

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสเพื่อเพิ่มปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

HYDROLYSIS OF RICE BRAN BY  $\alpha$ -AMYLASE FOR INCREASE YIELD  
OF TOTAL PHENOLICS



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร  
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)  
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญูญาดเหนาไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงหรือทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาตจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปีการศึกษา 2560

HYDROLYSIS OF RICE BRAN BY  $\alpha$ -AMYLASE FOR INCREASE YIELD  
OF TOTAL PHENOLICS



A SPECIAL PROJECT EDUCATION SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF  
THE REQUIREMENT FOR  
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY  
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ACADEMIC YEAR 2017  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสเพื่อเพิ่มปริมาณ  
ฟีนอลิกทั้งหมด

Hydrolysis of rice bran by  $\alpha$ -amylase for increase yield  
of total phenolics

ชื่อนักศึกษา

นางสาวแพรวพลอย กอชัยศิริกุล รหัสนักศึกษา 57050743

นางสาวมนทกานต์ ประจวบกลาง รหัสนักศึกษา 57050748

ปริญญา

วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ภาควิชา

ชีววิทยา




ปีการศึกษา

2560

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้  
โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต  
(เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2560

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

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์  
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

|                           |  |
|---------------------------|--|
| <b>หัวข้อโครงการพิเศษ</b> | การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสเพื่อเพิ่มปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด<br>Hydrolysis of rice bran by $\alpha$ -amylase for increase yield of total phenolics |
| <b>ชื่อนักศึกษา</b>       | นางสาวแพรวพลอย กอชัยศิริกุล รหัสนักศึกษา 57050743<br>นางสาวมนทกานต์ ประจวบกลาง รหัสนักศึกษา 57050748   |
| <b>ปริญญา</b>             | วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)  |
| <b>ภาควิชา</b>            | ชีววิทยา   |
| <b>คณะ</b>                | วิทยาศาสตร์  |
| <b>มหาวิทยาลัย</b>        | สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)  |
| <b>ปีการศึกษา</b>         | 2560   |
| <b>อาจารย์ที่ปรึกษา</b>   | ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม  |

### บทคัดย่อ

รำข้าวเป็นเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการสีข้าว รำข้าวมีองค์ประกอบสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เนื่องจากรำข้าวมีองค์ประกอบที่เป็นแป้งอยู่เป็นปริมาณมาก ดังนั้นในการศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่มีผลต่อปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดฟีนอลิกแบบบออิสระ และแบบละลายน้ำได้ที่สกัดจากรำข้าว โดยใช้รำข้าวหอมมะลิจากจังหวัดสุพรรณบุรี จากการศึกษาพบว่าสารสกัด Free phenolics มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด เท่ากับ  $245.9519 \pm 0.8413$  ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารสกัด  $539.2632 \pm 82.5108$  ไมโครกรัมเคอวซิทินต่อมิลลิลิตรสารสกัด  $55.4757 \pm 3.6263$  ไมโครกรัมโทรลือกต่อมิลลิลิตรสารสกัด และ  $0.5294 \pm 0.0308$  มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อมิลลิลิตรสารสกัด ตามลำดับ สารสกัด Soluble conjugate phenolics มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด เท่ากับ  $21.2111 \pm 0.6667$  ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารสกัด  $149.7895 \pm 11.0275$  ไมโครกรัมเคอวซิทินต่อมิลลิลิตรสารสกัด  $4.0518 \pm 0.8142$  ไมโครกรัมโทรลือกต่อมิลลิลิตรสารสกัด และ  $0.0929 \pm 0.0069$  มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อมิลลิลิตรสารสกัด ตามลำดับ และช่วงระยะเวลาในการสกัด 10-15 นาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เหมาะสมในการสกัด Free phenolic และ Soluble conjugate phenolic

**คำสำคัญ :** ฟีนอลิก, ฟลาโวนอยด์, รำข้าว, สารต้านอนุมูลอิสระ, เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

|               |  |
|---------------|--|
| Title         | Hydrolysis of rice bran by $\alpha$ -amylase for increase yield of total phenolics                 |
| Students      | Miss Paeploy Kochaisirikul Student ID 57050743<br>Miss Monthakan Prachuabklang Student ID 57050748 |
| 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.Duangkamol Ruen-ngam  |

