# การสกัดหาปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวด้วยตัวทำละลายผสม

# EXTRACTION OF ACTIVE COMPOUND CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM RICE BRAN IN CO-SOLVENT

อัมพวัล หมื่นจำนงค์
อำภา สังสมานันท์

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# EXTRACTION OF ACTIVE COMPOUND CONTENTS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY FROM RICE BRAN IN CO-SOLVENT

AMPHAWAN MUENJAMNONG

AUMPA SANGSAMANUN

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **หัวข้อเรื่อง** | การสกัดหาปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวด้วยตัวทำละลายผสม<br>Extraction of active compound contents and antioxidant activity from rice bran in co-solvent |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาวอัมพวัล หมื่นจำนงค์ รหัสนักศึกษา 57050783<br>นางสาวอำภา สังสมานันท์ รหัสนักศึกษา 57050784 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา (เทคโนโลยีชีวภาพ) |
| **ปีการศึกษา** | 2560 |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม |

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2560

| คณะกรรมการสอบ | ลายมือชื่อ |
|---|---|
| รศ.ดร.จิตติ ท่าไว<br>ประธานกรรมการ | |
| ผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา<br>กรรมการ | |
| ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม<br>กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา | |

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **หัวข้อเรื่อง** | การสกัดหาปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวด้วยตัวทำละลายผสม |
| **ชื่อนักศึกษา** | นางสาวอัมพวัล หมื่นจำนงค์ รหัสนักศึกษา 57050783 |
| | นางสาวอำภา สังสมานันท์ รหัสนักศึกษา 57050784 |
| **ปริญญา** | วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) |
| **ภาควิชา** | ชีววิทยา |
| **คณะ** | วิทยาศาสตร์ |
| **มหาวิทยาลัย** | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) |
| **ปีการศึกษา** | 2560 |
| **อาจารย์ที่ปรึกษา** | ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม |

## บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอล ได้แก่ ร้อยละ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25, 100 : 0 และ 0 : 100 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) อุณหภูมิในช่วง 30 – 70 องศาเซลเซียส และเวลาในช่วง 5 – 60 นาที ที่เหมาะสมต่อการสกัดรำข้าวด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ให้ได้สารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูงและศึกษาปัจจัยเหล่านี้ที่ส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดรำข้าว ซึ่งจะศึกษารำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ หอมสุพรรณบุรีและดอกขามที่มีอนุภาคขนาด 300 ไมโครเมตร จากการสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขามพบว่า เมื่อทำการสกัดโดยการใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอล (25 : 75 โดยปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ ร้อยละ 17.7183 ± 0.9769 และร้อยละ 15.4455 ± 2.9350 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) ตามลำดับ และเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลจะได้สารประกอบฟีนอลิกที่มีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 16.6034 ± 0.3108 และ 109.9856 ± 0.8686 มิลลิกรัมของแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ส่วนสารฟลาโวนอยด์จะมีปริมาณสูงสุดเท่ากับ 638.2083 ± 7.0104 และ 923.2083 ± 41.2987 มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดพบว่า ไม่มีมีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$) นอกจากนี้ เมื่อทำการประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) พบว่าการใช้ตัวทำละลายเอทานอลให้สารสกัดที่ได้มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (ค่า $IC_{50}$ ของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม เท่ากับ 3.2846 ± 0.0574 และ 0.0429 ± 0.0029 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ และค่า FRAP เท่ากับ 30.3058 ± 0.7914 และ 198.3213 ± 2.0768 มิลลิกรัมของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ) เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ทางชีวภาพของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่า รำข้าวดอกขามมีฤทธิ์สูงกว่ารำข้าวหอมสุพรรณบุรี ดังนั้นงานวิจัยนี้สามารถเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรและนำมาวิจัยต่อยอดทางเภสัชวิทยาได้อีกด้วย

**คำสำคัญ** : การสกัด รำข้าว สารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| | |
|---|---|
| **Title** | Extraction of active compound contents and antioxidant |
| activity | from rice bran in co-solvent |
| **Students** | Miss Amphawan Muenjamnong Student ID 57050783 |
| | Miss Aumpa Sangsamanun Student ID 57050784 |
| **Degree** | Bachelor of Science (Biotechnology) |
| **Department** | Biology |
| **Faculty** | Science |
| **University** | King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL) |
| **Academic Year** | 2017 |
| **Advisor** | Asst. Prof. Dr. Duankamol Ruen-ngam |


## Abstract


The purpose of this study is to investigate the optimum conditions that can be used to obtain the highest yield of phenolic compounds and flavonoids after extraction based on solvent mixture ratio between hexane and ethanol with ratios 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25, 100 : 0 and 0 : 100 (%V/V) temperature in range 30 - 70 °C and extraction time in range 5 - 60 minutes and evaluate on antioxidant activity of rice bran extract. Materials are 2 varieties: Hom-suphanburi and Dok-kham rice bran with the particle size of 300 µm were used in this study. From this research has shown that hexane and ethanol at a ratio of 25: 75 (v/v) at 70 °C has the highest yield of extracts from Hom-suphanburi and Dok-kham rice bran were 17.7183 ± 0.9769 and 15.4455 ± 2.9350 % (by dry weight basis), respectively. Phenolic compounds showed the highest content when the rice bran have been extracted with ethanol were 16.6034 ± 0.3108 and 109.9856 ± 0.8686. mg GEA/g extract, respectively. Flavonoids showed the highest content were 638.2083 ± 7.0104 and 923.2083 ± 41.2987 mg QE/g extract, respectively. There aren't significant differences in the effect of extraction time at significance level 0.05 ($p > 0.05$). In addition, the antioxidant activity was evaluated by DPPH radical scavenging activity assay and Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP). The results found that the highest antioxidant activity by ethanol in extraction ($IC_{50}$ of Hom-suphanburi and Dok-kham rice bran were 3.2846 ± 0.0574 and 0.0429 ± 0.0029 mg/ml, respectively and FRAP value were 30.3058 ± 0.7914 and 198.3213 ± 2.0768 mg TEAC/g extract, respectively).


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

After analyzed active compounds of both rice bran varieties, it was found that Dok-kham rice bran higher activity than Hom-Suphanburi rice bran. According to our results can be used to increase the value of agricultural product and used in the article of pharmacology.

**Keywords** : Antioxidant activity, Extraction, Flavonoids, Phenolic compounds, Rice bran

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องมาจากความกรุณาอย่างสูงจาก ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานพิเศษ ที่กรุณาให้คำปรึกษาดูแลอย่างใกล้ชิดตลอดจนปรับปรุงข้อบกพร่องต่างๆในการทำโครงงานพิเศษด้วยความเอาใจใส่อย่างดียิ่ง และขอขอบพระคุณประธานกรรมการและกรรมการสอบโครงงานพิเศษ คือ รศ.ดร.จิตติ ท่าไว และ ผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา ตามลำดับ ที่ให้ข้อคิดเห็นและคำแนะนำในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการชีววิทยา ตึกวิทยาศาสตร์ทุกท่าน ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือในการปฏิบัติงานและให้ความรู้ในเรื่องอุปกรณ์ต่างๆ

ขอขอบพระคุณ เจ้าหน้าที่ห้องธุรการทุกท่าน ที่คอยอำนวยความสะดวกและจัดแจงห้องปฏิบัติงานและห้องที่ใช้ในการสอบโครงงานพิเศษอย่างดี

ขอขอบพระคุณ บิดา-มารดา ที่ให้ได้รับการศึกษา ทั้งด้านทุนทรัพย์และด้านแรงกายแรงใจในการอบรมเลี้ยงดู ให้กำลังใจในการทำโครงงานพิเศษให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี รวมถึงเพื่อนๆและบุคคลอื่นๆที่ไม่ได้กล่าวมา ผู้จัดทำโครงงานขอขอบคุณเป็นอย่างสูงมา ณ โอกาสนี้

อัมพวัล หมื่นจำนงค์
อำภา สังสมานันท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... ค
กิตติกรรมประกาศ ..... จ
สารบัญ ..... ฉ
สารบัญตาราง ..... ญ
สารบัญรูป ..... ฐ
**บทที่ 1 บทนำ** ..... 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย ..... 2
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย ..... 2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย ..... 2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ ..... 2
**บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง** ..... 3
2.1 ประวัติและความสำคัญของข้าว ..... 4
2.2 กรรมวิธีการผลิตข้าว ..... 5
2.3 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา ..... 5
2.3.1 ข้าวดอกขาม ..... 5
2.3.2 ข้าวหอมสุพรรณบุรี ..... 5
2.4 ผลพลอยได้ของข้าว ..... 5
2.5 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว ..... 6
2.5.1 ความชื้นในรำข้าว ..... 7
2.5.2 โปรตีนในรำข้าว ..... 7
2.5.3 ไขมันในรำข้าว ..... 8
2.5.4 เส้นใยในรำข้าว ..... 8
2.5.5 เถ้าในรำข้าว ..... 9
2.5.6 คาร์โบไฮเดรตในรำข้าว ..... 9
2.5.7 องค์ประกอบอื่นๆ ในรำข้าว ..... 9
2.6 ผลิตภัณฑ์จากรำข้าว ..... 10
2.7 สารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าว ..... 11
2.7.1 แกมมา-ออริซานอล (γ-oryzanol) ..... 11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.7.2 สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ..... 12
2.7.3 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) ..... 14
2.8 หลักการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและการทดสอบฤทธิ์ ..... 16
2.8.1 การหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีเคดาลห์ ..... 16
2.8.2 การหาปริมาณไขมัน ..... 17
2.8.3 การหาปริมาณเถ้า ..... 18
2.8.4 วิธี 1, 1-diphenyl-2-picryhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay) ..... 18
2.8.5 วิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP assay) ..... 20
2.9 วิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ ..... 20
2.9.1 การสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet Extractor) ..... 20
2.9.2 การสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ..... 22
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... 23
**บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย** ..... 31
3.1 วัตถุดิบ ..... 31
3.2 สารเคมี ..... 31
3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ ..... 33
3.4 แผนผังโครงงาน ..... 35
3.5 วิธีการดำเนินงานวิจัย ..... 36
3.5.1 การแยกขนาดรำข้าว ..... 36
3.5.2 การวัดปริมาณความชื้นในรำข้าว ..... 36
3.5.3 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjedahl ..... 37
3.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ..... 38
3.5.5 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย ..... 38
3.5.6 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า ..... 39
3.5.7 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต ..... 39
3.5.8 การสกัด (Extraction) ..... 40
3.5.8.1 Temperature Profiles ..... 40
3.5.8.2 การสกัดโดยการหมัก (Maceration Extraction) ..... 40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

5.5.8.3 การสกัดโดยใช้ชุดสกัดซอกห์เลต (Soxhlet Extractor) ..... 41
3.5.9 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีอยู่ในสารสกัด ..... 41
3.5.9.1 สารสกัดรำข้าว ..... 41
3.5.9.2 สารมาตรฐานกรดแกลลิก ..... 42
3.5.9.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ..... 42
3.5.10 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัด ..... 42
3.5.10.1 สารสกัดรำข้าว ..... 42
3.5.10.2 สารมาตรฐานเควอซิทิน ..... 43
3.5.10.3 การหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ..... 43
3.5.11 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging activity ..... 43
3.5.11.1 การเตรียมสารละลายของ DPPH ..... 43
3.5.11.2 การเตรียมและทดสอบฤทธิ์ของสารมาตรฐาน ..... 44
3.5.11.3 การเตรียมและทดสอบฤทธิ์ของสารตัวอย่าง ..... 44
3.5.11.4 การเตรียมและทดสอบฤทธิ์ของตัวควบคุม ..... 45
3.5.11.5 การคำนวณ % Inhibition concentration ..... 45
3.5.12 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing ability power (FRAP) ..... 45
3.5.12.1 เตรียมสารละลาย FRAP reagent ..... 45
3.5.12.2 ทดสอบฤทธิ์ของสารตัวอย่าง ..... 45
3.5.12.3 ทดสอบฤทธิ์ของสารมาตรฐาน ..... 46
3.5.12.4 คำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP ..... 46
3.5.13 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ..... 46
**บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล** ..... 47
4.1 ลักษณะทางกายภาพของรำข้าว ..... 47
4.2 การแยกขนาดอนุภาคของรำข้าว ..... 48
4.3 ความชื้นในรำข้าว ..... 49
4.4 องค์ประกอบทางเคมีในรำข้าว ..... 50
4.5 การทดสอบ Temperature Profiles ..... 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.6 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด ..... 53
4.7 ปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขามในรูปร้อยละของน้ำหนักฐานเปียกและฐานแห้ง ..... 55
4.8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม ..... 66
4.9 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ภายในสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม ..... 73
4.10 การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรำข้าวหอมสุพรรณบุรีดอกขาม ..... 80
4.10.1 การวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ..... 80
4.10.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) ..... 86
4.11 การวิเคราะห์โดยใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor) ..... 92
**บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ** ..... 96
5.1 สรุปผลการวิจัย ..... 96
5.2 ข้อเสนอแนะ ..... 97
เอกสารอ้างอิง ..... 98
ภาคผนวก ..... 104
ภาคผนวก ก การเตรียมสารเคมี ..... 105
ภาคผนวก ข กราฟมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสาระสำคัญและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ..... 113
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ ..... 123

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง

**ตารางที่** **หน้า**

2.1 ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของข้าวเปลือกและส่วนที่ได้จากการขัดสีที่ความชื้น ร้อยละ 14 ..... 6
2.2 ปริมาณโปรตีน และชนิดโปรตีนในส่วนต่างๆของเมล็ดข้าว ..... 7
2.3 ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่จำเป็นในตัวอย่างโปรตีนอาหาร ..... 8
2.4 องค์ประกอบของรำข้าวดิบกับรำข้าวที่สกัดน้ำมันแล้ว ..... 8
2.5 ปริมาณวิตามินและเกลือแร่ของข้าวเปลือก และส่วนที่ได้จากการแปรรูปข้าว (ความชื้น ร้อยละ 14) ..... 9
2.6 ข้อมูลทางชีวเคมีของแกมมา-ออริซานอล (γ-oryzanol) ..... 11
2.7 แฟคเตอร์ที่ใช้สำหรับเปลี่ยนไนโตรเจนให้เป็นโปรตีนกับอาหารแต่ละชนิด ..... 17
2.8 แสดงรายละเอียดงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ..... 28
4.1 ร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีในรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม ..... 51
4.2 ปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปร้อยละของน้ำหนักฐานเปียกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส ..... 62
4.3 ปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปร้อยละของน้ำหนักฐานแห้งเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส ..... 63
4.4 ปริมาณสารสกัดรำข้าวดอกขามรูปร้อยละของน้ำหนักฐานเปียกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส ..... 64
4.5 ปริมาณสารสกัดรำข้าวดอกขามในรูปร้อยละของน้ำหนักฐานแห้งเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส ..... 65
4.6 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรี ..... 71
4.7 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดรำข้าวดอกขาม ..... 72
4.8 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรี ..... 78
4.9 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดรำข้าวดอกขาม ..... 79
4.10 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ..... 84
4.11 ค่าความเข้มข้นของสารสกัดรำข้าวดอกขามที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ..... 85

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อนุญาตให้ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ว่าการคัดลอกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง (ต่อ)


**ตารางที่** **หน้า**

4.12 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของรำข้าวหอมสุพรรณบุรี ..... 90

4.13 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของรำข้าวดอกขาม ..... 91

ข.1 เตรียมสารมาตรฐานกรดแกลลิกจาก stock solution
ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ..... 113

ข.2 การเตรียมสารมาตรฐานเควอซิทินจาก stock solution
ความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ..... 115

ข.3 การเตรียมสารมาตรฐานโทรลอกซ์จาก stock solution
ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ..... 116

ข.4 การเตรียมสารมาตรฐาน BHT จาก stock solution
ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ..... 120

ข.5 การเตรียมสารมาตรฐาน BHT จาก stock solution
ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่มิลลิลิตร ..... 122

ค.1.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูป
น้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่เวลาต่างๆ
ณ อัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ..... 124

ค.1.2 ANOVA ของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก
โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่เวลาต่างๆ ณ อัตราส่วน
ตัวทำละลายเดียวกันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ..... 126

ค.1.3 ผลการทดสอบทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูป
น้ำหนักฐานเปียกโดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่เวลาต่างๆ
ณ อัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกันที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ..... 127

ค.2.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูป
น้ำหนักฐานเปียกโดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ
ณ เวลาในการสกัดเท่ากันที่อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล
เท่ากับร้อยละ 25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร)..... 129

ค.2.2 ANOVA ของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียกโดย
วิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ ณ เวลาในการสกัด
เท่ากันที่อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลเท่ากับร้อยละ
25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ..... 131


เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลกรุงเทพ ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง (ต่อ)

**ตารางที่** **หน้า**

ค.2.3 ผลการทดสอบทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูป
น้ำหนักฐานเปียกโดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ
เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล
เท่ากับร้อยละ 25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ..... 132
ค.3.1 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูป
น้ำหนักฐานเปียกโดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อัตราส่วน
ตัวทำละลายต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส..... 134
ค.3.2 ANOVA ของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก
โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ
ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ..... 136
ค.3.3 ผลการทดสอบทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูป
น้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อัตราส่วน
ตัวทำละลายต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ..... 137

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 2.1 | การทำนาหยอด หรือการปลูกข้าวไร่ | 4 |
| 2.2 | การทำนาปักดำ หรือการปลูกข้าวนาสวน | 4 |
| 2.3 | น้ำมันจากรำข้าว | 10 |
| 2.4 | สูตรโครงสร้างของแกมมา-ออริซานอล (γ-oryzanol) | 12 |
| 2.5 | โครงสร้างพื้นฐานของสารฟลาโวนอยด์ | 13 |
| 2.6 | โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล | 14 |
| 2.7 | ตัวอย่างแคปไซซิน (Capsaicin) ในพริก | 15 |
| 2.8 | โครงสร้างของ DDPH หรือ 1, 1-diphenyl-2-picryhydrazyl | 19 |
| 2.9 | ปฏิกิริยาของ FRAP assay | 20 |
| 2.10 | เครื่องมือซอกห์เลต (soxhlet extractor) | 21 |
| 2.11 | การสกัดแบบ Maceration | 22 |
| 4.1 | ลักษณะรำข้าวหอมสุพรรณบุรี (A) และรำข้าวดอกขาม (B) | 47 |
| 4.2 | ปริมาณรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขามขนาดต่างๆที่แยกได้จากรำข้าวน้ำหนัก 50 กรัม | 48 |
| 4.3 | น้ำหนักสะสมของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม | 48 |
| 4.4 | การกระจายน้ำหนักของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม | 49 |
| 4.5 | ปริมาณความชื้นในรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม | 50 |
| 4.6 | ร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีในรำข้าว | 51 |
| 4.7 | ผลการทดสอบ Temperature Profiles ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A) , 50 องศาเซลเซียส(B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) | 52 |
| 4.8 | สารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล ที่อัตราส่วนต่างๆ (A =25 : 75 , B= 50 : 50, C= 75 : 25, D = 100 : 0 และ E = 0 : 100 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร)) ซึ่งมีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร | 54 |
| 4.9 | สารสกัดรำข้าวหอมดอกขามที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล ที่อัตราส่วนต่างๆ (F1 =25 : 75 , G1= 50 : 50, H1= 75 : 25, I1 = 100 : 0 และ J1 = 0 : 100 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร)) ซึ่งมีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร | 54 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป (ต่อ)


รูปที่ หน้า

4.10 สารสกัดรำข้าวหอมดอกขามน้ำหนัก 40 มิลลิกรัม ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลที่อัตราส่วนต่างๆที่ผ่านการระเหยตัวทำละลายออก (F2 =25 : 75 , G2= 50 : 50, H2= 75 : 25, I2 = 100 : 0 และ J2 = 0 : 100 ) ..... 55

4.11 ปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) ..... 58

4.12 ปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานแห้งเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) ..... 59

4.13 ปริมาณสารสกัดรำข้าวดอกขามในรูปน้ำหนักฐานเปียกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 30 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) ..... 60

4.14 ปริมาณสารสกัดรำข้าวดอกขามในรูปน้ำหนักฐานแห้งเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนตัวต่างๆที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) ..... 61

4.15 ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่สกัด ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) ..... 69

4.16 ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆของรำข้าวดอกขามที่สกัด ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) ..... 70

4.17 ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) ..... 76

4.18 ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดรำข้าวดอกขามเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A) , 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) ..... 77


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป (ต่อ)


| รูปที่ | | หน้า |
|---|---|---|
| 4.19 | ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) | 82 |
| 4.20 | ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดรำข้าวดอกขามที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) | 83 |
| 4.21 | ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) ในสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรี (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A) , 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) | 88 |
| 4.22 | ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) ในสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรี (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A) , 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C) | 89 |
| 4.23 | ปริมาณสารสกัดรำข้าวที่ใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor) | 93 |
| 4.24 | ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกของรำข้าวที่ใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor) | 94 |
| 4.25 | ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของรำข้าวที่ใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor) | 94 |
| 4.26 | ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่ใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor) | 95 |
| ข.1 | กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก | 114 |
| ข.2 | กราฟมาตรฐานเควอซิทิน | 115 |
| ข.3 | กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ | 117 |
| ข.4 | กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ (% Inhibition concentration) | 118 |
| ข.5 | กราฟมาตรฐาน BHT | 120 |
| ข.6 | กราฟมาตรฐาน BHT (% Inhibition concentration) | 121 |
| ข.7 | กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ | 122 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

ข้าว (Rice) เป็นผลผลิตหลักที่ได้จากการเกษตรและเป็นอาหารหลักของคนไทยมาอย่างยาวนานจนถึงปัจจุบัน สามารถนำมาแปรรูปเป็นชีวภัณฑ์ต่างๆได้ ผลผลิตข้าวที่ได้จากการเก็บเกี่ยวจนสามารถนำมาบริโภคได้นั้น จำเป็นต้องผ่านกรรมวิธีการผลิตในโรงสีข้าว โดยรำข้าว (Rice bran) เป็นผลพลอยได้จากขั้นตอนการขัดสี ประกอบด้วย เยื่อหุ้มเมล็ดและคัพภะเป็นส่วนใหญ่ มีองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญ ได้แก่ ความชื้น โปรตีน ไขมัน เถ้า เส้นใย และคาร์โบไฮเดรต ทำให้มีการนำรำข้าวไปเป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมัน สกัดโปรตีน และสารอาหารอื่น เนื่องจากอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการและมีสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ ได้แก่ โทโคเฟอรอล (Tocopherols) โทโคไตรอีนอล (Tocotrienols) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) รวมทั้งแกมมา-ออริซานอล (γ-oryzanol) เป็นตัวยั้บยั้งการเกิดออกซิไดส์ มีผลในการลดระดับคอเรสเตอรอล จึงจัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ให้มูลค่าสูงขึ้นจากเดิมที่ใช้เป็นเพียงอาหารสัตว์เท่านั้น (อรอนงค์, 2547)

จากงานวิจัยก่อนหน้า ปรีดาวรรณ และวรนุช (2556) พบว่าชนิดของตัวทำละลายและเวลามีผลร่วมกันต่อการสกัดปริมาณน้ำมันและสารสำคัญในรำข้าวพันธุ์ กข 6 เนื่องจากความมีขั้วของสารและเมื่อใช้ตัวทำละลายร่วมกับอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัด ทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น และจากการศึกษาของ Hidalgo.และคณะ (2016) พบว่าการสกัดไขมันจากสาหร่าย *Botryococcus braunii* สำหรับการผลิตไบโอดีเซล โดยใช้ตัวทำละลายผสม (ระหว่างมีขั้วและไม่มีขั้ว) แทนการใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์สามารถสกัดปริมาณไขมันได้สูงขึ้น

ในการศึกษาครั้งนี้ เป็นการศึกษาหาปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว 2 สายพันธุ์ คือ รำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขามที่มีอนุภาคขนาด 300ไมโครเมตร โดยในการศึกษาจะใช้วิธีการขั้นพื้นฐานในการสกัด คือ วิธีการหมัก (Maceration) ด้วยตัวทำละลายผสมกันระหว่างเอทานอล ร้อยละ 95 และเฮกเซน เพื่อให้เกิดคุณสมบัติที่แตกต่างไปจากตัวทำละลายบริสุทธิ์ โดยจะอาศัยหลักการที่ตัวทำละลายแต่ละชนิดสามารถละลายสารได้แตกต่างกัน จึงเป็นที่มาของงานวิจัยให้เกิดวัตถุประสงค์ ดังนี้ คือ เพื่อศึกษาอิทธิพลของตัวทำละลาย อุณหภูมิ และเวลาที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรำข้าว ทำให้สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการสกัดได้สูงขึ้น เพื่อต่อยอดใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา อุตสาหกรรมเภสัช และอุตสาหกรรมอื่นๆ ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อศึกษาอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลที่เหมาะสมต่อการสกัดรำข้าวให้ได้สารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูง
2) เพื่อศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมต่อการสกัดรำข้าวให้ได้สารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ในปริมาณสูง
3) เพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนตัวทำละลายผสม อุณหภูมิ และเวลาในการสกัดที่มีต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดรำข้าว

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1) วัตถุดิบที่ใช้ในการศึกษาเป็นรำข้าว จำนวน 2 สายพันธุ์ ได้แก่ รำข้าวพันธุ์หอมสุพรรณบุรีและรำข้าวพันธุ์ดอกขาม
2) สกัดรำข้าวด้วยวิธีการหมัก (Maceration)
3) ศึกษาอิทธิพลของอัตราส่วนของตัวทำละลายผสม เฮกเซนต่อเอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วน ดังนี้ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 50, 100 : 0 และ 0 :100 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส และเวลา 5, 10, 20, 30 และ 60 นาที ที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) และสารฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) ที่อยู่ในสารละลายที่ได้จากรำข้าว
4) ทดสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging capacity assay และวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP assay)

## 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบถึงปริมาณสารสำคัญรวมไปถึงปัจจัยที่มีผลต่อสารสำคัญในรำข้าว เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการสกัดสารจากรำข้าวและเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการสกัดที่จะเกิดขึ้นในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

## 2.1 ประวัติและความสำคัญของข้าว (อรอนงค์, 2547)

ประวัติศาสตร์ข้าวไทย มีร่องรอยหลักฐานพร้อมกับอารยธรรมไทยมานานไม่น้อยกว่า 5,500 ปี พระมหากษัตริย์ไทย มีพระราชกรณียกิจที่สำคัญ คือ การบำบัดทุกข์ บำรุงสุขให้ราษฎร โดยเฉพาะอย่างยิ่งอำนวยผลให้พืชพันธุ์ธัญญาหารอุดมสมบูรณ์ เริ่มจากในสมัยกรุงสุโขทัย (พ.ศ. 1740-2040) พ่อขุนรามคำแหงมหาราช ทรงทำนุบำรุงอาชีพการเกษตร ให้ที่ดินแก่ราษฎรได้ผลผลิตอุดมสมบูรณ์ ดังปรากฏในศิลาจารึกว่า"ในน้ำมีปลา ในนามีข้าว ปกครองแบบระบบศักดินา ต่อมาในสมัยต้นกรุงศรีอยุธยา (พ.ศ. 2040-2240) เป็นยุคที่บ้านเมืองมั่งคั่ง เป็น "อู่ข้าวอู่น้ำ" เริ่มปกครองแบบจตุสดมภ์ มีกรมนารับผิดชอบในการส่งเสริมอาชีพของราษฎร โดยเฉพาะการทำนา เพราะข้าวเป็นอาหารหลักของพลเมืองและเป็นเสบียงในยามศึก การค้าขายเป็นแบบผูกขาดจากท้องพระคลัง ในสมัยปลายกรุงศรีอยุธยา กรุงธนบุรี และต้นกรุงรัตนโกสินทร์ (พ.ศ. 2240-2420) ประเทศไทยเปิดการค้าขายเสรีกับต่างประเทศ และข้าวก็นับว่าเป็นสินค้าส่งออกที่สำคัญ มีการขยายพื้นที่เพาะปลูกและเพิ่มปริมาณการผลิตข้าวมากขึ้น จนถึงต้นสมัยรัชกาลที่ 5 ทรงประกาศเลิกทาส มีแรงงานภาคเกษตรเพิ่มขึ้น ทำให้ลุ่มเจ้าพระยากลายเป็นแหล่งผลิตข้าว สามารถผลิตเพื่อบริโภคและส่งออกขายต่างประเทศได้ นำเงินตราเข้าประเทศเรื่อยมา นับว่ามีความอุดมสมบูรณ์มากที่สุด

พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชมหาราช ทรงตระหนักถึงความสำคัญของข้าว ทรงพระกรุณาโปรดเกล้าฯ ให้ฟื้นฟูพระราชพิธีพืชมงคลจรดพระนังคัลแรกนาขวัญขึ้น เพื่อเสริมสิริมงคลแก่เกษตรกร เป็นพิธีทำขวัญเมล็ดพันธุ์ต่างๆ เช่น ข้าวเหนียว ข้าวเปลือก ข้าวฟ่าง ข้าวโพด ถั่ว งา เผือก มันและพืชอื่นๆ เพื่อให้พืชเจริญงอกงามปราศจากโรค ในวันที่ 1 พฤษภาคม พ.ศ. 2504 ได้ทรงโปรดให้เริ่มจัดงาน "พระราชพิธีพืชมงคลจรดพระนังคัลแรกนาขวัญ" โดยทรงมีพระราชดำริให้จัดทำพันธุ์ข้าวทรงปลูกพระราชทาน เพื่อเป็นสวัสดิมงคลต่อการเก็บเกี่ยวและผลผลิตของฤดูกาลปลูกข้าวที่จะมาถึง ทรงปฏิบัติเช่นนี้สืบต่อมาทุกปีจนถึงปัจจุบัน

ประพาส (2520) กล่าวว่า การปลูกข้าวในประเทศไทย ข้าวเมล็ดป้อมจะพบมากในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ ขณะที่ข้าวเมล็ดยาวพบมากในภาคกลางและภาคใต้ที่มีความอุดมสมบูรณ์มากสุด ภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีพื้นที่ปลูกข้าว คิดเป็นร้อยละ 45 ของพื้นที่เพาะปลูกทั้งประเทศ ส่วนใหญ่จะปลูกข้าวหอมมะลิ 105 ซึ่งจัดเป็นข้าวคุณภาพดีที่สุดของโลก ข้าวที่ปลูกในพื้นที่แถบนี้จึงมักปลูกไว้เพื่อขาย รองลงมาคือ ภาคกลางและภาคเหนือที่พื้นที่เพาะปลูกเท่ากัน ประมาณร้อยละ 25 ปัจจุบันไทยจึงเป็นแหล่งปลูกข้าวที่ผลิตออกสู่ตลาดโลกมากที่สุดและเป็นศูนย์กลางของการศึกษาวิจัยพันธุ์ข้าว ซึ่งแสดงให้เห็นถึงบทบาทของผู้สร้างตำนานแห่งอารยธรรมธัญญาหารของมนุษยชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.2 กรรมวิธีการผลิตข้าว

การทำนาเพาะปลูกข้าวเป็นจุดเริ่มต้นของกระบวนการผลิตที่มีความสำคัญอย่างยิ่ง เพื่อให้ได้มาซึ่งข้าวคุณภาพและสะอาดปลอดภัย ชาวนาไทยได้สืบทอดภูมิปัญญาจากรุ่นสู่รุ่น ก่อเกิดเป็นวิธีการเพาะปลูกที่แตกต่างไปตามสภาพพื้นที่และภูมิประเทศ ข้าวที่ปลูกเพื่อบริโภค สามารถแบ่งออกได้เป็นชนิดต่างๆ ขึ้นอยู่กับสิ่งที่ใช้เป็นมาตรการสำหรับการแบ่งแยกข้าว หากแบ่งตามสภาพพื้นที่ปลูกจะได้เป็นข้าวไร่ ข้าวนาสวน และข้าวนาเมืองหรือข้าวขึ้นน้ำ ข้าวไร่ (Upload rice) หมายถึง ข้าวที่ปลูกในที่ดอน หรือในสภาพไร่ ไม่มีการทำคันนาเพื่อกักเก็บน้ำ อาศัยน้ำฝนหรือน้ำค้างเป็นหลัก ประเทศไทยจะปลูกข้าวชนิดนี้ได้ดีในภาคเหนือ ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคใต้ แต่มีพื้นที่ปลูกไม่มากนัก ดังรูปที่ 2.1

**รูปที่ 2.1** การทำนาหยอด หรือการปลูกข้าวไร่
ที่มา: http://www.thairiceforlife.com/wisdom/index

ข้าวนาสวน หรือนาดำ (Lowland rice) หมายถึง ข้าวที่ปลูกแบบปักดำ หรือหว่าน และระดับน้ำในนาลึกไม่เกิน 80 เซนติเมตร มีปลูกทุกภาคของประเทศไทย และพื้นที่ส่วนใหญ่จะอยู่ในภาคกลาง ดังรูปที่ 2.2

**รูปที่ 2.2** การทำนาปักดำ หรือการปลูกข้าวนาสวน
ที่มา: http://www.thairiceforlife.com/wisdom/index

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวนาเมือง หรือข้าวขึ้นน้ำ (Floating rice) หมายถึง ข้าวที่ปลูกแบบหว่าน และระดับน้ำในนาลึกมากกว่า 80 เซนติเมตรขึ้นไป ปลูกมากในภาคกลาง และการแบ่งตามตามชนิดของแป้งในเมล็ดที่บริโภคจะได้เป็นข้าวเจ้าและข้าวเหนียว (ประพาส, 2520 ; อรอนงค์, 2547)

ผลผลิตข้าวที่ได้จากการเก็บเกี่ยว จนสามารถนำมาบริโภคได้นั้น จำเป็นต้องผ่านกรรมวิธีการผลิตในโรงสีข้าวที่มีคุณภาพมาตรฐาน เพื่อแปรสภาพข้าวเปลือกให้เป็นข้าวสาร ข้าวเปลือกที่เข้าสู่ขบวนการผลิตจะผ่านกระบวนการทำความสะอาด การกะเทาะข้าวเปลือกโดยเครื่องกะเทาะ และแยกเปลือกออกได้ผลผลิตออกมาเป็นข้าวกล้อง จากนั้นจะถูกส่งไปยังตะแกรงเพื่อคัดแยกแกลบและข้าวเปลือก แล้วจึงนำมาขัดขาว ซึ่งเป็นการขัดสีเอาชั้นรำข้าวออกให้เหลือแต่ชั้นแป้งได้ข้าวสาร ส่วนรำข้าวที่เป็นผลพลอยได้จากขั้นตอนนี้ ประกอบด้วยเยื่อหุ้มเมล็ดและคัพภะ มีไขมันสูง เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำมันรำข้าว สุดท้ายขั้นตอนการคัดขนาดข้าวสารเพื่อแยกข้าวสารเต็มเมล็ด (Head rice) ออกจากข้าวหักและปลายข้าวเพื่อใช้สำหรับการบริโภค (Department of Foreign Trade, Ministry of Commerce, Thailand, 2016)

## 2.3 พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการศึกษา

### 2.3.1 ข้าวดอกขาม

ข้าวพันธุ์ดอกขาม เป็นข้าวไร่พันธุ์พื้นเมือง ชนิดไวต่อแสง ได้จากการสำรวจและรวบรวมพันธุ์ข้าวไร่ กลุ่มเกษตรกรในตำบลหินแก้ว อำเภอท่าแซะ จังหวัดชุมพร ปี พ.ศ. 2543 และในปี พ.ศ. 2544 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร ได้รวบรวมพันธุ์มาศึกษาตลอดจนการปลูกคัดเลือก เพื่อให้ทนทานต่อสภาพแวดล้อมและมีอัตราปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมได้สูง เปลือกของเมล็ดมีสีเหลืองปลายน้ำตาล และสีของข้าวกล้องเป็นสีน้ำตาล (รักบ้านเกิด, 2552)

### 2.3.2 ข้าวหอมสุพรรณบุรี

เป็นข้าวเจ้านาสวน ชนิดไม่ไวต่อช่วงแสง ได้จากการผสม 3 ทางระหว่างสายพันธุ์ SPR 84177-8-2-2-2-1 และ SPR85091-13-1-1-4 กับพันธุ์ข้าวหอมมะลิ 105 ที่สถานีทดลองข้าวสุพรรณบุรี เมื่อปี พ.ศ.2532 มีการปลูกคัดเลือก จนได้สายพันธุ์ SPR89111-17-2-2-2-2 มีการรับรองพันธุ์ โดยคณะกรรมการวิจัยและพัฒนากรมวิชาการเกษตร มีมติให้เป็นพันธุ์แนะนำเมื่อวันที่ 27 ตุลาคม พ.ศ.2540 เปลือกของเมล็ดมีสีฟาง (รักบ้านเกิด, 2556)

## 2.4 ผลพลอยได้ของข้าว

การแปรรูปข้าวเปลือกเป็นข้าวสารในกระบวนการขัดสีข้าว เมื่อกะเทาะเปลือกของข้าวเปลือกออกจะได้แกลบและข้าวกล้อง ในการขัดสีผิวข้าวกล้องด้วยเครื่องขัดขาว ได้ผลพลอยได้เป็นรำ (Bran) ซึ่งประกอบด้วย เยื่อหุ้มผล เยื่อหุ้มเมล็ด นิวเซลลัส ชั้นแอลิวโรน ชั้นซับแอลิวโรน และคัพภะรวมเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหนักประมาณร้อยละ 10 ของน้ำหนักข้าวกล้องก่อนขัดสี รำจะมีสีน้ำตาลเข้ม เมื่อนำไปขัดมันต่อจะมีส่วนของรำที่หลงเหลืออยู่บางส่วน ชั้นซับแอลิวโรนหลุดออกมาบางส่วนและเนื้อของเมล็ดบางส่วน รวมเรียกส่วนที่ได้จากการขัดมันนี้ว่า รำขาว (White bran หรือ Polish) โดยจะมีน้ำหนักประมาณร้อยละ 2-3 ของข้าวกล้อง ในขั้นตอนนี้จะได้ข้าวสารและรำละเอียด

รำข้าวที่ได้จากโรงสี แบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ รำหยาบ (Bran) หรือรำข้าวกล้องและรำละเอียดหรือรำข้าวขาว (White bran หรือ Polish) ได้จากการขัดสีให้เป็นข้าวขาว จึงมีองค์ประกอบทางเคมีแตกต่างกันบ้างโดยรำหยาบจะมีโปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า แร่ธาตุ และวิตามินบางชนิดมากกว่ารำละเอียด ยกเว้นคาร์โบไฮเดรต ทำให้มีการนำรำข้าวไปเป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมัน สกัดโปรตีนและสารอาหารอื่น เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นจากเดิมที่ใช้เป็นเพียงอาหารสัตว์เท่านั้น เนื่องจากอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการและมีสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติที่สำคัญ (อรอนงค์, 2547)

สารสำคัญในน้ำมันรำข้าว ได้แก่ โทโคเฟอรอล (Tocopherol) โทโคไตรอีนอล (Tocotrienol) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) และสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) รวมทั้งแกมมา-ออริซานอล (γ-oryzanol) ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของน้ำมัน และป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันอิ่มตัวได้ดีกว่าวิตามินอี (กลุ่มโทโคเฟอรอลและกลุ่มโทโคไตรอินอล) มีผลในการลดระดับคอเรสเตอรอล อันเป็นสาเหตุหนึ่งของโรคมะเร็งและโรคหัวใจ เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารและยา รวมทั้งอุตสาหกรรมเครื่องสำอาง (กิตติมาและสาโรจน์, 2555)

## 2.5 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว (อรอนงค์, 2547)

องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวจะขึ้นอยู่กับรำที่ได้จากกระบวนการสีข้าว โดยทั่วไปใช้วิธีการวิเคราะห์องค์ประกอบโดยประมาณ (Proximate Analysis) เพื่อให้ทราบองค์ประกอบทางเคมี หรือสารอาหารหลัก คือ โปรตีน ไขมัน เส้นใย เถ้า และคาร์โบไฮเดรตเป็นหลัก นอกจากนี้เป็นการวิเคราะห์ที่ให้คุณค่าทางอาหารและโภชนาการ ได้แก่ วิตามิน แร่ธาตุและปริมาณกรดอะมิโนในโปรตีน

**ตารางที่ 2.1** ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของข้าวเปลือกและส่วนที่ได้จากการขัดสีที่ความชื้น ร้อยละ 14

| ส่วนของข้าว | โปรตีน (ก.) | ไขมัน (ก.) | เส้นใย (ก.) | เถ้า (ก.) | คาร์โบไฮเดรต (ก.) | เส้นใยอาหาร (ก.) | พลังงาน (กิโลจูล) | พลังงาน (กิโลแคลอรี) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ข้าวเปลือก | 5.8-7.7 | 1.5-2.3 | 7.2-10.4 | 2.9-5.2 | 64-73 | 16.4-19.2 | 1,580 | 378 |
| ข้าวกล้อง | 7.1-8.3 | 1.6-2.8 | 0.6-1.0 | 1.0-1.5 | 73-87 | 2.9-3.9 | 1,520-1,610 | 363-385 |
| ข้าวสาร | 6.3-7.1 | 0.3-0.5 | 0.2-0.5 | 0.3-0.8 | 77-89 | 0.7-2.3 | 1,460-1,560 | 349-373 |
| รำข้าว | 11.3-14.9 | 15.0-19.7 | 7.0-11.4 | 6.6-9.9 | 34-62 | 24-29 | 670-1,990 | 399-476 |
| แกลบ | 2.0-2.8 | 0.3-0.8 | 34.5-45.9 | 13.2-21.0 | 22-34 | 66-74 | 1,110-1,390 | 265-332 |

ที่มา: Julaino, 1993

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในเชิงพาณิชย์ ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตาราง 2.1 พบว่า ในรำข้าวมีปริมาณของโปรตีน ไขมัน และเส้นใยอาหารมากกว่าในข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร แต่ในรำข้าวมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตและหน่วยพลังงานที่ต่ำกว่าในข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร ส่วนข้าวสารมีปริมาณของคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด ซึ่งแสดงให้เห็นว่ารำข้าวประกอบด้วยสารอาหารที่มีคุณค่าต่างๆในปริมาณที่สูงกว่าผลิตภัณฑ์อื่นจากข้าว

**2.5.1 ความชื้นในรำข้าว** (อรอนงค์, 2547)

คุณสมบัติทางเคมีที่นำมาเป็นเกณฑ์กำหนดคุณภาพที่สำคัญ คือ ความชื้น สามารถบ่งชี้อายุการเก็บรักษา หรือบ่งบอกถึงความปลอดภัยในการเก็บรักษา หากรำข้าวมีความชื้นสูงก็มีโอกาสที่จะเสื่อมเสียได้เร็วกว่า หรือเกิดเชื้อรา

**2.5.2 โปรตีนในรำข้าว** (สายสนม, 2553)

รำข้าว เป็นส่วนที่มีโปรตีนมากที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว สามารถจำแนกโปรตีนออกได้เป็น 4 ประเภท ตามความสามารถในการละลาย ดังข้อมูลในตาราง 2.2 แสดงให้เห็นว่า โปรตีนจะกระจายอยู่ในส่วนของคัพภะและส่วนที่เป็นรำข้าว โดยเฉพาะในชั้นแอลิวโรนมากกว่าในส่วนที่เป็นเอนโดรสเปิร์ม คือ ส่วนเนื้อของเมล็ดข้าวขาว ซึ่งจะมีปริมาณโปรตีนต่ำสุด

**ตารางที่ 2.2** ปริมาณโปรตีน และชนิดโปรตีนในส่วนต่างๆของเมล็ดข้าว

| ส่วนของเมล็ดข้าว | ปริมาณโปรตีนทั้งหมด | ชนิดของโปรตีนในปริมาณร้อยละ* | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | g. of N x 5.95 | แอลบูมิน | กลอบูลิน | โปรลามิน | กลูเทลิน |
| ข้าวกล้อง | 7.1-8.3 | 3.0-18.7 | 0-17.0 | 1.6-20.6 | 55.0-88.0 |
| ข้าวขัดขาว | 6.3-7.1 | 2.0-5.0 | 2.0-10.0 | 1.0-5.0 | 75.0-90.0 |
| รำข้าว | 11.3-14.9 | 34.0 | 15.0 | 6.0 | 11.0 |

ที่มา: Julaino, 1993

* การแบ่งชนิดอาศัยความสามารถของการละลายได้ของโปรตีนที่ต่างกัน ได้แก่

1. แอลบูมิน (Albumin) เป็นโปรตีนชนิดที่ละลายได้ในน้ำ
2. กลอบูลิน (Globulin) เป็นโปรตีนชนิดที่ละลายได้ในน้ำเกลือ
3. โปรลามิน (Prolamin) เป็นโปรตีนชนิดที่ละลายได้ในแอลกอฮอล์ (70% ethanol)
4. กลูเทลิน (Glutelin) เป็นโปรตีนชนิดที่ละลายได้ในเบส

จากงานวิจัยของกิตติมา และสาโรจน์ (2555) พบว่า เมื่อวิเคราะห์ลึกลงไปถึงองค์ประกอบของกรดอะมิโน (ตารางที่ 2.3) พบว่าโปรตีนจากรำข้าวให้กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายบางตัว (ฮิสทีดีน ทรี โอนีน วาลีน) ดีกว่าโปรตีนเข้มข้นจากถั่วเหลือง ในขณะที่กรดอะมิโนบางตัวมีปริมาณเทียบเคียงได้กับเคซีนในนม (ฮิสทีดีน ทรีโอนีน ทริปโตแฟน วาลีน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2.3** ชนิดและปริมาณของกรดอะมิโนที่จำเป็นในตัวอย่างโปรตีนอาหาร

| กรดอะมิโน | กรัมของกรดอะมิโน/กรัมโปรตีน | | |
|---|---|---|---|
| | โปรตีนรำข้าว | โปรตีนถั่วเหลืองเข้มข้น | เคซีน |
| ไลซีน | 5.1 | 6.1 | 8.5 |
| ฮิสทีดีน | 3.0 | 2.5 | 3.2 |
| ไฮโซลิวซีน | 3.8 | 4.7 | 5.4 |
| ลิวซีน | 7.6 | 7.9 | 9.5 |
| ทรีโอนีน | 4.1 | 3.7 | 4.2 |
| ทริปโตแฟน | 1.0 | 1.2 | 1.4 |
| วาลีน | 6.2 | 4.8 | 6.3 |

ที่มา: Fabian และ Ju, 2011

**2.5.3 ไขมันในรำข้าว** (อรอนงค์, 2547)

ในรำข้าวมีน้ำมัน (ไขมัน) อยู่ประมาณร้อยละ 20 ซึ่งเป็นองค์ประกอบของกรดไขมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ประเภทกรดไขมันไม่อิ่มตัวและกรดไขมันที่จำเป็นอยู่มาก เช่น กรดโอเลอิก ร้อยละ 42.5 ลิโนเลอิก ร้อยละ 39.1 และกรดปาร์มมิติก ร้อยละ 15 ส่วนกรดไขมันที่มีน้อย เช่น กรดสเทียริก ร้อยละ 1.9 กรดไมรีสติก ร้อยละ 0.2 และกรดบีเฮนิก ร้อยละ 0.20

**2.5.4 เส้นใยในรำข้าว** (สายสนม, 2553)

ใยอาหารในรำข้าวมีทั้งใยอาหารที่ไม่ละลายน้ำ ได้แก่ เซลลูโลสที่วิเคราะห์ออกมาในรูปของเยื่อใยหยาบ พบว่ามีอยู่ร้อยละ 7-11.4 สำหรับรำข้าวที่ไม่สกัดน้ำมัน ส่วนรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว จะมีใยอาหารสูงถึงร้อยละ 15.2 ใยอาหารที่อยู่ในรูปเฮมิเซลลูโลส หรือเพนโทแซน จะพบในองค์ประกอบของผนังเซลล์ในธัญพืชชนิดต่างๆ ปริมาณใยอาหารในรำข้าวจะผันแปรไปในทิศทางตรงกันข้ามกับน้ำมันที่สกัดออกไป คือ รำที่ถูกสกัดน้ำมันมากจะมีปริมาณใยอาหารสูงสุด ดังตารางที่ 2.4

**ตารางที่ 2.4** องค์ประกอบของรำข้าวดิบกับรำข้าวที่สกัดน้ำมันแล้ว

| องค์ประกอบ (ร้อยละ) | รำข้าวดิบ (ร้อยละ) | รำข้าวสกัดน้ำมัน (ร้อยละ) |
|---|---|---|
| ความชื้น | 8.5 | 12.43 |
| โปรตีน | 12.6 | 13.89 |
| ไขมัน | 21.13 | 1.92 |
| เยื่อใยหยาบ | 5.59 | 6.03 |
| เถ้า | 8.97 | 10.13 |
| คาร์โบไฮเดรต | 43.12 | 55.6 |

ที่มา: สุดารัตน์ และคณะ, 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.5.5 เถ้าในรำข้าว** (Panthiwa, ม.ป.ป.)

