. The experiment found that the amount of fatty acid reduced obviously from 0.31 to 0.17 mol/l within 3 minutes heating time as shown in Figure 2 and Table 2. Longer heating time than 3 minutes, the amount of fatty acid is stable and kept constant at 0.17 mol/l. The result found that heating time only 3 minutes enough to stabilize the rice bran and obviously cleared that no significant difference was observed for longer heating time more than 3 minutes at significance level of 95% as the same superscript for longer heating time shown in Table 2. Moreover the amount of fatty acid which was pretreated by microwave heating can stabilize the fatty acid in rice bran that the amount of fatty acid is significantly lower compared the controlled condition at significance level of 95%. These results are in the same trend according to Lakkakula et al (2004)'s research that using Ohmic heating by microwave, the amount of fatty acid has less than the untreated rice bran. It is because of broken down of lipase results to reducing in the amount of fatty acid. Moreover Thanonkaew et al.'s research

(2012) investigated to maintain the enzyme activity with an electric power 800 W of microwave for 3 minutes at a temperature 150 ± 2 °C, detecting the amount of fatty acids remaining around 3.17 ± 0.27 % as the same as Kim et al.'s research in 2014 used microwave power at 1200 W for 5 minutes retarded the enzyme activity.

Table 2 Fatty acid content in rice bran stabilized by microwave heating at 800 W with various heating times; 1, 3, 6, 9, 12 and 15 minutes

Time (minute)	Fatty acid (mol/l)
0 (control)	0.31±0.002 ^a
1	0.23±0.003 ^b
3	0.17±0.022 ^a
6	0.17±0.004 ^a
9	0.17±0.004 ^a
12	0.16±0.008 ^a
15	0.17±0.005 ^a

Note: Different letters in the same column are statistical difference at significant level of 95%.

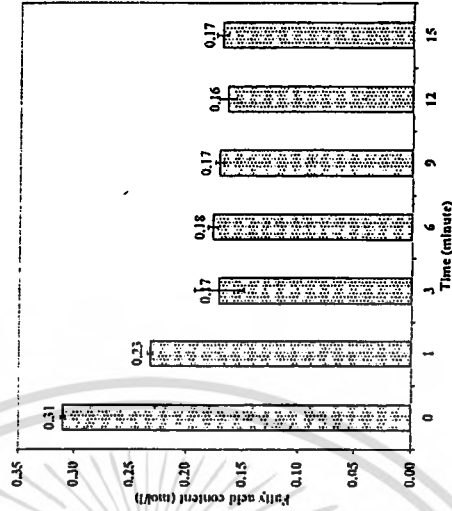


Figure 2 The effect of microwave heating times (1 to 15 minutes) at 800 W on amount of fatty acid

3.2. Amount of γ -oryzanol

3.2.1 Effect heating power

Natural antioxidant which is major found in rice bran is γ -oryzanol (Saunders, 1985, Qureshi et al., 2002). γ -oryzanol is appeared in rice bran oil that can be extracted by non-polar organic solvent extraction. The effect of microwave heating power was tested with various powers such as 450, 650 and 800 W for 1 minute. The amount of γ -oryzanol slightly increased with microwave heating power and obtained the highest concentration of γ -oryzanol in rice bran oil is around 6.32 ± 0.74 g/l as shown in Table 3 and Figure 3. Statistical analysis in the effect of heating power was not significantly different on the concentration of γ -oryzanol at significant level of 95% as shown the same superscript letters in Table 3. The research about γ -oryzanol obtained along with heating time was scarcely found from the past, however, there was some research by Thanonkaew et al.'s research (2012) conducted the research by using microwave at power of 800 W in 3 minutes discovered that γ -oryzanol was available at 2.25 g/100 g oil.

Table 3 γ -oryzanol content in rice bran from stabilization by microwave heating with various powers for 1 minute

Microwave power (watt)	γ -oryzanol content (g/l)
450	5.04 ± 1.19^a
650	6.16 ± 0.76^a
800	6.32 ± 0.74^a

Note: Different letters in the same column are statistically different at significant level of 95%.

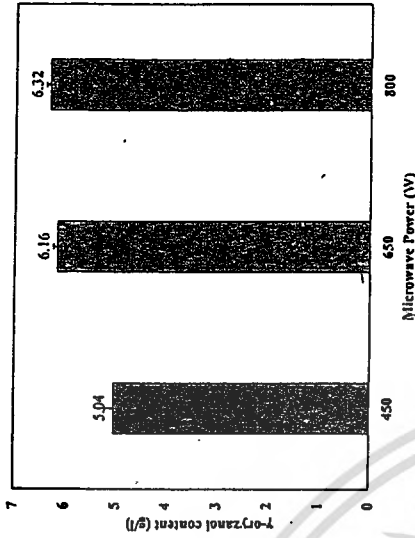


Figure 3 The effect of microwave heating powers (450, 600 and 800 W) on amount of γ -oryzanol content with heating time of 1 minute.

3.2.2 Effect of heating time

The concentration of γ -oryzanol is stable although heating time increases from 1 to 15 minutes and got the highest value at 5.17 ± 0.7 g/l as depicted in Figure 4. Statistical analysis of the effect of various heating times; 1, 3, 9 and 15 minute were not significantly different at significance level of 95% as shown in Table 4. The result implied that longer time treatment cannot be advantage for increasing the γ -oryzanol or stabilizing the enzyme. The result was in the same level of Thanonkaew et al.'s research (2012)

Table 4 γ -oryzanol content in rice bran from stabilization by microwave heating with power of 800 W for varies the heating times; 1, 3, 9 and 15 minutes.

Time (minutes)	γ -oryzanol content (g/l)
1	4.13 ± 0.87^a
3	4.78 ± 0.54^a
9	4.65 ± 0.11^a
15	5.17 ± 0.70^a

Note: Different letters in the same column are statistically different at significant that considered significant 95%

Table 5 Antioxidant activity (%) of rice bran oil from stabilization by microwave heating on each power for 1 minute

Microwave power (W)	Antioxidant activity (%)	
	ABTS assay	DPPH assay
450	55.16 ^a	27.25 ^a
650	56.01 ^a	30.99 ^a
800	55.16 ^a	29.89 ^a

Note: Different letters in the same column are statistically different at significant level of 95%

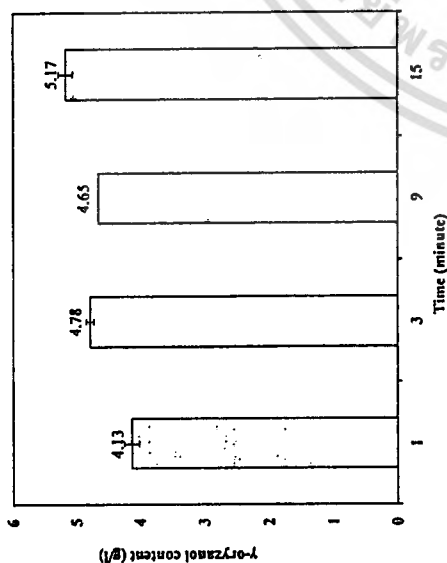


Figure 4 The effect of microwave heating times (1, 3, 9 and 15 minutes) on amount of γ -oryzanol content with power of 800 W

3.3 Antioxidant Activity

3.3.1 Effect of heating power

Scavenging effect of ABTS scavenging activity, stabilization rice bran by using various microwave powers as shown in Figure 5 found that antioxidant activity was constant around 55%. Statistical analysis of the microwave power heating at 450 650 and 800 watt were not significant difference at level of 95%. The results were discovered the same trend as in DPPH scavenging activity and was not significant difference at considered 95%. Uquiche et al, 2008 was found that stabilizing process of rice bran can reduce the oxidation of fatty acid resulted to increase antioxidant activity as well. Moreover microwave stabilization had the highest effectiveness compared to the stability of the roast and steam. The DPPH scavenging activity was studied in Arab et al.'s research (2011). The DPPH assay was tested in two types of rice bran, which was treated with microwave of 550 W for 3 minutes, found that antioxidant activity was available around 70%. Iqbal et al, 2005 used microwave heating at 550 W with heating time of 3 minutes, the results of antioxidant activity by DPPH assay was obtained in range of 20.6 – 30.6%. From upper information found that the results in Figure 5 were in the same range of the previous researches. The effect of microwave power was not significant difference as demonstrated in Table 5.

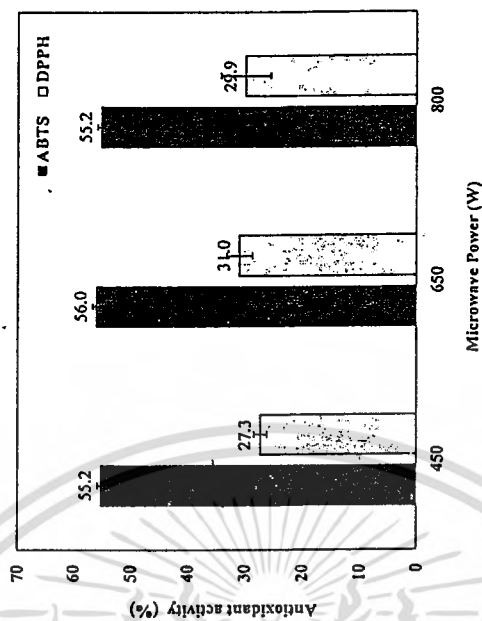


Figure 5 Antioxidant activity of ABTS and DPPH assay of treated rice bran by microwave at various powers; 450, 650 and 800 W with heating time 1 minute

3.3.2 Effect of heating time

The scavenging effect of ABTS scavenging activity in various sterilized time of rice bran was depleted in Figure 6. The ABTS scavenging activity was same in all various stabilized times whereas DPPH assay increased remarkably with time at the range of stabilized time from 1 to 3 minutes that got the highest value around 41.05% at such time and then stabled along with stabilized time as demonstrates in Figure 6. At stabilized time of 3 minutes can increase the DPPH vale around 55.09%. Statistical analysis showed in Table 6 demonstrates that the heating time of 1 minute is significant difference with 3 minutes at significant level of 95 %. The result had the same as Thanonkaew et al (2012)'s research that domestic heating with

heating power 800 W for 3 minutes can enhance the DPPH scavenging by 35% compared to control condition (30%).

Table 6 Antioxidant activity (%) of rice bran oil from stabilization by microwave heating at 800 watt for varies the heating time 1, 3, 9 and 15 minute

Time (minute)	Antioxidant activity (%)	
	ABTS assay	DPPH assay
1	48.39 ^a	26.47 ^a
3	44.59 ^a	41.05 ^a
9	48.82 ^a	35.75 ^a
15	45.85 ^a	38.44 ^a

Note: Different letters in the same column are statistically different at significant level of 95%

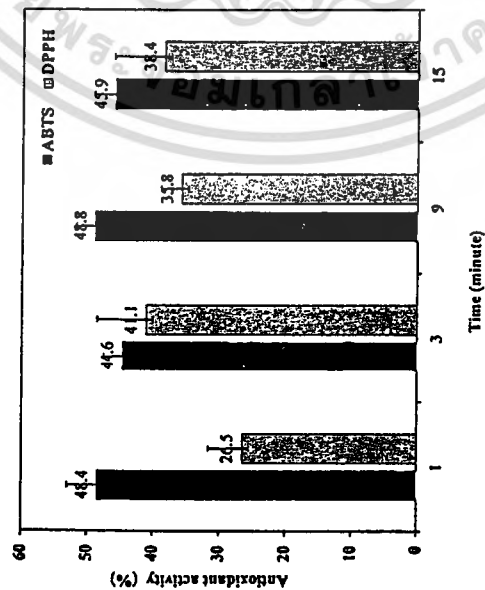


Figure 6 Antioxidant activity of ABTS and DPPH assay of treated rice bran by microwave at the power 800 W with heating time; 1, 3, 9 and 15 minutes

4. Conclusions

Microwave heating was domestic method that can stabilize rice bran oil. The heating power of 450 W in only 1 minute can retard lipase oxidation by reducing the free fatty acid content and γ-oryzanol in oil product. Moreover the stabilized rice bran oil has high ability according to ABTS and PPH assay.

References

- [1] Akiyama, Y., Hori, K., Takahashi, T. and Yoshiki, Y. 2005. Free radical scavenging activities of γ-oryzanol constituents, Food Science and Technology Research, 11, 296-297.
- [2] Amarsinghe, B.M.W.P.K., Kumarsir M.P.M. andGangodavilage., N.C. 2009. Effect of method of stabilization on aqueous extraction of rice bran oil, Food and Bioproducts Processing, 87(2), 108-114
- [3] Anil Kumar, H.G., Khatoon, S., Prabhakar, S., Prabhakar, D.S. and Gopala Krishna, A.G. 2006. Effect of cooking of rice bran on the quality of extracted oil, J Food Lipids, 13(4), 341-353.
- [4] Araba, F., Alenzadehb, I. and Maghsoudi, V. 2011. Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract, Scientialranica C, 18 (6), 1402 -1406.
- [5] Bergman, C. J. and Xu, Z. 2003. Genotype and environment effects on tocopherols, tocotrienols and gamma-oryzanol contents of southern US rice, Cereal Chemistry Journal, 40, 446-449.
- [6] Braca, A., Sortino, C. and Politi, M. 2002. Antioxidant activity of flavonoids from Licanialcaniaeflora, Journal of Ethnopharmacology, 79, 379-381.
- [7] Carrol, L. E. 1990. Functional properties and applications of stabilized rice in bakery products, Food Technology, 74-76.
- [8] Chen, M.H. and Bergman, C.J. 2005. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and g-oryzanol contents, Journal of Food Composition and Analysis, 18 (2-3), 139-151.
- [9] Chervanuky, R. 2003. Phytochemical products: rice bran, In Phytochemical functional foods (Johnson, I. T., and Williamson, G., eds), 347-376.
- [10] Dandavate, V., Jinjala, J., Keharia, H. and Madamwar, D. 2009. Production, partial purification and characterization of organic solvent tolerant lipase from *Burkholderiamultivorans* V2 and its application for ester synthesis, Bioresource Technology, 100, 3374-3381.
- [11] Daniel, O., Meter, M. S., Schlatter, J. and Frischknecht, P. 1999. Selected phenolic compounds in cultivated plants ecologic functions, health implications, and modulation by pesticides, Environmental Health Perspectives, 107, 109-114.
- [12] Iqbal, S., Bhangar, M.J. and Anwar, F. 2005. Antioxidant properties and components of some commercially available varieties of rice bran in Pakistan, Food Chemistry, 93, 265-272
- [13] Kim, S., Chung, H. and Lim, S. 2014. Effect of various heat treatments on rancidity and some bioactive compounds of rice bran, Journal of Cereal Science, 60, 243-248.
- [14] Lakkaula, N., Lima, M. and Walker, T. 2004. Rice bran stabilization and rice bran oil extraction using ohmic heating, Bioresource Technology, 92, 157-161.
- [15] Lehtinen, P., Kiviläinen, K., Lehtomäki, L. and Laakso, S. 2003. Effect of heat treatment on lipid stability in processed oat. Cereal Science, 37, 215-221.
- [16] Lerma-García, M.J., Herrero-Martínez, J.M., Simo-Alfonso, E.F., Mendonça, C.R.B. and Ramis-Ramos, G. 2009. Composition, industrial processing and applications of rice bran g-oryzanol, Food Chemistry, 115 (2), 389-404.

[17] Loyipimai, P., Moongarm, A. and Chotianom, P. 2009. Effects of ohmic heating on lipase activity, bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran, *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, 3, 3642-3652.

[18] Martínez-Valverde, I., Periago, M. and Ros, G. 2000. Nutritional importance of phenolic compounds in the diet, *Archives Latino American Nutrition*, 50, 5-18.

[19] Mezouari, M. and Eichner, K. 2007. Comparative study on the stability of crude and refined rice bran oil during long-term storage at room temperature. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 109, 198-205.

[20] Monton, L. W., Abu-AmshaCaccetta, R., Puddle, I. B. and Croft, K. D. 2000. Chemistry and biological effects of dietary phenolic compounds relevance to cardiovascular disease. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 27, 152-159.

[21] Newmark, H. L. Plant phenolics as potential cancer prevention agents. 1996. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 401, 25-34.

[22] Pitronen, V., Lindsay, D. G., Miettinen, T. A., Toivo, J. and Lampi. 2000. A Review of Plant sterols Biosynthesis biological function and their importance to human nutrition, *Journal of the Science and Agricultural*, 80, 939-966.

[23] Prabhakar, J.V. and Venkatesh, K.V.L. 1986. A simple chemical method for stabilization of rice bran, *The Journal of the American Oil Chemists' Society*, 63, 644-646.

[24] Prabhakar, J.V. 1987. Stabilization of bran. In *Hand Book on Rice Bran*, (Solvent Extractors Association of India, India.

[25] Qureshi, A. A., Sami, S. A., Salsar, W. A. and Khan, F. A. 2002. Dose dependent suppression of serum cholesterol by tocotrienol rich fraction (TRF25) of rice bran in hypercholesterolemic humans. *Atherosclerosis*, 161, 199-207.

[26] Qureshi A., Sami S. and Khan F. 2002. Effects of stabilized rice bran, its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus Types I and II, *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13, 175-187.

[27] Rahmani, S., Tantry, B.A. and Kumar, A. 2013. Variation of antioxidant activity and phenolic content of some common home remedies with storage time. *African Journal of Traditional, Complementary and Alternative*, 10(1), 124-127.

[28] Ramani, K., John Kennedy, L., Ramakrishnan, M. and Sekaran, G. 2010. Purification, Characterization and application of acidic lipase from *Pseudomonas gessardii* using beef tallow as a substrate for fats and oil hydrolysis, *Process Biochemistry*, 45, 1683-1691.

[29] Ramezanzadeh, F.M., R.M. Rao, M. Windhauser, W. Prinyawiwatukul, and W.E. Marshall. 1999. Prevention of oxidative rancidity in rice bran during storage, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2997-3000.

[30] Ramezanzadeh, F. M., Rao, R. M., Prinyawiwatukul, W., Marshall, W. E. and Windhauser, M. 2000. Effects of microwave heat, packaging, and storage temperature on fatty acid and proximate compositions in rice bran, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 464-467.

[31] Randali, J.M., Sayre, R.N., Schultz, W.G., Fong, R.Y., Mossman, A.P., Tribelhorn, R.E. and Saunders, R.M. 1985. Rice bran stabilization by extrusion cooking for extraction of edible oil, *Journal of Food Science*, 50, 361-364.

[32] Saunders, R. M. 1985. Rice bran composition and potential food sources. *Food Review International*, 1(3), 465-495.

[33] Saunders, R. M. 1990. The properties of rice bran as a foodstuff, *Cereal Foods World*, 35(7), 632-636.

[34] Steel R.G.D. and Torrie, J.H. 1980. *Principles and Procedures of Statistics*, Second Edition, New York, McGraw-Hill Book Co.

[35] Tao, J. 1989. Rice bran stabilization by improved internal and external heating methods. Ph.D. Dissertation, Louisiana State University, Baton Rouge, LA.

[36] Thaiponga, K., Boonprakoba, U., Crosbyb K., Zevallosc L.C. and Byrnee D.H. 2006. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts, *Journal of Food Composition and Analysis*, 19, 669-675.

[37] Thanonkaew, A., Wongyai, S., McClements J. and Decker, Eric A. 2012. Effect of stabilization of rice bran by domestic heating on mechanical extraction yield, quality, and antioxidant properties of cold-pressed rice bran oil (*Oryzasativa L.*), *Food Science and Technology*, 48, 231-236.

[38] Uquiche, E., Jerez, M. and Ortiz, J. 2008. Effect of pretreatment with microwaves on mechanical extraction yield and quality of vegetable oil from Chilean hazelnuts (*GevuinaavellanaMo*), *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9, 495-500.

[39] USDA Foreign Agricultural Services. 2010. Grain report: Grain and feed update Thailand. Global information network, Grant Report number: TH0025.

[40] Yen, G.C. and Duh, P.D. 1994. Scavenging effect of methanolic extracts of peanut hulls on free-radical and active-oxygen species, *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 629-632.

Antioxidant Determination of Nang Dam Upland Rice Bran Oil by DPPH Assay

Vanaporn SAE-ANG, Chitti TAWAI, Raumjitt NOKKOUL and Duangkamol RUEN-NGAM^{1*}

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

*Corresponding email: kduangk@kmitl.ac.th, modeliecb@gmail.com

ABSTRACT

Upland rice is one type of Thai rice grown in area where ecosystem is different to Thai jasmine rice. The upland rice is grown on the dry land without flooding while only dew, rainfall and moisture in soil are enough to grow the upland rice. It can be grown in all parts of Thailand, especially in southern, Chumpon provinces is one of an important growing area. The upland rice normally has good smell and may be a source of nutrition such as protein and iron. Rice bran, by product from milling process, composes of many types of antioxidant such as vitamin E, γ -oryzanol, phenolics compounds and tocopherols. This research was carried out to evaluate the antioxidant activity of rice bran oil of the Nang Dam upland rice. Antioxidant activity was evaluated using the DPPH assay. DPPH radical inhibition percentage of the Nang Dam rice bran oil was compared to antioxidants standard such as BHT, Trolox and Ascorbic acid (Vitamin C), including with commercial rice bran oil which is available in the local market. Results found that DPPH radical inhibition of the Nang Dam rice bran oil is in the range of such upper standard. The research has been done on two range sizes; 150 and 850 μ m. The extraction process has been done by shaking method with circulation rate of 200 rpm in 30 minutes using ethanol as solvent in dark condition. Amount of the obtained Nang Dam rice bran oil extracted were 0.1010 and 0.0598 g/g dry weight for both range sizes of the rice bran and antioxidant activity for 50% DPPH radicals inhibition (IC_{50}) at 4.14 mg/ml and 3.78 mg/ml for 850 and 150 μ m, respectively while the BHT, Trolox and Vit C IC_{50} were 0.1857, 0.0139 and 0.0110 mg/ml. However, IC_{50} of the commercial rice bran oil has less than 50% which has antioxidant inhibition around 34% at concentration of 10 mg/ml. This research has demonstrated the Nang Dam upland rice bran oil has potential to be an alternative antioxidant for consumers and entrepreneurs.

Keywords: Rice bran oil, γ -oryzanol, % DPPH radical inhibition

Introduction

Rice (*Oryza sativa* L.) as cereal grain for staple food for a large part of the world's human population has rich source of many bioactive compounds. Especially upland rice can grow in water restrictions, dry land without flooding. The upland rice namely Nang Dam grows in Chumpon provinces (Nokkoul *et al.*, 2010). Rice bran is a by-product obtained from the outer layer of the brown (husked) rice kernel during milling to produce white rice. It is rich in nutrients with 14%-16% protein, 12%-23% fat and 8%-10% crude fiber. Rice bran oil (RBO) offers significant potential as an alternative low-cost and low valued co-product of rice milling process. Rice bran is a well-known source of tocopherols, tocotrienols and phenolic compounds. Crude rice bran oil contains high levels of components with antioxidant properties: tocopherols/tocotrienols (up to 300 mg/kg of Vitamin E) and γ -oryzanol (up to 3,000 mg/kg) (Xu and Godber, 1999). Such antioxidants can reduce the risk of coronary heart disease and cancer, prevent oxidative damage of lipid and low-density lipoproteins, prevent of oxidative stress-related diseases (Willcox *et al.*, 2004). The α -tocopherol has been found to

show a DPPH radical scavenging capability high up to about 7-folds of those does γ -oryzanol and often used in cosmetic formulations. The main issue is an efficiency of extraction of different sizes of material as follows Zhu *et al.*, 2010's research that DPPH decreased with increased surface area to mass and DPPH inhibition also did not increase with particle size reduction. The information of upland rice, which is referred as conventional rice in Thailand and well known of antioxidant rich sources, is scarcely and added value of waste product from rice milling process is necessary therefore the efficiency of antioxidant according to DPPH assay is done by different rice bran sizes.

Materials and methods

Material: Rice bran of the Nang dam upland rice from Chumpon province, Thailand and the γ -oryzanol analytical grade standard purchased from Wako pure chemical industries Ltd, Japan, were materials used in this experiment.

Sample preparation and extraction upland rice bran: Rice bran sample was sieved pass through mesh screen size of 150 and 850 μ m. The sample was then kept in the dark at -20°C until use. A 5 g of rice bran was extracted with 95% ethanol with the ratio of rice bran and solvent of 1:5 w/v at 150 rpm for 30 min and kept away from light. The solvent was removed under vacuum by evaporator at 40°C.

Determination antioxidant activity on DPPH radicals: Yield of the crude extract was determined in percentage of antioxidant inhibition on DPPH assay. DPPH radical scavenging activity assay was modified from Ruen-Ngam *et al.* (2014). The 0.2 mM DPPH ethanolic solution, which was prepared the concentration in range of 0.25-20 mg/ml, was added to the extracted rice bran oil with ratio of 1:1 (v/v). The well-mixed mixture was kept in dark for 30 minutes. The mixture was measured at 517 nm with Microplate reader (LabSystems: EMS Reader MF). BHT, Vit C and Trolox in range of 3.125-500 μ g/ml were used as references. Antioxidant inhibition (%) was derived by the following equation,

$$\text{Antioxidant inhibition, AI (\%)} = \left[\frac{A_B - A_A}{A_A} \right] \times 100$$

when A_A absorbance value of testing solution, A_B absorbance value of control solution.

The concentration of the extract inhibited DPPH radicals by 50% is expressed as IC_{50} . The lower value of IC_{50} indicates a higher antioxidant activity.

Analysis amount of γ -oryzanol with HPLC: The content of γ -oryzanol was determined according to Ruen-Ngam *et al.* (2014)'s research with RP-HPLC system (Alliance 2690) with photodiode-array detector was used. The crude extracts were dissolved in the mobile phase, methanol isopropanol and ethyl acetate in ratio 47.5/40/12.5 (v/v/v), and detected at 330 nm. **Statistical analysis:** Analysis means of antioxidant activity on DPPH assay were reported in triplicate for both 150 and 850 μ m. Statistical analysis was performed using one-way analysis of variance (ANOVA). Mean comparison was carried out using Duncan's multiple range test. The statistical analysis was performed by SPSS 22.0 at significant level of 95% ($p < 0.05$).

Results and discussion

Antioxidant activity percentage: The rice bran was sieved and had wide range size in range of 150-850 μ m, coarse size was polished whole grain or unmilled bran and fine bran was obtained from whitening and polishing processes. The antioxidant efficiency would be reported in two forms, % antioxidant inhibition (from now on referred as %AI) and IC_{50} . The rice bran oil can decolorized dark blue color of the DPPH solution and the %AI trend along with rice bran oil concentration was shown in Figure 1. Remark: The suitable DPPH concentration for Nang Dam is 0.2 mM whereas generally uses 0.1 mM (Butsat *et al.*, 2010). Comparison of %AI between two rice bran sizes; 150 and 850 μ m found at the same concentration 20 mg/ml, was able to fade the colors of DPPH as %AI up to 88.69 and 89.04%, respectively, as occurring the same in range with Wanyo *et al.*, 2010 and Butsat *et al.*, 2010's research that analysis 500 μ m coarse Thai rice bran size (Khao Dawk Mali 105) had %AI around

87.93%. Increasing the rice bran oil concentration can enhance exponentially antioxidant ability as equation in Figure 1. The polynomial correlation between %AI and rice bran oil concentration were found in both rice bran sizes and determined as $y = 0.2157x^2 + 8.9185x - 6.8967$ ($R^2 = 0.9963$) and $y = 0.4112x^2 + 6.7542x - 2.0593$ ($R^2 = 0.9957$) that was contrasted with Vorarat *et al.* (2010) which investigated in linear form $Y = 1.4404 X + 18.485$ ($R^2 = 0.9844$). Above both equations is useful for %AI determination by DPPH assay of Nang Dam rice bran oil without doing experiment that can save the chemical expense and the time. The first hypothesis of this research is because of γ -oryzanol appearance in rice bran oil results to decolorize DPPH solution that might be true, however, the %AI don't relate on the amount of γ -oryzanol as demonstrated the amount of γ -oryzanol for both rice bran sizes in the third column in Table 1. The oil from 150 μm rice bran size has amount of γ -oryzanol around 49.14% higher than from 850 μm that correlated as previously discussed about the size effect. This might be that other antioxidant compound than γ -oryzanol was extracted. In actually the rice bran oil also has been found several types of antioxidants such as α -tocopherol, γ -tocopherol, δ -tocopherol, α -tocopherol and anthocyanin (Butsat *et al.*, 2010). The use of %AI by DPPH assay represents the amount of γ -oryzanol content in rice bran oil is not available, however, there are other better way for testing antioxidant activity of γ -oryzanol as in previous researches used FRAP, ABTS and ORAC assay. (IC_{50} value: IC_{50} values can be found out from the %AI and discovered that fine (150 μm) and coarse (850 μm) rice bran size were the same range, 3.64 ± 0.24 and 3.89 ± 0.38 mg/ml, respectively, and no significantly different in both sizes as shown the same statistic symbol on the second column in Table 1 and contradicts with Zhu *et al.* (2010). The IC_{50} value contrasted with Vorarat *et al.* (2010) which got IC_{50} around 21.8793 mg/ml and Brewer *et al.* (2014) investigated the effect of three range sizes of wheat bran, fine (100-200 μm), medium (240-500 μm) and coarse (900 μm), found that total antioxidant capacity from the coarse got significant lower than the medium and fine particle (equivalent Vit C per 1 g of defatted bran were 146.20 mg, 46.38 mg of ascorbic acid, and 43.13 mg of ascorbic acid). Actually the theory of extraction, the higher surface area to mass might give higher amount of extracted compounds or get higher antioxidant activity but in this research is in contrast, however, it is necessary to be judged more about both sizes. To insist by assuming the rice bran particle has sphere shape in which one particle surface area per extracting solvent are 5.90×10^{-7} and 2.06×10^{-7} m^2/ml for 150 and 850 μm , respectively, or the size of 150 μm has 2.86-folds higher of surface area than the size of 850 μm or otherwise when considering 1 ml solvent, the rice bran with 150 μm particle size can be extracted 112.5-folds higher than the 850 μm size (Remark: 0.18×10^{12} particles for 150 μm size and 0.16×10^{10} particles for 850 μm size and bulk density of 150 μm size is 0.63 g / ml whereas 850 μm is 0.38 g / ml). Therefore, it can be concluded that the rice bran size of 150 μm is the better choice for extraction in form of higher opportunity contact of solvent results to minimize the solvent expense.

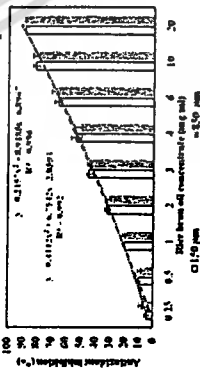


Figure 1 Antioxidant inhibition (%) in different rice bran oil concentration.

Table 1. IC_{50} values of 150 μm and 850 μm rice bran size.

Material sizes	Concentrate at IC_{50} (mg/ml)	γ -oryzanol content ($\mu\text{g}/\text{ml}$)
150 μm	3.64 ± 0.24^a	0.8671 ± 0.02^a
850 μm	3.89 ± 0.38^a	0.5814 ± 0.00^b

Note: Different letters in the same row are statistical difference at significant level of 95%.

Comparison antioxidant activity in other researches

The value of %AI and IC_{50} of well known standard and commercial rice bran oil demonstrate in Table 2. IC_{50} of all standards were in the same range as shown in Table 2. Nang Dam rice bran oil had more antioxidant significantly than commercial rice bran, however, significant lower than standard significance level of 95%. The antioxidant inhibition activity of rice bran oil was higher than from wheat bran oil in which got %AI around 14.58% at 14.25 mg/100 g wheat bran oil (wheat bran size is 900 μm) (Brewer *et al.*, 2014). Comparison to other type rice, Fajr and Tareh from Iran (Araba *et al.*, 2011), had lower %AI than Nang dam (70% at 50 mg/ml Iranian rice bran oil). Butsat *et al.*, 2010 investigated the %AI of KDM105 rice from different growing site found that rice bran oil from Pone-Sai district can get higher %AI than BHT (0.2 mg/ml) at around 86.7%. Such extracted rice bran oil contains γ -oryzanol content around 5.38 mg/g and occurring of other compounds such as α -tocopherol and γ -tocopherol around 82.8 and 4.74 $\mu\text{g}/\text{g}$, respectively.

Table 2. IC_{50} values from different sources.

Materials	IC_{50} (mg/ml)
Vitamin C	$5.99 \times 10^{-3}^a$
Trolox	$14.47 \times 10^{-3}^a$
BHT	0.18 ^b
The rice bran oil (150 μg)	3.64 ^b
Commercial rice bran oil	10.28 ^c

Note: Different superscript letters are statistical difference at significant level of 95%.

Conclusion

Scavenging DPPH radicals of Nang Dam upland rice bran oil were no significant difference in both 150 and 850 μm sizes at significant level of 95%, however, this research demonstrated the advantage in the use of 150 μm rice bran size. This research could provide useful information for further studies on antioxidant activity by DPPH assay. Nang Dam upland rice bran oil has potential sources of antioxidant such as γ -oryzanol.

Acknowledgments

The author would like to thank research department of King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTT) for financial support.

References

- Araba, F., Alenzadeh, I. and Maghsoudi, V. 2011. Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract. *ScientiaIranica C*, 18 (6): 1402–1406.
- Butsat, P., Siriamompan, S. 2010. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. *Food Chemistry* 119: 606–613.
- Brewer, L. R., Kubola, J., Siriamompan S., Herald, T. J. and Shi, Y. C. 2014. Wheat bran particle size influence on phytochemical extractability and antioxidant properties. *Food Chemistry* 152: 483–490.
- Nokkoul, R., Wichitparp, T. and Hussanan, S. 2010. Selection on weed tolerance upland rice varieties. *Agricultural Science* 41(3/1): 57–60.
- Ruen-Ngam, D., Thewai, C., Raunjit, N. and Sukonthamut, S. 2014. Gamma-Oryzanol Extraction from Upland Rice Bran. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics* 4(4): 252-255.
- Vorarat, S., Managiti, C., Iamthanasakul, L., Soparati, W. and Kamkaen, N. 2010. Examination of antioxidant activity and development of rice bran oil and gamma-oryzanol microemulsion. *Journal of Health Research* 24(2): 67-72.
- Waryo, P., Siriamompan, S. and Meeso, N. 2011. Improvement of quality and antioxidant properties of dried mulberry leaves with combined far-infrared radiation and air convection in Thai tea process. *Food and Bioprocess Processing* 89: 22–30.
- Willcox, J. K., Ash, S. L. and Catignani, G. L. 2004. Antioxidants and prevention of chronic disease. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 44: 275–295.
- Xu, Z., Hua, N. and Godber, J. S. 1999. Antioxidant activity of tocopherols, locotrienols and gamma-oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2,20 azobis(2-methylpropanimidine) dihydrochloride. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 49: 2077–2081.
- Zhu, K. X., Huang, S., Peng, W., Qian, H. F. and Zhou, H. M. 2010. Effect of ultrasonication on hydration and antioxidant properties of wheat bran dietary fiber, pp. 943–948. *Food Research International*, 43(4).

Evaluation of antioxidant activity of Khem-ngen rice bran oil By ABTS⁺ Assay Measurement

Vanaporn Sae-ang¹, Chitti Tawai¹, Sujitra Sukonthamui², Raumjitt Nokkoul³, Duangiamol Ruen-ngam^{1*}

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

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

³ Department of Agricultural Technology, KMITL PCC, Chumporn 86160, Thailand

*email: krduangk@kmitl.ac.th, modelicbe@gmail.com

Abstract

Rice bran, by product as the most abundant and valuable from the rice milling process, has been continuously examined in recent year because of its potential health benefits and useful as a natural food antioxidant. Several antioxidant compounds are in rice bran oil such as vitamin E, γ -oryzanol, phenolics compounds and tocopherols. Khem-ngen, is one type of upland rice, is cultivated in the southern part of Thailand especially Satun province and has been scarcely informed. However there is large amount of rice bran left from milling process therefore this research has aimed to be examined for antioxidant capacity in upland rice bran oil by ABTS⁺ assay. Firstly the crude rice bran oil was extracted by ethanolic extraction. The results of the test are then compared to well-known Jasmine rice bran. The antioxidant ABTS⁺ radical inhibition by Khem-ngen and Jasmine rice bran oil have achieved around 69.62% and 28.77%, respectively at the same concentration of 8 mg/ml or around 34.91±0.48 and 14.42±0.76 mg TEAC/g of crude extract, respectively.