### Abstract

Rice bran is a by-product from milling process. It has important compose of bioactive compounds due to it's high amount of carbohydrate. Therefore, the purpose of this study is to hydrolysis rice bran has an effect on phenolic compounds, flavonoids and antioxidant in free phenolics and soluble conjugate phenolics by  $\alpha$ -amylase Material is Hom-Suphanburi rice bran from Suphanburi Province. According to study, effect on the free phenolics has significantly increased the total phenolics, total flavonoids and total FRAP values were  $245.9519 \pm 0.8413 \mu\text{g GAE/ml Extract}$ ,  $539.2632 \pm 82.5108 \mu\text{g QE/ml Extract}$ ,  $55.4757 \pm 3.6263 \mu\text{g TE/ml Extract}$  and  $0.5294 \pm 0.0308 \text{ mM FES/ml Extract}$ , respectively. Effect on the soluble conjugate phenolics has significantly increased the total phenolics, total flavonoids and total FRAP values were  $21.2111 \pm 0.6667 \mu\text{g GAE/ml Extract}$ ,  $149.7895 \pm 11.0275 \mu\text{g QE/ml Extract}$ ,  $4.0518 \pm 0.8142 \mu\text{g TE/ml Extract}$  and  $0.0929 \pm 0.0069 \text{ mM FES/ml Extract}$ , respectively. The optimum extraction time and temperature in range were 10-15 minutes. and  $40^{\circ}\text{C}$  of Free phenolic and Soluble phenolic conjugate

**Keywords :** alpha amylase, antioxidant activity, flavonoids, phenolic compounds, rice bran

## กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษเล่มนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี เนื่องจากผู้จัดทำได้รับความช่วยเหลือจากบุคคลผู้มีพระคุณหลายท่านดังนี้

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ประจำภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษที่ได้ให้คำแนะนำ ให้ความรู้ ให้คำปรึกษาอย่างใกล้ชิด และเสนอแนะแนวทางแก้ปัญหา รวมทั้งตรวจแก้ไขโครงการพิเศษฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.จิตติ ท่าวา ประธานกรรมการสอบหัวข้อและโครงร่างพิเศษ และ ผศ.ดร.สมพิศ สอนโยธา กรรมการสอบหัวข้อและโครงร่างพิเศษ ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำตลอดจนข้อชี้แนะและแนวทางแก้ไขจนการทำเล่มโครงร่างพิเศษสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการที่อำนวยความสะดวกในด้านอุปกรณ์ และเครื่องมือทางวิทยาศาสตร์ ให้คำปรึกษา แนะนำการใช้เครื่องมือ และคอยให้ความช่วยเหลือตลอดระยะเวลาการทำโครงการพิเศษ

สุดท้ายนี้ ผู้จัดทำ ขอขอบพระคุณบิดา มารดา และบุคคลในครอบครัวที่สนับสนุนและให้กำลังใจในการทำโครงการพิเศษครั้งนี้ จนสามารถสำเร็จได้ตามที่คาดหวัง

แพรพลอย กอชัยศิริกุล  
มนทกานต์ ประจวบกลาง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ

|   | หน้า      |
|---|-----------|
| บทคัดย่อภาษาไทย.....                              | ก         |
| บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....                           | ข         |
| กิตติกรรมประกาศ.....                              | ค         |
| สารบัญ.....                                       | ง         |
| สารบัญตาราง.....                                  | ฉ         |
| สารบัญรูป.....                                    | ช         |
| <b>บทที่ 1 บทนำ.....</b>                          | <b>1</b>  |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ.....                   | 1         |
| 1.2 วัตถุประสงค์.....                             | 1         |
| 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....                        | 2         |
| 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....                | 2         |
| <b>บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....</b> | <b>3</b>  |
| 2.1 รำข้าว.....                                   | 3         |
| 2.1.1 องค์ประกอบของรำข้าว.....                    | 3         |
| 2.1.2 ประโยชน์ของรำข้าว.....                      | 4         |
| 2.2 เอนไซม์.....                                  | 4         |
| 2.2.1 นิยามของเอนไซม์.....                        | 4         |
| 2.2.2 ชนิดของเอนไซม์.....                         | 5         |
| 2.2.3 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง.....             | 7         |
| 2.2.4 ชนิดของเอนไซม์อะไมเลส.....                  | 8         |
| 2.3 ฟีนอลิก.....                                  | 10        |
| 2.4 ฟลาโวนอยด์.....                               | 12        |
| 2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ.....                       | 13        |
| 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....                    | 15        |
| <b>บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.....</b>         | <b>19</b> |
| 3.1 วัสดุและอุปกรณ์.....                          | 19        |
| 3.1.1 วัสดุ.....                                  | 19        |
| 3.1.2 อุปกรณ์.....                                | 19        |
| 3.1.3 สารเคมี.....                                | 19        |
| 3.2 แผนผังการทดลอง.....                           | 21        |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ไม่สามารถนำออกจำหน่ายโดยไม่ได้รับอนุญาตให้ทำซ้ำโดยไม่ได้รับอนุญาต  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ 3.2 แผนผังการทดลอง.....