เถ้า (Ash) คือ ส่วนของสารอนินทรีย์ (Inorganic) ได้แก่ แร่ธาตุต่าง ๆ เมื่อนำไปเผา ส่วนที่เป็นสารอินทรีย์จะถูกเผาไหม้หมด เหลือส่วนที่เป็นสารอนินทรีย์ ค่าของเถ้าที่หาได้สามารถบอกถึงคุณภาพของรำข้าว ถ้ามีปริมาณเถ้าสูงมากกว่าปกติ อาจมีการปลอมปนของทราย เป็นต้น

**2.5.6 คาร์โบไฮเดรตในรำข้าว**

คาร์โบไฮเดรต เป็นสารอินทรีย์ที่ประกอบขึ้นด้วยธาตุคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน โดยมีอัตราส่วนของไฮโดรเจนและออกซิเจนเช่นเดียวกับน้ำ คือ 2: 1 คาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนขององค์ประกอบที่สำคัญ ประมาณ 3 ใน 4 ส่วนของอาหาร ให้พลังงานและความร้อนในการทำงานต่างๆของร่างกาย แบ่งออกได้เป็น 2 จำพวกตามลักษณะการย่อย คือ ไนโตรเจนฟรีเอกสแตรก (Nitrogen free extract; NE) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่ละลายง่าย เช่น แป้ง น้ำตาล และคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยยาก หรือเยื่อใย (Crude fiber)

**2.5.7 องค์ประกอบอื่นๆในรำข้าว** (อรอนงค์, 2547)

รำข้าวยังอุดมไปด้วยวิตามิน ซึ่งได้แก่ แอลฟา-โทคอลฟีรอล (วิตามินอี) ไทอามีน (วิตามินบี1) ไรโบเฟลวิน (วิตามินบี2) ไนอาซิน (กรดนิโคทินิก) รวมถึงแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส ไฟทินฟอสเฟต เหล็ก และสังกะสี (ตารางที่2.5) ของข้าวเปลือก และส่วนที่ได้จากการแปรรูปข้าว (ความชื้น ร้อยละ 14)

**ตารางที่ 2.5** ปริมาณวิตามินและเกลือแร่ของข้าวเปลือก และส่วนที่ได้จากการแปรรูปข้าว (ความชื้น ร้อยละ 14)

| ส่วนของข้าว | ไทอะมิน (มก.) | ไรโบเฟลวิน (มก.) | ไนอะซิน (มก.) | แอลฟา-โทโคเฟอรอล (มก.) | แคลเซียม (มก.) | ฟอสฟอรัส (มก.) | ไฟทินฟอสเฟต (มก.) | เหล็ก (มก.) | สังกะสี (มก.) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| ข้าวเปลือก | 0.26-0.33 | 0.06-0.11 | 2.9-5.6 | 0.90-2.00 | 10-80 | 0.17-0.39 | 0.18-0.21 | 1.4-6.0 | 1.7-3.1 |
| ข้าวกล้อง | 0.29-0.61 | 0.04-0.14 | 3.5-5.3 | 0.90-2.50 | 10-50 | 0.17-0.43 | 0.13-0.27 | 0.2-5.2 | 0.6-2.8 |
| ข้าวสาร | 0.02-0.11 | 0.02-0.06 | 1.3-2.4 | 0.75-0.30 | 10-30 | 0.08-0.15 | 0.02-0.07 | 0.2-2.8 | 0.6-2.3 |
| รำข้าว | 1.20-2.40 | 0.18-0.43 | 26.7-49.9 | 2.60-13.3 | 30-120 | 1.1-2.5 | 0.9-2.2 | 8.6-43.0 | 4.3-25.8 |
| แกลบ | 0.09-0.21 | 0.05-0.07 | 1.6-4.2 | 0 | 60-130 | 0.03-0.07 | 0 | 3.9-9.5 | 0.9-4.0 |

ที่มา: Julaino, 1993

จากตารางแสดงให้เห็นว่า รำข้าวมีวิตามินและแร่ธาตุที่ดีที่สุด รองลงมาคือ ข้าวกล้อง และข้าวสาร ตามลำดับ จึงควรนำรำข้าวมาใช้ประโยชน์เพื่อเป็นอาหารมนุษย์แทนอาหารสัตว์ และควรบริโภคข้าวกล้อง ซึ่งมีคุณค่าทางอาหารมากกว่าข้าวสาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.6 ผลิตภัณฑ์จากรำข้าว (ฉลวย, 2555; อรอนงค์, 2547)

น้ำมันรำข้าว (รูปที่ 2.3) เป็นผลิตภัณฑ์จากรำข้าวดิบ หมายถึง ส่วนผสมของรำละเอียดและคัพภะ น้ำมันรำข้าวดิบ (Crude Rice Bran Oil) ประกอบด้วย ลิพิดที่ผ่านการสะพอนิฟิเคชัน (Saponifiable lipids) และลิพิดที่ไม่ผ่านการสะพอนิฟิเคชัน (Unsaponifiable lipids) ร้อยละ 4.2 นอกจากนี้ ยังมีออริซานอล (Oryzanol) ซึ่งเป็นสารประกอบเอสเทอร์ของกรดเฟอริวลิก มีในน้ำมันรำข้าวอยู่ประมาณร้อยละ 1.5 โดยกระบวนการทำให้น้ำมันบริสุทธิ์ด้วยเบสและการฟอกสี ทำให้ระดับออริซานอล (Oryzanol) ลดลง ดังนั้นถ้าลดกระบวนการทำให้น้ำมันบริสุทธิ์ลง จะช่วยให้น้ำมันมีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าน้ำมันบริสุทธิ์

**รูปที่ 2.3** น้ำมันจากรำข้าว
ที่มา: http://filla.com.mk/maslo-od-susam/

ส่วนรำข้าวสกัดไขมันที่ได้จากกระบวนการแปรรูปน้ำมันรำข้าว สามารถนำมาเป็นวัตถุดิบในการสกัดโปรตีนออกจากรำข้าวสกัดไขมันได้ โดยการบดรำข้าวสกัดไขมันให้ละเอียดใช้สารละลายเบสในการสกัดโปรตีนและปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนโปรตีน ทำให้แห้ง ได้เป็นโปรตีนสกัดเข้มข้น ส่วนของแข็งที่เหลืออยู่นำไปเป็นอาหารสัตว์ได้ สำหรับโปรตีนสกัดเข้มข้นใช้เป็นส่วนผสมอาหารเพื่อเสริมโปรตีน เช่น เครื่องดื่ม ขนมหวานและเครื่องดื่มคล้ายน้ำนม เป็นต้น

กระบวนการแปรรูปน้ำมัน จะทำให้ได้สารอื่นที่มีประโยชน์ด้วย ถ้าเพิ่มขั้นตอนการทำให้ได้สารนั้นบริสุทธิ์ขึ้น เช่น จากน้ำมันรำข้าวดิบในขั้นการกำจัดไขได้ไข จากขั้นการกำจัดกัมได้เลซิทิน จากขั้นการกำจัดกรดได้สบู่ จากขั้นการกำจัดกลิ่นได้โทคอลเฟอรอลและจากขั้นการทำให้น้ำมันใสจะได้สเทียริน เป็นต้น นอกจากนี้สามารถปรับปรุงคุณสมบัติของน้ำมันรำข้าวให้ดีขึ้นด้วยกระบวนการไฮโดรจิเนชันและปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน รวมทั้งกระบวนการอื่นๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.7 สารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าว

จุดเด่นของน้ำมันรำข้าว นอกจากคุณภาพด้านองค์ประกอบของกรดไขมันที่ให้ความสมดุลเหมาะกับความต้องการของร่างกาย ยังเป็นแหล่งที่มีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น โทโคเฟอรอลและโทโคไตรอีนอล (วิตามินอี) แคโรทีนอยด์และแกมมา-ออริซานอล (γ-oryzanol) คุณสมบัติที่โดดเด่นของน้ำมันรำข้าวซึ่งแตกต่างจากน้ำมันพืชอื่น คือ มีส่วนประกอบเป็นสารสำคัญ ได้แก่ แกมมา-ออริซานอล ที่พบในข้าวเท่านั้น รวมทั้งโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอรอล (วิตามินอี) ซึ่งพบว่าสามารถช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดและลดอัตราการเสี่ยงต่อการเกิดโรคหัวใจได้

### 2.7.1 แกมมา-ออริซานอล (γ-oryzanol)

แกมมา-ออริซานอล คือ สารประกอบที่สังเคราะห์ขึ้นตามธรรมชาติ โดยกระบวนการเมทาบอลิซึมจากกรดอะมิโน 2 ชนิด ฟีนิลอะลานีน (phenylalnine) และไทโรซีน (tyrosine) ภายในเมล็ดข้าวเกิดเป็นกรดเฟอรูลิก (ferulic acid) แล้วทำปฏิกิริยาเอสเทอริไฟด์(Esterified) กับสารสเทียริกเกิดเป็นสารอนุพันธ์ชนิดต่าง ๆ 10 ชนิด ในรูปของ Phytosteryl ferulate มีโครงสร้างขนาดใหญ่และซับซ้อน สารนี้จะสะสมอยู่ในน้ำมันตรงส่วนที่เป็นรำและคัพภะ พบว่ามีประมาณร้อยละ 1.5-2 ในน้ำมันรำข้าวดิบ (สายสนม, 2553 ; ฉลวย, 2555)

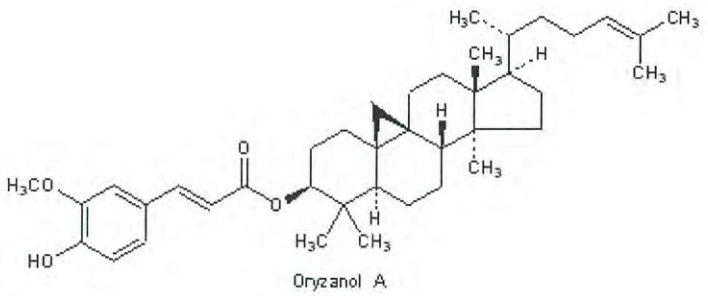
ออริซานอล (oryzanol) เป็นสารธรรมชาติที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง พบมากที่ผิวของเมล็ดข้าวกล้องหรือรำข้าว ดังนั้นจึงพบออริซานอลในน้ำมันรำข้าวเท่านั้น ข้อมูลทางชีวเคมีของสารนี้ แสดงในตารางที่ 2.6 และเป็นสารผสมที่ทราบสูตรโครงสร้างทางเคมีแล้ว 10 ตัว ทั้งหมดเป็นอนุพันธ์ของ ferulic acid และมี 3 ตัวที่มีความสำคัญในแง่ของการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และปัจจุบันเป็นที่สนใจในแง่ของการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ แกมมา-ออริซานอล มีโครงสร้าง แสดงดังรูปที่ 2.4 (อรุณศรี และคณะ, 2548)

**ตารางที่ 2.6** ข้อมูลทางชีวเคมีของแกมมา-ออริซานอล (γ-oryzanol)

| | |
|---|---|
| สูตรโมเลกุล | $C_{40}H_{58}O_4$ |
| มวลโมเลกุล | 602.9 |
| สี | ขาวหรือขาวเหลือง |
| ลักษณะ | โปร่งใสคล้ายผงแป้ง |
| กลิ่น | ไม่มี |
| การละลาย | ละลายได้ในน้ำมันละลายได้บ้าง |
| ในตัวทำละลายอินทรีย์ | ไม่ละลายน้ำ |

ที่มา: อรุณศรี และคณะ, 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



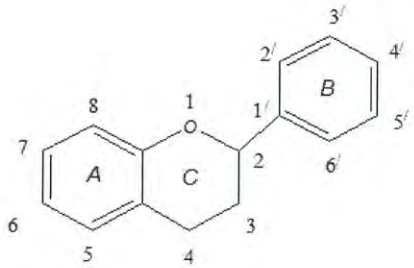

**รูปที่ 2.4** สูตรโครงสร้างของแกมมา-ออริซานอล (γ-oryzanol)
ที่มา: http://www.drugfuture.com/chemdata/gamma-oryzanol.html

ออริซานอล เป็นสารมีคุณสมบัติเช่นเดียวกันกับวิตามินอีในการต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของน้ำมันและป้องกันการเกิดออกซิเดชันของกรดไขมันอิ่มตัวได้ดีกว่าวิตามินอี (กลุ่มโทโคเฟอรอลและกลุ่มโทโคไตรอินอล) การเกิดออกซิเดชันเป็นสาเหตุของภาวะที่ผิดปกติในร่างกาย เช่น โรคมะเร็งโรคหลอดเลือด นอกจากนั้นยังช่วยลดคอเลสเตอรอลชนิดเลว (LDL) ในร่างกาย สารออริซานอลถูกค้นพบโดยนักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น สถาบันบรันสวิคส์ (Brunswick Laboratories) ในสหรัฐอเมริกา พบว่าออริซานอลสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินอีมากถึง 6 เท่า งานวิจัยทางด้านโภชนาการ พบว่าการบริโภคออริซานอลสามารถลดระดับคอเรสเตอรอลในเลือด ส่งเสริมการทำงานของหลอดเลือด ลดการจับตัวของเกล็ดเลือด และลดการสังเคราะห์คอเรสเตอรอลในตับ ช่วยเพิ่มระดับคอเลสเตอรอลชนิดดี (HLD) ช่วยปรับระดับฮอร์โมนในสตรีวัยทองลดอาการวูบวาบ (Hot Flashes) ใช้ต้านอาการอักเสบ ปัจจุบันออริซานอล ได้ถูกนำมาใช้เป็นยา อาหารเสริมสุขภาพ และมีบทบาทสำคัญในวงการเครื่องสำอาง โดยเฉพาะด้านการบำรุงและปกป้องรักษาผิวที่เกิดจากผลของแสงอัลตราไวโอเลตได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ฉลวย, 2555)

**2.7.2 สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)** (โอภา, 2549)

สารฟลาโวนอยด์ พบอยู่ทั่วไปในพืชที่มีสีเขียวและพบในทุกส่วนของพืชไม่ว่าจะเป็นรากเนื้อไม้ เปลือก ต้น ดอก ผล หรือเมล็ด ฟลาโวนอยด์ จัดเป็นสารสำคัญของกลุ่มโพลีฟีนอล มีสูตรโครงสร้างเป็นฟลาแวน (Flavan) หรือ 2-ฟีนิลเบนโซไพแรน (2-phenylbenzopyran) ประกอบด้วยคาร์บอน 15 อะตอม เรียงกันเป็นระบบ $C_6C_3C_6$ โดยมีวงเบนซีน 2 วง จับกันด้วยคาร์บอน 3 อะตอม ซึ่งอาจจัดเรียงเกิดเป็นวงที่ 3 ทำให้โครงสร้างหลักที่ได้นั้นเหมือนกับโครงสร้างหลักของวิตามินอีที่เป็นโครงสร้างแบบโครแมน (Chroman) หรือเบนโซไพแรน (Benzopyran) ดังรูปที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.5** โครงสร้างพื้นฐานของสารฟลาโวนอยด์
ที่มา: http://web2.mfu.ac.th/other/teainstitute/?p=295&lang=th

สารฟลาโวนอยด์ แบ่งกลุ่มย่อยตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้าง โดยเฉพาะวงซี ซึ่งเป็นวงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่างๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน รวมทั้งมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาแวน (Flanvanes) ฟลาวาโนน (Flavanones) ฟลาวานอล (Flavanols) ฟลาโวน (Flavones) ไอโซฟลาเวน (Isofavanes) ไอโซฟลาวาโนน (Isoflavonones) ไอโซฟลาวานอล (Isoflavonols) ไอโซฟลาโวน (Isoflavones) ชาลโคน (Chalcones) ไดไฮโดรชาลโคน (Dihydrochalcones) แอนโท-ไซยานิดิน (Anthocyanidins) และคูมาริน (Coumarins)

ฤทธิ์ทางเภสัชวิทยามีฤทธิ์ป้องกันและรักษาโรคต่างๆ เช่น โรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด ฤทธิ์ต้านมะเร็ง การต้านแบคทีเรีย ต้านการอักเสบ ต้านแพ้ ต้านไวรัส เป็นต้น สำหรับกลไกในการต้านอนุมูลอิสระของฟลาโวนอยด์นั้น มีการรายงานการศึกษาอย่างกว้างขวางทั้งฤทธิ์ในสารละลายน้ำและฤทธิ์ในลิพิด อย่างไรก็ตาม กลไกหลักในการออกฤทธิ์ของสารในกลุ่มนี้มี 3 กลไก คือ

1. เป็นสารคีเลต (Chelating agent) โดยเฉพาะสารที่โครงสร้างเป็นออร์โธไดไฮดร็อกซีฟีนอลิก จะทำหน้าที่จับ หรือฟอร์มพันธะโคออร์ดิเนตกับโลหะหนัก เช่น ทองแดง และเหล็ก ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการสร้าง รวมทั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ

2. เป็นสารต้านออกซิเดชันโดยหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ (Chain breaking antioxidant) ในการยับยั้ง หรือขจัดอนุมูลอิสระ เช่น lipid alkoxyl และ peroxyl radicals เป็นต้น โดยทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนแก่อนุมูลเหล่านั้น ดังปฏิกิริยา

$$\text{Flavonoid} - OH + R^{\cdot} \rightarrow \text{Flavonoid} - O^{\cdot} + RH$$

Flavonoid - OH คือ สารฟลาโวนอยด์

$R^{\cdot}$ คือ อนุมูลอิสระในร่างกาย

Flavonoid - $O^{\cdot}$ คือ อนุมูลฟีนอกซิล

หลังจากที่ฟลาโวนอยด์ถูกออกซิไดซ์แล้ว จะได้อนุมูลของฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิกเป็นผลิตผลและอนุมูลที่ได้นี้มีความเสถียรมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ทำหน้าที่ reagenerate วิตามินอี ($\alpha$-tocopherol) โดยจะรีดิวซ์อนุมูล $\alpha$-tocopheroxyl กลับเป็น $\alpha$-tocopherol เหมือนเดิม ทำให้สามารถทำหน้าที่เป็น Antioxidant ได้ต่อไป ดังแสดงในสมการ

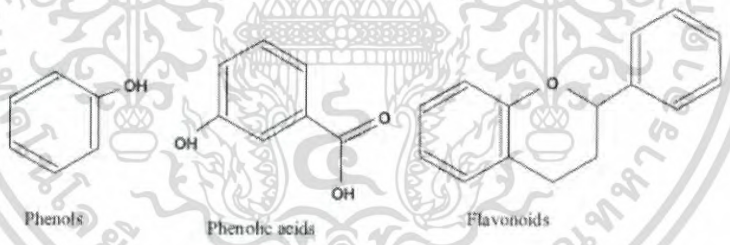
$$\alpha\text{-tocopherol} - OH + R^{\cdot} \rightarrow \alpha\text{-tocopherol} - O^{\cdot} + RH$$

$$\alpha\text{-tocopherol} - O^{\cdot} + \text{Flavonoid} - O \rightarrow \alpha\text{-tocopherol} - OH + \text{Flavonoid} - O^{\cdot}$$

**2.7.3 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound)** (พิมพ์เพ็ญ, ม.ป.ป.)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) หรือ สารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบได้ตามธรรมชาติ พบได้ในพืชหลายชนิด ซึ่งปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในอาหารและเครื่องดื่มที่มาจากพืช ผัก และผลไม้ จะแตกต่างกันออกไปตามชนิดของพืช วิธีการปลูก ระดับความสุก กระบวนการแปรรูปและการเก็บ การใช้ความร้อนในกระบวนการแปรรูปมีส่วนทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง และสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารกลุ่มหนึ่งที่มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ

สารประกอบฟีนอลิก มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารประกอบฟีนอลิกพื้นฐานคือ สารฟีนอล (Phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่ ดังรูปที่ 2.6




**รูปที่ 2.6** โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล
ที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/uploaded/phenolic%20compond.bmp

สารประกอบฟีนอลที่พบในพืช มักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (Glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (Glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (Organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีนแอลคาลอยด์ (Alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (Terpenoid) เป็นต้น

แหล่งที่พบ จะอยู่ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ในส่วนต่างๆของพืช เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโต และการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ถั่วเมล็ดแห้ง ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง
- เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว และ งา
- ผลไม้ ได้แก่ องุ่น ส้ม กระท้อน
- เครื่องเทศ เช่น พริกไทย พริก ขิง กระเทียม หอมแดง หอมหัวใหญ่
- พืชเครื่องดื่ม ได้แก่ ชา โกโก้
- พืชหัว ได้แก่ มันเทศ

ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลที่พบตามธรรมชาติในพืช ได้แก่

- จินเจอรอล (gingerol) พบในขิง
- ยูจินอล (eugenol) ในกานพลู ตะไคร้ ใบกระเพรา
- แคปไซซิน (capsaicin) ในพริก ดังรูปที่ 2.7
- เคอคิวมิน (Curcumin) ในขมิ้น
- แคทีชิน (catechin) ในชา

**รูปที่ 2.7** ตัวอย่างแคปไซซิน (Capsaicin) ในพริก
ที่มา: http://www.vcharkarn.com/varticle/37349

ประโยชน์ต่อสุขภาพ สารประกอบฟีนอลหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน และเป็นสารต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagrns) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอล จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (Free radical) และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ (Free radical) ทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ แต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วยใช้เพื่อการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (Lipid oxidation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.8 หลักการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและการทดสอบฤทธิ์

### 2.8.1 การหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธีเคดาลห์ (วันเพ็ญ, 2541)

วิธีเคดาลห์ เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดในสารประกอบอินทรีย์ต่างๆ ซึ่งมีทั้งโปรตีน และสารประกอบอื่นๆที่ไม่ใช่โปรตีน แต่มีไนโตรเจน (Non-protein nitrogen) รวมอยู่ด้วย โดยอาหารจะถูกย่อยด้วยกรดกำมะถันเข้มข้น เกิดปฏิกิริยาได้เป็นแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) ในการย่อยจะเติมโซเดียม หรือโพแทสเซียมซัลเฟตลงไป เพื่อเพิ่มจุดเดือดของการย่อยให้สูงขึ้น และมีคอปเปอร์ซัลเฟต หรือเมอร์คิวริคออกไซด์เป็นคะตะ-ลิสต์ (Catalyst) เพื่อเร่งปฏิกิริยาให้เร็วขึ้น

แอมโมเนียมซัลเฟตที่เกิดขึ้น จะทำปฏิกิริยากับโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นที่มากเกินพอ จะได้ก๊าซแอมโมเนียมออกมา ทำการกลั่นโดยตรง หรือทำการกลั่นแบบใช้ไอน้ำเพื่อไล่ก๊าซแอมโมเนียมออกมาให้หมด จับก๊าซแอมโมเนียมด้วยสารละลายกรดบอริค และไตเตรทหาปริมาณแอมโมเนียด้วยสารละลายกรดกำมะถันมาตรฐาน อย่างไรก็ตาม วิธีเคดาลห์เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนจากสารประกอบอินทรีย์ เช่น ไนเตรทและไนไตรท์ ผลการวิเคราะห์ที่ได้ใช้ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดที่วิเคราะห์ได้คูณด้วยค่าแฟคเตอร์ (Conversion factor; CF) เปลี่ยนให้เป็นปริมาณโปรตีนทั้งหมด

สมการแสดงขั้นตอนการเกิดปฏิกิริยา ดังนี้

$$\text{โปรตีน} \xrightarrow{\text{กรดซัลฟูริค, } \Delta \text{ และคะตะลิสต์}} (NH_4)_2SO_4$$

$$(NH_2)SO_4 + 2NaOH \longrightarrow 2NH_3 + Na_2SO_4 + 2H_2O$$

$$NH_3 + H_3BO_3 \longrightarrow NH_4 + H_2BO_3^-$$

$$H_2BO_3^- + H^+ \longrightarrow H_3BO_3$$

**การคำนวณ**

จำนวนโมเลกุลของ HCl = จำนวนโมเลกุล $NH_3$ = จำนวนโมลของ N ในตัวอย่าง

$$\%N = N{\cdot}HCl \times \frac{V_a - V_b}{\text{ตัวอย่าง(กรัม)}} \times \frac{14 \text{ กรัม ไนโตรเจน}}{\text{จำนวนโมล}} \times 100$$

$N{\cdot}HCl$ = นอร์มัลของ HCl (โมล/100 มิลลิลิตร)

$V_a$ = ปริมาตรของ HCl ที่ใช้ในการไตเตรท

$V_b$ = ปริมาตรของ HCl ที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่างอาหาร

14 = น้ำหนักอะตอมของไฮโดรเจน

แฟคเตอร์ที่ใช้ในการเปลี่ยนปริมาณไนโตรเจนเป็นโปรตีน (crude protein) ส่วนใหญ่โปรตีนจะประกอบด้วยไนโตรเจนร้อยละ 16 ดังนั้น conversion factor ที่ใช้คือ 6.25 (100/16 = 6.25)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{โปรตีน}(\%) = \frac{\%N}{0.16}$$

$$\text{หรือโปรตีน}(\%) = \%N \times 6.25$$

**ตารางที่ 2.7** แฟคเตอร์ที่ใช้สำหรับเปลี่ยนไนโตรเจนให้เป็นโปรตีนกับอาหารแต่ละชนิด (ลักขณาและนิธิยา, 2533)

| อาหาร | CF |
|---|---|
| ข้าวสาลี | 5.83 |
| แป้งสาลี | 5.70 |
| มักโรนี | 5.70 |
| รำ | 6.31 |
| ข้าวจ้าว | 2.95 |
| ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโอ๊ต และข้าวไรย์ | 5.83 |
| ข้าวโพด | 6.25 |
| ถั่วเหลือง | 5.71 |
| ถั่วลิสง บราซิลนัท | 5.41 |
| อัลมอนด์ | 5.18 |
| นัทชนิดอื่นๆ | 5.30 |
| น้ำนมและผลิตภัณฑ์นม | 6.38 |
| เจลาติน | 5.55 |
| อาหารชนิดอื่น | 6.25 |

**2.8.2 การหาปริมาณไขมัน** (วันเพ็ญ, 2541)

การวิเคราะห์ไขมันโดยวิธีตรง (Direct extraction methods) เป็นวิธีการสกัดด้วยตัวละลายอินทรีย์ต่างๆโดยตรง และโดยทั่วไปแล้วส่วนประกอบที่เป็นไขมันในอาหารจะเป็นสารประกอบจำพวกลิพิด ซึ่งสกัดออกได้ด้วยอีเทอร์ ทั้งปิโตรเลียมอีเทอร์และไดเอทธิลอีเทอร์จัดเป็นสารละลายชนิดที่ไม่มีขั้ว (non-polar solvent) สารที่สกัดได้ เรียกว่า สารที่สกัดได้จากอีเทอร์ (ether extrac หรือ crude fat) เป็นลิพิดอิสระ (free lipid) ที่พบในอาหารนั้น แต่ถ้าทำการสกัดด้วยแอลกอฮอล์ ส่วนที่สกัดได้จะมีส่วนประกอบอื่นที่ติดอยู่กับไขมันปนอยู่ด้วย

สารละลายที่ใช้ในการสกัดไขมันนั้นควรมีความสามารถสูงในการละลายไขมัน และมีความสามารถต่ำในการละลายสารพวกโปรตีน กรดอะมิโน และคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้แล้วควรเป็นสารละลายที่ระเหยได้ง่ายและไม่มีสารตกค้าง มีจุดเดือดต่ำ ไม่มีควัน และไม่เป็นพิษทั้งในรูปของของเหลวและไอระเหย สารละลายนี้ควรมีความสามารถที่จะทะลุอนุภาคของตัวอย่าง มีองค์ประกอบเดียวเพื่อหลีกเลี่ยงการแตกตัว มีราคาไม่แพงและไม่ดูดความชื้น อย่างไรก็ตาม สารละลายที่มีคุณสมบัติครบถ้วนดังที่กล่าวมาข้างต้นนั้นค่อนข้างหายาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้นำไปดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายที่เป็นที่นิยมใช้ในการสกัดไขมัน ได้แก่ เอธิลอีเทอร์และปิโตรเลียมอีเทอร์ ขณะที่สกัดน้ำมันจากถั่วเหลืองจะใช้สารละลายเพนและเฮกเซน

เอธิลอีเทอร์มีจุดเดือด 34.6 องศาเซลเซียส ติดไฟง่าย เป็นสารละลายที่ใช้สกัดไขมันได้ดีกว่าปิโตรเลียมอีเทอร์ แต่จะมีราคาแพงเมื่อเปรียบเทียบกับสารละลายอื่นๆ ส่วนปิโตรเลียมอีเทอร์จะมีจุดเดือดต่ำที่ 35-38 องศาเซลเซียส เป็นส่วนหนึ่งของโตรเลียมและเป็นองค์ประกอบหลักของสารพวกเพนเทนและเฮกเซน ดูดความชื้นได้มากกว่าเอทธิลอีเทอร์ บางครั้งอาจมีการใช้สารละลายสองหรือสามชนิดร่วมกัน ซึ่งสารละลายควรมีความบริสุทธิ์และปราศจากสารเปอร์ออกไซด์ อัตราส่วนของสารละลายที่ใช้ควรมีความเหมาะสมเพื่อให้สามารถสกัดไขมันจากอาหารได้ดีที่สุด

**2.8.3 การหาปริมาณเถ้า** (วันเพ็ญ, 2541)

การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า แบ่งเป็น 3 ประเภท ดังนี้

1. Dry ashing เป็นการหาปริมาณเถ้าตัวอย่างที่อุณหภูมิ 500 ถึง 600 องศาเซลเซียส น้ำและสารระเหยต่างๆในตัวอย่างจะระเหยเป็นไอ สารอินทรีย์จะถูกเผาไหม้ในสภาพที่มีออกซิเจนกลายเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และก๊าซไนโตรเจน แร่ธาตุส่วนใหญ่จะถูกเปลี่ยนไปเป็นออกไซด์ ได้แก่ ซัลเฟต ฟอสเฟต คลอไรด์และซิลิเกต แร่ธาตุอื่นๆ เช่น เหล็ก เซเลเนี่ยม (Se) ดีบุก และปรอท จะระเหยในขั้นตอนนี้ ดังนั้น ถ้าต้องการวิเคราะห์หาแร่ธาตุที่ระเหยได้ จึงไม่ควรใช้วิธีการนี้

2. Wet ashing เป็นการออกซิไดซ์สารอินทรีย์ โดยการใช้กรดและสารออกไซด์ หรือทั้งสองอย่างร่วมกัน แร่ธาตุจะถูกละลายโดยปราศจากการระเหย มักนิยมใช้วิธีการนี้มากกว่า Dry ashing เพื่อเตรียมการวิเคราะห์หาแร่ธาตุต่างๆ กรดที่นิยมใช้ ได้แก่ กรดไนตริกและกรดเปอร์คลอริค เป็นต้น และควรทำในตู้ดูดไอกรด มักใช้กับตัวอย่างอาหารที่มีปริมาณไขมันสูง ได้แก่ เนื้อสัตว์ และผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์

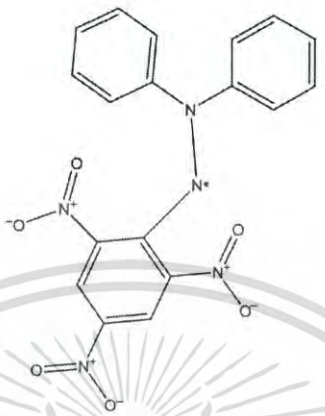
3. Low-temperature plasma ashing หรือ Low-temperature ashing เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้าโดยการเผาที่อุณหภูมิต่ำมากกว่าการกระทำในเตาเผา เพื่อป้องกันการระเหยของแร่ธาตุส่วนใหญ่ที่มีในตัวอย่าง เป็น Dry ashing แบบหนึ่ง เพื่อการวิเคราะห์หาแร่ธาตุที่ระเหยได้

**2.8.4 วิธี 1, 1-diphenyl-2-picryhydrazyl radical scavenging capacity assay (DPPH assay)**

วิธี DPPH assay เป็นวิธีเบื้องต้นที่ใช้ในการทดสอบเพื่อวัดประสิทธิภาพความมีฤทธิ์ของสารในการต่อต้านอนุมูลอิสระโดย DPPH หรือ 1,1-diphenyl-2-picryhydrazyl คือ สารอนุมูลอิสระ ที่มีโครงสร้างทางเคมีที่วงเบนซีน 3 วง บดบังอิเล็คตรอนโดดเดี่ยวของอนุมูลอิสระ (ดังรูปที่ 2.8) โดยลักษณะดังกล่าวนี้ โอภา (2549) ชี้ว่าจะทำให้สารต้านอนุมูลอิสระมีฤทธิ์แรง แต่ด้วยลักษณะของสารที่มีโมเลกุลขนาดใหญ่ ทำให้สารต้านอนุมูลอิสระบางชนิดไม่สามารถ

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือจำหน่ายเพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

เข้าไปทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลอิสระได้หรือมีสภาพคล่องของการทำงานที่ลดลงทำให้เกิดปฏิกิริยาช้ากว่าความเป็นจริง DPPH จัดเป็นสารรีดิวซ์ที่อยู่ในกลุ่มของอนุมูลไนโตรเจน มีความคงตัว และมีสารสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูล เมื่อทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะทำให้สีม่วงที่มีอยู่เดิมจางลง



**รูปที่ 2.8** โครงสร้างของ DDPH หรือ 1, 1-diphenyl-2-picryhydrazyl
ที่มา: Liangli, 2007

พิมพ์เพ็ญ และนิธิยา (ม.ป.ป.) แสดงกลไกการการเกิดปฏิกิริยาของ DPPH•กับ antioxidant (AH) หรือกับ radical species (R•) ดังนี้

$$DPPH^{\bullet} + AH \rightarrow DPPH - H + A^{\bullet}$$

$$DPPH^{\bullet} + R^{\bullet} \rightarrow DPPH - R$$

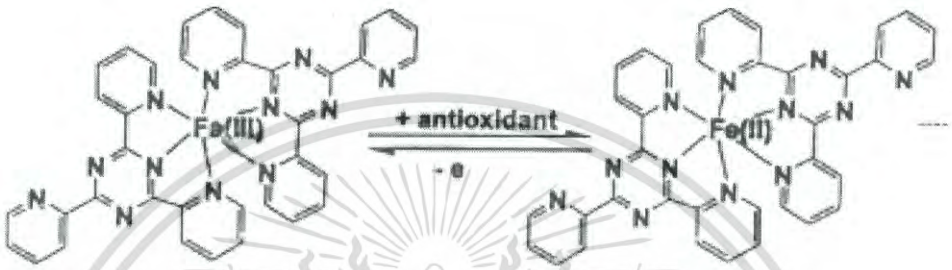
เมื่อ DPPH•ทำปฏิกิริยากับสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สีของสารละลายสีม่วงจะเปลี่ยนเป็นสีเหลือง โดยเปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้เป็นมาตรฐาน ซึ่งสารมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ด้วยเทคนิค DPPH ได้แก่ สาร Trolox (โทรลอกซ์) Ascorbic acid และ BHA

การทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธีนี้จะทำการตรวจสอบด้วยเครื่องมือวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร Liangli (2007) และรายงานในรูปของค่า $IC_{50}$ ซึ่งเป็นค่าความเข้มข้นของสารที่ใช้เพื่อลดอนุมูลอิสระไปร้อยละ 50 ซึ่งทำโดยการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %inhibition DPPH• กับความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง ข้อดีของวิธีนี้ คือ เป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว ง่ายต่อการวิเคราะห์ ให้ความถูกต้องและมี reproducility สูง แต่ข้อเสีย คือ ไม่สามารถใช้วิธีนี้วิเคราะห์ Antioxidant activity ของเลือดได้ เพราะต้องวัดในปฏิกิริยาที่เป็น Alcohol ซึ่งทำให้เลือดตกตะกอนได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.8.2 วิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP assay)

วิธี FRAP assay เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการต้านสารออกซิเดชัน โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน คือ เมื่อสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine ($Fe^{3+}$ - TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชันแล้วเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine ($Fe^{2+}$-TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน ดังรูปที่ 2.9




**รูปที่ 2.9** ปฏิกิริยาของ FRAP assay

ที่มา: http://images.slideplayer.com/38/10808736/slides/slide_5.jpg

วิธี FRAP สามารถติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร Nishaa (2012) จากนั้นศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันในสารตัวอย่างโดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ferrous sulfate แล้วรายงานเป็นค่า FRAP value ข้อดีของวิธีนี้ คือ เสียค่าใช้จ่ายน้อย สะดวก รวดเร็ว มีขั้นตอนในการทดลองไม่ยุ่งยากซับซ้อน และมี reproducibility ดี

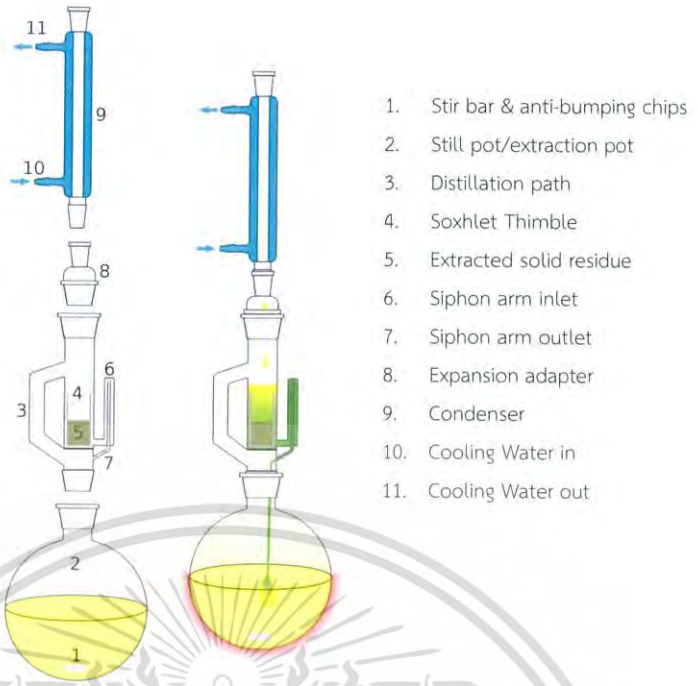
## 2.9 วิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในปัจจุบันมีหลายวิธี ในการศึกษานี้จะกล่าวถึง การสกัดแบบดั้งเดิมด้วยการทำให้ตัวทำละลายไหลวนด้วยเครื่องซอกห์เลต (Soxhlet) และการหมัก (Maceration)

### 2.9.1 การสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet Extractor)

โดยทั่วไปงานวิจัยทางด้านการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ จะใช้วิธีนี้ซึ่งเป็นวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้ชุดเครื่องมือซอกห์เลต มีลักษณะเครื่องมือแสดงดังรูปที่ 2.10 หลักการ คือ สารที่ต้องการสกัดจะละลายออกมาจากวัสดุด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่กลั่นและควบแน่นวนกลับมาอย่างต่อเนื่อง กระบวนการสกัดนี้จะใช้เวลานานมากกว่า 3 ชั่วโมง หรือ จนกว่าไม่มีสารที่ต้องการละลายออกมาแล้ว ซึ่งอาจสังเกตได้จากสารละลายที่สกัดได้นั้นไม่มีสีของสารที่ต้องการ (ดวงกมล, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 2.10** เครื่องมือซอกห์เลต (soxhlet extractor)

ที่มา: http://www.mitscitech.com/index.php?option=com_content&view=article&id=755&Itemid=271

ตัวแปรที่มีผลต่อการสกัด ได้แก่

1.) ชนิดของตัวทำละลาย ต้องเหมาะสมกับการสกัดสารที่สนใจ โดยอาศัยหลักการ like dissolve like

2.) ปริมาตรตัวทำละลายที่ใช้สกัด ต้องมีมากพอ คือ เมื่อตัวทำละลายส่วนหนึ่งเกิดการระเหยขึ้นไปสกัดสารก่อนที่จะเต็ม Reflux sidearm แล้วจากนั้นจะเป็นแบบลักษณะของกาลักน้ำต่อไป ในส่วนของ Flask ก็จะต้องมีตัวทำละลายเหลืออยู่ เพื่อทำให้การสกัดเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องตลอดเวลา ซึ่งตัวทำละลายที่มากเกินพอ สามารถระเหยออกได้เมื่อสกัดสารที่สนใจได้ตามที่ต้องการ ด้วยเครื่อง Rotary evaporator.

3.) เวลาที่ใช่สกัด ต้องมีความเหมาะสม ที่จะสามารถสกัดเอาสารที่สนใจออกจากตัวอย่างให้ได้มากที่สุด ซึ่งในเทคนิคนี้ ส่วนใหญ่เวลาที่ใช้สกัดมักยาวนานเป็นชั่วโมง เพื่อให้เกิดการ reflux ของตัวทำละลายหลายๆ ซ้ำ ทำให้สารที่สนใจถูกสกัดออกจากตัวอย่างได้มากที่สุด

4.) ตัวอย่าง เทคนิคนี้ตัวอย่างมักจะเป็นของแข็ง ดังนั้น ต้องทำตัวอย่างให้มีพื้นผิวสัมผัสกับสารมากที่สุด คือพยายาม สับ หรือ หั่น ให้ตัวอย่าง มีขนาดเล็กที่สุด เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัส

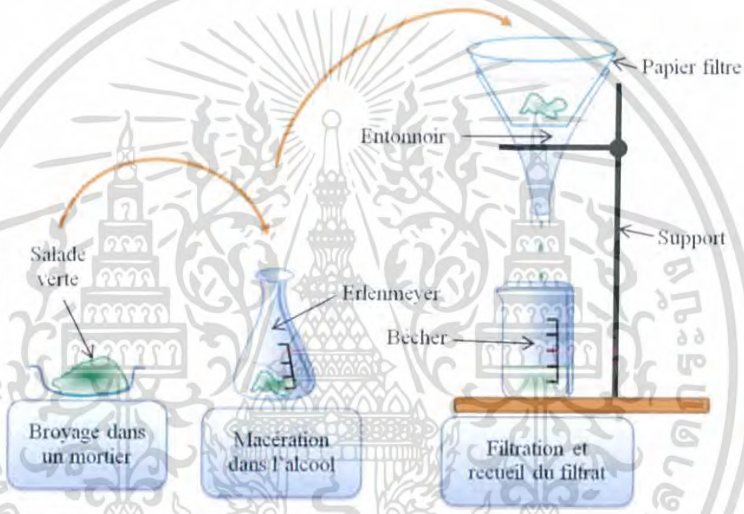
การสกัดด้วยวิธีนี้มีข้อดี คือ เป็นเทคนิคที่มีราคาถูก (ราคาตัวทำละลาย) ค่อนข้างทำได้ง่าย ไม่ยุ่งยากมากนัก ส่วนข้อด้อย จะใช้เวลาสกัดนาน มีตัวทำละลายอินทรีย์เหลือเป็น waste หลังจากกระบวนการเสร็จสมบูรณ์ ซึ่งตัวทำละลายอินทรีย์เหล่านี้มักมีความเป็นพิษทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อผู้ปฏิบัติงานและสิ่งแวดล้อม (ในกรณีที่ทิ้งแบบที่ไม่มีการจัดการที่ดี) สามารถประยุกต์ใช้ได้ในการวิเคราะห์สารที่สนใจที่อยู่ในตัวอย่างของแข็ง เช่น ดิน ผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ เป็นต้น

### 2.9.2 การสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration)

กระบวนการสกัดด้วยวิธีการหมัก เป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมากในการสกัดสารเคมีพฤกษเคมี หรือน้ำมันหอมระเหยจากพืชที่ใช้เป็นยาในการผลิตทางเคมี โดยการแช่วัสดุที่ต้องการสกัดลงในตัวทำละลายอินทรีย์ที่บรรจุในภาชนะที่มีฝาปิดมิดชิด เพื่อป้องกันการระเหยของตัวทำละลายอินทรีย์ น้ำมันที่สกัดได้จะถูกแยกโดยการกรอง แสดงดังรูปที่ 2.11 วิธีนี้จัดเป็นวิธีที่ง่ายที่สุดแต่ใช้เวลานาน ยังคงใช้วิธีนี้ในการเลือกชนิดตัวทำละลายที่เหมาะสม อัตราส่วนตัวทำละลายกับวัสดุที่ต้องการสกัด (ดวงกมล, 2557)




**รูปที่ 2.11** การสกัดแบบ Maceration

ที่มา: http://guy.chaumeton.pagespersoorange.fr/scphysiques2010/images07/extrachloro.jpg

Ahmad (2015) กล่าวว่า การหมัก คือ กระบวนการที่ยาถูกวางหรือแช่อยู่ในตัวทำละลายในช่วงเวลาที่กำหนด จนกระทั่งตัวทำละลายสามารถแทรกซึมโครงสร้างเซลล์ที่อ่อนตัวลงและส่วนที่ละลายได้จะละลายหรือถูกสกัดออกมา ตัวอย่างเช่น ถุงชา และ Bagul (2016) ได้รวบรวมทฤษฎีเกี่ยวกับกระบวนการหมัก ได้ดั้งนี้

1.) Schoenemann's Diffusion theory กล่าวว่า อัตราการสกัดจะขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่กระจาย

2.) Boucher et al., Soaking theory กล่าวว่า ไม่เพียงแต่ขึ้นอยู่กับอัตราการแพร่กระจาย แต่ยังมีอัตราการละลายของสารในตัวทำละลายที่มีผลต่ออัตราการสกัด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.) Karnowsky's Capillary velocity Theory กล่าวว่า อัตราการสกัดเป็นอัตราการไหลในเส้นเลือดฝอย ทฤษฎีการหมักของ Schultz & Koltz คือ $C = am^q$

โดย C = ความเข้มข้นในสารสกัด ($kg/m^3$)

m = น้ำหนักของตัวทำละลาย โดยใช้หน่วยปริมาณร้อยละของยา (kg/kg)

a และ q = ค่าคงที่

ปัจจัยที่มีผลต่อการหมัก ได้แก่

1.) อัตราส่วนระหว่างวัสดุและตัวทำละลาย

2.) ขนาดอนุภาคของวัสดุ

3.) ความสามารถของตัวทำละลายต้องสามารถละลายวัสดุได้

4.) อุณหภูมิ ทำให้มีการละลายที่เพิ่มขึ้น (ค่าสัมประสิทธิ์การแพร่) และค่าความหนืดลงลง

5.) ค่าความเป็นกรด-ด่าง มีอิทธิพลต่อการคัดเลือกของการสกัด (เชิงคุณภาพและเชิงปริมาณ)

6.) ระดับของลิโพฟิลิก (Lipophilic) หมายถึง ส่วนโมเลกุลของสารประกอบที่ไม่มีขั้วและชอบละลายได้ดีในน้ำมัน

7.) ผลของการเติมสารลดแรงตึงผิว เกลือและตัวทำละลายร่วม

การสกัดด้วยวิธีนี้มีข้อดี คือ อุปกรณ์ไม่ซับซ้อน เหมาะกับพืชที่ไม่ทนความร้อน ส่วนข้อด้อยคือ ใช้เวลานานและใช้ตัวทำละลายปริมาณมาก เนื่องจากต้องสกัดซ้ำๆหลายครั้ง

## 2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.10.1 การศึกษาผลของขนาดอนุภาคของรำข้าวที่มีต่อปริมาณแกมมา-ออริซานอลและสารประกอบอื่นๆ

การลดขนาดอนุภาคสามารถช่วยในการสกัดสารประกอบทางพฤกษเคมีได้มากขึ้น จากการศึกษาผลของขนาดอนุภาครำข้าวที่มีต่อปริมาณผลผลิตและลักษณะของสารประกอบแกมมา-ออริซานอล การสกัดแกมมา-ออริซานอล โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและไอโซโพรพานอล และหาปริมาณโดยใช้วิธี spectrophotometry ทั้งนี้จะวิเคราะห์ลักษณะสารสกัดแกมมา-ออริซานอล ด้วย HPLC-UV และได้ตรวจสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดสาร $DPPH^{\bullet}$ ปริมาณของแกมมา-โอไรซานอลจะอยู่ในช่วง 0.10 - 1.54 มิลลิกรัมต่อกรัมของรำข้าว และให้ปริมาณผลผลิตสูงสุดเมื่อใช้อนุภาคของรำข้าวที่มีขนาดเล็กกว่า 0.39 มิลลิเมตร ส่วนประกอบของสารแกมมา-โอไรซานอล (cycloartenyl ferulate, 2,4-methylene cycloartanyl ferulate, campesteryl ferulate และ β-sitosteryl ferulate) ในสารสกัดนั้น ได้รับการยืนยันและตรวจสอบความแตกต่างในรายละเอียดของส่วนประกอบนี้ในการทำงานของอนุภาคที่แตกต่างกัน ปริมาณแกมมา-ออริซานอลที่ได้จากอนุภาคของรำข้าวขนาดระหว่าง 0.73 และ 1.67 มิลลิเมตร ได้แสดงให้เห็นถึงการยับยั้งเฉพาะส่วนของ DPPH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

radical (6.7%) และ $IC_{50}$ 6.63 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อขนาดอนุภาคลดลงจะทำให้ตัวทำละลายเข้าไปสัมผัสกับพื้นที่ผิวของอนุภาครำข้าวได้เพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดการสกัดแกมมา-โอไรซานอลมากขึ้น อย่างไรก็ตาม สารสกัดจากอนุภาคขนาดใหญ่ก็ถูกทำให้มีประสิทธิภาพเพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Massarolo และคณะ, 2017)

**2.10.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยสกัด**

การสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยสกัด ใช้ตัวทำละลายไอโซโพรพานอลและเฮกเซนในอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อรำข้าว 3 : 1 (w/w) ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำที่อุณหภูมิ 40, 60, 80, 100 และ 120 องศาเซลเซียส โดยใช้เวลาในการสกัดทั้งหมด 15 นาทีต่อตัวอย่าง แยกสารประกอบในน้ำมันโดยใช้เครื่อง HPLC เฟสปกติและวัดปริมาณด้วยเครื่อง และตรวจวัดปริมาณด้วย detector ชนิด fluorescence ความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระของน้ำมันทดสอบด้วยวิธี DPPH และแสดงค่ากิจกรรมการต้านสารอนุมูลอิสระเป็นค่า Trolox Equivalent Antioxidant Activity (TEA) ในหน่วยไมโครโมล การศึกษาพบว่าไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับเฮกเซน ทั้งในการสกัดโดยใช้ คลื่นไมโครเวฟช่วยสกัดและการสกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้ตัวทำละลาย นอกจากนี้ไอโซโพรพานอลที่อุณหภูมิสูงกว่าจะมีฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระในการกำจัดสาร DPPH ถึงร้อยละ78 โดยการเพิ่มอุณหภูมิจาก 40 ถึง 120 องศาเซลเซียส พบว่าผลผลิตน้ำมัน ปริมาณวิตามินอีทั้งหมด และฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวระหว่างสองวิธีการสกัดไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ คาดว่าการสกัดด้วยไมโครเวฟที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสอาจทำงานได้ดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบดั้งเดิม เนื่องจากมีอัตราการให้ความร้อนที่เร็วขึ้นและผลการทดลองพบว่าในระหว่างกระบวนการสกัดทั้งหมดปริมาณแกมมา-โทโคฟีรอลไม่ได้ลดลง (Zigoneanu และคณะ, 2008)

**2.10.3 การหาองค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระและกิจกรรมของสารสกัดรำข้าว**

รำข้าว เป็นผลิตภัณฑ์ที่สำคัญเกิดขึ้นจากกระบวนการในการขัดสีข้าว ในงานวิจัยนี้ได้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวรำข้าวอิหร่านทั้งสองชนิดคือ Fajr และ Tarem ซึ่งประเมินการสกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิดคือ เมทานอล เอทานอลและเอทิลอะซิเตท ฤทธิ์ของสารตานอนุมูลอิสระจะถูกประเมินโดยการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด โดยประเมินสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ระบบกรดลิโนเลอิก ในการกำจัดสาร DPPH สารสกัดจากรำข้าว Fajr พบว่ามีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 3.31 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของรำข้าว และที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระร้อยละ 93.91 และฤทธิ์การยับยั้งของกรดลิโนเลอิก คือ ร้อยละ 68.01 ผลการทดลองนี้แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากรำข้าวที่ใช้เมทานอลในการสกัดจะสามารถออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติได้ดี (Arab และคณะ, 2011)

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินทางปัญญาของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาผลประโยชน์ทางการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น โดยไม่ได้รับอนุญาตเป็นลายลักษณ์อักษรจากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**2.10.4 สารประกอบฟีนอลิก (ชนิดที่มีความสามารถยึดเหนี่ยวกับสารโมเลกุลอื่น) และคุณสมบัติสารต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดธัญพืช และรำข้าวสีขาว สีแดงและสีดำ**

ปริมาณกรดฟีนอลิกและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดธัญพืชและรำข้าวที่มีสีแตกต่างกัน18 ชนิด ได้รับการศึกษาโดยหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content, TPC) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกชนิดยึดเหนี่ยวกับองค์ประกอบอื่นจะมีค่าสูงกว่าชนิดอิสระอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งในเมล็ดธัญพืชหรือรำชนิดต่างๆ กรดฟีนอลิกที่ยึดเหนี่ยวกับองค์ประกอบอื่นในตัวอย่างข้าวขาวคือ กรดเฟอรูริก กรดพีคูมาริก และกรดไอโซ-เฟอรูริก และสารสีในข้าวตัวอย่าง ได้แก่ กรดเฟอรูริก กรดพีคูมาริกและกรดวานิลลิก ตรวจไม่พบในตัวอย่างรำขาว คือ กรดโปรโตคาทีคูอิกและกรด 2,5-ไดไฮดรอกซีเบนโซอิก ปริมาณของกรดแกลลิก กรดโปรโตคาทีคูอิก กรด 2,5-ไดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดเฟอร์รูลิก กรดซิแนพพิค สารเหล่านี้มีความสัมพันธ์กับสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ การศึกษานี้ พบสารประกอบฟีนอลิกที่หลากหลายและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในธัญพืชและรำข้าวและเป็นโอกาสใหม่ในการปรับปรุงข้าวที่มีสารพฤกษเคมีเพิ่มขึ้น (Pang และคณะ, 2018)

**2.10.5 ข้อมูลฟลาโวนอยด์และปริมาณฟีนอลของรำข้าว ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและข้อมูลทางกายภาพของสารสกัดจากเมล็ดและธัญพืชสีแดงและสีม่วง จำนวน 32 พันธุ์**

สารพฤกษเคมีในรำข้าวสีแดงและสีม่วง จำเป็นต่อสุขภาพของมนุษย์ ได้ถูกทำการตรวจสอบสารพฤกษเคมีในรำข้าวสีแดงและสีม่วง 32 พันธุ์ข้าวจากทั่วโลก มีคำอธิบายลักษณะต้นกำเนิดและลักษณะทางกายภาพของธัญพืชทั้งหมด (สี ความยาว ความกว้าง ความหนาและน้ำหนักกรัมต่อ 100 เมล็ด) ข้อมูลฟลาโวนอยด์และปริมาณฟีนอล ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารสกัดจากเมล็ดทั้งหมด (Chen และคณะ, 2016)

**2.10.6 ผลของเทคนิคการสกัดต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและองค์ประกอบทางพฤกษเคมีประเภทโพลีฟีนอลของสารสกัด**

ในงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาถึงผลกระทบของวิธีการสกัด (การแช่หรือเขย่าการต้ม MAE และUAE) ต่อการกำหนดปริมาณฟีโนลิกทั้งหมด (Total phenolic content; TPC) การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณของสารฟีนอลิกในสารสกัดจากพืชหลายชนิด (ทับทิม วอลนัต มะรุม และดอกราชพฤกษ์) ผลการทดลองพบว่าตัวอย่างทั้งหมดที่ใช้การสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟช่วยในการสกัด (MAE) จะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด ดังนี้ คือ PP (18.92 ± 0.11), ML (15.19 ± 0.11), HL (12.69 ± 0.16) และ WS (12.80 ± 0.11) mg GAE /g ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ด้วย LC-$MS^2$ พบว่ามีฟีนอลิกที่หลากหลายโดยเป็นปริมาณของกรดฟีนอลฟลาโวนอยด์และลิแกน การปรากฏตัวของโมเลกุลของฟีนอลแต่ต่างกันแสดงให้เห็นว่า วิธีสกัดมีอิทธิพลต่อโครงสร้างทางพฤกษเคมี นอกจากนี้ผลที่ได้จาก

เอกสารนี้เป็นการ... ไม่ว่ากรณี...