Keywords: ABTS⁺ assay, antioxidant activity, rice bran oil, Trolox equivalent antioxidant capacity, upland rice bran

Introduction

Rice (*Oryza sativa* L.) is the staple food for more than half of population in the world and the well-known exported agricultural product from Thailand. There are many types of rice in Thailand. Upland rice is one type of rice which can be grown in the upland area, water restrictions, dry land without flooding, especially in the southern part of Thailand. Khem-ngen has been used in this research (Ruen-Ngam *et al.*, 2014). The rice bran is known as the low cost parts with high nutritional ingredient as mentioned in many previous researches. Because of strong antioxidant potential values of crude rice bran oil therefore crude rice bran oil extraction have been examined (Garcia *et al.*, 2007; Butsat *et al.*, 2010; Mariod *et al.*, 2010).

The antioxidants have been useful in retarding oxidative deterioration of food materials especially those with high lipid contents. Moreover they have the capacity to protect the living cells from oxidative damage that occur due to formation of free radicals and reactive oxygen species during most of the metabolic activity. The beneficial medicinal effects of plant materials typically is due to the combinations of phytochemical compounds present in the plant and their action is unique to particular plant species or groups (Apak *et al.*, 2013; Shekhar *et al.*, 2015). Recent studies have reported antioxidant activity in rice husks, bran and polished rice measured the capacity by using various chemical assays (ABTS; ferric reducing antioxidant power, FRAP; and oxygen radical absorbance capacity, ORAC). Recently the antioxidant capacity can be examined by many assays and widely use colorimetric methods is ABTS⁺ (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) based methods with decolorized by antioxidants according to their different concentrations and antioxidant capacities. (Garcia *et al.*, 2007; Zulueta *et al.*, 2009; Deng *et al.*, 2012; Hwang *et al.*, 2014; Povilaitis *et al.*, 2015). Antioxidant molecules prevent or inhibit these harmful reactions, as

against the ABTS⁺ radical or reduced ABTS⁺, in which a colorless molecule is oxidized to a characteristic blue-green ABTS⁺ as shown in Fig. 1. Mostly the results can be showed in two forms; the first is percentage of antioxidant inhibition and another from is Trolox equivalent antioxidant capacity or the TEAC value which is the concentration of Trolox at the same antioxidant inhibition percentage with crude rice bran oil. This assay is rapid, easy and correlated with the biological activity of antioxidants (Miller *et al.*, 1993; Miller and Rice-Evans, 1997; Berg *et al.*, 2000; Young *et al.*, 2001; Erel, 2004; Rezk *et al.*, 2003; Schatch *et al.*, 2015). However, this chemical method has not been suitable for accurate determination of antioxidant activity *in vivo*.

This research focuses on the antioxidant capacity determination by ABTS assay of crude rice bran oil then the results will be compared with other researches (Butsat and Sirlamornpun, 2010; Shao *et al.*, 2014).

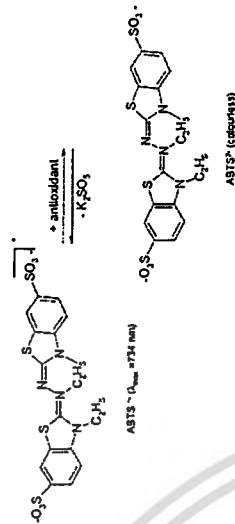


Fig 1: ABTS⁺ structure (Zulueta *et al.*, 2009)

Materials and methods

Material

The upland rice bran, which is selected for this study, is Khem-ngen from Satun province, Thailand. This rice bran sample was collected freshly from milling process. ABTS⁺ (2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid) and Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) were purchased from Sigma-aldrich, Germany. Potassium persulphate was purchased from Ajax Finechem Pty Ltd, Australia. 95% Ethanol for extraction was purchased from Antiseptic SOL-A, Chemical express Co Ltd, Thailand.

Rice bran oil preparation

Rice bran sample was sieved pass through 850 μ m mesh screen (Endecoits Ltd, England), 5 g of Khem-ngen and Jasmine rice bran were used as material and extracted by maceration methods with 95% ethanol with the ratio of rice bran and solvent of 1:5 (w/v) with circulation rate of 200 rpm for 30 min in the dark. The debris was removed from the oil and solvent mixing solution by suction through no.1 Whatman filter paper. The solvent was removed from the crude rice bran oil under vacuum by evaporator at 40 $^{\circ}$ with pressure rang around 5-10 mbar. All crude oil samples were kept in refrigerator (Haier, Thailand) at temperature of -20 $^{\circ}$ C until determined antioxidant activity by ABTS⁺ assay and extraction was repeated in triplicates.

Antioxidant activity by ABTS⁺ assay

The crude rice bran oil antioxidant activity was determined in two forms; percentage of antioxidant inhibition and TEAC value. ABTS⁺ assay was performed according to the methods of Hwang *et al.*, (2014) with slight modification. The ABTS⁺ reagent was prepared by stirring 7 mM ABTS⁺ in distilled water at room temperature (25 $^{\circ}$ C) and mixed together with 2.45 mM potassium persulphate in ratio 1:1 (v/v). The mixed reagent was kept in temperature of 4 $^{\circ}$ C and away from light for 16 h before used. The mixed reagent was then diluted with 95% ethanol to achieve an absorbance of 0.70±0.03. The sample concentrations were prepared in range from 0.25-10 mg/ml for upland rice bran oil and 4-30 mg/ml for Jasmine rice bran oil and then mixed with mixed reagent at the ratio 1:50 (v/v) and absorbance value was measured at λ = 734 nm. The antioxidant activity of crude oil in form

of the %antioxidant inhibition and the TEAC value, including with IC₅₀ value has been reported in this research. The concentration of the extract which inhibited ABTS^{•+} radicals by 50% is expressed as IC₅₀. The lower value of IC₅₀ indicates a higher antioxidant activity. Antioxidant inhibition (%) was derived by the following equation,

$$\text{Antioxidant inhibition, AI (\%)} = \left[\frac{1 - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \right] \times 100$$

where A_{sample} is absorbance value of each sample solution, A_{control} is absorbance value of ABTS^{•+} reagent solution. The curve of % antioxidant inhibition of oil samples and oil concentration was prepared. TEAC value as the Trolox concentration is equivalent to the same %antioxidant inhibition of crude oil that is calculated based on Trolox standard curve (R²=0.997). Trolox with the concentration ranges, are 10-400 µg/ml in ethanol, are prepared for standard curve. The results will be shown in dimension of mg TEAC/g crude extract.

Statistical analysis

Means of antioxidant activity on ABTS^{•+} assay were reported for both Khem-ngen and Jasmine rice bran oil and all experiments have been done in triplicate. Statistical analysis was performed using one-way analysis of variance (ANOVA) by using mean comparison according to Duncan's multiple range tests. The confidence limit for this study was based on 95% (p<0.05) performed by SPSS 22.0.

Results and discussion

Effect of rice bran type

Total antioxidant inhibition (from now on, %AI will be used) results are shown in Table 1. The %AI of both types of rice bran oil was compared in the same range of concentration (1-10 mg/ml). The %AI for Khem-ngen is obtained in the range of 13.99-81.74% and different from another type of rice bran oil extracts, Jasmine which has antioxidant inhibition about 7.51-33.90%. The %AI has shown that at the concentration of 10 mg/ml of rice bran oil extract, Khem-ngen and Jasmine have the maximum %AI are 81.74% and 33.90%, respectively with higher than around 2.41 folds.

Table 1: %Antioxidant inhibition in different rice bran oil concentration

Oil Concentration (mg/ml)	% AI	
	Khem-ngen	Jasmine
	Average±SD	Average±SD
1	13.99±1.51	7.51±0.44
2	24.04±2.75	10.89±0.95
4	43.47±7.35	16.83±0.79
8	69.62±0.96	28.77±1.53
10	81.74±2.37	33.90±1.16

The %AI of the extracted oil was expressed as IC₅₀, with the IC₅₀ being defined as the concentration of tested sample required to inhibit the formation of active radicals by 50%, as summarized in Table 2. IC₅₀ of Khem-ngen was 5.43 ± 0.55 mg/ml whereas Jasmine has the IC₅₀ value at 22.83 ± 0.74 mg/ml. It might be because of various types and sizes of antioxidant content results in different IC₅₀ in both types of rice bran oil. The ABTS scavenging activities of Khem-ngen is higher than Jasmine at the same concentration of samples tested at significant level of 95% as shown

in Table 2. From %AI information, the correlation between %AI and concentration for both rice bran types has been made as shown in Fig. 2. The %AI was initially compared to the well-known source of antioxidant as blueberry, which was obtained around 8.6%, was at the same level as Khem-ngen (Hwang *et al.*, 2012).

Table 2: Comparison of IC₅₀ and TEAC value between two types of rice bran, Khem-ngen and Jasmine rice

Rice bran type	IC ₅₀ (mg/ml)	TEAC Value (mg TEAC/g crude oil)
Khem-ngen	5.43 ± 0.55 ^a	34.91±0.48 ^a
Jasmine	22.83 ± 0.74 ^b	14.42±0.76 ^b

Note: Different letters in the same column are statistical difference at significant level of 95%.

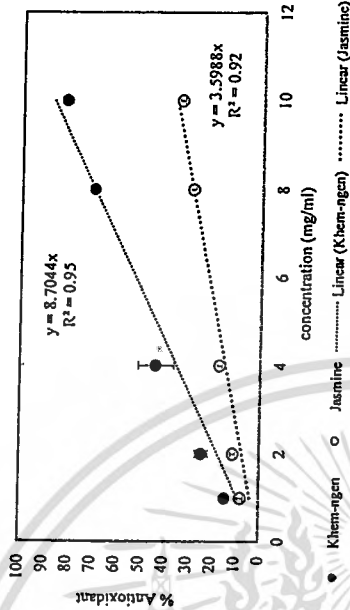


Fig 2: Percentage of antioxidant inhibition ABTS^{•+} radicals compare 2 types of rice bran at the same concentration.

ABTS^{•+} radical scavenging activities

Khem-ngen has found red color blending on layer of bran whereas Jasmine found to be white as previous researches, pigments of rice are categorized based on the layer color. In which the red, black or purple (Ling *et al.*, 2001 and Walter *et al.*, 2011). Pigmented rice are functional food because its antioxidant compounds such as tocopherols, oryzanol and phenolics compounds have high the antioxidant capacity and phenolic compounds are usually found in higher level than of non-pigmented rice (Norzaleha *et al.*, 2012). The equation in Fig. 2 shows the linear curve correlation between %AI and rice bran oil concentration determined as y = 8.7044x - 6.8967 (R²= 0.95), this equation is useful for %AI determination by ABTS assay of Khem-ngen rice bran oil without doing experiment.

TEAC assay

The reference compound in the TEAC assay is Trolox. The TEAC value is independent of the Trolox concentration, as previously reported (Berg van den *et al.*, 1999). The standard curve of Trolox against with ABTS^{•+} radicals as shown in Fig. 3, was fitted according to the linear function as y = 0.2493x (R² = 0.997). This experiment showed another way to present antioxidant capacity and the results of the TEAC values are a relative value in the third column of Table 2. At the same concentration 8 mg/ml, the comparison between Khem-ngen and Jasmine rice bran have tested and achieved TEAC value at 34.91 ± 0.48 mg TEAC/g crude extract which is obviously higher than Jasmine which is around 14.42 ± 0.76 mg TEAC/g extract. The statistical analysis of difference compared mean of the both results have significantly different in the TEAC value at the significant level of 95% as the different superscripted letters as in Table 2. According to Povilaitis *et al.*'s research in 2015, in Table 3, the second column, the antioxidant properties of another cereal as rye

bran with 0.5-1 mm size, extracted by different solvent has amount of TEAC value around 0.79, 1.20 and 15.59 μmol TEAC/g DW, respectively of different solvents. These results are similar to ours, the TEAC value of both Khem-ngen and Jasmine samples, are 17.43 and 8.40 μmol TEAC/g DW, respectively.

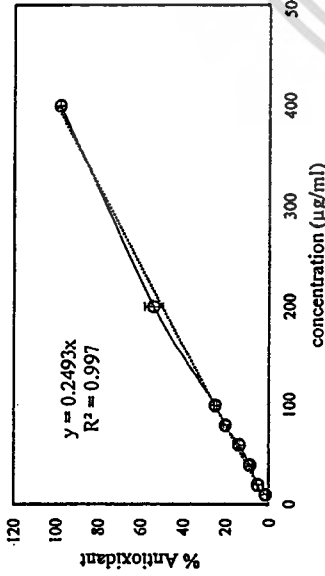


Fig 3: The curve of linear correlation between %AI and Trolox standard concentration

Table 3: Comparison with antioxidant activity other cereal

Cereal types	Solvents	TEAC value (μmol TEAC/g DW)	References
Khem-ngen bran	95% Ethanol	17.43	In this research
Jasmine bran		8.40	
Cimarron bran	Methanol	6	Garcia <i>et al.</i> , 2007
Zeta 15 bran		9	
Fonaiap-1 bran		8	
Cimarron brown rice powder		3	
Zeta 15 brown rice powder		4	
Fonaiap-1 brown rice powder	1		
Wheat (0.5-1 mm)	Hexane	0.79	Povillitis <i>et al.</i> , 2015
	Acetone	1.20	
Rye bran (0.5-1 mm)	Methanol: Water (80:20%)	15.95	Deng <i>et al.</i> , 2012
	Hexane	1.29	
Brown rice	Acetone	1.58	
	Methanol: Water (80:20%)	8.82	
Buck wheat	Methanol: Acetic acid: Water (50:3.7:46.3, v/v)	3.86	
		5.22	
Wheat		3.15	

Comparison with other cereal

The comparison of the TEAC value in various materials types are shown in Table 3. The TEAC value from this research, rice bran is the highest than other types of cereal. This might be because of the effect of antioxidant compound contains in the bran. Khem-ngen and Jasmine bran contain γ-oryzanol, phenolics, Vitamin E in the crude rice bran oil which affect to the antioxidant activity (Ruen-ngam *et al.*, 2014).

Conclusion

Antioxidant activity of ethanolic Khem-ngen upland rice bran oil was significantly higher antioxidant activity 2.41 folds compared to Jasmine. According IC₅₀ value and TEAC value when compared with Jasmine. However, this research demonstrated the advantage in measure by ABTS assay. This way is easy, stable, reliable and inexpensive.

Acknowledgments

The author would like to thank research department of King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTT) for financial support.

References

Apak, R., Gorinstein, S., Böhm, V., Schatach, K. M., Özyürek, M. and Güçlü, K. 2013. Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report)* Pure and Applied Chemistry, 85(5): 957-998.

Berg van den, R., Haenen, G. R. M. M., Berg van den, H., and Bast, A. 1999. Applicability of an improved Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay for evaluation of antioxidant capacity measurements of mixtures. Food Chemistry, 66: 511-517.

Berg van den, R., Haenen, G. R. M. M., Berg van den, H., Vijgh vander, W., and Bast, A. 2000. The predictive value of the antioxidant capacity of structurally related flavonoids using the trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC) assay. Food Chemistry, 70: 391-395.

Butsat, S., and Sriamompun, S. 2010. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. Food Chemistry, 119: 606-613.

Chen, H., Siebenmorgen, T.J., and Griffin, K. 1998. Quality characteristics of long-grain rice milled in two commercial systems. Cereal Chemistry Journal, 75: 560-565.

Deng, G. F., Xu, X. R., Guo, Y. G., Xia, E. Q., Li, S., Wu, S., Chen, F., Ling, W. H. and Li, H. B. 2012. Determination of antioxidant property and their lipophilic and hydrophilic phenolic contents in cereal grains. Journal of Functional Food, 4: 906-914.

Erel, O. 2004. A novel automated direct measurement method for total antioxidant capacity using a new generation, more stable ABTS radical cation. Clinical Biochemistry, 37: 277-285.

Garcia, C. A., Gavino, G., Mosqueda, M. B., Hevia, P. and Gavino, V. C. 2007. Correlation of tocopherol, tocotrienol, γ-oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. Food Chemistry, 102: 1228-1232.

Hwang, S. J., Yoon, W. B., Lee, O. H., Cha, S. J. and Kim, J. D. 2014. Radical-scavenging-linked antioxidant activities of extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. Food Chemistry, 146: 71-77.

Ling, W. H., Cheng Q. X., Ma J. and Wang T., 2001. Red and black rice decrease atherosclerotic plaque formation and increase antioxidant status in rabbits. Nutraceutical International Corporation, 131: 1421-1426.

Mariod, A.A., Adamu, H.A., Ismail, M., and Ismail, N. 2010. Antioxidative effects of stabilized and unstabilized defatted rice bran methanolic extracts on the stability of rice bran oil under accelerated conditions. Grass y Aceites, 61 (4): 409-415.

Miller, N. J., Rice-Evans, C. A., Davies, M. J., Gopinathan, V., and Milner, A. 1993. A novel method for measuring antioxidant capacity and its application to monitoring the antioxidant status in premature neonates. Clinical Science, 84: 407-412.

Miller, N. J., and Rice-Evans, C. A. 1997. Factors influencing the antioxidant activity determined by the ABTS+ Radical Cation Assay. Free Radical Research, 26: 195-199.

Norzaleha, K., K. Muhammad, A.A. Hamid and S. Mohamed. 2012. Total Phenolic Contents and

Comparison of Rice Bran Oil Recovery, γ -Oryzanol and Antioxidant Activities of Upland Rice Bran and Khao Dok Mali 105 Rice Bran

Tharin Wadeng¹, Chitti Thawai¹, Sujitra Sukonthamut²,
Raumjit Nokkoul³ and Duangkamol Ruen-Ngam^{1*}

¹Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's
Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand
²Department of Statistics, Faculty of Science, King Mongkut's
Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand
³Department of Agricultural Technology, KMIL PCC, Chumporn
86160, Thailand

* Corresponding author. Email: duangkamol.ru@kmitl.ac.th;
modeliebe@gmail.com

ABSTRACT

This study aimed to compare the amount of rice bran oil, γ -oryzanol and antioxidant activities by DPPH assay from new different varieties of rice bran by ethanolic soxhlet extraction method. Two varieties of upland rice as Nang-Dam and Phukaothong and another type of rice as Khao Dok Mali 105 rice bran were tested to compare. The results reveals that the highest oil content was found in Phukaothong with 0.28 ± 0.02 g/gwb, followed by Nang-Dam (0.25 ± 0.04 g/gwb) and Khao Dok Mali 105 (0.20 ± 0.02 g ω /g wb). For the antioxidant activity and γ -oryzanol content, the Phukaothong rice bran had the highest of antioxidant activity with IC_{50} value at 2.09 ± 0.08 mg/ml and had the highest γ -oryzanol content (3.5 ± 0.5 mg/g), followed by Nang-Dam (2.20 ± 0.11 mg/ml, 2.96 ± 0.53 mg/g) and Khao Dok Mali 105 (2.60 ± 0.06 mg/ml, 1.21 ± 0.18 mg/g). In conclusion, the upland rice bran: Phukaothong and Nang-Dam varieties was more effective than Khao Dok Mali 105.

424

- antioxidant capacities of different colored Malaysian rice grains. In: University Malaysia Terengganu Annual Symposium, Terengganu, Malaysia.
- Poviliatits, D., Suljini, V., Venskutonis, P. R. and Kraujalien, V. 2015. Antioxidant properties of wheat and rye bran extracts obtained by pressurized liquid extraction with different solvents. *Journal of Cereal Science*, 62: 117-123.
- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*, 26: 1231-1237.
- Rezk, B. M., Haenen, G. R. M. M., Vijgh van der, W. J. F. and Bast, A. 2003. Tetrahydrofolate and 5-methyltetrahydrofolate are folates with high antioxidant activity. Identification of the antioxidant pharmacophore. *FEBS Letters*, 555: 601-605.
- Ruen-ngam, D., Thawai, J., Nokkoul, R. and Sukonthamut S. 2014. Gamma-Oryzanol Extraction from Upland Rice Bran. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, 4(4): 252-255.
- Shao, Y. F., Xu, F. F., Sun, X., Bao, J. S., and Beta, T. 2014. Identification and quantification of phenolic acids and anthocyanins as antioxidants in bran, embryo and endosperm of white, red and black rice kernels (*Oryza sativa* L.). *Journal of Cereal Science*, 59: 211-218.
- Shekhar, S. and Prasad M.P. 2015. Studies on Antioxidant Properties of *Jasminum* species by FRAP Assay. *International Journal of Pure and Applied Bioscience*, 3(1): 52-57.
- Tian, K. M., X. and Xie, J. 2015. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: A critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. *Journal of Functional Foods*, 14: 111-125.
- Walter, M. and E. Marchesan. 2011. Phenolic compounds and antioxidant activity of rice. *Braz. Arch. Biol. Technol.*, 54: 371-377.
- Young, I. S., and Woodside, J. V. 2001. Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54: 176-86.
- Zaluteta, A., Esteve, M. J. and Frigola, A. 2009. ORAC and TEAC assays comparison to measure the antioxidant capacity of food products. *Food Chemistry*, 114: 310-316.

Keyword: Upland rice, Rice bran Oil, γ -Oryzanol, DPPH assay

INTRODUCTION

Rice (*Oryza sativa* L.) is the major cereal crop that important in the world. Most population in the world have consumed rice as a staple food especially in asian countries therefore the production, consumption and trade of rice are watchful in asian countries especially in Thailand. There are many rice varieties in Thailand. Upland rice is one type of rice which can be grown in upland area, dry land without flooding especially in the southern of Thailand. Upland rice have many varieties such as Dok-kham, Dok-kha, Nang-Dam, Khem-ngen, Phukaotong, etc. The another type of rice which is well known in Thailand is jasmine rice. It is the most common type of rice used in Thailand and other South east Asian dishes. Khao Dok Mali 105 is one variety of jasmine rice.

Rice bran is an important by product from rice milling industry, which is obtained while milling. Rice bran is abundant sources of functional compounds including vitamin E (tocopherols and tocotrienols), γ -oryzanols, carotenoids, phenolic compounds, unsaturated fatty acids, saponifiable lipids: including glycolipid and phospholipids, unsaponifiable lipids, sterols and carotenoids.

Antioxidants are essential for human health. Most antioxidant compounds are passed to the organism through diet. So, it is desirable to establish methods that can directly measure the total antioxidant capacity of plant extracts. The defensive effects of natural antioxidants in plants are related to three major groups: vitamins, phenolics, and carotenoids. (Zhang et al., 2015; Bajalan et al., 2016).

This study aim to compared the amount of rice bran oil, γ -oryzanol and antioxidant activities from the different rice varieties

which were two upland rice (Phukaotong and Nang-Dam) and Khao Dok Mali 105 extracted by soxhlet extraction method.

MATERIALS AND METHODS

Chemicals

The methanol, isopropanol and ethyl acetate with HPLC grade were purchased from RCI labscan (Bangkok, Thailand). Standard γ -oryzanol was purchased from Wako (Japan). 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) was bought from Sigma-aldrich (Germany).

Material preparation

The upland rice bran which was used in this study including Nang-Dam and Phukaotong and collected from Chumphon, Thailand and another variety as Khao Dok Mali 105 was available from Suphanburi, Thailand. All varieties were collected in January, 2016. The rice bran was sized by sieving through mesh size of 850 μ m (Endecotts Ltd, England). The material was stored in the refrigerator at temperature -40°C before use.

Oil preparation

Soxhlet extraction was adapted from Ruen-Ngam et al. (2014) and Sae-ang (2016) using organic solvent as ethanol and extracted by Soxhlet apparatus and kept under reflux for 6 h. The rice bran oil was weighed immediately after solvent removed. All extracts were stored in the refrigerator at temperature 0°C before use.

γ -Oryzanol content analysis

The content of γ -oryzanol was determined according to Ruen-Ngam et al. (2014) and Sae-ang (2016)'s research with RP-HPLC system (Alliance 2690). The crude extracts were dissolved

in the mobile phase at concentration 100 µg/ml, methanol isopropanol and ethyl acetate in ratio 47.5/40/12.5 (v/v/v), and detected at 330 nm.

DPPH radical scavenging assay

The free radical scavenging activity was analysed by DPPH assay according to Sae-ang (2016). Briefly, mixing of each extract or standard and 0.2 mM DPPH with 1:1 (v/v) was added to a 96-well plate and incubated at room temperature in the dark for 30 min and then the absorbance was measured at 517 nm by microplate reader (JEMS Reader MF, Finland)

The inhibition activity percentage was calculated as followed

$$\% IA = [(A_c - A_s) / A_s] \times 100$$

where A_c = absorbance without extracts, A_s = Absorbance with extracts.

Statistic analysis

The statistic employed for analysis of the data was the F-test (one-way ANOVA). Duncan's Multiple Range Test was performed to determine the significant differences between treatments. Statistical significance was declared at $p < 0.05$.

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of rice variety on rice bran oil recovery

Rice bran oil recovered from different rice varieties are shown in Table 1. The highest amount of rice bran oil recovery was found in Phukaothong rice bran, which had around 0.28±0.02 g oil/g wb. On the other hand, Khao Dok Mali 105 had the lowest amount of rice bran oil recovery (0.20±0.02 g oil/g wb). Factors which affects on amount of rice bran oil were rice variety and extraction method. If the effect of extraction method was neglected, the comparison of oil recovery among various rice varieties according

to previous researches as in Table 2. The second in the range is the oil from Da-quan rice bran around 0.26 g oil/g wb (Chen et al., 2008). The lowest amount of rice bran oil recovery was from Sang Yod Phatthalung rice (0.03 g oil/g wb).

Effect of rice variety on antioxidant activity

Antioxidant activity of the rice bran oil was expressed as IC₅₀. The IC₅₀ value of extracted rice bran oils are presented in Table 3. The highest of antioxidant activity was found in Phukaothong with had the lowest IC₅₀ value 2.09±0.08 mg/ml. On the other hand, Khao Dok Mali 105 had the lowest with IC₅₀ value 2.60±0.06 mg/ml. Factor which affect on antioxidant activity were types of rice and extraction method. If the effect of extraction method was neglected, the comparison of IC₅₀ among various rice variety follows in Table 4, Phukaothong rice bran has the highest antioxidant activity with IC₅₀ value 2.09 mg/ml. On the other hand Phayom rice bran had the lowest with IC₅₀ value 6.85 mg/ml (Manosroi et al., 2010). The results might be the effect of color pigment and amount of color pigment presents in rice bran which was shown in Table 5 and also other nutritional composition of rice bran and cultivation of each rice.



Table 1. Rice bran oil recovery from different rice.

Rice variety	Rice bran oil recovery (g oil/g wb)*
Nang-Dam	0.25 ± 0.04 ^{ab}
Phukaothong	0.28 ± 0.02 ^a
Khao Dok Mali 105	0.20 ± 0.02 ^b

*Different letters in the same column are statistical difference at significant $p < 0.05$.

Table 2. Comparison of amount of rice bran oil with previous reports.

Rice variety	Extraction method	Rice bran oil	Reference
--------------	-------------------	---------------	-----------

Phukaothong		Green brown color, There have oil to much, relatively liquid
Khao Dok Mali 105		Yellow orange color, Less amount of oil with some crude, viscous

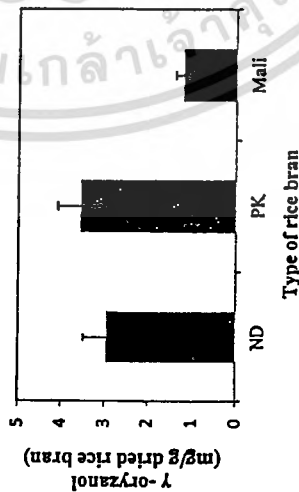


Figure 1. Amount of γ -oryzanol in rice bran oil from Nang-Dam, Phukaothong and Khao Dok Mali 105 rice brans extracted by soxhlet extraction method *ND = Nang-Dam, PK = Phukaothong, Mali = Khao Dok Mali 105.

Table 6. Comparison amount of γ -oryzanol with other study.

Rice varieties	Extraction method	γ -oryzanol (mg/g)	Reference
Nang-Dam	Soxhlet	2.96 ± 0.53	
Phukaothong		3.56 ± 0.53	This study
Khao Dok Mali 105		1.21 ± 0.18	
Rice husk	Soxhlet	0.12	
Brown rice		0.3	Bhatnagar et al., 2014
Commercial rice bran		5.4	
Waxy rice	Soxhlet	1.52 ± 0.10	
Black rice		9.12 ± 0.73	Moongngarma et al., 2012
Red rice		8.58 ± 0.02	
Rice bran (Brazil)	Soxhlet	12.5 ± 0.05	Oliveira et al., 2012

CONCLUSION

This study was conducted to compared the effect of different rice variety can affect to rice bran oil recovery, γ -oryzanol and antioxidant activity. The highest of rice bran oil recovery (0.28±0.02 g oil/g bran), antioxidant activity (2.09±0.08 mg/ml) and γ -oryzanol (3.56±0.53 mg/g) were found in Phukaothong rice bran. Therefore the Phukaothong rice bran was more effective than Nang-Dam and Khao Dok Mali 105 rice bran.

ACKNOWLEDGEMENTS

The author would like to thanks Research Department of King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang for funds support with Grant number KREF025603.

REFERENCES

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Bhatnagar, A.S., Prabhakar, D.S., Kumar, P. P.K., Rajan, R. R.G. and Krishna, G.A.G. 2014. Processing of commercial rice bran for the production of fat and nutraceutical rich rice brokens, rice germ and pure bran. LWT-Food Science and Technology. 58: 306-311.
- Loyppimai, P., Moongarm, A. and Chottanom, P. 2016. Phytochemicals and antioxidant capacity of natural food colorant prepared from black waxy rice bran. Food Bioscience. 15: 34-41.
- Manosroi, A., Ruksiriwanicha, W., Abec, M., Sakaic, H., Manosroi, W. and Manosroi, J. 2010. Biological activities of the rice bran extract and physical characteristics of its entrapment in niosomes by supercritical carbon dioxide fluid. Journal of Supercritical Fluids. 54: 137-144.
- Moongarm, A., Daomukdaa, N. and Khumpika, S. 2012. Chemical Compositions, Phytochemicals, and Antioxidant Capacity of Rice Bran, Rice Bran Layer and Rice Germ. APCBEE Procedia. 2: 73-79.
- Oliveira, R., Oliveira V., Aracava, K.K. and Rodrigues, E.C. 2012. Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with ethanol-A response surface approach. Food and Bioproducts processing. 90: 22-31.
- Ruen-ngam, D., Thawai, C., Nokkoul, R., and Sukonthamut, S. 2014. Gamma-Oryzanol Extraction from Upland Rice Bran. International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics. 4(4): 252-255.
- Sae-ang, V., Tawai, Chitti, Nokkoul, R., Ruen-ngam, R., 2015. Evaluation of antioxidant activity of Khem-ngen rice bran oil By ABTS Assay Measurement. Proceeding of TSB 2015, The 27th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference, Bangkok, Thailand, 17-20 November 2015, pp. 524-530.

- Thanonkaew, A., Wongyai, S., McClements, J.D. and Decker, A.E. 2012. Effect of stabilization of rice bran by domestic heating on mechanical extraction yield, quality, and antioxidant properties of cold-pressed rice bran oil (*Oryza sativa* L.). LWT-Food Science and Technology. 48: 231-236.
- Zhang, H., Shao, Y., Bao, J. and Beta, T. 2015. Phenolic compounds and antioxidant properties of breeding lines between the white and black rice. Food Chemistry. 172: 630-639.

Pretreatment to increase yield and antioxidant activity of γ -oryzanol in rice bran oil

Duangkamol Ruen-Ngam^{a,*}, Chitti Thawai^a, Sujitra Sukonthamut^b

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

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

*Corresponding author, e-mail: duangkamol.ru@kmitl.ac.th, modeliebe@gmail.com

Received 25 Dec 2014

Accepted 11 Mar 2016

ABSTRACT: Six pretreatment processes to extract oil from Khao Dok Mali 105 rice bran were tested to assess the effect of the processes on the γ -oryzanol content and DPPH scavenging activity of the extract. The pretreatment processes consisted of the following: microwave heating (60–110 °C), hot air heating (70–180 °C), roasting (60–80 °C), parboiling (70 °C), autoclaving (121 °C), and enzyme (amylase) treatment (50 °C). The highest amount of oil was obtained by hot air heating (70 °C) of 0.27 g/g of dried rice bran, whereas the highest γ -oryzanol yield was obtained by parboiling 9.8 mg/g of dried rice bran. The highest γ -oryzanol concentration obtained with a roasting pretreatment (60 °C) was 46.9 mg/ml of rice bran oil.

KEYWORDS: Khao Dok Mali 105, extraction, ABTS, DPPH

INTRODUCTION

Rice is a key industrial crop in Thailand and the main foodstuff in Asian countries, where many types of rice are grown. A famous type of rice grown in the central part of Thailand is Khao Dok Mali 105, which has a characteristic of long shape and white colour, as well as a jasmine-like aroma. Khao Dok Mali 105 is nutritionally rich in protein, vitamins, and ferrous and antioxidant compounds¹.

The milling process divides rice into five parts: white rice, brown rice, broken-milled rice, rice husks and rice bran. The rice bran by-product accounts for about 10–12% of the rice grain and contains large amount of fibre, vitamins, minerals, and nutrients such as phenolic compounds and vitamin E and its components (tocols, tocopherol, tocotrienol, and γ -oryzanol)^{2,3}. A group of ferulic acid esters of phytosterols, collectively called γ -oryzanol, is the main phytochemical in rice bran oil. The γ -oryzanol is used to treat a number of diseases, including high cholesterol, cancer and heart disease, and has antioxidant properties^{4–7}.

Rice bran has previously been used as animal feed but the current recognition of the useful compounds contained in rice bran oil has prompted the extraction of antioxidant compounds^{8–11}. The

oil extraction process has been extensively developed, starting with conventional extraction with organic solvents^{5,12} and extending to ohmic heating^{3,13}, hydrothermal treatment (subcritical water)¹³, and green technology using pressurised CO₂ (SC-CO₂)^{3,14–16}. Some extraction methods are still limited due to the high toxin content and cost; therefore, adaptation of the extraction methods is highly. Much research now indicates that the choice of heating pretreatment can enhance the yield of extracted oil and the fractions containing antioxidants, while also stabilizing the rice bran oil^{17–20}. The grain also contains a large amount of carbohydrate, so an enzyme hydrolysis pretreatment has been used to obtain a high yield of oil containing antioxidant compounds^{21–23}. Surprisingly, little research has focused on γ -oryzanol extraction or on increasing the extracted yield, although the pretreatment methods could conceivably enhance the yield of γ -oryzanol from rice bran.

The aim of the research presented here was to determine the effect of pretreatment methods on the yield of rice bran oil and γ -oryzanol and the resulting antioxidant activity. The results provide new information for improving the oil and γ -oryzanol extraction processes for rice bran.

MATERIALS AND METHODS

Rice bran

Khao Dok Mali 105 rice was cultivated in Suphan Buri Province, Thailand. The rice was milled using a typical milling process and the resulting rice bran was kept in a plastic bag and stored in a refrigerator at 4 °C.

Chemicals

An authentic γ -oryzanol standard was obtained from Wako Pure Chemical Industries, Ltd, Japan. A CN5 HPLC column was bought from ACE. The solvents for HPLC, including methanol, isopropanol, ethyl acetate and hexane, were purchased from Carlo Erba. For extractions and solution preparation, hexane was purchased from Marcon Fine Chemical, USA; acetone and ethanol from Fisher Science, UK; and methanol from Avantor Performance Materials Inc., USA. The α -amylase enzyme was purchased from Sigma-Aldrich Co., USA and 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) from Sigma-Aldrich, Germany.

Material preparation

The rice bran raw material was prepared by sieving through a 150–300 μ m standard sieve (Endecotts Ltd, England). The desired pretreatment was then applied, followed by continuous extraction of the rice bran oil by a standard extraction method. The moisture content of the rice bran was measured as approximately $7.99 \pm 0.16\%$.

Pretreatment processes

The pretreatment methods were adapted from Thanonkaew et al¹⁹ and Alrahmany et al²². The same amount of rice bran, weighting approximately 5 g, was used for all treatments. The six pretreatment methods are shown in Table 1. The first pretreatment method consisted of heating in a microwave at different temperatures (60, 90, and 110 °C) at a frequency of 2450 MHz (Samsung, GE87Q-S, Thailand) for 3 min. Pretreatment temperatures higher than 110 °C for durations longer than 3 min could burn the rice bran, which then turns dark brown; therefore, the limiting pretreatment condition was 110 °C for 3 min. The second pretreatment was heating with hot air at different temperatures (70, 100, and 180 °C) in an oven (Mettler, UN110, Germany) with an incubation time of 10 min. The third method was roasting in a 15 cm diameter domestic pan on a hot plate (Gerhardt, Germany) at 60 or 80 °C for 3 min. The

Table 1 Pretreatment processing conditions.