|                |  |           |
|----------------|--|-----------|
| 3.3            | วิธีการดำเนินงานวิจัย .....  | 22        |
| 3.3.1          | การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์ .....   | 22        |
| 3.3.2          | สกัดสาร Free phenolics .....   | 22        |
| 3.3.3          | สกัดสาร Soluble conjugate phenolics.....   | 22        |
| 3.3.4          | วิเคราะห์ปริมาณ Phenolics ทั้งหมด .....  | 22        |
| 3.3.5          | วิเคราะห์ปริมาณ Flavonoids ทั้งหมด.....  | 23        |
| 3.3.6          | วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ .....  | 23        |
| 3.3.7          | การวิเคราะห์ทางสถิติ .....   | 23        |
| <b>บทที่ 4</b> | <b>ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.....</b>  | <b>24</b> |
| 4.1            | การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด.....  | 24        |
| 4.1.1          | ผลของเวลาและอุณหภูมิในการสกัด Free phenolics .....   | 24        |
| 4.1.2          | ผลของเวลาและอุณหภูมิในการสกัด Soluble conjugate phenolics .....  | 25        |
| 4.2            | การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด.....   | 29        |
| 4.2.1          | ผลของเวลาและอุณหภูมิในการสกัด Free phenolics .....   | 29        |
| 4.2.2          | ผลของเวลาและอุณหภูมิในการสกัด Soluble conjugate phenolics .....  | 32        |
| 4.3            | การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ .....   | 35        |
| 4.3.1          | ผลของเวลาและอุณหภูมิในการสกัด Free phenolics<br>(ค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับสารมาตรฐานโพลีฟีนอล).....                   | 35        |
| 4.3.2          | ผลของเวลาและอุณหภูมิในการสกัด Soluble conjugate phenolics<br>(ค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับสารมาตรฐานโพลีฟีนอล).....      | 38        |
| 4.3.3          | ผลของเวลาและอุณหภูมิในการสกัด Free phenolics<br>(ค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต).....              | 41        |
| 4.3.4          | ผลของเวลาและอุณหภูมิในการสกัด Soluble conjugate phenolics<br>(ค่าการดูดกลืนแสงเทียบกับสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต)..... | 44        |
| 4.4            | อภิปรายผล .....  | 47        |
| <b>บทที่ 5</b> | <b>สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ .....</b>   | <b>48</b> |
| 5.1            | สรุปผลการวิจัย .....   | 48        |
| 5.2            | ข้อเสนอแนะ.....  | 49        |
|                | เอกสารอ้างอิง.....   | 50        |
|                | ภาคผนวก.....   | 55        |
|                | ภาคผนวก ก.....   | 56        |
|                | ภาคผนวก ข.....   | 68        |
|                | ภาคผนวก ค.....   | 66        |

## สารบัญตาราง

| ตารางที่   | หน้า |
|--|------|
| 2.1 แหล่งธาตุพืชที่พบและประโยชน์ของสารต้านอนุมูลอิสระ.....   | 14   |
| 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....   | 15   |
| 4.1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด Free phenolic ที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส.....   | 25   |
| 4.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด Soluble conjugate phenolics ที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส.....   | 28   |
| 4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัด Free phenolics ที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส.....   | 31   |
| 4.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัด Soluble conjugate phenolics ที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส.....  | 34   |
| 4.5 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Free phenolics ที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานโทรล็อก).....                   | 37   |
| 4.6 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Soluble conjugate phenolics ที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานโทรล็อก).....      | 40   |
| 4.7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Free phenolics ที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเพอร์ร็อกซิเดต).....            | 43   |
| 4.8 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Soluble conjugate phenolics ที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเพอร์ร็อกซิเดต)... | 46   |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญรูป