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการสกัดด้วย MAE นี้ เป็นทางเลือกที่ง่ายในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์จากแหล่งต่างๆของพืช และมีประสิทธิภาพมากกว่าวิธีการสกัดด้วยการเขย่า การต้ม และ UAE จึงกล่าวได้ว่าการสกัดด้วยเทคนิค MAE เป็นเทคนิคที่มีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจากมีสมรรถภาพในการสกัดสูง (Castro-López และคณะ, 2017)

**2.10.7 ผลของอุณหภูมิและตัวทำละลายต่อกระบวนการสกัดโพลีฟีนอลจากไม้ต้นเกาลัด**

โพลีฟีนอลเป็นกลุ่มของสารเคมีที่พบได้ในพืช จัดลักษณะโดยมีฟีนอลมากกว่าหนึ่งหน่วย หรือหน่วยโครงสร้างต่อโมเลกุล โพลีฟีนอล แบ่งออกเป็น แทนนินที่สามารถย่อยสลายได้ (ประกอบด้วยโครงสร้างของสาร 2 กลุ่ม คือ ส่วนที่เป็นน้ำตาล ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และสารประกอบโพลีออล ส่วนที่เป็นกรดฟีนอลิก ได้แก่ กรดแกลลิก) และฟีนิลโพรพานอยด์ (phenyl-propanoids) เช่น ลิกนิน (lignins) ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และคอนเดนเซดแทนนิน (condensed tannins) สารโพลีฟีนอลนั้น ได้รับการยอมรับอย่างแพร่หลายในผลิตภัณฑ์จากธรรมชาติและส่งผลในเชิงบวกต่อสุขภาพของมนุษย์ ปัจจุบันมีการใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม อุตสาหกรรมเภสัชกรรมและทางด้านโภชนาการ และในกระบวนการสกัดสารโพลีฟีนอลแบบดั้งเดิมจะสกัดจากผัก โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายที่มีอุณหภูมิ 40 ถึง 90 องศาเซลเซียส งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมาย เพื่อศึกษาผลของอุณหภูมิและตัวทำละลายต่อกระบวนการสกัดสารโพลีฟีนอลที่สกัดได้ ด้วยเหตุนี้รายงานข้อมูลการทดลองเกี่ยวกับการกระจายตัวของโพลีฟีนอลระหว่างเฟสของแข็งและของเหลวในอุณหภูมิต่างกัน (ตั้งแต่ 60 ถึง 80 องศาเซลเซียส) และตัวทำละลายต่างกัน (น้ำและสารละลายเอทานอล - น้ำ) ผลที่ได้รับนั้นสัมพันธ์กับวิธีการของ Freundlich isotherm และได้รายงานข้อมูลเกี่ยวกับจลนพลศาสตร์ของการสกัดของโพลีฟีนอลจากเฟสของแข็งและวิเคราะห์โดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ เพื่อประเมินค่าสัมประสิทธิ์การแพร่ของโพลีฟีนอลภายในอนุภาคและสัมประสิทธิ์การถ่ายเทมวลในเฟสของเหลวของไม้เกาลัด ผลการวิจัยในรายงานฉบับนี้เป็นประโยชน์เกี่ยวกับการเลือกตัวทำละลายและอุณหภูมิในการทำงาน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพกระบวนการอุตสาหกรรมในการสกัดโพลีฟีนอลจากไม้เกาลัด (Gironiand และ Piemonte, 2011)

**2.10.8 การศึกษาการประเมินส่วนผสมของตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดไขมันจากสาหร่าย *Botryococcus braunii* สำหรับผลิตไบโอดีเซล**

การสกัดไขมันจากสาหร่ายขนาดเล็กด้วยตัวทำละลายผสมที่ไม่มีขั้วและมีขั้ว จะถูกประเมินผลด้วยปริมาณผลผลิตของไขมันทั้งหมดและไขมันชนิด esterifiable ที่มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนแปลงเป็นไบโอดีเซลได้ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าในการสกัดโดยใช้วิธีดังกล่าวจะให้ปริมาณไขมันทั้งหมดและไขมันชนิด esterifiable ที่สูงขึ้น โดยเมื่อใช้ตัวทำละลายที่ผสมระหว่างคลอโรฟอร์มและเมทานอล (เมทานอลร้อยละ75 (v/v)) จะได้ปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

ไขมันชนิด esterifiable สูงกว่าร้อยละ 19.2 (โดยน้ำหนักแห้ง) นอกจากนี้ เมื่อใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างปิโตรเลียมอีเทอร์และเมทานอลผสมกัน (เมทานอลร้อยละ75 (v/v)) จะได้ปริมาณไขมันชนิด esterifiable ร้อยละ 18.9 (โดยน้ำหนักแห้ง) (Hidalgo และคณะ, 2016)

**2.10.9 สารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดต่างๆจากสมุนไพรที่ได้จากการหมัก หรือเทคโนโลยีสภาวะวิกฤตยิ่งยวด**

เทคนิคในการสกัดสารด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวดด้วยก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ เป็นวิธีการที่น่าสนใจในการนำไปประยุกต์ใช้กับกระบวนการต่างๆที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากข้อได้เปรียบหลายประการ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายอินทรีย์ทั่วไป การใช้คาร์บอนไดออกไซด์ในสภาวะวิกฤตยิ่งยวดสกัดสารจากดอกโรสแมรี่ (*Rosmarinus officinalis*) บอลโดว์ (*Peumus boldus*) เลม่อนเวอบีน่า (*Aloysia citridora*) คองโกโรซา (*Maytenus ilicifoli*) ชาบลาซิล (*Ilex paraguariensis*) และมะยมฝรั่ง (*Eugenia uniflora*) ในสภาวะการสกัดแตกต่างกัน ผลต้านอนุมูลอิสระนี้ได้รับการศึกษาและเทียบกับวิธีการสกัดด้วยการหมัก โดยใช้ตัวทำละลายแบบดั้งเดิมและแสดงสารต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน นอกจากนี้ ยังมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียของสารสกัดจากสมุนไพรที่แตกต่างกันซึ่งหาได้จากเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ การสกัดจากพืชสมุนไพรเหล่านี้ ด้วยเทคนิคสภาวะวิกฤติยิ่งยวดมีประสิทธิภาพในการทำให้น้ำมันดอกทานตะวันมีเสถียรภาพ ดังนั้นจึงสามารถเป็นทางเลือกที่มีคุณค่าทางธรรมชาติ สารสกัดจากสมุนไพรพิสูจน์ได้ว่าเป็นแหล่งของสารที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียด้วยการประยุกต์ใช้ที่มีแนวโน้มในการควบคุมจุลินทรีย์ลดการเสื่อมสภาพในอาหาร (Vieitez และคณะ, 2018)

**2.10.10 ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างกับการละลายและอุณหพลศาสตร์ของการละลายของฟลาโวนอยด์บางชนิดในตัวทำละลายทางชีวภาพ**

ฟลาโวนอยด์มีบทบาทสำคัญต่อสุขภาพ การละลาย เป็นคุณสมบัติทางเคมีกายภาพที่สำคัญที่สุดที่สุดของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อให้ได้ข้อมูลเพิ่มเติมเกี่ยวกับคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของฟลาโวนอยด์ การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างโครงสร้างและความสามารถในการละลายของฟลาโวนอยด์ งานวิจัยนี้ได้ศึกษาความสามารถในด้านการละลาย 3 ประเด็น ได้แก่ ความสัมพันธ์ระหว่างรูปร่างและการละลายของ flavonoid aglycones ในน้ำและสาร 1-Octanol ลักษณะทางอุณหพลศาสตร์ของกระบวนการละลาย และหน้าที่ทางอุณหพลศาสตร์ในกระบวนการถ่ายโอนสารประกอบที่ตรวจพบจากน้ำไปจนถึงสาร 1-octanol ทดสอบความสามารถในการละลายของ flavonoid aglycones 13 ชนิด วิธี isothermal saturation การเปลี่ยนแปลงฟังก์ชันของอุณหพลศาสตร์คำนวณโดยใช้สมการของ Van't Hoff และวิเคราะห์โดยใช้ไดอะแกรม ผลการทดลองแสดงให้เห็น OH หรือ $OCH_3$ ยึดเกาะที่วง B บนตำแหน่งระหว่าง $C_2$และ $C_3$ (C-C หรือ C=C) และการยึดเกาะของ OH ที่ตำแหน่งที่ 3 ที่มีผลต่อความสามารถในการละลายของสารฟลาโวนอยด์ สมการของ Apelblat ที่ผ่านการปรับปรุง

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง หรือจำหน่ายเพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น

ให้เหมาะสมกับความสามารถในการละลายในน้ำและ 1-octanol กระบวนการละลายในน้ำของสารประกอบที่ศึกษาส่วนใหญ่ถูกกำหนดด้วยเอทาลปี ใน 1-octanol กระบวนการละลายของ chrysin, apigenin, kampferol และ morin hydrate เป็นกระบวนการที่ขับเคลื่อนด้วยเอนโทรปี ขณะที่สารอื่นๆถูกกำหนดด้วยเอนทาลปี กระบวนการถ่ายโอนสารประกอบจากน้ำไป 1-octanol เป็นแบบ spontaneous ในรูปแบบนี้ ความสามารถในการละลายน้ำ เป็นปัจจัยสำคัญประการหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อการถ่ายโอน ผลการศึกษาเหล่านี้ อาจทำให้เข้าถึงคุณสมบัติด้านชีภาพของฟลาโวนอยด์และอาจมีความสำคัญต่อการศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับการพัฒนาตำรับยาที่มีฟลาโวนอยด์เป็นองค์ประกอบ (Zhang และคณะ, 2017)

**ตารางที่ 2.8** แสดงรายละเอียดงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

| ชื่อผู้แต่ง | วัตถุดิบ | วิธีการ | ผลการวิจัย |
|---|---|---|---|
| Massarolo และคณะ (2017) | รำข้าว (RB) จาก Rio Grande do Sul ประเทศบราซิล | -การสกัดใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและไอโซโพรพานอล<br>-ทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธี DPPH | -รำข้าวที่มีขนาดอนุภาค เล็กกว่า 0.39 มิลลิเมตร ให้ผลผลิตสูงสุด เนื่องจากขนาดอนุภาคลดลง เพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับตัวทำละลาย การสกัดจะเพิ่มขึ้น มียับยั้งเฉพาะส่วนของ DPPH (6.7%) และ $IC_{50}$ = 6.63 mg/ml |
| Zigoneanu และคณะ (2008) | รำข้าว จากข้าวไซปรัส สถานีวิจัยข้าว ลอสแองเจอลีส, สหรัฐ | -สกัด 2 วิธี โดยใช้ไมโครเวฟช่วยสกัดและการสกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้ตัวทำละลายไอโซโพรพานอลและเฮกเซนในอัตราส่วนระหว่างตัวทำละลายต่อรำข้าว3 : 1(w/w)<br>-ทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธี DPPH | -ผลผลิตน้ำมัน ปริมาณวิตามินอี และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวระหว่าง 2 วิธีการสกัดนี้ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ<br>-ไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดเมื่อเทียบกับเฮกเซนทั้ง 2 วิธีสกัด |
| Arab และคณะ (2011) | รำข้าวอิหร่าน 2 ชนิด คือ Fajr และ Tarem | -การสกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เมทานอล เอทานอลและเอทิลอะซิเตท<br>-วัดการต่อต้านอนุมูลอิสระของกรดลิโนเลอิก ความสามารถในการรีดิวซ์และทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธี DPPH | -สารสกัดจากรำข้าว Fajr มีปริมาณฟีนอลิก 3.31 mg GAE/g xtract และเปอร์เซ็นต์ฤทธิ์ในการต้านสารอนุมูลอิสระ คือ 93.91% ที่ความเข้มข้น 50 mg/ml และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของกรดลิโนเลอิก คือ 68.01 %<br>-สารสกัดจากรำข้าวที่มีส่วนประกอบของเมทานอล สามารถต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติได้ |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| ชื่อผู้แต่ง | วัตถุดิบ | วิธีการ | ผลการวิจัย |
|---|---|---|---|
| Pang และคณะ (2018) | ข้าว 18 สายพันธุ์ (ข้าวขาว 7 แดง 4 และสีดำ 7 สายพันธุ์) เมืองหางโจว, จีน | -สกัดสารประกอบฟีนอลิกแบบอิสระและแบบชนิดยึดเหนี่ยวกับโมเลกุลอื่นด้วย shaker และการปั่นเหวี่ยง | -สารประกอบฟีนอลิกแบบยึดเหนี่ยวกับองค์ประกอบอื่นจะมีค่าสูงกว่าส่วนแบบอิสระอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งในเมล็ดธัญพืชหรือรำชนิดต่างๆ<br>-ปริมาณของกรดแกลลิก กรดโปรโตคาทีคูอิกกรด2,5-ไดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดเฟอร์รูลิกกรดซิแนพพิค มีความสัมพันธ์กับ TPC และควาสามารถในการต้านอนุมูลอิสระอย่างมีนัยสำคัญ |
| Chen และคณะ (2016) | ข้าว 32 สายพันธุ์ จาก National Small Grain Collection; USDA | -สกัดด้วย อะซิโตน/น้ำ/กรดอะซิติกติก (70/29.5/0.5 (v/v/v))<br>-หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิก ORAC และข้อมูลสารที่สกัดได้จากเมล็ด | -ทำการตรวจสอบสารพฤกษเคมีในรำข้าวสีแดงและสีม่วง 32 พันธุ์ข้าวทั่วโลก มีคำอธิบายลักษณะต้นกำเนิดและลักษณะทางกายภาพของธัญพืช (สี ความยาว ความกว้าง ความหนา และน้ำหนักกรัมต่อ 100 เมล็ด) และข้อมูลสารฟลาโวนอยด์และฟีนอลิก ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารสกัดจากเมล็ดทั้งหมด |
| Castro-López. และคณะ (2017) | -เปลือกทับทิม (*Punica granatum*)<br>-เปลือกหอยวอลนัท (*Juglans regia*)<br>-มะรุม (*Moringa oleifera*) และดอกราชพฤกษ์ (*Cassia Fistula*) | -การสกัด (การแช่ หรือเขย่า , การต้ม, MAE และ UAE)<br>-ทดสอบฤทธิ์ด้วยวิธี DPPH | -การสกัดด้วย MAE ให้คาTPCสูงสุดในตัวอย่างทั้งหมด ดังนี้ คือ PP (18.92 ± 0.11), ML (15.19 ± 0.11), HL (12.69 ± 0.16) และ WS (12.80 ± 0.11) mg GAE/g extract ตามลำดับ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่มีฤทธิ์<br>-เทคนิคสกัดด้วย MAE มีประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องจากมีสมรรถภาพในการสกัดสูง |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| ชื่อผู้แต่ง | วัตถุดิบ | วิธีการ | ผลการวิจัย |
|---|---|---|---|
| Gironiand และ Piemonte (2011) | ตัวอย่างไม้เกาลัดอายุ 20 ปี | -ศึกษาผลของอุณหภูมิและตัวทำละลายต่อกระบวนการสกัดสารโพลีฟีนอลที่สกัดได้<br>-สกัดแบบดั้งเดิมโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย | -ผลการวิจัยนี้สามารถอธิบายได้ว่าอุณหภูมิและปริมาณเอทานอลมีผลต่อการละลายของโพลีฟีนอลในสารที่สกัดได้ โดยปริมาณโพลีฟีนอลจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิ และตัวทำละลายผสม (น้ำ-เอทานอล) มากกว่าน้ำ |
| Hidalgo และคณะ (2016) | สาหร่าย *Microalgae Botryococcus braunii* B (LB 572, UTEX) โดย Desert Bioenergy S.A, ชิลี | -สกัดโดยใช้ตัวทำละลายผสม | -ตัวทำละลายผสมที่มีขั้วและไม่มีขั้วสามารถสกัดปริมาณไขมันได้สูงขึ้น<br>-คลอโรฟอร์มและเมทานอล จะได้ปริมาณไขมัน สูงกว่า 19.2%<br>-ปิโตรเลียมอีเทอร์และเมทานอลจะได้ปริมาณไขมัน 18.9%<br>* ใช้เมทานอลร้อยละ 75(v/v) |
| Vieitez และคณะ (2018) | พืชสมุนไพร ทั้งหมด 6 ชนิด | -สกัดสารด้วยของไหลวิกฤติยิ่งยวดด้วยก๊าซโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์<br>-การสกัดโดยการแช่โดยใช้ตัวทำละลายแบบดั้งเดิม | -เทคนิคสภาวะวิกฤติยิ่งยวด ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการทำให้น้ำมันดอกทานตะวันมีเสถียรภาพ และพบว่าสารสกัดจากสมุนไพรมีฤทธิ์ต้านเชื้อแบค-ทีเรีย นำมาประยุกต์ใช้ในการควบคุมจุลินทรีย์ ลดการเสื่อมสภาพในอาหาร |
| Zhang และคณะ (2017) | ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด 13 ชนิดจาก Nanjing Zelang Medical Technology Co. Ltd เมืองหนานจิง ประเทศจีน | -ทดสอบความสามารถในการละลายของ flavonoid aglycones 13 ชนิด โดยใช้วิธี isothermal saturation<br>-การเปลี่ยนแปลงฟังก์ชันของอุณหพลศาสตร์โดยใช้สมการ Van't Hoff และวิเคราะห์โดยใช้ไดอะแกรม | - OH หรือ $OCH_3$ ยึดเกาะที่วง B บนตำแหน่งระหว่าง $C_2$และ $C_3$ (C-C หรือ C=C) และการยึดเกาะของ OH ที่ตำแหน่งที่ 3 ที่มีผลต่อความสามารถในการละลายของฟลาโวนอยด์ |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# วิธีการดำเนินงานวิจัย

## 3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 รำข้าว สายพันธุ์หอมสุพรรณบุรี

3.1.2 รำข้าว สายพันธุ์ดอกขาม

## 3.2 สารเคมี

3.2.1 กรดซัลฟูริกเข้มข้น (Sulphuric acid, $H_2SO_4$) ความบริสุทธิ์ 98 เปอร์เซ็นต์ ยี่ห้อ Univar ผลิตโดยบริษัท Ajax Finechem Pty Ltd. ประเทศออสเตรเลีย

3.2.2 กรดบอริค (Boric acid, $H_3BO_3$) ความบริสุทธิ์ 99.5 เปอร์เซ็นต์ ยี่ห้อ Univar ผลิตโดยบริษัท Ajax Finechem Pty Ltd. ประเทศออสเตรเลีย

3.2.3 กรดอะซิติก (Acetic acid) ความบริสุทธิ์ 100 เปอร์เซ็นต์ ยี่ห้อ Analar Normapur ผลิตโดยบริษัท VWR international S.A.S ประเทศยุโรป

3.2.4 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid, HCl) ความบริสุทธิ์ 36 เปอร์เซ็นต์ ยี่ห้อ Univar ผลิตโดยบริษัท Ajax Finechem Pty Ltd. ประเทศออสเตรเลีย

3.2.5 คะตะลิสต์ (Catalyst) (5g $K_2SO_4$+0.5g$CuSO_4{\cdot}5H_2O$) ยี่ห้อ KJELTABS CX ผลิตโดยบริษัท Gerhardt ประเทศเยอรมัน

3.2.6 โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate, $Na_2CO_3$) ความบริสุทธิ์ 99.8 เปอร์เซ็นต์ ยี่ห้อ Univar ผลิตโดยบริษัท Ajax Finechem Pty Ltd. ประเทศออสเตรเลีย

3.2.7 ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum Ether) ยี่ห้อ RCI Labscan ผลิตโดยบริษัท V.S.chem House ประเทศไทย

3.2.8 โซเดียมไนไตรท์ (Sodium Nitrite, $NaNO_2$) ความบริสุทธิ์ 99 เปอร์เซ็นต์ ยี่ห้อ Univar ผลิตโดยบริษัท Asia Pacific Specialty Chemicals Ltd. ประเทศออสเตรเลีย

3.2.9 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium Hydroxide, NaOH) ความบริสุทธิ์ 97 เปอร์เซ็นต์ ยี่ห้อ Univar ผลิตโดยบริษัท Ajax Finechem Pty ltd. ประเทศออสเตรเลีย

3.2.10 สารมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid monohydrate) ยี่ห้อ Alorich ผลิตโดยบริษัท Sigma-Alorich ประเทศเยอรมัน

3.2.11 สารมาตรฐานควอซิทิน (Quercetin dihydrate, minimum 98% HPLC) ยี่ห้อ Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา

เอกสารนี้เป็นทรัพย์สินของ [illegible] ไม่อนุญาตให้ใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น [illegible] ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.12 สารมาตรฐานโทรลอกซ์ (6-Hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramrthyl-chromane-2-carboxylic acid, Trolox) ความบริสุทธิ์ 97 เปอร์เซ็นต์ ผลิตโดยบริษัท Sigma-Alorich ประเทศรัสเซีย

3.2.13 สารมาตรฐาน BHT (Butylated hydroxytoluene) ผลิตโดยบริษัท Sigma-Alorich ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.2.14 สารละลาย Folin-Ciocalteu's เกรด AR ยี่ห้อ SRL ผลิตโดยบริษัท Sisco Research Laboratories Pvt.ltd. ประเทศอินเดีย

3.2.15 สาร DPPH (2, 2-Diphenol-1-picrylhydrazyl) ยี่ห้อ Alorich ผลิตโดยบริษัท Sigma-Alorich ประเทศเยอรมัน

3.2.16 สาร TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) ความบริสุทธิ์ 99 เปอร์เซ็นต์ ยี่ห้อ Fluka Analytical ผลิตโดยบริษัท Sigma-Alorich ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.2.17 อะลูมีเนียมคลอไรด์ (Aluminium Chloride hydrate, $AlCl_3$) ($AlCl_3 \cdot 6H_2O$) ความบริสุทธิ์ 99 เปอร์เซ็นต์ผลิตโดยบริษัท Ajax Finechem Pty Ltd. ประเทศออสเตรเลีย

3.2.18 อินดิเคเตอร์ (Mix indicator: Bromoresol green และ Methyl red)

3.2.19 เอทานอล หรือเอธิลแอลกอฮอล์ (Ethanol/Ethyl alcohol) ยี่ห้อ Pure Extra Neutral Alcohol ผลิตโดยบริษัท องค์การสุรา กรมสรรพสามิต ประเทศไทย

3.2.20 ไอเอิร์น (III) คลอไรด์ (Iron (III) chloride hexahydrate) ยี่ห้อ Emsure ผลิตโดยบริษัท EMD Milliporeประเทศสหรัฐอเมริกา

3.2.21 เฮกเซน (Hexane) ความบริสุทธิ์ 98.5 เปอร์เซ็นต์ ยี่ห้อ J.T.Baker ผลิตโดยบริษัท Avantor performance Materials, Inc. ประเทศสหรัฐอเมริกา

## 3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.3.1 กระดาษกรองเบอร์ 1 (Filter paper) ยี่ห้อ Whatman no.1 ประเทศจีน

3.3.2 กระบอกฉีดยา3 มิลลิลิตร (Syringe) ยี่ห้อ Nipro ผลิตโดยบริษัท นิโปร จำกัด

3.3.3 กระป๋องอลูมิเนียม (Moisture can)

3.3.4 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร (Erlenmeyer flask) ยี่ห้อ Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3.5 ขวดสีชา ขนาด 30, 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

3.3.6 เครื่องเขย่าสาร (Vortex mixer GENIE 2) ผลิตโดยบริษัท Scientific Industries ประเทศสหรัฐอเมริกา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.7 เครื่องชั่งไฟฟ้า (Analytical balance)

3.3.7.1 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น JS2002G ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.3.7.2 เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorious รุ่น BSA224S-CW ประเทศเยอรมัน

3.3.8 เครื่องไมโครเพลท สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Microplate spectrophotometer) ยี่ห้อ Biochrom รุ่น EZ read 2000 ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3.9 เครื่องระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator) ยี่ห้อ Heidolph ประเทศเยอรมัน

3.3.10 เครื่องล้างความถี่สูง (Ultrasonic bath/Sonicator bath) ยี่ห้อ Elma รุ่น S30H ประเทศเยอรมัน

3.3.11 เครื่องวัดกรดด่าง (pH meter) ยี่ห้อ Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์

3.3.12 เครื่องวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน (Kjeldahl)

3.3.12.1 เครื่องย่อย (Digestion) ยี่ห้อ Gerhardtรุ่น KB8S ผลิตโดยบริษัท ไซแอนติฟิค โปรโมชั่น จำกัด

3.3.12.2 เครื่องกลั่น (Distillation) ยี่ห้อ Gerhardtรุ่น Vapodest30S ผลิตโดยบริษัท ไซแอนติฟิค โปรโมชั่น จำกัด

3.3.13 ชุดกรองสุญญากาศ (Suction)

3.3.14 ชุดสกัดซอกห์เลต (Soxhlet Extractor)

3.3.15 ตะแกรงร่อน (Sieves) ขนาด 75, 150, 300, 500 และ 850 ไมโครเมตร ยี่ห้อ Endecotts รุ่น ASTM E11 ประเทศอังกฤษ

3.3.16 ตู้ดูดควัน (Fume Hood)

3.3.17 ตู้เย็น (Refrigerator) ยี่ห้อ Samsung รุ่น RT35FJAD ประเทศญี่ปุ่น

3.3.18 ตู้อบลมร้อน (Hot Air Oven)

3.3.18.1 ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Contherm รุ่น Thermotec 2000 ประเทศนิวซีแลนด์

3.3.18.2 ตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ยี่ห้อ Binder รุ่น ED53 ประเทศเยอรมัน

3.3.19 เตาเผา (Furnace) ยี่ห้อ Carbolite ผลิตโดยบริษัท ไซแอนติฟิค โปรโมชั่น จำกัด

3.3.20 เตาให้ความร้อน (Hotplate) ยี่ห้อ Stuart รุ่น UC152 ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3.21 โถดูดความชื้น (Desiccators) ยี่ห้อ Duran ประเทศเยอรมัน

3.3.22 ทิมเบิล (Thimble)

3.3.23 บีกเกอร์ (Beaker) ขนาด 100, 250 และ 600 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา

เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.24 เบ้าเคลือบ (Crucible) ยี่ห้อ HCT ประเทศเยอรมัน

3.3.25 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.3.25.1 ไมโครปิเปต ขนาด 5-50 ไมโครลิตร, 20-200 ไมโครลิตร และ 1-5 มิลลิลิตร ยี่ห้อ Thermo scientific

3.3.25.2 ไมโครปิเปต ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร ยี่ห้อ Biopipette

3.3.25.3 ไมโครปิเปต ขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร ยี่ห้อ Sartorious ผลิตโดยบริษัท กิบไทย จำกัด

3.3.26 ไมโครเพลท ขนาด 96 หลุม (Microwell plate) ยี่ห้อ Elisa ผลิตโดยบริษัท Jet Biofil

3.3.27 หลอดทดลอง (Test tube) ยี่ห้อ Pyrex ประเทศสหรัฐอเมริกา

3.3.28 หลอดย่อย (Kjeldahl Flask) ยี่ห้อ Gerhardt ผลิตโดยบริษัท ไซแอนติฟิค โปรโมชั่น จำกัด

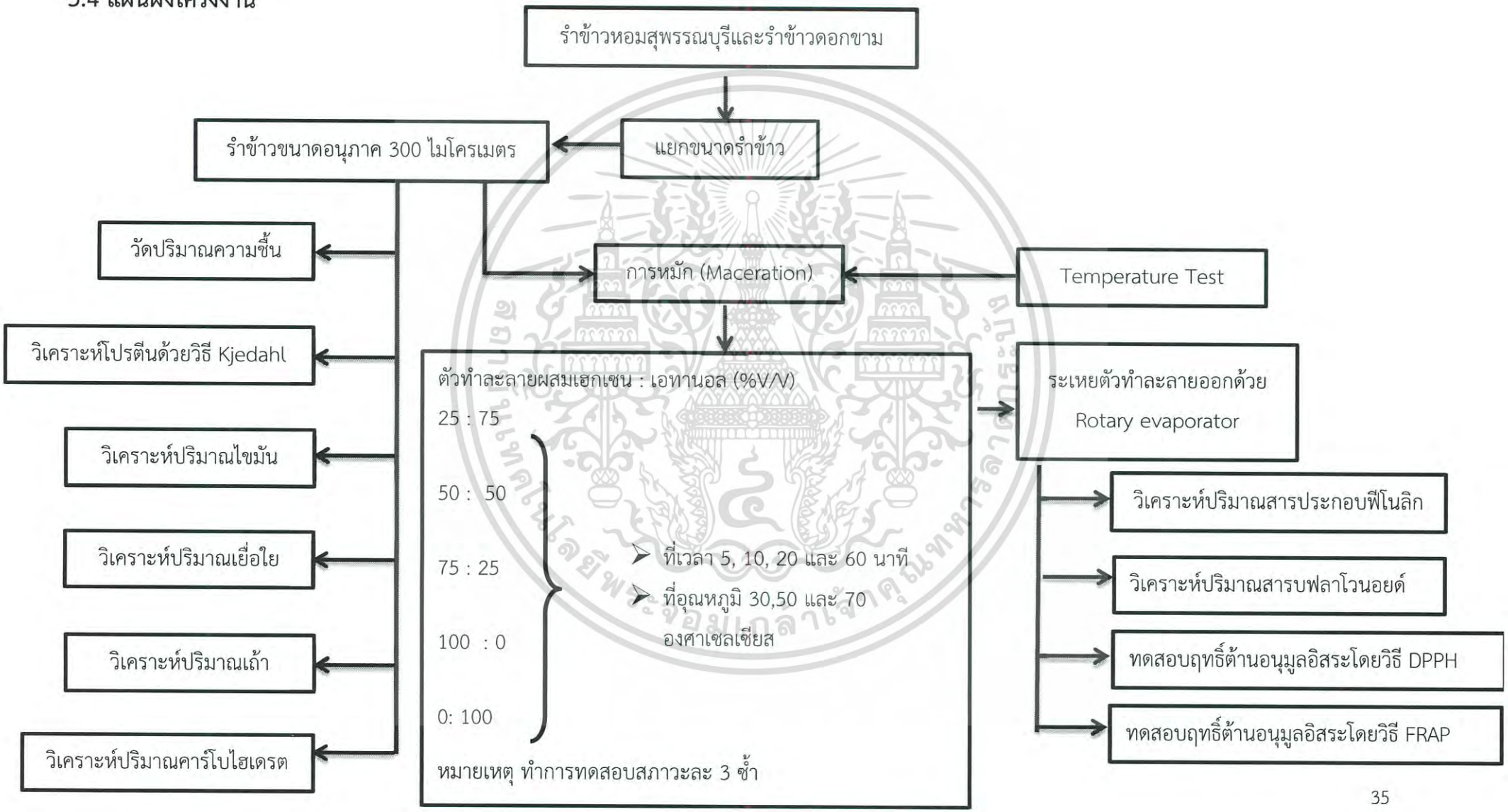
3.3.29 อลูมิเนียมฟอยล์ (Aluminium Foil) ยี่ห้อ Aro ประเทศจีน

3.3.30 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ผลิตโดยบริษัท BEC Thai

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4 แผนผังโครงงาน



## 3.5 วิธีการดำเนินงานวิจัย

**3.5.1 การแยกขนาดรำข้าว** (ดัดแปลงจาก Huang และคณะ, 2005)

1. ชั่งรำข้าวปริมาณ 50 กรัม
2. นำรำข้าวใส่ตะแกรงร่อน (Sieves) โดยใช้ตะแกรงร่อนที่มีขนาด 850, 500, 300, 150 และ 75 ไมโครเมตร
3. ร่อนแยกขนาดของรำข้าวโดยใช้เวลา 5 นาที
4. นำรำข้าวทุกขนาดที่แยกได้ไปชั่งน้ำหนักและจดบันทึกน้ำหนัก
5. นำรำข้าวไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส

**3.5.2 การวัดปริมาณความชื้นในรำข้าว** (ดัดแปลงจาก AOAC International, 1995)

1. นำกระป๋องอลูมิเนียม (Moisture can) อบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง
2. นำกระป๋องอลูมิเนียม (Moisture can) ไปวางไว้ในโถดูดความชื้น (Desiccator) เป็นเวลา 30 นาที ให้เย็นเท่ากับอุณหภูมิห้อง
3. นำกระป๋องอลูมิเนียม (Moisture can) ไปชั่งน้ำหนัก และจดบันทึกน้ำหนัก
4. ชั่งรำข้าวปริมาณ 2 กรัมและจดบันทึกน้ำหนักที่แน่นอนนำไปใส่ลงในกระป๋องอลูมิเนียม (Moisture can)
5. นำกระป๋องอลูมิเนียม (Moisture can) ที่มีตัวอย่างอบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยไม่ต้องปิดฝา
6. เมื่อครบเวลา 2 ชั่วโมง ปิดฝาทันที แล้วนำกระป๋องอลูมิเนียม (Moisture can) พร้อมตัวอย่างไปใส่ไว้ในโถดูดความชื้น (Desiccator) เป็นเวลา 30 นาที จนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง
7. นำไปชั่งน้ำหนักและจดบันทึกน้ำหนัก
8. นำกระป๋องอะลูมิเนียมพร้อมตัวอย่างกลับไปอบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาชั่งน้ำหนักและจดบันทึกน้ำหนัก กระทำเช่นนี้ จนกระทั่งน้ำหนักของรำข้าวคงที่
9. คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสูตร

$$\text{ความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)} - \text{น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของตัวอย่างหลังอบ (กรัม)}} \times 100 \quad (1)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.5.3 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjedahl** (ดัดแปลงจาก กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2556)

1. ชั่งรำข้าวปริมาณ 1 กรัมใส่ลงในหลอดย่อย (Digestion tube) ใส่ Kjeldahl catalyst tablets 1 เม็ด เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ($H_2SO_4$) ปริมาตร 45 มิลลิลิตร และวิเคราะห์แบลงค์ (Blank) โดยใช้น้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตรแทนตัวอย่าง
2. นำหลอดย่อย (Digestion tube)วางลงใน tube rack วาง heat shields แล้วสวม Exhaust manifold ลงบนปากของหลอดย่อย (Digestion tube) ให้ปิดพอดี ยก rack ไปวางบน Digestion block เปิดระบบดูดควัน (ในกรณีที่ใช้น้ำเป็นตัวดูดควันให้ต่อสายจาก Exhaust manifold ไปยังก๊อกน้ำที่เตรียมไว้และเปิดน้ำ) ย่อยจนได้ตัวอย่างสีเขียวอมฟ้าจางๆและใส (Clear with light blue-green color) และย่อยตัวอย่างให้เดือดต่ออีกประมาณ 1 ชั่วโมง (เวลาที่ใช้ทั้งหมดประมาณ 3 ชั่วโมง)
3. ยก tube rack ออกจากเครื่องย่อย โดยมี Exhaust manifold สวมอยู่ ตั้งหลอดย่อยให้เย็นลงถึงอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 25 นาที) ต้องทิ้งให้เย็นก่อนนำไปกลั่น
4. วางหลอดย่อยในเครื่องกลั่น ทำการกลั่น เก็บ Distillate ในDistillation titration flask ที่มีกรดบอริค ($H_3BO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร พร้อมทั้งหยดอินดิเคเตอร์ 2 หยด กลั่นจนได้ Distillate ใช้เวลาประมาณ 4 นาที
5. ไตเตรต Distillate ที่ได้ด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ถึงจุดยุติเห็นเป็นสีชมพู บันทึกปริมาตรของกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ที่ใช้
6. คำนวณปริมาณไนโตรเจนจากสูตร

$$\text{ไนโตรเจน}\left(\frac{\text{กรัม}}{100\ \text{กรัม}}\right) = \frac{14.007 \times M \times (V_A - V_B) \times 100}{1000 \times W} \qquad (2)$$

โดย $V_A$ = ปริมาตรของ HCl ที่ใช้ในการไตเตรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

$V_B$ = ปริมาตรของ HCl ที่ใช้ในการไตเตรต blank (มิลลิลิตร)

M = Molarity ของ HCl solution

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

7. คำนวณปริมาณโปรตีนจากสูตร

$$\text{โปรตีน}\left(\frac{\text{กรัม}}{100\ \text{กรัม}}\right) = \text{ไนโตรเจน} \times 6.25 \qquad (3)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.5.4 การวิเคราะห์ปริมาณไขมัน** (ดัดแปลงจาก AOAC International, 2000)

1. นำตัวอย่างรำข้าวประมาณ 3 กรัม ใส่บนกระดาษกรองและห่อมิดชิด
2. ใส่ลงในทิมเบิล (Thimble) นำทิมเบิลใส่ใน Extraction Unit it of Soxhlet
3. นำขวดกลั่นไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปใส่ในโถดูดความชื้น (Desiccator) เป็นเวลา 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนักพร้อมจดบันทึก เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในขวดกลั่น ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ประกอบเครื่อง Soxhlet เข้าด้วยกัน
4. ให้ความร้อนสกัดไขมันจากตัวอย่างนานประมาณ 4 ชั่งโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นจาก Condenser มีอัตรา 15 นาทีต่อ 1 รอบการกลั่น
5. ระเหยเอาปิโตรเลียมอีเทอร์ออกจากไขมันด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)
6. นำขวดกลั่นและไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
7. การคำนวณหาปริมาณไขมันจากสูตร

$$\text{ร้อยละของไขมัน} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักรำข้าว}} \times 100 \qquad (4)$$

**3.5.5 การวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย** (ดัดแปลงจาก AOAC International, 1995)

1. นำรำข้าวปริมาณ 2 กรัม สกัดเอาไขมันออกโดยใช้ปิโตรเลียมอีเทอร์เป็นตัวทำละลายและสกัดโดยใช้ Soxhlet extractor
2. นำรำข้าวที่สกัดเอาไขมันออกมาใส่ลงในบีกเกอร์ ขนาด 600 มิลลิลิตร (ระวังกากรำข้าวตกค้างอยู่บนกระดาษกรอง)
3. เติมสารละลายกรดซัลฟูริก เข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วต้มให้เดือดโดยวางลงบนเครื่องให้ความร้อน (Hot Plate) เป็นเวลา 30 นาที (ในระหว่างการต้มควรหมุนบีกเกอร์เป็นระยะ เพื่อทำการกระจายตัวอย่างที่เกาะตัว)
4. นำไปกรองโดยใช้ชุดกรองสุญญากาศ (Suction)
5. ล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งใช้น้ำร้อนปริมาตร 50 มิลลิลิตร (ทำอย่างรวดเร็วเพื่อป้องกันตะกอนแห้ง)
6. เทกากกลับใส่ในบีกเกอร์ใบเดิม เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 200 มิลลิลิตร แล้วต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที
7. กรองผ่านกระดาษกรองโดยใช้ชุดกรองสุญญากาศ (Suction)
8. ล้างด้วยสารละลายกรดซัลฟิวริก เข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร
9. ล้างด้วยน้ำร้อน 3 ครั้ง โดยในแต่ละครั้งใช้น้ำร้อนปริมาตร 50 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. เทกากกลับใส่ในบีกเกอร์ใบล้างด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำกากใส่ลงกระดาษกรอง
11. อบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และนำไปไว้ในโถดูดความชื้น (Desiccator) แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้งของกาก
12. นำกากไปเผาให้เป็นเถ้าในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมงจนเป็นเถ้าสีขาว ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น (Desiccater) ชั่งหาน้ำหนักเถ้าที่ได้
13. การคำนวณหาปริมาณเส้นใยจากสูตร

$$\text{ร้อยละของเส้นใย} = \frac{(\text{น้ำหนักของกาก} - \text{น้ำหนักของเถ้า})}{\text{น้ำหนักของรำข้าว}} \times 100 \qquad (5)$$

**3.5.6 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า** (ดัดแปลงจาก AOAC International, 1995)

1. นำเบ้าเคลือบ (Crucible) ไปอบที่ตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. นำไปใส่ในโถดูดความชื้น (Desiccator) จนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง นำมาชั่งน้ำหนักและจดบันทึกน้ำหนัก
3. ชั่งน้ำหนักรำข้าว 1 กรัม และจดบันทึกน้ำหนักนำใส่ในเบ้าเคลือบ (Crucible)
4. นำไปเผาในเตาเผาไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
5. นำไปใส่ในโถดูดความชื้น (Desiccator) จนมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิห้อง นำมาชั่งน้ำหนักและจดบันทึกน้ำหนัก
6. การคำนวณหาปริมาณเถ้าจากสูตร

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักเถ้า (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของรำข้าว (กรัม)}} \times 100 \qquad (6)$$

**3.5.7 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต** (ดัดแปลงจาก AOAC International, 1990)

คำนวณจากสูตรเมื่อทราบ ค่าร้อยละของความชื้น ค่าร้อยละของโปรตีน ค่าร้อยละของไขมันค่าร้อยละของเถ้า และค่าร้อยละของเส้นใย นำค่าดังกล่าวนี้มาคำนวณ ตามสูตรนี้

ร้อยละของคาร์โบไฮเดรต = 100 - (ร้อยละของความชื้น + ร้อยละของโปรตีน +ร้อยละของไขมัน + ร้อยละของเถ้า + ร้อยละของเส้นใย) (7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3.5.8 การสกัด (Extraction)**

3.5.8.1 Temperature Profiles

1. นำตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับเอทานอลในอัตราส่วน (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) คือ 50 ต่อ 50,100 ต่อ 0 และ 0 ต่อ 100 (ปริมาตรรวมเท่า 10 มิลลิลิตร) ใส่ในขวดสีชา ขนาด 30 มิลลิลิตร
2. นำขวดที่บรรจุตัวทำละลายไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) 3 จุดโดยทำการทดสอบทีละอัตราส่วนของตัวทำละลายที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
3. นำเทอร์โมมิเตอร์จุ่มลงในขวดตัวทำละลายทั้ง 3 ขวด
4. จดบันทึกอุณหภูมิของตัวทำละลายทุก 30 วินาที (สำหรับ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับ 50 และ70 องศาเซลเซียส จดบันทึกทุก 1 นาที) ตั้งแต่เริ่มเปิดสวิตซ์อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) จนกระทั่งตัวทำละลายมีอุณหภูมิเสถียรอยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส
5. ทำการทดสอบเช่นเดียวกันนี้ที่อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส

3.5.8.2 การสกัดโดยการหมัก (Maceration Extraction) (ดัดแปลงจาก Hidalgo และคณะ, 2016)

1. นำตัวอย่างรำข้าวขนาดอนุภาค 300 ไมโครเมตร ปริมาณ 1 กรัม ใส่ในขวดสีชาขนาด 30 มิลลิลิตร
2. ใส่ตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนกับเอทานอลในอัตราส่วน (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) คือ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25, 100 : 0 และ 0 : 100 (ปริมาตรรวม 10 มิลลิลิตร)
3. นำตัวอย่างแต่ละชุดไปวางในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ที่ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส ในเวลาที่แตกต่างกันคือ 5, 10, 20, 30 และ 60 นาที
4. นำสารตัวอย่างไปกรองแยกกากรำข้าวออกจากสารสกัดด้วย Nylon Syringe Filters
5. นำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)
6. นำไปใส่ในโถดูดความชื้น (Desiccator) เป็นเวลา 30 นาที
7. นำสารสกัดที่ได้ไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

*หมายเหตุ ทำการทดลองสภาวะละ 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. คำนวณหา

- การวิเคราะห์ปริมาณสารสกัดที่ได้ (%Yield) ดังสมการ

$$\%\text{Yield}\left(\text{Dry basis}\right)=\frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของรำข้าวแห้ง (กรัม)}}\times 100 \quad (8)$$

$$\%\text{Yield}\left(\text{Wet basis}\right)=\frac{\text{น้ำหนักสารสกัดที่ได้ (กรัม)}}{\text{น้ำหนักของรำข้าวสด (กรัม)}}\times 100 \quad (9)$$

3.5.8.3 การสกัดโดยใช้ซอกห์เลต (วิเคราะห์เฉพาะอัตราส่วนตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารสกัดสูงสุด)

1. นำตัวอย่างรำข้าว ขนาด 300 ไมโครเมตร ปริมาณ 3 กรัม ใส่บนกระดาษกรองและห่อมิดชิด
2. ใส่ลงในทิมเบิล (Thimble) และนำใส่ใน Extraction Unit it of Soxhlet
3. นำขวดกลั่นไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปใส่ในโถดูดความชื้น (Desiccator) เป็นเวลา 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนักพร้อมจดบันทึก เติมตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 ในอัตราส่วนร้อยละ 25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) คือ 50 ต่อ 150 (มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร) ในขวดกลั่นเป็นปริมาตรรวมเท่ากับ 200 มิลลิลิตร ประกอบเครื่อง Soxhlet เข้าด้วยกัน
4. ตัวทำละลายจะถูกให้ความร้อน โดยปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นจาก Condenser มีอัตรา 15 นาทีต่อ 1 รอบการกลั่น
5. นำไประเหยเอาตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยสารแบบหมุน (Rotary evaporator)
6. นำไปใส่ในโถดูดความชื้น (Desiccator) เป็นเวลา 30 นาที
7. นำสารสกัดที่ได้เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

**3.5.9 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีอยู่ในสารสกัด**

(ดัดแปลงจาก LIN และคณะ, 2009)

3.5.9.1 สารสกัดรำข้าว

1. เตรียมสารสกัดจากรำข้าวให้มีความเข้มข้น 4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย และแบลงก์ (blank) ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 แทนสารสกัด
2. ใส่สารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 1 : 9 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร
3. ใส่สารสกัดปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำ... ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้ง... สารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. เติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร

3.5.9.2 สารมาตรฐานกรดแกลลิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลายและแบลงก์ (blank) ใช้เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 แทนสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก
2. ใส่สารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent ต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 1 : 9 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร
3. ใส่สารสกัดปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน
4. เติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร

3.5.9.3 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดจากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกและรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g Extract)

**3.5.10 การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดรำข้าว**

(ดัดแปลงจาก Fu และคณะ, 2018 ; Rebaya และคณะ, 2014; Agbo และคณะ, 2015 ; Sahu และคณะ, 2013 )

3.5.10.1 สารสกัดรำข้าว

1. เตรียมสารสกัดจากน้ำมันรำข้าว ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยละลายในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 และปิเปตปริมาตร 500 ไมโครลิตรใส่หลอดทดลอง ส่วนแบลงก์ (blank) ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 แทนสารสกัด
2. เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 300 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที เพื่อทำปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เติมสารละลายอะลูมีเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 300 ไมโครลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เพื่อทำปฏิกิริยา
4. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 2000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันเพื่อหยุดปฏิกิริยา ทำการบ่มในที่มืดเป็นเวลา 15 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

3.5.10.2 สารมาตรฐานของเควอซิทิน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของเควอซิทินที่ระดับความเข้มข้น 60, 100, 200, 250, 300, 350, 500, 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และปิเปตปริมาตร 500 ไมโครลิตรใส่หลอดทดลอง ส่วนแบลงก์ใช้เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 แทนสารมาตรฐาน
2. เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 300 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันทิ้งไว้เวลา 5 นาที เพื่อทำปฏิกิริยา
3. เติมสารละลายอะลูมีเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 300 ไมโครลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เพื่อทำปฏิกิริยา
4. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 2000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันเพื่อหยุดปฏิกิริยา ทำการบ่มที่มืดเป็นเวลา 15 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร

3.5.10.3 การหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน หาสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน เพื่อใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่มีในตัวอย่างที่วิเคราะห์และรายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของเควอซิทินต่อกรัมของสารสกัด (mg QE/g Extract)

**3.5.11 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging activity** (ดัดแปลงจาก Garcia และคณะ, 2012)

3.5.11.1 การเตรียมสารละลายของDPPH

เตรียมสารละลายของ DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ โดยละลายและปรับปริมาตรด้วยเอทานอล ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.11.2 การเตรียมและทดสอบฤทธิ์ของสารมาตรฐาน

1. นำสารมาตรฐาน BHT ให้มีความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 100, 300, 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย และสารมาตรฐานโทรลอกซ์เตรียมให้มีความเข้มข้น 0.5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอล ร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย
2. ปิเปตสารมาตรฐานความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ 96 well-plate โดยทำการทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
3. การทดสอบ $A_{Sample}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH) เติมสารละลายของ DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน
4. การทดสอบ $A_{Blank\ Sample}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นก่อนทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH) เติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน
5. นำไปบ่มให้เกิดการทำปฏิกิริยาในที่มืดนาน 30 นาที
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Microplate reader

3.5.11.3 การเตรียมและทดสอบฤทธิ์ของสารตัวอย่าง

1. เตรียมสารละลายของสารตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 0.025-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยใช้เอทานอล ร้อยละ 95 เป็นตัวทำละลาย
2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้นละ 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ 96 well-plate โดยทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ
3. การทดสอบของ$A_{Sample}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัดในแต่ละความเข้มข้นทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH) ให้เติมสารละลายของ DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน
4. การทดสอบของ $A_{Blank\ Sample}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างสารสกัดในแต่ละความเข้มข้นก่อนทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH) เติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน
5. นำไปบ่มให้เกิดการทำปฏิกิริยาในที่มืดนาน 30 นาที
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง Microplate reader

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.11.4 การเตรียมและทดสอบฤทธิ์ของตัวควบคุม

1. ปิเปตเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ 96 well-plate โดยทดสอบ 3 ซ้ำ
2. การทดสอบ $A_{DPPH}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH) โดยเติมสารละลายของ DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน
3. และทำการทดสอบ $A_{Blank\ DPPH}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร DPPH) เติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน
4. นำไปบ่มให้เกิดการทำปฏิกิริยาในที่มืดนาน 30 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรด้วยเครื่อง Microplate reader

3.5.11.5 การคำนวณ % Inhibition concentration จากสูตร

$$\%inhibition = \frac{\left(A_{DPPH(control)} - A_{Blank\ DPPH}(control)\right) - \left(A_{sample} - A_{Blank\ sample}\right)}{\left(A_{DPPH(control)} - A_{Blank\ DPPH}(control)\right)} \times 100 \quad (10)$$

นำค่าความเข้มข้นของสารละลายและ % Inhibition concentration ที่ได้ไปเขียนกราฟเพื่อหาค่า $IC_{50}$ คือ ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่สามารถยับยั้งสารละลาย DPPH ได้ 50 เปอร์เซ็นต์

**3.5.12 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric reducing ability power (FRAP)** (ดัดแปลงจาก Nishaa และคณะ, 2012)

3.5.12.1 เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลาย Acetate buffer (pH 3.6) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ สารละลาย Ferric chloride solution ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ให้เข้ากันในอัตราส่วน 10:1:1 (v/v) แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

3.5.12.2 ทดสอบฤทธิ์ของสารตัวอย่าง

1. เตรียมสารละลายน้ำมันร้าข้าวที่ละลายด้วยตัวทำละลายเอทานอล ร้อยละ 95 ช่วงความเข้มข้น 0.025 ถึง 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. ปิเปตสารสกัดปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง
3. เติมสารละลาย FRAP reagent ลงไป750 ไมโครลิตร บ่มให้เกิดปฏิกิริยาเวลา 5 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.12.3 ทดสอบฤทธิ์ของสารมาตรฐาน

1. เตรียมสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรปิเปตสารมาตรฐานปริมาตร 250 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง
2. เติมสารละลาย FRAP reagent ลงไป 750 ไมโครลิตร บ่มให้เกิดปฏิกิริยาเป็นเวลา 5 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

3.5.12.4 วิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP

รายงานผลเป็นค่ามิลลิกรัมของโทรล็อกซ์ต่อกรัมสารสกัด (mg TEAC/g Extract)

**3.5.13 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ**

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 25 แบบ One-way ANOVA ตามวิธีของ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

## 4.1 ลักษณะทางกายภาพของรำข้าว

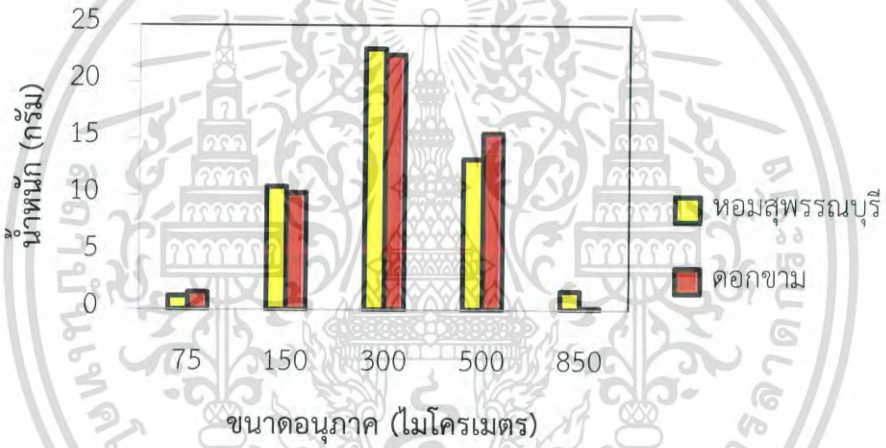
จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพของรำข้าวหอมสุพรรณบุรี (A) และรำข้าวดอกขาม (B) ดังรูปที่ 4.1 พบว่า สีของรำข้าวจะมีสีเหลืองฟางและสีน้ำตาลแดง ตามลำดับ และกลิ่นของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีมีกลิ่นหอมกว่ารำข้าวดอกขาม ซึ่งสีของรำข้าวนี้จะมีผลต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยสอดคล้องกับงานวิจัยของ ศุกฤชชญา และคณะ (2558) ได้ทำการศึกษาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มชนิดเข้มข้นเพื่อสุขภาพจากดอกไม้หลากสี เมื่อวัดค่าสี L*, a*, b* จะพบว่าดอกโสน (สีเหลือง) มีค่าความสว่างของสี (lightness, L*) สูงกว่าดอกดาหลา (สีแดง) คือ 89.05 ± 1.23 และ 45.43 ± 2.15 ตามลำดับ มีค่าเฉดสีแดง (Redness, a*) ต่ำกว่า คือ 12.12 ± 1.37 และ 34.82 ± 1.01 ตามลำดับ และมีค่าเฉดสีเหลือง (Yellowness, b*) สูงกว่า คือ 56.06 ± 3.14 และ 14.56 ± 0.29 ตามลำดับ และเมื่อศึกษาปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารประกอบฟีโนลิกและสารฟลาโวนอยด์ พบว่าของดอก โสน (สีเหลือง) มีค่าเท่ากับ 865.77 ± 0.55 และ 810.60 ± 3.89 ตามลำดับ ดอกดาหลา (สีแดง) มีค่าเท่ากับ 1,690.04 ± 0.47 และ 1,435.70 ± 4.10 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าดอกดาหลา (สีแดง) มีปริมาณสารที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากกว่าดอกโสน (สีเหลือง) เมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์แล้วนั้น อาจเป็นสมมติฐานได้ว่า รำข้าวดอกขามที่มีสีแดงจะให้ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้ดีกว่ารำข้าวหอมสุพรรณบุรี

**รูปที่ 4.1** ลักษณะรำข้าวหอมสุพรรณบุรี (A) และรำข้าวดอกขาม (B)

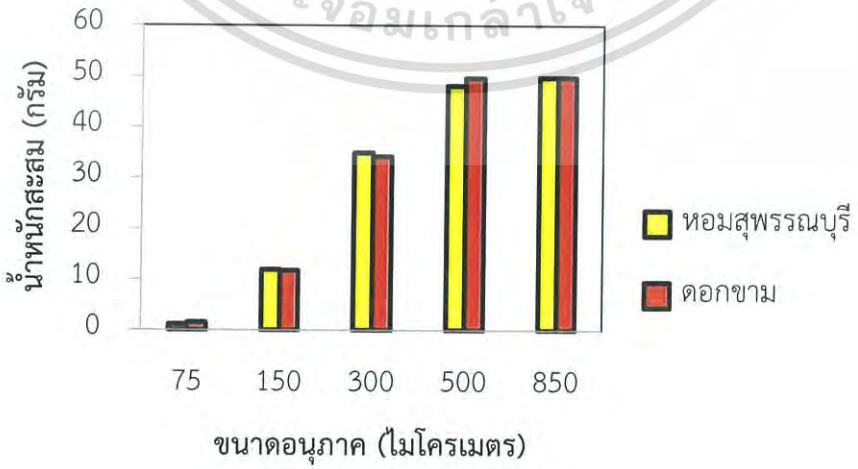
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 การแยกขนาดอนุภาคของรำข้าว