Pretreatments	Conditions
Microwave heating	60, 90, and 110 °C for 3 min
Hot air heating	70, 100, and 180 °C for 10 min
Roasting	60 and 80 °C for 3 min in a domestic cooking pan, 15 cm diameter
Parboiling	75 °C for 60 min in a domestic cooking steamer, 30 cm diameter
Autoclave heating	121 °C for 15 min
Enzyme	50 °C for 120 min

fourth method consisted of parboiling in a 30 cm diameter domestic cooking steamer at 75 °C for 60 min. The fifth method consisted of heating in an autoclave at 121 °C and 103 kPa for 15 min—a condition typically used for sterilization and enzyme inhibition. The sixth method consisted of hydrolysis with α -amylase (1375 unit/ml) under the optimum conditions for enzyme activity at a circulating rate of 180 rpm, and an incubation time of 120 min at 50 °C.

Extraction method

The same extraction procedure was conducted after all pretreatment methods listed in the previous section. The maceration method described by Ruenngam et al²⁴ was followed, as this procedure extracted the highest amount of oil. The ratio of rice bran to solvent was 1:4 (g/ml), with hexane as the solvent, and the circulation rate was controlled at 200 rpm with a shaking time of 60 min at 30 °C. All extractions were conducted in 250 ml flasks covered with aluminium foil for light protection. Residues in the extracts were removed by filtration through Whatman No. 1 filter paper and the solvent was removed from the rice bran oil under vacuum in a rotary evaporator (Heidolph, Germany). The residues from the rice bran oil were weighed on a 4-digit balance.

HPLC analysis

The amount of γ -oryzanol in the extracted oil was measured by HPLC. The stationary phase was a 250×4.6 mm CN5 HPLC column. The mobile phase was an isocratic mixture of hexane: ethyl acetate: acetic acid (97.3:1.8:0.9; v/v) run at a flow rate of 0.5 ml/min. A 20 μ l sample of each extraction was analysed at 330 nm. The data were reported using LC-solution software and the amount of γ -oryzanol was calculated by comparing the area under the

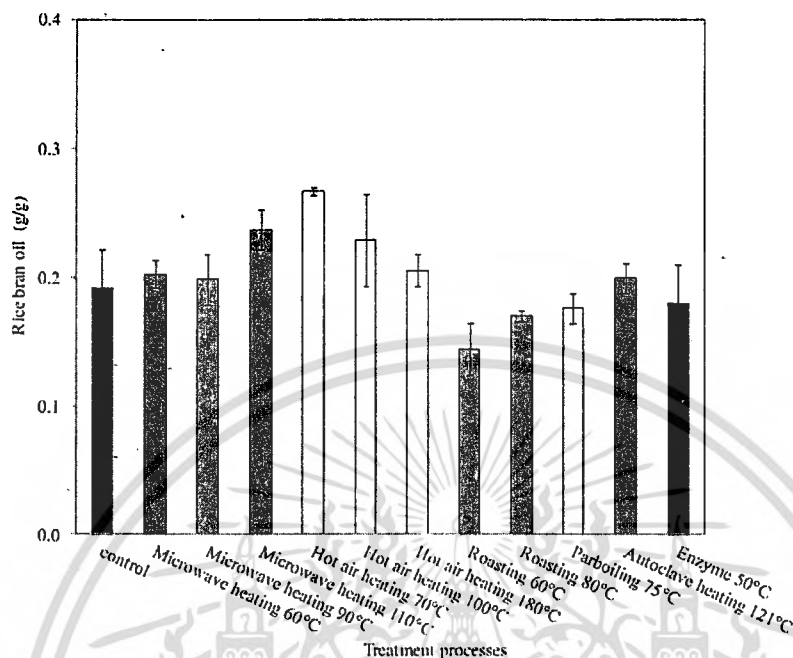


Fig. 1 Rice bran oil recovery from rice bran after different pretreatment processes.

peak appearing at around 27 min to that of a known concentration of the authentic γ -oryzanol standard, which eluted at that retention time.

DPPH radical scavenging activity

The free radical scavenging was evaluated using the assay described by Alrahmany et al²², with some modifications. Briefly, 100 μ l of each extract or a BHT standard was added to a 96-well plate containing 100 μ l 0.5 mg/ml DPPH prepared in ethanol. The mixtures were incubated at 30 °C in the dark for 30 min and then the absorbance was measured at 517 nm and compared to a control (as 100%) using a microplate reader (iEMS Reader MF, Finland). The radical scavenging or DPPH inhibition was calculated as $1 - Ab_s/Ab_c$, where Ab_c is the absorbance of the control sample and Ab_s is the absorbance of the test sample.

The scavenging activity was measured using a BHT standard prepared in the range of 6.25–100 g/l and then measuring the scavenging activity with the same method. The BHT concentration that gave the equivalent scavenging activity of the extracted oil was calculated.

ABTS assay

The ABTS assay was used to determine the antioxidant activity of the rice bran oil. The ABTS⁺ was generated through a chemical oxidation reaction

with potassium persulphate⁶. The concentration of the blue-green solution of ABTS⁺ radical solution was adjusted with ethanol to get the desired absorbance range (0.1–0.8). A 100 μ l volume of the extracted oil was then pipetted into a 96-well plate, mixed with 100 μ l ABTS⁺ solution, incubated in the dark at 30 °C for 5 min, and then measured at 734 nm using ethanol as a blank. The ABTS activity was calculated using the same formula as above or expressed as μ g/ml Trolox equivalents. The Trolox standard was prepared in ethanol and was linear in the range of 100–800 μ g/ml.

Statistic analysis

All experiments were done in triplicate and the data for the amounts of rice bran oil and γ -oryzanol and the antioxidant activities of ABTS and DPPH are presented as means and standard deviations. Statistical analysis was performed using SPSS 22.0. Duncan's multiple range test was used to determine significant differences with ANOVA 0.05 ($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Effect of pretreatment processes on amount of rice bran oil

The amount of rice bran oil obtained from each pretreatment process is shown in Fig. 1, where the x-axis is the pretreatment process and the y-axis shows the oil (in grams) extracted per gram of dried

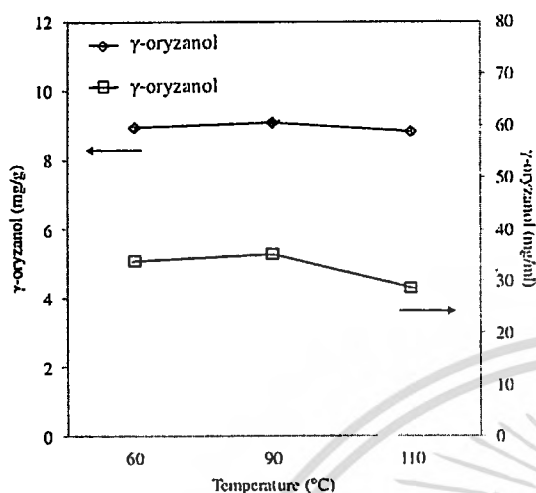


Fig. 2 Amount and concentration of γ -oryzanol in rice bran oil extracted after microwave pretreatment of rice bran at different temperatures.

rice bran. The amount of rice bran oil obtained with the microwave heating pretreatment was highest (0.24 g oil/g bran) for the 110 °C pretreatment, when compared to the 60 and 90 °C, as shown in Fig. 1 and Fig. 2. The statistical analysis shown in Table 2 indicates that the heating temperature had no significant effect on the amount of rice bran oil extracted (indicated by the same lowercase character for all heating temperatures). The microwave heating distorted and destroyed the original oil body membrane, resulting in the presence of pools of oil and small granular materials in the cells¹⁶; therefore, the oil was easily released into the bulk solvent. However, heat did not affect the amount of oil recovery even though the oil viscosity was reduced. The rice bran, when heated to 110 °C, turned from a pale yellow to a dark brown, with a rancid smell and bad oil quality (oxidative rancidity) because heat burned the bran. Residual lipase activity in the rice bran after heating at 110 °C released large quantities of free fatty acids and γ -oryzanol and added to the rancid smell²⁵.

Hot air heating, which heated the material to the desired temperature by convection, decreased the amount of extracted rice bran oil, as shown in Fig. 1 and Fig. 3. This had the opposite effect to that seen with microwave heating, and was possibly due to the effect of too high a temperature (around 180 °C), which would accelerate the loss of moisture at the outside surface, resulting in collapse of the material. However, temperature increases between 70 and 180 °C had no significant effect on amount of

Table 2 Amounts of extracted oil, γ -oryzanol content, and antioxidant activity for each pretreatment condition.

Treatments	RBO [*] (g/g)	γ -oryz. [†] (mg/g)	ABTS (%)	Trolox (μ g/ml)	DPPH (%)	BHT (mg/ml)
Microwave						
60 °C	0.20 ^a	8.94 ^{ab}	71 ± 7 ^b	7.54	51 ± 3	3.60
90 °C	0.20 ^{aA}	9.08 ^{abc}	72 ± 5	7.58	51 ± 3 ^{ab}	3.61
110 °C	0.24 ^a	8.82 ^{ba}	63 ± 4	6.74	50 ± 2	3.58
Hot air						
70 °C	0.27 ^{ba}	9.26 ^{bc}	58 ± 6 ^a	6.24	50 ± 3 ^a	3.54
100 °C	0.23 ^b	8.93 ^b	58 ± 2	6.19	50 ± 1	3.54
180 °C	0.21 ^b	8.82 ^a	61 ± 5	6.53	50 ± 2	3.52
Roasting						
60 °C	0.14 ^c	8.81 ^a	69 ± 5 ^b	7.31	55 ± 4	3.87
80 °C	0.17 ^{ca}	9.10 ^{ac}	66 ± 1	7.00	54 ± 0 ^b	3.80
Parboiling						
70 °C	0.18 ^A	9.76 ^D	62 ± 2 ^{ab}	6.62	54 ± 1 ^b	3.83
Autoclave						
121 °C	0.20 ^A	8.86 ^B	68 ± 4 ^B	7.20	55 ± 2 ^{ab}	3.78 [*]
Enzyme						
50 °C	0.18 ^A	8.31 ^E	71 ± 1 ^b	7.53	53 ± 4 ^c	3.73

* RBO: rice bran oil (extracted amount).

† γ -oryz.: γ -oryzanol content.

Values are means ± SD of triplicate.

The same superscript lower-case letter in a column indicates no significant difference in each pretreatment process at $p < 0.05$.

The same superscript capital letter in a column indicates that there is no significant difference between different pretreatments at $p < 0.05$.

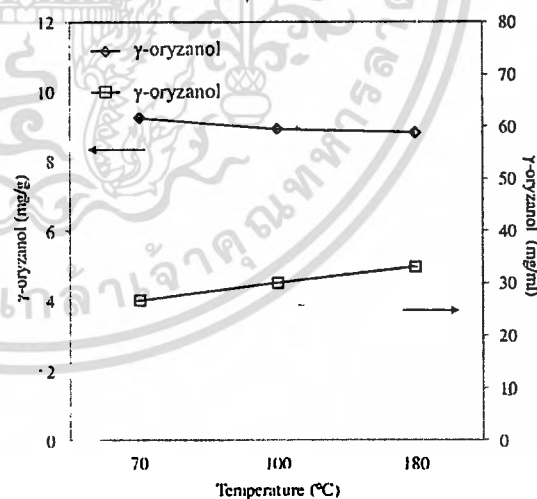


Fig. 3 Amounts and concentrations of γ -oryzanol in rice bran oil extracted after hot air pretreatment of rice bran at different temperatures.

extracted oil, as shown by the statistical analysis in Table 2. This might indicate that the collapse of the material prevented the penetration of the solvent inside the material.

The effects of pretreatment of the rice bran by roasting at different temperatures are shown in

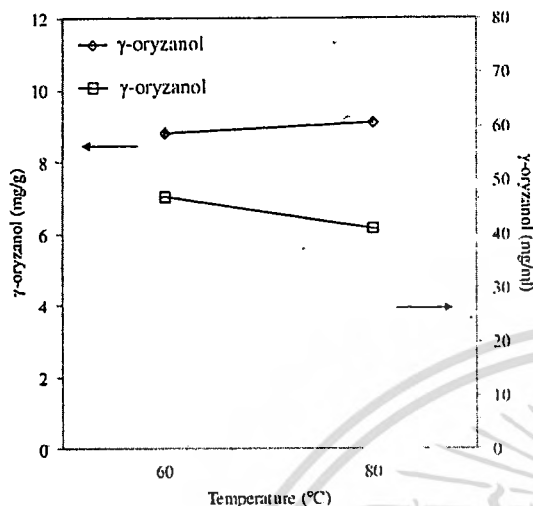


Fig. 4 Amounts and concentrations of γ -oryzanol in rice bran oil extracted after pretreatment of rice bran by roasting at different temperatures.

Fig. 1 and Fig. 4. Increasing the roasting temperature from 60–80°C increased the amount of rice bran oil recovered; however, this result was not significantly different for either temperature (Table 2). The highest amount of rice bran oil (0.27 g oil/g bran) was obtained after hot air heating at 70°C, while the lowest amount (0.14 g/g) was obtained by roasting at 60°C. This difference might reflect the possibility that heat from the roasting process directly affects the surface of the material, so that moisture moves quickly from the surface, causing collapse of the material. In contrast, heat from air passes through the material and disrupts the original oil body membrane, causing an oil pool to build up¹⁶. The hot air might also cause swelling of the material, which would allow the solvent to penetrate more easily into the material and aid in oil removal. The microwave heating process produced a lower amount of extracted oil than hot air heating at the same range of pretreatment temperatures (90 and 100°C) because microwave heating strongly lowered the moisture content, which then made the material more brittle and caused it to collapse¹⁹.

Heating processes involving steaming, such as parboiling and autoclave heating, extracted a lower amount of oil compared to dry heating processes, such as microwave heating and hot air heating. On the other hand, the roasting process released even less oil than parboiling and autoclave heating processes, in contrast to previous research¹⁹ conducted at a higher temperature of 150°C. The effect of pretreatment temperature on the removal

of moisture might be the critical factor determining the final amount of extracted oil. Even though steam could penetrate through the material, it did not increase the extracted oil yield. Steam under high pressure could have caused the material to collapse, thereby blocking oil release. Steam and pressure would also break the bulk oil into small droplets, which could then be trapped in water inside the material, creating difficulty in extraction with a non-polar solvent. The amount of oil released following the enzyme hydrolysis pretreatment was in the same range as that obtained with the roasting and parboiling processes because amylase hydrolyses carbohydrates, thereby facilitating oil extraction.

The mean values of the greatest amounts of oil extracted by each pretreatment process were analysed for significant differences. As shown in Table 2, the highest amounts of rice bran oil extracted from each pretreatment did not differ significantly at the $p < 0.05$ level.

Effect of pretreatment processes on amount of γ -oryzanol

The effects of the pretreatment processes on the amounts of γ -oryzanol are presented in Fig. 5, where the x-axis shows the pretreatment processes and the primary y-axis shows the amount of γ -oryzanol (mg/g dried rice bran) (bars) and the secondary y-axis shows the γ -oryzanol concentration (mg/g rice bran oil) (dots). The highest amount of γ -oryzanol was obtained from the parboiling process at 75°C (9.76 mg/g dried rice bran), whereas the highest γ -oryzanol concentration was achieved with the roasting process at 60°C (64.93 mg/ml). The roasting process accelerates removal of moisture from the material surface, causing collapse of the surface and trapping the oil inside the material; therefore, the highest concentration of γ -oryzanol was obtained.

The means of the highest amounts of oil obtained from each pretreatment process were also evaluated for significant differences, as demonstrated in Table 2. The amount of γ -oryzanol obtained from microwave heating (90°C), hot air heating (70°C), and roasting (80°C) showed no significant differences at $p < 0.05$.

The effect of microwave heating temperature on the amount of γ -oryzanol is presented in Fig. 5, where the x-axis shows the pretreatment temperature from 60–110°C produced by the microwave heating process. The primary y-axis shows the amounts of γ -oryzanol (mg/g dried rice bran) and secondary y-axis shows the γ -oryzanol concentra-

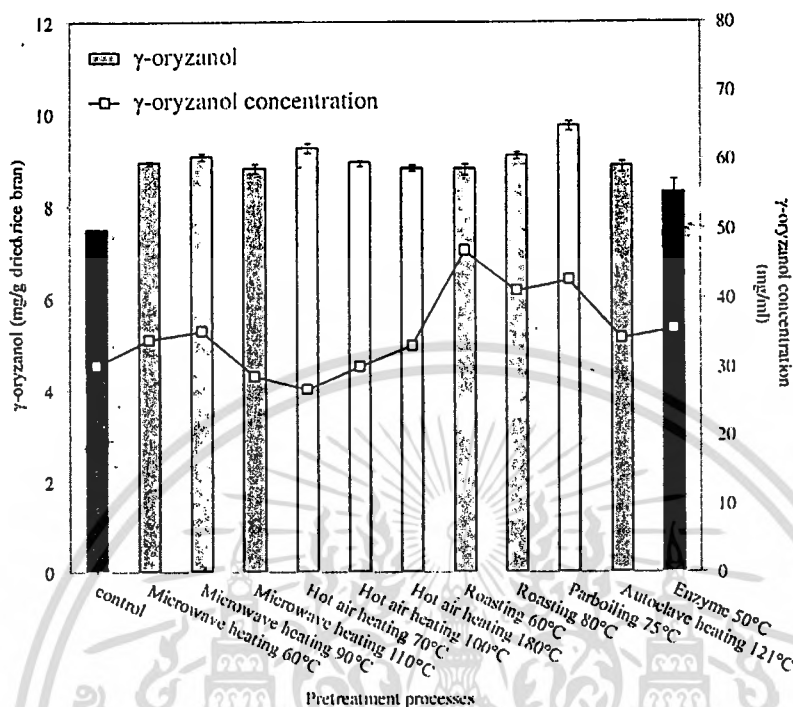


Fig. 5 Amount of γ -oryzanol in rice bran oil extracted from rice bran after different pretreatment processes.

tion (mg/ml rice bran oil). Increasing the heating temperature from 60°C to 110°C resulted in a slight increase in the γ -oryzanol concentration in the oil; this concentration then dropped for increases in the range of 90–110°C. However, the highest value of 35.2 mg/ml was achieved at 90°C. The highest amount of oil was extracted at 110°C, which resulted in the lowest value for the γ -oryzanol concentration for material pretreated at that temperature. The amount of γ -oryzanol remained quite stable as the heating temperature was increased from 60°C to 110°C, as confirmed elsewhere^{20,25–27}. However, heating at a temperature more than 120°C enhanced degradation of γ -oryzanol, as reported elsewhere^{20,27}.

The statistical analysis shown in Table 2 confirmed that all experiments showed significant differences. Heating promotes fatty acid degradation by cleavage of oils to free fatty acids and low molecular weight compounds such as γ -oryzanol^{25,28}. Even though microwaves are considered the most energy-efficient type of heating and a rapid method for bran stabilization, microwave pretreatment still has limitations that require preliminary tests of feasibility for any application²⁶.

The effects of a hot air heating pretreatment on the amounts of γ -oryzanol are presented in Fig. 5. The amount of γ -oryzanol decreased when the pre-

treatment temperature increased from 70–180°C and reached the highest value (9.3 mg/g dried rice bran) at 70°C. Lipase is one type of enzyme present in rice bran and it promotes rancidity by cleaving fats to low molecular weight compounds, such as free fatty acids. The optimum temperature for lipase activity is around 60–70°C, so that the increased amount of low molecular weight compounds might be γ -oryzanol^{26,29}. However, at the higher temperature of 100°C, the loss of moisture inside the material resulted in no activity of enzyme, so the γ -oryzanol level was low^{25,27}. Moreover, a pretreatment temperature higher than 110°C promotes degradation of γ -oryzanol, which resulted in the lowest value, as shown for the 180°C pretreatment in Fig. 3²⁵. The γ -oryzanol concentration was high following the 180°C pretreatment because the amount of extracted oil was the lowest obtained. The statistical analysis shown in Table 2 indicates that the pretreatment temperature of 70°C gave a significantly higher amount of γ -oryzanol than that obtained with any other pretreatment temperatures.

The amount of γ -oryzanol obtained is shown in Fig. 5, where the x-axis is the temperature ranging between 60 and 80°C for the roasting pretreatment. The amount of γ -oryzanol was the highest at 80°C (9.1 mg/g dried rice bran) because of the enzyme activity. The statistical analysis shown in Table 2

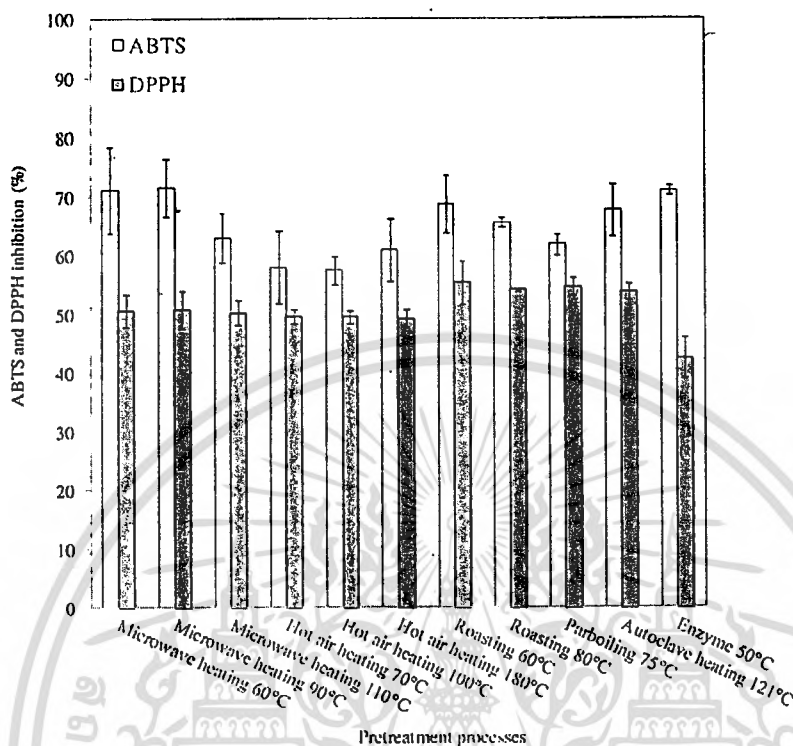


Fig. 6 Antioxidant activity of compounds in rice bran oil extracted from rice bran after different pretreatment processes.

indicates no significant differences for the two pretreatment temperatures.

Effect of pretreatment processes on antioxidant activity

The results for both antioxidant activities are displayed on the y-axis in Fig. 6; the x-axis lists the pretreatment processes. The activity of DPPH scavenging (grey bars) shows a higher percentage scavenging for the oil extracted after roasting (60 °C) and parboiling processes, when compared to the other pretreatment processes. The overall trend for the antioxidant activity parallels that seen for the γ -oryzanol concentration in Fig. 2.

The amount of BHT equivalents for DPPH scavenging is indicated in Table 2. The percentages for the ABTS assay are also shown in Fig. 3 as white bars. The trend of ABTS inhibition differed from the trend of γ -oryzanol concentration, which might indicate effects on the polyphenol and vitamin E content of the rice bran oil^{19,25}. The highest amounts of oil from each pretreatment process were tested for significant differences between means (Table 2).

CONCLUSIONS

This study was conducted assuming that pretreatment proceeds prior to extraction can affect the raw

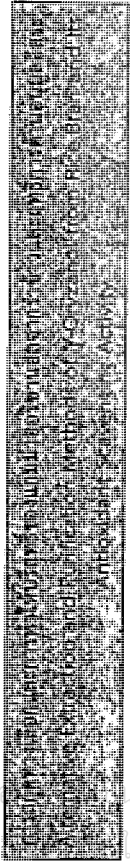
material resulting in increased amount of extracted compound (rice bran oil and γ -oryzanol). Heat and lipase activity had physical effects on the material and γ -oryzanol stability. The amount of oil achieved the highest value from pretreatment by hot air heating at 70 °C and the amount of γ -oryzanol obtained was the highest by parboiling pretreatment process whereas γ -oryzanol concentration reached the highest value by roasting pretreatment process at 60 °C. This study also demonstrated that rice bran oil acts as free radical scavengers to inhibit DPPH activity and bleach ABTS.

Acknowledgements: This study was supported by research funds with Grant number KREF025603 from King Mongkut’s Institute of Technology Ladkrabang. The author thanks Assoc. Prof. Prasert Pavasant from the Department of Chemical Engineering, Chulalongkorn University for all the help and encouragement.

REFERENCES

- Goufo P, Trindade H (2014) Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. *Food Sci Nutr* 2, 75–104.
- Zigoneanu IG, Williams L, Xu Z, Sabliov CM (2008) Determination of antioxidant components in rice

- bran oil extracted by microwave-assisted method. *Bioresour Tech* 99, 4910–8.
3. Loypimai P, Moonggarn A, Chottanom P (2009) Effects of ohmic heating on lipase activity, bioactive compounds and antioxidant activity of rice bran. *Aust J Basic Appl Sci* 3, 3642–52.
 4. Xu Z, Godber JS (2000) Comparison of supercritical fluid and solvent extraction methods in extracting γ -oryzanol from rice bran. *J Am Oil Chem Soc* 77, 547–51.
 5. Patel M, Naik SN (2004) Gamma-oryzanol from rice bran oil—A review. *J Sci Ind Res* 63, 569–78.
 6. Chan KW, Khong NMH, Iqbal S, Ismail M (2013) Isolation and antioxidative properties of a phenolics-saponins rich fraction from defatted rice bran. *J Cereal Sci* 57, 480–5.
 7. Payet B, Sing ASC, Smadja J (2005) Assessment of antioxidant activity of cane brown sugars by ABTS and DPPH radical scavenging assays: determination of their polyphenolic and volatile constituents. *J Agr Food Chem* 53, 10074–9.
 8. Lerma-García MJ, Herrero-Martínez JM, Simó-Alfonso EF, Mendonça CRB, Ramis-Ramos G (2009) Review composition, industrial processing and applications of rice bran γ -oryzanol. *Food Chem* 115, 389–404.
 9. Butsat S, Siriamornpun S (2010) Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. *Food Chem* 119, 606–13.
 10. Tuncel NB, Yilmaz N (2011) Gamma-oryzanol content, phenolic acid profiles and antioxidant activity of rice milling fractions. *Eur Food Res Tech* 233, 577–85.
 11. Chakuton K, Puangpronpitag D, Nakornriab M (2012) Phytochemical content and antioxidant activity of colored and non-colored Thai rice cultivars. *Asian J Plant Sci* 11, 285–93.
 12. Oliveira R, Oliveira V, Aracava KK, da Costa Rodrigues CE (2012) Effects of the extraction conditions on the yield and composition of rice bran oil extracted with ethanol—A response surface approach. *Food Bioprod Process* 90, 22–31.
 13. Lakkakula NR, Lima M, Walker T (2004) Rice bran stabilization and rice bran oil extraction using ohmic heating. *Bioresour Tech* 92, 157–61.
 14. Imsanguan P, Roaysubtawee A, Borirak R, Pongamphai S, Douglas S, Douglas PL (2008) Extraction of α -tocopherol and γ -oryzanol from rice bran. *LWT Food Sci Tech* 41, 1417–24.
 15. Jesus SP, Grimaldi R, Hense H (2010) Recovery of γ -oryzanol from rice bran oil byproduct using supercritical fluid extraction. *J Supercrit Fluid* 55, 149–55.
 16. Tomita K, Machmudah S, Wahyudiono Fukuzato R, Kanda H, Quitain AI, Sasaki M, Goto M (2014) Extraction of rice bran oil by supercritical carbon dioxide and solubility consideration. *Separ Purif Tech* 125, 319–25.
 17. Dickey LC, Cooke PH, Kurantz MJ, McAloon A, Parriss N, Moreau RA (2007) Using microwave heating and microscopy to estimate optimal corn germ oil yield with a bench-scale press. *J Am Oil Chem Soc* 84, 489–95.
 18. Nair GR, Divya VR, Prasanna L, Habeeba V, Prince MV, Raghavan GSV (2012) Ohmic heating as a pre-treatment in solvent extraction of rice bran. *J Food Sci Tech* 51, 2692–8.
 19. Thanonkaew A, Wongyai S, McClements DJ, Decker EA (2012) Effect of stabilization of rice bran by domestic heating on mechanical extraction yield, quality, and antioxidant properties of cold-pressed rice bran oil (*Oryza sativa* L.). *LWT Food Sci Tech* 48, 231–6.
 20. Kim M, Park JW, Kim JY, Park KW, Lee S, Jang J, Lee JH (2013) Effects of heat treatment and visible light exposure on the oxidative stability of rice bran and of rice bran oil. *Food Sci Biotechnol* 22, 1223–8.
 21. Pradeep PM, Jayadeep A, Guha M, Singh V (2014) Hydrothermal and biotechnological treatments on nutraceutical content and antioxidant activity of rice bran. *J Cereal Sci* 60, 187–92.
 22. Alrahmany R, Avis TJ, Tsopmo A (2013) Treatment of oat bran with carbohydrases increases soluble phenolic acid content and influences antioxidant and antimicrobial activities. *Food Res Int* 52, 568–74.
 23. Fan X, Moreau RA (2014) Extraction and demulsification of oil from wheat germ, barley germ, and rice bran using an aqueous enzymatic method. *J Am Oil Chem Soc* 91, 1261–8.
 24. Ruen-Ngam D, Thawai C, Nokkoul R, Sukonthamut S (2014) Gamma-oryzanol extraction from upland rice bran. *Int J Biosci Biochem Bioinform* 4, 252–5.
 25. Shin T, Godber JS, Martin DE, Wells JH (1997) Hydrolytic stability and changes in E vitamers and oryzanol of extruded rice bran during storage. *J Food Sci* 62, 704–8.
 26. Malekian F, Rao RM, Prinyawiwatkul W, Marshall WE, Windhauser M, Ahmedna M (2000) *Lipase and Lipooxygenase Activity, Functionality, And Nutrient Losses in Rice Bran During Storage*, Louisiana State Univ Agricultural Center & Louisiana Agricultural Experiment Station, Louisiana.
 27. Khuwijitjaru P, Yuenyong T, Pongsawatmanit R, Adachi S (2009) Degradation kinetics of gamma-oryzanol in antioxidant-stripped rice bran oil during thermal oxidation. *J Oleo Sci* 58, 491–7.
 28. Debnath S, Rastogi NK, Krishna GAG, Lokesh BR (2012) Effect of frying cycles on physical, chemical and heat transfer quality of rice bran oil during deep-fat frying of poori: An Indian traditional fried food. *Food Bioprod Process* 90, 249–56.
 29. Marshall WE, Wadsworth JI (1994) *Rice Science and Technology*, Marcel Dekker, New York.



ความคม เรืองงาม¹, จิตทิ ท่าวัว², สุจิตรา สุขอมณี², วรมจิตรา มุทธา³

Duangkamol Ruen-ngam¹, Chitti Tawai², Sujitra Suksomtham², Baumjitt Nokkoul³

Received: September 22, 2017

Accepted: November 30, 2017

ABSTRACT

Oryzanol is a well-known antioxidant and now used as food supplements. Crude rice bran oil (CRBO) composes of many impurities such as wax and gum sludge which are required to be removed prior to purifying CRBO with many serial steps. Firstly, CRBO was extracted from jasmine rice bran by cold press extraction and maceration with ethanol and hexane extraction then impurities, such as waxes and gums, were removed from the CRBO by 2 different systems, i.e., methanol:acetone and ethanol:acetone crystallisation systems which were then compared. The crystallisation involved two steps and yielded a solid and a liquid phase under cold conditions. The γ -oryzanol content in all phases was analysed by RP-HPLC and the antioxidant scavenging activity was analyzed by DPPH assay. The γ -oryzanol obtained from all conditions was a fine white to pale yellow crystal. The best extraction conditions were cold pressed extraction with crystallisation in ethanol: acetone, which yielded 12.31% γ -oryzanol crystals with 94.71 % purity. The γ -oryzanol crystals were evaluated for their antioxidant scavenging activity and had an IC₅₀ of 0.171 mg/ml, with almost the same range as the...

บทคัดย่อ

ออริซานอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งในปัจจุบันนิยมใช้เป็นอาหารเสริม พบมากในน้ำมันรำข้าว แต่น้ำมันรำข้าวดิบที่ได้จากการสกัดมีสิ่งปนเปื้อนปะปน ได้แก่ ซีลี และยางเหนียว ซึ่งจำเป็นต้องกำจัดออกก่อน การทำน้ำมันรำข้าวดิบให้บริสุทธิ์ด้วยการรมวิธีหลาย ขั้นตอน ในขั้นแรกเป็นการสกัดน้ำมันจากรำข้าวหอมมะลิ ด้วยวิธีการสกัดเย็นและวิธีการระเหยในด่างที่ละลายเอาทานอล และเอทเธน หลังจากนั้นกำจัดสิ่งปนเปื้อนออกด้วยกระบวนการตกผลึกด้วยอะซิโตนในสารละลายผสม 2 ระบบ ที่ศึกษาเปรียบเทียบกันได้แก่ เมทานอล:อะซิโตน และเอทานอล:อะซิโตน กระบวนการตกผลึกมีสอง ขั้นตอนการวิเคราะห์ปริมาณแอมมอริซานอลในส่วนที่เป็นของแข็งและของเหลวทำโดยใช้เครื่อง RP-HPLC ส่วน การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระใช้วิธี DPPH ผลการทดลองพบว่าแอมมอริซานอลที่ได้ในทุกสภาวะมีลักษณะเป็นผงสีขาวจนถึงสีเทาปนไปถึงสีเหลืองซีด สภาวะการผลิตที่ดีที่สุดคือวิธีการสกัดเย็นและตกผลึกด้วยสารละลายผสมเอทานอล:อะซิโตน 94.71 เปอร์เซ็นต์ของผลผลิต ซึ่งมีความบริสุทธิ์ร้อยละ 94.71 ผลึกแอมมอริซานอลที่ได้นี้นำไปวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระ 50 (IC₅₀) ที่ความเข้มข้น 0.171 mg/ml ซึ่งอยู่ในช่วงเดียวกันกับการมาตรฐาน BHT และมีค่าต่ำกว่าสารมาตรฐานแอมมอริซานอลที่ใช้ในเชิงการค้า

* Corresponding author e-mail: duangkamol.r@gmail.com
¹ Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok, Thailand
² Department of Statistics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok, Thailand
³ Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus (KMUTL-PCO Chumphon) Thailand

BHT standard. However, it was lower than that obtained with a commercial γ -oryzanol standard.