| รูปที่  | หน้า |
|---|------|
| 2.1 ส่วนประกอบของรำข้าว .....   | 3    |
| 2.2 สมมติฐานแม่กุญแจลูกกุญแจ (The lock and key) .....   | 5    |
| 2.3 โครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน .....  | 7    |
| 2.4 โครงสร้างของเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase).....   | 8    |
| 2.5 โครงสร้างของเอนไซม์เบต้าอะไมเลส ( $\beta$ - Amylase).....   | 9    |
| 2.6 โครงสร้างของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase).....   | 9    |
| 2.7 โครงสร้างของเอนไซม์เอนไซม์พูลูลานเนส (Pullulanase).....   | 10   |
| 2.8 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก .....   | 11   |
| 2.9 โครงสร้าง Butylated hydroxylanisole .....   | 11   |
| 2.10 โครงสร้าง Butylated hydroxytoluene .....   | 12   |
| 2.11 ตัวอย่างของกลุ่มฟลาโวนอยด์ .....   | 13   |
| 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด Free phenolics กับเวลาและ<br>อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด .....  | 25   |
| 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด Soluble conjugate phenolics กับ<br>เวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด.....  | 29   |
| 4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัด Free phenolics กับเวลา<br>และอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด.....  | 32   |
| 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัด Soluble conjugate phenolics<br>กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด .....   | 35   |
| 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Free phenolics กับเวลาและอุณหภูมิที่<br>ใช้ในการสกัด (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานโทรลีส็อก).....                          | 38   |
| 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Soluble conjugate phenolics<br>กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานโทรลีส็อก)<br>.....      | 41   |
| 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Free phenolics กับเวลาและ<br>อุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต).....                 | 44   |
| 4.8 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Soluble conjugate phenolics<br>กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเฟอร์<br>รัสซัลเฟต)..... | 47   |

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

รำข้าว เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการสีข้าวจะได้ประมาณร้อยละ 8-10 ของน้ำหนักข้าวเปลือกขึ้นอยู่กับวิธีการขัดสีมากหรือน้อย ซึ่งรำข้าวประกอบด้วยชั้นเยื่อหุ้มเมล็ด และคัพภะ เป็นส่วนใหญ่ โดยทั่วไปจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ รำหยาบ (bran) ซึ่งได้จากการขัดผิวเมล็ดข้าวกล้อง และรำละเอียด (polish) ได้จากการขัดขาวและขัดมัน (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว) องค์ประกอบหลักของรำข้าวมีดังนี้ แบ่ง 41.11%, เส้นใยดิบ 24.65%, โปรตีน 14.28%, ความชื้น 9.5%, และเถ้า 9.13% ฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติและพบได้ 3 ลักษณะ คือ แบบอิสระ (Free from), แบบละลายน้ำได้ (Soluble conjugate from) และแบบละลายน้ำไม่ได้ (Insoluble bond from) (Liu และคณะ, 2017)

เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -amylase) เป็นเอนไซม์ย่อยแป้ง ที่นิยมใช้มักผลิตจากแบคทีเรียมีฟิเอชเหมาะสมต่อการทำงานอยู่ระหว่าง 6.0-6.5 บางชนิดทนอุณหภูมิสูง เช่น Termamyl ผลิตโดย *Bacillus licheniformis* ทนอุณหภูมิได้ที่ 95 องศาเซลเซียส แต่ถ้าเป็นอัลฟาอะไมเลสจากเชื้อรา เช่น *Aspergillus niger* ทำงานดีที่ฟิเอช 5.5 และอุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส (อรัญ, 2555) จึงสนใจใช้เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส เนื่องจากเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสสามารถทนอุณหภูมิได้สูงอีกทั้งยังย่อยแป้ง (Myat และ Ryu, 2014) ให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีโมเลกุลเล็กลงเกิดเป็นน้ำตาลมอลโทส กลูโคส และเด็คซ์ทริน และสามารถย่อยผนังเซลล์ของรำข้าว (Liu และคณะ, 2017) เพื่อให้ได้ปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด

จากข้อมูลดังกล่าวมาข้างต้นงานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดสกัดฟีนอลิกแบบอิสระ (Free phenolics) และแบบละลายน้ำได้ (Soluble conjugate phenolics) โดยแปรรูปรำข้าวผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสนำมาบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิก่อนนำไปสกัดสารสกัดฟีนอลิกแบบอิสระ (Free phenolics) และแบบละลายน้ำได้ (Soluble conjugate phenolics)