จากการศึกษาขนาดอนุภาคของรำข้าว โดยการแยกขนาดด้วยตะแกรงร่อนขนาด 75, 150, 300, 500 และ 850 ไมโครเมตร ดังรูปที่ 4.2 พบว่าขนาดอนุภาคที่ 300 ไมโครเมตร มีปริมาณรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์มากที่สุด และการศึกษาในครั้งนี้ได้เลือกใช้รำข้าว ขนาด 300 ไมโครเมตร ในการสกัด สอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ของ Massarolo และคณะ (2017) ได้ศึกษาผลของขนาดอนุภาคของรำข้าวต่อปริมาณแกมมา-โอไรซานอลและสารประกอบอื่นๆ พบว่าอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่า 0.39 มิลลิเมตร ให้ผลผลิตแกมมา-โอไรซานอลซึ่งเป็นสารสำคัญในรำข้าวสูงสุด จึงคาดการณ์ว่าขนาดของอนุภาคที่เหมาะสมดังกล่าวจะส่งผลถึงปริมาณสารสำคัญชนิดอื่นๆ ในรำข้าวอีกด้วย อีกทั้งขนาดอนุภาคที่มีขนาดเล็กจะเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสกับตัวทำละลายมากขึ้น ส่งผลให้เกิดการสกัดแกมมา-โอไรซานอลมากขึ้น นอกจากนี้รำข้าวที่มีขนาดเล็กเกินไป อาจเป็นฝุ่นผงมากกว่ารำข้าว ดังนั้นจึงนำรำข้าวขนาด 300 ไมโครเมตร มาใช้ในการสกัด

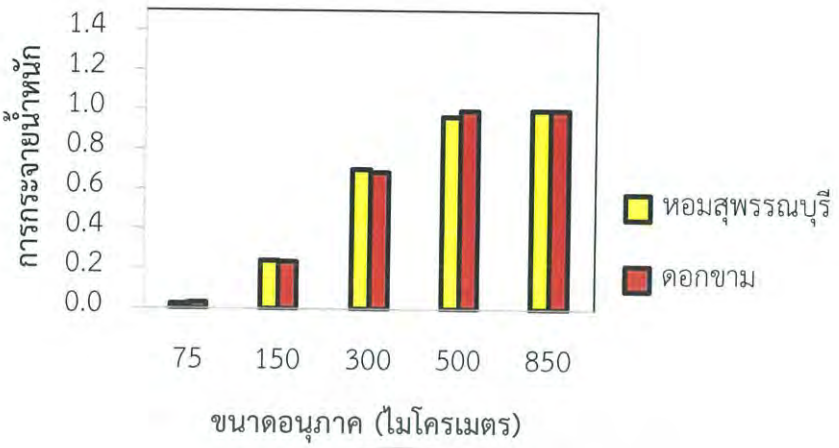



**รูปที่** 4.2 ปริมาณรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขามขนาดต่างๆที่แยกได้จากรำข้าวน้ำหนัก 50 กรัม




**รูปที่** 4.3 น้ำหนักสะสมของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของลิขสิทธิ์ทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

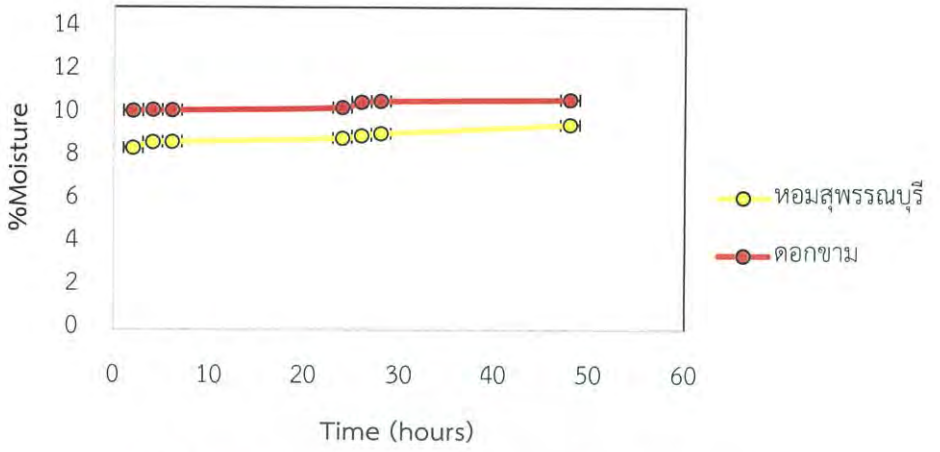



**รูปที่ 4.4** การกระจายน้ำหนักของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม

## 4.3 ความชื้นในรำข้าว

จากการศึกษาความชื้นในรำข้าว โดยการคำนวณหาร้อยละความชื้น จากสมการที่ 1 และแสดงผลกราฟเทียบกับเวลาที่ผ่านไป ดังรูปที่ 4.5 พบว่า รำข้าวหอมสุพรรณบุรี มีร้อยละความชื้นสุดท้าย ณ ชั่วโมงที่ 48 คือร้อยละ 9.5477 ต่ำกว่ารำข้าวดอกขาม คือร้อยละ 10.7186 ซึ่งความชื้นในรำข้าวจัดเป็นองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญที่มีผลต่อคุณภาพของรำข้าวในด้านการเก็บรักษา สอดคล้องกับคำกล่าวของ อรอนงค์ (2547) กล่าวว่า อิทธิพลที่มีผลต่อองค์ประกอบทางเคมีของข้าวที่สำคัญ คือ ความชื้น ซึ่งมีคุณสมบัติทางเคมีที่นำมาเป็นเกณฑ์กำหนดคุณภาพที่สำคัญ สามารถบ่งชี้อายุการเก็บรักษา หรือบ่งบอกถึงความปลอดภัยในการเก็บรักษา ข้าวที่มีความชื้นสูงจะเสื่อมเสียเร็วกว่าข้าวที่มีความชื้นต่ำ ระดับความชื้นทั่วไปของข้าวที่เหมาะสม คือร้อยละ 13 และถ้าข้าวมีความชื้นร้อยละ 12 จะทำให้เก็บรักษาได้นานขึ้นและงานวิจัยของ วิไลศรี (2549) ได้ศึกษาการวิจัยและพัฒนาอาหารเสริมสุขภาพชนิดแคปซูล Gramma-Oryzanol จากรำข้าว พบว่า รำข้าวมีเอนไซม์ไลเปส ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงคุณภาพอย่างรวดเร็วและมีผลต่อคุณภาพของน้ำมันรำข้าว จึงมีความจำเป็นในการเก็บรักษารำข้าว เช่น การแช่ตู้แช่แข็ง หรืออบไล่ความชื้น หรือนึ่ง เพื่อยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ รำข้าวที่มีคุณภาพและสะอาดสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ในอุตสาหกรรมต่างๆได้ และงานวิจัยของ Barber และคณะ (1980) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว พบว่ารำข้าวมีคุณสมบัติ Hygroscopic ซึ่งสามารถดูดซับและคายความชื้นได้ ดังนั้นค่าความชื้นของรำข้าวขึ้นอยู่กับค่าความชื้นสัมพัทธ์ของบรรยากาศ แสดงให้เห็นว่ารำข้าวหอมสุพรรณบุรีมีคุณภาพรำข้าวดีกว่าข้าวดอกขาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.5** ปริมาณความชื้นในรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม

## 4.4 องค์ประกอบทางเคมีในรำข้าว

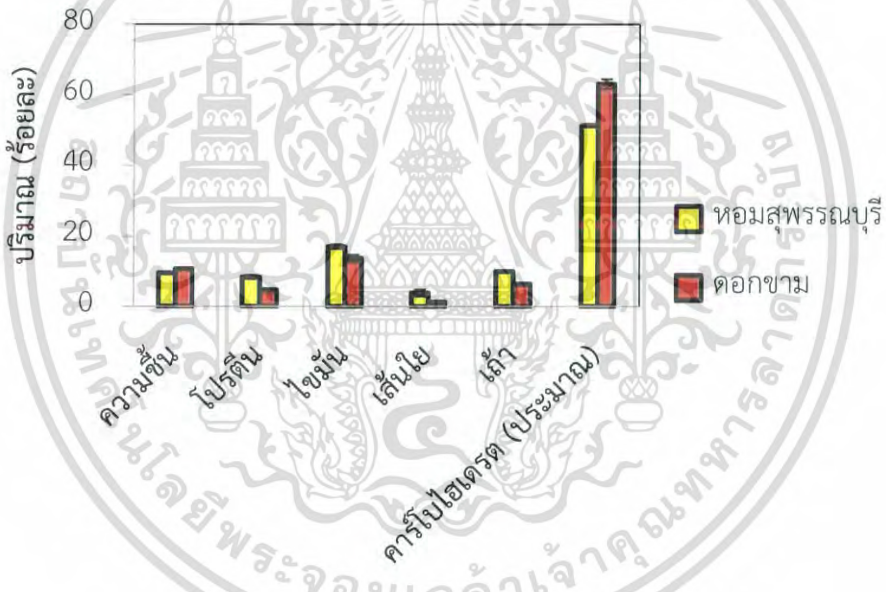
จากการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ รำข้าวหอมสุพรรณบุรีและรำข้าวดอกขาม ดังตารางที่ 4.1 พบว่า ได้ปริมาณร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว 2 สายพันธุ์ ตามลำดับ ดังนี้ โดยการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjeldahl และคำนวณหาไนโตรเจน ซึ่งเป็นองค์ประกอบของกรดอะมิโนและโปรตีน คำนวณได้จากสมการที่ 2 และ 3 ตามลำดับ รำข้าวจะมีร้อยละของโปรตีน คือ 8.3352 ± 0.5810 และ 4.7792 ± 0.3527 ตามลำดับ การวิเคราะห์ปริมาณของไขมัน คำนวณได้จากสมการที่ 4 จะมีร้อยละของไขมัน คือ 16.9922 ± 0.6872 และ 13.6549 ± 1.0348 ตามลำดับ สอดคล้องกับผลวิเคราะห์ของ นพมาศ (2545) ได้ทำการสำรวจปริมาณน้ำมันในรำข้าวพันธุ์ต่างๆของไทย พบว่าปริมาณน้ำมันในรำข้าวอยู่ในช่วงร้อยละ 12.61-22.73 การวิเคราะห์เส้นใย คำนวณได้จากสมการที่ 5 จะมีร้อยละของเส้นใย คือ 3.8720 ± 1.0201 และ 1.3545 ± 0.2551 ตามลำดับ การวิเคราะห์เถ้า คำนวณได้จากสมการที่ 6 จะมีร้อยละของเถ้า คือ 9.9614 ± 0.0571 และ 6.4152 ± 0.0387 ตามลำดับ และการวิเคราะห์คาร์โบไฮเดรต คำนวณได้จากสมการที่ 7 จะมีร้อยละของคาร์โบไฮเดรตโดยประมาณ คือร้อยละ 51.2916 ± 0.4926 และ63.0777 ± 1.3897 ตามลำดับ ซึ่งรำข้าวหอมสุพรรณบุรีจะมีร้อยละของไขมัน โปรตีน เถ้า และเส้นใยมากกว่ารำข้าวดอกขาม ยกเว้นคาร์โบไฮเดรต สรุปได้ว่ารำข้าวหอมสุพรรณบุรีมีองค์ประกอบโดยรวมมากกว่ารำข้าวดอกขาม เนื่องจากปริมาณความชื้นที่ต่ำกว่า สอดคล้องกับผลวิเคราะห์ของ อรอนงค์ (2547) กล่าวว่า องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวขึ้นอยู่กับส่วนของรำที่ได้จากกระบวนการสีข้าวและน้ำหรือความชื้น มีผลต่อคุณภาพของข้าวในการเก็บรักษา อีกทั้งผลการวิเคราะห์ยังแสดงให้เห็นว่ารำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ มีองค์ประกอบของคาร์โบไฮเดรตมากสุด ตามด้วยไขมัน โปรตีน เถ้า และเส้นใย ตามลำดับ สอดคล้องกับการวิเคราะห์ของสุดารัตน์ และคณะ (2548) โดยข้อมูลได้ศึกษาการสกัดโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวและการประยุกต์ใช้ในขนมปังและแสดงกราฟองค์ประกอบทางเคมี ดังรูปที่ 4.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.1** ร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีในรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม

| องค์ประกอบทางเคมี | ปริมาณเฉลี่ย (ร้อยละ) | |
|---|---|---|
| | รำข้าวหอมสุพรรณบุรี | รำข้าวดอกขาม |
| ความชื้น | 9.5477± 0.0723 | 10.7186 ± 0.0799 |
| โปรตีน | 8.3352 ± 0.5810 | 4.7792 ± 0.3527 |
| ไขมัน | 16.9922 ± 0.6872 | 13.6549 ± 1.0348 |
| เส้นใย | 3.8720 ± 1.0201 | 1.3545 ± 0.2551 |
| เถ้า | 9.9614 ± 0.0571 | 6.4152 ± 0.0387 |
| คาร์โบไฮเดรต (ประมาณ) | 51.2916 ± 0.4926 | 63.0777 ± 1.3897 |

**หมายเหตุ** แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน



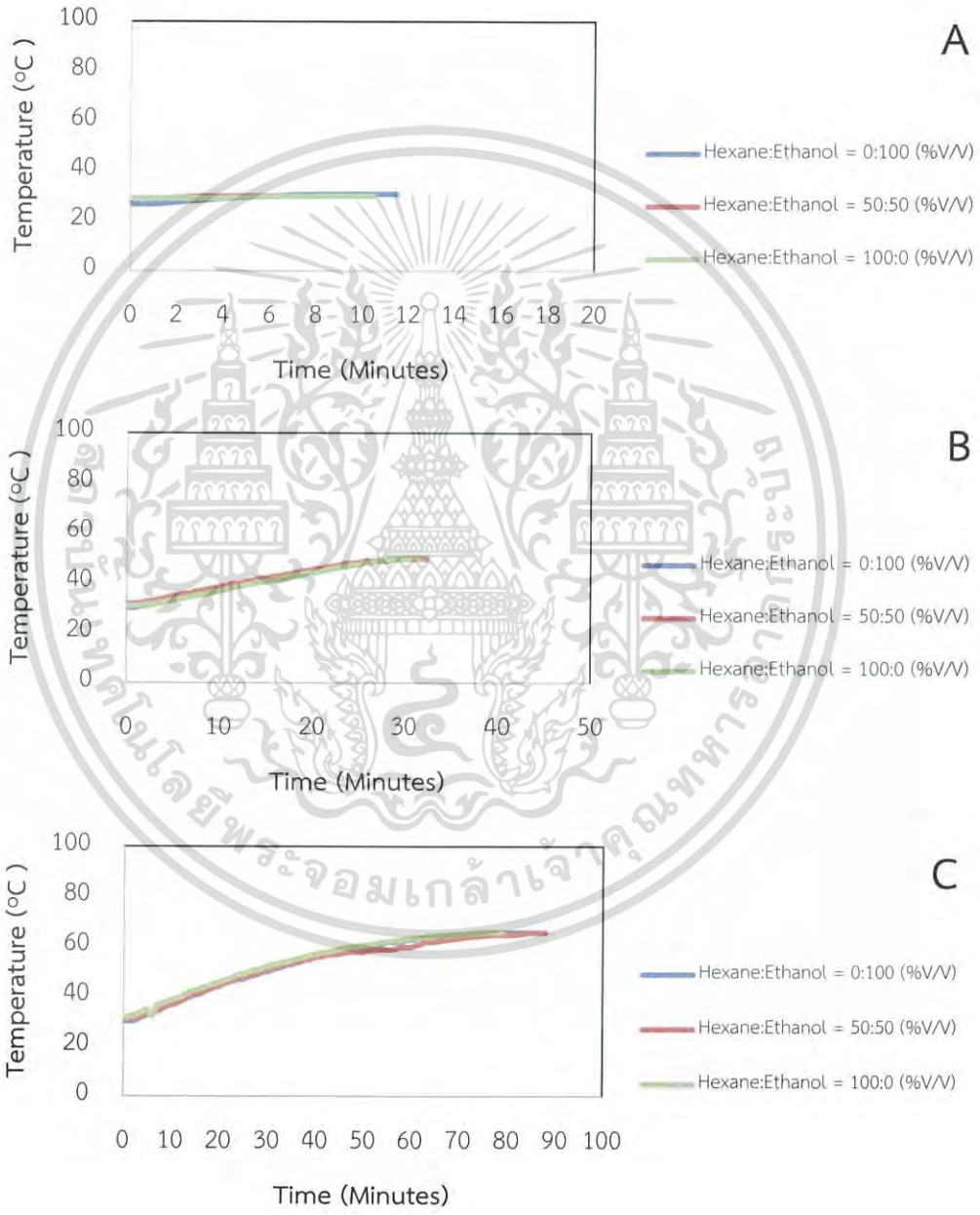

**รูปที่ 4.6** ร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีในรำข้าว

## 4.5 การทดสอบ Temperature Profiles

การศึกษา Temperature Profiles ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์หลักเพื่อศึกษาว่าจะต้องใช้เวลานานเท่าไรที่ทำให้อุณหภูมิของตัวทำละลายมีอุณหภูมิเท่ากับอุณหภูมิที่เราต้องการศึกษาการสกัดอย่างแท้จริง ซึ่งจะทำการศึกษาโดยเลือกใช้ตัวทำละลาย 3 อัตราส่วน คือเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 0 : 100, 50 : 50 และ 100 : 0 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) เป็นตัวแทนจากทั้งหมด 5 อัตราส่วน จากรูปที่ 4.7 (A) เป็นการศึกษาอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งจากอัตราส่วน ตัวทำละลายทั้ง 3 รูปแบบ พบว่า เวลาเฉลี่ยที่ทำให้ตัวทำละลายมีอุณหภูมิเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส คือ เวลา 5 นาที จากรูปที่ 4.7 (B) เป็นการศึกษาอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส จากการทดสอบโดยใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วนตัวทำละลายทั้ง 3 รูปแบบ พบว่า เวลาเฉลี่ยที่ทำให้ตัวทำละลายมีอุณหภูมิเท่ากับ 50 องศาเซลเซียส คือ เวลา 30 นาที และจากรูปที่ 4.7 (C) เป็นการศึกษาอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จากการทดสอบโดยใช้อัตราส่วนตัวทำละลายทั้ง 3 รูปแบบ พบว่า เวลาเฉลี่ยที่ทำให้ตัวทำละลายมีอุณหภูมิเท่ากับ 70 องศาเซลเซียส คือ เวลา 90 นาที และจากการสังเกตลักษณะของเส้นกราฟในทั้ง 3 อุณหภูมิ พบว่า แนวโน้มของการใช้เวลาในการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิในตัวทำละลายแต่ละอัตราส่วนไม่แตกต่างกัน




**รูปที่ 4.7** ผลการทดสอบ Temperature Profiles ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส(B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

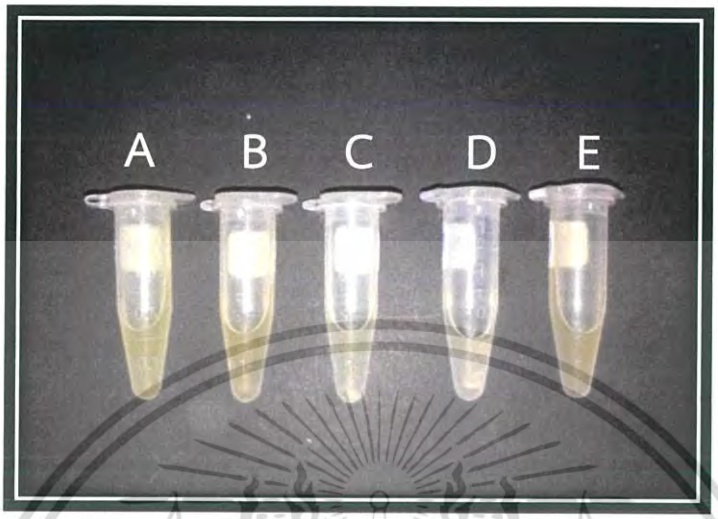
เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.6 ลักษณะทางกายภาพของสารสกัด

จากการศึกษาลักษณะทางกายภาพของสารสกัดจากรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลที่อัตราส่วนต่างๆ (A = 25 : 75 , B= 50 : 50, C= 75 : 25, D = 100 : 0 และ E = 0 : 100 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร)) ซึ่งจากรูปแต่ละตัวอย่างมีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.8 และรำข้าวดอกขาม (F1 =25 : 75 , G1= 50 : 50, H1= 75 : 25, I1 = 100 : 0 และ J1 = 0 : 100 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร)) ซึ่งจากรูปแต่ละตัวอย่างมีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ดังรูปที่ 4.9 ตามลำดับ จากการสังเกตสีสารสกัด พบว่า สารสกัดที่มีเอทานอลร้อยละ 100 (E และ J1) จะให้สีเข้มมากที่สุด โดยรำข้าวหอมสุพรรณบุรีจะมีสีเหลืองเข้ม และดอกขามจะมีสีแดง สารสกัดที่มีตัวทำละลายเฮกเซน ร้อยละ100 (D และ I1) ให้สีสารสกัดน้อยที่สุด คือสีเหลืองอ่อน ทั้ง2 สายพันธุ์ และจากการศึกษาสารสกัดรำข้าวดอกขามที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลที่อัตราส่วนต่างๆที่ผ่านการระเหยตัวทำละลายออก (F2 =25 : 75 , G2= 50 : 50, H2= 75 : 25, I2 = 100 : 0 และ J2 = 0 : 100 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) ดังรูปที่ 4.10 จะพบว่า สารสกัดที่มีเอทานอลร้อยละ 100 (J2) จะมีน้ำมันสีน้ำตาลและมีสารสีแดงเข้มปะปนน้ำมัน (Crude extract) ส่วนสารสกัดมีตัวทำละลายเฮกเซน ร้อยละ100 (I2) จะเป็นน้ำมันมีสีเหลือง ธนธัช (ธนู) อุดมพันธุ์ (ม.ป.ป.) ระบุว่าสารแต่ละชนิดละลายในตัวทำละลายได้แตกต่างกัน การที่ตัวถูกละลายละลายในตัวทำละลาย เรียกว่าความสามารถในการละลายสารชนิดเดียวกัน ถ้าเปลี่ยนตัวทำละลายความสามารถในการละลายก็จะแตกต่างกัน สารชนิดหนึ่งละลายในตัวทำละลายชนิดหนึ่ง แต่อาจจะไม่ละลายในตัวทำละลายอีกชนิดหนึ่งและงานวิจัยของปรีดาวรรณ (2556) ได้ศึกษาการเปรียบเทียบวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายต่อการสกัดวิตามินอีและแกมมา-โอไรซานอลจากรำข้าวพันธุ์ กข6 โดยการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของชนิดของตัวทำละลาย พบว่า ชนิดของตัวทำละลายและเวลามีผลต่อการสกัดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และไอโซโพรพานอลเป็นตัวทำละลายในกลุ่มแอลกอฮอล์ ซึ่งมีความมีขั้วมากกว่าเฮกเซน ทำให้มีผลต่อการสกัดแกมมา-โอไรซานอลจากรำข้าวและเมื่อสกัดร่วมกับการใช้อุณหภูมิจะทำให้สามารถสกัดสารแกมมา-โอไรซานอลได้ดีกว่าการใช้เฮกเซนภายใต้สภาวะการสกัดเดียวกัน ขณะที่การสกัดด้วยเอทานอลให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวน้อยสุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลาย 3 ชนิด และงานวิจัยของ ปิยนุช (2558) ได้ศึกษาระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมของการสกัดและปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบดาวเรือง โดยใช้ระบบตัวทำละลายที่แตกต่างกันทั้งหมด 12 ระบบเนื่องจากสารกลุ่มฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ เป็นสารที่มีความมีขั้วปานกลาง-สูง พบว่า ระบบตัวทำละลายที่เหมาะสมที่สุดมี 2 ระบบ คือ อัตราส่วนของเอทานอลและเอทธิลอะซิเตท ร้อยละ10 : 90 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ได้ปริมาณสารสกัดมากที่สุดและระบบอัตราส่วนของน้ำและเอทานอล ร้อยละ 40 : 60 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) แสดงค่าปริมาณฟีนอลิกฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการใช้เอทานอลในการสกัด ซึ่งเป็นตัวทำละลายกึ่งมีขั้วจะได้สารสำคัญมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ตัวทำละลายเฮกเซนที่เป็นตัวทำละลายไม่มีขั้ว ในทางตรงกันข้าม จะปริมาณน้ำมันน้อยกว่าตัวทำละลายเฮกเซน




**รูปที่ 4.8** สารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลที่อัตราส่วนต่างๆ (A =25 : 75 , B= 50 : 50, C= 75 : 25, D = 100 : 0 และ E = 0 : 100 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร)) ซึ่งมีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**รูปที่ 4.9** สารสกัดรำข้าวหอมดอกขามที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลที่อัตราส่วนต่างๆ (F1 =25 : 75 , G1= 50 : 50, H1= 75 : 25, I1 = 100 : 0 และ J1 = 0 : 100 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร)) ซึ่งมีความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**รูปที่ 4.10** สารสกัดรำข้าวหอมดอกขามน้ำหนัก 40 มิลลิกรัม ที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลที่อัตราส่วนต่างๆที่ผ่านการระเหยตัวทำละลายออก (F2 =25 : 75 , G2= 50 : 50, H2= 75 : 25, I2 = 100 : 0 และ J2 = 0 : 100 )

## 4.7 ปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขามในรูปร้อยละของน้ำหนักฐานเปียกและฐานแห้ง

จากการศึกษาปริมาณสารสกัดของรำข้าวสายพันธุ์หอมสุพรรณบุรีและดอกขามที่สกัดด้วยวิธีแช่ (Maceration) รายงานผลทั้งในรูปร้อยละโดยน้ำหนักฐานเปียกและฐานแห้ง ดังรูปที่ 4.11 (ความชื้นฐานเปียก), 4.12 (ความชื้นฐานแห้ง) และ 4.13 (ความชื้นฐานเปียก), 4.14 (ความชื้นฐานแห้ง) ตามลำดับ พบว่า

จากรูปที่ 4.11 และ 4.12 เมื่อวิเคราะห์ผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณสารสกัดภายในรำข้าวหอมสุพรรณบุรี โดยเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นจะมีแนวโน้มของปริมาณสารสกัดที่ได้จะมากขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกับเวลาในการสกัดเท่ากันซึ่งจะเป็นเช่นนี้ในทุกอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลที่ทำการศึกษา ซึ่งมีปริมาณสารสกัดสูงสุด เท่ากับ ร้อยละ 16.0001 ± 0.8767 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) หรือร้อยละ 17.7183 ± 0.9769 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) และเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดทางสถิติดังตารางที่ 4.2 (น้ำหนักฐานเปียก) และตารางที่ 4.3 (น้ำหนักฐานแห้ง) พบว่า แม้อุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียสจะให้ปริมาณสารสกัดที่สูงสุดแต่เมื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ทั้ง 3 อุณหภูมิ คือ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์ ณ สภาวะที่เวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกันจะพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$) ส่วนอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณสารสกัดของรำข้าวดอกขามแสดงผลดังรูปที่ 4.13 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) และ 4.14 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) พบว่า มีแนวโน้มของปริมาณสารสกัดเช่นเดียวกับรำข้าวหอมสุพรรณบุรี โดยมีปริมาณสูงสุด เมื่อสกัดด้วยอุณหภูมิ 70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส ซึ่งมีปริมาณเท่ากับร้อยละ 13.7699 ± 2.6185 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) และร้อยละ 15.4455 ± 2.9350 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) โดยเมื่อวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดทางสถิติดังตารางที่ 4.4 (น้ำหนักฐานเปียก) และตารางที่ 4.5 (น้ำหนักฐานแห้ง) พบว่า แม้อุณหภูมิที่ 70 องศาเซลเซียสจะให้ปริมาณสารสกัดที่สูงสุดแต่เมื่อเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิที่ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์ ณ สภาวะที่เวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกันจะพบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$)

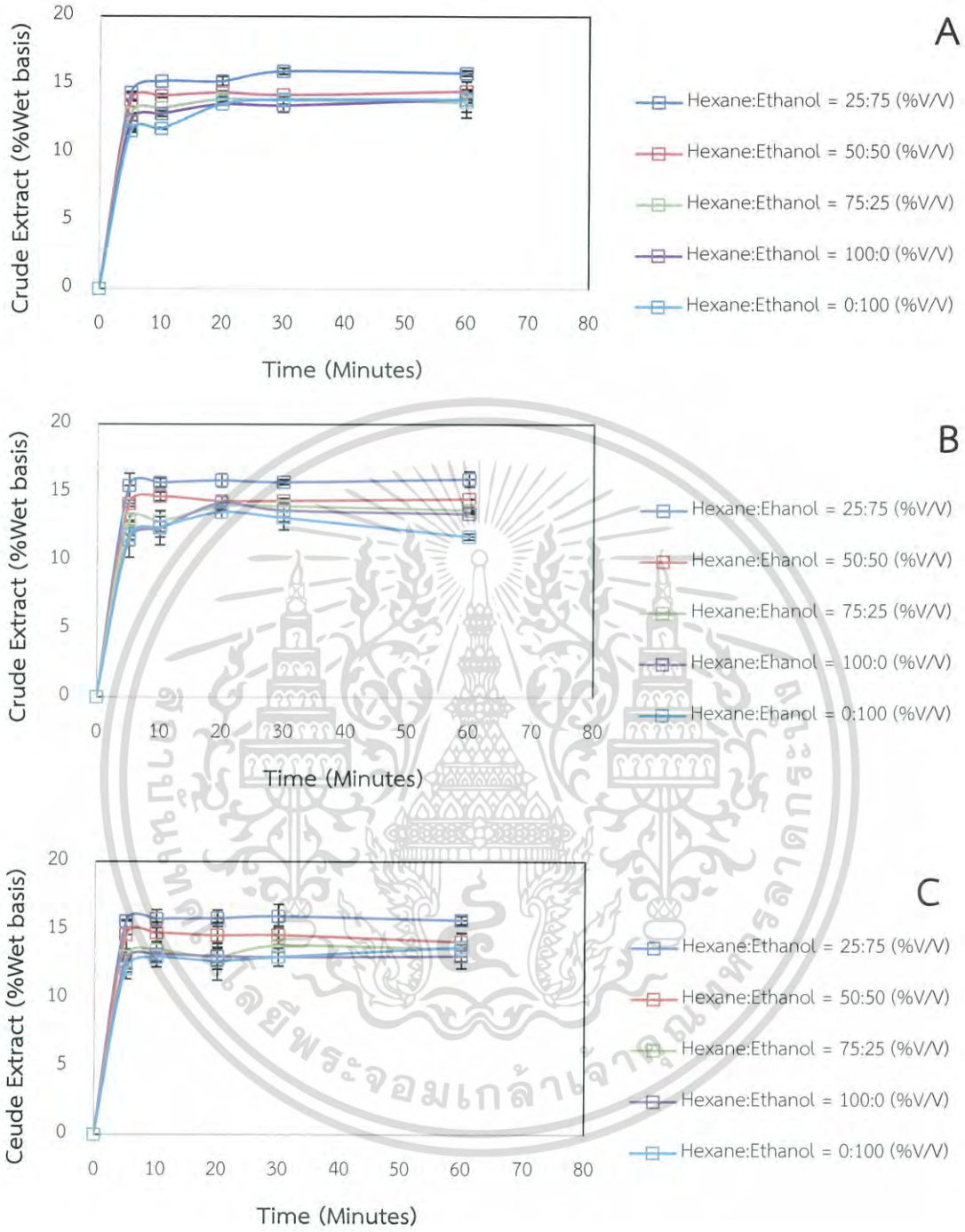
เมื่อศึกษาอิทธิพลในด้านของอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเอทานอลและเฮกเซนที่มีผลต่อปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม โดยกำหนดอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมทั้งหมด 5 รูปแบบ คือเฮกเซนและเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25, 100 : 0 และ 0 : 100 จากรูปที่ 4.11 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) และ 4.12 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) พบว่าปริมาณสารสกัดมีแนวโน้มสูงที่สุดเมื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมในอัตราส่วนร้อยละ 25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) และอัตราส่วนตัวทำละลายผสมที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารจากรำข้าวหอมสุพรรณบุรีรองลงมาคือเฮกเซนต่อเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร)เท่ากับ 50 : 50 ส่วนอัตราส่วนตัวทำละลายที่เหลือคือ 75 : 25, 100 : 0 และ 0 : 100 มีปริมาณสารสกัดที่ได้ที่ใกล้เคียงกัน และวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดทางสถิติดังตารางที่ 4.2 (น้ำหนักฐานเปียก) และตารางที่ 4.3 (น้ำหนักฐานแห้ง) พบว่า ตัวทำละลายผสมในอัตราส่วนร้อยละ 25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) จะให้ปริมาณสารสกัดที่สูงสุด เมื่อเปรียบเทียบผลของอัตราส่วนตัวทำละลายที่แตกต่างกัน ทั้ง 5 รูปแบบ โดยวิเคราะห์ ณ สภาวะที่เวลาและอุณหภูมิเดียวกันจะพบว่ามีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) กับตัวทำละลายรูปแบบอื่นๆ ส่วนอิทธิพลของอัตราส่วนตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณสารสกัดรำข้าวดอกขาม ดังรูปที่ 4.13 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) และ 4.14 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) พบว่ามีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกับรำข้าวหอมสุพรรณบุรี คือ ปริมาณสารสกัดมีแนวโน้มสูงที่สุดเมื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมในอัตราส่วนร้อยละ 25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) จากผลวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดทางสถิติดังตารางที่ 4.4 (น้ำหนักฐานเปียก) และตารางที่ 4.5 (น้ำหนักฐานแห้ง) พบว่า ตัวทำละลายผสมในอัตราส่วนร้อยละ 25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) กับตัวทำละลายรูปแบบอื่นๆ เช่นกัน หลังจากทำการพิจารณาโดยรวมแล้ว พบว่า อัตราส่วนตัวทำละลายผสมที่มีประสิทธิภาพในการสกัดได้สารปริมาณต่ำที่สุดในทุกอุณหภูมิที่ทำการศึกษาของรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ คืออัตราส่วนตัวทำละลายระหว่างเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วน 100 : 0 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) ซึ่งในกรณีนี้เป็นการศึกษาโดยใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์ คือ เฮกเซน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Hidalgo และคณะ (2016) ที่ได้ทำการศึกษาการสกัดไขมันจากสาหร่ายเพื่อนำไป ใช้เป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับไบโอดีเซลโดยใช้ตัวทำละลายผสม พบว่า การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วต่ำหรือไม่มีขั้วจะได้ค่าผลได้ของสารสกัดต่ำตามไปด้วย แต่สารที่ได้จะเป็นน้ำมันที่มีความบริสุทธิ์สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากรูปที่ 4.11 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) และ 4.12 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) ศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดที่มีผลต่อปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีโดยทำการศึกษาการสกัด ณ เวลา 5, 10, 20, 30 และ 60 นาที พบว่า การใช้ระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น จะทำให้ได้ปริมาณสารสกัดที่สูงขึ้น แต่จะเริ่มคงที่เมื่อใช้เวลา 30 นาที และเมื่อวิเคราะห์ข้อมูลในตารางที่ 4.2 (ร้อยละโดยน้ำหนักฐานเปียก) และ 4.3 (ร้อยละโดยน้ำหนักฐานแห้ง) ด้วยวิธีการทางสถิติ แนวโน้มของข้อมูลที่ทำการสกัดโดยใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$) เมื่อเวลาในการสกัดอยู่ในช่วง 20 – 60 นาที ส่วนอุณหภูมิที่ 50 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่า ปริมาณสารสกัดในทุกเวลาที่ศึกษาไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$) เมื่อพิจารณารำข้าวดอกขาม จากรูปที่ 4.13 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) และ 4.14 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) และวิเคราะห์ข้อมูลจากตารางที่ 4.4 (ร้อยละโดยน้ำหนักฐานเปียก) และ 4.5 (ร้อยละโดยน้ำหนักฐานแห้ง) พบว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกับรำข้าวหอมสุพรรณบุรี ผลการศึกษาลักษณะดังกล่าวสามารถอธิบายได้ด้วยเส้นกราฟที่เป็นข้อมูลจากการศึกษา Temperature Profiles ในรูปที่ 4.7 การทำให้อุณหภูมิของตัวทำละลายมีค่าเท่ากับอุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส จะต้องใช้ระยะเวลาถึง 30 และ 90 นาที ในระหว่างนี้จะมีสารสกัดปริมาณหนึ่งที่ถูกสกัดออกมาเรื่อยๆ เมื่อเวลาผ่านไปจนถึงอุณหภูมิที่ต้องการปริมาณสารสกัดจึงออกมาในปริมาณที่มากตามประสิทธิภาพของวิธีการสกัดที่ใช้ในการศึกษาทำให้ปริมาณสารสกัด ณ อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส ถึงแม้การสกัดโดยใช้เวลามากขึ้นจะทำให้ได้ปริมาณสารสกัดมากขึ้น แต่ก็มีแนวโน้มของข้อมูลที่ไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$)

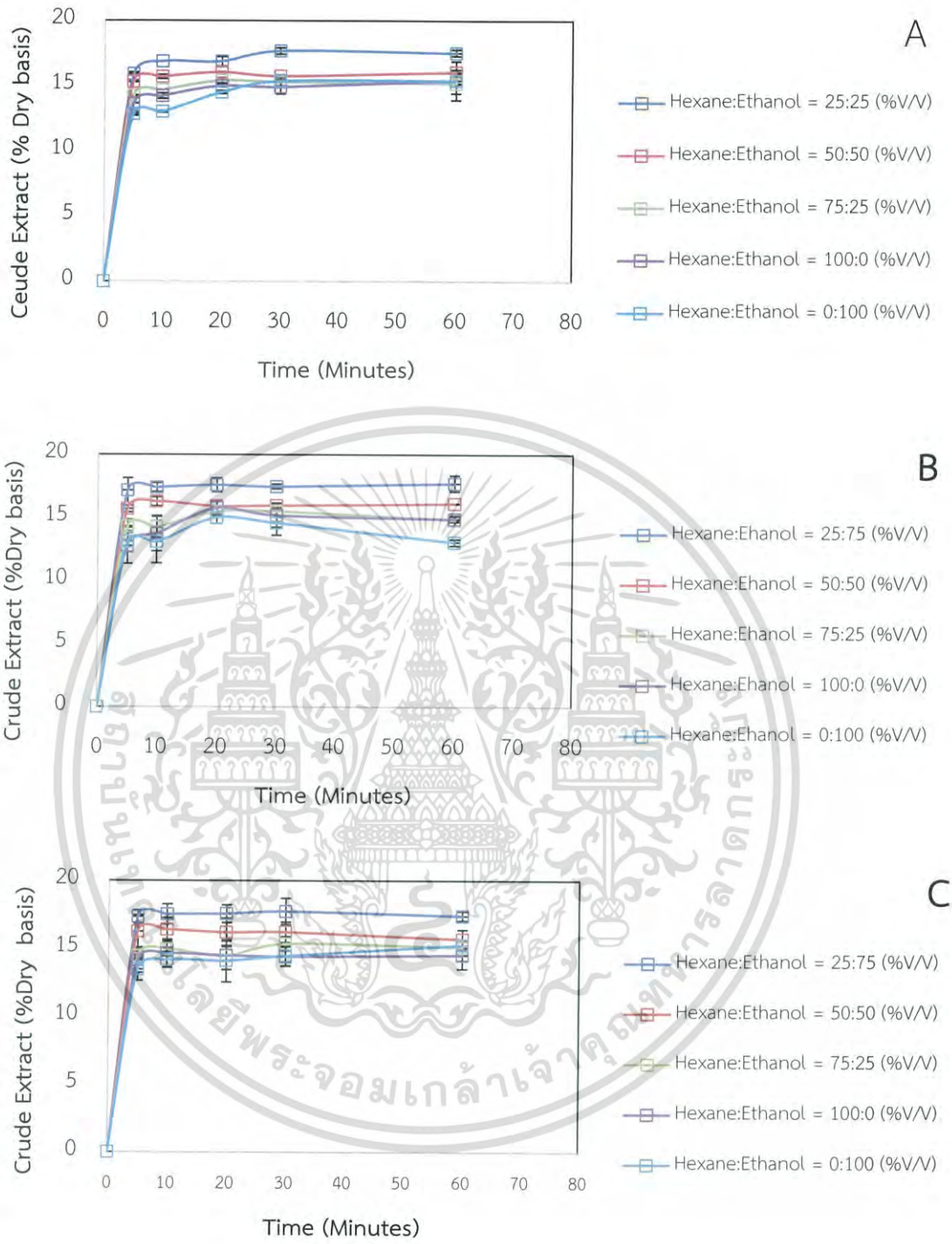
เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารสกัดของรำข้าว ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในทุกสภาวะที่ทำการศึกษา พบว่ารำข้าวหอมสุพรรณบุรีจะมีปริมาณสารสกัดที่ได้สูงกว่ารำข้าวดอกขาม ทั้งนี้เป็นผลมาจากปริมาณความชื้นภายในรำข้าวดอกขามที่สูงกว่า ดังรูปที่ 4.5 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Franco-Vega และคณะ (2016) ที่ทำการศึกษากระบวนการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากเปลือกส้มโดยใช้คลื่นไมโครเวฟร่วมด้วยในการสกัดพบว่า เปลือกส้มที่มีความชื้นเริ่มต้นร้อยละ10 ให้ปริมาณน้ำมันหอมระเหยสูงกว่าเปลือกส้มที่มีความชื้นร้อยละ 50 และงานวิจัยของ Moreno และคณะ(2010)ที่ได้ทำการสกัดน้ำมันหอมระเหยจากใบยูคาลิปตัส โดยการกลั่นด้วยไอน้ำ (steam distillation) ได้ผลผลิตของการสกัดที่สูงจากการใช้ตัวอย่างแห้ง ผู้เขียนรายงานว่า ผลผลิตที่ได้จะลดลงเมื่อปริมาณความชื้นในใบยูคาลิปตัสเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 16.1 เป็นร้อยละ 35.9 อย่างไรก็ตาม กระบวนการที่นำมาซึ่งงานวิจัยที่มีผลลัพธ์เช่นนี้ ย่อมเกี่ยวข้องกับต้นทุนที่สูงขึ้น เนื่องจากขั้นตอนการอบแห้งก่อนการสกัด แต่ผลการศึกษาในครั้งนี้ได้ค้านกับงานวิจัยของ Letellier และ Budzinski (1999) ยืนยันว่าการมีความชุ่มชื้นสูงในวัตถุดิบจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด แต่เหตุผลเช่นนี้ อาจจำเพาะกับกระบวนการบางประเภทเช่นการสกัดโดยใช้คลื่นไมโครเวฟ เนื่องจากคลื่นไมโครเวฟมีปฏิกิริยากับโมเลกุลน้ำอิสระที่มีอยู่ในเซลล์ ส่งผลให้อุณหภูมิเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนผนังของเซลล์แตกและปล่อยน้ำมันหอมระเหยออกสู่ตัวทำละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



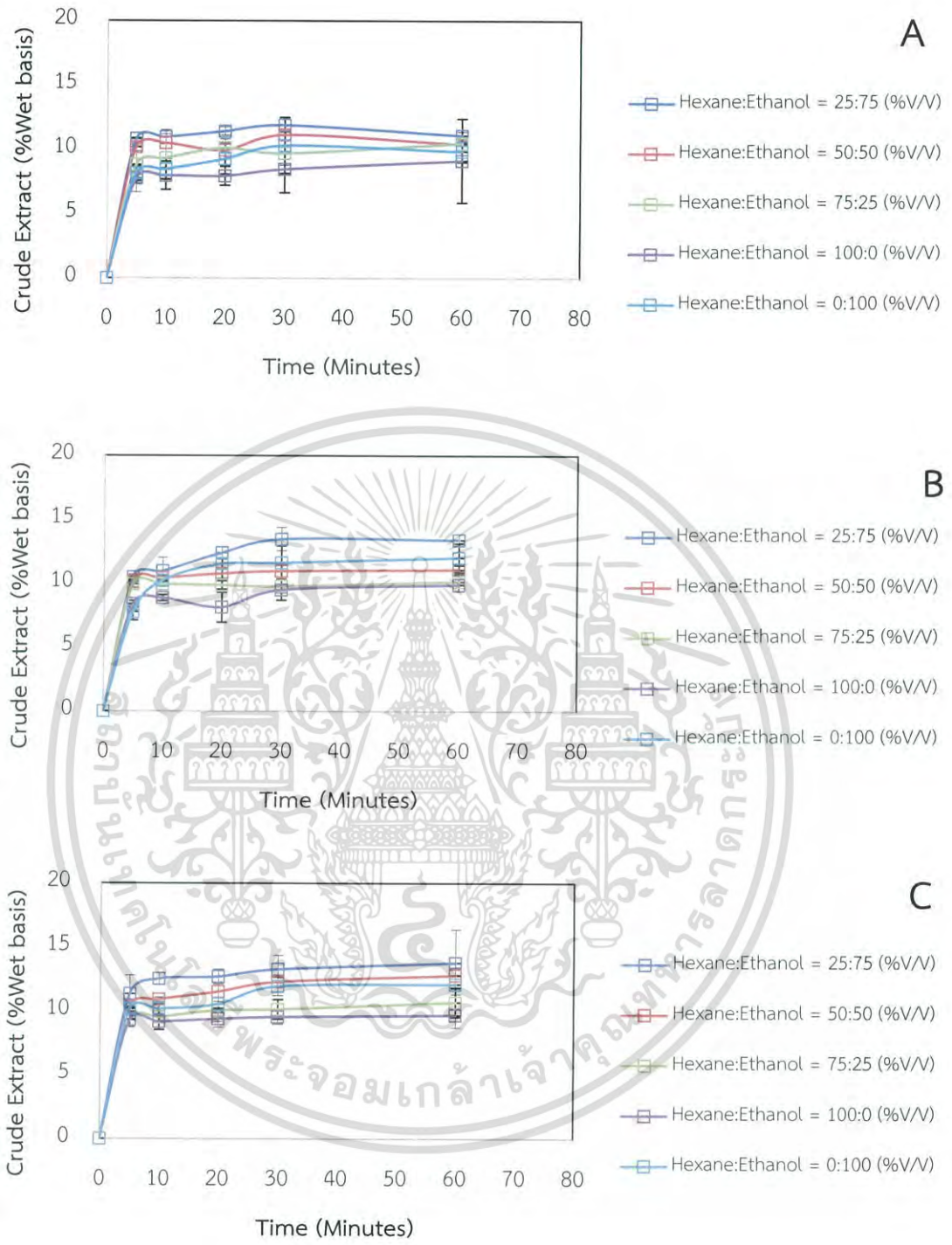

**รูปที่ 4.11** ปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



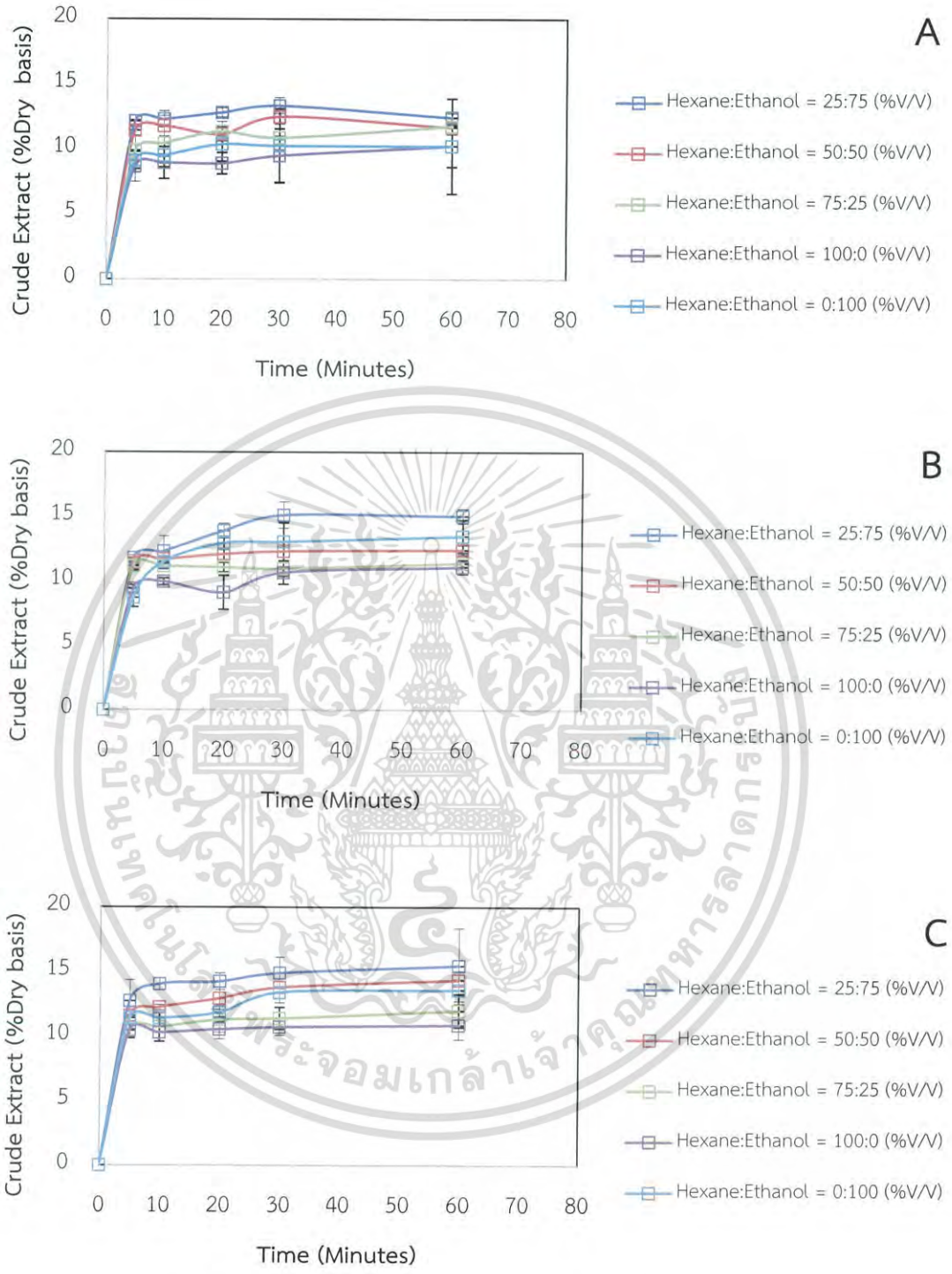

**รูปที่ 4.12** ปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานแห้งเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.13** ปริมาณสารสกัดรำข้าวดอกขามในรูปน้ำหนักฐานเปียกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 30 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.14** ปริมาณสารสกัดรำข้าวดอกขามในรูปน้ำหนักฐานแห้งเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนตัวต่างๆที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.2** ปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปร้อยละของน้ำหนักฐานเปียกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส

| อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | Crude Extract (% Wet basis) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | $14.3684 \pm 0.0982^{c,f,h}$ | $15.5031 \pm 0.8888^{a,ef,h}$ | $15.6342 \pm 0.4293^{a,e,h}$ |
| | 10 | $15.2217 \pm 0.0330^{b,e,h}$ | $15.7255 \pm 0.3080^{a,e,h}$ | $15.8176 \pm 0.6625^{a,e,h}$ |
| | 20 | $15.2320 \pm 0.3314^{b,e,h}$ | $15.8817 \pm 0.4939^{a,e,h}$ | $15.8511 \pm 0.5964^{a,e,h}$ |
| | 30 | $15.9652 \pm 0.2267^{a,e,h}$ | $15.7690 \pm 0.1891^{a,e,h}$ | $16.0001 \pm 0.8767^{a,e,h}$ |
| | 60 | $15.8281 \pm 0.1924^{a,e,h}$ | $15.9955 \pm 0.5702^{a,e,h}$ | $15.7197 \pm 0.3041^{a,e,h}$ |
| 50 : 50 | 5 | $13.8117 \pm 0.0570^{d,e,i}$ | $14.1782 \pm 0.2290^{b,e,hi}$ | $14.6495 \pm 1.0895^{a,e,h}$ |
| | 10 | $14.1433 \pm 0.1347^{c,e,i}$ | $14.7017 \pm 0.3116^{a,e,h}$ | $14.7852 \pm 0.7838^{a,e,h}$ |
| | 20 | $14.3987 \pm 0.1079^{ab,e,i}$ | $14.3751 \pm 0.0586^{ab,e,i}$ | $14.5901 \pm 0.9397^{a,e,hi}$ |
| | 30 | $14.2221 \pm 0.0884^{bc,e,i}$ | $14.3983 \pm 0.1897^{ab,e,i}$ | $14.6146 \pm 0.6777^{a,e,i}$ |
| | 60 | $14.4960 \pm 0.1633^{a,e,i}$ | $14.5370 \pm 0.0172^{ab,e,i}$ | $14.1474 \pm 0.6247^{a,e,i}$ |
| 75 : 25 | 5 | $12.8342 \pm 0.0435^{c,e,j}$ | $12.9439 \pm 0.4867^{b,e,ij}$ | $13.0335 \pm 0.3069^{a,e,i}$ |
| | 10 | $13.2483 \pm 0.0173^{bc,e,j}$ | $12.8804 \pm 0.7759^{b,e,i}$ | $13.5101 \pm 0.4778^{a,e,i}$ |
| | 20 | $13.9052 \pm 0.1712^{a,ef,j}$ | $13.9885 \pm 0.2999^{a,e,ij}$ | $13.0265 \pm 0.6929^{a,f,i}$ |
| | 30 | $13.8241 \pm 0.0355^{ab,e,ij}$ | $13.9984 \pm 0.3613^{a,e,ij}$ | $13.8410 \pm 0.4652^{a,e,ii}$ |
| | 60 | $13.7154 \pm 0.7175^{ab,e,i}$ | $13.7224 \pm 0.2111^{ab,e,j}$ | $13.6144 \pm 0.4623^{a,e,i}$ |
| 100 : 0 | 5 | $12.3063 \pm 0.3336^{b,e,k}$ | $11.5322 \pm 1.2912^{c,e,j}$ | $12.7491 \pm 0.8516^{a,e,i}$ |
| | 10 | $12.8242 \pm 0.2076^{b,e,k}$ | $12.3823 \pm 1.2364^{bc,e,i}$ | $13.2097 \pm 0.9373^{a,e,i}$ |
| | 20 | $13.5462 \pm 0.0980^{a,e,k}$ | $14.2338 \pm 0.4378^{a,e,ij}$ | $13.0700 \pm 0.9530^{a,e,i}$ |
| | 30 | $13.4668 \pm 0.5011^{a,e,j}$ | $13.6926 \pm 0.8354^{ab,e,ij}$ | $13.0098 \pm 0.6456^{a,e,j}$ |
| | 60 | $13.9146 \pm 0.2574^{a,e,i}$ | $13.4507 \pm 0.1802^{ab,e,j}$ | $13.0852 \pm 0.8860^{a,e,i}$ |
| 0 :100 | 5 | $11.5849 \pm 0.1398^{b,e,l}$ | $11.8233 \pm 0.7456^{b,e,j}$ | $12.1394 \pm 0.7337^{a,e,i}$ |
| | 10 | $11.7453 \pm 0.0612^{b,f,l}$ | $12.4609 \pm 0.7539^{ab,ef,i}$ | $12.9842 \pm 0.3430^{a,e,i}$ |
| | 20 | $13.5462 \pm 0.0980^{a,e,k}$ | $13.5629 \pm 0.4468^{a,e,j}$ | $12.7353 \pm 1.4183^{a,e,i}$ |
| | 30 | $13.8912 \pm 0.3448^{a,e,ii}$ | $13.1647 \pm 0.9032^{a,e,j}$ | $13.0200 \pm 0.6667^{a,e,j}$ |
| | 60 | $13.8939 \pm 1.3279^{a,e,i}$ | $11.7776 \pm 0.2350^{b,f,k}$ | $13.7623 \pm 1.0364^{a,e,i}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. h, I, j, k, l หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.3** ปริมาณสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปร้อยละของน้ำหนักฐานแห้งเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส

| อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | Crude Extract (% Dry basis) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | $15.9097 \pm 0.1129^{c,f,h}$ | $17.1474 \pm 0.9860^{a,ef,h}$ | $17.3279 \pm 0.4705^{a,e,h}$ |
| | 10 | $16.8674 \pm 0.0230^{b,e,h}$ | $17.4016 \pm 0.3545^{a,e,h}$ | $17.5121 \pm 0.7352^{a,e,h}$ |
| | 20 | $16.8858 \pm 0.3541^{b,e,h}$ | $17.5857 \pm 0.5488^{a,e,h}$ | $17.5489 \pm 0.6516^{a,e,h}$ |
| | 30 | $17.6741 \pm 0.2381^{a,e,h}$ | $17.4679 \pm 0.1922^{a,e,h}$ | $17.7183 \pm 0.9760^{a,e,h}$ |
| | 60 | $17.5378 \pm 0.2444^{a,e,h}$ | $17.7147 \pm 0.6267^{a,e,h}$ | $17.3979 \pm 0.3407^{a,e,h}$ |
| 50 : 50 | 5 | $15.3019 \pm 0.0498^{c,e,i}$ | $15.6813 \pm 0.2527^{b,e,hi}$ | $16.2338 \pm 1.2079^{a,e,h}$ |
| | 10 | $15.6813 \pm 0.1547^{b,e,i}$ | $16.2707 \pm 0.3537^{a,e,h}$ | $16.3738 \pm 0.8645^{a,e,h}$ |
| | 20 | $16.0533 \pm 0.0447^{a,e,i}$ | $15.9060 \pm 0.0567^{ab,e,i}$ | $16.1638 \pm 1.0547^{a,e,gi}$ |
| | 30 | $15.7513 \pm 0.0844^{b,e,i}$ | $15.9502 \pm 0.2115^{ab,e,i}$ | $16.1823 \pm 0.7509^{a,e,i}$ |
| | 60 | $16.0607 \pm 0.1947^{a,e,i}$ | $16.1012 \pm 0.0221^{ab,e,i}$ | $15.6739 \pm 0.6599^{a,e,i}$ |
| 75 : 25 | 5 | $14.2373 \pm 0.0388^{c,e,j}$ | $14.3183 \pm 0.5300^{b,e,ij}$ | $14.4325 \pm 0.3372^{a,e,i}$ |
| | 10 | $14.6904 \pm 0.0169^{bc,e,j}$ | $14.2520 \pm 0.8706^{b,e,i}$ | $14.9630 \pm 0.5361^{a,e,i}$ |
| | 20 | $15.4124 \pm 0.2211^{a,ef,j}$ | $15.4897 \pm 0.3446^{a,e,ij}$ | $14.4325 \pm 0.7707^{a,f,i}$ |
| | 30 | $15.3019 \pm 0.0567^{ab,e,jj}$ | $15.4861 \pm 0.4003^{a,e,ij}$ | $15.3350 \pm 0.5213^{a,e,ii}$ |
| | 60 | $15.2061 \pm 0.7894^{ab,e,i}$ | $14.8267 \pm 0.4283^{ab,e,j}$ | $15.0698 \pm 0.5109^{a,e,i}$ |
| 100 : 0 | 5 | $13.6332 \pm 0.3939^{b,e,k}$ | $12.7638 \pm 1.4311^{c,e,j}$ | $14.1305 \pm 0.9388^{a,e,i}$ |
| | 10 | $14.2152 \pm 0.2104^{b,e,k}$ | $13.7069 \pm 1.3681^{bc,e,i}$ | $14.6204 \pm 1.0383^{a,e,i}$ |
| | 20 | $15.0072 \pm 0.0957^{a,e,k}$ | $15.7660 \pm 0.4933^{a,e,ij}$ | $14.4804 \pm 1.0517^{a,e,i}$ |
| | 30 | $14.9261 \pm 0.5549^{a,e,j}$ | $15.1693 \pm 0.9321^{ab,e,ij}$ | $14.4031 \pm 0.7176^{a,e,j}$ |
| | 60 | $15.4050 \pm 0.2780^{a,e,i}$ | $14.8967 \pm 0.2218^{ab,e,j}$ | $14.4915 \pm 0.9964^{a,e,i}$ |
| 0 : 100 | 5 | $12.8412 \pm 0.1449^{b,e,l}$ | $13.0880 \pm 0.8358^{b,e,j}$ | $13.4490 \pm 0.8202^{a,e,i}$ |
| | 10 | $12.9996 \pm 0.0752^{b,e,l}$ | $13.0622 \pm 1.6691^{b,e,i}$ | $14.1673 \pm 0.5655^{a,e,i}$ |
| | 20 | $14.5099 \pm 0.1245^{a,e,l}$ | $15.0182 \pm 0.4933^{a,e,j}$ | $14.0936 \pm 1.5664^{a,e,i}$ |
| | 30 | $15.3682 \pm 0.3642^{a,e,jj}$ | $14.5872 \pm 0.9956^{ab,e,j}$ | $14.4289 \pm 0.7326^{a,e,j}$ |
| | 60 | $15.4050 \pm 1.4945^{a,e,i}$ | $13.0401 \pm 0.2613^{b,f,k}$ | $15.2393 \pm 1.1405^{a,e,i}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. h, I, j, k, l หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.4** ปริมาณสารสกัดรำข้าวดอกขามรูปร้อยละของน้ำหนักฐานเปียกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส

| อัตราส่วนตัวทำละลาย เฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | Crude Extract (% Wet basis) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | 10.8183 ± 0.3812$^{b,e,h}$ | 10.4851 ± 0.2119$^{b,e,h}$ | 11.3455 ± 1.4412$^{a,e,h}$ |
| | 10 | 10.9601 ± 0.5573$^{b,f,h}$ | 10.9650 ± 1.0578$^{b,f,h}$ | 12.5125 ± 0.4220$^{a,e,h}$ |
| | 20 | 11.4191 ± 0.3114$^{ab,f,h}$ | 12.3863 ± 0.5171$^{a,e,h}$ | 12.6910 ± 0.5730$^{a,e,h}$ |
| | 30 | 11.8921 ± 0.5570$^{a,e,h}$ | 13.4705 ± 0.9080$^{a,e,h}$ | 13.2739 ± 1.0953$^{a,e,h}$ |
| | 60 | 11.0944 ± 0.2872$^{ab,e,h}$ | 13.4046 ± 0.5077$^{a,e,h}$ | 13.7699 ± 2.6185$^{a,e,h}$ |
| 50 : 50 | 5 | 10.1764 ± 0.3215$^{a,e,gi}$ | 10.1649 ± 0.1723$^{b,e,h}$ | 10.3179 ± 0.4514$^{d,e,hi}$ |
| | 10 | 10.4914 ± 0.6950$^{a,e,hi}$ | 10.4186 ± 0.1347$^{ab,e,hi}$ | 10.9017 ± 0.1847$^{cd,e,i}$ |
| | 20 | 9.9384 ± 0.1497$^{a,f,i}$ | 10.7751 ± 0.4085$^{ab,ef,ij}$ | 11.5104 ± 0.7653$^{bc,e,hi}$ |
| | 30 | 11.1297 ± 1.3151$^{a,e,hi}$ | 10.9712 ± 0.6516$^{a,e,ij}$ | 12.2773 ± 0.4200$^{ab,e,h}$ |
| | 60 | 10.4106 ± 0.4654$^{a,f,h}$ | 11.0670 ± 0.3572$^{a,f,ij}$ | 12.7905 ± 0.6341$^{a,e,hi}$ |
| 75 : 25 | 5 | 8.8017 ± 2.1203$^{a,e,ij}$ | 9.9354 ± 0.2775$^{a,e,h}$ | 9.3525 ± 0.5798$^{a,e,i}$ |
| | 10 | 9.3209 ± 0.7320$^{a,e,ij}$ | 9.9404 ± 0.1837$^{a,e,i}$ | 9.5252 ± 0.9909$^{a,e,j}$ |
| | 20 | 10.1308 ± 0.6793$^{a,e,hi}$ | 9.8708 ± 0.3338$^{a,e,j}$ | 10.0526 ± 0.1413$^{a,e,ij}$ |
| | 30 | 9.6958 ±0.9418$^{a,e,hi}$ | 9.7762 ± 0.5056$^{a,e,j}$ | 10.1425 ± 0.7669$^{a,e,i}$ |
| | 60 | 10.4887 ± 0.5535$^{a,e,h}$ | 10.1402 ± 0.2262$^{a,e,j}$ | 10.6819 ± 1.1460$^{a,e,ij}$ |
| 100 : 0 | 5 | 7.7420 ±0.4179$^{a,f,j}$ | 8.3749 ± 0.2576$^{bc,f,i}$ | 9.2980 ± 0.4141$^{a,e,i}$ |
| | 10 | 7.9672 ± 1.1000$^{a,e,j}$ | 8.8661 ± 0.2412$^{abc,e,j}$ | 9.1682 ± 0.6123$^{a,e,j}$ |
| | 20 | 7.9430 ± 0.7349$^{a,e,hi}$ | 8.1264 ± 1.1669$^{c,e,k}$ | 9.3802 ± 0.6570$^{a,e,i}$ |
| | 30 | 8.4642 ± 1.8317$^{a,e,i}$ | 9.4997 ± 0.8112$^{ab,e,j}$ | 9.5376 ± 0.5646$^{a,e,i}$ |
| | 60 | 9.1331 ± 3.2655$^{a,e,h}$ | 9.8849 ±0.4753$^{a,e,j}$ | 9.6728 ± 0.9770$^{a,e,j}$ |
| 0 : 100 | 5 | 8.1366 ± 0.5919$^{a,f,j}$ | 7.7571 ± 0.6528$^{c,f,i}$ | 10.1654 ± 0.4063$^{b,e,hi}$ |
| | 10 | 8.4759 ± 0.8056$^{a,f,j}$ | 10.2313 ± 0.0036$^{b,e,hi}$ | 10.1671 ± 0.3797$^{b,e,ij}$ |
| | 20 | 9.2572 ± 1.1829$^{a,f,i}$ | 11.5466 ± 0.4502$^{ab,e,hi}$ | 10.5458 ± 1.3793$^{ab,ef,ij}$ |
| | 30 | 9.1407 ± 2.5248$^{a,e,hi}$ | 11.6253 ± 1.3066$^{ab,e,i}$ | 11.9286 ± 0.7103$^{a,e,h}$ |
| | 60 | 9.8454 ± 0.8120$^{a,f,h}$ | 12.0109 ± 1.1307$^{a,e,i}$ | 12.0895 ± 0.7622$^{a,e,hij}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. h, I, j, k, l หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น มีข้อความในวัตถุประสงค์และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.5** ปริมาณสารสกัดรำข้าวดอกขามในรูปร้อยละของน้ำหนักฐานแห้งเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส

| อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | Crude Extract (% Dry basis) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | 12.1294 ± 0.4289$^{b,e,h}$ | 11.7597 ± 0.2396$^{b,e,h}$ | 12.7231 ± 1.6190$^{a,e,h}$ |
| | 10 | 12.2899 ± 0.6247$^{b,f,h}$ | 12.3011 ± 1.1863$^{b,f,h}$ | 14.0339 ± 0.4746$^{a,e,h}$ |
| | 20 | 12.8053 ± 0.3433$^{ab,f,h}$ | 13.8920 ± 0.5831$^{a,e,h}$ | 14.2356 ± 0.6436$^{a,e,h}$ |
| | 30 | 13.3393 ± 0.6222$^{a,e,h}$ | 15.1094 ± 1.0181$^{a,e,h}$ | 14.8854 ± 1.2259$^{a,e,h}$ |
| | 60 | 12.4393 ± 0.3248$^{ab,e,h}$ | 15.0310 ± 0.5709$^{a,e,h}$ | 15.4455 ± 2.9350$^{a,e,h}$ |
| 50 : 50 | 5 | 11.4161 ± 0.3632$^{a,e,hi}$ | 11.4012 ± 0.1876$^{b,e,h}$ | 11.5729 ± 0.5098$^{d,e,hi}$ |
| | 10 | 11.7671 ± 0.7795$^{a,e,hi}$ | 11.6850 ± 0.1469$^{ab,e,hi}$ | 12.2265 ± 0.2067$^{cd,e,i}$ |
| | 20 | 11.1435 ± 0.1663$^{a,f,i}$ | 12.0808 ± 0.4559$^{ab,ef,ij}$ | 12.9099 ± 0.8562$^{bc,e,hi}$ |
| | 30 | 12.4841 ± 1.4789$^{a,e,hi}$ | 12.3011 ± 0.7303$^{a,e,ij}$ | 13.7688 ± 0.4709$^{ab,e,h}$ |
| | 60 | 11.6738 ± 0.5230$^{a,f,h}$ | 12.4094 ± 0.4041$^{a,f,ij}$ | 14.3439 ± 0.7143$^{a,e,hi}$ |
| 75 : 25 | 5 | 9.8700 ± 2.3800$^{a,e,ij}$ | 11.1435 ± 0.3113$^{a,e,h}$ | 10.4900 ± 0.6492$^{a,e,i}$ |
| | 10 | 10.4526 ± 0.8236$^{a,e,ij}$ | 11.1472 ± 0.2057$^{a,e,i}$ | 10.6841 ± 1.1115$^{a,e,j}$ |
| | 20 | 11.3601 ± 0.7628$^{a,e,hi}$ | 11.0688 ± 0.3717$^{a,e,j}$ | 11.2742 ± 0.1554$^{a,e,ij}$ |
| | 30 | 10.8746 ± 1.0548$^{a,e,hi}$ | 10.9642 ± 0.5693$^{a,e,j}$ | 11.3750 ± 0.8606$^{a,e,i}$ |
| | 60 | 11.7634 ± 0.6247$^{a,e,h}$ | 11.3713 ± 0.2537$^{a,e,j}$ | 11.9762 ± 1.2838$^{a,e,ij}$ |
| 100 : 0 | 5 | 8.6862 ± 0.4682$^{a,f,j}$ | 9.3920 ± 0.2909$^{bc,f,i}$ | 10.4265 ± 0.4648$^{a,e,i}$ |
| | 10 | 8.9364 ± 1.2321$^{a,e,j}$ | 9.9447 ± 0.2690$^{abc,e,j}$ | 10.2808 ± 0.6835$^{a,e,j}$ |
| | 20 | 8.9066 ± 0.8262$^{a,e,j}$ | 9.1157 ± 1.3090$^{c,e,k}$ | 10.5161 ± 0.7350$^{a,e,j}$ |
| | 30 | 9.4929 ± 2.0550$^{a,e,i}$ | 10.6543 ± 0.9069$^{ab,e,j}$ | 10.6991 ± 0.6348$^{a,e,i}$ |
| | 60 | 10.2435 ± 3.6637$^{a,e,h}$ | 11.0875 ± 0.5285$^{a,e,j}$ | 10.8485 ± 1.0982$^{a,e,j}$ |
| 0 : 100 | 5 | 9.1232 ± 0.6630$^{a,f,j}$ | 8.6993 ± 0.7998$^{c,f,i}$ | 11.4049 ± 0.4552$^{c,e,hi}$ |
| | 10 | 9.5078 ± 0.9085$^{a,f,j}$ | 11.4721 ± 0.0000$^{b,e,hi}$ | 11.4012 ± 0.4305$^{c,e,ij}$ |
| | 20 | 10.3817 ± 1.3301$^{a,f,i}$ | 12.9472 ± 0.5062$^{ab,e,hi}$ | 11.8269 ±1.5463b$^{c,ef,ii}$ |
| | 30 | 10.2510 ± 2.8361$^{a,e,hi}$ | 13.0406 ± 1.4676$^{ab,e,j}$ | 13.3804 ± 0.8010$^{ab,e,h}$ |
| | 60 | 10.2510 ± 1.6126$^{a,f,h}$ | 13.4719 ± 1.2716$^{a,e,i}$ | 13.5615 ± 0.8570$^{a,e,hij}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. h, I, j, k, l หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น ทั้งนี้ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม

จากการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกภายในรำข้าวสายพันธุ์หอมสุพรรณบุรีและดอกขามที่สกัดด้วยวิธีการแช่ (Maceration) คำนวณผลจากสมการเส้นตรงกราฟของกราฟมาตรฐานแกลลิก คือ y = 0.0058x – 0.0002 (รูปที่ ข.1) และรายงานผลดังรูปที่ 4.15 และ 4.16 ตามลำดับ พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ โดยเมื่อเปรียบเทียบกับเวลาในการสกัดเท่ากัน การสกัดที่ใช้อุณหภูมิสูงสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จะมีปริมาณที่ต่ำลง ซึ่งจะเป็นเช่นนี้ ในทุกอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลที่ทำการศึกษา ดังข้อมูลในตารางที่ 4.6 และ 4.7 จากผลการทดสอบทำให้ทราบว่าอุณหภูมิที่สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้สูงสุด คือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม จะให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดที่ 16.6034±0.3108 และ 109.9856±0.8686 มิลลิกรัมของแกลลิกต่อกรัมสารสกัดตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) กับอุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส ผลการทดสอบที่ได้นี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Mokrani และ Madani (2016) ที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกของ *Prunus persica* L. พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะลดลง เมื่ออุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดเพิ่มขึ้นจาก 25 องศาเซลเซียส เป็น 70 องศาเซลเซียส ซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 363 และ 284 มิลลิกรัมของแกลลิกต่อสารสกัดหนึ่งร้อยกรัม ตามลำดับ โดยให้เหตุผลว่าการสกัดโดยใช้อุณหภูมิที่สูงอาจทำให้สารประกอบฟีนอลิกที่ถูกสกัดออกไปก่อนหน้าและผสมอยู่กับตัวทำละลายถูกทำลายอีกทั้งอุณหภูมิที่สูงอาจส่งผลให้ตัวทำละลายบางส่วนระเหยออกไปจึงไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ อีกทั้งงานวิจัยของ Spigno และคณะ (2007) ที่ศึกษาผลของเวลา อุณหภูมิและตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดที่มีต่อความเข้มข้นและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลิกในองุ่น โดยกล่าวว่าการสกัดโดยใช้อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จะทำให้ได้สารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่สูงกว่า 60 องศาเซลเซียส แต่ต้องใช้เวลาในการสกัดที่นานถึง 24 ชั่วโมง หากมองทางด้านเศรษฐกิจโดยการประเมินต้นทุนด้านพลังงานที่ใช้ในขั้นตอนการสกัดต่อต้นทุนการผลิตโดยรวมก็จะแนะนำให้สกัดที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเนื่องจากใช้เวลาที่สั้นกว่าเพียงไม่ถึง 8 ชั่วโมงก็จะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงเช่นกัน ในทางตรงข้ามผลการศึกษานี้ไม่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Cacace และ Mazza (2003) ที่กล่าวว่าการใช้อุณหภูมิที่สูงช่วยในการสกัดจะเพิ่มความสามารถในการละลายและสัมประสิทธิ์การแพร่ของสารประกอบฟีนอลิกแต่สารสำคัญที่ได้จะไม่มีความบริสุทธิ์อาจเป็นเพราะการเพิ่มอุณหภูมิช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายและสัมประสิทธิ์การแพร่ของสาร

ผลการวิเคราะห์ของอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกภายในสารสกัดของรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ จากการศึกษาโดยกำหนดอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมทั้งหมด 5 รูปแบบ คือ เฮกเซนต่อเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25, 100 : 0 และ 0 : 100 และรายงานผลปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขามดังรูปที่ 4.15 และ 4.16 พบว่าการสกัดรำข้าวทั้ง 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการใช้

สายพันธุ์ให้ผลในทางเดียวกันคือสารประกอบฟีนอลิกจะมีปริมาณสูงที่สุดเมื่อทำการสกัดโดยใช้เอทานอลเพียงชนิดเดียวเป็นตัวทำละลายและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) ดังตารางที่ 4.6 (รำข้าวหอมสุพรรณบุรี) และ 4.7 (รำข้าวดอกขาม) และอัตราส่วนตัวทำละลายผสมที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกรองลงมา คือ เฮกเซนต่อเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25 และ 100 ต่อ 0 ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Do และคณะ (2014) ที่ศึกษาผลของตัวทำละลายที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ *Limnophila aromatic* พบว่า การใช้เอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 100 เป็นตัวทำละลายให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดและการใช้เอทานอลที่มีน้ำเป็นตัวทำละลายผสมจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่ำลงจากเดิม อธิบายได้ว่าสารที่ถูกสกัดออกมาอาจเป็นสารจำพวกคาร์โบไฮเดรตหรือ Terpene (สารให้กลิ่นรสและสีของพืช) มากกว่าสารประกอบฟีนอลิก นอกจากนี้อาจเป็นผลจากสารประกอบฟีนอลิกของพืชที่สามารถละลายได้ในเอทานอลเป็นกลุ่มที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่ากลุ่มที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย หรืออีกนัยหนึ่งคือเป็นไปตามหลักการที่ Zhang และคณะ (2007) ที่ว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายจะเหมือนกับการละลาย ซึ่งหมายความว่าตัวทำละลายจะสกัดเฉพาะสารทางพฤกษเคมีที่มีขั้วเดียวกันกับตัวทำละลาย Widyawati และคณะ (2014) ระบุว่า เอทานอลมีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ นอกจากนี้สามารถอธิบายได้ว่าจากการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reagent สารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่มีขั้วสูงประสิทธิภาพในการมอบอะตอมของไฮโดรเจนให้โมลิบดีนัม (ธาตุอาหารที่สำคัญของพืช) ที่เป็นองค์ประกอบในสารละลาย Folin-Ciocalteu เพื่อให้เกิดสาร phenoxyl ที่เสถียร ซึ่งปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่วิเคราะห์ได้จะขึ้นอยู่กับชนิดโครงสร้าง จำนวนและตำแหน่งของกลุ่มไฮดรอกซิลในแหวนเบนซีน (Wong และคณะ, 2006)

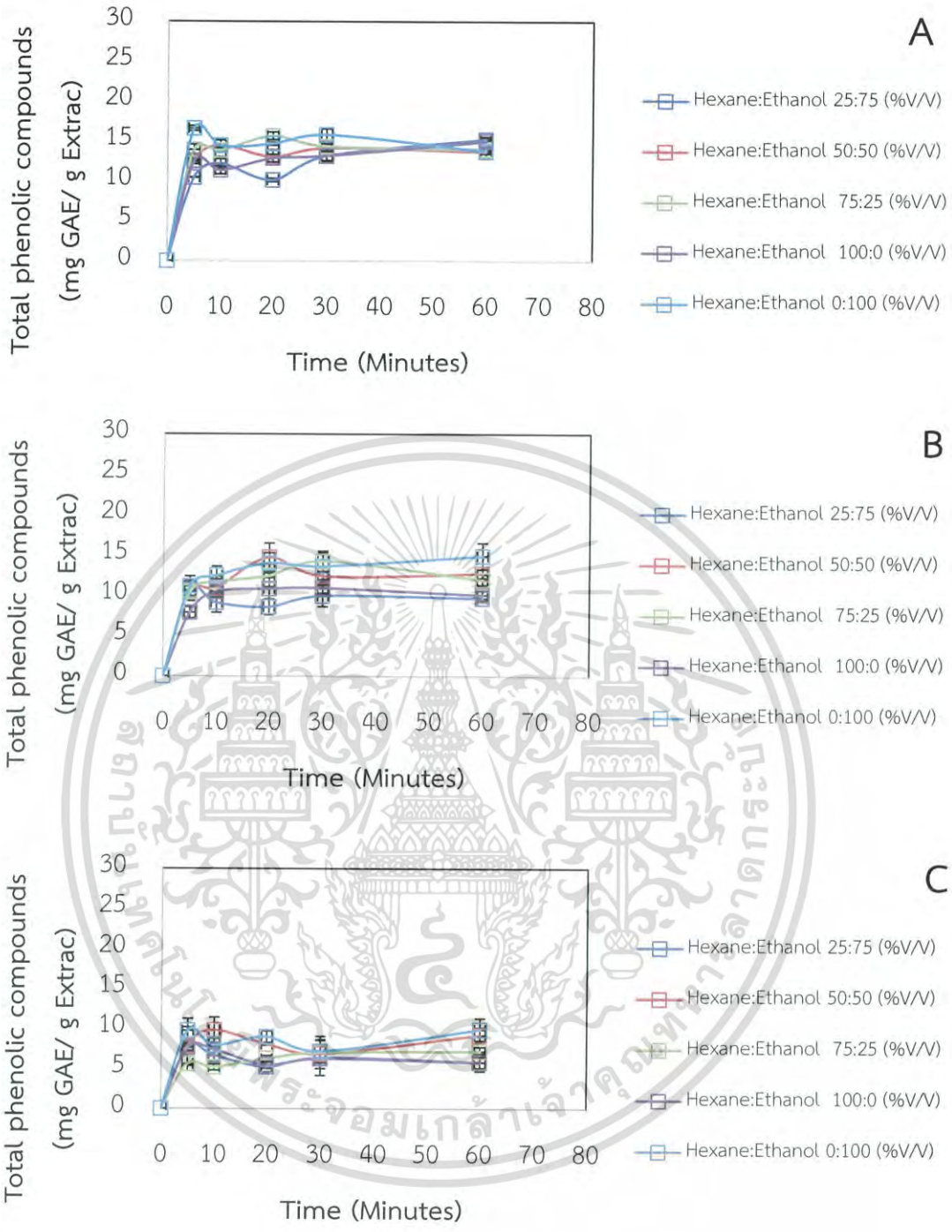
จากการศึกษาผลของเวลาในการสกัดที่มีผลต่อความสามารถในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกภายในสารสกัดของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม แสดงผลดังรูปที่ 4.15 และ 4.16 ตามลำดับ โดยทำการศึกษา ณ เวลา 5, 10, 20, 30 และ 60 นาที พบว่า ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีเมื่อวิเคราะห์ในทุกอัตราส่วนตัวทำละลายที่ใช้พบว่าแนวโน้มของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจะสูงเมื่อทำการสกัดโดยใช้เวลา 20 - 60 นาที แต่เมื่อทำการสกัดโดยใช้อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส จะใช้เวลาไม่นานเพียงช่วง 10 นาทีแรกก็ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงและไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$) ดังตารางที่ 4.6 กับสารสกัดที่สกัดโดยใช้เวลาที่มากกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Silva และคณะ (2007) ที่กล่าวว่า เวลามากเกินไปไม่ได้ช่วยให้สารประกอบฟีนอลิกสกัดออกมาได้มากขึ้น และยังอธิบายด้วยกฎการแพร่ข้อที่ 2 ของฟิกค์ (Fick's second law) ที่ว่า เมื่อถึงความเข้มข้นที่สมดุลสุดท้ายระหว่างของแข็งและของเหลว ก็จะเป็นการแพร่ที่สมบูรณ์ นอกจานนั้นการใช้เวลาในการสกัดที่นาน อาจเกิดการออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิก อันเนื่องมาจากแสงและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

ออกซิเจนอีกด้วย (Chan และคณะ, 2009) ส่วนสารประกอบฟีนอลิกในรำข้าวดอกขามเมื่อพิจารณาตารางที่ 4.7 พบว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกับรำข้าวหอมสุพรรณบุรี ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดร่วมกับรูปที่ 4.7 ผลการทดสอบของ Temperature Profiles จะเห็นว่าระยะเวลาที่ทำให้อุณหภูมิของตัวทำลายอยู่ที่อุณหภูมิ 50 (ดังรูปที่ 4.7 (B)) และ 70 (ดังรูปที่ 4.7 C)) องศาเซลเซียสต้องใช้เวลาถึง 30 และ 90 นาที ซึ่งเป็นเวลาที่สารสกัดที่ถูกสกัดออกมาเรื่อยๆ ตั้งแต่อุณหภูมิห้องเมื่อถึงอุณหภูมิที่เราต้องการศึกษาจึงทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงตั้งแต่ระยะเวลาช่วงแรกของการสกัด

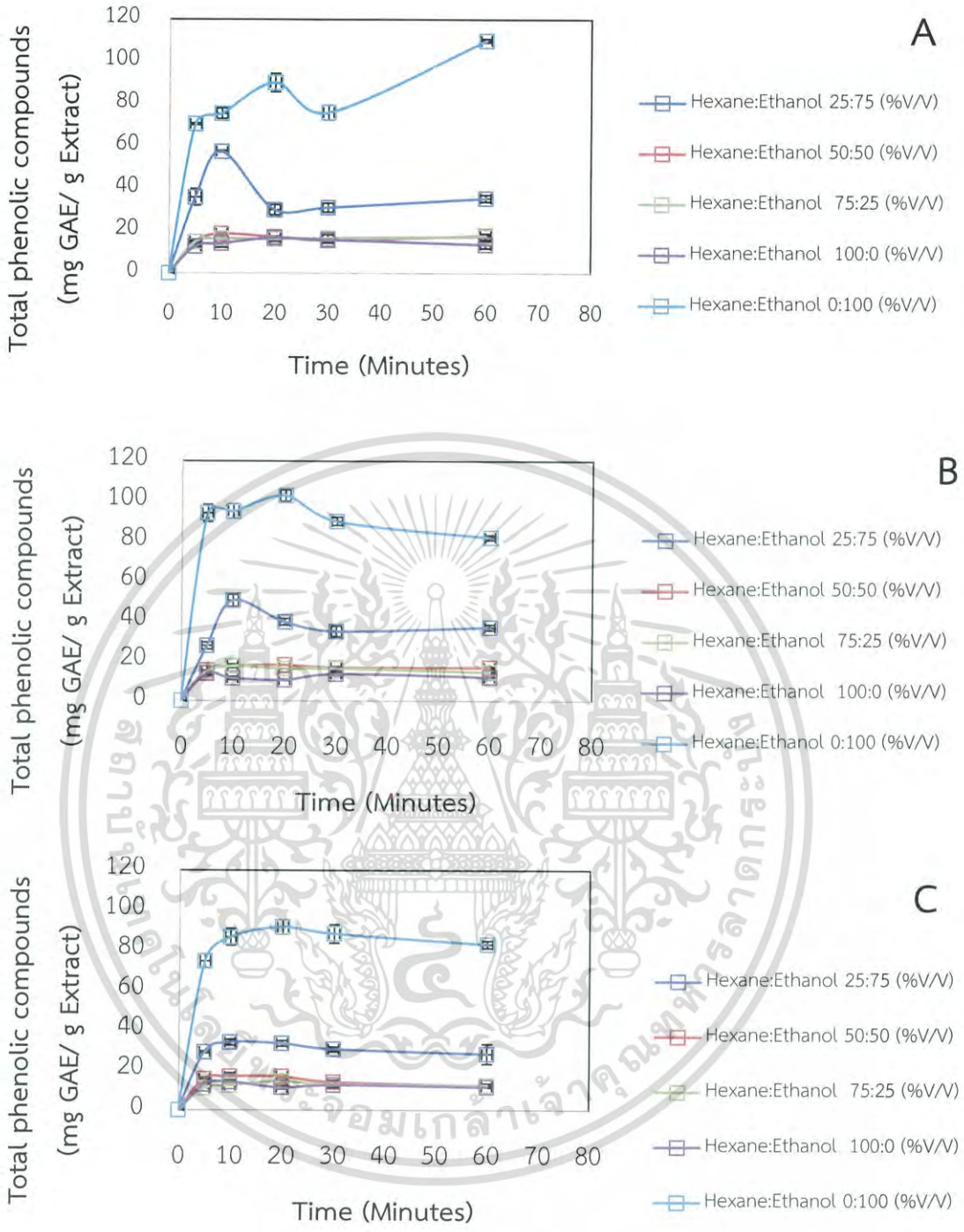
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.15** ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่สกัด ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.16** ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆของรำข้าวดอกขามที่สกัด ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องสาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.6** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรี

| อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | ปริมาณสารประกอบฟีโนลิก (mg GAE/g Extract) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | $10.4483 \pm 0.0431^{d,e,k}$ | $10.6681 \pm 1.2612^{a,e,h}$ | $7.7830 \pm 2.4091^{a,e,hi}$ |
| | 10 | $12.1724 \pm 0.6034^{c,e,j}$ | $9.1063 \pm 1.2156^{a,f,j}$ | $6.6911 \pm 1.0179^{a,g,ij}$ |
| | 20 | $10.1322 \pm 0.2169^{d,e,k}$ | $8.5805 \pm 0.9823^{a,f,j}$ | $5.2572 \pm 0.1947^{a,g,k}$ |
| | 30 | $13.1494 \pm 0.5424^{b,e,j}$ | $9.9511 \pm 1.3268^{a,f,j}$ | $6.3865 \pm 2.1970^{a,g,h}$ |
| | 60 | $15.2529 \pm 0.3292^{a,e,h}$ | $9.6552 \pm 0.4181^{a,f,j}$ | $5.8376 \pm 0.7078^{a,g,i}$ |
| 50 : 50 | 5 | $12.4943 \pm 0.3911^{c,e,j}$ | $10.4806 \pm 1.1581^{b,f,h}$ | $7.8678 \pm 0.6198^{bc,g,hi}$ |
| | 10 | $14.4626 \pm 0.6598^{a,e,h}$ | $10.9476 \pm 1.0800^{b,f,hij}$ | $9.8046 \pm 1.6421^{a,f,h}$ |
| | 20 | $13.0402 \pm 0.9065b^{c,e,j}$ | $14.7191 \pm 1.7569^{a,e,h}$ | $8.0690 \pm 0.1411^{abc,f,i}$ |
| | 30 | $14.1609 \pm 0.4186^{ab,e,ij}$ | $12.3901 \pm 1.0660^{b,f,hi}$ | $6.8534 \pm 0.4493^{c,g,h}$ |
| | 60 | $13.7011 \pm 0.6398^{ab,e,i}$ | $12.7134 \pm 0.5388^{ab,e,i}$ | $9.1897 \pm 0.9588^{ab,f,h}$ |
| 75 : 25 | 5 | $13.9167 \pm 0.6542^{b,e,i}$ | $10.4224 \pm 0.9182^{c,f,h}$ | $5.5948 \pm 0.8779^{a,g,i}$ |
| | 10 | $13.8305 \pm 0.2374^{b,e,h}$ | $11.6322 \pm 0.7384^{bc,f,hi}$ | $5.1954 \pm 0.3728^{a,g,j}$ |
| | 20 | $15.6552 \pm 0.4800^{a,e,h}$ | $12.4569 \pm 1.3838^{ab,f,hi}$ | $6.2529 \pm 0.4012^{a,g,j}$ |
| | 30 | $14.3764 \pm 0.3058^{b,e,i}$ | $14.2263 \pm 1.2626^{a,e,h}$ | $7.0431 \pm 2.0103^{a,f,h}$ |
| | 60 | $14.0029 \pm 0.5626^{b,e,i}$ | $11.9511 \pm 0.6641^{bc,f,i}$ | $7.1839 \pm 0.5683^{a,g,i}$ |
| 100 : 0 | 5 | $12.5805 \pm 0.2037^{b,e,j}$ | $7.8793 \pm 0.6946^{b,f,i}$ | $7.5948 \pm 0.4781^{a,f,hi}$ |
| | 10 | $11.3736 \pm 0.4996^{c,e,j}$ | $10.4404 \pm 0.7538^{a,e,ij}$ | $7.3966 \pm 1.3980^{ab,f,i}$ |
| | 20 | $12.8678 \pm 0.4902^{b,e,j}$ | $10.8305 \pm 1.3579^{a,f,ij}$ | $5.5029 \pm 0.4026^{c,g,jk}$ |
| | 30 | $13.1839 \pm 0.7243^{b,e,j}$ | $10.9368 \pm 0.6264^{a,f,ij}$ | $6.2644 \pm 0.8251^{abc,g,h}$ |
| | 60 | $15.0086 \pm 0.4112^{a,e,h}$ | $10.0589 \pm 0.5439^{a,f,j}$ | $5.7989 \pm 1.0981^{bc,g,i}$ |
| 0 : 100 | 5 | $16.6034 \pm 0.3108^{a,e,h}$ | $11.1408 \pm 1.2180^{b,f,h}$ | $9.7586 \pm 1.5014^{a,f,h}$ |
| | 10 | $14.4483 \pm 0.2400^{cd,e,h}$ | $12.4598 \pm 1.1459^{ab,f,h}$ | $7.9598 \pm 0.9177^{ab,g,hi}$ |
| | 20 | $14.6782 \pm 0.1944^{c,e,i}$ | $14.0029 \pm 1.2603^{a,e,h}$ | $9.0000 \pm 0.7288^{ab,f,h}$ |
| | 30 | $15.8276 \pm 0.7200^{b,e,h}$ | $13.6236 \pm 1.6554^{ab,e,h}$ | $7.2040 \pm 1.4416^{b,f,h}$ |
| | 60 | $13.7730 \pm 0.2374^{d,e,i}$ | $14.8851 \pm 1.6135^{a,e,h}$ | $9.9167 \pm 1.3935^{a,f,h}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. h, I, j, k, l หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.7** ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดรำข้าวดอกขาม

| อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | ปริมาณสารประกอบฟีโนลิก (mg GAE/g Extract) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | $35.9282 \pm 3.9584^{b,e,i}$ | $27.5690 \pm 1.7799^{d,f,i}$ | $29.0029 \pm 0.6035^{bc,f,i}$ |
| | 10 | $57.5172 \pm 0.5088^{a,e,i}$ | $50.1839 \pm 3.1069^{a,f,i}$ | $33.9282 \pm 1.3683^{a,g,i}$ |
| | 20 | $29.9856 \pm 2.3920^{d,f,i}$ | $39.5575 \pm 1.6362^{b,e,i}$ | $33.3793 \pm 1.3829^{ab,f,i}$ |
| | 30 | $31.0948 \pm 2.1440^{cd,e,i}$ | $34.7931 \pm 2.7236^{c,e,i}$ | $30.4971 \pm 1.2145^{abc,e,i}$ |
| | 60 | $35.4425 \pm 1.5640^{bc,e,i}$ | $36.8362 \pm 1.4412^{bc,e,i}$ | $28.1264 \pm 4.9240^{c,f,i}$ |
| 50 : 50 | 5 | $14.8420 \pm 0.3517^{c,e,j}$ | $15.3247 \pm 2.3319^{b,e,j}$ | $15.5029 \pm 0.6710^{ab,e,j}$ |
| | 10 | $18.6667 \pm 0.8847^{a,e,j}$ | $17.4080 \pm 0.9319^{ab,e,j}$ | $16.8075 \pm 1.8546^{a,e,j}$ |
| | 20 | $17.1667 \pm 0.4819^{b,ef,j}$ | $17.9339 \pm 0.1256^{a,e,j}$ | $16.7701 \pm 0.5034^{a,f,j}$ |
| | 30 | $15.6552 \pm 1.2285^{c,ef,j}$ | $16.6351 \pm 0.6744^{ab,e,j}$ | $13.9684 \pm 0.9414^{bc,f,j}$ |
| | 60 | $17.9023 \pm 0.4366^{ab,e,j}$ | $16.6580 \pm 0.8081^{ab,f,j}$ | $12.2701 \pm 0.0801^{c,g,j}$ |
| 75 : 25 | 5 | $14.7701 \pm 0.5118^{b,e,j}$ | $14.3190 \pm 0.8680^{c,e,j}$ | $11.0144 \pm 0.1727^{c,f,k}$ |
| | 10 | $16.3994 \pm 1.1086^{ab,e,jk}$ | $17.3477 \pm 0.6152^{a,e,j}$ | $12.4080 \pm 0.1506^{b,f,k}$ |
| | 20 | $16.1494 \pm 1.1085^{ab,e,j}$ | $16.1695 \pm 0.2969^{b,e,j}$ | $14.4828 \pm 0.1121^{a,f,jk}$ |
| | 30 | $16.7241 \pm 1.5966^{ab,e,j}$ | $16.2644 \pm 0.6953^{ab,e,jk}$ | $12.6753 \pm 1.3406^{b,f,j}$ |
| | 60 | $17.3305 \pm 1.4319^{a,e,j}$ | $14.4052 \pm 0.3814^{c,f,k}$ | $12.4770 \pm 0.8573^{b,f,j}$ |
| 100 : 0 | 5 | $12.6868 \pm 0.8767^{c,e,j}$ | $13.5460 \pm 0.8714^{a,e,j}$ | $12.8937 \pm 1.0641^{ab,e,jk}$ |
| | 10 | $14.1408 \pm 2.0080^{bc,e,k}$ | $11.3851 \pm 0.8572^{b,e,k}$ | $14.0805 \pm 1.9762^{a,e,jk}$ |
| | 20 | $16.8707 \pm 0.6381^{a,e,j}$ | $10.5000 \pm 0.4041^{b,f,k}$ | $11.3764 \pm 0.7366^{b,f,k}$ |
| | 30 | $15.9339 \pm 0.4937^{ab,e,j}$ | $13.5000 \pm 0.9484^{a,f,k}$ | $12.6034 \pm 0.4928^{ab,f,j}$ |
| | 60 | $13.6437 \pm 1.7437^{bc,e,k}$ | $11.9138 \pm 1.1369^{ab,e,l}$ | $11.5402 \pm 0.2517^{b,e,j}$ |
| 0 : 100 | 5 | $70.4626 \pm 0.4206^{d,f,h}$ | $93.9368 \pm 4.2974^{b,e,h}$ | $74.5259 \pm 3.4021^{c,f,h}$ |
| | 10 | $75.4914 \pm 2.4734^{c,g,h}$ | $94.9109 \pm 3.6097^{b,e,h}$ | $86.6178 \pm 4.1467^{ab,f,h}$ |
| | 20 | $90.0948 \pm 4.3493^{b,f,h}$ | $102.7759 \pm 3.0322^{a,e,h}$ | $91.6638 \pm 3.5943^{a,f,h}$ |
| | 30 | $75.9799 \pm 3.4048^{c,f,h}$ | $89.9052 \pm 2.0702^{b,e,h}$ | $88.2385 \pm 4.5718^{ab,e,h}$ |
| | 60 | $109.9856 \pm 0.8686^{a,e,h}$ | $81.7672 \pm 1.1834^{c,f,h}$ | $82.9511 \pm 1.8280^{b,f,h}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. h, I, j, k, l หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.9 ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ภายในสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม

จากการศึกษาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ภายในรำข้าวสายพันธุ์หอมสุพรรณบุรีและดอกขามที่สกัดด้วยวิธีการแช่ (Maceration) คำนวณผลจากสมการเส้นตรงของกราฟของกราฟมาตรฐานเควอซิทิน คือ y = 0.004x – 0.0041(รูปที่ ข.2) และรายงานผลดังรูปที่ 4.17 และ 4.18 ตามลำดับ เมื่อพิจารณาอิทธิพลของอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้จากรำข้าวหอมสุพรรณบุรี ดังตารางที่ 4.8 พบว่าเมื่อทำการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณสารฟลาโวนอยด์จะสูงที่สุดเมื่อสกัดโดยใช้อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอล เท่ากับร้อยละ 75 : 25 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) โดยมีปริมาณเท่ากับ 511.1250 ± 13.1053 มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด ทำการสกัดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ปริมาณสารฟลาโวนอยด์จะสูงที่สุดเมื่อสกัดโดยใช้ทำละลายเป็นเอทานอลเพียงชนิดเดียว โดยมีปริมาณเท่ากับ 636.6250 ± 14.1296 มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด และทำการสกัดที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ปริมาณสารฟลาโวนอยด์จะสูงที่สุดเมื่อสกัดโดยใช้อัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอล เท่ากับร้อยละ 75 : 25 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) โดยมีปริมาณเท่ากับ 638.2083 ± 7.0104 มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด เมื่อพิจารณาโดยรวมกับทุกสภาวะที่ทำการศึกษาแล้วพบว่าการสกัดสารให้ได้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สูงจะต้องใช้อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส ซึ่งปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ได้จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เมื่อพิจารณาอิทธิพลของอุณหภูมิมีผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้จากรำข้าวดอกขาม ดังข้อมูลในตารางที่ 4.9 พบว่าเมื่อทำการสกัดที่อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส ปริมาณสารฟลาโวนอยด์จะสูงที่สุดเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลเพียงชนิดเดียว โดยมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ เท่ากับ 923.2083 ± 41.2987, 866.3750 ± 16.0234 และ 779.6250 ± 46.9155 มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ จากข้อมูลข้างต้นจะเห็นว่า ปริมาณสารฟลาโว-นอยด์ในรำข้าวดอกขามจะถูกสกัดออกมาได้ปริมาณสูง เมื่อทำการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แต่เมื่อพิจารณาโดยรวมกับทุกสภาวะที่ทำการศึกษา ดังรูปที่ 4.17 และตารางที่ 4.9 จะพบว่าเป็นไปในแนวทางเดียวกับรำข้าวหอมสุพรรณบุรี คือ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สูงจะต้องใช้อุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส ในการสกัด ซึ่งปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่ได้ส่วนใหญ่จะแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Huang และ Liaw (2017) ที่ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารฟลาโวนอยด์จาก *Hypericum formosanum* พบว่า ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้จะเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 70 องศาเซลเซียส โดยมีปริมาณสูงสุด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 60 - 70 องศาเซลเซียส ผลเหล่านี้สามารถอธิบายได้ด้วยข้อเท็จจริงที่ว่าการปลดปล่อยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเซลล์พืชสามารถเพิ่มขึ้นได้โดยการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัด แต่อุณหภูมิที่สูงกว่าระดับที่เหมาะสมอาจทำให้เกิดการสลายตัวของสารเหล่านั้นได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์ของอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลที่มีต่อปริมาณสารสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้จากรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ จากการศึกษาโดยกำหนดอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมทั้งหมด 5 รูปแบบ คือ เฮกเซนต่อเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25, 100 : 0 และ 0 : 100 และรายงานผลปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขามดังรูปที่ 4.17 และ 4.18 ตามลำดับ พบว่า ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของรำข้าวหอมสุพรรณมีแนวโน้มที่ใกล้เคียงกันในทุกอัตราส่วนของตัวทำละลายและเมื่อพิจารณาจากการวิเคราะห์ทางสถิติในตารางที่ 4.8 พบว่า ที่อุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่เดียวกัน พบว่าผลการศึกษามีแนวโน้มไม่แตกต่างกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$) และในส่วนของอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลที่มีต่อปริมาณสารสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดได้จากรำข้าว ดอกขาม จากรูปที่ 4.18 (A, B และ C) จะพบว่า อัตราส่วนตัวทำละลายสามารถสกัดสารฟลาโวนอยด์ออกมาได้ปริมาณสูงสุดอย่างเด่นชัด คือ การสกัดโดยใช้เอทานอลในรูปแบบตัวทำละลายแบบดั้งเดิม อีกทั้งเมื่อวิเคราะห์ผลดังตารางที่ 4.9 พบว่า ประสิทธิภาพของตัวทำละลายในการสกัดสารฟลาโวนอยด์จากสูงไปต่ำ คือ อัตราส่วนผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ 0 : 100, 25 : 75, 50 : 50, 75 :25 และ 100 : 0 ตามลำดับ โดยปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดโดยใช้เอทานอลเพียงชนิดเดียวเป็นตัวทำละลายจะให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับตัวทำละลายรูปแบบอื่นๆ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) ซึ่งผลที่ได้ลักษณะดังกล่าวจะเหมือนกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ที่แสดงดัง รูปที่ 4.15 และ 4.16 สอดคล้องดังคำกล่าวของ Widyawati และคณะ (2014) ที่ว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์จะมีแนวโน้มที่คล้ายกับสารประกอบฟีนอลิก เนื่องจากสารฟลาโวนอยด์เป็นส่วนหนึ่งของสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญในพืชที่มีความเข้มข้นประมาณร้อยละ 80 โดยประสิทธิภาพของสารฟลาโวนอยด์ในการกำจัดอนุมูลอิสระจะถูกกำหนดโดยกลุ่มไฮดรอกซิลของตำแหน่ง ortho-dihydroxy ในโครงสร้างของวงแหวน B พันธะคู่ที่ตำแหน่ง 4-oxofunction (carbonyl group) ในโครงสร้างวงแหวน C และกลุ่มไฮดรอกซิลที่ C5 ในวงแหวน A ซึ่งลักษณะโครงสร้างดังกล่าวแสดง ดังรูปที่ 2.5

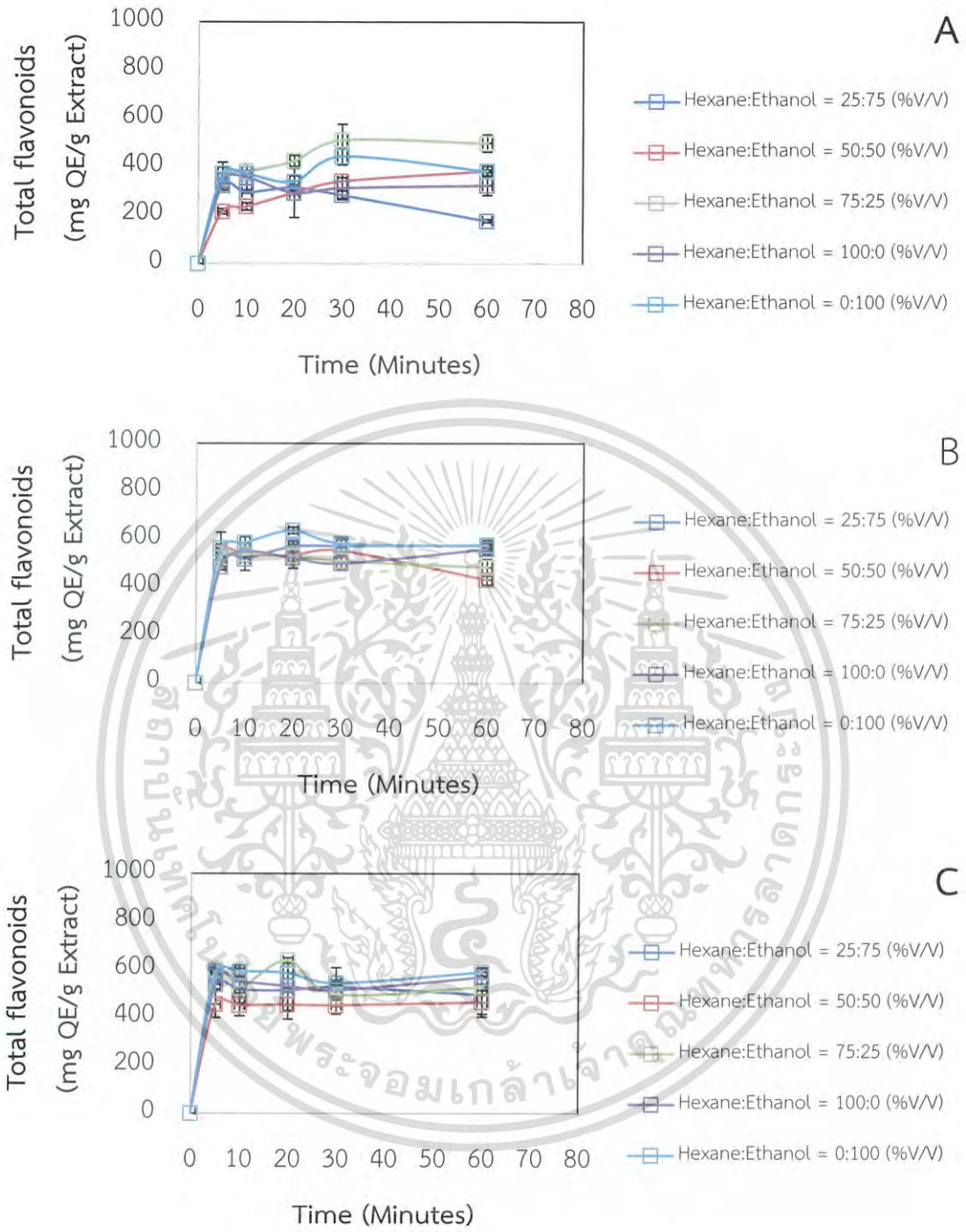
จากการศึกษาผลของเวลาในการสกัดที่มีผลต่อความสามารถในการสกัดสารฟลาโวนอยด์ของรำข้าวหอมสุพรรณและดอกขาม แสดงผลดังรูปที่ 4.17 และ 4.18 ตามลำดับ โดยทำการศึกษา ณ เวลา 5, 10, 20, 30 และ 60 นาที พบว่า ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของรำข้าวหอมสุพรรณบุรี (รูปที่ 4.17) เมื่อวิเคราะห์ภาพรวมในทุกอัตราส่วนตัวทำละลาย ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ดังรูป 4.17 (A) พบว่า การใช้เวลาสกัดที่นานขึ้นจะทำให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สูงขึ้น ยกเว้นเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 0 : 100 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ส่วนสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดโดยใช้อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ดังรูปที่ 4.17 (B)) และ 70 องศาเซลเซียส (ดังรูป 4.17 (C)) พบว่า ปริมาณสารสกัดจะเริ่มคงที่เมื่อใช้เวลา 20 – 30 นาที ในทุกรูปแบบของตัวทำละลาย ซึ่งเมื่อดูผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของทั้ง 2 อุณหภูมิที่สกัดในเวลาต่างๆ ดังตารางที่ 4.8 จะพบว่า การใช้เวลาในการสกัดตั้งแต่ 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการใช้