Keywords: antioxidant activity, extraction, purification, rice bran oil, γ -oryzanol

บทนำ

ประเทศไทยเป็นหนึ่งในสิบของผลิตและผู้ส่งออกข้าวในระยะเวลา 7 ปีที่ผ่านมา สถานการณ์สินค้าเกษตรประเภทข้าวและจากรายงานแนวโน้มในเดือนพฤศจิกายนปี 2014 จัดอันดับให้ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตข้าวรายใหญ่อันดับที่หกและเป็นอันดับที่สามในฐานะผู้ส่งออกในโลกทั้งนี้มีการผลิตข้าวมากถึง 20.5 ล้านตันต่อปี [1] การสีข้าวทำให้เกิดรำข้าวที่เป็นผลพลอยได้ซึ่งประมาณร้อยละ 10.5 ของน้ำหนักข้าวเดิม รำข้าวเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่ โทโคไตรอีนอล ออริซานอล ฟีนอลิก แอนโทไซยานิน ไฟเตท และโททีนอล เป็นต้น [2-9]

ออริซานอล เป็นสารประกอบเอสเทอร์ของกรดเพอรูลิกที่มีอยู่ประมาณร้อยละ 2 ในรำข้าว ออริซานอลสามารถยับยั้งการดูดซึมคอเลสเตอรอล เพิ่มการขับคอเลสเตอรอล และเพิ่มการหลั่งน้ำดี ช่วยลดการตกตะกอนของคอเลสเตอรอล และช่วยควบคุมการทำงานของสมอง ออริซานอลเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้เป็นอาหารเสริมในปัจจุบันอีกด้วย [10-11] มีนักวิจัยได้พัฒนาวิธีการสกัดและทำออริซานอลให้บริสุทธิ์จากแหล่งธรรมชาติ เช่น น้ำมันรำข้าวดิบ (Crude rice bran oil, CRBO) [4, 11-17] CRBO ถูกสกัดจากรำข้าวโดยผ่านหลายขั้นตอน ด้วยวิธีการสกัดได้แก่ การใช้ชุดของหม้อเลก การแช่ การใช้น้ำภายใต้สภาวะวิกฤติ (subcritical water extraction, SWE) และการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้ภาวะวิกฤติยุด (supercritical carbon dioxide extraction, SC-CO₂) [3-4, 11-17-19] อย่างไรก็ตามวิธีการสกัดข้างต้นค่อนข้างแพง ดังนั้นการสกัดเย็นและการใช้ตัวทำละลายหลายจึงเป็นวิธีที่ยั่งยืนและสามารถประยุกต์ได้ในระบบขยายขนาด

ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของวัตถุ โดยทั่วไปแล้วออกเซนถูกใช้ในการสกัดสารที่ไม่มีซีลี เช่น น้ำมัน ในขณะที่เอทานอลถูกใช้สำหรับสารประกอบที่มีซีลีเช่น แอมมอริซานอล ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้ตัวทำละลายหลายทั้งสองในการเพียงพอบริการสำหรับสารประกอบที่มีซีลีเช่น แอมมอริซานอล

การศึกษาทางวิจัยในอดีตพบว่ามีหลายวิธี ได้แก่ การใช้อัลตราไล (ต่าง) การกลั่นทางกายภาพ การกลั่นทางเคมี การใช้วิธีทางโครมาโตกราฟีของเหลวผสมระเหยสูง และการเหนี่ยวนำให้ตกตะกอนโดยแคลเซียมไอออน แต่กระบวนการเหล่านี้มีให้ค่าผลได้ของแอมมอริซานอลต่ำและแอมมอริซานอลที่ได้มีคุณภาพต่ำกว่าสารที่ผลิตในเชิงการค้า [12-13, 21] บางงานวิจัยทำการทดลองเบื้องต้นโดยใช้การตกตะกอนสองขั้นตอนซึ่งคุณภาพสูง

สกัดน้ำมันรำข้าวดิบด้วยชุดของหม้อเลก โดยใช้แยกเซนเป็นตัวทำละลาย [13] อย่างไรก็ตาม กระบวนการสกัดน้ำมันรำข้าวดิบด้วยวิธีการแยกด้วยตัวทำละลายหลายเอทเธนและเอทานอล อีกทั้งยังมีตัวทำละลายหลายที่เลือกใช้ปลอดอิมมิและแตกต่างกันไปในขั้นตอนการตกผลึก (การทำให้อบริสุทธิ์) เป็นปัจจัยที่สำคัญและมีผลกระทบต่อผลผลิตที่ได้ของแอมมอริซานอลและคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่สุดท้ายที่ได้

แต่ส่วนนี้ยังไม่มีรายงานอย่างแน่ชัด ดังนั้นงานวิจัยฉบับนี้ทำขึ้นขึ้นมาเพื่อเติมเต็มในส่วนดังกล่าว งานวิจัยนี้แสดงถึงวิธีการเปรียบเทียบการตกผลึกของออริซานอลจากน้ำมันรำข้าวดิบสายพันธุ์ข้าวขาวหอมมะลิที่ปลูกกันมากในภาคกลางของประเทศไทย

ในขั้นต้นศึกษาวิธีการสกัดที่แตกต่างกันสามสภาวะ ได้แก่ การสกัดเย็น การระเหยโดยใช้สารตกตะกอนและเอทานอล และศึกษาขั้นตอนการตกผลึกซึ่งดำเนินการต่อเนื่องสองขั้นตอนซึ่งขั้นตอนการตกผลึกจะแทนแอมมอริซานอลด้วยเอทานอลซึ่งไม่เป็นที่ จากนั้นจะนำเอาผลิตภัณฑ์ที่วิเคราะห์หาความบริสุทธิ์และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

Corresponding author e-mail: duangkamol.r@gmail.com
¹ Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok, Thailand
² Department of Statistics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok, Thailand
³ Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus (KMUTL-PCO Chumphon) Thailand

วัตถุประสงค์และวิธีการทดลอง

1. วัตถุประสงค์
ใช้รำข้าวขาวคุณภาพดีเป็นผลิตภัณฑ์ของกระบวนการสกัดหยาบรำข้าวขาว นำรำข้าวขาวไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -25 องศาเซลเซียส เพื่อป้องกันการเสื่อมคุณภาพของสารออกซิเจนอิสระจาก Butadiol และ Jackson ประเทศสหรัฐอเมริกา เมทานอล ร้อยละ 95 เอทานอล และอะซิโตน จาก Labscan ประเทศไทย สามารถฐานแบบมีออกซิเจนอิสระที่วัดได้ 98.7 จากบริษัท Tsuno Rice Fine Chemicals ประเทศญี่ปุ่น สาร 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) และ สาร 2,6-Di-tert-butyl-4-methylphenol (BHT) จาก Sigma-Aldrich, ประเทศเยอรมนี

2. วิธีการ

กระบวนการสกัดที่ใช้มี 2 วิธี ได้แก่ การสกัดเย็น และการนำไปตัวทำละลายที่แตกต่างกันสองตัว คือ เฮกเซน และเอทานอล ขั้นตอนต่อไปเป็นการเอ็กซ์แตคชันของรำข้าวขาวที่แสดงใน Figure 1 และการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว ตามวิธี AOAC และ ASEANFOODS [20-21] ดังที่แสดงใน Table 1

3. กระบวนการสกัดเย็น

กระบวนการการสกัดเย็นหรือบีบอัด ใช้เครื่องจักรจากบริษัท Lopburi Vegetable Oil จังหวัดลพบุรี ประเทศไทย โดยนำรำข้าวคั่ว (CRBO) ที่ได้จากกระบวนการของเมทานอลและอะซิโตน Whattman เบอร์ 1 เพื่อทำการคั่นออก จากนั้นนำมาเข้าในตู้เย็นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดลอง

4. กระบวนการสกัดด้วยวิธีการแช่

นำรำข้าวผสมกับเฮกเซนด้วยอัตราส่วน 1:6 (W/W) หลังจากนั้น แช่ด้วยความเร็ว 200 rpm ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (ตัดแบบปรกติ จาก 13, 22) นำมากรองผ่านกระดาษ Whatman เบอร์ 1 และระเหยเฮกเซนออกด้วยเครื่องระเหยภายใต้ความดัน 175 mmHg ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ทำการทดลองเช่นเดิมแต่ใช้ ร้อยละ 95 เอทานอล แทนและใช้ สามารถระเหยภายใต้ความดัน 90 mmHg ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

5. การเอ็กซ์แตคชันและกึ่งนึ่ง

นำน้ำมันรำข้าวคั่วที่เตรียมได้ 50 กรัม มาละลายในอะซิโตนที่อัตราส่วน 1 ต่อ 6 (W/W) จากนั้น นำมาอุ่นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นและเก็บที่อุณหภูมิ -25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้ซีซีแข็งและกึ่ง นำนามันแยกออกจากกรองผ่านกระดาษ Whatman เบอร์ 1 ระเหยอะซิโตนที่อยู่ในของเหลวด้วยเครื่องระเหยที่ความดัน 200 mmHg ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นำสารละลายที่เหลือมาใช้ในขั้นตอนการทดลองถัดไป [13]

6. การตกผลึก

นำน้ำมันรำข้าว 10 กรัม ละลายในตัวทำละลายผสมเมทานอลและอะซิโตนที่อัตราส่วน 7:3 (V/V) ปริมาตร 400 มิลลิลิตร แล้วจึงนำสารละลายผสมที่ได้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -65±3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 ชั่วโมง แยกส่วนของแข็งออกจากส่วนของเหลวโดยการกรองผ่านกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 กำจัดตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยที่ 45 องศาเซลเซียส ความดัน 150 mmHg ได้ของเหลวที่ 1 (LP1) ส่วนของแข็งที่เรียกเป็น SP1 เก็บไว้ของเหลว LP1 ในภาชนะที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (30±1 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเติมเฮกเซน 20 มิลลิลิตร นำมาเก็บที่อุณหภูมิ

5±1 องศาเซลเซียส เป็นเวลาหนึ่งสัปดาห์ นำมากรอง รำที่ (Reverse phase, RP-HPLC) [24] ทำการทดลองเพื่อแยกผลึกของสารแทนนินออกซิเจนอิสระ (SP2) ออกส่วน เช่นเดิมแต่เปลี่ยนตัวทำละลายเป็นเอทานอลและอะซิโตนของเหลวที่เหลือน้อยกว่า LP2 ล้าง SP2 ด้วยเฮกเซน 30 มิลลิลิตร [13, 19] และนำมาวิเคราะห์ด้วยวิธีโครมาโตกราฟีของเหลวเชิงชั้น

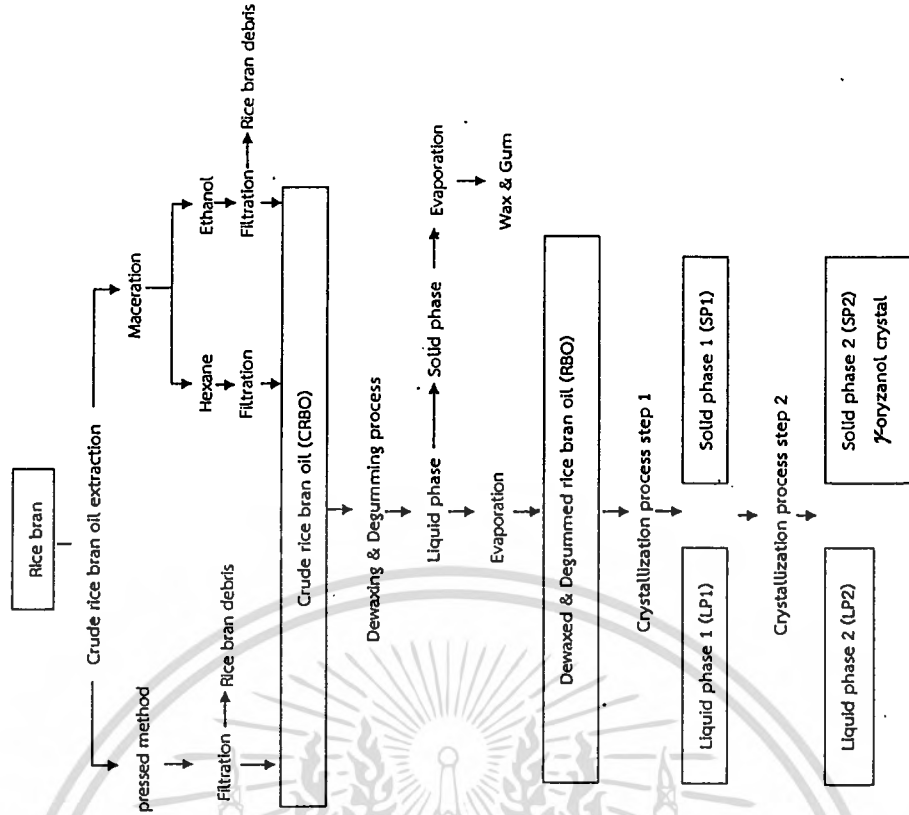


Figure 1. Flow diagram

* Corresponding author e-mail: duangkamolrugkit@lac.th, modelieb@ gmail.com
 1 ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ 10520 ประเทศไทย
 2 ภาควิชาสถิติ, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ 10520 ประเทศไทย
 3 สำนักเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร, จังหวัดชุมพร 86160 ประเทศไทย

* Corresponding author e-mail: duangkamolrugkit@lac.th, modelieb@ gmail.com
 1 Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok Thailand
 2 Department of Statistics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok Thailand
 3 Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus (KMUTL-PCO) Chumphon Thailand

7. การวิเคราะห์ปริมาณแอมมोनีออร์จินอล

วิเคราะห์โดยโครมาโตกราฟีแบบย้อนกลับ [24] ด้วยคอลัมน์ที่ C-18 (ACE® Scotland) ยาว 25 cm ใช้เฟสเคลื่อนที่เป็น เมทานอล : ไอโซโพรพานอล : เอทิลอะซิเตต ที่อัตราส่วน 47.5:40:12.5 (V/V) และอัตราการไหลเท่ากับ 1 ml/min ในการวิเคราะห์แต่ละครั้งจะใช้ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดที่ความเข้มข้น 30 µg/ml ปริมาณ 20 µl รางงานผลใช้โปรแกรม Shimadzu LC Solution เตรียมมาตรฐานของแอมมोनีออร์จินอล ในช่วงความเข้มข้น 0.05-50 µg/ml การวิเคราะห์ปริมาณทำได้โดยการนำโครมาโตแกรมที่เกิดขึ้นทั้งหมดมาเทียบกับผลของมาตรฐาน

8. การวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของผลึกของออร์จินอล ความบริสุทธิ์ของผลึกของออร์จินอลแสดงในรูปร้อยละความบริสุทธิ์ของแอมมोनีออร์จินอล (%Y-ozyanol purity) และร้อยละประสิทธิภาพของการทำให้บริสุทธิ์ (%Purification efficiency) ซึ่งทำได้จากการดังต่อไปนี้

$$\%Y\text{-Ozyanol purity} = \left(\frac{\text{Area of } \gamma\text{-ozyanol peak}}{\text{Total area under all peaks}} \right) \times 100$$

$$\%P\text{urification efficiency} = \left(\frac{P_c \cdot P_{c80}}{P_{c80}} \right) \times 100$$

เมื่อ P_c คือ ร้อยละความบริสุทธิ์ของแอมมोनีออร์จินอลในผลิตภัณฑ์

P_{c80} คือ ร้อยละความบริสุทธิ์ของแอมมोनีออร์จินอลในน้ำมันรำข้าวดิบ (CR80)

9. การทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

การทดสอบประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระใช้สาร DPPH ความเข้มข้น 0.5 mM และผลึกของสารแอมมोनีออร์จินอลในเอทานอลที่ซึ่งความเข้มข้น 0.03-1.5 mg/ml ใช้ตัวอย่าง 100 µl ทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH 100 µl นำมาเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาอ่านค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลท (EMS Reader MF, Labsystems, Finland) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน BHT ที่เตรียมในช่วงความเข้มข้น 0.02-2.00 mg/ml การลดลงของ DPPH คำนวณจากสมการ:

$$DPPH \text{ reduction } (\%) = \left(\frac{A_0 - A_1}{A_0} \right) \times 100$$

เมื่อ A_0 = ค่าการดูดซับแสงของสารละลายควบคุม (absorbance)
 A_1 = ค่าการดูดซับแสงของสารละลายตัวอย่าง (absorbance)

ความเข้มข้นของสารแอมมोनีออร์จินอลที่สามารถยับยั้งผลของอนุมูลอิสระ DPPH ลงร้อยละ 50 (แสดงในรูป IC_{50}) และประเมินค่าโดยการใช้อย่าง GraphPad Prism เวอร์ชัน 5.0 IC_{50} ที่มีค่าที่ต่ำกว่า แสดงว่ามีกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่า

10. การวิเคราะห์ทางสถิติ การทดลองทุกปัจจัยที่ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วดำเนินการหาค่าเฉลี่ย จากนั้นเปรียบเทียบความแตกต่างและปัจจัยด้วย ANOVA ภายใต้วิธีการของ Duncan ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$) ด้วยโปรแกรมทางสถิติ SPSS 22.0

* Corresponding author e-mail: duanglamol.nu@gmail.com, modellebe@gmail.com
¹ Department of Biotechnology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok Thailand
² Department of Statistics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok Thailand
³ Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (Prince of Chumphon Campus KMUTL PCO Chumphon Thailand

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การสกัดน้ำมันรำข้าวดิบ วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของรำข้าวตามกระบวนการ AOAC (2012) และ ASEANFOODS (2011) ได้แสดง Table 1 น้ำมันรำข้าวดิบที่ได้จากการสกัดด้วยสภาวะที่เหมาะสมได้แก่ ระยะเวลา 2 ชั่วโมง การสกัดเย็น และกระบวนการแห้งด้วยตัวทำละลาย 49.5 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นสภาวะที่สารแอมมोनีออร์จินอลไม่เสื่อมสลาย ผลการสกัดด้วย 3 สภาวะแสดงที่ Table 2 ซึ่งพบว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายให้ผลผลิตสูงกว่าการสกัดเย็น คือ มีค่าอยู่ในช่วง ร้อยละ 10.24-13.80 และได้สารแอมมोनีออร์จินอลในช่วง 2.81-2.96 mg/g ของรำข้าว ในขณะที่การสกัดด้วยการปั่นเย็นได้ผลได้ของน้ำมันแอมมोनีออร์จินอลอยู่ที่ ร้อยละ 5.06 และ 0.93 mg/g ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากยังมีสาร

แอมมोनีออร์จินอลถูกกักอยู่ในรำข้าว ในขณะที่ที่ทำการและสามารถแทรกซึมเข้าไปในรำข้าวได้ดีกว่า การสกัดด้วยตัวทำละลายแสดงให้เห็นว่า ผลของสิ่งนี้แม้ว่าจะสกัดน้ำมันได้ปริมาณมากกว่าแต่พบว่าได้ปริมาณสารแอมมोनีออร์จินอลน้อยกว่าเอทานอล ดังนั้นความเข้มข้นของสารแอมมोनีออร์จินอล เมื่อสกัดด้วยเอทานอลมีค่ามากกว่าสกัดโดยเฮกเซน ซึ่งสอดคล้องกับผลของงานวิจัยก่อนหน้านี้ ซึ่งได้ทำการทดลองสกัดสารแอมมोनีออร์จินอลภายใต้ความดันบรรยากาศ พบว่าปริมาณสารแอมมोनีออร์จินอลมากกว่าเมื่อใช้เอทานอล ในการสกัดแบบเฮกเซน [11] ที่เป็นเช่นนี้เนื่องจากแอมมोनีออร์จินอลเป็นสารที่มีขั้ว ประกอบด้วยไฮโดรเจนบอนด์ที่มีขั้วและกรดเพอริก ดังนั้นจึงละลายได้ดีกว่า ถึงแม้ว่าผลได้ของสารแอมมोनีออร์จินอลมากกว่าการใช้เฮกเซนเพียงเล็กน้อย 5.3

Table 1. Proximate chemical compositions of rice bran (n=3)

Compositions	%	Test methods
Protein	11.64±0.15	AOAC (2012)
Total fat	19.22±1.36	AOAC (2012)
Moisture	8.00±0.02	Asean Manual of Food Analysis, 2011
Ash	9.04±0.02	Asean Manual of Food Analysis, 2011
Crude fiber	15.11±0.04	AOAC (2012)

Table 2. Crude rice bran oil and γ -ozyanol yields extracted by different methods

Extraction method	Crude oil yield (% g/g rice bran)	γ -Ozyanol concentration (mg/g of rice bran oil)	γ -Ozyanol yield (mg of rice bran)
Cold press	5.06	18.33 ± 1.55 ^c	0.93 ± 0.08 ^c
Maceration			
Hexane	13.80	20.23 ± 2.17 ^b	2.81 ± 0.30 ^b
Ethanol	10.24	28.92 ± 0.63 ^a	2.96 ± 0.06 ^a

Remark: values within each column with the same superscript character are not significantly different at $P < 0.05$

* Corresponding author e-mail: duanglamol.nu@gmail.com, modellebe@gmail.com
¹ มหาวิทยาลัยสยาม, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ 10520 ประเทศไทย
² มหาวิทยาลัยสถิติ, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ 10520 ประเทศไทย
³ สถาบันเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, วิทยาเขตชุมพร, จังหวัดชุมพร 86160 ประเทศไทย

Figure 2 แสดงลักษณะทางกายภาพของน้ำมันรำข้าวคั่วที่สกัดจากวิธีต่าง ๆ น้ำมันรำข้าวคั่วที่ได้จากการสกัดด้วยกระบวนการบดขี้ผึ้งด้วยอุณหภูมิที่ต่ำมีน้ำตาลเข้มและกลิ่นหอมของข้าว ในขณะที่น้ำมันงาจากการสกัดเอทานอลเปลี่ยนจากสีน้ำตาลเป็นสีฟ้า และมี

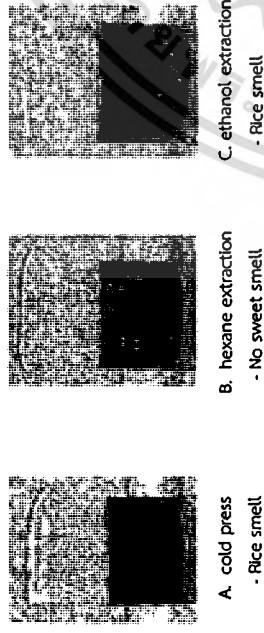


Figure 2. Characteristics (color and smell) of crude rice bran oil extracted by different extraction methods; A. cold press B. hexane extraction C. ethanol extraction

2. กระบวนการกำจัดขี้ผึ้งและน้ำมัน

ในขั้นตอนการกำจัดขี้ผึ้งและสารเหนียวออกโดยใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต พบว่าสารที่กำจัดออกนี้มีลักษณะเป็นเม็ดที่มีองค์ประกอบของฟอสโฟลิพิดและไกลิเซอไรด์ เรียกว่า สารสถานะของแข็งซึ่งมีสภาวะของแข็ง [13-23] และสารในสถานะของเหลวที่เป็นน้ำมันคั่วที่ได้จากขี้ผึ้งและสารเหนียวแล้วสามารถจะของเหลว จากการที่สมดุลจะได้รับการปรับในแต่จะสภาวะแสดงดัง Table 3 สารละลายเอทานอลในขั้นตอนการกำจัดขี้ผึ้งและน้ำมันสามารถรักษปริมาณแอมมอริซานอล (ร้อยละ 5.33±0.01) ให้อยู่ในน้ำมันในสภาวะของเหลวได้ปริมาณที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับเอทานอล (ร้อยละ 5.07±0.01) อีกทั้งทำให้สัดส่วนสภาวะของเหลวมีปริมาณมากกว่าสภาวะของแข็ง ทั้งนี้เนื่องจากเอทานอลช่วยดึงสารที่ไม่มีขี้ผึ้งออก ซึ่งได้แก่ขี้ผึ้งและกัม สิ่งที่เกิดขึ้นก็คือ แอมมอริซานอลปริมาณน้อยมากที่หาย

จากน้ำมันรำข้าวคั่วที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการบดขี้ผึ้งและการสกัดด้วยเอทานอล ในขณะที่ประมาณ ร้อยละ 25 หายไปจากน้ำมันรำข้าวคั่วที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล อย่างไรก็ตาม ปริมาณของแอมมอริซานอลในน้ำมันรำข้าวคั่วที่ได้จากการสกัดที่อุณหภูมิสูงและสารเหนียวออกแล้วยังสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำมันรำข้าวคั่วที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการบดขี้ผึ้งและความเย็นและการสกัดโดยใช้เอทานอล ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณแอมมอริซานอลเป็นสารที่มีโครงสร้างใหญ่และมีน้ำหนักโมเลกุลมาก อาจเป็นไปได้ว่าบางส่วนของโครงสร้างไปเกาะติดกับส่วนที่ไม่มีขี้ผึ้งของขี้ผึ้งและกัม

น้ำมันรำข้าวคั่วที่ได้จากการบดขี้ผึ้งที่กำจัดขี้ผึ้งและกัมออกแล้วมีสีขาวและมึนกลืน ข้าว ในขณะที่น้ำมันรำข้าวคั่วที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลมีสีน้ำตาลใสและไม่มีกลิ่นเอทานอล ส่วนการสกัดน้ำมันรำข้าวคั่วที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอลมีสีน้ำตาลเข้มและมีกลิ่นเอทานอล

* Corresponding author e-mail: duangkamol.m@gmail.com

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

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

³ Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Chumporn Campus, Thailand

ของข้าว การวิจัยข้างต้นนี้ชี้ให้เห็นถึงความจำเป็นของ แอมมอริซานอลในกระบวนการที่สกัดด้วยเอทานอล ศึกษาเพิ่มเติมเพื่อค้นหาวิธีการลดการสูญเสียสาร ในงานวิจัยถัดไป

Table 3. Yields of each phase from dewaxing & degumming process

Extraction method	Wax and gum yield in product (%)	RBO yield in product (%)	γ-Oryzanol yield in RBO (%)
Cold press	51.27 ± 0.15	48.73 ± 0.20	4.14 ± 0.00
Maceration (Rice bran:solvent 1:6 w/v)			
Hexane	54.31 ± 0.09	45.69 ± 0.30	5.07 ± 0.01
Ethanol	33.92 ± 0.10	66.08 ± 0.07	5.33 ± 0.01

Remark: wax and gum (solid phase), dewaxed and degummed rice bran oil (RBO) (liquid phase) and γ-oryzanol from dewaxing & degumming process

3. กระบวนการตกผลึก

ศึกษากระบวนการตกผลึก 2 ระบบ คือ ระบบที่ใช้มีทานอลผสมกับเอทิลอะซิเตต และระบบเอทานอลผสมกับเอทิลอะซิเตต จากการทดลองพบว่าส่วนที่เป็นของแข็งที่ถูกสกัดจากของเหลวหลักในขั้นตอนแรกของการตกผลึก SP1 และสถานะของเหลว LP1 แสดงดัง Figure 3 SP1 ประกอบด้วยเอทิล อะซิเตต และไตรอะซิลกลีเซอรอล และมีกลีเซอรอล LP1 โดยที่ LP1 จะประกอบไปด้วยกรดไขมันอิสระ โนโนเอซิลไกลซีรอล สควาลีน โทคอล โฟสโฟลิดเอทอยด์ และไตรอะซิลกลีเซอรอล (13) และมีน้ำมันรำข้าวคั่วในขั้นตอนที่ 2 จะได้ของเหลว LP2 โดยที่การสกัดด้วยวิธีบดขี้ผึ้งและวิธีที่ใช้สารละลายเอทานอลจะได้ผลผลิตของแอมมอริซานอลที่มีสีขาว ภายใน 3 วัน ในขณะที่การสกัดในเอทานอล จะเกิดผลผลิตของแอมมอริซานอลภายใน 1 สัปดาห์ โดยน้ำหนักของส่วนของแข็งและของเหลวที่ได้และความเข้มข้นของสารแอมมอริซานอลแสดงดัง Table 4 และสมบัติทางกายภาพ และความเข้มข้นของแอมมอริซานอลในผลิตภัณฑ์ได้น้ำมันรำข้าวคั่ว 50 g แสดงดัง Table 5

จากผลการทดลองพบว่าการสกัดแบบบดขี้ผึ้งจะให้แอมมอริซานอลใน LP1 สูงที่สุด และเมื่อ

* Corresponding author e-mail: duangkamol.m@gmail.com

¹ มหาวิทยาลัยราชภัฏวชิราวุธ, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ 10520 ประเทศไทย

² มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ 10520 ประเทศไทย

³ สำนักพิมพ์เทคโนโลยีการอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, จังหวัดสมุทร, จังหวัดสมุทร 86160 ประเทศไทย

เปรียบเทียบกับวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลาย พบว่าให้ผลเหมือนกัน (Table 4) SP1 ในระบบที่มีมีทานอลอะซิเตตให้ความเข้มข้นของแอมมอริซานอลสูงที่สุด สำหรับวิธีการสกัดแบบบดขี้ผึ้งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ ในทางตรงกันข้าม น้ำมันรำข้าวคั่วที่ได้จากการสกัดแบบบดขี้ผึ้งในระบเอทานอล:อะซิเตตให้ปริมาณของแอมมอริซานอลต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับกระบวนการสกัดวิธีอื่นๆ ซึ่งก็หมายความว่า ปริมาณแอมมอริซานอลจำนวนมากสูญเสียไปในระบบที่เอทานอลอะซิเตตมากกว่าระบบเอทานอล:อะซิเตตในกระบวนการตกผลึกขั้นที่สอง

สารแอมมอริซานอลที่ตกผลึกด้วยระบบเอทานอล: อะซิเตตสูญเสียไปยังของเหลวส่วนที่ 2 (LP2) วิธีการสกัดแบบบดขี้ผึ้งทำให้เกิดการสูญเสียมากกว่าวิธีอื่น โดยมีการสูญเสียประมาณร้อยละ 72.25 และ 63.83 เมื่อเทียบกับวิธีการสกัดด้วยเอทานอลและเอทานอลตามลำดับ อาจเป็นไปได้ว่าผลผลิตขี้ผึ้งและสารเหนียวนั้นมีสารประกอบทั้งสองส่วนนี้ทำให้สารแอมมอริซานอลในแอมมอริซานอล ดังนั้นทำให้สารแอมมอริซานอลหายไปปริมาณมากในขั้นตอนนี้ ในขั้นตอนนี้น้ำมันรำข้าวคั่วจะสูญเสียไปโดยปริมาตรที่เพิ่มมากขึ้นของตัวทำละลาย

เพื่อให้เกิดการตกผลึกที่มีปริมาณสารแอมมอริชานอลปริมาณมาก
 ถึงแม้ว่ามีการสูญเสียแอมมอริชานอลใน LP2 ในระบบที่ใช้ทานอลอะซิโตนมากกว่าระบบทานอลอะซิโตน อย่างไรก็ตามน้ำหนักสุดท้ายของผลึกของแอมมอริชานอลที่ได้จากระบบที่ใช้ทานอลอะซิโตนยังสูงกว่าน้ำหนักเริ่มต้นที่สกัดด้วยแยกเซน (Table 5) ผลึกแอมมอริชานอลที่ได้จากระบบเอทา

นอลอะซิโตนมีขนาดเล็กลงกว่าที่ได้จากระบบทานอลอะซิโตน สำหรับทุกๆ สภาวะนั้น โดยน้ำหนักผลึกแอมมอริชานอลมากที่สุดประมาณ 112.8 mg/ 50 g ของน้ำมันรำข้าวดิบได้จากการสกัดโดยการถูกบีบเย็น และตกผลึกในระบบทานอลอะซิโตน รองลงมาคือระบบทานอลอะซิโตนโดยการใช้น้ำมันรำข้าวดิบที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล

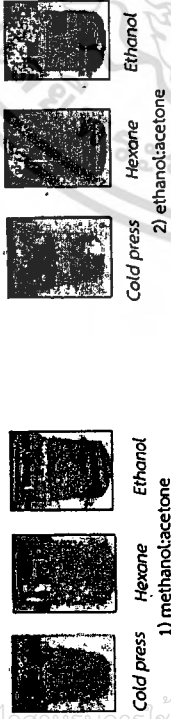


Figure 3. Characteristics of the solution in the first-step crystallisation by two crystallisation systems (LP1 in Figure 1); A. cold press B. hexane extraction C. ethanol extraction

Table 4. Yield of each phase produced using two crystallisation systems (methanol:acetone, ethanol:acetone)

Extraction methods	Weight (g)		γ-Oryzanol concentration (mg/g of each phase)					
	LP1	SP1	LP2	LP1	SP1	LP2	SP1	LP2
Cold press	2.40±0.06	3.62±0.38	1.51±0.11	123.43±1.46	51.07±21.67	45.10±4.80		
Maceration								
Hexane	4.09±0.06	3.73±0.52	3.14±0.13	39.86±0.29	1.87±0.24	24.78±6.76		
Ethanol	5.99±0.06	0.89±0.24	3.49±0.21	30.77±6.30	2.85±0.46	22.16±2.93		
	Ethanol:acetone							
Cold press	2.72± 0.13	4.82 ± 0.43	1.83± 0.15	161.88±31.91	1.16±0.07	89.05±6.83		
Maceration								
Hexane	3.91±0.20	1.74±0.11	2.90±0.14	44.61±1.63	2.90±0.14	32.68±0.55		
Ethanol	6.22±0.44	1.33±0.09	3.28±0.39	40.81±5.77	3.28±0.39	30.35±1.76		

Remark: LP1 = Liquid phase 1, LP2 = Liquid phase 2, SP1 = Solid phase 1

* Corresponding author e-mail: duanglamol.n@mit.ac.th, modellebe@gmail.com
 1 Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok, Thailand
 2 Department of Statistics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok, Thailand
 3 Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus (KMUTL-PCO) Chumphon, Thailand

Table 5. γ-Oryzanol content and characteristics of the crystal product (SP2) Crystallization solvent: Methanol & acetone

Extraction methods	γ-Oryzanol weight (mg/50 g crude rice bran oil)	Physical appearance crystal	Remarks
Cold press	86.6±3.1 (9.45%*)		Large-sized crystals with opaque white color
Maceration			
Hexane	70.4±0.8 (6.96%*)		Large-sized crystals with pale yellow color
Ethanol	53.6±2.6 (3.71%*)		Fine crystals with shiny white color
	Crystallization solvent: Ethanol & acetone		
Cold press	112.8±3.0 (12.31%*)		Small-sized crystals with opaque white colour
Maceration			
Hexane	52.6±2.5 (5.20%*)		Small crystals with white colour
Ethanol	82.2±3.3 (5.68%*)		Fine crystals with shiny white colour

Remark: * is γ-oryzanol yield, weight percent of γ-oryzanol in crystal product (%) and crude rice bran oil (g) The crystal was obtained from 5g CRBO

* Corresponding author e-mail: duanglamol.n@mit.ac.th, modellebe@gmail.com
 1 มหาวิทยาลัยวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร 10520 ประเทศไทย
 2 ภาควิชาสถิติ, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร 10520 ประเทศไทย
 3 สำนักเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร, จังหวัดชุมพร 86160 ประเทศไทย

ร้อยละความบริสุทธิ์ของสารแอมมอริซานอล มีค่าใกล้เคียงกันทุกๆ กระบวนการสกัดและทั้งสอง กระบวนการตกผลึกซึ่งแสดงใน Table 6 อย่างไรก็ตาม ระบบการตกผลึกทั้งสองระบบนี้เพิ่มร้อยละ

Table 6. Purification yield and purity of γ -oryzanol in the final products obtained by different methods

Extraction methods	Purification yield (mg of γ -oryzanol/mg of crystal)	% γ -Oryzanol purity	% Purification efficiency
Cold press	6.65 \pm 0.20 ^{ab}	93.69 \pm 1.86 ^b	82.84 \pm 0.22 ^b
Maceration (Rice bran solvent 1:6 w/v)			
Hexane	6.88 \pm 0.88 ^{ab}	96.24 \pm 0.61 ^a	73.60 \pm 1.11 ^c
Ethanol	4.63 \pm 0.11 ^c	95.81 \pm 0.17 ^a	61.86 \pm 0.28 ^d
Cold press	7.81 \pm 1.36 ^a	94.71 \pm 0.28 ^{bc}	84.85 \pm 0.54 ^a
Maceration (Rice bran solvent 1:6 w/v)			
Hexane	6.17 \pm 0.90 ^b	96.29 \pm 0.44 ^a	73.70 \pm 0.79 ^c
Ethanol	6.62 \pm 0.72 ^{ab}	95.93 \pm 0.18 ^a	62.05 \pm 0.30 ^d

Remark: values within each column with the same superscript character are not significantly different at $P < 0.05$

4. การทำอนุผลิตภัณฑ์ของผลึกแอมมอริซานอล การทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ได้ผล IC_{50} แสดงใน Table 7 ซึ่งพบว่าร้อยละ การสลายตัวของ DPPH มีการเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามความเข้มข้นของปริมาณแอมมอริซานอลที่เพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดประมาณร้อยละ 80 และคงที่ในระดับเดียวกับทั้งสองกระบวนการตกผลึก ผลึกแอมมอริซานอลที่ได้จากน้ำมันดิบที่สกัดด้วยการบีบเย็น และการสกัดด้วยเอทานอลมีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สกัด อุดิซานอลที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล

* Corresponding author e-mail: duangkamolnu@kmitl.ac.th, modellebe@gmail.com
 1 Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok, Thailand
 2 Department of Statistics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok, Thailand
 3 Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus (KMUTL PCO) Chumphon, Thailand

การค่า ได้แสดงใน Table 7 โดยพบว่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของผลึกของแอมมอริซานอลมีค่าอยู่ในช่วงเดียวกันกับ BHT แต่ต่ำกว่าของแอมมอริซานอล ออก

Table 7. IC_{50} of the purified γ -oryzanol and well-known standard

Extraction methods/Mixed solvents	Methanol:acetone	Ethanol:acetone
Cold press	0.187 \pm 0.049 ^b	0.171 \pm 0.018 ^b
Hexane ¹	0.433 \pm 0.020 ^c	0.249 \pm 0.049 ^b
Ethanol ¹	0.193 \pm 0.015 ^b	0.182 \pm 0.020 ^b
BHT	0.185 \pm 0.022 ^b	0.185 \pm 0.022 ^b
γ -Oryzanol standard ²	0.083 \pm 0.004 ^a	0.085 \pm 0.004 ^a

Remark: Maceration by rice bran solvent 1:6 w/v
 a, b and c values within each column with the same superscript character are not significantly different at $P < 0.05$.

สรุปผล

กระบวนการสกัดน้ำมันรำข้าวดิบด้วยการบีบเย็นสามารถผลิตผลึกแอมมอริซานอลได้มากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดน้ำมันรำข้าวดิบด้วยวิธีอื่น ได้แก่ การเขี่ยด้วยตัวทำละลายเอทานอล และ เอทานอล โดยกระบวนการตกผลึกทั้งสอง เมทานอล:อะซิโตน และ เอทานอล:อะซิโตน สามารถผลิตผลึกสารแอมมอริซานอลมากถึง 86.6 และ 112.8 mg/50 g น้ำมันรำข้าวดิบ ซึ่งมีความเข้มข้นของสารแอมมอริซานอลประมาณร้อยละ 9.45 และ 12.31 ตามลำดับ จากงานวิจัยทั้งหมดนี้พบว่าสภาวะที่ดีที่สุดคือวิธีการสกัดน้ำมันรำข้าวดิบด้วยการบีบเย็นตามด้วยการตกผลึกด้วยระบบเอทานอล:อะซิโตน และงานวิจัยนี้ได้นำเสนอวิธีที่ปลอดภัยในการตกผลึกเพื่อให้ได้ผลึกที่มีคุณภาพบริสุทธิ์สูงและมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (IC_{50}) เป็น 0.171 mg/ml

การคิดกรรมประสาท

ผู้วิจัยขอขอบคุณบริษัท Lopburi Vegetable Oil Company จังหวัดลพบุรี ประเทศไทย ที่สนับสนุนเครื่องสกัดเย็น นอกจากนี้งานวิจัยนี้สนับสนุนโดยกองทุนวิจัย รหัสโครงการ KREF025603 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เอกสารอ้างอิง [1] Childs, N. (2014). Rice outlook. Situation and Outlook, ISSN: 1554-9089; Economic Research Service, USDA, USA [2] Marshall, W.E. and Wadsworth, J.I. (1994). Rice science and technology. Marcel Dekker, Inc., New York. [3] Butsat, S. and Siriamompun, S. (2010). Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. Food Chemistry. 119(2): 606-613.

* Corresponding author e-mail: duangkamolnu@kmitl.ac.th, modellebe@gmail.com
 1 ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ 10520 ประเทศไทย
 2 ภาควิชาสถิติ, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ 10520 ประเทศไทย
 3 ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, วิทยาเขตชุมพร, จังหวัดชุมพร 86160 ประเทศไทย

- [4] Lerma-García, J.M., Herrero-Martínez, M.J., Simó-Alfonso, F.E., Mendonça, C.R.B. and Ramis-Ramos, G. (2009). Review composition, industrial processing and applications of rice bran γ -oryzanol. *Food Chemistry*. 115(2): 389-404.
- [5] Devi, R.R., Jayalekshmy, A. and Arunughan, C. (2008). Original article, Antioxidant efficacy of phytochemical extracts from defatted rice bran in in-vitro model emulsions. *International Journal of Food Science & Technology*. 43(5): 878-885.
- [6] Tuncel, N.B. and Yilmaz, N. (2011). Gamma-oryzanol content, phenolic acid profiles and antioxidant activity of rice milling fractions. *European Food Research and Technology*. 233(4): 577-585.
- [7] Sawadkit, P. and Hongsprabhas, P. (2014). Original article, Phytosterols and γ -oryzanol in rice bran oils and distillates from physical refining process. *International Journal of Food Science & Technology*. 49(9): 2030-2036.
- [8] Pibtep, G. and Henrique, T. (2014). Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. *Food Science and Nutrition*. 2(2): 75-104.
- [9] Pestana-Bauer, V.R., Zambiasi, R.C., Mendonça, C.R.B., Beneito-Camba, M. and Ramis-Ramos, G. (2012). γ -Oryzanol and tocopherol contents in residues of rice bran oil refining. *Food Chemistry*. 134(3): 1479-1483.
- [10] Juliano, C., Cossu, M., Alamanni, M.C. and Piu, L. (2005). Antioxidant activity of gamma-oryzanol: Mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. *International Journal of Pharmaceutics*. 299(1-2): 146-154.
- [11] Imsanguan, P., Roaysubtawee, A., Borirak, R., Pongamphai, S., Douglu, S. and Douglas, P.L. (2008). Extraction of α -tocopherol and γ -oryzanol from rice bran. *LWT-Food Science and Technology*. 41(8): 1417-1424.
- [12] Xu, Z. and Godber, S.J. (2000). Comparison of supercritical fluid and solvent extraction methods in extracting γ -oryzanol from rice bran. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 77(5): 547-551.
- [13] Zullaikah, S., Melwita, E. and Ju, Y. (2009). Isolation of oryzanol from crude rice bran oil. *Bioresource Technology*. 100(1): 299-302.
- [14] Rodrigues, C.C.E. and Oliveira, R. (2010). Original article, Response surface methodology applied to the analysis of rice bran oil extraction process with ethanol. *International Journal of Food Science & Technology*. 45(4): 813-820.
- [15] Jesus, S.P., Grimaldi, R. and Hense, H. (2010). Recovery of γ -oryzanol from rice bran oil byproduct using
- supercritical fluid extraction. *The Journal of Supercritical Fluids*. 55(1): 149-155.
- [16] Chen, H.H. and Chiu, T.H. (2011). Phytochemicals characterization of solvent extracts from taro-scented japonica rice bran. *Journal of Food Science*. 76(4): C656-C662.
- [17] Manosroi, A., Ruksirwanich, W., Abe, M., Sakai, H., Manosroi, W. and Manosroi, J. (2010). Biological activities of the rice bran extract and physical characteristics of its entrapment in niosomes by supercritical carbon dioxide fluid. *The Journal of Supercritical Fluids*. 54(2): 137-144.
- [18] Tomita, K., Machmudah, S., Wahyudiono, R., Fukuzato, R., Kanda, H., Quitain, A.T., Sasaki, M. and Goto, M. (2014). Extraction of rice bran oil by supercritical carbon dioxide and solubility consideration, Sep. Separation and Purification Technology. 125: 319-325.
- [19] Rejan, R.G.R. and Krishna, G.A.G. (2014). A simple method for purification of deodorizer distillate from Indian rice (*Oryza Sativa*) bran oil and preparation of phytosterols. *Grass Aceites*. 65(4): e050. doi: <http://dx.doi.org/10.3989/gya.0229141>.
- [20] Ruen-ngam, D., Thawaj, C., Nokkoul, R. and Sukonthamut, S. (2014). Gamma-oryzanol extraction from upland rice bran.
- International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics. 4(4): 252-255.
- [21] Association of Official Analytical Chemists (AOAC International). (2012). Official methods of analysis (19th ed.), Washington, D.C.
- [22] ASEANFOODS. (2011). Asean manual of food analysis, 1st Edn., Regional Center of Asean Network of Food Data System, Institute of Nutrient, Mahidol University, Nakhon Pathom, Thailand, 2011, 1-39.
- [23] Vaisali, C., Charanyaa, S., Belur, P.D. and Regupathi, I. (2015). Review, refining of edible oils: a critical appraisal of current and potential technologies. *International Journal of Food Science & Technology*. 50(1): 13-23.
- [24] Ruen-ngam, D., Thawaj, C. and Chaiterepatapong S. (2014). HPLC condition for analysis of gamma oryzanol in upland rice bran crude oil. Proceeding of the 1st Joint ACS AGFD - ACS ICSC Symposium on Agricultural and Food Chemistry, Thailand, March 4-5, 2014, 109-113.

* Corresponding author e-mail: duangiamol.nugkmit.ac.th, modellebe@gmail.com¹ Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok Thailand² Department of Statistics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMUTL) Bangkok Thailand³ Department of Agricultural Technology, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang Prince of Chumphon Campus (KMUTL PCC) Chumphon Thailand* Corresponding author e-mail: duangiamol.nugkmit.ac.th, modellebe@gmail.com¹ภาควิชาชีววิทยา, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร 10520 ประเทศไทย²ภาควิชาสถิติ, คณะวิทยาศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพมหานคร 10520 ประเทศไทย³สำนักเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร, จังหวัดชุมพร 86160 ประเทศไทย

Evaluation of nutrient content and antioxidant, neuritogenic, and neuroprotective activities of upland rice bran oil

Duangkamol Ruen-ngam^{a,*}, Chitti Thawai^a, Sujitra Sukonthamut^b, Raumjit Nokkoul^c, Sarin Tadtong^d

^a Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520 Thailand

^b Department of Statistics, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok 10520 Thailand

^c Department of Agricultural Technology, KMITL PCC, Chumphon 86160 Thailand

^d Faculty of Pharmacy, Srinakharinwirot University, Nakhon Nayok 26120 Thailand

*Corresponding author, e-mail: duangkamol.ru@kmitl.ac.th

Received 27 Oct 2017

Accepted 18 Jun 2018

ABSTRACT: Upland rice bran is an abundant and valuable antioxidant by-product of rice milling. This study compares the content of γ -oryzanol, γ -tocopherol, and phytochemicals in rice bran oil from 4 varieties of upland rice; Dok-kham (DK), Dok-kha (D), Khem-ngen (KN), and Nang-dam (ND); with that of a conventional variety, Khao Dowk Mali 105 (MA). The extraction was done by shaking rice bran in ethanol in 250 ml flask with a rice bran to a solvent ratio of 1:5 (w/v) at 200 rpm (0.447g) and 30°C in the dark for 30 min. The antioxidant capacity of the extracted oil was evaluated by several methods; DPPH, ferric reducing ability power, and ABTS^{•+} assays. The colour of upland rice bran oil was dark from its phenolic and flavonoid contents. The highest contents of γ -oryzanol and γ -tocopherol were found in the bran oil from KN. The highest phytochemical content was found in the bran oil from DK. DK provided the highest antioxidant activity among the varieties mentioned. The neuroprotective and neuritogenic effects of rice bran extracts were also evaluated. D and KN extracts were the best two neuroprotective and neuritogenic extracts because they had the highest contents of γ -oryzanol and colour pigments. Thus Thai rice bran oil has the potential to be an excellent food supplement product due to its high antioxidant contents.

KEYWORDS: antioxidant activity, phytochemicals

INTRODUCTION

Rice (*Oryza sativa*) is a staple food for over half of the world's population. It is well-recognized as an agricultural product exported from Thailand, where the production of rice is up to 20.5 million tons per year¹. Rice and its bran, a by-product of the milling process, has plenty of nutrients. The bran, in particular, has numerous nutrients. For each rice seed, the weight consisting of its bran is approximately 10–12% of large amounts of fibre, vitamins, minerals, and other nutritious items that include phenolic compounds, vitamin E and its associated components, namely, tocopherol, tocotrienol, and γ -oryzanol²⁻⁵. A group of ferulic acid esters of phytosterols called γ -oryzanol is the main phytochemical component in rice bran oil. γ -oryzanol can help in the treatment of diseases, such

as high cholesterol, cancer, and heart disease^{2,6}.

Jasmine rice is a famous, conventional rice variety that grows in lowland areas where flooding is regular. Because of the drought that occurred in 2015 in the middle part of Thailand, it was impossible to grow jasmine rice⁷. Rice varieties that were able to withstand drought were grown in its place, such as Nang Dam, Dok-kham, Dok-kha, and Nang-dam. These varieties have different nutritional contents. They are commonly called upland rice, and have originally been cultivated in highland farms, especially in the Southern part of Thailand. Upland rice varieties include Nang Dam and Dok-kham, which are grown in Chumphon province; Khem-ngoeng and Dok-kha, which are grown in Pang-Nga province; and Ku-mueang-luang, which is grown in Surat Thani province⁸.

Cereal bran not only has high nutritional con-

tent, but specifically it also has abundant antioxidant substances^{4,8,9}. Antioxidants retard ageing and prevent Alzheimer's disease as well as cancer¹⁰. Furthermore, they have the capacity to protect live cells from oxidative damages that occur as a result of the formation of free radicals and reactive oxygen species during most metabolic activities. Beneficial medicinal effects of plant materials are typically due to combinations of phytochemical compounds in the plants that are unique to each plant species. Not long ago, rice husks, bran, and polished rice have been found to have antioxidant capacities⁴. Antioxidant capacity can be measured by several kinds of chemical assays, such as 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH), 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS), ferric reducing antioxidant power (FRAP), and oxygen radical absorbance capacity (ORAC)^{4,9-13}. In addition to chemical assays, some antioxidant studies have been reported on live animal cells^{13,17}; however, more animal research needs to be performed.

Bioactive compounds and their antioxidant capacities, especially the neuroprotective and neurotogenic activities of extracts of upland rice, have yet to be fully explored; hence we decided to conduct this study to evaluate their capacities.

MATERIALS AND METHODS

Materials

Four varieties of Thai upland rice, *O. sativa* (indica) tested in this study were Dok-kham (DK) and Nang-dam (ND) from Chumphon province, Dokkha (D) from Phang-nga province, and Khem-ngen (KN) from Satun province, Thailand. All upland rice varieties were cultivated on the upland in the Southern part of Thailand. Dok-mali (MA) from Suphan Buri province which was used as the control, was cultivated in the middle part of Thailand. All rice samples were collected in October 2014.

Chemical reagents and antioxidant determination

Standard grade γ -oryzanol was purchased from Wako Pure Chemical Industries, Ltd, Japan. ABTS⁺, DPPH, 6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox), butylated hydroxytoluene (BHT), gallic acid, quercetin, Folin-Ciocalteu reagent, 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) were purchased from Sigma-Aldrich, Germany. Ascorbic acid (vitamin C) was from Fisher Scientific, USA. FeSO₄, FeCl₃ solution and potassium persulphate were purchased from Ajax

Finechem Pty Ltd, Australia. Murine embryonal carcinoma cells, P19 ATCC CRL1857, were from the American Type Culture Collection, USA.

Chemical reagents for cell culture and neuronal assays

Alpha minimal essential medium (α -MEM), newborn calf serum, foetal bovine serum (FBS), and antibiotic-antimycotic solution were purchased from Gibco, USA. Sodium hydrogen carbonate (NaHCO₃) was from Carlo Erba Reagenti, Italy. All trans-retinoic acid (RA), cytosine-1-D-arabinoside (Ara-C), XTT (sodium 2,3-bis(2-methoxy-4-nitro-5-sulphophenyl)-5-[(phenylamino)-carbonyl]-2H-tetrazolium inner salt), and phenazinemethosulphate were purchased from Sigma-Aldrich, USA. Bacteriological grade culture dishes were from Hycon Plastic Inc., USA.

Physical properties and chemical composition

The colour of rice bran sample was determined with CR-300 colour detector (Minolta, Japan) and was expressed as tristimulus parameters, L^* , a^* , and b^* indicating degree of brightness, redness-greenness, and yellowness-blueness, respectively. Chroma (C) indicates colour intensity or saturation ($C = ((a^*)^2 + (b^*)^2)^{1/2}$) and Hue angle^{15,16} ($H^\circ = \tan^{-1}(b^*/a^*)$) were calculated. The chemical composition of the rice bran; protein content, total fat content, moisture, ash and crude fibre are shown in Table 1^{18,19}. The oil composition was analysed by GC-MS (GC and MS, model G1530 and G2573A, from Agilent). The column used was DB-WAX from J&W Scientific, USA. Helium gas and ethanol were used as gas carrier and solvent, respectively. The oil composition was listed in Table 2.

Oil preparation

A rice bran sample was sieved through an 850 μ m mesh screen (Endecotts Ltd, England) and kept in the dark and cold place until used. A suitable extraction condition was determined previously²⁰. The crude rice bran was extracted with ethanol by a maceration method in 250 ml flask at 30 °C in the dark for 30 min, with rice bran to solvent ratio of 1:5 (w/v) and a circulation rate of 200 rpm (0.447g). The debris was removed from the solid-liquid mixture by suction through a 0.45 μ m filter paper. The ethanol was removed from the crude rice bran oil under 5–10 mbar of vacuum at 40 °C with a rotary evaporator (Hei-Vap Precision, Heidolph, Germany). Every crude oil sample was kept in a

Table 1 Colour and chemical contents of five varieties of rice bran.

Parameters	DK	D	KN	ND	MA
<i>L</i> *	57.52 ± 0.22 ^e	61.41 ± 0.17 ^d	68.81 ± 0.65 ^c	71.47 ± 0.60 ^a	70.81 ± 0.44 ^b
<i>a</i> *	15.28 ± 0.19 ^b	14.47 ± 0.11 ^b	14.47 ± 0.11 ^b	7.76 ± 0.22 ^a	8.82 ± 0.08 ^d
<i>b</i> *	10.59 ± 0.14 ^c	12.26 ± 0.24 ^c	14.53 ± 0.25 ^a	9.95 ± 0.13 ^d	13.19 ± 0.01 ^b
<i>C</i>	18.59 ± 0.11 ^b	18.96 ± 0.07 ^a	18.03 ± 0.28 ^c	12.62 ± 0.23 ^e	15.86 ± 0.04 ^d
<i>H</i> ^o	1.20 ± 0.04 ^a	0.88 ± 0.04 ^b	0.22 ± 0.02 ^d	0.30 ± 0.02 ^c	0.08 ± 0.01 ^e
Soxhlet extraction					
Oil yield (g/g DW)	0.27 ± 0.02 ^{ax}	0.17 ± 0.00 ^{cx}	0.17 ± 0.01 ^{cx}	0.19 ± 0.01 ^{bx}	0.16 ± 0.01 ^{cx}
γ-Oryzanol (mg/g DW)	8.78 ± 0.47 ^{ay}	4.71 ± 0.89 ^{bx}	7.91 ± 1.50 ^x	5.95 ± 1.37 ^{bx}	4.86 ± 0.20 ^{bx}
Maceration extraction					
Oil yield (g/g DW)	0.13 ± 0.00 ^{by}	0.12 ± 0.01 ^{cy}	0.14 ± 0.01 ^{by}	0.10 ± 0.01 ^{cy}	0.17 ± 0.01 ^{ax}
γ-Oryzanol (mg/g DW)	6.05 ± 0.11 ^{bx}	5.36 ± 0.58 ^{bx}	7.41 ± 0.83 ^{ax}	2.80 ± 0.32 ^{cy}	4.84 ± 0.94 ^{bx}
Protein [†] (g/100 g DW)	13.67 ± 0.10 ^a	12.96 ± 0.02 ^b	13.76 ± 0.06 ^a	12.42 ± 0.13 ^b	12.56 ± 0.16 ^b
Total fat [†] (g/100 g DW)	13.63 ± 0.53 ^b	10.42 ± 0.10 ^c	10.77 ± 0.27 ^c	10.99 ± 0.12 ^c	20.76 ± 1.47 ^a
Moisture [†] (g/100 g DW)	11.69 ± 0.02 ^b	13.12 ± 0.13 ^a	12.89 ± 0.05 ^a	10.92 ± 0.23 ^c	8.63 ± 0.02 ^d
Ash [†] (g/100 g DW)	5.76 ± 0.07 ^d	8.56 ± 0.07 ^b	9.93 ± 0.02 ^a	4.99 ± 0.26 ^c	9.76 ± 0.02 ^a
Crude fibre [†] (g/100 g DW)	7.22 ± 0.46 ^d	20.92 ± 0.07 ^a	21.18 ± 0.11 ^a	7.88 ± 0.39 ^c	16.32 ± 0.05 ^b

Different superscript letters of a, b, and c in the same row indicate significantly different colour values and chemical contents of different varieties at $p < 0.05$ by Duncan's New Multiple Range Test.

Different superscript letters of x and y in the same row indicate significantly different amounts of γ-oryzanol extracted by different methods at $p < 0.05$ by Duncan's New Multiple Range Test.

[†] T058 in-house method based on AOAC¹⁸, 991.20, 922.06, 978.10, 962.09.

[‡] ASEANFOODS¹⁹.

Table 2 Oil composition (%) of five varieties of rice bran.

Composition	DK	D	KN	ND	MA
Pentadecane	–	–	0.15	–	–
Phenol	8.31	2.04	1.69	4.99	1.36
Nonadecane	0.77	–	0.18	–	0.33
Palmitic acid [*]	12.43	8.50	7.31	15.08	19.12
Hexadecanoic [*]	1.06	–	0.27	2.33	0.11
Linoleic acid	18.50	22.67	24.56	19.46	31.15
Oleic acid	52.38	63.62	60.24	47.96	43.60
Linoleic [*]	3.83	–	3.42	5.92	0.46
E-11-H [*]	2.72	–	–	–	–
Ethyl oleate	–	–	2.18	4.26	2.40
Stearic acid	–	3.17	–	–	1.48

^{*} Palmitic acid (hexadecanoic acid); hexadecanoic acid, ethyl ester; linoleic ethyl ester; E-11-hexadecenoic acid, ethyl ester.

freezer at -20°C until it was used in an assay to determine its antioxidant activity²¹. For comparison of extraction methods, extraction was also performed by using a soxhlet apparatus at 79°C for 6 h.

γ-Oryzanol and γ-tocopherol determination

The contents of γ-oryzanol and γ-tocopherol were simultaneously determined with a high performance liquid chromatography (HPLC) system (Al-

liance 2690, Waters, USA) equipped with a photodiode-array detector²⁰. At the start, 30 μg/ml crude oil was prepared in the mobile phase composed of methanol, isopropanol and ethyl acetate in a ratio of 47.5:40:12.5 (v/v). A mixture of 20 μl of crude oil and the mobile phase was then injected into a C18 column (ACE, Fortune Scientific Co, Ltd, Thailand) with the mobile phase flow rate of 0.5 ml/min and analysed at wavelength 330 nm. The chromatogram result was processed and reported with a Shimadzu's LC Solution software program. The γ-oryzanol concentration was calculated from its area under the peak and compared to the area under the peak of γ-oryzanol standard of known concentrations ranging from 0.05–50 μg/ml.

Phytochemical content

Total phenolic content (TPC) was determined in triplicate^{4,14}. The sample was mixed with a diluted Folin-Ciocalteu reagent at a ratio of 1:1 (v/v) and then incubated for 1 min. The mixture was then added with 10% Na_2CO_3 and incubated for 1 h in the dark. The absorbance at 734 nm was recorded with a spectrophotometer (Biomate 3, Thermo Electron Corporation, USA). Serial dilution of gallic acid standard was performed to obtain diluted standard solutions in the range of 5–200 μg/ml. TPC was

expressed as mg of gallic acid equivalent per 1 g of dried rice bran (mg GAE/g DW).

Total flavanoid content (TFC) was determined by a colorimetric method¹¹. One millilitre of 1000 µg/ml rice bran oil was prepared by diluting the oil with methanol. Next, 150 µl of 5% NaNO₂ was added and mixed well, followed by subsequent addition and mixing of 150 µl of 10% AlCl₃ and 500 µl of 5% NaCl, followed by incubation at room temperature for 40 min. The diluted oil sample was then added to several reagents in sequential order; 150 µl of 5% NaNO₂, 150 µl of 10% AlCl₃ and 500 µl of 5% NaCl. The mixture was then incubated at room temperature for 40 min. The absorbance at 415 nm was measured. The content of total flavonoids was calculated from the calibration curve of quercetin standard equivalent (mg QE/100 g DW).

DPPH scavenging activity

DPPH ethanolic solution (0.2 mM) was added to the extracted oil at a ratio of 1:1 (v/v). The well-mixed mixture was kept in the dark for 30 min. The absorbance at 517 nm of the mixture was measured using a Microplate Reader (EMS Reader MF, Labsystems, Thailand). The concentration of the extract that could inhibit DPPH radicals by 50% was expressed as IC₅₀. A lower value of IC₅₀ indicates a higher antioxidant activity. The IC₅₀ was compared to antioxidant standards such as ascorbic acid (vitamin C), Trolox, and BHT. Percentage antioxidant inhibition AI% was calculated using the following equation:

$$AI\% = \frac{1 - A_{\text{sample}}}{A_{\text{control}}} \times 100,$$

where A_{sample} is the absorbance value of each sample solution, A_{control} is the absorbance value of the reagent solution, and plotted as a function of concentration to report the antioxidant activity, graphs were reported in Ref. 36.

ABTS^{•+} scavenging activity

To perform the antioxidant activity assay¹¹, the ABTS reagent was prepared by stirring 7 mM ABTS in distilled water at 25 °C and mixed with 2.45 mM potassium persulphate at a ratio of 1:1 (v/v). The mixed reagent was kept at 4 °C in the dark for 16 h before use. The oil sample was mixed with such reagent at a ratio of 1:50 (v/v), and the absorbance at 734 nm was recorded. The results of antioxidant activity of crude oil are reported in the form of AI%,

including IC₅₀ and TEAC values. TEAC value was the Trolox concentration that was equivalent in AI% to that of the crude oil; it was calculated based on a Trolox standard curve ($R^2 = 0.997$) (mg TEAC/g DW).

FRAP assay

Ferric reducing ability assay²² was used to analyse the ability of antioxidant compound to transfer electrons and change ferric tripyridyltriazine ($\text{Fe}^{3+}[(\text{TPTZ})_2]^{3+}$) to ferrous tripyridyltriazine ($\text{Fe}^{2+}[(\text{TPTZ})_2]^{2+}$). An FRAP reagent was prepared by mixing 300 mM acetate buffer (pH 3.6) with 20 mM FeCl₃ and 10 mM TPTZ solution at a ratio of 10:1:1 (v/v) and incubating the mixture at 37 °C for 30 min. The oil sample in ethanol was added to FRAP reagent at a ratio 1:3 (v/v) and incubated for 5 min before measuring of its absorbance at 595 nm. FRAP value was the concentration of Trolox or FeSO₄ that was equivalent in the AI% to that of the crude oil. Hence it was expressed as Trolox or FeSO₄ equivalent antioxidant capacity (mg TEAC/g DW and mM FeSO₄/g DW).

Neuronal differentiation

P19 cells at the exponential growth stage were dissociated into single cells¹⁷ and seeded on a 100-mm bacteriological culture dish in P19IM under a 5% CO₂ humidified atmosphere at 37 °C for 4 days to allow the cells to form large aggregates. After 4 days of RA treatment, aggregates were dissociated into single cells, re-plated on poly-L-lysine-pre-coated multi-well plates at 7×10^4 cells/ml in P19SM and incubated for 24 h. Cytosine-1-β-D-arabinoside (10 µM) was added on the following day after plating and the medium was changed every 2–3 days. The differentiated neuronal cells, P19 derived-neurons, and cholinergic neurons were used in a neuronal viability assay after day 14 of the differentiation process.

Neuronal viability assay

The assay¹⁷ was performed in triplicate. DMSO solutions of the samples were diluted with P19SM in the presence of 10 µM Ara-C to obtain solutions at the concentrations in the range of 1–10 000 ng/ml and added to the culture plates. P19SM plus 10 µM Ara-C were added to the control wells. The cells were then incubated for 18 h at 37 °C. Then 150 µl of the medium was removed, and 50 µl of XTT solution (1 mg/ml XTT in α-MEM and 25 µM phenazine methosulfate) was added. After the mixture was incubated at 37 °C for 4 h, 100 µl of PBS was added.

The absorbance at 450 nm of the mixture was determined with a microplate reader. The results were expressed as mean \pm SD ($n = 3$), with medium only as a control representing 100% cell viability. The sample at the concentration that enhanced the survival of cultured neurons compared to that in the control was further investigated for its neurotogenicity and neuroprotective effect.

Neuroprotective assay by serum deprivation method

The assays were carried out on P19 derived-neurons cultured in a 96-well plate and performed in triplicates. Serum deprivation method²³ was used. The DMSO solution of the samples, diluted with P19SM plus 10 μ M Ara-C, and α -MEM supplemented with 10 μ M Ara-C, and 1% antibiotics-antimycotic solution without FBS were added to give a final concentration of the sample that enhanced survival of cultured neurons more than that of the control. DMSO was added to the cultures at 0.5%. P19SM plus 10 μ M Ara-C was added to the control wells. α -MEM supplemented with 10 μ M Ara-C, and 1% antibiotics-antimycotic solution without FBS was used to create the oxidative stress condition. Quercetin at 1 nM was used as a positive control. The cells were incubated for 18 h at 37°C. Cell viability was assayed by the XTT reduction method. The data are expressed as mean \pm SD ($n = 3$), with the medium as a control representing 100% cell viability.

Neurotogenicity assay

The assay was carried out together with P19-derived-neurons cultured in a 6-well plate¹⁷. After 14 days of differentiation process, P19SM plus 10 μ M Ara-C were removed and DMSO solution of the extracts diluted with P19SM plus 10 μ M Ara-C were added to give the final concentration of the sample at concentration that enhanced survival of cultured neurons more than that of the control, a DMSO (0.5%) was added to the cultures. P19SM plus 10 μ M Ara-C was added into control wells. Quercetin at 1 nM was used as a positive control. The cells were incubated for 18 h at 37°C. The morphology under a phase-contrast microscope was observed. The appearance of P19-derived neurons was compared to that of the controls and measured for the length and number of neurites. Average length and number of neurites of 30 neurons from the assay were measured.

Statistical analysis

Means and standard deviations of oil yield and antioxidant activity of triplicates were reported. The statistical analysis for comparison of the means at 95% confidence limit ($p < 0.05$) was performed by one-way ANOVA and Duncan's multiple range test with SPSS 22.0. Neuroprotective and neurotogenic activity assays were statistical analysed by student's *t*-test at 95% confidence limit ($p < 0.05$).

RESULTS AND DISCUSSION

Physical properties and chemical contents

The upland rice brans were remarkably darker than the conventional rice bran (MA), with the exception of the bran from ND rice, as shown in the second row (a^* value) of Table 1. ND has the highest value of lightness compared to the other varieties. In addition, the Southern rice variety appeared to be redder than the rice variety from the central region of Thailand (MA) (lower a^* value). The chroma (*C*) value of upland rice bran was significantly higher than that of MA. The rice bran contains phytochemicals such as phenolics, which are especially abundant in the upland rice bran and which cause the dark red appearance. A previous research study has shown that physical traits of a bran such as colour are correlated to its phytochemical content^{16,25}. Specifically, the genotypes of the purple bran were correlated with significantly higher TFC, TPC and oxygen radical absorbance capacity than those of the red rice bran. The colour parameters were related to the colour of various chemical contents. *C* and H° represented phenolic content, L^* and a^* were mainly attributed to flavonoid contents^{16,25}. The values of the parameters reported in our study were found to have the same correlation as mentioned above. Furthermore, the amount of γ -oryzanol was correlated with the yellow parameter, b^* , which was at the highest levels for KN and MA compared to those of the other rice varieties (Table 1).

Comparison of the extraction methods

This section presents the rationale for choosing the use of maceration method instead of conventional soxhlet extraction method to extract rice bran oil. Initially, rice bran oil was preliminary extracted by both methods; conventional soxhlet and maceration methods. The soxhlet method gave significantly higher oil yield than the maceration method (Table 1), and the results follow the same trends for all varieties except for MA. The effect of different extraction methods on the amount of γ -oryzanol,

a type of antioxidant compound, was found to be significantly different for DK and ND rice varieties, whereas the effect was not significantly different for D, KN, and MA (Table 1). The elevated extraction temperature at ethanolic boiling point of the soxhlet method did not affect γ -oryzanol yield of D, KN and MA, whereas it increased the γ -oryzanol yield of DK and ND. This was because of the significantly higher content of crude fibre in D, KN and MA compared with those in DK and ND, as shown in the crude fibre content in Table 1. The extra heat might soften the crude fibre^{26,27} but there was still some trapped γ -oryzanol-rich oil inside the crude fibre structure that could not penetrate through it. The results also agreed with that of antioxidant activity by DPPH and ABTS assays that showed a higher activity when maceration was used as the extraction method than when soxhlet was used³⁶. However, this result was in contrast with the result from the FRAP assay that showed higher AI% achieved by soxhlet extraction than that achieved by maceration. Apart from γ -oryzanol, other types of antioxidant compounds such as phenolics and flavonoids, which are known to be heat resistant compounds, were found to have higher yields from soxhlet extraction for all varieties²⁸. However, many types of antioxidants that are heat intolerant have not been explored before; hence, a gentler extraction method, maceration by ethanol, was the extraction method of choice in this study. Indeed, ethanolic extraction by maceration has been regarded as an environment-friendly method of extraction^{13,20,29,30}.

Total oil, γ -oryzanol, tocopherol and phytochemical contents

The oil yield from the bran of conventional rice variety (MA) was the highest when the oil was extracted with the maceration method, compared to the yields from the bran of the upland rice varieties (Table 3). The MA oil appeared to be clear and yellowish, whereas the upland rice bran oil was yellowish to dark brownish. The darkest oil was the oil from DK. At the completion of the maceration method, two phases of products were obtained: the oil phase and a solid phase caused by precipitation into red to brown crystals. The exception was ND in which maceration did not yield any precipitation. Red crystals were similarly found in other studies^{6,29}. The red crystals contained components of tocopherol (vitamin E) and γ -oryzanol. Some research studies have claimed that the red colour is due to a group of phenolics and flavonoids²⁵.

Tocopherol was found simultaneously with γ -

oryzanol by the HPLC method. The peak of γ -oryzanol appeared at the retention times of 5.6 and 6 min, the peak of γ -tocopherol showed up at the retention times of 3.35, 3.51, 3.85, and 4.27 min, whereas no peak was found for α -tocopherol. KN provided the greatest amount of γ -oryzanol of 7.41 ± 0.83 mg/g DW at a significance level of 95% ($p < 0.05$) compared to those provided by other types of rice bran, followed by DK, D, MA and ND (Table 3). This might be effects of the cultivation area and the cultivation method. The γ -oryzanol content was similar to that previously reported⁴ in rice cultivated in a low water level zone in the Northeast part of the country.

γ -tocopherol was present at the highest percentage in MA and KN at a significance level of 95%, followed by D and ND (Table 3). Surprisingly, γ -tocopherol was not found in DK, which contradicts results from Chotimarkorn²⁹ and Ushio³⁵. This might be because the rice was grown in different cultivation areas. For total phenolic content, DK had the greatest amount at a significant level of 95% at around 6.44 ± 0.20 mg GAE/g DW, followed by D and MA, and then KN and ND (Table 3). The DK oil had the highest TFC, around 13.32 ± 0.52 mg QE/g DW, compared to MA, KN, ND and D (Table 3). This study reports a higher TFC content in the oil from upland rice compared to that reported in Ref. 29; nevertheless, the difference might be due to the presence of catechin in their report.

In performing the antioxidant assay, both the oil and red crystal extraction products were used in the assay. Hence the high activity found might come from both the oil and the crystals. The red crystals, products from the extraction process that came out with the oil, were suspected to be from the brownish or reddish skin of the varieties of upland rice and contained γ -oryzanol and tocopherol; however, even though the skin of MA was white, it also contained high levels of such compounds. Nevertheless, the oil from MA had lower antioxidant activity than the extraction products from the varieties of upland rice. In addition, the colour of the rice bran, the yellow parameter (b^*), may reveal the γ -oryzanol content in the rice bran oil.

Antioxidant capacity

All the varieties had AI% values greater than 50%, as indicated by the DPPH assay, whereas in the case of the ABTS assay, only DK had the highest AI%, by more than 50%, therefore IC₅₀ for all varieties by DPPH assay can be calculated. Among all the varieties, DK demonstrated the highest AI% when

Table 3 Quantitative and qualitative analyses of the extracts from five varieties using maceration method.