เป็นต้นไปจะไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) ส่วนสารฟลาโวนอยด์ในรำข้าวดอกขามที่สกัด ณ อุณหภูมิ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส ดังรูปที่ 4.18 พบว่า จะเริ่มคงที่เมื่อเวลาในการสกัดผ่านไป 20 นาที เมื่อดูผลการวิเคราะห์เปรียบเทียบทางสถิติของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในเวลาต่างๆ ดังตารางที่ 4.9 จะพบว่า การใช้เวลาที่แตกต่างกันในการสกัดมีแนวโน้มของผลการวิเคราะห์ที่ไม่แตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$)

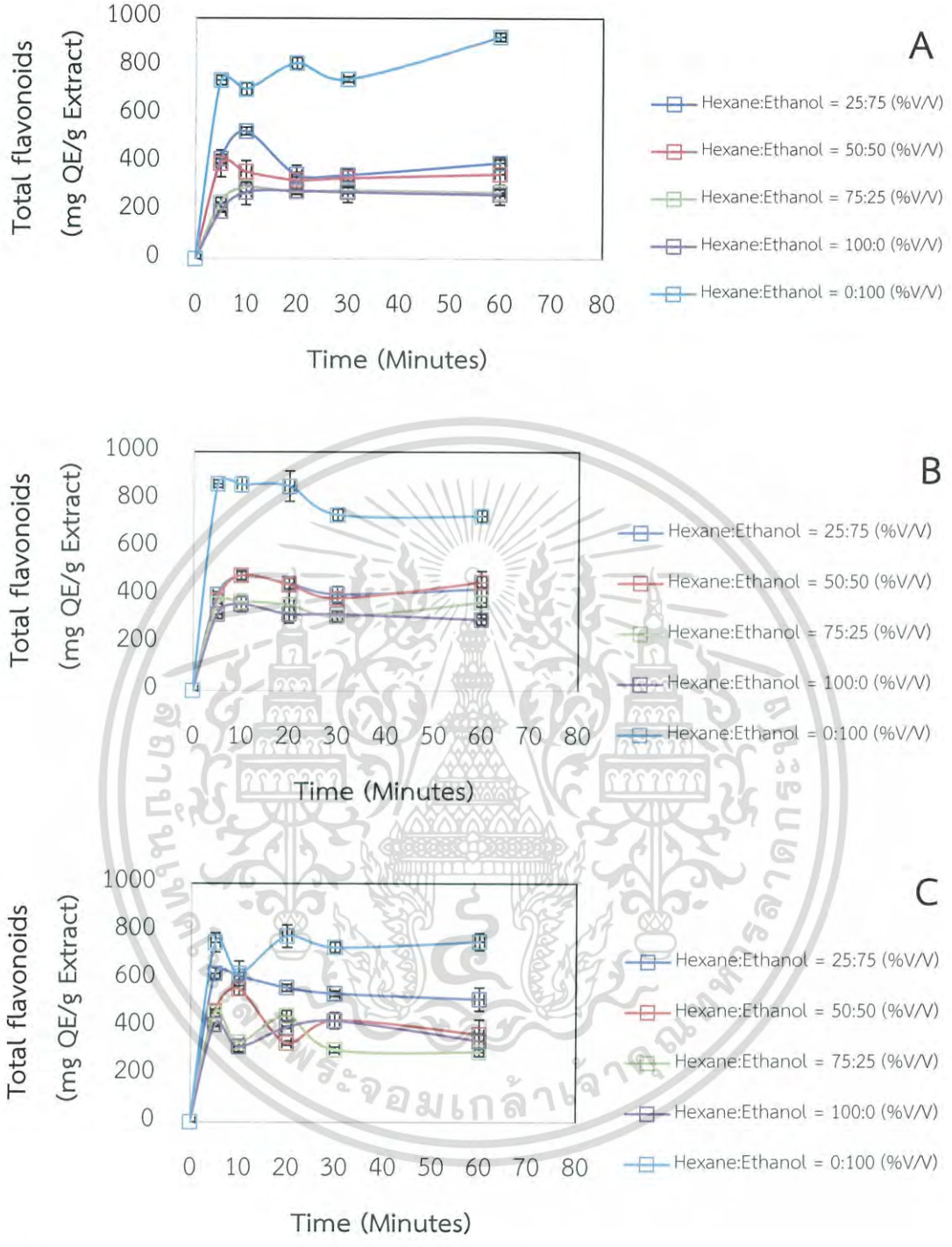
เมื่อวิเคราะห์ปริมาณเปรียบเทียบสารประกอบฟีนิอลิกกับสารฟลาโวนอยด์ จะพบว่าสารฟลาโวนอยด์มีปริมาณที่สูงกว่าสารฟีนอลิกอย่างมาก ซึ่งค้านกับลักษณะโดยทั่วไปที่ว่า ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีโนลิกที่พบมากที่สุด (ลือชัย, 2011) จากข้อมูลดังกล่าวระบุว่าสารฟลาโวนอยด์เป็นส่วนหนึ่งของสารประกอบฟีนอลิก แต่การศึกษาของเราสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kamtekar และคณะ (2014) ที่ทำการศึกษา ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์รวมไปถึงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งเอนไซม์อัลฟ่าอะไมเลสของยาสมุนไพร พบว่า ได้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่วิเคราะห์ได้มากกว่าสารประกอบฟีนอลิกในทุกตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด อีกทั้งยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ Settharaksa และคณะ (2012) ที่ศึกษาสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์และคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระของเครื่องแกงที่เป็นส่วนผสมของอาหาร โดยวิเคราะห์จากปัจจัยด้านค่าพีเอช ชนิดของตัวทำละลายและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด พบว่า มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าสารประกอบฟีนอลิกในบางสภาวะที่ศึกษา โดยอธิบายว่า ความแตกต่างนี้อาจเกิดขึ้นจากตัวอย่างและสารประกอบต่างๆที่ถูกออกมาสกัดในแต่สภาวะ โดยทั่วไปแล้วองค์ประกอบทางพฤกษเคมีในพืชแต่ละชนิดจะขึ้นอยู่กับส่วนของขี้ผึ้ง (waxy) หรือส่วนที่ไม่ใช่ขี้ผึ้ง (waxy) ปริมาณน้ำและชิ้นส่วนของพืช เช่น ใบ ผล หรือเปลือก รวมทั้งสารสำคัญที่เลือกศึกษาก็อาจส่งผลได้ เช่น แคโรทีนอยด์ สารในกลุ่มฟีนอลิก หรือสารประกอบที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อความแตกต่างของสารประกอบทางพฤกษเคมีทั้งสิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.17** ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.18** ปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดรำข้าวดอกขามเมื่อสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนต่างๆ ณ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.8** ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรี

| อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (mg QE/g Extract) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | 323.3750 ± 8.7500$^{a,f,h}$ | 524.7083 ± 54.3808$^{a,e,h}$ | 536.7917 ± 50.2253$^{a,e,i}$ |
| | 10 | 295.4583 ± 5.0518$^{bc,f,i}$ | 517.9583 ± 48.1964$^{a,e,i}$ | 515.9583 ± 15.7209$^{a,e,i}$ |
| | 20 | 314.2083 ± 11.1365a$^{b,g,ij}$ | 569.9583 ± 21.0896$^{a,e,i}$ | 513.9583 ± 4.8883$^{a,f,j}$ |
| | 30 | 283.6250 ± 18.1934$^{c,g,j}$ | 572.2917 ± 31.0608$^{a,e,h}$ | 526.5417 ±10.0664$^{a,f,h}$ |
| | 60 | 177.0000 ± 6.3750$^{d,g,k}$ | 575.4583 ± 12.2202$^{a,e,h}$ | 495.1250 ± 19.7152$^{a,f,jk}$ |
| 50 : 50 | 5 | 215.2500 ± 11.3750$^{d,g,i}$ | 543.2083 ± 12.7042$^{a,e,h}$ | 455.2917 ± 24.0577$^{a,f,j}$ |
| | 10 | 236.0000 ± 15.6250$^{d,g,j}$ | 536.1250 ± 10.7325$^{a,e,hi}$ | 451.6250 ± 54.4065$^{a,f,j}$ |
| | 20 | 292.7500 ± 8.6250$^{c,g,j}$ | 533.7917 ± 15.1169$^{a,e,i}$ | 453.7917 ± 12.1304$^{a,f,k}$ |
| | 30 | 340.7500 ± 29.8750$^{b,g,j}$ | 552.7083 ± 17.7347$^{a,e,hi}$ | 451.6250 ±17.4768$^{a,f,i}$ |
| | 60 | 383.0000 ± 5.6250$^{a,g,i}$ | 430.0417 ± 20.8227$^{b,f,j}$ | 463.6250 ± 18.3320$^{a,e,k}$ |
| 75 : 25 | 5 | 351.2500 ± 39.6250$^{c,g,h}$ | 522.4583 ± 13.4961$^{a,f,h}$ | 600.7917 ± 11.1252$^{a,e,h}$ |
| | 10 | 380.2917 ± 27.8077$^{c,f,h}$ | 536.3750 ± 31.4802$^{a,e,hi}$ | 526.7083 ± 23.4712$^{b,e,i}$ |
| | 20 | 424.7917 ± 10.5899$^{b,g,h}$ | 529.0417 ± 50.5052$^{a,f,i}$ | 638.2083 ± 7.0104$^{a,e,h}$ |
| | 30 | 511.1250 ± 13.1053$^{a,e,h}$ | 509.5417 ± 28.4740$^{a,e,ij}$ | 497.3750 ± 64.3122$^{b,e,hi}$ |
| | 60 | 498.1250 ± 2.0000$^{a,e,h}$ | 482.2917 ± 34.7692$^{a,e,i}$ | 527.2917 ± 17.5665$^{b,e,ij}$ |
| 100 : 0 | 5 | 341.7083 ± 47.2972$^{a,g,h}$ | 485.0417 ± 12.0451$^{b,f,h}$ | 574.2083 ± 21.4772$^{a,e,hi}$ |
| | 10 | 357.5000 ± 5.3750$^{a,f,h}$ | 549.4583 ± 29.6124$^{a,e,hi}$ | 551.6250 ± 8.8424$^{ab,e,hi}$ |
| | 20 | 291.7500 ± 23.1250$^{a,f,j}$ | 521.2917 ± 13.9022$^{ab,e,i}$ | 531.1250 ± 19.5784$^{bc,e,j}$ |
| | 30 | 313.1250 ± 65.2500$^{a,f,j}$ | 498.8750 ± 25.2389$^{b,e,j}$ | 514.1250 ± 16.2500$^{c,e,h}$ |
| | 60 | 323.4583 ± 35.7197$^{a,f,j}$ | 559.3750 ± 24.4041$^{a,e,h}$ | 568.1250 ± 15.2500$^{a,e,hi}$ |
| 0 : 100 | 5 | 372.3750 ± 46.2500$^{b,f,h}$ | 562.1250 ± 65.9116$^{b,e,h}$ | 589.1250 ± 9.0243$^{a,e,h}$ |
| | 10 | 371.2500 ± 2.6250$^{b,f,h}$ | 585.6250 ± 24.0017$^{ab,e,h}$ | 592.0417 ± 13.2767$^{a,e,h}$ |
| | 20 | 339.0000 ± 24.6250$^{b,g,i}$ | 636.6250 ± 14.1296$^{a,e,h}$ | 585.2083 ± 18.6167$^{a,f,i}$ |
| | 30 | 443.5417 ± 34.4278$^{a,f,j}$ | 582.2083 ± 15.9158$^{ab,e,h}$ | 543.3750 ± 21.5305$^{a,e,h}$ |
| | 60 | 382.2917 ± 20.3506$^{b,f,i}$ | 573.2083 ± 23.2957$^{ab,e,h}$ | 589.5000 ± 59.8750$^{a,e,h}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. h, I, j, k, l หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.9** ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในสารสกัดรำข้าวดอกขาม

| อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ (mg QE/g Extract) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | 415.2500 ± 18.3750$^{b,f,i}$ | 401.4583 ± 11.5929$^{b,f,i}$ | 622.4583 ± 23.7728$^{a,e,i}$ |
| | 10 | 530.3750 ± 15.7500$^{a,f,i}$ | 482.2917 ± 16.6327$^{a,g,i}$ | 610.7083 ± 15.0879$^{ab,e,h}$ |
| | 20 | 350.0000 ± 10.1250$^{c,g,i}$ | 449.1250 ± 22.5000$^{ab,f,i}$ | 563.2083 ± 15.0755$^{bc,e,i}$ |
| | 30 | 349.0000 ± 25.8750$^{c,g,i}$ | 403.8750 ± 32.7042$^{b,f,i}$ | 538.4583 ± 10.9697$^{c,e,i}$ |
| | 60 | 399.5000 ± 24.8750$^{b,f,i}$ | 426.2083 ± 74.4733$^{ab,ef,i}$ | 515.2083 ± 48.2191$^{c,e,i}$ |
| 50 : 50 | 5 | 395.8750 ± 55.7500$^{a,ef,i}$ | 378.2917 ± 9.8879$^{b,f,ij}$ | 465.4583 ± 26.3917$^{b,e,j}$ |
| | 10 | 362.1250 ± 45.4313$^{a,g,j}$ | 482.7917 ± 20.6796$^{a,f,i}$ | 557.5000 ± 25.3750$^{a,e,i}$ |
| | 20 | 327.8750 ± 60.5743$^{a,f,ij}$ | 444.5000 ± 25.3750$^{a,e,i}$ | 331.2500 ± 9.6250$^{d,f,l}$ |
| | 30 | 335.8750 ± 37.3806$^{a,f,ij}$ | 386.9583 ± 20.2752$^{b,ef,i}$ | 425.7083 ± 33.6102$^{bc,e,j}$ |
| | 60 | 352.2083 ± 61.3577$^{a,e,i}$ | 454.2500 ± 26.8750$^{a,e,i}$ | 367.8750 ± 61.7500$^{cd,e,j}$ |
| 75 : 25 | 5 | 234.4583 ± 19.7363$^{b,g,j}$ | 362.2083 ± 12.9671$^{a,f,j}$ | 456.7083 ± 15.7129$^{a,e,j}$ |
| | 10 | 296.7917 ± 25.9282$^{a,f,k}$ | 372.5417 ± 30.4962$^{a,e,j}$ | 333.7500 ± 13.3750$^{b,ef,j}$ |
| | 20 | 278.7917 ± 10.8118$^{a,f,j}$ | 359.6250 ± 67.2035$^{a,f,ij}$ | 445.2500 ± 22.8750$^{a,e,j}$ |
| | 30 | 284.4583 ± 12.7582$^{a,e,j}$ | 309.9583 ± 24.4557$^{a,e,j}$ | 303.1250 ± 12.0000$^{bc,e,k}$ |
| | 60 | 276.4583 ± 13.8075$^{a,f,j}$ | 369.8750 ± 64.5000$^{a,e,ij}$ | 294.0000 ± 18.3750$^{c,ef,j}$ |
| 100 : 0 | 5 | 197.7917 ± 25.5616$^{b,g,j}$ | 319.5417 ± 18.7988$^{ab,f,k}$ | 407.6250 ± 8.5000$^{a,e,k}$ |
| | 10 | 276.8750 ± 19.7342$^{a,f,k}$ | 362.0417 ± 32.3963$^{a,e,j}$ | 316.5000 ± 22.6250$^{b,ef,j}$ |
| | 20 | 283.9583 ± 15.6930$^{a,f,j}$ | 320.4583 ± 37.6475$^{ab,f,j}$ | 396.8750 ± 4.7500$^{a,e,k}$ |
| | 30 | 277.7083 ± 26.7679$^{a,f,j}$ | 319.8750 ± 4.0234$^{ab,f,j}$ | 424.3750 ± 32.7500$^{a,e,j}$ |
| | 60 | 267.2083 ± 26.7679$^{a,e,j}$ | 298.3750 ± 21.7500$^{b,ef,j}$ | 340.6250 ± 31.5000$^{b,e,j}$ |
| 0 : 100 | 5 | 742.5000 ± 5.1250$^{c,f,h}$ | 866.3750 ± 16.0234$^{a,e,h}$ | 752.2083 ± 40.4076$^{a,f,h}$ |
| | 10 | 705.2917 ± 53.0815$^{c,f,h}$ | 863.1250 ± 31.0000$^{a,e,h}$ | 622.8750 ± 51.6763$^{b,f,h}$ |
| | 20 | 813.1250 ± 14.7500$^{c,e,h}$ | 856.6250 ± 63.7500$^{a,e,h}$ | 779.6250 ± 46.9155$^{a,e,h}$ |
| | 30 | 746.8750 ± 42.7705$^{b,e,h}$ | 737.2083 ± 24.1820$^{b,e,h}$ | 732.6250 ± 21.7500$^{a,e,h}$ |
| | 60 | 923.2083 ± 41.2987$^{a,e,h}$ | 732.1250 ± 24.2500$^{b,f,h}$ | 755.6250 ± 35.7500$^{a,f,h}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. h, I, j, k, l หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.10 การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม

### 4.10.1 การวิเคราะห์ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่ได้จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

จากการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดจากรำข้าวสายพันธุ์หอมสุพรรณบุรีและดอกขามที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 โดยจะเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน 2 ชนิด คือ โทรลอกซ์ ดังรูปที่ ข.4 และ BHT ดังรูป ข.6 มีค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 เท่ากับ 0.0115 และ 0.1473 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ พบว่า จากรูปที่ 4.19 เมื่อวิเคราะห์อิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดจากรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่ใช้ในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 อุณหภูมิ พบว่า สารสกัดในทุกอัตราส่วนตัวทำละลายผสมทั้ง 5 รูปแบบ คือ เฮกเซนต่อเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25, 100 : 0 และ 0 :100 ที่สกัด ณ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ดังรูปที่ 4.19 (C) มีแนวโน้มของการออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด กล่าวคือ ใช้สารสกัดความเข้มข้นต่ำกว่าที่สกัดโดยใช้อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส ก็สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 และจากรูปที่ 4.20 จะพบว่า ผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดจากรำข้าวดอกขามที่ใช้ในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 มีแนวโน้มของผลการทดสอบเช่นเดียวกับรำข้าวหอมสุพรรณบุรี ผลเช่นนี้เป็นดังคำกล่าวของ Yang และคณะ (2009) ที่ว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากธรรมชาติขึ้นอยู่กับตัวทำละลายและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

การวิเคราะห์ผลของอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลที่มีผลต่อปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ภายในสารสกัดของ รำข้าวหอมสุพรรณบุรี จากการศึกษาโดยกำหนดอัตราส่วนของตัวทำละลายผสมทั้งหมด 5 รูปแบบ ดังที่กล่าวข้างต้น พบว่าความเข้มข้นของสารสกัดมีฤทธิ์สูงที่สุด (ใช้ปริมาณความเข้มข้นของสารในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ต่ำที่สุด) เมื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมในอัตราส่วนร้อยละ 0 ต่อ 100 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) คือใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเพียง 3.2846 ± 0.0574 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และอัตราส่วนตัวทำละลายผสมที่มีประสิทธิภาพในการละลายฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวหอมสุพรรณบุรี รองลงมา คือ เฮกเซนต่อเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25 และ 100 : 0 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.19 และจากการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดจากรำข้าวสายพันธุ์ดอกขามที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ในสภาวะเช่นเดียวกันกับรำข้าวสายพันธุ์หอมสุพรรณบุรี พบว่า ผลที่ได้จากการศึกษา (รูปที่ 4.20) มีแนวโน้มในทิศทางเดียวกับรำข้าวหอมสุพรรณบุรี คือ ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดเพียง 0.0487 ± 0.0038 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเท่านั้น รองลงมา คือ เฮกเซนต่อเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร

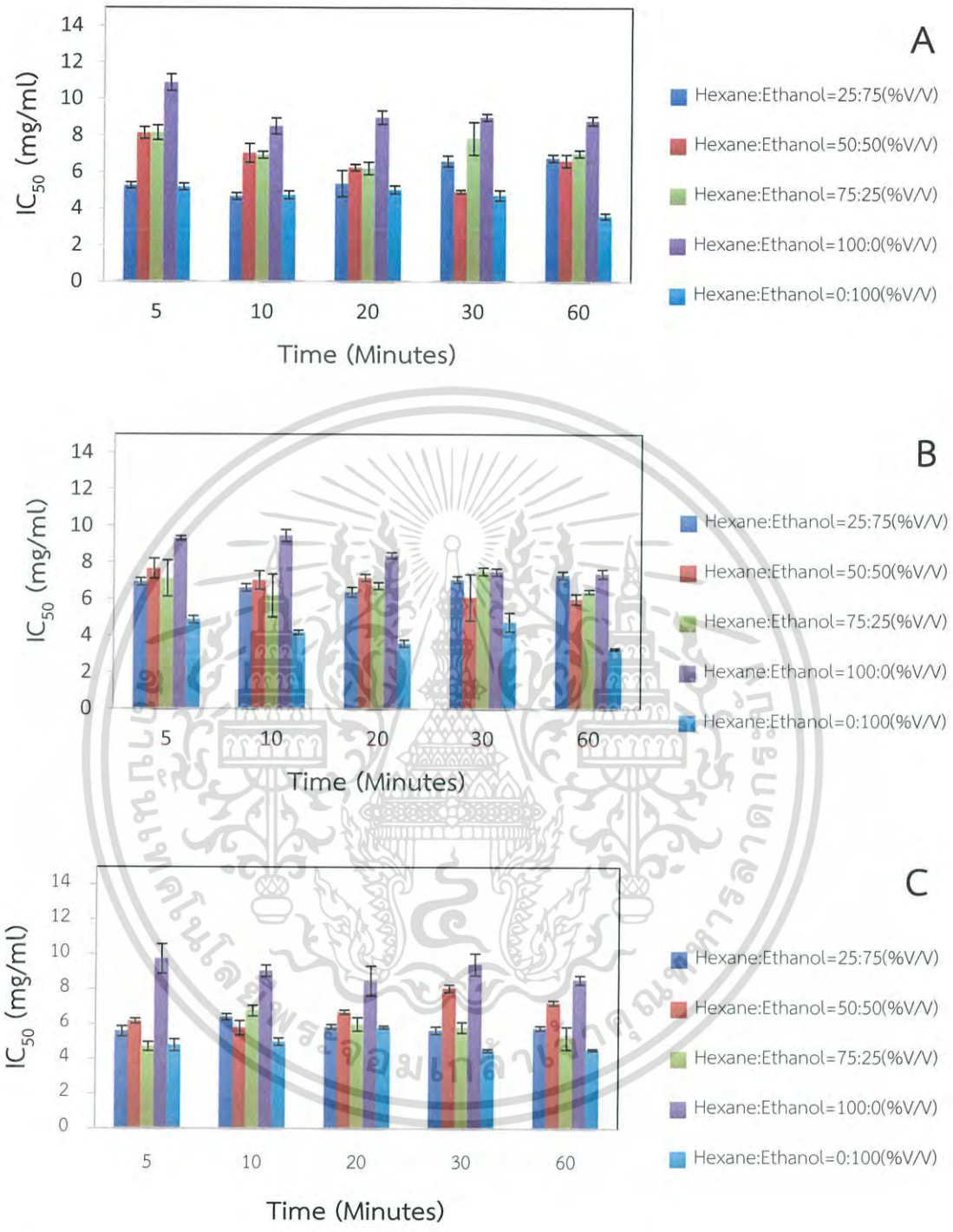
เอกสารนี้เป็นลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น เว้นแต่จะได้รับอนุญาตจากมหาวิทยาลัยเชียงใหม่เป็นลายลักษณ์อักษร

ต่อปริมาตร) เท่ากับ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25 และ 100 : 0 ตามลำดับ ดังรูปที่ 4.20 จึงกล่าวได้ว่า อัตราส่วนตัวทำละลายผสมแต่ละรูปแบบที่ใช้ในการสกัด จะส่งผลต่อปริมาณฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดที่ได้ออกมาด้วย สอดคล้องกับคำกล่าวของ Arakaki และคณะ (2016) ที่ว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดนั้น ขึ้นอยู่กับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด การเลือกตัวทำละลายมาใช้ในการสกัดถือเป็นขั้นตอนสำคัญ เนื่องจากขั้วของตัวทำละลายจะเป็นตัวแปรที่ส่งผลถึงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Goulas และคณะ, 2012) จากงานวิจัยของ Felhi และคณะ (2017) ที่ศึกษาตัวทำละลาย 3 ชนิด แล้วรายงานว่า สารสกัดจากตัวทำละลายเมทานอลมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าตัวทำละลายจากอะซิโตนและไดเอทิลอีเทอร์ โดยเมื่อพิจารณาค่าความมีขั้วของตัวทำละลายโดยใช้ข้อมูลจาก วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี (2556) พบว่า ค่าความมีขั้วของไดเอทิลอีเทอร์ อะซิโตน และเมทานอลมีค่า 4.3, 21 และ 33 ตามลำดับ จากข้อมูลดังกล่าว ทำให้ทราบว่าเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูง จึงสกัดสารที่ออกฤทธิ์ทางต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ผลการศึกษาของเราจึงมีความสอดคล้องกับงานวิจัยดังกล่าว เนื่องจากเราใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอล ความมีขั้วของตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด มีค่าเท่ากับ 2 และ 24 ตามลำดับ (วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี, 2556) จึงทำให้สารสกัดที่สกัดโดยใช้ตัวทำละลายเอทานอลในอัตราส่วนที่สูงกว่าเฮกเซน มีประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงกว่าตามไปด้วย

จากรูปที่ 4.19 และ 4.20 เมื่อพิจารณาผลของเวลาในการสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขามที่มีต่อฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระ โดยทำการศึกษาที่เวลา 5, 10, 20, 30 และ 60 นาที พบว่า สารสกัดจากรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ให้ผลการศึกษาในทิศทางเช่นเดียวกัน คือ การใช้ระยะเวลาในการสกัดที่ยาวนานขึ้นไม่ได้ส่งผลให้สารสกัดมีแนวโน้มของฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากนัก

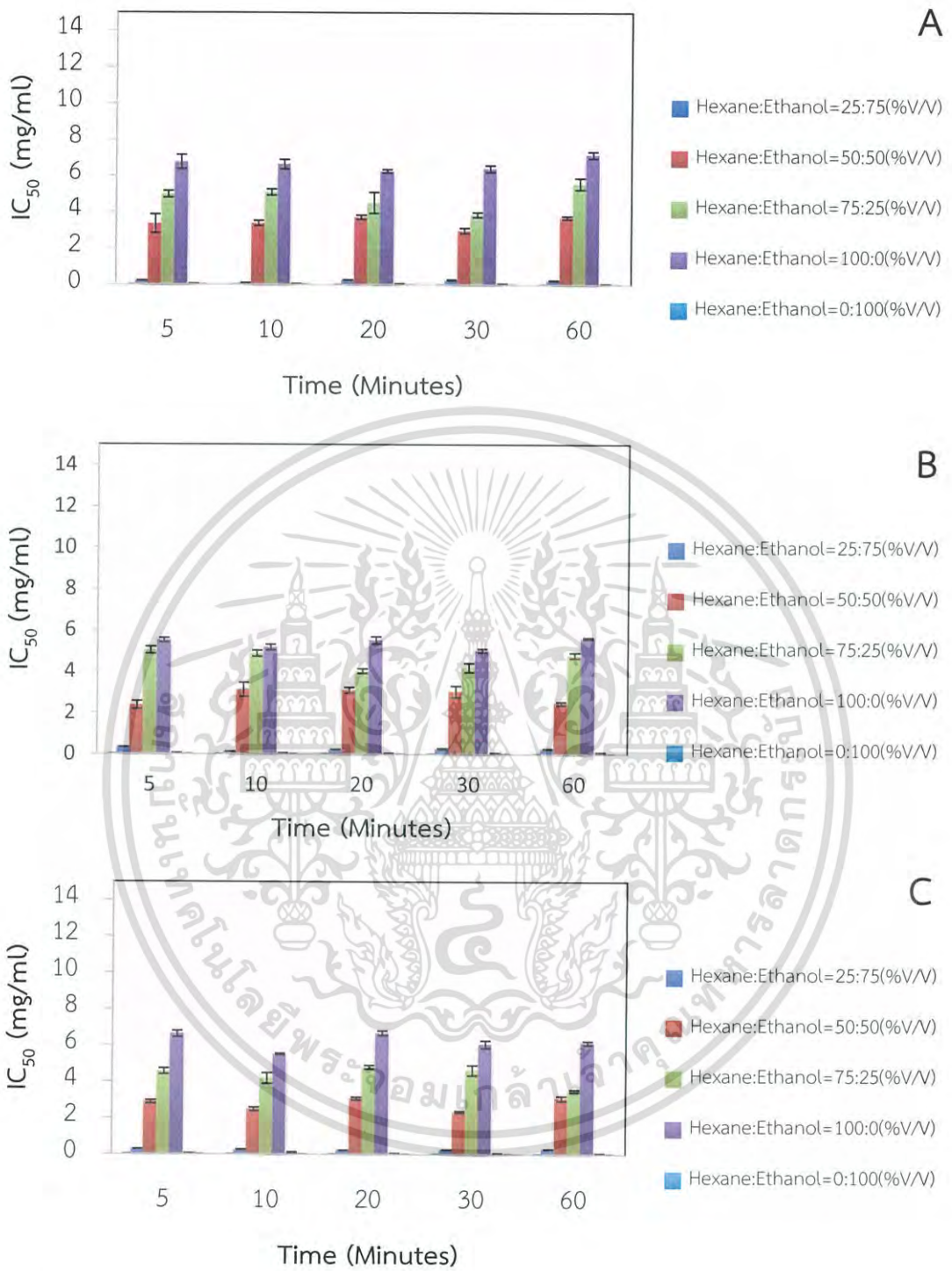
เมื่อทำการเปรียบเทียบฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ระหว่างรำข้าว ทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่า รำข้าวดอกขามมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ารำข้าวหอมสุพรรณบุรีในทุกสภาวะที่ทำการทดสอบโดยจะสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนจากผลของการศึกษาโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนต่อเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ ร้อยละ 0 : 100 และร้อยละ 25 : 75 ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ตามการศึกษาลักษณะทางกายภาพของรำข้าวและสารสกัดจากรำข้าว ในหัวข้อที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ จะเห็นว่ารำข้าวดอกขามมีลักษณะเป็นสีน้ำตาลแดงเมื่อสกัดสารออกมาแล้วพบว่าสารสกัดจะมีทั้งส่วนที่เป็นน้ำมันออกมาเพียงเล็กน้อยและมีสารสีออกมาในปริมาณที่มากกว่า ดังรูปที่ 4.10 (J2) จึงทำให้สารสกัดจากรำข้าวดอกขามออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่ารำข้าวหอมสุพรรณบุรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.19** ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.20** ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดรำข้าวดอกขามที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.10** ค่าความเข้มข้นของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50

| อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | $IC_{50}$ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | $5.2589 \pm 0.1739^{b,f,j}$ | $6.9335 \pm 0.2004^{ab,e,i}$ | $5.5812 \pm 0.2856^{b,f,ij}$ |
| | 10 | $4.6694 \pm 0.1881^{b,f,j}$ | $6.6168 \pm 0.1982^{bc,e,i}$ | $6.4057 \pm 0.1736^{a,e,ij}$ |
| | 20 | $5.3689 \pm 0.7231^{b,f,j}$ | $6.3682 \pm 0.2667^{c,e,j}$ | $5.8472 \pm 0.1291^{b,ef,k}$ |
| | 30 | $6.5957 \pm 0.2972^{a,e,j}$ | $7.0592 \pm 0.1806^{a,e,hi}$ | $5.6386 \pm 0.2080^{b,f,j}$ |
| | 60 | $6.7827 \pm 0.1926^{a,f,j}$ | $7.3106 \pm 0.1990^{a,e,h}$ | $5.7694 \pm 0.1328^{b,g,j}$ |
| 50 : 50 | 5 | $8.1327 \pm 0.3224^{a,e,i}$ | $7.6537 \pm 0.5492^{a,e,i}$ | $6.1675 \pm 0.1460^{d,f,j}$ |
| | 10 | $7.0327 \pm 0.5206^{b,e,i}$ | $7.0282 \pm 0.4973^{ab,e,i}$ | $5.7718 \pm 0.4169^{d,f,j}$ |
| | 20 | $6.2476 \pm 0.1823^{c,g,i}$ | $7.1567 \pm 0.1899^{ab,e,i}$ | $6.6873 \pm 0.1221^{c,f,i}$ |
| | 30 | $4.9197 \pm 0.0971^{d,f,k}$ | $6.0847 \pm 1.2615^{b,f,i}$ | $8.0479 \pm 0.2135^{a,e,i}$ |
| | 60 | $6.6322 \pm 0.3430^{bc,f,j}$ | $6.0109 \pm 0.2820^{b,g,j}$ | $7.2188 \pm 0.1297^{b,e,i}$ |
| 75 : 25 | 5 | $8.1424 \pm 0.4014^{a,e,i}$ | $7.1209 \pm 0.9838^{a,e,i}$ | $4.7129 \pm 0.2654^{d,f,k}$ |
| | 10 | $6.9300 \pm 0.1879^{bc,e,i}$ | $6.1796 \pm 1.1768^{a,e,i}$ | $6.7646 \pm 0.3058^{a,e,i}$ |
| | 20 | $6.2017 \pm 0.3353^{c,ef,j}$ | $6.7135 \pm 0.1794^{a,e,j}$ | $5.9889 \pm 0.3849^{b,f,ij}$ |
| | 30 | $7.8389 \pm 0.9000^{ab,e,i}$ | $7.5043 \pm 0.2059^{a,e,h}$ | $5.7975 \pm 0.3039^{bc,f,j}$ |
| | 60 | $7.0240 \pm 0.1944^{bc,e,i}$ | $6.4099 \pm 0.1121^{a,e,i}$ | $5.1908 \pm 0.6461^{cd,f,j}$ |
| 100 : 0 | 5 | $10.8918 \pm 0.4493^{a,e,h}$ | $9.3205 \pm 0.1164^{a,f,h}$ | $9.7372 \pm 0.8453^{a,f,h}$ |
| | 10 | $8.5059 \pm 0.4435^{b,f,h}$ | $9.4573 \pm 0.3278^{a,e,h}$ | $9.0506 \pm 0.3244^{ab,ef,h}$ |
| | 20 | $8.9863 \pm 0.3680^{b,e,h}$ | $8.3819 \pm 0.1595^{b,e,h}$ | $8.4838 \pm 0.8513^{b,e,h}$ |
| | 30 | $9.0005 \pm 0.1921^{b,e,h}$ | $7.4730 \pm 0.1974^{c,f,h}$ | $9.4304 \pm 0.6286^{ab,e,h}$ |
| | 60 | $8.8129 \pm 0.2386^{b,e,h}$ | $7.3904 \pm 0.2333^{c,f,h}$ | $8.5427 \pm 0.2519^{ab,e,h}$ |
| 0 : 100 | 5 | $5.1844 \pm 0.1875^{a,e,j}$ | $4.8731 \pm 0.1917^{a,e,j}$ | $4.7861 \pm 0.3484^{bc,e,jk}$ |
| | 10 | $4.7430 \pm 0.2201^{b,e,j}$ | $4.1730 \pm 0.1218^{b,f,j}$ | $4.9873 \pm 0.2038^{b,e,k}$ |
| | 20 | $5.0379 \pm 0.2196^{ab,f,j}$ | $3.5748 \pm 0.1920^{c,g,k}$ | $5.8223 \pm 0.0772^{a,e,k}$ |
| | 30 | $4.7283 \pm 0.2755^{b,e,k}$ | $4.7407 \pm 0.5120^{a,e,j}$ | $4.4924 \pm 0.0781^{c,e,k}$ |
| | 60 | $3.6071 \pm 0.1578^{c,f,j}$ | $3.2846 \pm 0.0574^{c,g,k}$ | $4.5303 \pm 0.0586^{c,e,k}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของความเข้มข้นสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้ วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของความเข้มข้นสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. h, I, j, k, l หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของความเข้มข้นสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่ สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.11** ค่าความเข้มข้นของสารสกัดรำข้าวดอกขามที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50

| อัตราส่วนตัวทำละลาย เฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | $IC_{50}$ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | $0.2115 \pm 0.0047^{c,g,k}$ | $0.3359 \pm 0.0129^{a,e,k}$ | $0.2871 \pm 0.0132^{a,f,k}$ |
| | 10 | $0.0946 \pm 0.0071^{d,g,k}$ | $0.1250 \pm 0.0036^{d,f,j}$ | $0.2621 \pm 0.0130^{b,e,k}$ |
| | 20 | $0.2622 \pm 0.0093^{a,e,k}$ | $0.2281 \pm 0.0110^{c,f,k}$ | $0.2236 \pm 0.0099^{c,f,k}$ |
| | 30 | $0.2584 \pm 0.0184^{a,e,k}$ | $0.2693 \pm 0.0187^{b,e,k}$ | $0.2578 \pm 0.0129^{b,e,k}$ |
| | 60 | $0.2386 \pm 0.0087^{b,g,k}$ | $0.2613 \pm 0.0094^{b,f,k}$ | $0.2922 \pm 0.0048^{a,e,k}$ |
| 50 : 50 | 5 | $3.3427 \pm 0.5211^{ab,e,j}$ | $2.3711 \pm 0.1946^{b,f,j}$ | $2.8923 \pm 0.0937^{b,ef,j}$ |
| | 10 | $3.3747 \pm 0.1499^{ab,e,j}$ | $3.1256 \pm 0.3489^{a,e,i}$ | $2.4874 \pm 0.1013^{c,f,j}$ |
| | 20 | $3.7213 \pm 0.1169^{a,e,j}$ | $3.0935 \pm 0.1397^{a,f,j}$ | $3.0719 \pm 0.0708^{a,f,j}$ |
| | 30 | $2.9768 \pm 0.1498^{b,e,j}$ | $3.0229 \pm 0.2814^{a,e,j}$ | $2.3357 \pm 0.0552^{c,f,j}$ |
| | 60 | $3.7062 \pm 0.0839^{a,e,j}$ | $2.4623 \pm 0.0791^{b,g,j}$ | $3.0828 \pm 0.1292^{a,f,j}$ |
| 75 : 25 | 5 | $4.9896 \pm 0.1848^{ab,e,i}$ | $5.0315 \pm 0.1743^{a,e,i}$ | $4.5678 \pm 0.1666^{a,f,i}$ |
| | 10 | $5.0949 \pm 0.1767^{ab,e,i}$ | $4.8759 \pm 0.1462^{a,e,h}$ | $4.1920 \pm 0.2925^{b,f,i}$ |
| | 20 | $4.5172 \pm 0.5807^{b,ef,i}$ | $4.0266 \pm 0.1132^{b,f,i}$ | $4.8053 \pm 0.0977^{a,e,i}$ |
| | 30 | $3.8634 \pm 0.1296^{c,f,i}$ | $4.1914 \pm 0.2244^{b,ef,i}$ | $4.6239 \pm 0.2755^{a,e,i}$ |
| | 60 | $5.5638 \pm 0.3150^{a,e,i}$ | $4.7851 \pm 0.1312^{a,f,i}$ | $3.5012 \pm 0.0680^{c,g,i}$ |
| 100 : 0 | 5 | $6.7627 \pm 0.3908^{ab,e,h}$ | $5.5203 \pm 0.1100^{a,f,h}$ | $6.6255 \pm 0.1644^{a,e,h}$ |
| | 10 | $6.6292 \pm 0.2654^{bc,e,h}$ | $5.1799 \pm 0.1363^{b,f,h}$ | $5.5112 \pm 0.0417^{c,f,h}$ |
| | 20 | $6.2553 \pm 0.0925^{c,f,h}$ | $5.5166 \pm 0.1818^{a,g,h}$ | $6.6695 \pm 0.1215^{a,e,h}$ |
| | 30 | $6.3975 \pm 0.1806^{bc,e,h}$ | $5.0133 \pm 0.0909^{b,f,h}$ | $6.0610 \pm 0.2142^{b,e,h}$ |
| | 60 | $7.1572 \pm 0.1869^{a,e,h}$ | $5.6145 \pm 0.0351^{a,g,h}$ | $6.1381 \pm 0.1016^{b,f,h}$ |
| 0 : 100 | 5 | $0.0558 \pm 0.0023^{b,e,k}$ | $0.0516 \pm 0.0028^{c,e,l}$ | $0.0557 \pm 0.0011^{b,e,l}$ |
| | 10 | $0.0486 \pm 0.0007^{c,f,k}$ | $0.0487 \pm 0.0038^{c,f,j}$ | $0.1133 \pm 0.0216^{a,e,k}$ |
| | 20 | $0.0575 \pm 0.0024^{b,f,k}$ | $0.0552 \pm 0.0020^{bc,f,k}$ | $0.0624 \pm 0.0023^{b,e,l}$ |
| | 30 | $0.0659 \pm 0.0038^{a,e,k}$ | $0.0655 \pm 0.0026^{b,e,k}$ | $0.0575 \pm 0.0027^{b,f,k}$ |
| | 60 | $0.0429 \pm 0.0029^{d,f,k}$ | $0.0781 \pm 0.0137^{a,e,l}$ | $0.0625 \pm 0.0028^{b,e,l}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของความเข้มข้นสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้ วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. e, f, g หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของความเข้มข้นสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. h, I, j, k, l หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของความเข้มข้นสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่ สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 4.10.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP)

จากการศึกษาคุณสมบัติในการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระของรำข้าวสายพันธุ์หอมสุพรรณบุรีและดอกขามโดยใช้วิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) เทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐานคือ โทลอกซ์ โดยคำนวณค่า FRAP ด้วยสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน เท่ากับ y = 0.0278x + 0.021 ดังรูปที่ ข.7 พบว่า

จากรูปที่ 4.21 เมื่อวิเคราะห์ในแง่อิทธิพลของอุณหภูมิที่ส่งผลต่อความสามารถในการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระเพื่อให้อยู่ในสภาวะที่เสถียรของสารสกัดจากรำข้าวหอมสุพรรณบุรี เมื่อทำการสกัดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ดังรูปที่ 4.21 (A)) และ 50 องศาเซลเซียส (ดังรูปที่ 4.21 (B)) จะเห็นว่าแนวโน้มของการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในทุกอัตราส่วนตัวทำละลายผสม ทั้ง 5 รูปแบบ คือ เฮกเซนต่อเอทานอล(ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25, 100 : 0 และ 0 : 100 สูงกว่าสารสกัด ณ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (ดังรูปที่ 4.21 (C)) จึงกล่าวได้ว่าสารสกัดของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่สกัดโดยใช้อุณหภูมิ 30และ 50 องศาเซลเซียส จะมีความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีกว่าอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และเมื่ออธิบายด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติตารางที่ 4.12 จะเห็นว่ารำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่ทำการสกัดด้วยอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) กับอุณหภูมิอื่นๆในทุกสภาวะที่ศึกษา โดยมีค่า FRAP สูงที่สุดอยู่ที่ 30.3058 ± 0.7914 มิลลิกรัมของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัดส่วนรำข้าวดอกขาม แสดงผลดังรูปที่ 4.22 เมื่อทำการสกัดโดยใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ดังรูปที่ 4.22 (A)) จะมีแนวโน้มของสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่า สารสกัดอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ดังรูปที่ 4.22 (B)) ยกเว้นเพียงสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 50 : 50 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ที่สูงกว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ 70 องศาเซลเซียส (ดังรูปที่ 4.22 (C)) แต่เมื่ออธิบายด้วยการวิเคราะห์ทางสถิติ ตารางที่ 4.13 จะเห็นว่ารำข้าวดอกขามที่สกัดโดยใช้เฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วน 75 : 25, 100 : 0 และ 0 : 100 ที่สกัด ณ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีแนวโน้มของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระส่วนมากสูงกว่าอุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) กับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เมื่อวิเคราะห์อิทธิพลของรูปแบบตัวทำละลายผสมทั้ง 5 รูปแบบ ที่กล่าวในตอนต้นที่มีต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรำข้าวหอมสุพรรณบุรี ดังรูปที่ 4.21 พบว่าเมื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 0 : 100 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) จะมีแนวโน้มของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ส่วนรำข้าวดอกขาม ดังรูปที่ 4.22 จะเห็นว่ามีแนวโน้มเช่นเดียวกับรำข้าวหอมสุพรรณบุรี และอธิบายด้วยผลการวิเคราะห์ทางสถิติ ดังตารางที่ 4.13 จะเห็นได้อย่างเด่นชัดว่าที่การใช้ตัวทำละลายเอทานอลเพียงอย่าง

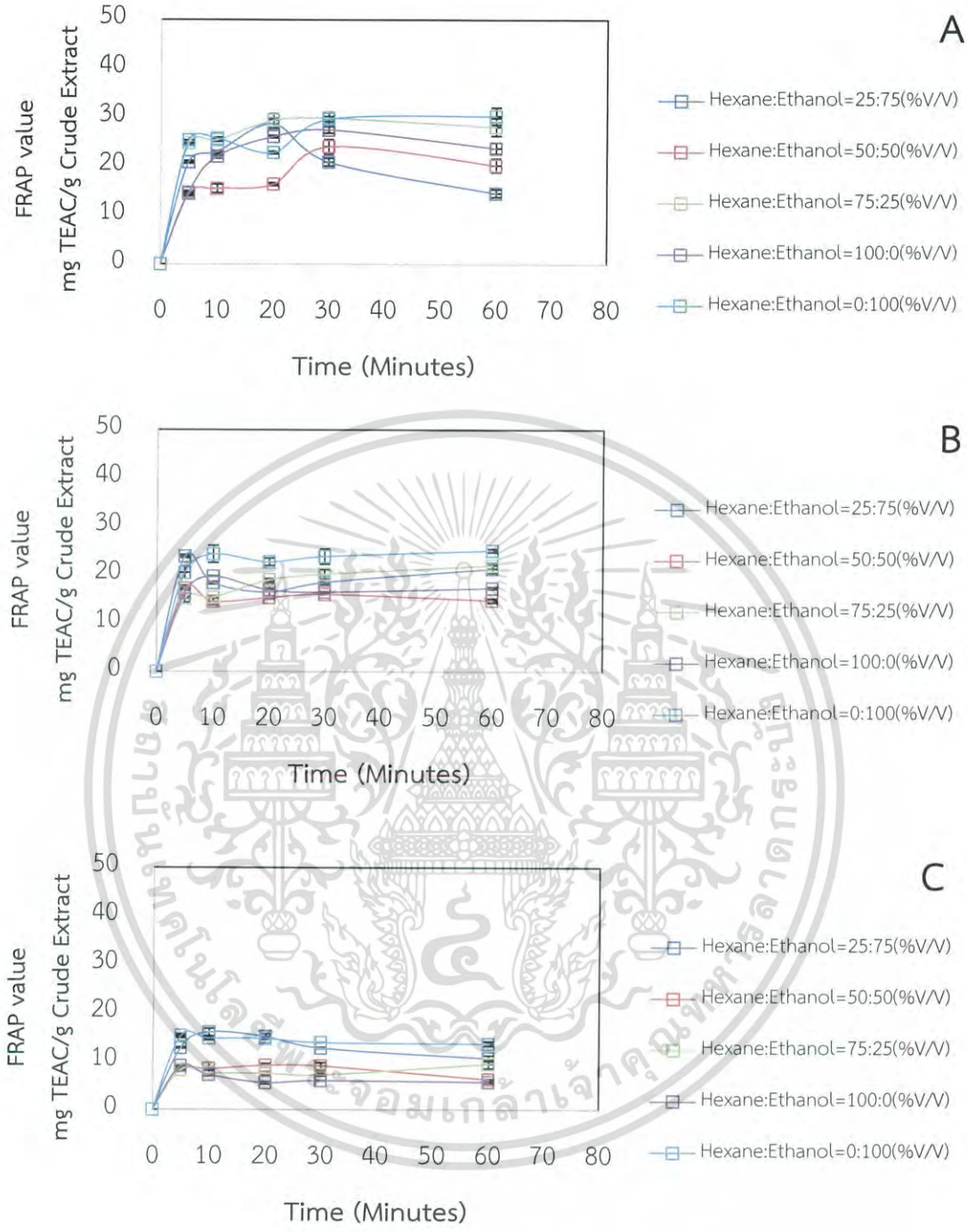
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เดียวให้ผลการวิเคราะห์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) กับตัวทำละลายผสมรูปแบบอื่นๆ ซึ่งให้ค่า FRAP สูงที่สุด เท่ากับ 198.3213 ± 2.0768 มิลลิกรัมของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด โดยอัตราส่วนตัวทำละลายผสมที่มีประสิทธิภาพในการสกัดฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระรองลงมา คือ เฮกเซนและเอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25 และ 100 : 0 ตามลำดับ จากผลการศึกษาดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ นพวัฒน์ และคณะ (2554) ที่ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเหง้าข่าหลิง ด้วยการหมักแบบเปอร์โคเลชันด้วยตัวทำละลายเฮกเซน และเอทธิลอะซิเตท โดยมีค่า FRAP เท่ากับ 0.18 ± 0.02 และ 1.16 ± 0.05 มิลลิโมลาร์ต่อมิลลิกรัมสารสกัด ตามลำดับ จะเห็นว่าตัวทำละลายเอทิลอะซิเตทเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงกว่าเฮกเซนจึงทำให้ได้ค่า FRAP ซึ่งจากผลการศึกษาของเราที่ใช้ตัวทำละลายผสมเฮกเซนและเอทานอล จะพบว่าอัตราส่วนที่มีเอทานอล (ตัวทำละลายที่มีขั้วสูง) เป็นองค์ประกอบในปริมาณที่สูงจะได้ค่า FRAP ที่สูงกว่า

จากการศึกษาผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดที่มีต่อความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดของรำข้าวสายพันธุ์หอมสุพรรณบุรีและดอกขาม โดยทำการศึกษาที่เวลา 5, 10, 20, 30 และ 60 นาที พบว่า สารสกัดจากรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ให้ผลการศึกษาในทิศทางเช่นเดียวกัน คือ การใช้ระยะเวลาในการสกัดที่ยาวนานขึ้นไม่ได้ส่งผลให้สารสกัดมีแนวโน้มของฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระมากนัก

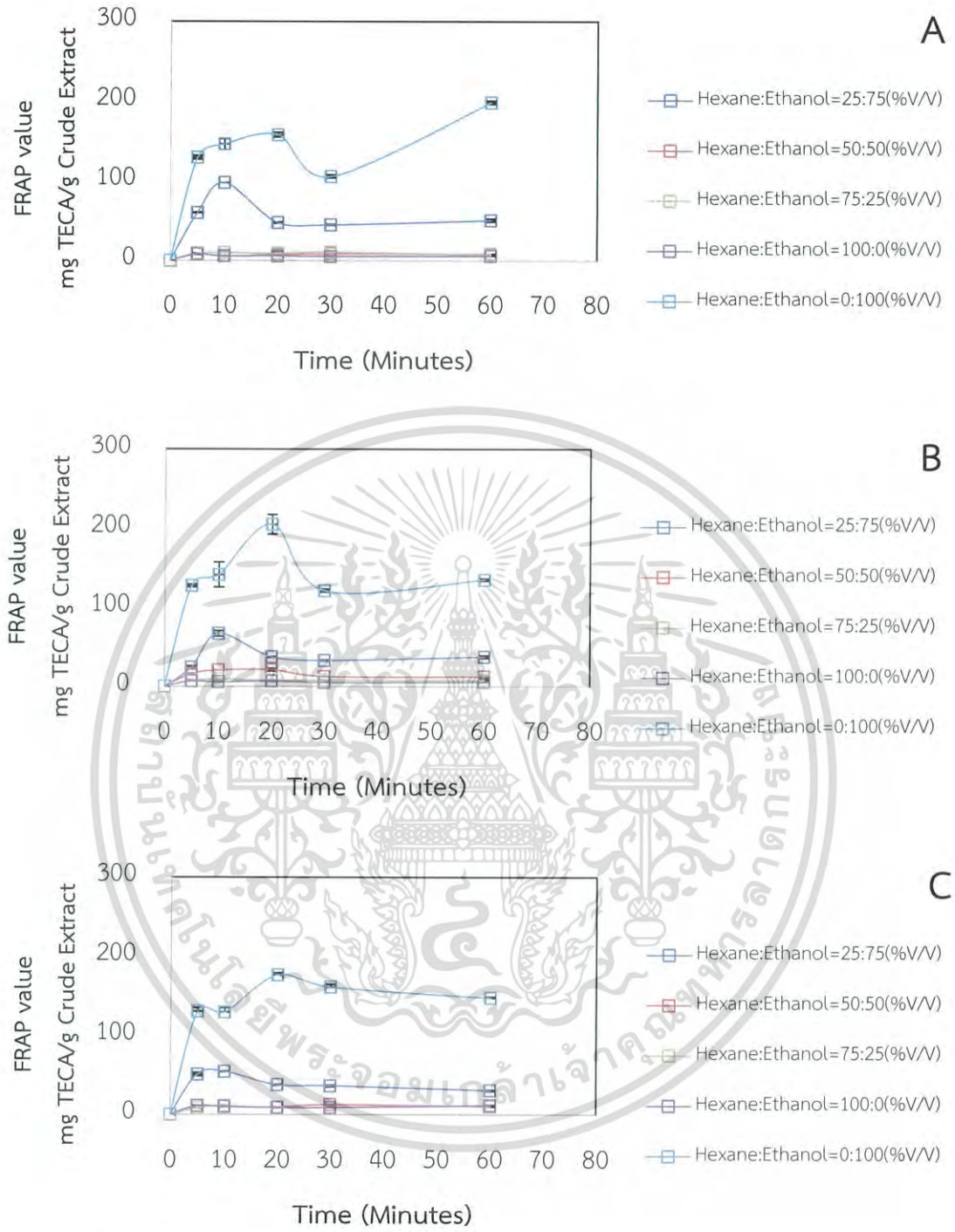
เมื่อทำการเปรียบเทียบคุณสมบัติในการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระระหว่างรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่า รำข้าวดอกขามมีประสิทธิภาพสูงกว่ารำข้าวหอมสุพรรณบุรีในทุกสภาวะที่ทำการทดสอบโดยจะสังเกตเห็นได้อย่างชัดเจนจากผลของการศึกษาโดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซนต่อเอทานอลในอัตราส่วน (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) เท่ากับ 0 : 100 และร้อยละ 25 : 75