Parameters	DK	D	KN	ND	MA
γ -Oryzanol (mg/g DW)	6.05 \pm 0.11 ^b	5.36 \pm 0.58 ^b	7.41 \pm 0.83 ^a	2.80 \pm 0.32 ^c	4.84 \pm 0.94 ^b
γ -Tocopherol (mg/g DW)	–	0.03 \pm 0.00 ^b	0.06 \pm 0.03 ^{ab}	0.03 \pm 0.06 ^b	0.12 \pm 0.04 ^a
TPC (mg GAE/g DW)	6.44 \pm 0.20 ^a	3.21 \pm 0.08 ^b	2.49 \pm 0.10 ^c	2.09 \pm 0.10 ^d	3.19 \pm 0.19 ^b
TFC (mg QE/g DW)	13.34 \pm 0.52 ^a	3.79 \pm 0.49 ^c	5.84 \pm 0.22 ^c	4.70 \pm 0.14 ^d	9.71 \pm 0.08 ^b
DPPH (IC ₅₀ , mg/ml)	0.11 \pm 0.01 ^a	0.28 \pm 0.03 ^b	1.17 \pm 0.01 ^c	4.16 \pm 0.01 ^e	3.42 \pm 0.04 ^d
ABTS (mg TEAC/g DW)	34.94 \pm 1.26 ^a	8.36 \pm 1.04 ^b	7.23 \pm 0.27 ^b	3.73 \pm 0.19 ^c	7.73 \pm 0.28 ^b
FRAP (mg TEAC/g DW)	5.16 \pm 0.35 ^a	4.93 \pm 0.38 ^a	2.73 \pm 0.15 ^b	0.91 \pm 0.03 ^d	1.77 \pm 0.12 ^c
FRAP (mM FeSO ₄ /g DW)	53.13 \pm 3.51 ^a	50.69 \pm 3.85 ^a	28.61 \pm 1.53 ^b	9.87 \pm 0.31 ^d	19.04 \pm 1.20 ^c
FRAP (IC ₅₀ , mM FeSO ₄ /g DW)	0.25	0.13	0.50	1.20	1.20

Different superscript letters of a, b, and c in the same row indicate significantly different amount of quantitative and qualitative values of different varieties at $p < 0.05$ by Duncan's New Multiple Range Test.

compared to other varieties, with IC₅₀ DPPH of 0.11 \pm 0.01 mg/ml at a significant level of 95% (Table 3). Furthermore, the rice bran oil from DK had an AI% of around 31.1 fold higher than MA, which had the same level as upland rice ND. DK and D were in the same range as vitamin C, an antioxidant standard, with IC₅₀ DPPH of 0.01 \pm 0.00 mg/ml. On the other hand, Trolox (0.02 \pm 0.00 mg/ml) and BHT (0.13 \pm 0.01 mg/ml) had higher antioxidant capacities than the other rice varieties at a significant level of 95%. These results concur with the previously reported results which showed that rice bran has the highest antioxidant activity⁴, higher than BHT; however, it had lower antioxidant activity than ascorbic acid and Trolox.

The AI% revealed by the ABTS assays for all the rice varieties was less than 50%, except for DK. According to the TEAC results shown in Table 3, among the oils studied, DK had the highest amount of TEAC at a significant level of 95%, and it was detected at about 34.9 \pm 1.3 mg TEAC/g DW. Furthermore, the content extracted via the soxhlet method was higher in oil by 66%. Because of its type and cultivation area, the DK variety had greater antioxidant capacity. Additionally, DK has antioxidant capacity in the same range with TEAC as those of Sudu Heeneti, Masuran, Goda Heeneti, and Dik Wee, Sri Lankan traditional red rice²⁷.

FRAP was also used to analyse antioxidant activity. Results were consistent with those from the ABTS assay that no variety of rice can reach an antioxidant inhibition level of 50%; hence results were reported in the form of mg TEAC/g DW and mM FeSO₄/g DW. DK and D fell within the same range of FRAP values, and received highest FRAP values when compared to the others (Table 3). Antioxidant capacity via FRAP has been found⁴ to be in the range

of 27.5–32.2 μ mol FeSO₄/g, whereas in this study a wider range of 9.87–53.13 μ mol FeSO₄/g crude oil was obtained. These differences might be due to the differences in varieties and cultivation areas.

Comparison of rice bran varieties

The most recent research data and the results from this study are shown in Table 3 and Table 4. The rice bran having the highest antioxidant content is cultivated in Asia, mostly in Thailand. All the research focused on TPC which showed that the maximum content level was related to the degree of pigment in the rice³³. The second highest level of TPC was obtained from the Korean rice bran³¹ and DK rice bran, and the third one was obtained from the D and MA varieties, as well as Khao Pathumthani 60²⁹ and the bran from Iran²⁹. This study reports a higher level of TPC as compared to the others^{4,29}, while it was in the same range as that in the Iranian rice²⁴. Total flavonoid content had the highest value compared to other reports (Table 4). The highest amount of γ -oryzanol content was found in KN, whereas the DK and MA were found to have lesser amount of γ -oryzanol⁴. The same variety of MA was found in Refs. 4, 29; however, the yield from Ref. 29 was lower in γ -oryzanol content, whereas the same range of γ -oryzanol was reported in Ref. 4. This might be the effect of the place and the method of cultivation. Most of the research studies determined antioxidant activity via the DPPH assay. D had the same level of IC₅₀ as Khoa Pathum Thani 60²⁹; however, it was cultivated using less water than MA. The DK variety exhibited the highest level of antioxidant activity.

The above information reveals that the three varieties with the highest content of γ -oryzanol and antioxidant activity were KN, DK, and D. These three

Table 4 Antioxidant compositions of rice bran extracts with various rice sources and extraction conditions.

Bran varieties	γ -Oryzanol	γ -Tocopherol	TPC	TFC	IC ₅₀	DPPH	ABTS	FRAP	Remark
Japonica type, Seoul, Korea			6.5 ± 0.4				16 μ M	0.022	Ref. 31
Phitsanulok 2, Chiang Rai rice			0.7						Ref. 14
Suphan Buri 1, Chiang Rai rice			1.0 ± 0.0						
Pa tong 1, Chiang Rai rice			0.9 ± 0.1			0.05	0.02		
Sangyod Phatthalung rice	0.67		0.4 ± 0.3	0.30 [†]		35%			Ref. 34
Fajr, Babolsar, Iran			3.3			93%			Ref. 24
Tarem, Babolsar, Iran			2.0			90%			
MA 105, Roi-Et province (TK9), Japonica	5.38	4.74	2.7 ± 0.3			86%		0.032	Ref. 4
MA 105, Thailand	1.78	0.10	1.2–2.5						Ref. 35
Khoa Pathum Thani 60,	0.99	0.10	2.9	0.08		0.52		0.14 (IC ₅₀)	Ref. 29
Khao Suphan buri 90	1.08	0.13	3.2	0.06		0.38		0.11 (IC ₅₀)	
Khao Chinat 1	0.56	0.12	2.8	0.03		0.58		0.31 (IC ₅₀)	
Khao Gokho 13	0.79	0.06	2.2	0.10		0.74		0.55 (IC ₅₀)	
Venezuelan	0.61	0.08	2.7	0.09		0.64		0.45 (IC ₅₀)	
Pakistan rice bran			1.1–1.2						Ref. 9
Pigment rice bran extract			2.5–3.6						Ref. 22
			8–45						Ref. 33

[†] Units: γ -Oryzanol, γ -Tocopherol (mg/g DW); TPC (mg GAE/g DW); TFC (mg QE/g DW); IC₅₀ DPPH (mg/ml); ABTS (mg TEAC/g DW); FRAP (mM FeSO₄/g DW).

[‡] mg CE/g DW.

varieties need to be further evaluated for their neuronal viability, neuroprotective, and neuritogenic abilities.

Neuronal viability assay

Neither the extracts (KN, DK and D) nor the γ -oryzanol standard caused neurotoxicity in the P19 neuronal cells (IC₅₀ more than 10 μ g/ml). The cell viabilities percentages of the cultured neurons treated with DK and γ -oryzanol at 100 ng/ml concentration were 156.0 ± 5.7 and 131 ± 13%, and the cell viabilities for KN at 10 ng/ml and D at 1 ng/ml were 124 ± 13 and 118.9 ± 5%, respectively. These results suggest that all the extracts and γ -oryzanol had high cell viabilities (over 100%); they enhanced survival of the cultured neurons. Hence their effective concentrations (very low concentrations) were selected for studying their neuroprotective abilities via the serum deprivation method and neuritogenicity.

Neuroprotective and neuritogenic assays

Neuroprotective assay is used to evaluate the ability of an antioxidant against oxidative stress and inducing cell death triggered by serum deprivation. The neuroprotective abilities of these extracts were evaluated and treated with different conditions (Table 5). The average cell ability percentage of all the extracts ranged from 40.6–60.0%, compared

Table 5 Neuroprotective abilities; the average percentage of cell viability by serum deprivation from various treatments.

Compound	Cell viability (%)
γ -Oryzanol (100 ng/ml)	60.2 ± 9.1 [*]
DK (100 ng/ml)	40.6 ± 9.5
D (1 ng/ml)	54.9 ± 11.5 [*]
KN (10 ng/ml)	43.1 ± 10.9
Quercetin (1 nM)	58.0 ± 9.2 [*]
α -MEM + 10 μ M Ara-C + 0.5% DMSO	16.3 ± 4.5
α -MEM + 10 μ M Ara-C	16.6 ± 4.7
P19SM + 10 μ M Ara-C + 0.5% DMSO	100.3 ± 0.3
P19SM + 10 μ M Ara-C	100.0 ± 0.0

^{*} $p < 0.05$ compared with toxic condition (α -MEM + 10 μ M Ara-C) and solvent control of toxic condition (α -MEM + 10 μ M Ara-C + 0.5% DMSO). P19SM composed of α -MEM+10% FBS. All media were added 1% v/v antibiotic-antimycotic solution.

to that of the control. D was the only variety that demonstrated resistance to a toxic condition and to the solvent control of a toxic condition at 95% significant level. The highest percentage of cellular viability was found in the γ -oryzanol standard; however, it was not significantly different. Furthermore, the extracts were not significantly different in their average cellular viabilities when compared to the positive control, quercetin, which is a well-known antioxidant and antioxidative

Table 6 The neuritogenicity of the extracts.

Compound	Neurites	Length (μm)
γ -Oryzanol (100 ng/ml)	$2.57 \pm 0.23^{***}$	$49.9 \pm 6.0^{**}$
DK (100 ng/ml)	$2.53 \pm 0.23^{***}$	$50.4 \pm 5.4^{**}$
D (1 ng/ml)	$2.70 \pm 0.23^*$	$29.8 \pm 1.9^{**}$
KN (10 ng/ml)	$3.30 \pm 0.24^*$	$45.1 \pm 3.4^{**}$
Quercetin (1 nM)	$3.67 \pm 0.28^*$	$71.5 \pm 8.1^*$
P19SM + 10 μM Ara-C + 0.5% DMSO	1.23 ± 0.08	39.2 ± 4.7
P19SM + 10 μM Ara-C	1.40 ± 0.11	32.9 ± 3.9

* $p < 0.05$ compared with solvent control, P19SM + 10 μM Ara-C + 0.5% DMSO; ** $p < 0.05$ compared with positive control, quercetin. P19SM composed of α -MEM+ 10% FBS. All media were added 1% v/v antibiotic-antimycotic solution.

stress compound¹⁰. These studies suggested that D possesses significant neuroprotective ability among these extracts, and this ability might arise from other components found in the D extract, rather than γ -oryzanol, which can be used as a natural source of nutrient-rich content. According to the antioxidant and neuroprotective abilities of rice bran extracts, it is possible that the neuroprotective activity of these extracts might not be derived simply from the antioxidative process.

Neuritogenic assays were used to measure the length of neurite outgrowth per cell. The method is commonly used to assess the ability of a compound that affects the growth of neurites. All the oil extracts were found to exhibit neuritogenic ability by increasing the number of neurites (Table 6). KN, D, DK had greater numbers of neurites than the solvent control at 95% significant level and were not significantly different compared to that of the γ -oryzanol standard. However, the extract did not have the ability to increase the length of the neurites when compared to quercetin, the positive control. The results of phase-contrast micrographs of cultured P19-derived neurons were shown in Fig. 1. KN had the greatest impact in increasing the number of neurites according to the result that used a lower concentration to increase the number of neurites, as compared to DK. These observations may be due to the presence of other compounds in the extracts that can also increase the number of neurites, even though γ -oryzanol was found to be low in KN.

CONCLUSIONS

This study examined a new variety of rice that uses less water for cultivation as compared to the conventional variety (Khao Dowk Mali 105). The

new variety, commonly called upland rice bran, has been evaluated for its oil and chemical content, as well as antioxidant activity. The upland rice bran colour changes from red to brown possibly reflecting the bioactive compounds it contains; the yellow from γ -oryzanol. The neuroprotective and neuritogenic effects of such extracts were also examined in the Dok-kham, Dok-kha and varieties, which have high bioactive compound contents and antioxidant capabilities. Among these extracts, Dok-kha was found to possess significant neuroprotective ability. This ability might arise from other components found in the Dok-kha extract other than γ -oryzanol, and could be used as a new natural source of nutrient-rich content. Khem-ngen and Dok-kha have other compounds, in addition to γ -oryzanol, such as colour pigments that can also promote growth and the number of neurites. All the extracts and γ -oryzanol exhibited neuritogenic abilities by promoting increases in the number of neurites, thus having the potential for dietary use in the form of upland rice bran oil.

Acknowledgements: This study has been supported by research funds with Grant number KREF025603 from King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang.

REFERENCES

- Petchseechoung W (2016) *Rice Industry, Thailand Outlook 2016–2018*, Krungsri Research, 1–5.
- Zigoneanu IG, Williams L, Xu Z, Sabljov CM (2008) Determination of antioxidant components in rice bran oil extracted by microwave assisted method. *Bioresour Technol* 99, 4910–8.
- Khuwjitjaru P, Yuenyong T, Pongsawatmanit R, Adachi S (2009) Degradation kinetics of gamma-oryzanol in antioxidant-stripped rice bran oil during thermal oxidation. *J Oleo Sci* 58, 491–7.
- Butsat S, Siriamornpun S (2010) Antioxidant capacities & phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. *Food Chem* 119, 606–13.
- Chia SL, Boo HC, Muhamad K, Sulaiman R, Umanan F, Chong GH (2015) Effect of subcritical carbon dioxide extraction and bran stabilization methods on rice bran oil. *J Am Oil Chem Soc* 92, 393–402.
- Xu Z, Godber JS (2001) Antioxidant activities of major components of γ -oryzanol from rice bran using a linoleic acid model. *J Am Oil Chem Soc* 78, 645–9.
- Regan H (2015) *Thailand is Suffering from the Worst Drought in Decades*, TIME Online Newsletters.
- Nokkoul R (2015) *Upland Rice: Agricultural Product for Economic and Social Development*, Department of Agricultural Technology, KMITL PCC, Thailand. (in Thai)

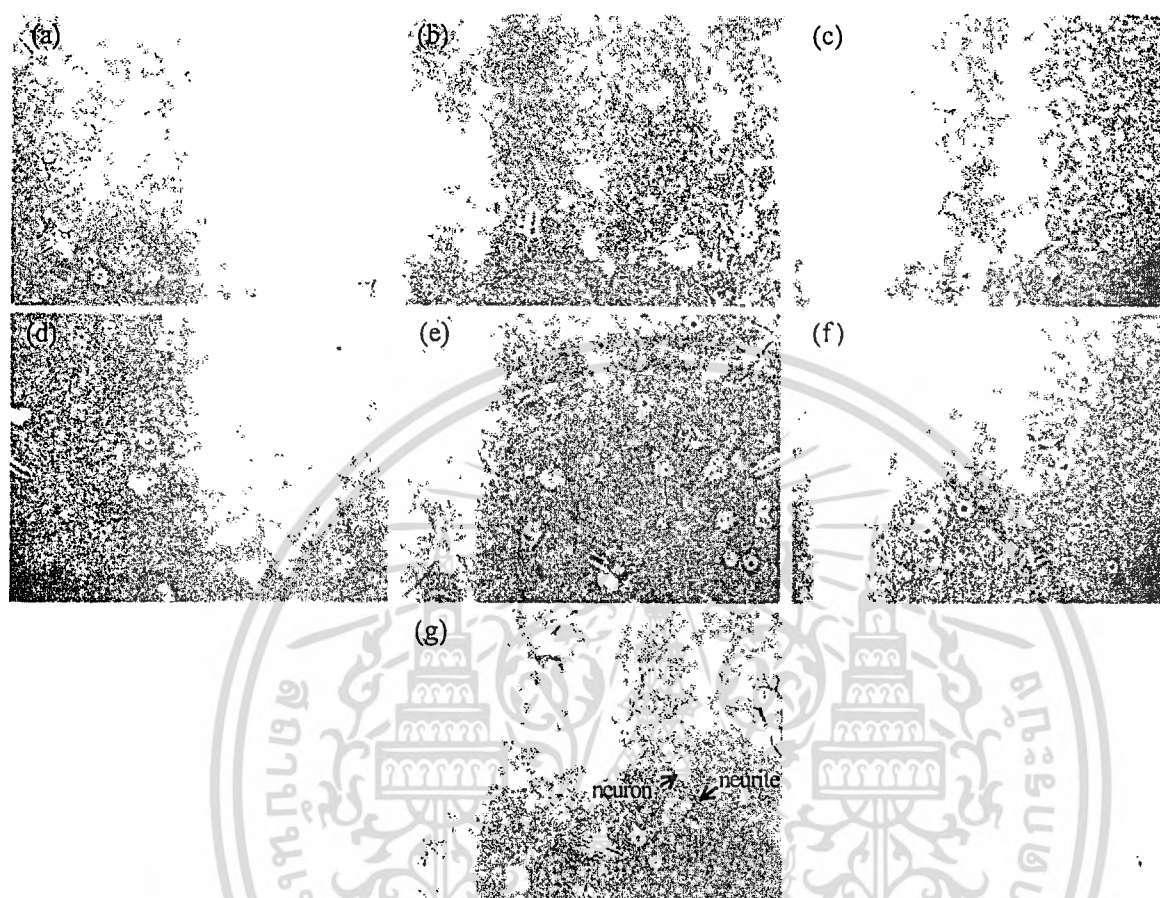


Fig. 1 The neuritogenicity of extracted oil in a P19-derived neuron culture. Phase-contrast micrographs of cultured P19-derived neurons treated with: (a) 100 ng/ml of γ -oryzanol, (b) 100 ng/ml of DK, (c) 1 ng/ml of D; 10 ng/ml of KN, (d) 1 nM quercetin, (f) 0.5% DMSO, and (g) control.

9. Aguilar-Garcia C, Gavino G, Baragaño-Mosqueda MB, Hevia P, Gavino VC (2007) Correlation of tocopherol, tocotrienol, γ -oryzanol and total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. *Food Chem* 102, 1228–32.
10. Tangsaengvit N, Kitphati W, Tadtong S, Bunyapraphatsara N, Nukoolkarn V (2013) Neurite outgrowth and neuroprotective effects of quercetin from *Caesalpinia mimosoides* Lamk. on cultured P19-derived neurons. *Evid Based Complement Alternat Med* 838051, 1–7.
11. Hwang SJ, Yoon WB, Lee OH, Cha SJ, Kim JD (2014) Radical-scavenging-linked antioxidant activities of extracts from black chokeberry and blueberry cultivated in Korea. *Food Chem* 146, 71–7.
12. Shao YF, Xu FF, Sun X, Bao JS, Beta T (2014) Identification and quantification of phenolic acids and anthocyanins as antioxidants in bran, embryo and endosperm of white, red and black rice kernels (*Oryza sativa* L.). *J Cereal Sci* 59, 211–8.
13. Povilaitis D, Šulniūtė V, Rimantas Venskutonis RP, Kraujalienė V (2015) Antioxidant properties of wheat and rye bran extracts obtained by pressurized liquid extraction with different solvents. *J Cereal Sci* 62, 117–23.
14. Kanlayavattanakul M, Lourith N, Tadtong S, Jongrungruangchok S (2015) Rice panicles: New promising unconventional cereal product for health benefits. *J Cereal Sci* 66, 10–7.
15. Bao JS, Cai Y, Sun M, Wang GY, Corke H (2005) Anthocyanins, flavonoids, and free radical scavenging activity of Chinese bayberry (*Myrica rubra*) extracts and their colour properties and stability. *J Agric Food Chem* 53, 2327–32.
16. Shen Y, Jin L, Xiao P, Lu Y, Bao J (2009) Total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity in rice grain and their relations to grain color, size and weight. *J Cereal Sci* 49, 106–11.
17. Tadtong S, Kanlayavattanakul M, Lourith N (2013) Neuritogenic and neuroprotective activities of fruit Residues. *Nat Prod Commun* 8, 1583–6.
18. AOAC (2012) *Official Methods of Analysis*, 19th edn,

- Association of Official Analytical Chemists, Washington, DC.
19. ASEANFOODS (2011) *Asean Manual of Food Analysis*, 1st edn, Regional Center of Asean Network of Food Data System, Institute of Nutrient, Mahidol University, Thailand.
 20. Ruen-Ngam D, Thawai C, Nokkoul R, Sukonthamut S (2014) Gamma-oryzanol extraction from upland rice bran. *Int J Biosci Biochem Bioinforma* 4, 252–5.
 21. Liu Q, Yao H (2007) Antioxidant activities of barley seeds extracts. *Food Chem* 102, 732–7.
 22. Lqbal S, Younas U, Sirajuddin, Chan WK, Sarfraz RA, Uddin KM (2012) Proximate composition and antioxidant potential of leaves from three varieties of Mulberry (*Morus* sp.): a comparative study. *Int J Mol Sci* 13, 6651–64.
 23. Iacovitti L, Stull ND, Johnston K (1997) Melatonin rescue dopamine neurons from cell death in tissue culture models of oxidative stress. *Brain Res* 768, 317–26.
 24. Arab F, Alemzadeh I, Maghsoudi V (2011) Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract. *Sci Iran* 18, 1402–6.
 25. Chen M, McClung AM, Bergman CJ (2016) Concentrations of oligomers and polymers of proanthocyanidins in red and purple rice bran and their relationships to total phenolics, flavonoids, antioxidant capacity and whole grain color. *Food Chem* 208, 279–87.
 26. Vasishtha H, Srivastava PR (2013) Effect of soaking and cooking on dietary fibre components of different type of chickpea genotypes. *J Food Sci Technol* 50, 579–84.
 27. Özkaya H, Özkaya B, Duman B, Turksoy S (2017) Effect of dephytinization by fermentation and hydrothermal autoclaving treatments on the antioxidant activity, dietary fiber, and phenolic content of oat bran. *J Agric Food Chem* 65, 5713–9.
 28. Chaiteerapattarapong S (2016) Evaluation of gamma-oryzanol in Khao Dawk Mali 105 and Dawk Pa-yawm upland rice brans, Master thesis, KMITL, Thailand.
 29. Chotimarkorn C, Ushio H (2008) The effect of transferulic acid and gamma-oryzanol on ethanol-induced liver injury in C57BL mouse. *Phytomedicine* 15, 951–8.
 30. Chakuton K, Puangpronpitag D, Nakornriab M (2012) Phytochemical content and antioxidant activity of colored and non-colored Thai rice cultivars. *Asian J Plant Sci* 11, 285–93.
 31. Kim S, Lim S (2016) Enhanced antioxidant activity of rice bran extract by carbohydrase treatment. *J Cereal Sci* 68, 116–21.
 32. Premakumara GAS, Abeysekera WKSM, Ratna-sooriya WD, Chandrasekharan NV, Bentota AP (2013) Antioxidant, anti-amylase and anti-glycation potential of brans of some Sri Lankan traditional and improved rice (*Oryza sativa* L.) varieties. *J Cereal Sci* 58, 451–6.
 33. Goffman FD, Berman CJ (2004) Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. *J Sci Food Agric* 84, 1235–40.
 34. Thanonkaew A, Wongyai S, McClements DJ, Decker EA (2012) Effect of stabilization of rice bran by domestic heating on mechanical extraction yield, quality, and antioxidant properties of cold-pressed rice bran oil (*Oryza sativa* L.). *LWT-Food Sci Technol* 48, 231–6.
 35. Lai P, Li KL, Lu S, Chen HH (2009) Phytochemicals and antioxidant properties of solvent extracts from Japonica rice bran. *Food Chem* 117, 538–44.
 36. Sae-ang V (2016) Extraction and antioxidant activity evaluation of upland rice bran oil for cosmetic product applications. Master thesis, KMITL, Thailand.



Duangkamol RUEN-NGAM <modeliebe@gmail.com>

Your manuscript SUPFLU_2019_8 has been sent for review

1 message

The Journal of Supercritical Fluids <EvisSupport@elsevier.com>

Mon, Jan 7, 2019 at 12:04 AM

Reply-To: supflu@elsevier.com

To: modeliebe@gmail.com

This message was sent automatically.

Reference: SUPFLU_2019_8

Title: Extraction of upland rice bran for γ -Oryzanol and α -Tocopherol under Sub-critical solvent condition

Journal: The Journal of Supercritical Fluids

Dear Dr. Ruen-ngam,

I am currently identifying and contacting reviewers who are acknowledged experts in the field. Since peer review is a voluntary service it can take time to find reviewers who are both qualified and available. While reviewers are being contacted, the status of your manuscript will appear in EVISE® as 'Reviewer Invited'.

Once a reviewer agrees to review your manuscript, the status will change to 'Under Review'. When I have received the required number of expert reviews, the status will change to 'Ready for Decision' while I evaluate the reviews before making a decision on your manuscript.

To track the status of your manuscript, please log into EVISE® and go to 'My Submissions' via:
http://www.evise.com/evise/faces/pages/navigation/NavController.jspx?JRNL_ACR=SUPFLU

Kind regards,

The Journal of Supercritical Fluids

Have questions or need assistance?

For further assistance, please visit our Customer Support site. Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions, and learn more about EVISE® via interactive tutorials. You can also talk 24/5 to our customer support team by phone and 24/7 by live chat and email.

Copyright © 2018 Elsevier B.V. | Privacy Policy

Elsevier B.V., Radarweg 29, 1043 NX Amsterdam, The Netherlands, Reg. No. 33156677.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Manuscript Details

Manuscript number SUPFLU_2019_8
Title Extraction of upland rice bran for γ -Oryzanol and α -Tocopherol under Sub-critical solvent condition
Article type Research Paper

Abstract

This research focuses on subcritical solvent extraction of upland rice bran (Dawk Pa-yom variety, DY); source of phytochemicals (γ -oryzanol and α -tocopherol). The subcritical solvent extraction was conducted by using a batch reactor. Temperature conditions varied in range from 80 to 120°C for 20 to 60 minutes. Solvents in use included ethanol, methanol, and water. γ -Oryzanol and α -tocopherol were simultaneously analyzed by HPLC. Moreover, antioxidant activity was determined by a DPPH radical assay. Methanol can extract γ -tocopherol with higher level compared to ethanol and water, and got higher antioxidant activity than ethanol. Even though water cannot get γ -oryzanol but it can get highest antioxidant activity than the other two solvents. Increase extraction temperature increased the oil yield, γ -oryzanol, and α -tocopherol, and paralleled with increase antioxidant activity.

Keywords

Rice bran; Subcritical solvent; γ -Oryzanol; α -Tocopherol

Manuscript category

Extractions

Corresponding Author

Duangkamol Ruen-ngam

Corresponding Author's Institution

Rattanakosin College for Sustainable Energy and Environment (RCSEE)
Rajamangala University Of Technology Rattanakosin

Order of Authors

Duangkamol Ruen-ngam, Chitti Thawai, Kittisak Khuwaranyu

Suggested reviewers

Motonobu Goto, Siti Machmudah, Maria José Cocero, RUHAN ASKIN UZEL, Kiattisak Duangmal

Submission Files Included in this PDF

File Name [File Type]

cover_letter_subcritical solvent (resubmit with revised).docx [Cover Letter]

Highlight_5-1-19.docx [Highlights]

Graphical abstract_5-1-19.docx [Graphical Abstract]

Extraction of upland rice bran(2)_5-1-19.docx [Manuscript File]

Figures 16-10-61 Revised5-1-19.docx [Figure]

Tables 16-10-61_5-1-19.docx [Table]

To view all the submission files, including those not included in the PDF, click on the manuscript title on your EVISE Homepage, then click 'Download zip file'.

Research Data Related to this Submission

There are no linked research data sets for this submission. The following reason is given:
No data was used for the research described in the article

January 5, 2019

Dear Editor,

I would like to resubmit a manuscript entitled "Extraction of upland rice bran for γ -Oryzanol and α -Tocopherol under Sub-critical solvent condition", authored by Chitti Thawai, Kittisak Khuwaranyu and myself to be considered for publication in *The Journal of Supercritical Fluids*. This manuscript had been submitted to this journal with Ref: SUPFLU_2018_582 and had some comment from reviewers. I have written responding to editor and reviewers below.

The results presented in this manuscript are of original work, and have not been published elsewhere, nor have they been submitted simultaneously for consideration for publication elsewhere.

In preparing this manuscript, we have carefully tried to follow the instruction to authors, regarding text format, literature citations, and layout of the figure. We have also included the list three potential reviewers of this manuscript and their addresses as follows.

1. *Prof. María José Cocero Alonso*
Departamento de Ingeniería Química y Tecnología del Medio Ambiente
Escuela de Ingenierías Industriales – Sede Mergelina Universidad de Valladolid
Valladolid – 47011 Spain
E-Mail: mjccocero@iia.uva.es

2. *Prof. Motonobu Goto*

Department of Chemical Engineering, School of engineering/Graduate School of Engineering, Nagoya University and Japan Science and Technology Agency
Chiyoda, Tokyo, 102-0076, JAPAN

E-mail: mgoto@nuce.nagoya-u.ac.jp

3. *Dr. Siti Machmudah*

Department of Chemical Engineering, Sepuluh Nopember Institute of Technology, Kampus ITS Sukolilo, Surabaya 60-111, Indonesia

E-mail: machmudah.siti@td.mbox.nagoya-u.ac.jp

4. *Associate Prof. Dr. Kiattisak Duangmal*

Department of Food Technology, Faculty of Science, Chulalongkorn University, Thailand

E-mail: kiattisak.d@chula.ac.th

5. *Assistant Prof. Dr. RUHAN ASKIN UZEL*

Vice Director of Vocational School, Head, Food processing program, Food Technology Program, Yasar University Vocational School, Turkey

E-Mail: ruhan.uzel@yasar.edu.tr

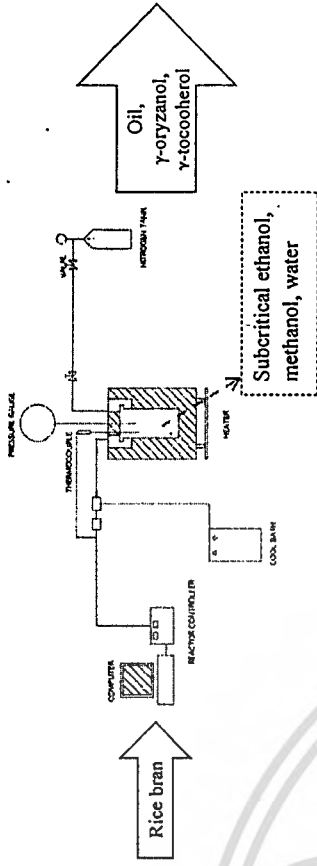
Should you have any questions regarding this paper, please contact me. Thank you for considering this manuscript for publication in *The Journal of Supercritical Fluids*.

Sincerely,

Duangkamol Ruen-ngam
Rattanakosin College for Sustainable Energy and Environment (RCSEE) Rajamangala University Of Technology Rattanakosin Nakhon Pathom 73170 Thailand
e-mail: modetteb@gmail.com, duangkamol.rue@rmut.ac.th, duangkamol.ru@kmutt.ac.th

Highlights

1. Upland rice bran; Dawk Pa-yom variety was used as raw material in extraction.
2. The oil including of γ -oryzanol and γ -tocopherol were extracted and evaluated their antioxidant activity.
3. The alternative extraction method under subcritical solvent; ethanol, methanol and water were used in extraction.
4. Comparison the results to other technology.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Extraction of upland rice bran for γ -Oryzanol and γ -Tocopherol under Sub-critical solvent

condition

Duangkamol Ruen-ngam^{1,2*}, Chitti Thawai², Kittisak Khuwaranyu³

¹Rattanakosin College for Sustainable Energy and Environment (RCSEE) Rajamangaia university of technology rattanakosin, Salaya Phuthamonthon, Nakhonpathom, 73170, Thailand

²Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Ladkrabang, Bangkok 10520, Thailand

³Department of Mechanical Engineering, Faculty of Engineering and Industrial Technology, Silpakorn University, Amphore Muang, Nakhonpathom, 73000, Thailand

Correspondence: Duangkamol Ruen-ngam, Rattanakosin College for Sustainable Energy and Environment (RCSEE), Bangkok 10520, Thailand. Tel: +66-2-441-6000-99#1052, E-mail: modejiebe@gmail.com, duangkamol.ne@rmutr.ac.th

Abstract

This research focuses on subcritical solvent extraction of upland rice bran (Dawk Pa-yom

variety, D_Y); source of phytochemicals (γ -oryzanol and γ -tocopherol). The subcritical

solvent extraction was conducted by using a batch reactor. Temperature conditions varied in

range from 80 to 120°C for 20 to 60 minutes. Solvents in use included ethanol, methanol, and

water. γ -Oryzanol and γ -tocopherol were simultaneously analyzed by HPLC. Moreover,

antioxidant activity was determined by a DPPH radical assay. Methanol can extract γ -

tocopherol with higher level compared to ethanol and water, and got higher antioxidant

activity than ethanol. Even though water cannot get γ -oryzanol but it can get highest

antioxidant activity than the other two solvents. Increase extraction temperature increased the

oil yield, γ -oryzanol, and γ -tocopherol, and paralleled with increase antioxidant activity.

Key Words: Rice bran, Subcritical solvent, γ -Oryzanol, γ -Tocopherol

60
61
62
63
64
65
66
67
68
69
70
71
72
73
74
75
76
77
78
79
80
81
82
83
84
85
86
87
88
89
90
91
92
93
94
95
96
97
98
99
100
101
102
103
104
105
106
107
108
109
110
111
112
113
114
115
116
117
118

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

1. Introduction

Nowadays many people have concerns about health, therefore valuable adding product or food supplement is important, especially vitamin and supplement that comes from nature or biological source. Other than the raw material sources, the extraction method is the crucial rule for getting high quality supplement. There are many interesting extraction methods; Soxhlet extraction, maceration, subcritical solvent extraction, and supercritical carbon dioxide extraction [1, 2]. The last two methods, despite their high operation price, are efficient methods in extraction of high quality product. Liquefied (subcritical) solvent extraction is the condition of solvent heated under pressure depending on solvent type. Such condition has changed the solvent properties; mostly decrease of permittivity (polarity), increase of diffusion rate, and decrease in viscosity and surface tension [2]. Additionally, the extraction under subcritical condition differs quite significantly from conventional extraction methods; very fast and in hydrolytic nature [2] [3].

Rice bran is a byproduct from milling process and a well-known source of phytochemicals. The bran has a large number of vitamins, minerals, and other nutritious items including phenolic compounds, vitamin E, and its associated components: tocopherol, tocotrienol and γ -oryzanol [1, 3-5] that can reduce Alzheimer disease, cholesterol, cancer, and heart disease [3, 6]. γ -oryzanol and tocopherol are famous antioxidant and much found in rice. A group of ferulic acid, esters of phytoosterols called γ -oryzanol and α -tocopherol, is responsible for the antioxidant activity of flavonoids which referred excellent antioxidants. *Jasmine rice* or in common named Dawk-Mali (MA) is a famous, conventional rice variety that grows in lowland areas with regular flooding. After the 2015 drought occurred in the middle part of Thailand, it was impossible to grow jasmine rice [7].

Rice variety that were able to withstand drought were grown in its place, is Dawk Pa-yom variety (DY).

There are some researches on plant extraction under subcritical water and subcritical organic solvent extraction. This research will show potential of subcritical extraction fewer than three solvent types; ethanol, methanol, and water of solvent, for increasing the extraction yield of rice bran oil, γ -oryzanol and α -tocopherol, and also their antioxidant ability was evaluated by DPPH assay. Methanol is well-known as toxic; however, this research showed feasibility of such solvent, to extract particular compound like γ -oryzanol and α -tocopherol.

2. Materials and Methods

2.1 Chemicals and Materials

Upland rice bran from Dawk Pa-yom variety (DY) was made available from the southern part of Thailand, Suratthani province. Another variety, Dawk-Mali (MA) was made available from the middle part of Thailand, Suphanburi province. AR grade Hexane, ethyl acetate, acetone, isopropanol, and ethanol were used for extraction. HPLC grade methanol, isopropanol, and ethyl acetate were used for HPLC analysis. Solvents of all types were ordered from RCI Labscan Limited (Bangkok, Thailand). For antioxidant activity assay, 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) from Sigma-Aldrich, St.Louis, Missouri was used. γ -Oryzanol standard grade was purchased from Wako pure chemical industries Ltd, Japan. γ -Tocopherol standard grade was purchased from Sigma-Aldrich®, St.Louis, Missouri.

2.2 Determination of physical properties and chemical composition of rice bran

The rice bran was sieved through a standard mesh (ASTM-E11-09, Endecotts, Endecotts Logistic Center, Inc.) with a mesh size of 850 μ m, and had been kept at -20°C until



use. Its protein content was analyzed following the AOAC (2012)'s method [8], 911.20. Total fat content was analyzed by AOAC (2012) [8], 922.06. Moisture was determined following the ASEAN Manual of Food Analysis (ASEANFOODS) (2011) [9]. Ash was also determined following ASEANFOODS (2011) [9]. Crude fiber analysis was done following AOAC (2012), 978.10, 962.09. The color of the rice bran samples was measured by CR-300, Minolta, Japan. The color was expressed as tristimulus parameters: L^* , a^* , and b^* , while L^* indicates the degree of lightness, a^* indicates the degree of redness-greenness and b^* indicates the degree of yellowness-blueness. In addition, chroma (C) indicates color intensity or saturation and was calculated as $C = (a^{*2} + b^{*2})^{1/2}$. Hue angle was calculated as $H^{\circ} = \tan^{-1}(b^*/a^*)$ [10, 11].

2.3 Subcritical solvent extraction

The subcritical solvent extraction was conducted by using a 500-ml SS-316 batch reactor (Parr Instrument Co., Moline, IL, USA) [12] as shown in Figure 1. A pressure limit was set with and protected by a rupture disc. The heater supplied a maximum power of 1,500 watts. Type J thermocouples were used for temperature measurement. The heater was controlled by a digital controller (Model 4848; Parr Instrument Co., Moline, IL, USA). The temperature and pressure were measured and recorded over time with Parr software. A constant ratio of bran sample and solvent at 1:10 (w/v) was maintained. The mixture was placed in the pressure vessel. Solvents in use were water, methanol, and ethanol. After the lid was tightly closed, oxygen gas in the reactor had been replaced with nitrogen gas via the connection to the N_2 tank by CGA580 valve (Compressed gas association 580). The reactor was warmed up until the pressure reached about 1 MPa before the extraction began. The extraction was performed for 20–60 minutes under various temperatures ranging from 80–120°C. Although some extraction had occurred during the heating, the extraction time was recorded after the temperature already reached the desired level. After achieving the desired

extraction time, the vessel was immediately removed from the oven and cooled down for 5 min. The mixture was then filtered through a 45 μ m filter paper. The solvent in the extract was evaporated with a rotary evaporator (Hei-Vap Precision, Heidolph, Germany), then the extract was kept in a refrigerator at -20°C for further analysis.

2.4 γ -oryzanol and γ -tocopherol determination

The γ -oryzanol and γ -tocopherol contents were simultaneously determined with an RP-HPLC system following the procedure reported in [13]. The determination system consisted of a Shimadzu 2690 Alliance separation module and a Waters 2487 dual wavelength UV/V absorbance detector. Chromatograms were recorded and processed with LC Solution Chromatography Software (Shimadzu, Japan). The extracted crude oil was prepared into a concentration of 30 μ g/ml by using a mobile phase of 47.5% Methanol, 40% Isopropanol, and 12.5% Ethyl acetate. Then, a volume of 20 μ l was injected into an ACE 5 C18 column (250 \times 4.6 mm, ACE, Scotland) which was the stationary phase. The mobile phase flow rate was 1.0 mL/min. The contents were detected with a UV/Vis detector at the wavelengths of 330 nm. The γ -oryzanol concentration was calculated based on the area under the peak standard of known concentration which had been prepared in the range of 0.05-50 μ g/ml. The γ -tocopherol concentration was calculated as same as γ -oryzanol.

2.5 Antioxidant activity assay

The free-radical scavenging activity of the rice bran extract was determined by a DPPH radical assay. An aliquot and a sample solution were adjusted into a 0.2 mm ethanolic solution of DPPH at a ratio of 1:1 (v/v) in a 96-well plate. The well-mixed solution was then incubated for 30 minutes in the dark at room temperature. The absorbance was measured at 517 nm against a blank, using a UV-Vis microplate reader (EMS Reader MF, LabSystems).

The results were expressed as half maximal inhibitory concentration (IC₅₀). A lower value of IC₅₀ indicates a higher antioxidant activity. Percentage of inhibition of the DPPH radical was calculated by the following equation,

$$\% \text{ Inhibition} = \frac{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}}) - (A_{\text{Sample}} - A_{\text{Blank sample}})}{(A_{\text{DPPH}} - A_{\text{Blank DPPH}})} \quad (1)$$

where A_{Sample} is the absorbance of the extract in DPPH solution; A_{Blank Sample} is the absorbance of the extract; A_{DPPH} is the absorbance of the DPPH solution; and A_{Blank DPPH} is the absorbance of the solvent without DPPH.

The IC₅₀ values obtained were compared to high-activity antioxidant standards: Ascorbic acid (Vit C), Trolox and BHT.

2.6 Statistical analysis

All experiments were performed in three replicates, and the mean and standard deviation were calculated. The significant differences between extraction conditions—solvent, temperature and time—were analyzed by one-way ANOVA and Duncan's new multiple range test at a significance level of 95% (p < 0.05).

3. Results and discussion

3.1 Rice bran variety

This section focuses on the reason authors chose to compare an upland rice bran variety Dawk Pa-yom variety (DY) to a conventional variety Dawk-Mali (MA in Thailand). One of the authors' previous research studies has shown that the color of a bran is correlated to its phytochemical content [11, 15]. The two rice bran varieties are quite different in color:

the former is darker and purplish-red while the latter is white. Therefore, the quality and quantity of their nutrient contents should be very different, and they were found to be so as shown in Table 1. The table also shows the color values of the two varieties. As reported in

the literature review, purple bran contains a variety of phytochemicals such as phenolics and flavonoids, which cause it to have a dark red appearance [11, 15]. Specifically, the purple bran's genotypes are correlated with significantly higher TFC, TPC, and oxygen radical absorbance capacity comparing to red rice bran (attributed mainly to its flavonoid content

[11, 15]. As in another example, the amount of γ-oryzanol was discovered to be correlated with yellow bran with pale color.

The amounts of rice bran oil in DY and MA are shown in Figure 2 (a). The amounts of γ-oryzanol and γ-tocopherol in them are shown in Figure 1 (b)-(c). Their IC₅₀ values are shown in Figure 2 (d). The amount of oil in DY (white bar) was found to be higher than that of MA (grey bar) for all extraction temperatures. In addition, the results in Table 2 show positive even when the two varieties were extracted by different solvents at 100°C. It can be observed in Figure 2 (b) and (c) that DY has significantly higher amounts of γ-oryzanol and γ-tocopherol than MA does. The qualities of the extracted oil from the two varieties in terms of antioxidant activity and IC₅₀ value are shown in Figure 2 (d), where a lower IC₅₀ value corresponds to a higher antioxidant activity. According to these activity and value, DY is of higher quality than MA. These results confirm that the higher content of phytochemical compounds in DY bran oil directly correlates with its higher antioxidant activity.

The information above informs that DY is the better source of nutrients, hence the bran from this variety was chosen for examination of using subcritical solvent extraction to get bran oil.

3.2 Effect of solvent type

This section focuses on the effect of different solvent types on the amounts of extracted oil and its contained nutrients in DY. DY is well-known for its higher antioxidant activity of its rice bran oil (as mentioned in the previous section). Table 2 shows DY's amounts of bran oil, γ-oryzanol, γ-tocopherol, and IC₅₀ extracted under the optimum

Table 1 Composition of nutrient in two variety rice bran

Compositions/Varieties	Dawk Mali (MA)	Dawk Pa-yom (DY)
Protein ^A (g/100 g)	11.64±0.15	16.47±0.05
Total fat ^B (g/100 g)	19.22±1.36	21.62±0.05
Moisture ^C (g/100 g)	8.00±0.02	11.17±0.03
Ash ^D (g/100 g)	9.04±0.02	7.6±0.09
Crude fiber ^E (g/100 g)	15.11±0.04	8.11±0.11
Color parameters		
L*	93.42 ±0.18	78.95 ±0.64
a*	7.67 ±0.03	11.79 ±0.13
b*	31.89 ±0.10	29.34 ±0.66

Remark: ^A T058 in-house method based on AOAC (2012) 18, 991.20.
^B AOAC (2012) 18, 922.06.
^C ASEANFOODS (2011) 19, p. 1-2.
^D ASEANFOODS (2011) 19, p. 38-39.
^E AOAC (2012) 18, 978.10, 962.09.

Table 2 Yield of oil, γ-Oryzanol, γ-Tocopherol and IC₅₀ of extract in various solvent types at extraction temperature 100°C 40 minutes

Varieties	Solvent Types	Oil (g/g dried rice bran)	γ-Oryzanol (mg/g dried rice bran)	γ-Tocopherol (mg/g dried rice bran)	IC ₅₀ (mg/ml)
DY	Ethanol	0.29±0.02 ^a	9.18±0.61 ^a	111.92±6.46 ^b	3.87±0.24 ^c
	Methanol	0.32±0.01 ^a	8.67±0.61 ^a	206.86±3.95 ^a	2.13±0.31 ^b
	Water	0.17±0.02 ^b	0.00±0.00 ^b	72.02±1.22 ^c	0.64±0.01 ^a
MA	Ethanol	0.28±0.02 ^x	6.12±0.36 ^x	113.78±2.26 ^y	4.60±0.10 ^z
	Methanol	0.30±0.02 ^x	5.97±0.27 ^x	165.29±1.93 ^x	2.60±0.22 ^y
	Water	0.17±0.00 ^y	0.00±0.00 ^y	57.44±1.92 ^z	0.66±0.01 ^x

Remark a, b, c are symbol of significant in various extraction solvent in DY
 x, y, z are symbol of significant in various extraction solvent in DY

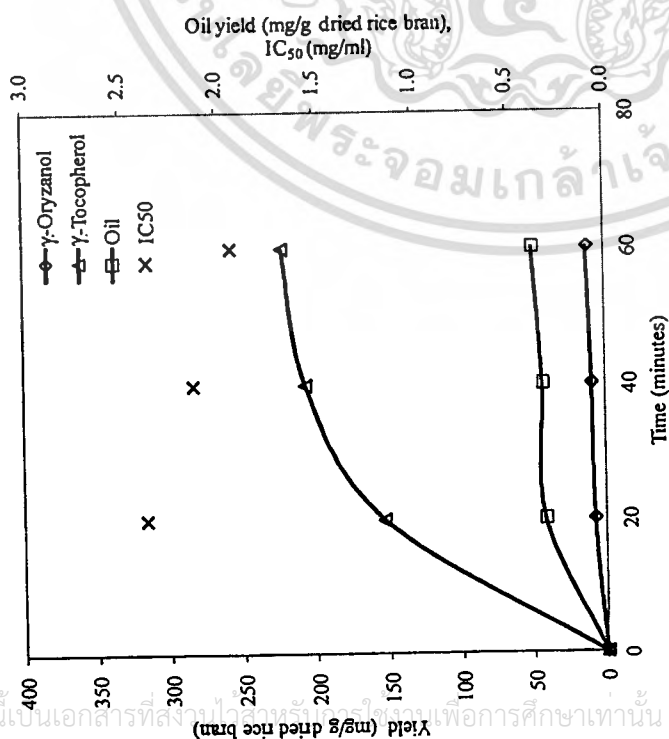


Figure 9 Overall extraction curve of upland rice bran oil under subcritical methanol at 100°C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่าจะวิธีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Table 3 Solvent properties

Solvent types	T (°C)	ρ_v^1	ρ_l^2	ρ_c^3	μ_v^4	μ_l^5	μ_c^6	σ^6	ϵ_r^7
Ethanol	80	1.086	0.757	1.43	0.432	1.03	17.3	24.3 (25°C)	
	100	2.26	0.73	3.41	0.318	1.092	15.5		
	120	4.29	0.71	6.01	0.243	1.157	13.4		
Methanol	80	1.819	0.7355	0.00208	0.271	115	17.5	33.1 (20°C)	
	100	3.731	0.714	0.00398	0.214	123	15.7		
	120	6.551	0.69	0.00714	0.17	130	13.6		
Water	80	0.47359	0.97182	0.2932	0.351	113	62.69	80.4 (20°C)	
	100	1.01325	0.95877	0.5974	0.279	121	58.91	10 (360°C)	
	120	1.9854	0.94339	1.121	0.23	128	54.96		

Remarks: Ethanol: Boiling point = 78.1°C, Critical point = 241°C, 6.3 MPa

Methanol: Boiling point = 64.7°C, Critical point = 240°C, 7.7 MPa

Water: Boiling point = 78.1°C, Critical point = 374°C, 21.3 MPa

Data in table were available from https://www.engineeringtoolbox.com/liquid-dielectric-constants-d_1263.html

¹Saturation pressure (10³ Pa)

²Liquid density (10³kg/m³)

³Vapor density (kg/m³)

⁴Liquid viscosity (10⁻³N·s/m²)

⁵Vapor viscosity (10⁻⁴N·s/m²)

⁶Liquid surface tension (10⁻³N/m)

⁷Dielectric constant



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบสรุปค่าใช้จ่ายการดำเนินโครงการวิจัย

หมวดค่าใช้จ่าย	งบประมาณรวมทั้งโครงการ	ค่าใช้จ่าย (บาท)	คงเหลือ (หรือเกิน)
งบบุคลากร : ค่าจ้างชั่วคราว วุฒิปริญญาตรี เงินเดือน 11,680 บาท 6 เดือน	210,240	70,752	139,488*
งบดำเนินงาน			
ค่าตอบแทน	-	-	-
ค่าใช้สอย	587,000	587,000	0
ค่าวัสดุ	2,202,760	2,202,760	0
ค่าสาธารณูปโภค	-	-	-
งบลงทุน: ค่าครุภัณฑ์	-	-	-
รวม	8,000,000	2,860,512	139,488

หมายเหตุ *รอโอนเงินงวดที่ 4 จำนวน 139,488 บาท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

1. ประวัติ

ชื่อ-สกุล (ไทย)	ดร. ดวงกมล เรือนงาม
(อังกฤษ)	Dr. Duangkamol Ruen-ngam
เพศ หญิง	สถานภาพสมรส
อายุ 36 ปี	ผศ.ดร.
ตำแหน่งปัจจุบัน	
ประวัติการศึกษา	
ปริญญาตรี	ภาควิชาชีวเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปริญญาโท	ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปริญญาเอก	ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
สถานที่ทำงาน	ภาคชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง
จังหวัด กรุงเทพมหานคร	รหัสไปรษณีย์ 10520
โทรศัพท์ 02-329-8400-11 ต่อ 6262	โทรสาร 02-329-8412
โทรศัพท์มือถือ 089-130-9398	email: modeliebe@gmail.com , duangkamol.ru@kmitl.ac.th , duangkamoruen@gmail.com
สาขาวิชาที่เชี่ยวชาญ	
1.	กระบวนการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากสาหร่ายและพืช
2.	กระบวนการภายใต้สภาวะคาร์บอนไดออกไซด์ยวดยิ่ง
3.	กระบวนการภายใต้สภาวะน้ำกึ่งวิกฤต
4.	การออกแบบระบบถังปฏิกรณ์ทางชีวภาพ
5.	การสังเคราะห์ตัวเร่งปฏิกิริยา
ผลงาน	
งานวิจัย	
2550 - 2553	ผู้ช่วยนักวิจัย ห้องปฏิบัติการชีวเคมี ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย หัวข้องานวิจัย: Investigation the effect of salinity on hydrodynamics performance in airlift bioreactor แหล่งทุนวิจัย: ทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต
2552 - 2553	นักวิจัยแลกเปลี่ยน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศูนย์วิจัยไฟฟ้าชีวภาพ ภาควิชาเคมีประยุกต์และชีวเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยคุมาโมโตะ เมืองคุมาโมโตะ ประเทศญี่ปุ่น

หัวข้องานวิจัย: Extraction of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*

แหล่งทุนวิจัย: ทุนโครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก รุ่น 10 จาก สกว.

2553 - 2554

นักวิจัยหลังปริญญาเอก

ศูนย์วิจัยไฟฟ้าชีวภาพ ภาควิชาเคมีประยุกต์และชีวเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
มหาวิทยาลัยคุมาโมโตะ เมืองคุมาโมโตะ ประเทศญี่ปุ่น

แหล่งทุนวิจัย: มหาวิทยาลัยคุมาโมโตะ

2555 มกราคม 9 – 10 Science Camp @Science Park ค่ายโครงการจุฬารัตน์ รุ่น 2-1 ปี 2555

เป็นผู้บรรยายร่วมกับ รศ. ดร. อาทิวรรณ โชติพิฤกษ์ ภายใต้หัวข้อ “การสืบค้นข้อมูล”

ผลงานตีพิมพ์ในระดับนานาชาติ

1. Duangkamol Ruen-ngam, Porntip Wongsuchoto, Apiradee Limpanuphap, Tawatchai Charinpanitkul, Prasert Pavasant, *Influence of salinity on bubble size distribution and gas-liquid mass transfer in airlift contactors*, **Chemical Engineering Journal** 141 (2008) 222–232 (Impact factor = 3.461)
2. Duangkamol Ruen-ngam, Doungmanee Rungsuk, Ronbanchob Apiratikuland Prasert Pavasant, *Zeolite Formation from Coal Fly Ash and its Adsorption Potential*, **Journal of the Air & Waste Management association** 59 (2009) 1140-7 (Impact factor = 1.517)
3. Duangkamol Ruen-ngam, Artiwan Shotipruk and Prasert Pavasant, *Comparison of Extraction Methods for Recovery of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis**, **Separation Science and Technology** 46(2011) 1-7 (Impact factor = 1.088)
4. Duangkamol Ruen-ngam, Artiwan Shotipruk, Prasert Pavasant, Siti Machmudah, and Motonobu Goto, *Selective Extraction of Lutein from Alcohol-treated *Chlorella vulgaris* by Supercritical Carbon Dioxide*, **Chemical Engineering & Technology** 35 (2012) 255-260 (Impact factor = 1.598)
5. Duangkamol Ruen-ngam, Armando T. Quitain, Mitsuru Sasaki, and Motonobu Goto. *Hydrothermal Hydrolysis of Hesperidin Into More Valuable Compounds Under Supercritical Carbon Dioxide Condition*, **Industrial & Engineering Chemistry Research** 51 (2012) 13545-13551. (Impact factor = 2.237)
6. Duangkamol Ruen-ngam, Armando T. Quitain, Masahiro Tanaka, Mitsuru Sasaki, and Motonobu Goto. *Reaction Kinetics of Hydrothermal Hydrolysis of Hesperidin Into More Valuable Compounds Under Supercritical Carbon Dioxide Conditions*, **Journal of Supercritical fluid** 66 (2012) 215-220. (Impact factor = 2.860)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. Duangkamol Ruen-ngam*, Chitti Thawai, Sujitra Sukonthamut. Pretreatment processes of rice bran for increasing yield of γ -oryzanol in rice bran oil and its antioxidant activity, *ScienceAsia- Journal of The Science Society of Thailand* 42 (2016) 75-82.
8. Ekarat Detsri*, Kanrayasiri Kamhoma and Duangkamol Ruen-ngam, 2016. *Layer-by-layer deposition of green synthesised silver nanoparticles on polyester air filters and its antimicrobial activity*, *Journal of Experimental Nanoscience*, 11, pp. 930-939.
9. Duangkamol Ruen-ngam, and Pongsiri Jaruyanon, *New Batch and Continuous systems for converting Hydrogen from Water Hyacinth*, *Chemical Engineering Communications*, 205(10), 2018, 1384-1396. DOI: 10.1080/00986445.2018.1451992
10. Duangkamol Ruen-ngam*, Chitti Tawai, Sujitra Sukonthamut, Raumjit Nokkoul, Sarin Tadtong, (2018) Evaluation of nutrient content and antioxidant, neuritogenic, and neuroprotective activities of upland rice bran oil. *ScienceAsia- Journal of The Science Society of Thailand*, 4(4), 2018, 257-267.

การนำเสนอผลงานวิจัยในระดับนานาชาติ

1. Duangkamol Ruen-ngam, Apiradee Limpanuphap, Porntip Wongsuchoto and Prasert Pavasant, Influence of Salinity on Gas-Liquid Mass Transfer in Airlift Contactors with Annulus Sparger, *The 13rd Regional Symposium on Chemical Engineering, RSCE, Nanyang, Singapore, 3-5 December 2006* (Oral presentation)
2. Duangkamol Ruen-ngam, Artiwan Shotiprukand Prasert Pavasant, Alternative Extraction Method of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis*, *International COE Forum on Pulsed Power Engineering and young Researcher Training Camp*, Kumamoto, Japan, 14-16 September 2009 (Short Oral presentation+Poster presentation)
3. Duangkamol Ruen-ngam, Siti Machmudah, Motonobu Goto, Mitsuru Sasaki, Artiwan Shotipruk and Prasert Pavasant, Solubility Consideration in Extraction of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using Supercritical Carbon dioxide, *International Conference on Supergreen Fluid (Supergreen 2009)*, Sendai, Japan, 15-17 October 2009 (Poster presentation)
4. Duangkamol Ruen-ngam, Siti Machmudah, Motonobu Goto, Mitsuru Sasaki, Artiwan Shotipruk and Prasert Pavasant, Solubility Consideration in Extraction of Astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* using Supercritical carbon dioxide, *Asia*

- Pacific Biochemical Engineering Conference 2009 (APBioChEC'09), Kobe, Japan, 24-28 November 2009 (Oral presentation)
5. Duangkamol Ruen-ngam, Siti Machmudah, Motonobu Goto, Mitsuru Sasaki, Artiwan Shotipruk and Prasert Pavasant, Solubility Consideration in Extraction of Astaxanthin from Haematococcus pluvialis using Supercritical carbon dioxide, **The 22nd International Symposium on Chemical Engineering**, Daejeon, Korea, 4-6 December 2009 (Oral presentation)
 6. Duangkamol Ruen-ngam, Siti Machmudah, Motonobu Goto, Mitsuru Sasaki, Artiwan Shotipruk and Prasert Pavasant, Value Compounds Extraction from modified *Chlorella vulgaris* by Supercritical carbon dioxide, **The 5th International Symposium on Application of Supercritical Fluids in Green Chemistry and Material Science**, Taipei, Taiwan, March 7-10, 2010 (Oral presentation) (**Best Presentation Award**)
 7. Duangkamol Ruen-ngam, Siti Machmudah, Motonobu Goto, Mitsuru Sasaki, Artiwan Shotipruk and Prasert Pavasant, **Selective** Extraction of Lutein from *Chlorella vulgaris* with Supercritical carbon dioxide, Society Chemical Engineering Japan, **The Society of Chemical Engineers, Japan, SCEJ 75th Annual meeting**, Kagoshima, Japan, 19-23 March 2010 (Oral presentation)
 8. Duangkamol Ruen-ngam, Motonobu Goto, Artiwan Shotipruk, and Prasert Pavasant, Dynamic Method for the determination of solubility of astaxanthin during the high pressure extraction from *Haematococcus pluvialis* using supercritical carbon dioxide, **RGJ-Ph.D. Congress XI, Chonburi**, Thailand 1-3 April 2010 (Poster Presentation, Proceeding paper)
 9. Duangkamol Ruen-ngam, Motonobu Goto, Artiwan Shotipruk, and Prasert Pavasant, Solubility of Lutein from Alcohol Modified *Chlorella vulgaris* in Supercritical Carbon dioxide, **2011 Annual Meeting of Separation Technology (分離技術会 年会 2011, Bunringijutsukai_nenkai 2011)**, Tokyo, Japan, 3-5 June 2011 (Oral Presentation, Proceeding paper)
 10. Duangkamol Ruen-ngam, Motonobu Goto, Artiwan Shotipruk, and Prasert Pavasant, Supercritical CO₂ Extraction of Lutein from *Chlorella vulgaris* with Pretreatment alcohol, **2011 Annual Meeting of Separation Technology (分離技術会 年会 2011, Bunringijutsukai_nenkai 2011)**, Tokyo, Japan, 3-5 June 2011 (Poster Presentation, Proceeding paper)
 11. Duangkamol Ruen-ngam, Armando T. Quitain, Mitsuru Sasaki, Motonobu Goto, Controlled Hydrothermal Hydrolysis of Hesperidin to Hesperetin- β -Glucoside

- Catalyzed by Supercritical Carbon Dioxide, **Super Green 2011, The 7th International Conference on Supercritical Fluids**, Beijing, China, Aug. 26-29, 2011 (Oral presentation)
12. Duangkamol Ruen-ngam, Artiwan Shotipruk, Motonobu Goto, and Prasert Pavasant, Solubility of Astaxanthin in Supercritical Carbon Dioxide and Extraction Efficiency of Astaxanthin Extraction from *H. pluvialis*, **13th European Meeting on Supercritical Fluids**, The Hague, Netherland, Oct. 9-13, 2011 (Poster presentation, Proceeding paper)
 13. Duangkamol Ruen-ngam, Armando T. Quitain, Mitsuru Sasaki and Motonobu Goto, Optimization of Hydrothermal Hydrolysis of Hesperidin with Supercritical Carbon Dioxide, **ICSST11, The 9th International Conference on Separation Science and Technology**, Jeju, Korea, Nov. 3-5, 2011 (Poster presentation, Proceeding paper)
 14. Duangkamol Ruen-ngam, Apiradee Limpanuphap, Porntip Wongsuchoto and Prasert Pavasant, Bubble size distribution and mass transfer in airlift Contactors Operated with Saline, **The 1st KU-Kamphaensaen Conferences 2004**, NakhonPathom, Thailand, 7-9 Dec. 2004 (Oral presentation)
 15. Duangkamol Ruen-ngam*, Chitti Tawai, Supakit Chaiteerapatarapong, *HPLC condition for analysis of gamma oryzanol in upland rice bran crude oil*, **1st Joint ACS AGFD – ACS ICST Symposium on Agricultural and Food Chemistry**, Bangkok, Thailand, 4-5 March 2014 (Poster presentation)
 16. Duangkamol Ruen-ngam*, Chitti Thawai, Raumjit Nokkoul, and Sujitra Sukonthamut, *Gamma-Oryzanol Extraction from Upland Rice Bran*, **ICABB, International Conference on Advance in Bioscience and Bioengineering**, Sydney, Australia, 27-28 May 2014 (Oral presentation) *IJBB, International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, ISSN 2010-3638, vol. 4, No. 4, July 2014, pp. 252-255.
 17. Duangkamol Ruen-ngam*, Pongsiri Jaruyanon, *Hydrogen Production from Water Hyacinth under Hydrothermal Treatment: Experimental Section*, **STISWB VI 2014, The 6th International Conference on Science, Technology and Innovation for Sustainable Well-Being**, Siem Reap, Kingdom of Cambodia, 28-30 August 2014 (Oral presentation)
 18. Duangkamol Ruen-ngam*, Pongsiri Jaruyanon, *Water hyacinth Conversion under supercritical water in continuous pilot plant*, **ISSF 2015, 11th International Symposium on Supercritical Fluids Incorporating with Supergreen 2015**, October 11-14, 2015, Seoul, Republic of Korea. (Oral presentation)

19. Kittisak Khuwaranyu* and Duangkamol Ruen-ngam, *Survey Research on the Use of Energy Saving Household Equipment and Home Appliances in Nakhon Pathom Province*, **STISWB VI 2014, The 6th International Conference on Science, Technology and Innovation for Sustainable Well-Being**, Siem Reap, Kingdom of Cambodia, 28-30 August 2014. (Oral presentation) (Proceeding) (Oral presentation)
20. Duangkamol Ruen-ngam*, *Effects of Drying conditions on Amount of Gac Antioxidant Compounds and Its Activities*, **ISBB 2014, The 12th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology**, Chumphon Province, Thailand, 11-13 December 2014. (Poster presentation) (Proceeding) (Poster presentation)
21. Vanapron Sae-ang, Chitti Tawai, Duangkamol Ruen-ngam*, *Microwave Pretreatment for Lipase Retardation in Rice Bran*, **ISBB 2014, The 12th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology**, Chumphon Province, Thailand, 11-13 December 2014. (Proceeding) (Oral presentation)
22. Supakit Chaiteerapatarapong, Chitti Tawai, Duangkamol Ruen-ngam*, *Alternative Extraction Methods for Oil with High Antioxidant Activity from Upland Rice Bran*, **ISBB 2014, The 12th International Symposium on Biocontrol and Biotechnology**, Chumphon Province, Thailand, 11-13 December 2014. (Proceeding) (Oral presentation)
23. Vanapron Sae-ang, Chitti Tawai, Raumjit Nokkoul, Duangkamol Ruen-ngam*, *Antioxidant Determination of Nang Dam Upland Rice Bran Oil by DPPH Assay*, **ISAT2015, The 2nd International Symposium on Agricultural Technology**, Pattaya, Thailand, 1-3 July 2015. (Proceeding) (Poster presentation)
24. Kittisak Khuwaranyu* and Duangkamol Ruen-ngam, *Cost estimation of a case study in how to apply sugar manufacturing industry for ISO 50001*, **STISWB VII, The 7th International Conference on Science, Technology and Innovation for Sustainable Well-Being**, Nakhon Pathom-Phetburi, Thailand, 30 July - 2 August, 2015, 356-363. (Proceeding) (Oral presentation)
25. Vanapron Sae-ang, Chitti Tawai, Raumjit Nokkoul, Duangkamol Ruen-ngam*, *Evaluation of antioxidant activity of Khem-ngeen rice bran oil By ABTS •+ Assay Measurement*, **TSB 2015, The 27th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference**, Bangkok, Thailand, 17-20 November 2015, 524-530. (Proceeding) (Poster presentation)
26. Kittisak Khuwaranyu* and Duangkamol Ruen-ngam, *Factors Affecting Customer in Purchasing Hybrid Electric Cars in Nakhon Pathom Province*, **The 8th International Conference on Science, Technology and Innovation for**

- Sustainable Well-Being (STISWB VIII), Yangon, Myanmar, 15–17 June, 2016, 297-303. (Proceeding) (Oral presentation) **(BEST PAPER AWARD)**
27. P.C. Mandal, N.F.B. Salleh and D. Ruen-ngam, *Total Acid Number Reduction of Naphthenic Acids Using Ionic Liquid Assisted Hot Water*, **ICIPEG 2016, 4th International Conference on Integrated Petroleum Engineering and Geosciences**, 15-17 August 2016, Kuala Lumpur, Malaysia, Proceedings of the International Conference on Integrated Petroleum Engineering and Geosciences, 697-707, ©Springer Nature Singapore Pte Ltd., DOI 10.1007/978-981-10-3650-7_60.
28. Tharin Wadeng, Chitti Thawai, Sujitra Sukonthamut, Raumjit Nokkoul and Duangkamol Ruen-ngam*, *Comparison of Rice Bran Oil Recovery, γ -Oryzanol and antioxidant Activities of Upland Rice Bran*, **TSB 2016, The 28th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference, National Resources&Bio-based Innovative Products**, The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand, 28-30 November 2016 (Proceeding) (Poster presentation)
29. Duangkamol Ruen-ngam, *Extraction of Thai Rice*, 5th International Food R&D Brokerage Event, **25 May 2017, Izmir, Turkey. by Aegean Exporters Association (AEA) (Invited Speaker)**
30. Kittisak Khuwaranyu* and Duangkamol Ruen-ngam, *The Effect of Knowledge and Attitude of Merchants towards Energy Saving in Fresh Market of Nakhon Pathom province, Thailand*, **The 9th International Conference on Science, Technology and Innovation for Sustainable Well-Being (STISWB VIII)**, Kunming, China, 26–28 June, 2017, 658-663 (Proceeding) (Oral presentation)
31. Duangkamol Ruen-ngam*, *Optimum Condition for Nitrate Content in Scenedesmus armatus Cultivation for Biodiesel Production*, **TSB 2017, The 29th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology and International Conference, Frontier in applied Biotechnology**, Swissotel Le Concorde hotel, Bangkok, Thailand, 23-25 November, 2017, (Proceeding) (Poster presentation)

งานวิจัย

ด้านสิ่งแวดล้อม

1. ทุนวิจัยร่วมสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ร่วมกับสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.)
ชื่อโครงการ “การวิเคราะห์นโยบายที่เหมาะสมเพื่อการจัดการยางล้อยานยนต์ใช้แล้วของประเทศ
ไทย”

คณะผู้ดำเนินงาน รศ.ดร.ประเสริฐ ภาสันต์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (หัวหน้าโครงการ)
ตำแหน่ง ผู้ประสานงานโครงการฯ
แหล่งทุน ทุนวิจัยร่วมสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.) ร่วมกับสำนักงานกองทุน
สนับสนุนการวิจัย (สกว.)

ปีงบประมาณ 2555

2. ทุนภายใต้ค่าใช้จ่ายในการบริหารจัดการกากอุตสาหกรรมและการใช้ประโยชน์กากอุตสาหกรรม

ชื่อโครงการ “โครงการจัดทำระบบฐานข้อมูลเอกลักษณ์ของกากอุตสาหกรรม (Waste Fingerprint)”

คณะผู้ดำเนินงาน รศ.ดร.ประเสริฐ ภาสันต์ ภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (หัวหน้าโครงการ)

ตำแหน่ง ผู้ประสานงานโครงการฯ

แหล่งทุน กระทรวงอุตสาหกรรม สำนักงานจัดการของเสียอันตราย

ปีงบประมาณ 2555

ด้านเทคโนโลยีชีวภาพ

1. ทุนพัฒนาพัฒนาากลุ่มและเครือข่ายวิจัย สจล.

ชื่อโครงการ “การผลิตสารที่ใช้เป็นส่วนประกอบทางเวชสำอางและผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและการ
พัฒนากระบวนการสกัดสารแกมมาออโรซานอลจากรำข้าวไร้”

คณะผู้ดำเนินการ ดร.ดวงกมล เรืองงาม (ผู้อำนวยการโครงการ) และคณาจารย์ประจำคณะ
วิทยาศาสตร์ สจล.

แหล่งทุน กองทุนวิจัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร

ลาดกระบัง

ปีงบประมาณ 2556

งบประมาณ บาท

ปีที่แล้วเสร็จ 2560

2. ทุนงบประมาณรายได้ของคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

ชื่อโครงการ “การคัดเลือกสายพันธุ์สาหร่ายที่ผลิตสารต้านอนุมูลอิสระได้ประสิทธิภาพสูง”

คณะผู้ดำเนินการ ดร.ดวงกมล เรืองงาม (ผู้อำนวยการโครงการ)

แหล่งทุน ทุนงบประมาณรายได้ของคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

ปีงบประมาณ 2556

งบประมาณ บาท

ปีที่แล้วเสร็จ 2557

3. ทุนงบประมาณรายได้ของคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

ชื่อโครงการ “การพัฒนาผลิตภัณฑ์บำรุงผิวที่มีส่วนผสมของสารสกัดที่มีฤทธิ์ชีวภาพและการ
ประเมินปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระจากข้าวไทย”

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะผู้ดำเนินการ ดร.ดวงกมล เรือนงาม (นักวิจัยร่วม) และคณาจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

แหล่งทุน ทุนงบประมาณรายได้ของคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

ปีงบประมาณ 2556

งบประมาณ บาท

ปีที่แล้วเสร็จ 2557

4. ทุนงบประมาณรายได้ของคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

ชื่อโครงการ “ผลของไนเตรทในการเพาะเลี้ยงสาหร่ายที่มีผลต่อการผลิตไบโอดีเซล”

คณะผู้ดำเนินการ ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม (ผู้อำนวยการโครงการ)

แหล่งทุน ทุนงบประมาณรายได้ของคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

ปีงบประมาณ 2560

งบประมาณ บาท

ปีที่แล้วเสร็จ 2560

5. ทุนงบประมาณรายได้ของคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

ชื่อโครงการ “การคัดเลือกสายพันธุ์แบคทีเรียที่ผลิตสารสีที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ”

คณะผู้ดำเนินการ ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม (ผู้อำนวยการโครงการ) คณาจารย์ประจำคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

แหล่งทุน ทุนงบประมาณรายได้ของคณะวิทยาศาสตร์ สจล.