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.21** ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) ในสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรี (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.22** ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power assay (FRAP) ในสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรี (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (A), 50 องศาเซลเซียส (B) และ 70 องศาเซลเซียส (C)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.12** ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของรำข้าวหอมสุพรรณบุรี

| อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | FRAP value (mgTEAC/g Crude Extract) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | $20.8573 \pm 0.6438^{c,g,j}$ | $23.8369 \pm 0.3264^{a,f,i}$ | $12.7758 \pm 0.1498^{b,h,j}$ |
| | 10 | $23.0000 \pm 0.2492^{b,f,j}$ | $18.3094 \pm 0.2995^{c,g,j}$ | $16.0132 \pm 0.7760^{a,h,i}$ |
| | 20 | $28.7218 \pm 0.2492^{a,f,i}$ | $16.4329 \pm 0.7771^{d,g,k}$ | $15.1259 \pm 0.5619^{a,g,i}$ |
| | 30 | $20.8993 \pm 0.2492^{c,f,l}$ | $18.4412 \pm 0.3297^{c,g,k}$ | $12.7278 \pm 0.1811^{b,h,j}$ |
| | 60 | $14.5204 \pm 0.4984^{d,g,l}$ | $21.2830 \pm 0.8100^{b,f,j}$ | $10.6415 \pm 0.5859^{c,h,j}$ |
| 50 : 50 | 5 | $14.3915 \pm 0.5447^{c,g,k}$ | $17.1703 \pm 0.6043^{a,f,k}$ | $8.2824 \pm 0.5122^{a,h,l}$ |
| | 10 | $15.4347 \pm 0.8916^{c,f,l}$ | $14.5204 \pm 0.7554^{c,f,k}$ | $8.3963 \pm 1.2749^{a,g,j}$ |
| | 20 | $16.3459 \pm 0.3101^{c,f,l}$ | $15.2518 \pm 0.2340^{bc,g,k}$ | $9.1277 \pm 0.4453^{a,h,j}$ |
| | 30 | $24.0348 \pm 1.4679^{a,f,k}$ | $15.9952 \pm 0.0952^{b,g,l}$ | $9.0198 \pm 0.7517^{a,h,k}$ |
| | 60 | $20.2218 \pm 1.3975^{b,f,k}$ | $14.7062 \pm 0.4183^{c,g,l}$ | $6.2680 \pm 0.1094^{b,h,l}$ |
| 75 : 25 | 5 | $24.7722 \pm 0.5204^{b,f,j}$ | $15.1199 \pm 0.8242^{c,g,l}$ | $8.1805 \pm 0.2220^{b,h,l}$ |
| | 10 | $25.3717 \pm 0.2995^{b,f,j}$ | $15.3477 \pm 0.2292^{c,g,k}$ | $7.6289 \pm 0.4726^{bc,h,j}$ |
| | 20 | $29.4245 \pm 1.3440^{a,f,j}$ | $18.9928 \pm 0.2313^{b,g,j}$ | $7.4910 \pm 0.3431b^{c,h,k}$ |
| | 30 | $29.8801 \pm 1.2876^{a,f,j}$ | $20.1439 \pm 1.0081^{b,g,j}$ | $7.1972 \pm 0.2277^{c,h,l}$ |
| | 60 | $28.0815 \pm 1.7875^{a,f,j}$ | $21.9664 \pm 0.6119^{a,g,j}$ | $9.4664 \pm 0.8879^{a,h,k}$ |
| 100 : 0 | 5 | $14.6463 \pm 0.3494^{e,g,k}$ | $16.2680 \pm 0.7003^{b,f,kl}$ | $9.0543 \pm 0.2930^{a,h,k}$ |
| | 10 | $22.0324 \pm 0.4376^{d,f,k}$ | $19.7062 \pm 0.1263^{a,g,j}$ | $7.2197 \pm 0.3127^{b,h,j}$ |
| | 20 | $26.0851 \pm 0.2724^{b,f,j}$ | $16.8255 \pm 1.6337^{b,g,k}$ | $5.5650 \pm 0.2415^{c,h,l}$ |
| | 30 | $27.4700 \pm 0.6800^{a,f,j}$ | $16.4478 \pm 0.0784^{b,g,l}$ | $6.0147 \pm 0.0887^{c,h,m}$ |
| | 60 | $23.7290 \pm 1.1473^{c,f,j}$ | $17.2842 \pm 0.2003^{b,g,k}$ | $5.7089 \pm 0.1889^{c,h,l}$ |
| 0 : 100 | 5 | $25.3177 \pm 0.2724^{b,f,j}$ | $20.4796 \pm 1.2461^{b,g,j}$ | $15.2578 \pm 0.3950^{a,h,j}$ |
| | 10 | $25.6775 \pm 0.2198^{b,f,j}$ | $24.2926 \pm 1.7725^{a,f,j}$ | $14.7722 \pm 0.3692^{a,g,j}$ |
| | 20 | $22.8237 \pm 0.9890^{c,f,k}$ | $22.6859 \pm 0.7557^{ab,f,j}$ | $14.7122 \pm 0.2181^{a,g,j}$ |
| | 30 | $29.6583 \pm 0.7782^{a,f,j}$ | $23.7890 \pm 1.5613^{a,g,j}$ | $13.8729 \pm 0.0415^{b,h,j}$ |
| | 60 | $30.3058 \pm 0.7914^{a,f,j}$ | $25.0600 \pm 0.3692^{a,g,j}$ | $13.6571 \pm 0.4348^{b,h,j}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d, e หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้ วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. f, g, h หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. i, j, k, l, m หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลาย ต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.13** ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ของรำข้าวดอกขาม

| อัตราส่วนตัวทำละลาย เฮกเซน:เอทานอล (% V/V) | เวลา (นาที) | FRAP value (mgTEAC/g Crude Extract) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส | อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส |
| 25 : 75 | 5 | $59.8921 \pm 0.4759^{b,f,j}$ | $23.9808 \pm 1.9811^{d,h,j}$ | $50.8843 \pm 2.2774^{b,g,j}$ |
| | 10 | $97.5420 \pm 0.2077^{a,f,j}$ | $66.9065 \pm 3.4236^{a,g,j}$ | $54.4365 \pm 0.6316^{a,h,j}$ |
| | 20 | $47.5420 \pm 0.5782^{d,f,j}$ | $37.5300 \pm 0.7269^{b,g,j}$ | $37.5300 \pm 0.7269^{c,g,j}$ |
| | 30 | $44.6643 \pm 0.6809^{e,f,j}$ | $32.9736 \pm 0.6485^{c,h,j}$ | $36.3909 \pm 1.0539^{c,g,j}$ |
| | 60 | $50.4796 \pm 1.9730^{c,f,j}$ | $37.4700 \pm 1.7157^{b,g,j}$ | $30.4856 \pm 0.8993^{d,h,j}$ |
| 50 : 50 | 5 | $8.7767 \pm 0.0549^{b,h,k}$ | $15.6235 \pm 0.5859^{b,f,k}$ | $10.7434 \pm 0.0453^{b,g,k}$ |
| | 10 | $9.6400 \pm 0.4555^{a,h,k}$ | $20.5635 \pm 0.0831^{a,f,k}$ | $10.2998 \pm 0.2649^{c,g,k}$ |
| | 20 | $7.9733 \pm 0.1811^{d,g,kl}$ | $21.1151 \pm 1.7191^{a,f,k}$ | $9.5024 \pm 0.1508^{d,g,k}$ |
| | 30 | $8.4351 \pm 0.1263^{bc,g,k}$ | $12.5450 \pm 0.0719^{c,f,k}$ | $12.5120 \pm 0.2518^{a,f,k}$ |
| | 60 | $8.2792 \pm 0.1094^{cd,h,k}$ | $12.4850 \pm 0.0991^{c,f,k}$ | $10.2158 \pm 0.1622^{c,g,k}$ |
| 75 : 25 | 5 | $8.3993 \pm 0.1246^{bc,f,k}$ | $7.2122 \pm 0.3790^{b,h,l}$ | $7.7578 \pm 0.0374^{c,g,k}$ |
| | 10 | $9.9580 \pm 0.4138^{ab,g,k}$ | $9.1667 \pm 0.5117^{a,h,kl}$ | $11.0971 \pm 0.1869^{a,f,k}$ |
| | 20 | $9.4095 \pm 0.8486^{ab,f,k}$ | $7.8118 \pm 0.4043^{ab,h,l}$ | $8.5851 \pm 0.3101^{b,fg,k}$ |
| | 30 | $10.7134 \pm 1.5689^{a,f,l}$ | $8.1115 \pm 0.4148^{ab,g,l}$ | $8.8249 \pm 0.2584^{b,fg,l}$ |
| | 60 | $7.2272 \pm 0.2005^{c,g,k}$ | $8.6511 \pm 1.6083^{ab,g,l}$ | $11.4388 \pm 0.5770^{a,f,k}$ |
| 100 : 0 | 5 | $7.7998 \pm 0.4351^{a,g,k}$ | $6.8330 \pm 0.2455^{a,h,l}$ | $11.1466 \pm 0.3331^{a,f,k}$ |
| | 10 | $5.6205 \pm 0.2246^{bc,g,k}$ | $5.5381 \pm 0.1301^{bc,g,l}$ | $9.8636 \pm 0.2520^{b,f,k}$ |
| | 20 | $5.9283 \pm 0.1697^{b,h,l}$ | $6.8750 \pm 0.3370^{a,g,l}$ | $8.8159 \pm 0.3531^{d,f,k}$ |
| | 30 | $5.2128 \pm 0.0991^{c,g,m}$ | $5.2143 \pm 0.1170^{c,g,m}$ | $9.0003 \pm 0.4219^{c,f,l}$ |
| | 60 | $5.9502 \pm 0.1872^{b,g,k}$ | $5.9278 \pm 0.2706^{b,g,m}$ | $11.7161 \pm 0.2995^{a,f,k}$ |
| 0 : 100 | 5 | $129.2566 \pm 2.3404^{d,f,i}$ | $127.5180 \pm 1.7986^{bc,f,i}$ | $130.4257 \pm 4.5690^{d,f,i}$ |
| | 10 | $145.9233 \pm 6.7520^{c,f,i}$ | $141.3070 \pm 15.7714^{b,f,i}$ | $129.1367 \pm 5.6913^{d,f,i}$ |
| | 20 | $157.6739 \pm 2.9297^{b,h,i}$ | $204.9760 \pm 12.3268^{a,f,i}$ | $176.3789 \pm 2.8551^{a,g,i}$ |
| | 30 | $105.4556 \pm 1.8892^{e,h,i}$ | $121.1631 \pm 2.0768^{c,g,i}$ | $161.1811 \pm 3.5488^{b,f,i}$ |
| | 60 | $198.3213 \pm 2.0768^{a,f,i}$ | $134.8621 \pm 1.5297^{bc,h,i}$ | $147.1972 \pm 1.6711^{c,g,i}$ |

หมายเหตุ 1. a, b, c, d, e หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ในเวลาต่างๆ โดยกำหนดให้ วิเคราะห์ ณ สภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

2. f, g, h หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

3. i, j, k, l, m หมายถึง การเปรียบเทียบความแตกต่างของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลาย ต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาและอุณหภูมิเดียวกัน ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

4. แสดงค่าในตารางเป็นค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.11 การวิเคราะห์โดยใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor)

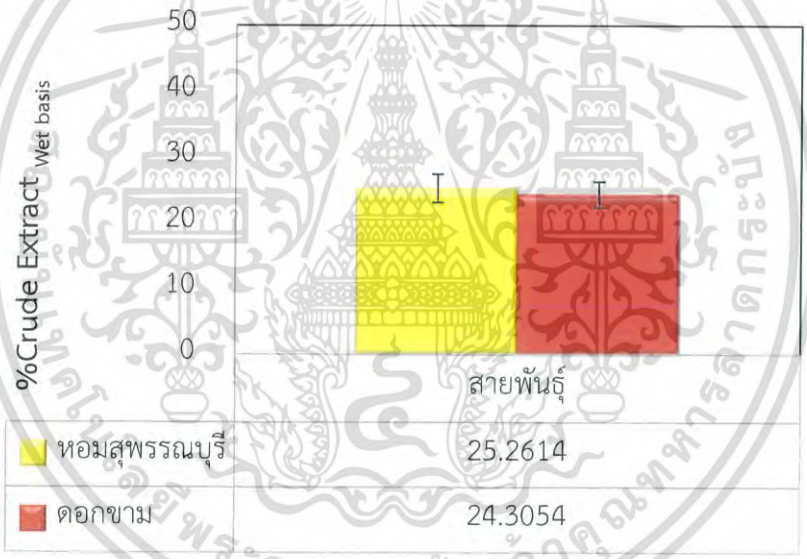
จากการศึกษาโดยใช้สภาวะในการสกัดด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) เนื่องเป็นเป็นอัตราส่วนที่ให้ผลของปริมาณสารสกัดสูงสุดในทุกอุณหภูมิที่ทำการศึกษาด้วยวิธีการสกัดแบบหมัก (Maceration) คือ 30, 50 และ 70 องศาเซลเซียส ทั้งในรำข้าวสายพันธุ์หอมสุพรรณบุรี (รูปที่ 4.11 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) และรูปที่ 4.12 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง)) และรำข้าวสายพันธุ์ดอกขาม (รูปที่ 4.13 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) และรูปที่ 4.14 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง)) ซึ่งในการศึกษาการสกัดโดยใช้ชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor) ครั้งนี้รายงานผลในรูปของร้อยละของน้ำหนักฐานเปียกจึงเปรียบเทียบการรายงานผลกับปริมาณสารสกัด กับรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขาม ดังรูปที่ 4.11 และรูปที่ 4.13 ตามลำดับ จะเห็นว่าปริมาณสารสกัดของรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีนี้สูงกว่าการสกัดโดยใช้วิธีการหมัก (Maceration) ประมาณ 2 เท่า ดังรูปที่ 4.23 คือ ได้ปริมาณรำข้าวหอมสุพรรณบุรี ร้อยละ 25.2614 ± 2.1529 โดยน้ำหนักฐานเปียก และรำข้าวดอกขาม ร้อยละ 24.3054 ± 1.9529 โดยน้ำหนักฐานเปียก อีกทั้งปริมาณสารสกัดที่ได้ยังสูงกว่าการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน ดังตารางที่ 4.1 คือ รำข้าวหอมสุพรรณบุรี ร้อยละ16.9922 ± 0.6872 โดยน้ำหนักฐานเปียก และรำข้าวดอกขาม ร้อยละ 13.6549 ± 1.0348 โดยน้ำหนักฐานเปียก

เมื่อพิจารณาสารสำคัญจะ พบว่า สารสกัดที่ผ่านการสกัดโดยใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor) จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในรำข้าวหอมสุพรรณบุรี เท่ากับ 9.4981 ± 1.2723 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบ และในรำข้าวดอกขาม เท่ากับ 11.9847 ± 0.6891 มิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัดหยาบดังรูปที่ 4.25 ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ในสภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายชนิดเดียวกันและทุกอุณหภูมิที่ทำการ ศึกษา ดังตารางที่ 4.6 และ 4.7 เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงมีผลต่อการทำลายสารประกอบฟีนอลิกภายในสารสกัดของรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ สารสำคัญอีกหนึ่งชนิดที่พิจารณาคือสารฟลาโวนอยด์ จะเห็นว่า มีแนวโน้มเช่นเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิก คือ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ในข้าวหอมสุพรรณบุรี เท่ากับ 376.7639 ± 23.2818 มิลลิกรัมของเควอซิทินต่อกรัมสารสกัดหยาบ และในรำข้าวดอกขาม เท่ากับ 585.5139 ± 91.9529 มิลลิกรัมของเควอซิทินต่อกรัมสารสกัดหยาบ ดังรูปที่ 4.25 ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่าปริมาณสารฟลาโวนอยด์ที่สกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ในสภาวะอัตราส่วนตัวทำละลายชนิดเดียวกันและทุกอุณหภูมิที่ทำการ ศึกษาดังตารางที่ 4.8 และ 4.9

จากการวิเคราะห์ฤทธิการต้านอนุมูลอิสระในรูปปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่ผ่านการสกัดโดยใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor) ดังรูปที่ 4.26 พบว่าสารสกัดจากรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและรำข้าวดอกขามใช้ความเข้มข้นของสารสกัด 4.4839 ± 0.3507 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 0.9983 ± 0.3110 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อเปรียบ เทียบกับสารที่สกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ในอัตราส่วนตัวทำละลาย

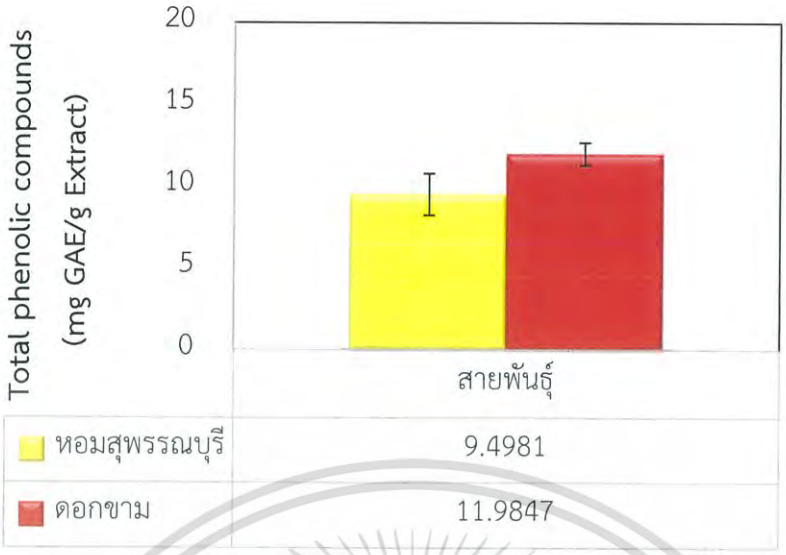
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 25 :75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ดังตารางที่ 4.10 (รำข้าวหอมสุพรรณบุรี) และ 4.11 (รำข้าวดอกขาม) พบว่าสกัดจากรำข้าวหอมสุพรรณบุรีที่สกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor) ให้ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าสารสกัดด้วยวิธีการหมัก (Maceration) ในทุกสภาวะของอุณหภูมิและเวลาที่ทำการศึกษา ส่วนสารสกัดรำข้าวสายพันธุ์ดอกขามให้ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าสารสกัดด้วยวิธีวิธีการหมัก (Maceration) ในทุกสภาวะของอุณหภูมิและเวลาที่ทำการศึกษาจึงกล่าวได้ว่าความร้อนที่ใช้ โดยวิธีการสกัดด้วยซอกห์เลต (Soxhlet extractor) เป็นความร้อนที่สูงจึงมีผลต่อการทำลายฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสะที่อยู่ในสารสกัดรำข้าวสายพันธุ์ดอกขาม โดยมีคำกล่าวของ Irina และคณะ (2012) ที่ว่า วิธีการสกัดโดยใช้ชุดสกัดซอกห์เลตเป็นการสกัดโดยให้ความร้อนสูงและเป็นที่นิยมมาก อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยวิธีนี้ต้องใช้เวลานานและใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ปริมาณมาก โดยหากสารที่เราต้องการแยกมีทั้งที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ต้องพิจารณาไปถึงความร้อนที่ใช้ด้วยเนื่องจากอาจส่งผลต่อสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเหล่านั้น

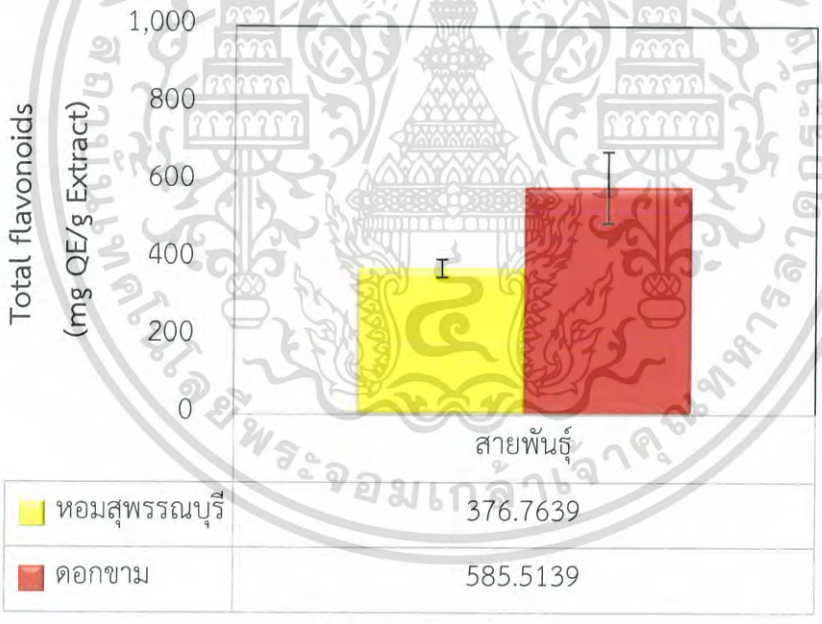



**รูปที่ 4.23** ปริมาณสารสกัดรำข้าวที่ใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

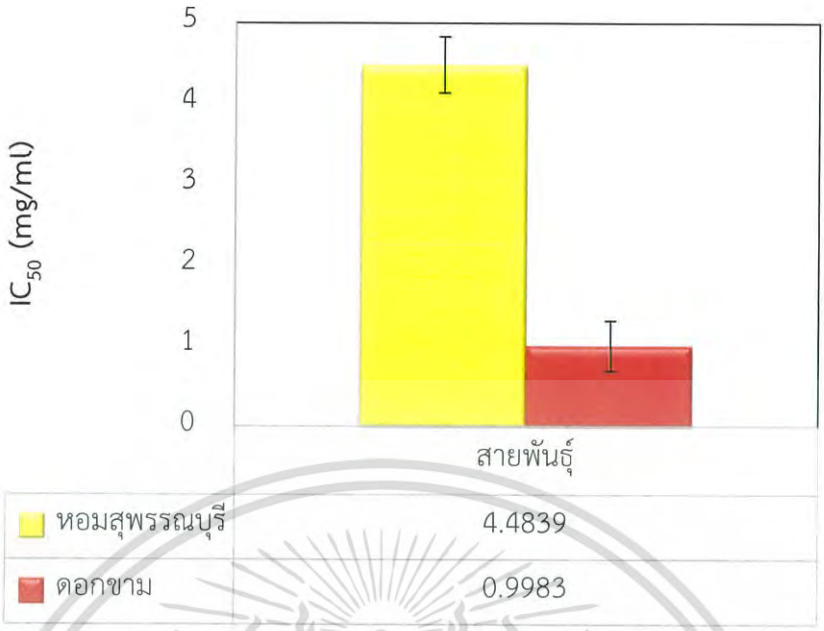



**รูปที่ 4.24** ปริมาณสารประกอบฟีโนลิกของรำข้าวที่ใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor)




**รูปที่ 4.25** ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ของรำข้าวที่ใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extractor)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ 4.26** ปริมาณความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ที่ใช้วิธีการสกัดด้วยชุดซอกห์เลต (Soxhlet extraction)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

## 5.1 สรุปผลการวิจัย

ผลการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิ ตัวทำละลายผสม และเวลา ที่มีต่อปริมาณสารสกัดและสารสำคัญจากรำข้าวสายพันธุ์หอมสุพรรณบุรีและดอกขาม พบว่า แนวโน้มของสารสำคัญของรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ได้รับอิทธิพลจากปัจจัยทั้ง 3 รูปแบบ เป็นไปในทิศทางเดียวกัน กล่าวคือ สภาวะที่ช่วยให้สารสกัดของรำข้าวมีปริมาณสูงที่สุด คือ การสกัดโดยใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสและใช้ตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วน ร้อยละ 25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) แต่ปริมาณที่ได้ไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$) กับอุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส และแม้ว่าการใช้ระยะเวลาในการสกัดที่ยาวนานขึ้นจะทำให้ได้ปริมาณสารสกัดที่สูงขึ้นแต่ปริมาณที่ได้ก็ไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$) ทั้งนี้ปริมาณสารสกัดของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีจะสูงกว่ารำข้าวดอกขามในทุกสภาวะที่ศึกษา โดยมีปริมาณร้อยละ 16.0001 ± 0.8767 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) หรือร้อยละ 17.7183 ± 0.9769 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) และร้อยละ 13.7699 ± 2.6185 (โดยน้ำหนักฐานเปียก) หรือ ร้อยละ 15.4455 ± 2.9350 (โดยน้ำหนักฐานแห้ง) ตามลำดับ เมื่อนำสารสกัดของรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์มาวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญ คือ สารประกอบฟีโนลิกและฟลาโวนอยด์ จะมีปริมาณสารสำคัญที่สูงสุดเมื่อทำการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์เป็นส่วนใหญ่ แต่อุณหภูมิที่ช่วยให้สารประกอบฟีนอลิกสกัดออกมาได้สูงสุดคือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณ เท่ากับ 16.6034 ± 0.3108 และ 109.9856 ± 0.8686 มิลลิกรัมของแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ ซึ่งผลที่ได้มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) กับอุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส โดยเมื่อใช้อุณหภูมิสูงขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกภายในรำข้าวมีแนวโน้มถูกทำลาย แต่ในทางกลับกันการสกัดสารฟลาโวนอยด์สำหรับรำข้าวหอมสุพรรณบุรีออกมาได้สูงที่สุด คือ ใช้อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ด้วยตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 75 : 25 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) โดยมีปริมาณเท่ากับ 638.2083 ± 7.0104 มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด ส่วนรำข้าวดอกขามออกมาได้สูงที่สุด คือ ใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวทำละลายเป็นเอทานอลเพียงชนิดเดียว และมีปริมาณเท่ากับเท่ากับ 923.2083 ± 41.2987มิลลิกรัมของเควอซิตินต่อกรัมสารสกัด และการใช้ระยะเวลาในการสกัดที่ยาวนานขึ้นจะทำให้ได้ปริมาณสารสำคัญที่มากขึ้นอย่างชัดเจน เมื่อสกัดด้วยอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เท่านั้น ส่วนอุณหภูมิ 50 และ 70 องศาเซลเซียส เวลาจะไม่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญที่ได้เนื่องจากไม่มีความแตกต่างกันทางนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p > 0.05$) จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity พบว่า สารที่สกัด ณ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส และตัวทำละลายเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่อนุญาตให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพียงชนิดเดียวมีแนวโน้มของการออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้สูงที่สุด โดยใช้สารสกัดของรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ เพียง 3.2846 ± 0.0574 และ 0.0487 ± 0.0038 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ก็สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 และการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) พบว่า รำข้าวหอมสุพรรณบุรีและรำข้าวดอกขามที่ทำการสกัดด้วยอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และตัวทำละลายเอทานอลเพียงชนิดเดียว ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ($p \leq 0.05$) กับอุณหภูมิอื่นๆในทุกสภาวะที่ศึกษา โดยมีค่า FRAP สูงที่สุดอยู่ที่ 30.3058 ± 0.7914 และ 198.3213 ± 2.0768 มิลลิกรัมของโทรลอกซ์ต่อกรัมสารสกัด ตามลำดับ โดยเมื่อเปรียบเทียบระหว่างรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ จะพบว่ารำข้าวดอกขามจะมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูงกว่ารำข้าวหอมสุพรรณบุรี

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรนำผลการศึกษาการละลายของรำข้าวสายพันธุ์ดอกขามที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง เมื่อเปรียบเทียบกับรำข้าวหอมสุพรรณบุรีไปทำการวิจัยต่อยอดทางด้านเภสัชวิทยา เพื่อให้ได้ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนการใช้ประโยชน์ในด้านความปลอดภัย ด้วยประสิทธิภาพในการออกฤทธิ์ก่อนนำไปต่อยอด เพื่อกำเนิดผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ที่ใช้ในการป้องกันโรค บำรุงสุขภาพหรือเสริมความงามต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# เอกสารอ้างอิง


กิตติมา ไตรรัตนศิริชัย และสาโรจน์ รอดคืน. 2555. **รำข้าว : จากอาหารหมูสู่อาหารเพื่อสุขภาพของคน.** (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก : http://archive.mfu.ac.th/school /agro2012/events/298.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 2556. **วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร.** เล่ม 1. นนทบุรี : กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ กระทรวงสาธารณสุข.

ฉลวย ทับศรี ม่วงพรวน. 2555. **การศึกษาผลการบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันรำข้าวและจมูกข้าว P2PLUS.** ประทุมธานี. : บริษัท ปฐมสิทธิ์ จำกัด.

ดวงกมล เรือนงาม. 2557. "การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ." *วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง.* 23(2).

นพวัฒน์ เพ็งคำศรี, จัตุพล กันทะมูล, ภัทราภรณ์ โตวัฒนกิจ, วชิรวิทย์ วงศ์ษารัฐ, วนิดา ใจหมั่น, นิภาพร เมืองจันทร์ และสุภารัตน์ จันทร์เหลือง. 2554. "ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเหง้าข่าลิง." *วารสารไทยเภสัชศาสตร์และวิทยาการสุขภาพ.* 6(3) : 195-201.

ประพาส วีระแพทย์. 2520. "ลักษณะของข้าวที่สำคัญทางการเกษตร." **สารานุกรมไทยสำหรับเยาวชนฯ.** เล่มที่ 3.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. **การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชัน.** (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3200/dpph-assay-การวิเคราะห์การเป็นสารต้านออกซิเดชัน.

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. ม.ป.ป. **Phenolic compounds/สารประกอบฟีนอล.** (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก : http://www.foodnetworksolution.com./wiki/word/2585/phenolic-compound.

รักบ้านเกิด. 2552. **ข้าวพันธุ์พื้นเมือง-ข้าวไร่พันธุ์ดอกขาม.** (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก : https://www.rakbankerd.com/agriculture/page.php?id=581&s=tblrice.

รักบ้านเกิด. 2556. **พันธุ์ข้าวนาสวน.** (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก : https://www.rakbankerd. .com/agriculture/page.php?id=5198&s=tblrice.

ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และนิธิยา รัตนปนนท์. 2553. **หลักการวิเคราะห์อาหาร.** เชียงใหม่ : ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วันเพ็ญ จิตรเจริญ. 2541. **บทปฏิบัติการเคมีอาหาร.** เล่ม 1. ลำปาง. : สถาบันเทคโนโลยีราชมงคลวิทยาเขตลำปาง.

วราพร เหลืองสินทรัพย์. 2556. **การวางแผนการทดลอง.** กรุงเทพฯ : โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. 2556. **ตัวทำละลาย.** (ออนไลน์). เข้าถึงได้จาก : https://th. wikipedia.org/wiki/ตัวทำละลาย.

สายสนม ประดิษฐ์ดวง. 2551. **ข้าวในมิติของอาหารต้านโรค.** กรุงเทพฯ : บริษัท ธนาเพรส.

สุดารัตน์ เจียมยั่งยืน, วรนุช ศรีเจษฎารักษ์ และ Harper, W.J. 2548. "การสกัดโปรตีนเข้มข้นจากรำข้าวและการประยุกต์ใช้ในขนมปัง." *วารสารสงขลานครินทร์. วทท.* 27(1) : 55-64.

อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. **ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.** กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อรุณศรี ปรีเปรม, ผดุงขวัญ จิตโรภาส และบังอรศรี พานิชกุลชัย. 2548. "รำข้าวที่มีคุณภาพ : คุณค่าของสุขภาพ." *วรสารศูนย์บริการวิชาการ.* 13(3) : 3-4.

อารี ฤทธิบูรณ์. 2559. **ปฏิบัติการเทคโนโลยีของเอนไซม์.** กรุงเทพฯ : โครงการตำรา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

โอภา วัชระคุปต์. 2549. **สารต้านอนุมูลอิสระ (Radical Scavenging Agents).** กรุงเทพฯ : พี. เอช. พริ้นท์.

Agbo, M.O. Uzor, P.F. Akazie-Nneji, U.N. Eze-Odurukwe, C.U. Ogbatue, U.B. and Mbaoji E.C. 2015. "Antioxidant, Total Phenolic and Flavonoid Content of Selected Nigerian Medicinal Plants." *University of Nigeria.*

Ahmad Mudassar. 2015. **EXTRACTION with Special Reference to Maceration.** [Online]. Available : https://www.slideshare.net/mudassarahmadkamboh /extraction-in-pharmaceutics.

Arakaki, D. G. Candido, C. J. Silva, A. F. D. Guimaraes, R. D. C. A. and Hiane, D. A. (2016). "In vitro and in vivo antioxidant activity of the pulp of Jatoba-do-cerrado." *Food Science and Technology.* 36(1) : 166-170.

AOAC International. 1990. **Official Methods of Analysis.** 16th ed. Gaithersburg MD : AOAC Internatioinal.

AOAC International. 1995. **Official Methods of Analysis.** 16th ed. Gaithersburg MD : AOAC Internatioinal

AOAC International. 2000. **Official Methods of Analysis.** 16th ed. Gaithersburg MD : AOAC Internatioinal

Arab, F. Alemzadeh, I. and Maghsoudi, V. 2011. "Determination of antioxidant component and activity of rice branextract." *Scientia Iranica.* 18(6) : 1402–1406.

Bagul Vishal, S. 2016. **EXTRACTION**. [Online]. Available : https://www.slideshare.net/vishalBagul4/extraction-64730159.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Blaine, T.S. 2016. **Physical Pharmacy**. London. : Phamaceutical Press.

Cacace, J. E. and Mazza, G. 2003. "Optimization of extraction ofanthocyanins from black currants with aqueous ethanol." *Journal of Food Science*. 68 : 240–248.

Castro-López, C. Ventura-Sobrevilla, J.M. González-Hernández, M.D. Rojas, R. Ascacio-Valdés, J.A. Aguilar, C.N. and Martínez-Ávila, G.C. 2017. "Impact of extraction techniques on antioxidant capacities and phytochemical composition of polyphenol-rich extracts." *Food Chemistry*. 237 : 1139–1148.

Chan, S.W. Lee, C.Y. Yap, C.F. Alda, W.M. and Ho, C.W. 2009. "Optimisation of extraction conditions for phenolic compounds from limaupurut (*Citrus hystrix*) peels." *International Food Research Journal*. 16 : 203-213.

Chen, M.H. Clung, A.M. and Bergman, C.J. 2016. "Bran data of total flavonoid and total phenolic contents, oxygen radical absorbance capacity, and profiles of proanthocyanidins and wholegrain physical traits of 32 red and purple rice varieties." *Data in Brief*. 8 : 6–13.

Department of foreign trade, Ministry of Commerce, Thailand. 2016. **Thai rice for life.** [Online]. Available : http://www.thairiceforlife.com/identity/index.

Do, Q.D. Angkawijaya, A.E.Tran-Nguyen, P.L. Huynh, L.H. Soetaredjo, F.E. Suryadi, I. andYi-Hsu, J. 2014. "Effect of extraction solvent on total phenol content, total flavonoid content, and antioxidant activity of *Limnophila aromatic*." *food and drug analysis*. 22 : 296-302.

Fabian, C. and Ju, H.Y. 2011. "A Review on Rice Bran Protein: Its Properties and Extraction Methods." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. 51(9) : 816-827

Felhi, S. Daoud, A. Hajlaoui, H.Mnafgui, K.Gharsallah, N.and Kadri, A. 2017. "Solvent extraction effects on phytochemical constituents profiles, antioxidant and antimicrobial activities and functional group analysis of Ecballium elateriumseeds and peels fruits." *Food Science and Technology*. 37(3) : 483-492.

Franco-Vega,A. Ramírez-Corona,N. Enrique, P and Lopez-Malo, A. 2016. "Estimation of mass transfer coefficients of the extraction process of essential oil from orange peel using microwave assisted extraction." *Journal of Food Engineering*. 170 : 136 – 143.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fu, X. Cheng, S. Liao, Y. Huang, B. Du, B. Zeng, W. Jiang, Y. Duan, X. and Yang, Z. 2018. "Comparative analysis of pigments in red and yellow banana fruit." *Food Chemistry*. 239 : 1009-1018.

Garcia, E.J.Oldoni, T.L.C. Alencar, S.M. Reis, A. Loguercio, and A.D. Grande, R.H.M. 2012. "Antioxidant Acitivity by DPPH Assay of Potential Solutions to be applied on Bleached Teeth." *Braz Dent J.* 23 : 22-27.

Gironi, F. and Piemonte, V. 2011. "Temperature and solvent effects on polyphenol extraction process from chestnut tree wood." *Chemical Engineering Research and Design*. 89 : 857–862.

Goulas, V. Gomez-Caravaca, A. M. Exarchou, V. Gerothanassis, I. P. Segura-Carretero, A. and Gutierrez, A. F. 2012. "Exploring the antioxidant potential of *Teucrium polium* extracts by HPLC-SPENMR and on-line radical-scavenging activity detection." *LWT-Food Science and Technology*. 46(1) :104-109.

Hidalgo, P. Ciudad, G. and Navia, R. 2016. "Evaluation of different solvent mixtures in esterifiable lipids extraction from microalgae *Botryococcus braunii* for biodiesel production." *Bioresource Technology*. 201 : 360–364.

Huang , H.S. and Liaw , E.T. 2017."Extraction Optimization of Flavonoids from *Hypericum formosanum* and Matrix Metalloproteinase-1 Inhibitory Activity." *Molecules*. 22 : 1-12.

Huang, S.C. Shiau, C.Y. Liu, C.L. and Hwang, D.F. 2005. "Effects of rice bran on sensory and physic-chemical properties of emulsified pork meatballs." *Meat Science*. 70 : 613-619.

Irina, I.andMohamed, G. 2012. "Biological Activities and Effects ofFood Processing on Flavonoids as Phenolic Antioxidants." Advances *in Applied Biotechnology*. 101-124.

Julaino, B.O. 1993. **Rice in Human Nutrition**. Rome : Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO).

Kamtekar, S.Keer, V. Patil, V. 2014. "Estimation of Phenolic content, Flavonoid content, Antioxidant andAlpha amylase Inhibitory Activity of Marketed PolyherbalFormulation." *Applied Pharmaceutical Science*. 4(9) : 61-65.

Letellier, M. Budzinski, H. 1999. "Microwave assisted extraction of organic compounds.Analysis." 27 : 259-271.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Liangli Yu. 2007. **Method foe antioxidant capacity estimation.** [Online]. Available : https://www.researchgate.net/file.PostFileLoader.html.

Lin, C.W. Yu, C.W. Wu, S.C. and Yih, K.H. 2009. "DPPH Free-Radical Scavenging Activity, Total Phenolic Contents and Chemical Composition Analysis of Forty-Two Kinds of Essential Oils." *Food and Drug Analysis*. 5 : 386-395.

Massarolo, K.C. Ribeiro, A.C. and Furlong, E.B. 2017. "Effect of particle size of rice bran on gamma-oryzanol content and Compounds." *Journal of Cereal Science*. 75 : 54-60.

Mokrani, A. and Madani, K. 2016. "Effect of solvent, time and temperature on the extraction of phenoliccompounds and antioxidant capacity of peach (*Prunus persica* L.) fruit." *Separation and Purification Technology*. 162 : 68–76.

Moreno, J. Lopez, G. andSiche, R. 2010. "Modeling and optimization of extraction process of eucalyptus essential oil (*Eucalyptus globulus*)." *Scientia Agropecuaria*. 1 : 147-154.

Nishaa, S. Vishnupriya, M. Sasikumar, J.M. Hephzibah, P.C. Gopalkrishnan, V.N. 2012. "Antioxidant Activity of Ethanolic Extract of *Maranta arundinacea*.L Tuberous Rhizomes." *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Rrsearch*. 5 : 85-88.

Pang, Y. Ahmeda, S. Xua, Y. Betab, T. Zhuc, Z. Shao, Y.and Bao, J. 2018. "Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran of white, red and black rice." *Food Chemistry*. 240 : 212–221.

Rebaya, A. Belghith, S.I. Baghdikian, B. Leddet, V.M. Mabrouki, F. Olivier, E. Cherif, J. and Ayadi, M.T. 2014. "Total Phenolic, Total Flavonoid, Tannin Content, and Antioxidant Capacity of *Halimium halimifolium* (Cistaceae)." *Applied Pharmaceutical Science*. 5 : 052-057.

Sahu, R. and Saxena, J. 2013. "Screening of Total Phenolic and Flavonoid Content in Conventional and Non-Conventional Species of Curcuma." *Pharmacognosy and Phytochemistry*. 2 : 276-279.

Settharaksa, S.Jongjareonrak, A.Hmadhlu, P. Chansuwan, W. and Siripongvutikorn, S. 2012. "Flavonoid, phenolic contents and antioxidant properties of Thai hot curry paste extract and its ingredients as affected of pH, solvent types and high temperature." *International Food Research Journal*. 19(4) :1581-1587.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Silva, E.M. Rogez, H. and Larondelle, Y. 2007. "Optimization of extraction of phenolics from Ingaedulis leaves using response surface methodology." *Separation and Purification Technology*. 55(3) : 381-387.

Spigno, G.Tramelli, L. and Faveri, D. M.D. 2007. "Effects of extraction time, temperature and solvent on concentrationand antioxidant activity of grape marc phenolics." *Food Engineering*. 81 : 200–208.

Vieitez, I. Maceiras, L. Jachmanián, I. and Alborés, S. 2018. "Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology." *The Journal of Supercritical Fluids*. 133 : 58-64.

Widyawati, P.S.Budianta, T.D.W. Kusuma, F.A.and Wijaya, E.L. 2014. "Difference of Solvent Polarity to Phytochemical Content and Antioxidant Activity of *Pluchea indicia Less* Leaves Extracts." *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research*. 6(4) : 850-855.

Wong, S.P.Leong , L.P. andKoh, J.H.W. 2006. "Antioxidant activities of aqueous extracts of selected plants." *Food Chemistry*. 99 : 775–783.

Yang, L. Jiang, J.G. Li, W.F. Chen, J. Wang, D.Y. and Zhu, L. 2009. "Optimum extraction process of polyphenols from the bark of*Phyllanthusemblica* L. based on the response surface methodology." *Separation Science*. 32(9) : 1437–1444.

Zhang, H. Wang, M. Chen, L. Liu, Y. Liu, H. Huo, H. Sun, L. Ren, X. Deng, Y. and Qi, A. 2017. "Structure-solubility relationships and thermodynamic aspects of solubility of some flavonoids in the solvents modeling biological media." *Journal of Molecular Liquids*. 225 : 439–445.

Zigoneanu, I.G. Williams, L. Xu, Z. and Sabliov,C.M. 2008. "Determination of antioxidant components in rice bran oil extracted by microwave-assisted method." *Bioresource Technology*. 99 : 4910–4918.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ก

## การเตรียมสารเคมี

### 1. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Kjedahl

1.1 การเตรียมกรดบอริค ($H_3BO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 4 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร)

การคำนวณ

ถ้าเตรียมสารละลาย 100 มิลลิลิตร จะมีกรดบอริค ($H_3BO_3$) อยู่ 4 กรัม

ถ้าเตรียมสารละลาย 250 มิลลิลิตร จะมีกรดบอริค ($H_3BO_3$) อยู่ $\frac{500 \times 4}{100} = 10$ กรัม

ดังนั้น ชั่งกรดบอริค ($H_3BO_3$) 10 กรัม ใส่น้ำกลั่นปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนจนกรดบอริคละลายหมดแล้วจึงนำไปปรับปริมาตรจนครบ 250 มิลลิลิตร

1.2 การเตรียมกรดไฮโดคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์

การคำนวณ

จาก กรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้นร้อยละ 36 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก)

ความหนาแน่นเท่ากับ 1.18 กรัมต่อมิลลิลิตร และมวลโมเลกุล เท่ากับ 36.46 กรัมต่อโมล

จากสมการ $M = \frac{10 \times d \times \%}{MW}$

เมื่อ M = ความเข้มข้นของสารในหน่วยโมลาร์

D = ความหนาแน่นของสารในหน่วยกรัมต่อมิลลิลิตร

MW = มวลโมเลกุลของสารในหน่วยกรัมต่อโมล

% = ความเข้มข้นของสารในหน่วยร้อยละ

แทนค่า $M = \frac{10 \times 1.18\ g/ml \times 36\%}{36.46\ g/mol} = 11.6511$ โมลาร์

ดังนั้น สารเคมีในขวดนี้มีความเข้มข้น เท่ากับ 11.6511 โมลาร์

โดยจะทำการเตรียมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

จากสมการ $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1$ = ความเข้มข้นเริ่มต้น

$V_1$ = ปริมาตรเริ่มต้น

$C_2$ = ความเข้มข้นสุดท้าย

$V_2$ = ปริมาตรสุดท้าย

แทนค่า (11.6511M) V1 = (0.1M) (100ml)

$V_1$ = 0.8583 ml

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น การเตรียมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะต้องใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้นร้อยละ 36 เท่ากับ 0.8583 มิลลิลิตร

**2. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณเส้นใย**

2.1 การเตรียมกรดซัลฟิวริก ($H_2SO_4$) เข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

การคำนวณ

จากสมการ $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1$ = ความเข้มข้นเริ่มต้น

$V_1$ = ปริมาตรเริ่มต้น

$C_2$ = ความเข้มข้นสุดท้าย

$V_2$ = ปริมาตรสุดท้าย

จากกรดซัลฟิวริก ($H_2SO_4$) เริ่มต้น เข้มข้นร้อยละ 98 จะได้

แทนค่า $(98\%)\ V1 = (1.25\%)\ (1000ml)$

$V_1 = 12.7551$ ml

ดังนั้น การเตรียมกรดซัลฟิวริก ($H_2SO_4$) ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จะต้องใช้กรดซัลฟิวริก ($H_2SO_4$) ความเข้มข้นร้อยละ 98 เท่ากับ 12.7551 มิลลิลิตร

2.2 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร

การคำนวณ

ถ้าสารละลาย NaOH ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะมี NaOH อยู่ 1.25 กรัม

ถ้าสารละลาย NaOH ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จะมี NaOH อยู่ $\frac{1000 \times 1.25}{100}$

$= 12.50$ กรัม

ดังนั้น การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เท่ากับ 12.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก**

3.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ($Na_2CO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยเตรียมปริมาตร 500 มิลลิลิตร

การคำนวณ

ถ้าสารละลาย $Na_2CO_3$ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะมี $Na_2CO_3$ อยู่ 10 กรัม

ถ้าสารละลาย $Na_2CO_3$ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะมี $Na_2CO_3$อยู่ $\frac{500 \times 10}{100}$

$= 50$ กรัม

ดังนั้น การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ($Na_2CO_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมคาร์บอเนต ($Na_2CO_3$) เท่ากับ 50 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร

**4. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์**

4.1 การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยเตรียมปริมาตร 100 มิลลิลิตร

การคำนวณ

ถ้าสารละลาย $NaNO_2$ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะมี $NaNO_2$ อยู่ 5 กรัม

ถ้าสารละลาย $NaNO_2$ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะมี $NaNO_2$ อยู่ $\frac{100 \times 50}{100}$

$= 5$ กรัม

ดังนั้น การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$)ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) เท่ากับ 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

4.2 การเตรียมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร โดยเตรียมปริมาตร 100 มิลลิลิตร

การคำนวณ

ถ้าสารละลาย $AlCl_3$ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะมี $AlCl_3$ อยู่ 10 กรัม

ถ้าสารละลาย $AlCl_3$ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะมี $AlCl_3$ อยู่ $\frac{100 \times 10}{100}$

$= 10$ กรัม

ดังนั้น การเตรียมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะต้องชั่ง อลูมิเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) เท่ากับ 10 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น หากต้องการใช้ต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ โดยเตรียมปริมาตร 200 มิลลิลิตร

การคำนวณ

จากโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 40 กรัมต่อโมล

จากสมการ $$\frac{g}{MW} = \frac{CV}{1000}$$

เมื่อ g = น้ำหนักของสารในหน่วยกรัม

MW = มวลโมเลกุลของสารในหน่วยกรัมต่อโมล

C = ความเข้มข้นของสารในหน่วยโมลาร์

V = ปริมาตรที่ต้องการเตรียมในหน่วยมิลลิลิตร

แทนค่า $$\frac{g}{40\ g/mol} = \frac{(1mol/l)\ (200ml)}{1000}$$

จะได้ g = 8 กรัม

ดังนั้น การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เท่ากับ 8 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 200 มิลลิลิตร

**5. การเตรียมสารทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging activity**

5.1 การเตรียมสารละลายของ ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยละลายและปรับปริมาตรด้วยเอทานอลร้อยละ 95

การคำนวณ

จากสาร DPPH (2, 2-Diphenol-1-picrylhydrazyl) มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 394.32 กรัมต่อโมล

จากสมการ $$\frac{g}{MW} = \frac{CV}{1000}$$

เมื่อ g = น้ำหนักของสารในหน่วยกรัม

MW = มวลโมเลกุลของสารในหน่วยกรัมต่อโมล

C = ความเข้มข้นของสารในหน่วยโมลาร์

V = ปริมาตรที่ต้องการเตรียมในหน่วยมิลลิลิตร

แทนค่า $$\frac{g}{394.32\ g/mol} = \frac{(0.2 \times 10^{-3} M)\ (100ml)}{1000}$$

จะได้ $g = 7.8864 \times 10^{-3}$ หรือ 0.008 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของผลงานทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น การเตรียมสาร DPPH (2, 2-Diphenol-1-picrylhydrazyl) ความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 มิลลิลิตร จะต้องชั่งสาร DPPH (2, 2-Diphenol-1-picrylhydrazyl) เท่ากับ 0.008 กรัม ละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 95 แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

**6. การเตรียมสารสำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing ability power (FRAP)**

6.1 การเตรียม Acetate buffer (pH 3.6) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

6.1.1. การเตรียมกรดอะซิตริก ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

การคำนวณ

จาก กรดกรดอะซิตริก เข้มข้นร้อยละ 100 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) มีความหนาแน่นเท่ากับ 1.05 กรัมต่อมิลลิลิตร และ มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 60.05กรัมต่อโมล

จากสมการ $$M = \frac{10 \times d \times \%}{MW}$$

เมื่อ M = ความเข้มข้นของสารในหน่วยโมลาร์

D = ความหนาแน่นของสารในหน่วยกรัมต่อมิลลิลิตร

MW = มวลโมเลกุลของสารในหน่วยกรัมต่อโมล

% = ความเข้มข้นของสารในหน่วยร้อยละ

แทนค่า $$M = \frac{10 \times 1.05\ g/ml \times 100\%}{60.05\ g/mol} = 17.4854$$ โมลาร์

ดังนั้น สารเคมีในขวดนี้มีความเข้มข้น เท่ากับ 17.4854 โมลาร์ หรือ 17485.4 มิลลิโมลาร์ โดยจะทำการเตรียมกรดอะซิตริกความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร

จากสมการ $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1$ = ความเข้มข้นเริ่มต้น

$V_1$ = ปริมาตรเริ่มต้น

$C_2$ = ความเข้มข้นสุดท้าย

$V_2$ = ปริมาตรสุดท้าย

แทนค่า (17485.4 mM) $V_1$ = (300 mM)(500 ml)

$V_1$ = 8.5786 ml

ดังนั้น การเตรียมกรดอะซิตริก ความเข้มข้น 300 มิลลีโมลาร์ ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จะต้องใช้กรดอะซิตริก เท่ากับ 8.5786 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.1.2 การเตรียมโซเดียมแอซิเทรต ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

<u>การคำนวณ</u>

จาก สารโซเดียมแอซิเทรต มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 136.0796 กรัมต่อโมล

จากสมการ $$\frac{g}{MW} = \frac{CV}{1000}$$

เมื่อ g = น้ำหนักของสารในหน่วยกรัม

MW = มวลโมเลกุลของสารในหน่วยกรัมต่อโมล

C = ความเข้มข้นของสารในหน่วยโมลาร์

V = ปริมาตรที่ต้องการเตรียมในหน่วยมิลลิลิตร

แทนค่า $$\frac{g}{136.0796\ g/mol} = \frac{(300 \times 10^{-3} M)\ (100ml)}{1000}$$

จะได้ g = 4.0824 กรัม

ดังนั้นโซเดียมแอซิเทรต ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 มิลลิลิตร จะต้องชั่งโซเดียมแอซิเทรต เท่ากับ 4.0824 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