ปีงบประมาณ 2560

งบประมาณ บาท

ปีที่แล้วเสร็จ 2560

6. ทุนจากแหล่งภายนอก

ชื่อโครงการวิจัย การคัดแยกสายพันธุ์ เพาะเลี้ยงสาหร่ายเพื่อให้ได้ปริมาณลูทีนที่สูง

คณะผู้ดำเนินการ ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม (ผู้อำนวยการโครงการ)

แหล่งทุน บริษัท มาลี แอปพลายด์ ไชเอ็นซ์ จำกัด

ปีงบประมาณ 2560

งบประมาณ บาท

ปีที่แล้วเสร็จ 2561

ด้านพลังงาน

1. ทุนสนับสนุน กองทุนเพื่อส่งเสริมการอนุรักษ์พลังงาน แผนพลังงานทดแทน (กลุ่มงานคั่นคว่ำ วิจัยศึกษาเพื่อการพัฒนาและส่งเสริม)

ชื่อโครงการ “โครงการวิจัยและพัฒนาการผลิตพลังงานจากชีวมวลความชื้นสูง”

คณะดำเนินการ ดร.ดวงกมล เรือนงาม (ที่ปรึกษา) และคณาจารย์ภาควิชาเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุน กระทรวงพลังงาน

ปีงบประมาณ 2556

งบประมาณ บาท

ปีที่แล้วเสร็จ

2. ทุนสนับสนุน กองทุนเพื่อส่งเสริมการอนุรักษ์พลังงาน แผนพลังงานทดแทน (กลุ่มงานคั่นคว่ำ วิจัยศึกษาเพื่อการพัฒนาและส่งเสริม)

ชื่อโครงการ “โครงการมาตรฐานชีวมวล”

คณะดำเนินการ ผศ. ดร.ดวงกมล เรือนงาม (ที่ปรึกษา) และคณาจารย์ภาควิชาเครื่องกล คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร

แหล่งทุน กระทรวงพลังงาน

ปีงบประมาณ 2561

งบประมาณ บาท

ปีที่แล้วเสร็จ

ประกาศนียบัตร

1. ได้รับทุนในระดับปริญญาเอกจาก “โครงการปริญญาเอกกาญจนาภิเษก (คปก.)” รุ่นที่ 10 ของสำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัย (TRF)
2. ได้รับทุนจากมหาวิทยาลัยคุมาโมโตะ เมืองคุมาโมโตะ ประเทศญี่ปุ่นในฐานะนักเรียนแลกเปลี่ยน
3. ได้รับใบประกาศ “การนำเสนองานยอดเยี่ยม” จากงานสัมมนาทางวิชาการในระดับนานาชาติ ครั้งที่ 5 เรื่อง “การประยุกต์ใช้ของเหลววิกฤตยิ่งยวดในทางเคมีและวัสดุศาสตร์” ที่จัดขึ้น ณ เมืองไทเป ประเทศไต้หวัน
4. ได้รับใบประกาศ จากการอบรมความปลอดภัยในห้องห้องปฏิบัติการ ครั้งที่ 2 ประจำปี 2553 จัดโดยศูนย์ความเป็นเลิศด้านการจัดการสารและของเสียอันตรายจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ประวัติ

ชื่อ-สกุล นายจิตติ ท่าไผ่

หน้าที่การงานปัจจุบัน อาจารย์

ตำแหน่ง รศ.รองศาสตราจารย์

ประวัติการศึกษาสูงสุด

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วท.ค.	เภสัชเคมีและผลิตภัณฑ์ ธรรมชาติ	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2547
วท.บ.	เทคโนโลยีชีวภาพ (เกียรติ นิยม)	สจล.	2542

สถานที่ติดต่อ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

โทรศัพท์ 02-3298400-11 ต่อ 235 โทรสาร 02-3298412

E-mail: ktchitti@kmitl.ac.th, ktchitti@gmail.com

ประสบการณ์วิจัยหรือสาขาที่ชำนาญการหรืองานวิจัยของเชื้อแอกติโนมัยสัท และ การศึกษาสารทุติยภูมิ
ของเชื้อแอกติโนมัยสัท

ผลงาน

1. งานวิจัย

1. ทนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่

ชื่อโครงการ “ความหลากหลายทางชีวภาพและฤทธิ์ทางชีวภาพของแอกติโนมัยสัทที่หายากจากดิน
ป่าชายเลนฝั่งทะเลอันดามัน”

คณะผู้ดำเนินการ ดร.จิตติ ท่าไผ่ แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(สกว.)

ปีงบประมาณ 2548

ประเภททุน วิจัยพื้นฐาน

งบประมาณ 480,000 บาท

ปีที่แล้วเสร็จ 2550

2. ทนพัฒนาศักยภาพในการทำงานวิจัยของอาจารย์รุ่นใหม่

ชื่อโครงการ “การคัดเลือกเชื้อแอกติโนมัยสัทที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะและอนุกรมวิธาน
ของแอกติโนมัยสัทที่แยกจากดินภูเขาทางภาคตะวันตกและดินป่าชายเลน”

คณะผู้ดำเนินการ ดร.จิตติ ท่าไผ่ แหล่งทุน สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย
(สกว.)

ปีงบประมาณ 2550

ประเภททุน วิจัยพื้นฐาน

งบประมาณ 480,000 บาท

ปีที่แล้วเสร็จ 2552

3. ทุนงบประมาณแผ่นดิน (วช.)

ชื่อโครงการ “อนุกรมวิธานและสารทุติยภูมิของเชื้อแอกติโนมัยสัทจากดินพื้นที่พรุเขตอบอุ่นและ
ดินป่าพรุของประเทศไทย” (ทุนวิจัย 2 ปี)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะผู้ดำเนินการ ดร.จิตติ ท่าไฉ่ แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
(ทุน วช.)

ปีงบประมาณ 2549-2551 ประเภททุน วิจัยประยุกต์

งบประมาณ 400,000 บาท ปีที่แล้วเสร็จ 2551

4. ทุนรายได้คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ชื่อโครงการ “การแยกและฤทธิ์ด้านจุลินทรีย์ของเชื้อแอคติโนมัยซีท์ที่แยกได้จากดิน”

คณะผู้ดำเนินการ ดร.จิตติ ท่าไฉ่ แหล่งทุน คณะวิทยาศาสตร์สจล.

ปีงบประมาณ 2550 ประเภททุน วิจัยพื้นฐาน

งบประมาณ 50,000 บาท ปีที่แล้วเสร็จ 2551

5. ทุนโครงการเครือข่ายการวิจัยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากทรัพยากรชีวภาพของประเทศไทย
(โครงการ BRN)

ชื่อโครงการ “การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีท์ที่สามารถสร้างสารปฏิชีวนะจากดินและดินตะกอนใต้
ฝั่งทะเลอันดามัน”

คณะผู้ดำเนินการ ดร.จิตติ ท่าไฉ่ แหล่งทุน สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.)

ปีงบประมาณ 2549 ประเภททุน วิจัยพื้นฐาน

งบประมาณ 100,000 บาท ปีที่แล้วเสร็จ 2550

6. ทุนพัฒนานักวิจัย กองทุนวิจัย สจล.

ชื่อโครงการ “อนุกรมวิธานของเชื้อแอคติโนมัยซีท์ทางทะเลที่ผลิตสารปฏิชีวนะและสารทุติยภูมิ
ของเชื้อไอโซเลตที่
คัดเลือก”

คณะผู้ดำเนินการ ผศ.ดร.จิตติ ท่าไฉ่ แหล่งทุน กองทุนวิจัย สจล.

ปีงบประมาณ 2553 ประเภททุน วิจัยพื้นฐาน

งบประมาณ 800,000 บาท ปีที่แล้วเสร็จ 2555

7. ทุนพัฒนานักวิจัย กองทุนวิจัย สจล.

ชื่อโครงการ “การแยก ตรวจสอบลักษณะ และการตรวจสอบองค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของเชื้อ
แอคติโนมัยซีท์ที่แยกจากดินบริเวณน้ำพุร้อน”

คณะผู้ดำเนินการ ผศ.ดร.จิตติ ท่าไฉ่ แหล่งทุน กองทุนวิจัย สจล.

ปีงบประมาณ 2554 ประเภททุน วิจัยพื้นฐาน

งบประมาณ 480,000 บาท ปีที่แล้วเสร็จ 2555

8. ทุนงบประมาณแผ่นดิน (วช.)

ชื่อโครงการ “แอคติโนมัยซีท์ที่ส่งเสริมการเจริญของพืชและลักษณะทางอนุกรมวิธานของเชื้อ
เหล่านั้น”

คณะผู้ดำเนินการ ผศ.ดร.จิตติ ท่าไฉ่ แหล่งทุน สำนักงานคณะกรรมการวิจัย
แห่งชาติ (ทุน วช.)

A, a Novel 24-Membered Polyene Lactam Macrolide from *Micromonospora* sp. isolated from Peat Swamp Forest. **Chemistry and Biodiversity**. vol. 1, 640-645. (มี impact factor = 1.6)

2. Thawai, C., Tanasupawat, S., Itoh, T., Suwanborirux, K., and Kudo, T. 2004. *Micromonospora aurantinigra* sp. nov., isolated from a Peat Swamp Forest in Thailand. **Actinomycetologica**. vol. 18 no.1, 8-14.

3. Seearunruangchai, A., Tanasupawat, S., Keeratipibul, S., Thawai, C., Itoh, T., Yamada, Y. 2004. Identification of acetic acid bacteria isolated from fruits collected in Thailand. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 50, 47-53. (มี impact factor = 0.9)

4. Tanasupawat, S., Thawai, C., Yukphan, P., Moonmangmee, D., Itoh, T., Adachi, O., and Yamada, Y. 2004. *Gluconobacter thailandicus* sp. nov., an acetic acid bacterium in the *α-Proteobacteriua*. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 50: 159-167. (มี impact factor = 0.9)

5. Thawai, C., Tanasupawat, S., Itoh, T., Suwanborirux, K., Suzuki, K., and Kudo, T. 2005. *Micromonospora eburnea* sp. nov., isolated from Thai peat swamp forest. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 55: 417-422 (มี impact factor = 3.18)

6. Thawai, C., Tanasupawat, S., Itoh, T., Suwanborirux, K., and Kudo, T. 2005. *Micromonospora siamensis* sp. nov., isolated from Thai peat swamp forest. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 51: 229-234. (มี impact factor = 0.9)

7. Thawai, C., Tanasupawat, S., Itoh, T. and Kudo, T. 2006. *Actinocatenispora* gen. nov., a new member of the family *Micromonosporaceae*, with description of *Actinocatenispora thailandica* sp. nov. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 56: 1789-1794. (มี impact factor = 2.3)

8. Tanasupawat, S., Pakdeeto, A., Namwong, S., Thawai, C., Kudo, T., and Itoh, T. 2006. *Lentibacillus halophilus* sp. nov., from fish sauce in Thailand. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 56: 1859-1863. (มี impact factor = 2.3)

9. Pakdeeto, A., Tanasupawat, S., Thawai, C., Moonmangmee, S., Kudo, T., and Itoh, T. 2007. *Lentibacillus kapialis* sp. nov., from fermented shrimp paste in Thailand. **Int. J. Syst. Evol. Microbiol.** 57: 364-369. (มี impact factor = 2.3)

10. Tanasupawat, S., Pakdeeto, A., Thawai, C., Yukphan, P., and Okada, S. 2007. Identification of lactic acid bacteria from fermented tea leaves (miang) in Thailand and proposals of *Lactobacillus thailandensis* sp. nov., *Lactobacillus camelliae* sp. nov., and *Pediococcus siamensis* sp. nov. **J. Gen. Appl. Microbiol.** 53, 7-15. (มี impact factor = 0.9)

11. Pakdeeto, A., Tanasupawat, S., **Thawai, C.**, Moonmangmee, S., Kudo, T., and Itoh, T. **2007.***Salinicoccus siamensis* sp. nov., isolated from fermented shrimp paste in Thailand. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 57: 2004-2008. (มี impact factor = 2.3)
12. **Thawai, C.**, Tanasupawat, S., Suwanborirux, K., Itoh, T and Kudo, T. **2007.***Micromonospora narathiwatensis* sp. nov., from Thai peat swamp forest soils. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 53, 287-293. (มี impact factor = 0.9)
13. **Thawai, C.**, Tanasupawat, S. and Kudo, T. **2008.***Micromonospora pattaloongensis* sp. nov., isolated from a Thai mangrove forest. *Int J Syst Evol Microbiol.* 58: 1516 - 1521. (มี impact factor = 2.3)
14. Suriyachadkun, C., Chunhametha, S., **Thawai, C.**, Tamura, T., Potacharoen, W., Kirtikara, K. and Sanglier, J. J. **2009.***Planotetraspora thailandica* sp. Nov., isolated from soil in Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol.* 59, 992-997. (มี impact factor = 2.3)
15. Chiaraphongphon, S., Suriyachadkun, C., Tamura, T., and **Thawai, C.** **2009.***Dactylosporangium maewongense* sp. nov., isolated from a Thai soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 60, 1200-1205. (มี impact factor = 2.3)
16. Suriyachadkun, C., Chunhametha, S., **Thawai, C.**, Tamura, T., Potacharoen, W., Kirtikara, K., Sanglier, J. J. and Kitpreechavanich, V. **2010.***Planotetraspora kaengkrachanensis* sp. nov. and *Planotetraspora phitsanulokensis* sp. nov., isolated from soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 60, 2076-2081. (มี impact factor = 2.1)
17. **Thawai, C.**, Tanasupawat, S. and Kudo, T. **2010.** *Actinaurispora* gen. nov., a new member of the family *Micromonosporaceae*, with description of *Actinaurispora siamensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 60, 1660-1666. (มี impact factor = 2.1)
18. **Thawai, C.**, Tanasupawat, S. and Kudo, T. **2011.** *Agromyces tropicus* sp. nov., isolated from a thai soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 61, 605-609. (มี impact factor = 2.1)
19. Songsumanus, A., Tanasupawat, S., **Thawai, C.**, Suwanborirux, K. and Kudo, T. **2011.***Micromonospora humi* sp. nov., isolated from Thai peat swamp forest soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 61, 1176-1181. (มี impact factor = 2.1)
20. Tanasupawat, s., Thongsanit, J., **Thawai, C.**, Lee, K. C. and Lee, J. S. **2011.***Pisciglobus halotolerans* gen. nov., sp. nov., isolated from fish sauce. *Int J Syst Evol Microbiol.* 61, 1688-1692.
21. **Thawai, C.**, Tanasupawat, S. and Kudo, T. **2011.***Dactylosporangium tropicum* sp. nov., isolated from a Thai soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 61, 2358-2362.
22. **Thawai, C.**, and Kudo, T. **2012.***Promicromonospora thailandica* sp. nov., isolated from a marine sediment of Andaman sea. *Int J Syst Evol Microbiol.* 62, 2140-2144.

23. Supong, K., Thawai, C., Suwanborirux, K., Choowong, W., Supothina, S., Pittayakhajonwut, P. 2012. Antimalarial and antitubercular C-glycosylated benz[a]anthraquinones from the marine-derived *Streptomyces* sp. BCC45596. *Phytochemistry Letters*. 5, 651-656.
24. Niemhom, N., Suriyachadkun, C., Tamura, T. and Thawai, C. 2013. *Asanoa siamensis* sp. nov., isolated from a temperate peat swamp forest soil in Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol.* 63:66-71.
25. Supong, K., Suriyachadkun, C., Tanasupawat, S., Suwanborirux, K., Pittayakhajonwut, P., Kudo, T. and Thawai, C. 2012. *Micromonospora sediminicola* sp. nov., isolated from a marine sediment of the Andaman Sea of Thailand. *Int J Syst Evol Microbiol.* 63:570-575.
26. Thawai, C., Thamsathit, W. and Kudo, T. 2012. *Planosporangium thailandense* sp. nov., isolated from a Thai hot spring soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* (In press, doi:10.1099/ijs.0.043539-0)
- 2.3 ผลงานที่ได้รับการอ้างอิงในวงวิชาการ (จำแนกระดับชาติและระดับนานาชาติหรือเทียบเท่า)**
1. Thawai, C., Tanasupawat, S., Itoh, T. and Kudo, T. 2006. *Actinocatenispora* gen. nov., a new member of the family *Micromonosporaceae*, with description of *Actinocatenispora thailandica* sp. nov. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 56: 1789-1794. (มี impact factor = 2.3)
2. Thawai, C., Tanasupawat, S., Itoh, T., Suwanborirux, K., and Kudo, T. 2004. *Micromonospora aurantinigra* sp. nov., isolated from a Peat Swamp Forest in Thailand. *Actinomycetologica*. vol. 18 no.1, 8-14.
3. Thawai, C., Tanasupawat, S., Itoh, T., Suwanborirux, K., Suzuki, K., and Kudo, T. 2005. *Micromonospora eburnea* sp. nov., isolated from Thai peat swamp forest. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 55: 417-422 (มี impact factor = 3.18)
4. Thawai, C., Tanasupawat, S., Itoh, T., Suwanborirux, K., and Kudo, T. 2005. *Micromonospora siamensis* sp. nov., isolated from Thai peat swamp forest. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 51: 229-234. (มี impact factor = 0.9)
5. Thawai, C., Tanasupawat, S. and Kudo, T. 2010. *Actinaurispora* gen. nov., a new member of the family *Micromonosporaceae*, with description of *Actinaurispora siamensis* sp. nov. *Int J Syst Evol Microbiol.* 60, 1660-1666. (มี impact factor = 2.1)
6. Songsumanus, A., Tanasupawat, S., Thawai, C., Suwanborirux, K. and Kudo, T. 2011. *Micromonospora humi* sp. nov., isolated from Thai peat swamp forest soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 61, 1176-1181. (มี impact factor = 2.1)

7. Chiaraphongphon, S., Suriyachadkun, C., Tamura, T., and Thawai, C. 2009. *Dactylosporangium maewongense* sp. nov., isolated from a Thai soil. *Int J Syst Evol Microbiol.* 60, 1200-1205. (มี impact factor = 2.3)
8. Tanasupawat, S., Pakdeeto, A., Thawai, C., Yukphan, P., and Okada, S. 2007. Identification of lactic acid bacteria from fermented tea leaves (miang) in Thailand and proposals of *Lactobacillus thailandensis* sp. nov., *Lactobacillus camelliae* sp. nov., and *Pediococcus siamensis* sp. nov. *J. Gen. Appl. Microbiol.* 53, 7-15. (มี impact factor = 0.9)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ประวัตินักวิจัย

ชื่อ ดร. ร่วมจิตร นกเขา

ตำแหน่งทางวิชาการ: รองศาสตราจารย์

สถานที่ทำงาน: สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วิทยาเขตชุมพร 17/1 หมู่ 6 ตำบลชุมโค อำเภอประทิว
จังหวัดชุมพร 86160

โทรศัพท์: 077-506411

โทรสาร 077-506411

E- mail knruamji@kmitl.ac.th/r_nokkoul@yahoo.com

ความชำนาญ: ปรับปรุงพันธุ์พืชข้าวโพดหวาน ถั่วเหลืองฝักสด และถั่วเหลืองน้ำมัน
ข้าวไร่

การผลิตเมล็ดพันธุ์อินทรีย์: Organic seed production

Seed quality testing : genetic purity, study of GMO testing
methods, and vigour testing, production of healthy food.

วุฒิการศึกษา:

คุณวุฒิ ปี พ.ศ. ที่จบ ชื่อสถานศึกษาและประเทศ
ปร.ด. (พืชศาสตร์) ๒๕๕๐ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
วท.ม. (พืชสวน) ๒๕๕๓ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
วท.บ. (พืชศาสตร์) ๒๕๓๒ สถาบันเทคโนโลยีศรีวิชัย คณะเกษตรศาสตร์นครศรีธรรมราช

รางวัลที่ได้รับ:

๑) ได้รับคัดเลือกโครงการงานวิจัยดีเด่น เรื่อง “การอนุรักษ์และการสร้างพันธุพืชพันธุ์ข้าวไร่พันธุ์
ท้องถิ่นของตำบลหินแก้วจังหวัดชุมพร” จากคณะกรรมการบริหารเครือข่ายการวิจัยภาคใต้ตอนบน ที่ ศธ
๕๗๒๑๐๑/๕๗ ลงวันที่ ๓ มกราคม ๒๕๕๑

๒) ได้รับเกียรติบัตรและโล่รางวัลชนะเลิศการเสนอบทความ สาขาการเกษตรและทรัพยากรธรรมชาติ และ
สิ่งแวดล้อม ในการประชุมทางวิชาการเครือข่ายการวิจัยสถาบันอุดมศึกษาทั่วประเทศ ปี พ.ศ. ๒๕๕๑
“เทคโนโลยีสู่ชุมชนเพื่อการพัฒนาที่ยั่งยืน”

๓) ได้รับรางวัล “การบริการวิชาการดีเด่น” ของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เมื่อวันที่ ๑๗ ธันวาคม ๒๕๕๔

๔) ได้รับรางวัล “ผู้มีผลงานเด่นเป็นประจักษ์” วันสื่อมวลชนจังหวัดชุมพร วันที่ ๕ มีนาคม ๒๕๕๔

ผลงานที่เคยตีพิมพ์/เผยแพร่

ร่วมจิตร นกเขา วิทยา บัวเจริญ มยุรา สุนย์วีระ. ๒๕๔๕. ผลของการใช้สารซีโอไลท์ สารป้องกันกำจัดแมลง
สารสกัดจากเมล็ดสะเดาที่มีต่อผลผลิตและคุณภาพของถั่วเหลืองฝักสด. การประชุมวิชาการมมส ครั้งที่
๑๓ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม ระหว่างวันที่ ๘-๙ มิถุนายน ๒๕๔๕, หน้า ๖.

วิทยา บัวเจริญ,ร่วมจิตร นกเขา และสุจิตรา ชูชีพ. ๒๕๔๔. ลักษณะทางพันธุกรรมและความดีเด่นของถั่วเหลือง
ฝักสดลูกผสมชั่วที่ ๑๖. พระจอมเกล้าลาดกระบัง ๙ (๓) : ๓๒-๓๘.

Withya Buajarern Raumjit Nokkoul Teerayut Wijitparp and Sumonrat Jintanasirinuruk.๒๐๐๑.
Selection for Banana c.v. Leb Mue Nang for Direct Consumption and for Dried
Banana Processing. Thammasat International Journal Science and Technologies.Vol.6
No.๑, January-April ๒๐๐๑.

ร่วมจิตร นกเขา. ๒๕๔๕. การทดสอบขั้นต้นพันธุ์ข้าวโพดหวานที่เหมาะสมสำหรับภาคใต้ตอนบน : จังหวัด
ชุมพร. การประชุมพืชสวนแห่งชาติ ครั้งที่ ๒๓ โรงแรมเจริญธานี ปรีณเซส จังหวัดขอนแก่น ระหว่างวันที่
๒๘-๓๐พฤษภาคม ๒๕๔๕.

ร่วมจิตร นกเขา ขวัญจิตร สันติประชา และวัลลภ สันติประชา. ๒๕๔๙. ผลของน้ำหมักชีวภาพที่มีต่อผลผลิต
และคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว. งานเมล็ดพันธุ์แห่งชาติ ปี ๒๕๔๙ “ธุรกิจเมล็ดพันธุ์เพื่ออนาคต”
ณ อาคารศูนย์ประชุมอุทยานวิทยาศาสตร์ประเทศไทย จังหวัดปทุมธานี ระหว่างวันที่ ๑๖-๑๗กุมภาพันธ์
๒๕๔๙.

ร่วมจิตร นกเขาวิทยา บัวเจริญ ธิรายุทธ์ วิจิตรภาพ และ สุมลรัตน์ จินตนาสิรินุรักษ์. ๒๕๔๙. การคัดเลือกพันธุ์
กล้วยเล็บมือนางเพื่อการบริโภคสดและการแปรรูปกล้วยอบ. การประชุมวิชาการนเรศวร ครั้งที่ ๒๓
อาคารสิรินธร จังหวัดพิษณุโลก ระหว่างวันที่ ๒๘-๒๙กรกฎาคม ๒๕๔๙.

ธิรายุทธ์ วิจิตรภาพ และร่วมจิตร นกเขา. ๒๕๔๙. การพัฒนาพันธุ์ข้าวโพดหวานฝักสดสำหรับภาคใต้ตอนบน.
การประชุมวิชาการนเรศวร ครั้งที่ ๒๓ อาคารสิรินธร จังหวัดพิษณุโลก ระหว่างวันที่ ๒๘-๒๙กรกฎาคม
๒๕๔๙.

ร่วมจิตร นกเขา วิทยาบัวเจริญ ธิรายุทธ์ วิจิตรภาพ และนพดล จุลนวล. ๒๕๔๙. การพัฒนาพันธุ์ถั่วเหลืองฝัก
สด : การทดสอบผลผลิตขั้นต้นและการทดสอบในท้องถิ่นจังหวัดชุมพร. การประชุมวิชาการพืชไร่วงศ์ถั่ว
แห่งชาติ ครั้งที่ ๑๓ โรงแรมริมกรีสมอร์ท จังหวัดเชียงราย ระหว่างวันที่ ๒๘-๓๐สิงหาคม ๒๕๔๙, หน้า
๖.

ร่วมจิตร นกเขา ธิรายุทธ์ วิจิตรภาพ อภิชาติ ครุฑสุวรรณ และ สุวัฒน์ ไกรมาก. ๒๕๕๐. การอนุรักษ์และพัฒนา
พันธุ์ข้าวไร่พันธุ์ดีพันธุ์ท้องถิ่นเพื่อการผลิตที่พอเพียงและยั่งยืนประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ ๔๕ ณ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ และงานวันเกษตรแห่งชาติประจำปี ๒๕๕๐ระหว่างวันที่ ๒๗มกราคม - ๒
กุมภาพันธ์ ๒๕๕๐. (Poster)

ร่วมจิตร นกเขา ขวัญจิตร สันติประชา และวัลลภ สันติประชา. ๒๕๕๐. ผลของน้ำหมักจากผักบุง และยิปซั่มที่
มีต่อผลผลิตและคุณภาพของเมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาว ว. สงขลานครินทร์(วทท.), ๒๙ (๓) : ๖๓๗-๖๔๕.

ร่วมจิตร นกเขา ธิรายุทธ์ วิจิตรภาพอภิชาติ ครุฑสุวรรณจุฑารัตน์ สุจิตติธรรการ และ นารารอ สว่างวงศ์.
๒๕๕๑. การอนุรักษ์และการสร้างพันธุ์บริสุทธิ์พันธุ์ข้าวไร่พันธุ์ท้องถิ่นของตำบลหินแก้วจังหวัดชุมพร.การ
ประชุมวิชาการเครือข่ายการวิจัยสถาบันอุดมศึกษาทั่วประเทศ “เทคโนโลยีสู่ชุมชนเพื่อการพัฒนาที่
ยั่งยืน” ณ. โรงแรมโซฟิเทล ราชาออดิต จังหวัดขอนแก่น ระหว่างวันที่ ๑๗-๑๙มกราคม ๒๕๕๑.

ร่วมจิตร นกเขา ขวัญจิตร สันติประชา และวัลลภ สันติประชา. ๒๕๕๒. วิธีการใช้น้ำหมักชีวภาพในการผลิต
เมล็ดพันธุ์ถั่วฝักยาวภายใต้ระบบเกษตรอินทรีย์. ว. ธรรมศาสตร์(วทท.) ๑๖ (๒) (พ.ค.-ส.ค.)

ร่วมจิตร นกเขา ขวัญจิตร สันติประชา และวัลลภ สันติประชา. ๒๕๕๒. การผลิตฝักสดถั่วฝักยาวจากเมล็ดพันธุ์อินทรีย์. ว. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี วทท.๑๗ (๑): ๘๗-๙๕.

ร่วมจิตร นกเขา และถิรายุทธ์ วิจิตรภาพ. ๒๕๕๒. การวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร. รายงานการประชุมวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ ๖ ณ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นและโรงแรมพลูแมน ขอนแก่น ราชอาณาจักร อ. เมือง จ. ขอนแก่น ระหว่างวันที่ ๑๓-๑๕ พฤษภาคม ๒๕๕๒.

Raumjit Nokkoul and Teerayut Wichiparp. ๒๐๐๙. Quality of local upland rice seed produced by organic farming system. The International Symposium Organic ๒๐๐๙, The approach of organic agriculture: new markets, food security and a clean environment Pullman Bangkok king power hotel Bangkok, Thailand during ๑๙-๒๑ August ๒๐๐๙.

ร่วมจิตร นกเขา ถิรายุทธ์ วิจิตรภาพ และสตาจค์ หัสนันท์. ๒๕๕๓. การคัดเลือกพันธุ์ข้าวไร่ทนวัชพืช. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. ๔๑ (๓/๑)(พิเศษ): ๕๗-๖๐.

ร่วมจิตร นกเขา. ๒๕๕๔. ผลของอุณหภูมิต่อการเก็บรักษาของเมล็ดพันธุ์ข้าวไร่อินทรีย์. การประชุมทางวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ ๘ ระหว่างวันที่ ๑๗ - ๒๐ พฤษภาคม ๒๕๕๔ ณ โรงแรม สุณีย์ แกรนด์ แอนด์ คอนเวนชั่น เซ็นเตอร์ จังหวัดอุบลราชธานี หน้า ๑๐๙-๑๒๑.

ร่วมจิตร นกเขา ถิรายุทธ์ วิจิตรภาพ และกรองแก้ว พิมพ์ศรี. ๒๕๕๔. ผลของสภาวะเลี้ยงต่อการเจริญเติบโตและผลผลิตของเมล็ดพันธุ์ข้าวไร่อินทรีย์. การประชุมทางวิชาการเมล็ดพันธุ์พืชแห่งชาติ ครั้งที่ ๘ ระหว่างวันที่ ๑๗ - ๒๐ พฤษภาคม ๒๕๕๔ ณ โรงแรม สุณีย์ แกรนด์ แอนด์ คอนเวนชั่น เซ็นเตอร์ จังหวัดอุบลราชธานี หน้า ๔๙-๕๘.

ร่วมจิตร นกเขา. ๒๕๕๔. ผลของอุณหภูมิสูงต่อการเป็นหมันและการพัฒนาของเมล็ดข้าว. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ๒๙(๒)๑๐๘-๑๑๔.

ร่วมจิตร นกเขา ๒๕๕๔. การผลิตเมล็ดพันธุ์อินทรีย์. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า ๒๙(๓)

ร่วมจิตร นกเขา. ๒๕๕๕. การปลูกข้าวไร่ของภาคใต้ตอนบน:กรณีศึกษาในจังหวัดชุมพร. การประชุมวิชาการข้าวประจำปี 2555 ระหว่างวันที่ ๓-๔ กรกฎาคม ๒๕๕๕ ณ โรงแรมทวินโลตัส อ. เมือง จ. นครศรีธรรมราช (บรรยายพิเศษ) หน้า ๑-๗.

ผลงานทางวิชาการที่เสร็จสมบูรณ์:

๑. โครงการรวบรวมพันธุ์และวิจัยเมล็ดพันธุ์พืช : เพื่อการผลิตทางการเกษตรที่ยั่งยืน

ประสบการณ์:

๑. ที่ปรึกษากลุ่มวิสาหกิจข้าวไร่ชุมโค อำเภอปะทิว จังหวัดชุมพร (๒๕๕๔)
๒. ที่ปรึกษาโครงการปรับโครงสร้างการผลิตสู่ระบบเกษตรกรรมยั่งยืน ภายใต้ภูมิปัญญาชาวบ้านตามแนวเศรษฐกิจพอเพียง (๒๕๕๔)
๓. ที่ปรึกษาโครงการวิจัย เรื่อง ความเป็นไปได้ในการปลูกข้าวล้มต่อซังในจังหวัดนครศรีธรรมราช ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย วิทยาเขตนครศรีธรรมราช (๒๕๕๓)

๔. ที่ปรึกษาโครงการและวิทยากรในโครงการใช้ก๊าซชีวภาพจากเปลือกกล้วยเล็บมือนางเพื่อเป็นพลังงานความร้อนร่วมกับตู้อบกล้วยเล็บมือนางพลังงานแสงอาทิตย์ ให้กับกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรพ่อดาทินช้าง (๒๕๕๓)
๕. คณะทำงานกิจกรรมส่งเสริมการจัดทำแผนการจัดการทรัพยากรชีวภาพระดับชุมชนและท้องถิ่น (๒๕๕๔)
๖. คณะทำงานติดตามและประเมินผลหมู่บ้านเศรษฐกิจพอเพียงต้นแบบจังหวัดชุมพร(๒๕๕๔)
๗. คณะกรรมการขับเคลื่อนปรัชญาของเศรษฐกิจพอเพียงจังหวัดชุมพร(๒๕๕๔)
๘. กรรมการและเลขานุการดำเนินการโครงการเครือข่ายพิพิธภัณฑ์เกษตรเฉลิมพระเกียรติพระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัว ภาคใต้ตอนบน(๒๕๕๓)
๙. ผู้ทรงวุฒิวิพากษ์หลักสูตรระดับปริญญาตรี ในโครงการประชุมสัมมนาเชิงปฏิบัติการ เรื่อง การวิพากษ์หลักสูตรระดับปริญญาตรีตามกรอบมาตรฐานคุณวุฒิระดับอุดมศึกษาแห่งชาติ (๒๕๕๔)
๑๐. คณะทำงานขับเคลื่อนงานพัฒนาเครือข่ายสมัครสมาชิกความร่วมมือสู่การปฏิรูประบบเพื่อคุณภาพชีวิตเกษตรกรภาคใต้(๒๕๕๔)
๑๑. คณะทำงานปรับแบบฟอร์มการประเมินโครงการวิจัยภาคใต้ตอนบน (๒๕๕๓)
๑๒. คณะทำงานฝ่ายยุทธศาสตร์ด้านเกษตร ปฏิบัติงานในสำนักบริหารยุทธศาสตร์ (OSM) สำนักบริหารยุทธศาสตร์ จังหวัดชุมพร (Office of Strategy Management : OSM)(๒๕๕๓)
๑๓. คณะกรรมการพัฒนานโยบายสาธารณะเพื่อสุขภาพแบบมีส่วนร่วมจังหวัดชุมพร (๒๕๕๒)
๑๔. คณะกรรมการบริหารจัดการโครงการพระราชดำริหนองใหญ่ จังหวัดชุมพร(๒๕๕๒)
๑๕. คณะกรรมการบริหารเครือข่ายอุดมศึกษาภาคใต้ตอนบน เครือข่ายย่อย (C) เครือข่าย วิจัยและนวัตกรรม เพื่อถ่ายทอดเทคโนโลยีสู่ชุมชนฐานราก (สกอ.) ภาคใต้ตอนบน(๒๕๕๒)

ผลงานทางวิชาการที่เสร็จสมบูรณ์:

๑. เอกสารประกอบการสอน เทคโนโลยีการผลิตเมล็ดพันธุ์พืช หลักสูตรพืชสวน สาขาเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร
๒. คู่มือการฝึกอบรมหลักสูตร การปลูกกล้วยเล็บมือนางให้ได้คุณภาพ
๓. คู่มือการฝึกอบรมหลักสูตร การผลิตกล้วยเล็บมือนางให้มีคุณภาพปลอดภัย
๔. คู่มือการฝึกอบรม การผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวไร่อย่างยั่งยืน
๕. คู่มือการฝึกอบรม การผลิตเมล็ดพันธุ์ข้าวไร่ด้วยระบบเกษตรอินทรีย์
๖. Editor of the book titled “RESEARCH IN ORGANIC FARMING. InTech Janeza Trdine 9, 51000 Rijeka, Croatia., ISBN: ๙๗๙-๙๕๓-๓๐๗-๖๖๒-๐.INTECH

4. ประวัติคณะผู้วิจัย

1. ชื่อ - นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาว สุจิตรา สุคนธมัต
ชื่อ - นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Sujitra Sukonthamut
2. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อ
คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
โทร. 0819099033 kssujitr@kmitl.ac.th
3. ประวัติการศึกษา
ปริญญาโทพบ.ม.(สถิติประยุกต์)สถาบันบัณฑิตพัฒนบริหารศาสตร์
ปริญญาตรีค.บ.(ธุรกิจ) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
4. ประสบการณ์งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง และ/หรือที่ผ่านมา ทั้งภายในและภายนอกประเทศ โดยระบุสถานภาพในการทำวิจัยว่าเป็นผู้อำนวยการแผนงานวิจัย หัวหน้าโครงการวิจัย หรือผู้ร่วมวิจัยในแต่ละข้อเสนองานวิจัย
 1. การวิเคราะห์คดียาบ้า (เมทแอมเฟตามีน) ในเขตกรุงเทพมหานคร 50%
 2. ทักษะคตินักศึกษาที่มีต่อคุณภาพการศึกษาของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 100%
 3. ปัญหาทางด้านการเรียนและผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนของนักศึกษาโครงการผลิตบัณฑิตภาคพิเศษของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 100%
 4. การศึกษาปัจจัยที่มีความสัมพันธ์กับผลสัมฤทธิ์ทางการเรียนของนักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 100%
 5. ทักษะคตินักศึกษาคณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่มีต่อการเรียนการสอนของอาจารย์ตามนโยบายการประกันคุณภาพของสำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา 100%