6.1.3 การเตรียม Acetate buffer (pH 3.6) (อารี, 2559)

หลังจากทำการเตรียมกรดอะซิตริกและโซเดียมแอซิเทรต ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ จะต้องนำกรดอะซิตริก ปริมาตร 46.3 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายโซเดียมอะซิเทรต 3.7 มิลลิลิตร และทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร (วัดค่าพีเอชเพื่อตรวจสอบความถูกต้องอีกครั้ง) หากต้องทำการปรับค่าพีเอชให้ปรับด้วยกรดอะซิตริกและโซเดียมแอซิเทรต ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์

6.2 การเตรียมสารละลาย Ferric chloride solution ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

<u>การคำนวณ</u>

จากสาร Ferric chloride solution มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 270.33 กรัมต่อโมล

จากสมการ $$\frac{g}{MW} = \frac{CV}{1000}$$

เมื่อ g = น้ำหนักของสารในหน่วยกรัม

MW = มวลโมเลกุลของสารในหน่วยกรัมต่อโมล

C = ความเข้มข้นของสารในหน่วยโมลาร์

V = ปริมาตรที่ต้องการเตรียมในหน่วยมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนค่า $$\frac{g}{270.33\ g/mol} = \frac{(20 \times 10^{-3}\ M)\ (50ml)}{1000}$$

จะได้ $$g = 0.2703\ \text{กรัม}$$

ดังนั้น สารละลาย Ferric chloride solution ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 20 มิลลิลิตร จะต้องชั่ง Ferric chloride solution 0.2703 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

6.3 การเตรียมสารละลายสาร TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

การคำนวณ

จากสาร TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 312.33 กรัมต่อโมล

จากสมการ $$\frac{g}{MW} = \frac{CV}{1000}$$

เมื่อ g = น้ำหนักของสารในหน่วยกรัม

MW = มวลโมเลกุลของสารในหน่วยกรัมต่อโมล

C = ความเข้มข้นของสารในหน่วยโมลาร์

V = ปริมาตรที่ต้องการเตรียมในหน่วยมิลลิลิตร

แทนค่า $$\frac{g}{312.33\ g/mol} = \frac{(10 \times 10^{-3}\ M)\ (5ml)}{1000}$$

จะได้ $$g = 0.0156\ \text{กรัม}$$

ดังนั้น สารละลาย TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 5 มิลลิลิตร จะต้องชั่ง สาร TPTZ (2, 4, 6-tripyridyl-s-triazine) เท่ากับ 0.0156 กรัม ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

6.4 การเตรียมกรดไฮโดคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์

การคำนวณ

จากกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เข้มข้นร้อยละ 36 (โดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก) มีความหนาแน่นเท่ากับ 1.18 กรัมต่อมิลลิลิตร และ มีมวลโมเลกุล เท่ากับ 36.46 กรัมต่อโมล

จากสมการ $$M = \frac{10 \times d \times \%}{MW}$$

เมื่อ M = ความเข้มข้นของสารในหน่วยโมลาร์

D = ความหนาแน่นของสารในหน่วยกรัมต่อมิลลิลิตร

MW = มวลโมเลกุลของสารในหน่วยกรัมต่อโมล

% = ความเข้มข้นของสารในหน่วยร้อยละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนค่า $$M = \frac{10 \times 1.18\ g/ml \times 36\%}{36.46\ g/mol} = 11.6511$$ โมลาร์

ดังนั้น สารเคมีในขวดนี้มีความเข้มข้น เท่ากับ 11.6511 โมลาร์ หรือ 11651.1 มิลลิโมลาร์ โดยจะทำการเตรียมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

จากสมการ $C_1V_1 = C_2V_2$

เมื่อ $C_1$ = ความเข้มข้นเริ่มต้น

$V_1$ = ปริมาตรเริ่มต้น

$C_2$ = ความเข้มข้นสุดท้าย

$V_2$ = ปริมาตรสุดท้าย

แทนค่า $(11651.1mM)\ V_1 = (40mM)\ (50ml)$

$V_1 = 0.1717$ ml

ดังนั้น การเตรียมกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร จะต้องใช้กรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้นร้อยละ 36 เท่ากับ 0.1717 มิลลิลิตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข

## กราฟมาตรฐานที่ใช้ในการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

### 1. กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

1.1 ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ระดับความเข้มข้น 0, 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐานกรดแกลลิก 0.001 กรัม (1000 ไมโครกรัม) แล้วละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก เข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

**ตารางที่ ข.1** การเตรียมสารมาตรฐานกรดแกลลิกจาก stock solution ความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

| ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | สารมาตรฐานกรดแกลลิก ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร) | เอทานอลร้อยละ 95 (ไมโครลิตร) |
|---|---|---|
| 20 | 20 | 980 |
| 40 | 40 | 960 |
| 60 | 60 | 940 |
| 80 | 80 | 920 |
| 100 | 100 | 900 |
| 200 | 200 | 800 |

2. ใส่สารละลาย Folin-Ciocalteu's reagent : น้ำกลั่น เท่ากับ 1 : 9 (V/V) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร

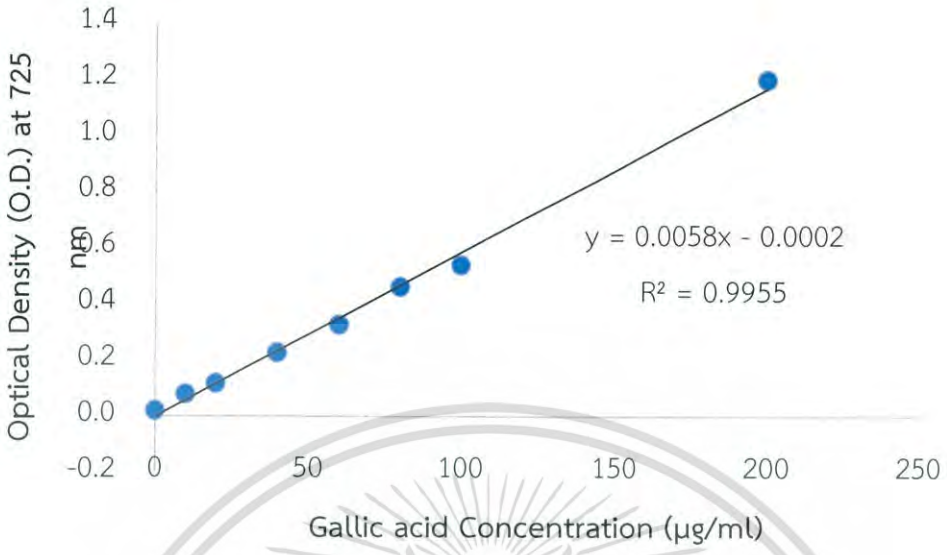
3. ใส่สารสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน และแบลงก์ (blank) ใช้เอทานอล ความเข้มข้นร้อยละ 95 แทนสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

4. เติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 (W/V) ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มไว้ในที่มืด 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง

5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ด้วยเครื่องเครื่องไมโครเพลทสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Microplate spectrophotometer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก




**รูปที่ ข.1** กราฟมาตรฐานกรดแกลลิก

**2. กราฟมาตรฐานเควอซิทินสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์**

2.1 ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐานเควอซิทิน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของเควอทิซินที่ระดับความเข้มข้น 60, 100, 200,250, 300, 350, 500, 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐานเควอซิทิน 0.005 กรัม (5000 ไมโครกรัม) แล้วละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานเควอซิทิน เข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

2. .ใส่สารมาตรฐานเควอซิทินปริมาตร 500 ไมโครลิตร เติมสารละลายโซเดียมไนไตรท์ ($NaNO_2$) ความเข้มข้นร้อยละ5 ปริมาตร 300 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เวลา 5 นาที เพื่อทำปฏิกิริยา

3. เติมสารละลายอะลูมีเนียมคลอไรด์ ($AlCl_3$) ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 300 ไมโครลิตรลงไป ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้เป็นเวลา 6 นาที เพื่อทำปฏิกิริยา

4. เติมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 2000 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันเพื่อหยุดปฏิกิริยา ทำการบ่มในที่มืด เป็นเวลา 15 นาที

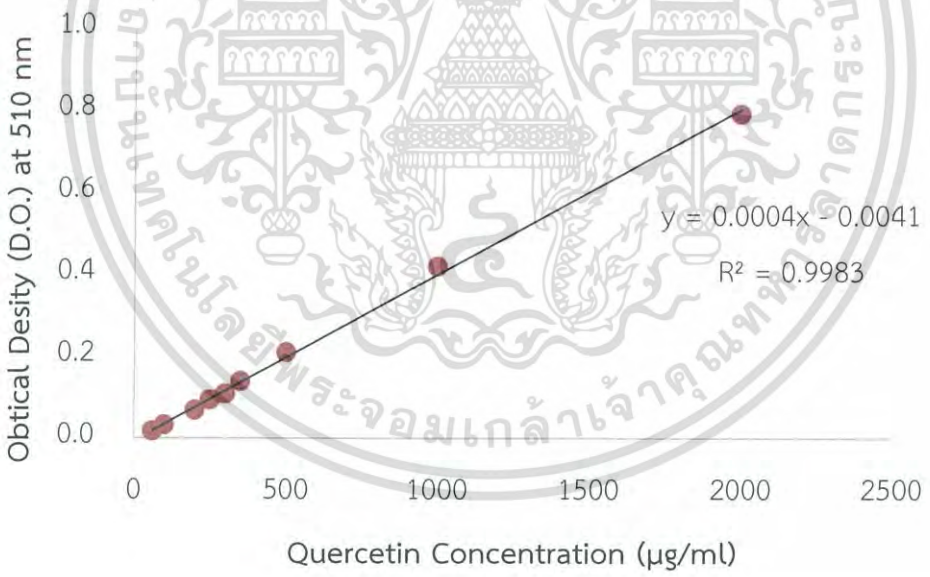
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เครื่องไมโครเพลทไมโครเพลท สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Microplate spectrophotometer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.2** การเตรียมสารมาตรฐานเควอซิทินจาก stock solution ความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

| ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | สารมาตรฐานเควอซิทิน ความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร) | เอทานอลร้อยละ 95 (ไมโครลิตร) |
|---|---|---|
| 60 | 12 | 988 |
| 100 | 20 | 980 |
| 200 | 40 | 960 |
| 250 | 50 | 950 |
| 300 | 60 | 940 |
| 350 | 70 | 930 |
| 500 | 100 | 900 |
| 1000 | 200 | 800 |
| 2000 | 400 | 600 |

2.2 กราฟมาตรฐานเควอซิทิน




**รูปที่ ข.2** กราฟมาตรฐานเควอซิทิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**3. กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์สำหรับการวิเคราะห์เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity**

3.1 ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

1. เตรียมสารมาตรฐานโทรลอกซ์ให้มีความเข้มข้น 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐานโทรลอกซ์ 0.001 กรัม (1000 ไมโครกรัม) แล้วละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานโทรลอกซ์ เข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

**ตารางที่ ข.3** การเตรียมสารมาตรฐานโทรลอกซ์จาก stock solution ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

| ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | สารมาตรฐานโทรลอกซ์ ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร) | เอทานอลร้อยละ 95 (ไมโครลิตร) |
|---|---|---|
| 0 | 0 | 1000 |
| 5 | 5 | 995 |
| 10 | 10 | 990 |
| 15 | 15 | 985 |
| 20 | 20 | 980 |
| 25 | 25 | 975 |

2. ปิเปตสารมาตรฐานโทรลอกซ์ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ 96 well-plate โดยทำการทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ การทดสอบ $A_{Sample}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH) เติมสารละลายของ DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน การทดสอบ $A_{Blank\ Sample}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นก่อนทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH) เติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน

3. การเตรียมและทดสอบฤทธิ์ของตัวควบคุม ปิเปต absolute ethanol 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ 96 well-plate โดยทดสอบ 3 ซ้ำการทดสอบ $A_{DPPH}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH) โดยเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน และทำการทดสอบ $A_{Blank\ DPPH}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร DPPH) เติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นำไปบ่มให้เกิดการทำปฏิกิริยาในที่มืดนาน 30 นาที

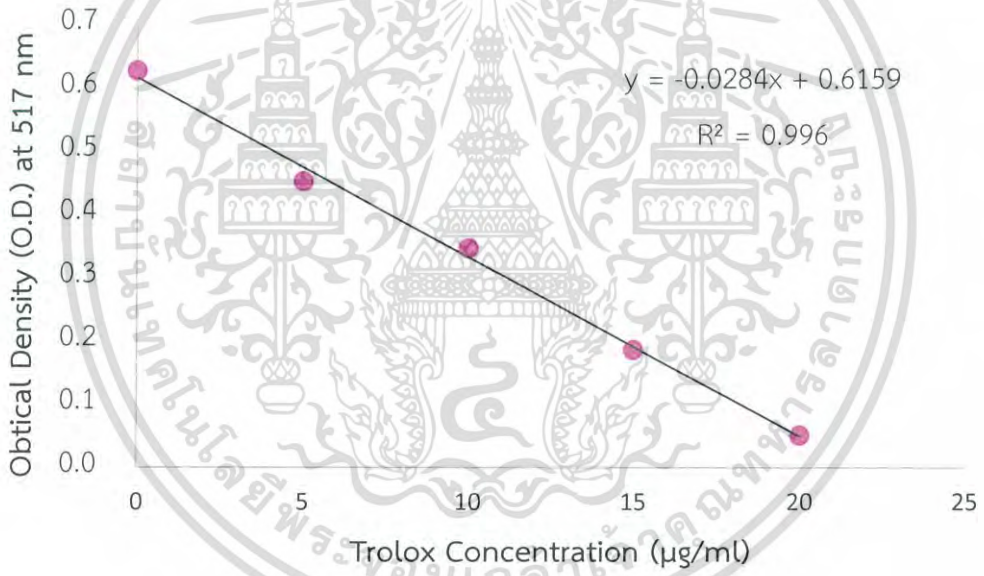
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลทสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Microplate spectrophotometer)

6. การคำนวณ % Inhibition concentration จากสูตร

$$\%\text{inhibition} = \frac{\left(A_{DPPH(control)} - A_{Blank\ DPPH}(control)\right) - \left(A_{sample} - A_{Blank\ sample}\right)}{\left(A_{DPPH(control)} - A_{Blank\ DPPH}(control)\right)} \times 100$$

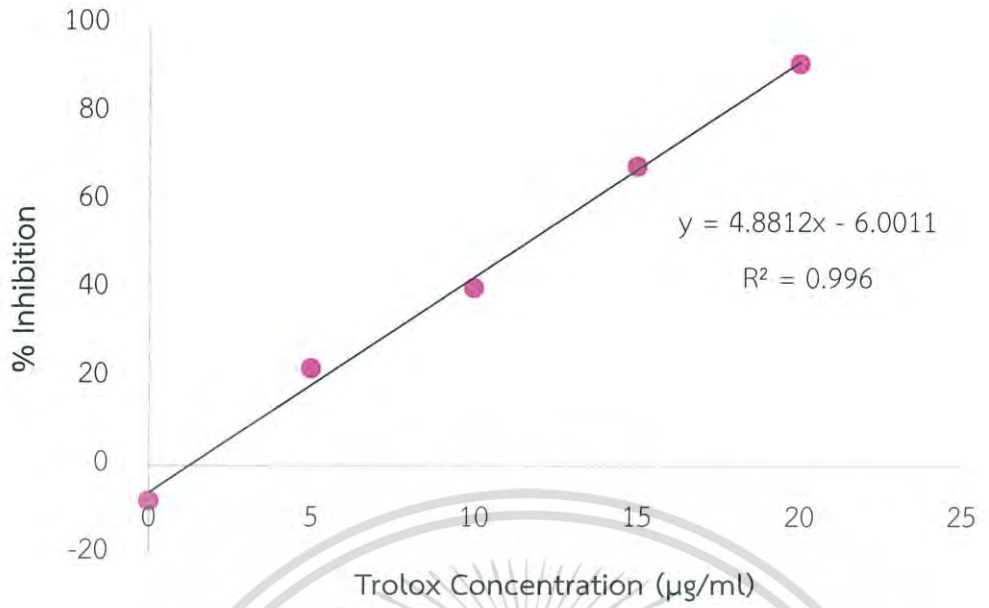
นำค่าความเข้มข้นของสารละลายและ % Inhibition concentration ที่ได้ไปเขียนกราฟเพื่อหาค่า $IC_{50}$ คือ ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์

3.2 กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์




**รูปที่ ข.3** กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ ข.4** กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์ (% Inhibition concentration)

3.3 การหาปริมาณความเข้มข้นของสารมาตรฐานโทรลอกซ์ที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ($IC_{50}$)

จากสมการเส้นตรงในรูปที่ ข4 คือ y = 4.8812x – 6.0011

หาค่า $IC_{50}$ ; แทนค่า 50 = 4.8812x – 6.0011

X = (50 + 6.0011)/4.8812

X = 11.4728 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หรือ X = 0.0115 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**4. กราฟมาตรฐาน BHT สำหรับการวิเคราะห์เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity**

4.1 ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐาน BHT

1. เตรียมสารมาตรฐานโทรลอกซ์ให้มีความเข้มข้น 0, 20, 40, 60, 100, 300, 40 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร โดยชั่งสารมาตรฐาน BHT 0.001 กรัม (1000 ไมโครกรัม) แล้วละลายด้วยเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร จะได้สารละลายมาตรฐาน BHT เข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ปิเปตสารมาตรฐาน BHT ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ 96 well-plate โดยทำการทดสอบความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ การทดสอบ $A_{Sample}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH) เติมสารละลายของ DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน การทดสอบ $A_{Blank\ Sample}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของสารมาตรฐานในแต่ละความเข้มข้นก่อนทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH) เติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน

3. การเตรียมและทดสอบฤทธิ์ของตัวควบคุม ปิเปต absolute ethanol 100 ไมโครลิตร ลงในหลุมของ 96 well-plate โดยทดสอบ 3 ซ้ำการทดสอบ $A_{DPPH}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH) โดยเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน และทำการทดสอบ $A_{Blank\ DPPH}$ (ค่าการดูดกลืนแสงของตัวทำละลายที่ใช้ละลายสาร DPPH) เติมเอทานอลร้อยละ 95 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้สารผสมเข้ากัน

4. นำไปบ่มให้เกิดการทำปฏิกิริยาในที่มืดนาน 30 นาที

5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลทสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Microplate spectrophotometer)

6. การคำนวณ % Inhibition concentration จากสูตร

$$\%\text{inhibition} = \frac{\left(A_{DPPH(control)} - A_{Blank\ DPPH}(control)\right) - \left(A_{sample} - A_{Blank\ sample}\right)}{\left(A_{DPPH(control)} - A_{Blank\ DPPH}(control)\right)} \times 100$$

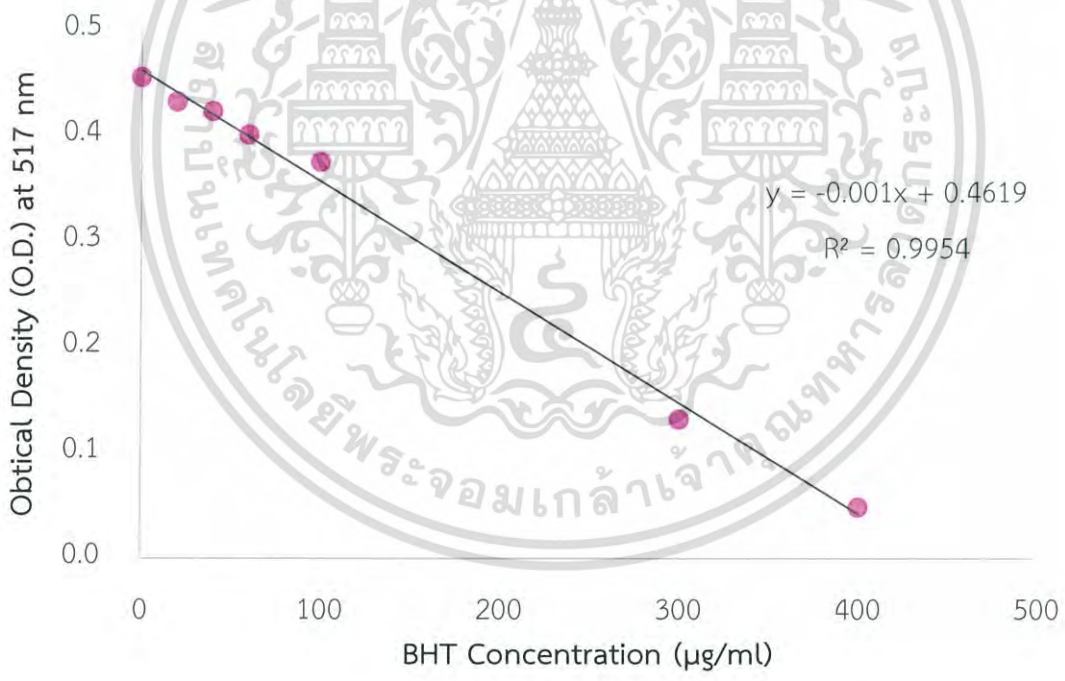
นำค่าความเข้มข้นของสารละลายและ % Inhibition concentration ที่ได้ไปเขียนกราฟเพื่อหาค่า $IC_{50}$ คือ ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่สามารถทำให้ความเข้มข้นของสารละลาย DPPH ลดลง 50 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.4** การเตรียมสารมาตรฐาน BHT จาก stock solution ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

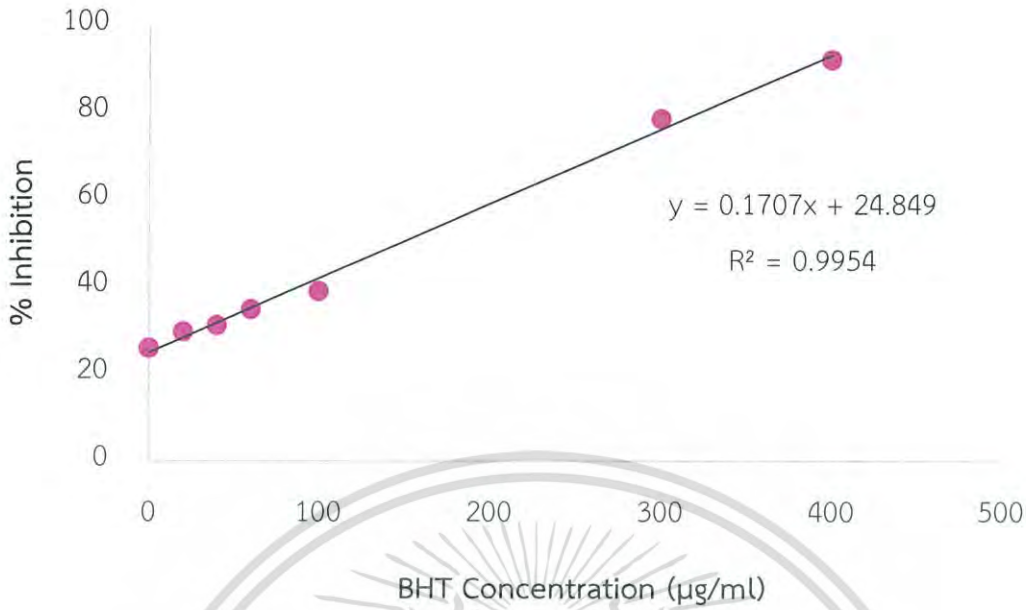
| ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | สารมาตรฐาน BHT ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร) | เอทานอลร้อยละ 95 (ไมโครลิตร) |
|---|---|---|
| 0 | 0 | 0 |
| 20 | 20 | 980 |
| 40 | 40 | 960 |
| 60 | 60 | 940 |
| 100 | 100 | 900 |
| 300 | 300 | 700 |
| 400 | 400 | 600 |

4.2 กราฟมาตรฐาน BHT




**รูปที่ ข.5** กราฟมาตรฐาน BHT

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




**รูปที่ ข.6** กราฟมาตรฐาน BHT (% Inhibition concentration)

4.3 การหาปริมาณความเข้มข้นของสารมาตรฐาน BHT ที่ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 ($IC_{50}$)

จากสมการเส้นตรงในรูปที่ ข6 คือ $y = 0.1707x + 24.849$

หาค่า $IC_{50}$ ; แทนค่า $50 = 0.1707x + 24.849$

$x = (50 - 24.849)/0.1707$

$x = 147.3404$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

หรือ $x = 0.1473$ มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

**5. กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์สำหรับการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing ability power (FRAP)**

5.1 ขั้นตอนการเตรียมกราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

1. เตรียมสารละลาย FRAP reagent โดยผสมสารละลาย Acetate buffer (pH 3.6) ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ สารละลาย Ferric chloride solution ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-1,3,5-triazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ให้เข้ากันในอัตราส่วน 10:1:1 (v/v) แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

2. เตรียมสารมาตรฐานโทรล็อกซ์ที่ความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25 และ 30 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

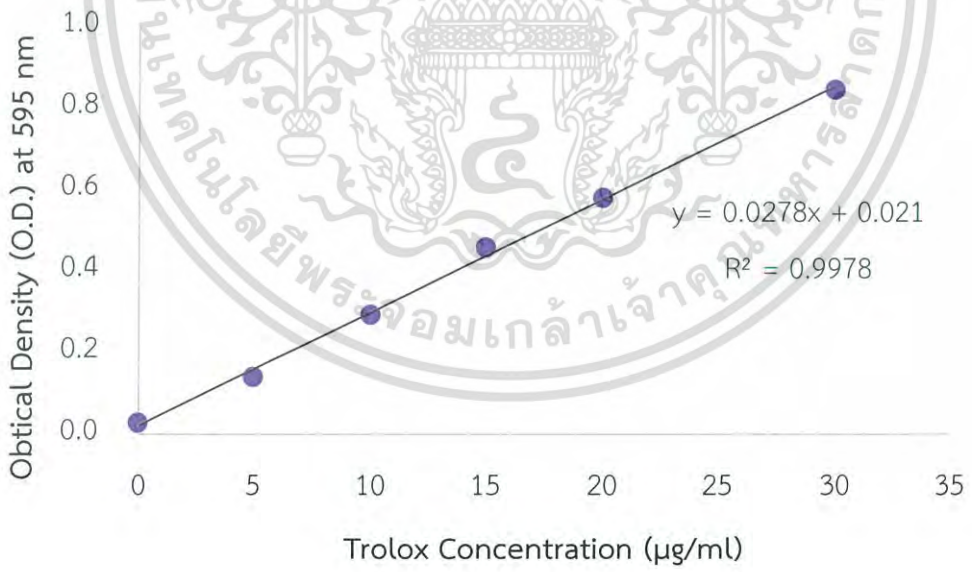
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ข.5** การเตรียมสารมาตรฐาน BHT จาก stock solution ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

| ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) | สารมาตรฐานโทรลอกซ์ ความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร (ไมโครลิตร) | เอทานอลร้อยละ 95 (ไมโครลิตร) |
|---|---|---|
| 0 | 0 | 1000 |
| 5 | 5 | 995 |
| 10 | 10 | 990 |
| 15 | 15 | 985 |
| 20 | 20 | 980 |
| 30 | 30 | 970 |

3. เติมสารละลาย FRAP reagent ลงไป 750 ไมโครลิตร บ่มให้เกิดปฏิกิริยาเป็น เวลา 5 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาว คลื่น 595 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลท สเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (Microplate spectrophotometer)

5.2 กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์




**รูปที่ ข.7** กราฟมาตรฐานโทรลอกซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค

## การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม IBM SPSS Statistics 25 แบบ One-way ANOVA โดยใช้วิธีของ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ในการเปรียบเทียบผลต่างค่าเฉลี่ยของตัวแปรตามที่เราสนใจศึกษา ในที่นี้คือปริมาณสารสกัดของรำข้าวหอมสุพรรณบุรีและดอกขามที่อยู่ในรูปน้ำหนักฐานปียกและฐานแห้ง อีกทั้งยังมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สาร ฟลาโวนอยด์ และผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และ วิธี Ferric reducing ability power (FRAP) ของรำข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ กับปัจจัยที่กำหนด ทั้ง 3 รูปแบบ คือ อัตราส่วนตัวทำละลาย (เฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 25 : 75, 50 : 50, 75 : 25, 100 : 0 และ 0 : 100 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) เวลา (5, 10, 20, 30 และ 60 นาที) และอุณหภูมิ (30, 50 และ 60 องศาเซลเซียส) ว่าปัจจัยเหล่านี้จะส่งผลให้ปริมาณสารสกัดและสารสำคัญที่เราสนใจศึกษามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 หรือไม่ ซึ่งมีหลักการวิเคราะห์โดยการเปรียบเทียบค่า Significant Studentized Ranges กับค่าผลต่างของค่าเฉลี่ยของ ทรีทเมนต์ ถ้าผลต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์มีค่ามากกว่า Significant Studentized Ranges แสดงว่าปฏิเสธ $H_0$ ยอมรับ $H_a$ สรุปได้ว่าค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์คู่นี้แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (Significant difference) แต่ถ้าผลต่างของค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์มีค่าน้อยกว่า Significant Studentized Ranges แสดงว่าไม่สามารถปฏิเสธ $H_0$ สรุปได้ว่าค่าเฉลี่ยของทรีทเมนต์คู่นี้ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (Non-Significant difference) (วราพร, 2556) โดยในที่นี้จะยกตัวอย่างรูปแบบการวิเคราะห์ของปริมาณสารสกัดในรูปความชื้นฐานเปียกของรำข้าวหอมสุพรรณบุรี ดังนี้

1. การวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดโดยใช้เวลาต่างๆ ซึ่งกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะที่สกัดโดยใช้อัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกันและอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ดังตารางที่ ค.1.1, ค.1.2 และ ค.1.3)
2. การวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยอุณหภูมิต่างๆซึ่งกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากันและอัตราส่วนตัวทำละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทานอลในอัตราส่วนร้อยละ 25 : 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) (ดังตารางที่ ค.2.1, ค.2.2 และ ค.2.3)
3. การวิเคราะห์เปรียบเทียบความแตกต่างของปริมาณสารสกัดที่สกัดด้วยอัตราส่วนตัวทำละลายในอัตราส่วนต่างๆ โดยกำหนดให้วิเคราะห์ ณ สภาวะเวลาที่ใช้ในการสกัดเท่ากันและอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ดังตารางที่ ค.3.1, ค.2.2 และ ค.3.3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ค.1.1** การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่เวลาต่างๆ ณ อัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

| Descriptives | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Hexane : Ethanol (%V/V) | Time (minutes) | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| 25 : 75 | 5 | 3 | 14.3684 | 0.0982 | 0.0567 | 14.1246 | 14.6123 | 14.2558 | 14.4357 |
| | 10 | 3 | 15.2217 | 0.0330 | 0.0190 | 15.1399 | 15.3036 | 15.1838 | 15.2434 |
| | 20 | 3 | 15.2320 | 0.3314 | 0.1913 | 14.4088 | 16.0551 | 14.8815 | 15.5403 |
| | 30 | 3 | 15.9652 | 0.2267 | 0.1309 | 15.4021 | 16.5284 | 15.7385 | 16.1919 |
| | 60 | 3 | 15.8281 | 0.1924 | 0.1111 | 15.3500 | 16.3061 | 15.6765 | 16.0446 |
| | Total | 15 | 15.3231 | 0.6100 | 0.1575 | 14.9853 | 15.6609 | 14.2558 | 16.1919 |
| 50 : 50 | 5 | 3 | 13.8117 | 0.0570 | 0.0329 | 13.6702 | 13.9533 | 13.7464 | 13.8512 |
| | 10 | 3 | 14.1433 | 0.1347 | 0.0778 | 13.8087 | 14.4779 | 14.0052 | 14.2743 |
| | 20 | 3 | 14.3987 | 0.1079 | 0.0623 | 14.1306 | 14.6668 | 14.2743 | 14.4679 |
| | 30 | 3 | 14.2221 | 0.0884 | 0.0510 | 14.0025 | 14.4417 | 14.1318 | 14.3086 |
| | 60 | 3 | 14.4960 | 0.1633 | 0.0943 | 14.0904 | 14.9017 | 14.3814 | 14.6830 |
| | Total | 15 | 14.2144 | 0.2641 | 0.0682 | 14.0681 | 14.3606 | 13.7464 | 14.6830 |
| 75 :25 | 5 | 3 | 12.8342 | 0.0435 | 0.0251 | 12.7261 | 12.9423 | 12.8032 | 12.8839 |
| | 10 | 3 | 13.2483 | 0.0173 | 0.0100 | 13.2054 | 13.2912 | 13.2318 | 13.2662 |
| | 20 | 3 | 13.9052 | 0.1712 | 0.0988 | 13.4800 | 14.3304 | 13.7445 | 14.0852 |
| | 30 | 3 | 13.8241 | 0.0355 | 0.0205 | 13.7360 | 13.9122 | 13.7831 | 13.8448 |
| | 60 | 3 | 13.7154 | 0.7175 | 0.4142 | 11.9331 | 15.4977 | 12.9035 | 14.2643 |
| | Total | 15 | 13.5054 | 0.5044 | 0.1302 | 13.2261 | 13.7847 | 12.8032 | 14.2643 |

**ตาราง ค.1.1** (ต่อ) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่เวลาต่างๆ ณ อัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

| Descriptives | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Hexane : Ethanol (%V/V) | Time (minutes) | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| 100 : 0 | 5 | 3 | 12.3063 | 0.3336 | 0.1926 | 11.4777 | 13.1349 | 11.9928 | 12.6568 |
| | 10 | 3 | 12.8242 | 0.2076 | 0.1199 | 12.3085 | 13.3399 | 12.6282 | 13.0417 |
| | 20 | 3 | 13.5462 | 0.0980 | 0.0566 | 13.3026 | 13.7897 | 13.4330 | 13.6028 |
| | 30 | 3 | 13.4668 | 0.5011 | 0.2893 | 12.2220 | 14.7115 | 12.9296 | 13.9215 |
| | 60 | 3 | 13.9146 | 0.2574 | 0.1486 | 13.2750 | 14.5541 | 13.6187 | 14.0873 |
| | Total | 15 | 13.2116 | 0.6484 | 0.1674 | 12.8526 | 13.5707 | 11.9928 | 14.0873 |
| 0 : 100 | 5 | 3 | 11.5849 | 0.1398 | 0.0807 | 11.2376 | 11.9323 | 11.4286 | 11.6979 |
| | 10 | 3 | 11.7453 | 0.0612 | 0.0353 | 11.5934 | 11.8972 | 11.6936 | 11.8128 |
| | 20 | 3 | 13.5462 | 0.0980 | 0.0566 | 13.3026 | 13.7897 | 13.4330 | 13.6028 |
| | 30 | 3 | 13.8912 | 0.3448 | 0.1991 | 13.0346 | 14.7478 | 13.5176 | 14.1972 |
| | 60 | 3 | 13.8939 | 1.3279 | 0.7667 | 10.5952 | 17.1925 | 13.0752 | 15.4260 |
| | Total | 15 | 12.9323 | 1.2002 | 0.3099 | 12.2677 | 13.5969 | 11.4286 | 15.4260 |

**ตาราง ค.1.2** ANOVA ของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่เวลาต่างๆ ณ อัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

| ANOVA | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Hexane : Ethanol (%V/V) | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| 25 : 75 | Between Groups | 4.792 | 4 | 1.198 | 28.668 | 0.000 |
| | Within Groups | 0.418 | 10 | 0.042 | | |
| | Total | 5.210 | 14 | | | |
| 50 : 50 | Between Groups | 0.842 | 4 | 0.210 | 15.580 | 0.000 |
| | Within Groups | 0.135 | 10 | 0.014 | | |
| | Total | 0.977 | 14 | | | |
| 75 : 25 | Between Groups | 2.466 | 4 | 0.617 | 5.631 | 0.012 |
| | Within Groups | 1.095 | 10 | 0.110 | | |
| | Total | 3.561 | 14 | | | |
| 100 : 0 | Between Groups | 4.922 | 4 | 1.231 | 12.783 | 0.001 |
| | Within Groups | 0.963 | 10 | 0.096 | | |
| | Total | 5.885 | 14 | | | |
| 0 : 100 | Between Groups | 16.336 | 4 | 4.084 | 10.663 | 0.001 |
| | Within Groups | 3.830 | 10 | 0.383 | | |
| | Total | 20.166 | 14 | | | |

**ตาราง ค.1.3** ผลการทดสอบทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่เวลาต่างๆ ณ อัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

| Hexane : Ethanol = 25 : 75 (%V/V) | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | | |
| Time (Minutes) | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| 5 = c | 3 | 14.368407 | | |
| 10 = b | 3 | | 15.221745 | |
| 20 =b | 3 | | 15.231950 | |
| 60 = a | 3 | | | 15.828093 |
| 30 = a | 3 | | | 15.965241 |
| Sig. | | 1.000 | 0.952 | 0.430 |

| Hexane : Ethanol = 50 : 50 (%V/V) | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | | | |
| Time (Minutes) | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5 = d | 3 | 13.811717 | | | |
| 10 = c | 3 | | 14.143297 | | |
| 30 = bc | 3 | | 14.222099 | 14.222099 | |
| 20 = ab | 3 | | | 14.398704 | 14.398704 |
| 60 =a | 3 | | | | 14.496044 |
| Sig. | | 1.000 | 0.426 | 0.092 | 0.329 |

| Hexane : Ethanol = 75 : 25 (%V/V) | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | | |
| Time (Minutes) | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| 5 = c | 3 | 12.834168 | | |
| 10 = bc | 3 | 13.248295 | 13.248295 | |
| 60 = ab | 3 | | 13.715389 | 13.715389 |
| 30 = ab | 3 | | 13.824064 | 13.824064 |
| 20 = a | 3 | | | 13.905185 |
| Sig. | | 0.156 | 0.069 | 0.518 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตาราง ค.1.3** (ต่อ) ผลการทดสอบทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่เวลาต่างๆ ณ อัตราส่วนตัวทำละลายเดียวกัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

| Hexane : Ethanol = 100 : 0 (%V/V) | | | |
|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | |
| Time (Minutes) | N | Subset for alpha = 0.05 | |
| | | 1 | 2 |
| 5 = b | 3 | 12.306324 | |
| 10 = b | 3 | 12.824199 | |
| 30 = a | 3 | | 13.466755 |
| 20 = a | 3 | | 13.546191 |
| 60 = a | 3 | | 13.914571 |
| Sig. | | 0.068 | 0.122 |

| Hexane : Ethanol = 0 : 100 (%V/V) | | | |
|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | |
| Time (Minutes) | N | Subset for alpha = 0.05 | |
| | | 1 | 2 |
| 5 = b | 3 | 11.584944 | |
| 10 = b | 3 | 11.745301 | |
| 20 = a | 3 | | 13.546191 |
| 30 = a | 3 | | 13.891184 |
| 60 = a | 3 | | 13.893857 |
| Sig. | | 0.758 | 0.526 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ค.2.1** การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล เท่ากับร้อยละ 25 ต่อ 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร)

| Descriptives | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Time (Minutes) | Temperature (°C) | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| 5 | 30 | 3 | 14.3684 | 0.0982 | 0.0567 | 14.1246 | 14.6123 | 14.2558 | 14.4357 |
| | 50 | 3 | 15.5031 | 0.8888 | 0.5132 | 13.2952 | 17.7111 | 14.5027 | 16.2019 |
| | 70 | 3 | 15.6342 | 0.4293 | 0.2478 | 14.5678 | 16.7006 | 15.1838 | 16.0387 |
| | Total | 9 | 15.1686 | 0.7806 | 0.2602 | 14.5686 | 15.7686 | 14.2558 | 16.2019 |
| 10 | 30 | 3 | 15.2217 | 0.0330 | 0.0190 | 15.1399 | 15.3036 | 15.1838 | 15.2434 |
| | 50 | 3 | 15.7255 | 0.3080 | 0.1778 | 14.9604 | 16.4907 | 15.4261 | 16.0415 |
| | 70 | 3 | 15.8176 | 0.6625 | 0.3825 | 14.1719 | 17.4634 | 15.3685 | 16.5785 |
| | Total | 9 | 15.5883 | 0.4592 | 0.1531 | 15.2353 | 15.9413 | 15.1838 | 16.5785 |
| 20 | 30 | 3 | 15.2320 | 0.3314 | 0.1913 | 14.4088 | 16.0551 | 14.8815 | 15.5403 |
| | 50 | 3 | 15.8836 | 0.4915 | 0.2838 | 14.6627 | 17.1045 | 15.4299 | 16.4057 |
| | 70 | 3 | 15.8511 | 0.5964 | 0.3443 | 14.3697 | 17.3326 | 15.4713 | 16.5385 |
| | Total | 9 | 15.6556 | 0.5272 | 0.1757 | 15.2504 | 16.0608 | 14.8815 | 16.5385 |

**ตารางที่ ค.2.1** (ต่อ) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล เท่ากับร้อยละ 25 ต่อ 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร)

| Descriptives | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Time (Minutes) | Temperature (°C) | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| 30 | 30 | 3 | 15.9652 | 0.2267 | 0.1309 | 15.4021 | 16.5284 | 15.7385 | 16.1919 |
| | 50 | 3 | 15.7690 | 0.1891 | 0.1092 | 15.2993 | 16.2386 | 15.5633 | 15.9352 |
| | 70 | 3 | 16.0001 | 0.8767 | 0.5062 | 13.8223 | 18.1779 | 15.0190 | 16.7066 |
| | Total | 9 | 15.9114 | 0.4749 | 0.1583 | 15.5464 | 16.2765 | 15.0190 | 16.7066 |
| 60 | 30 | 3 | 15.8281 | 0.1924 | 0.1111 | 15.3500 | 16.3061 | 15.6765 | 16.0446 |
| | 50 | 3 | 15.9955 | 0.5702 | 0.3292 | 14.5789 | 17.4120 | 15.5403 | 16.6351 |
| | 70 | 3 | 15.7197 | 0.3041 | 0.1756 | 14.9642 | 16.4752 | 15.4830 | 16.0627 |
| | Total | 9 | 15.8478 | 0.3580 | 0.1193 | 15.5726 | 16.1229 | 15.4830 | 16.6351 |

เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

**ตารางที่ ค.2.2** ANOVA ของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล เท่ากับร้อยละ 25 ต่อ 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร)

| ANOVA | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Time (Minutes) | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| 5 | Between Groups | 2.907 | 2 | 1.454 | 4.432 | 0.066 |
| | Within Groups | 1.968 | 6 | 0.328 | | |
| | Total | 4.875 | 8 | | | |
| 10 | Between Groups | 0.617 | 2 | 0.309 | 1.731 | 0.255 |
| | Within Groups | 1.070 | 6 | 0.178 | | |
| | Total | 1.687 | 8 | | | |
| 20 | Between Groups | 0.809 | 2 | 0.405 | 1.717 | 0.257 |
| | Within Groups | 1.414 | 6 | 0.236 | | |
| | Total | 2.223 | 8 | | | |
| 30 | Between Groups | 0.093 | 2 | 0.047 | 0.163 | 0.853 |
| | Within Groups | 1.711 | 6 | 0.285 | | |
| | Total | 1.805 | 8 | | | |
| 60 | Between Groups | 0.116 | 2 | 0.058 | 0.382 | 0.698 |
| | Within Groups | 0.909 | 6 | 0.152 | | |
| | Total | 1.025 | 8 | | | |

**ตารางที่ ค.2.3** ผลการทดสอบทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล เท่ากับร้อยละ 25 ต่อ 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร)

| Time = 5 minute | | | |
|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | |
| Temperature (°C) | N | Subset for alpha = 0.05 | |
| | | 1 | 2 |
| 30 = f | 3 | 14.368407 | |
| 50 = e | 3 | 15.503120 | 15.503120 |
| 70 = e | 3 | | 15.634235 |
| Sig. | | 0.051 | 0.789 |

| Time = 10 minute | | |
|---|---|---|
| Duncan[a] | | |
| Temperature (°C) | N | Subset for alpha = 0.05 |
| | | 1 |
| 30 = e | 3 | 15.221745 |
| 50 = e | 3 | 15.725540 |
| 70 = e | 3 | 15.817624 |
| Sig. | | 0.146 |

| Time = 20 minute | | |
|---|---|---|
| Duncan[a] | | |
| Temperature (°C) | N | Subset for alpha = 0.05 |
| | | 1 |
| 30 = e | 3 | 15.231950 |
| 70 = e | 3 | 15.851133 |
| 50 = e | 3 | 15.883614 |
| Sig. | | 0.163 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ค.2.3** (ต่อ) ผลการทดสอบทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อุณหภูมิต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อัตราส่วนตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล เท่ากับร้อยละ 25 ต่อ 75 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร)

| Time = 30 minute | | |
|---|---|---|
| Duncan[a] | | |
| Temperature (°C) | N | Subset for alpha = 0.05 |
| | | 1 |
| 50 = e | 3 | 15.768959 |
| 30 = e | 3 | 15.965241 |
| 70 = e | 3 | 16.000083 |
| Sig. | | 0.626 |

| Time = 60 minute | | |
|---|---|---|
| Duncan[a] | | |
| Temperature (°C) | N | Subset for alpha = 0.05 |
| | | 1 |
| 70 = e | 3 | 15.719706 |
| 30 = e | 3 | 15.828093 |
| 50 = e | 3 | 15.995455 |
| Sig. | | 0.433 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ค.3.1** การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

| Descriptives | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Time (Minutes) | Hexane : Ethanol (%V/V) | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| 5 | 25:75 | 3 | 14.3684 | 0.0982 | 0.0567 | 14.1246 | 14.6123 | 14.2558 | 14.4357 |
| | 50:50 | 3 | 13.8117 | 0.0570 | 0.0329 | 13.6702 | 13.9533 | 13.7464 | 13.8512 |
| | 75:25 | 3 | 12.8342 | 0.0435 | 0.0251 | 12.7261 | 12.9423 | 12.8032 | 12.8839 |
| | 100:0 | 3 | 12.3063 | 0.3336 | 0.1926 | 11.4777 | 13.1349 | 11.9928 | 12.6568 |
| | 0:100 | 3 | 11.5849 | 0.1398 | 0.0807 | 11.2376 | 11.9323 | 11.4286 | 11.6979 |
| | Total | 15 | 12.9811 | 1.0493 | 0.2709 | 12.4001 | 13.5622 | 11.4286 | 14.4357 |
| 10 | 25:75 | 3 | 15.2217 | 0.0330 | 0.0190 | 15.1399 | 15.3036 | 15.1838 | 15.2434 |
| | 50:50 | 3 | 14.1433 | 0.1347 | 0.0778 | 13.8087 | 14.4779 | 14.0052 | 14.2743 |
| | 75:25 | 3 | 13.2483 | 0.0173 | 0.0100 | 13.2054 | 13.2912 | 13.2318 | 13.2662 |
| | 100:0 | 3 | 12.8242 | 0.2076 | 0.1199 | 12.3085 | 13.3399 | 12.6282 | 13.0417 |
| | 0:100 | 3 | 11.7453 | 0.0612 | 0.0353 | 11.5934 | 11.8972 | 11.6936 | 11.8128 |
| | Total | 15 | 13.4366 | 1.2249 | 0.3163 | 12.7583 | 14.1149 | 11.6936 | 15.2434 |
| 20 | 25:75 | 3 | 15.2320 | 0.3314 | 0.1913 | 14.4088 | 16.0551 | 14.8815 | 15.5403 |
| | 50:50 | 3 | 14.3987 | 0.1079 | 0.0623 | 14.1306 | 14.6668 | 14.2743 | 14.4679 |
| | 75:25 | 3 | 13.9052 | 0.1712 | 0.0988 | 13.4800 | 14.3304 | 13.7445 | 14.0852 |
| | 100:0 | 3 | 13.5462 | 0.0980 | 0.0566 | 13.3026 | 13.7897 | 13.4330 | 13.6028 |
| | 0:100 | 3 | 13.5462 | 0.0980 | 0.0566 | 13.3026 | 13.7897 | 13.4330 | 13.6028 |
| | Total | 15 | 14.1256 | 0.6759 | 0.1745 | 13.7513 | 14.4999 | 13.4330 | 15.5403 |

**ตารางที่ ค.3.1** (ต่อ) การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

| Descriptives | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Time (Minutes) | Hexane : Ethanol (%V/V) | N | Mean | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean | | Minimum | Maximum |
| | | | | | | Lower Bound | Upper Bound | | |
| 30 | 25:75 | 3 | 15.9652 | 0.2267 | 0.1309 | 15.4021 | 16.5284 | 15.7385 | 16.1919 |
| | 50:50 | 3 | 14.2221 | 0.0884 | 0.0510 | 14.0025 | 14.4417 | 14.1318 | 14.3086 |
| | 75:25 | 3 | 13.8241 | 0.0355 | 0.0205 | 13.7360 | 13.9122 | 13.7831 | 13.8448 |
| | 100:0 | 3 | 13.4668 | 0.5011 | 0.2893 | 12.2220 | 14.7115 | 12.9296 | 13.9215 |
| | 0:100 | 3 | 13.8912 | 0.3448 | 0.1991 | 13.0346 | 14.7478 | 13.5176 | 14.1972 |
| | Total | 15 | 14.2739 | 0.9431 | 0.2435 | 13.7516 | 14.7961 | 12.9296 | 16.1919 |
| 60 | 25:75 | 3 | 15.8281 | 0.1924 | 0.1111 | 15.3500 | 16.3061 | 15.6765 | 16.0446 |
| | 50:50 | 3 | 14.4960 | 0.1633 | 0.0943 | 14.0904 | 14.9017 | 14.3814 | 14.6830 |
| | 75:25 | 3 | 13.7154 | 0.7175 | 0.4142 | 11.9331 | 15.4977 | 12.9035 | 14.2643 |
| | 100:0 | 3 | 13.9146 | 0.2574 | 0.1486 | 13.2750 | 14.5541 | 13.6187 | 14.0873 |
| | 0:100 | 3 | 13.8939 | 1.3279 | 0.7667 | 10.5952 | 17.1925 | 13.0752 | 15.4260 |
| | Total | 15 | 14.3696 | 0.9939 | 0.2566 | 13.8192 | 14.9200 | 12.9035 | 16.0446 |

**ตารางที่ ค.3.2** ANOVA ของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

| ANOVA | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Time (Minutes) | | Sum of Squares | df | Mean Square | F | Sig. |
| 5 | Between Groups | 15.122 | 4 | 3.781 | 129.837 | 0.000 |
| | Within Groups | 0.291 | 10 | 0.029 | | |
| | Total | 15.413 | 14 | | | |
| 10 | Between Groups | 20.871 | 4 | 5.218 | 393.085 | 0.000 |
| | Within Groups | 0.133 | 10 | 0.013 | | |
| | Total | 21.004 | 14 | | | |
| 20 | Between Groups | 6.056 | 4 | 1.514 | 44.532 | 0.000 |
| | Within Groups | 0.340 | 10 | 0.034 | | |
| | Total | 6.396 | 14 | | | |
| 30 | Between Groups | 11.591 | 4 | 2.898 | 33.659 | 0.000 |
| | Within Groups | 0.861 | 10 | 0.086 | | |
| | Total | 12.452 | 14 | | | |
| 60 | Between Groups | 9.014 | 4 | 2.253 | 4.679 | 0.022 |
| | Within Groups | 4.816 | 10 | 0.482 | | |
| | Total | 13.830 | 14 | | | |

**ตารางที่ ค.3.3** ผลการทดสอบทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

| Time = 5 minute | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | | | | |
| Solvent | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0:100 = l | 3 | 11.584944 | | | | |
| 100:0 = k | 3 | | 12.306324 | | | |
| 75:25 = j | 3 | | | 12.834168 | | |
| 50:50 = i | 3 | | | | 13.811717 | |
| 25:75 = h | 3 | | | | | 14.368407 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

| Time = 10 minute | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | | | | |
| Solvent | N | Subset for alpha = 0.05 | | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 |
| 0:100 = l | 3 | 11.745301 | | | | |
| 100:0 = k | 3 | | 12.824199 | | | |
| 75:25 = j | 3 | | | 13.248295 | | |
| 50:50 = i | 3 | | | | 14.143297 | |
| 25:75 = h | 3 | | | | | 15.221745 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

| Time = 20 minute | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | | | |
| Solvent | N | Subset for alpha = 0.05 | | | |
| | | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 100:0 = k | 3 | 13.546191 | | | |
| 0:100 = k | 3 | 13.546191 | | | |
| 75:25 = j | 3 | | 13.905185 | | |
| 50:50 = i | 3 | | | 14.398704 | |
| 25:75 = h | 3 | | | | 15.231950 |
| Sig. | | 1.000 | 1.000 | 1.000 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ ค.3.3** (ต่อ) ผลการทดสอบทางสถิติของสารสกัดรำข้าวหอมสุพรรณบุรีในรูปน้ำหนักฐานเปียก โดยวิเคราะห์เปรียบเทียบปริมาณสารสกัดที่อัตราส่วนตัวทำละลายต่างๆ ณ เวลาในการสกัดเท่ากัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

| Time = 30 minute | | | | |
|---|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | | |
| Solvent | N | Subset for alpha = 0.05 | | |
| | | 1 | 2 | 3 |
| 100:0 = j | 3 | 13.466755 | | |
| 75:25 = ij | 3 | 13.824064 | 13.824064 | |
| 0:100 = ij | 3 | 13.891184 | 13.891184 | |
| 50:50 = i | 3 | | 14.222099 | |
| 25:75 = h | 3 | | | 15.965241 |
| Sig. | | 0.121 | 0.144 | 1.000 |

| Time = 60 minute | | | |
|---|---|---|---|
| Duncan[a] | | | |
| Solvent | N | Subset for alpha = 0.05 | |
| | | 1 | 2 |
| 75:25 = i | 3 | 13.715389 | |
| 0:100 = i | 3 | 13.893857 | |
| 100:0 = i | 3 | 13.914571 | |
| 50:50 = i | 3 | 14.496044 | |
| 25:75 = h | 3 | | 15.828093 |
| Sig. | | 0.228 | 1.000 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้