### 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดฟีนอลิกแบบอิสระ (Free phenolics) และแบบละลายน้ำได้ (Soluble conjugate phenolics) ที่สกัดจากรำข้าว
2. ศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดฟีนอลิกแบบอิสระ (Free phenolics) และแบบละลายน้ำได้ (Soluble conjugate phenolics) ที่สกัดจากรำข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ศึกษาผลของเวลาที่มีผลต่อต่อปริมาณฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ในสารสกัดฟีนอลิกแบบอิสระ (Free phenolics) และแบบละลายน้ำได้ (Soluble conjugate phenolics) ที่สกัดจากรำข้าว
4. ศึกษาผลของเวลาที่มีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดฟีนอลิกแบบอิสระ (Free phenolics) และแบบละลายน้ำได้ (Soluble conjugate phenolics) ที่สกัดจากรำข้าว

### 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1. รำข้าวหอมมะลิจากจังหวัดสุพรรณบุรี
2. รำข้าวย่อยด้วยเอนไซม์  $\alpha$ -amylase 1 มิลลิลิตร (40,000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) จากบริษัท รีชไบโอเทคโนโลยี จำกัด แช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิบ่มที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ตามลำดับ
3. วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric
4. วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Colorimetric method
5. วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบอุณหภูมิและเวลาที่เหมาะสมของเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสในการย่อยรำข้าวเพื่อให้ได้ปริมาณฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในสารสกัดฟีนอลิกแบบอิสระ (Free phenolics) และแบบละลายน้ำได้ (Soluble conjugate phenolics)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 2

### ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

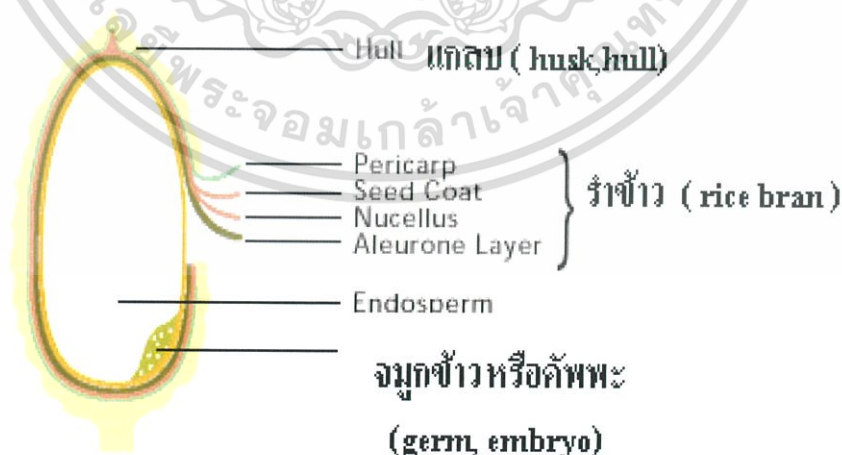
#### 2.1 รำข้าว

รำข้าว เป็นผลพลอยได้จากกระบวนการสีข้าว ซึ่งจะได้ประมาณร้อยละ 8-10 ของน้ำหนักข้าวเปลือก ขึ้นอยู่กับการขัดสีมากหรือน้อย และเป็นแหล่งอาหารที่อุดมไปด้วยเส้นใยอาหาร โปรตีน และวิตามิน มีสารป้องกันการออกซิไดส์หลายชนิด ในประเทศไทยสามารถสกัดน้ำมันได้เฉลี่ยร้อยละ 15 มาสกัดเป็นน้ำมันรำข้าว น้ำมันรำข้าวได้จากการนำรำข้าวที่ได้จากการสีข้าวครั้งที่ 2 (ครั้งแรกเป็นการสีเกลบออก) โดยน้ำมันนี้มีสารสำคัญที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ

##### 2.1.1 องค์ประกอบของรำข้าว (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว)

ส่วนที่ได้จากการขัดข้าวกลิ้งให้เป็นข้าวสาร ซึ่งประกอบด้วยชั้นเยื่อหุ้มเมล็ด และคัพภะ เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งได้จากการกระบวนการสีข้าว โดยทั่วไปจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ รำหยาบ (bran) ซึ่งได้จากการขัดผิวเมล็ดข้าวกลิ้ง และรำละเอียด (polish) ได้จากการขัดขาวและขัดมัน นอกจากนี้รำข้าวยังมีคุณค่าทางอาหารสูง ได้แก่ โปรตีน ไขมัน ใยอาหาร แร่ วิตามิน และเกลือแร่ มีงานวิจัยที่ยืนยันว่าสารอาหารในรำข้าวมีประสิทธิภาพในการลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือดได้โดยเฉพาะไขมันชนิดไม่ดี (LDL) ลดความเสี่ยงของโรคหัวใจ มีประสิทธิภาพในการเพิ่มระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย และมีฤทธิ์เป็นสารต้านมะเร็ง

องค์ประกอบหลักของรำข้าวมีดังนี้ ความชื้น 9.5% , แป้ง 41.11% , โปรตีน 14.28% , เส้นใยดิบ (Crude fiber) 24.65% และเถ้า 9.13% (Lei Liu และคณะ, 2017)



รูปที่ 2.1 ส่วนประกอบของรำข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในที่ปรึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า (ที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com>)  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.2 ประโยชน์ของรำข้าว (ผดุงขวัญ, 2548)

รำข้าวและจมูกข้าว เป็นแหล่งรวมของวิตามินและเกลือแร่ที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ซึ่งผ่านกระบวนการสกัดและผลิตอย่างมีมาตรฐาน จะสามารถจำแนกสารสำคัญจากรำข้าวและจมูกข้าวได้ดังต่อไปนี้ วิตามินอีธรรมชาติ (Tocopherol และ Tocotrienol) ช่วยให้ผิวยืดหยุ่น แต่งตั้งลดจุดต่างดํา ลดริ้วรอย ทั้งยังเป็นสารต่อต้านสารอนุมูลอิสระ สรรพคุณและประโยชน์ของรำข้าวยังสามารถช่วยป้องกันโรคต่างๆได้มากมาย

โรคมะเร็ง หากได้รับปริมาณสารอาหารจากน้ำมันรำข้าวเข้มข้นถึง 5 เปอร์เซ็นต์ ในร่างกาย จะช่วยป้องกันโรคมะเร็งได้ถึง 62 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากในน้ำมันรำข้าวมีสารต้านอนุมูลอิสระ

โรคอัลไซเมอร์ ช่วยบำรุงประสาท ช่วยให้ความจำดีขึ้น

โรคความดันโลหิตสูง มีฮอร์โมนที่ช่วยลดอัตราการบีบตัวของเส้นเลือด ช่วยให้ลิ้มเลือดสลายตัว

โรคความดันโลหิตสูง มีฮอร์โมนที่ช่วยลดอัตราการบีบตัวของเส้นเลือด ช่วยให้ลิ้มเลือดสลายตัว และช่วยให้หัวใจทำงานได้ดีขึ้น

โรคเบาหวาน มีธาตุโครเมียม ทำหน้าที่เกาะจับอินซูลิน ช่วยให้ระดับอินซูลินคงตัวได้นานขึ้น น้ำตาลในเลือดลดลง

แกมมาโอริซานอล (Gamma-Oryzanol) เข้มข้นจากน้ำมันรำข้าวเมื่อผ่านกระบวนการพิเศษ จะให้คุณค่าจากสารต้านอนุมูลอิสระ ปกป้องผิว ช่วยให้ผิวชุ่มชื้น ด้านการอักเสบ ลดคอเลสเตอรอล และไตรกลีเซอไรด์ ทั้งยังปกป้องและลดการตีบตันของหลอดเลือด

กลุ่มสารฟอสโฟลิปิด เช่น Lecithin, Cephalin, Lysolecithin ช่วยสร้างและซ่อมแซมเซลล์ผิวและเซลล์ประสาทสมอง ต้านอนุมูลอิสระและช่วยเสริมความจำ

กลุ่มซารานไมด์ ช่วยให้ผิวสดใส ปรับสมดุลฮอร์โมน

วิตามินบี-คอมเพล็กซ์ ( Vitamin B Complex) ช่วยในเรื่องบำรุงประสาท เหน็บชา ช่วยระบบเมตาบอลิซึม

แร่ธาตุแมกนีเซียม ฟอสฟอรัส สังกะสี ช่วยเพิ่มพลังงาน เพิ่มการเผาผลาญ เสริมสร้างการเจริญเติบโตของสมอง และยังเพิ่มการทำงานของระบบฮอร์โมน

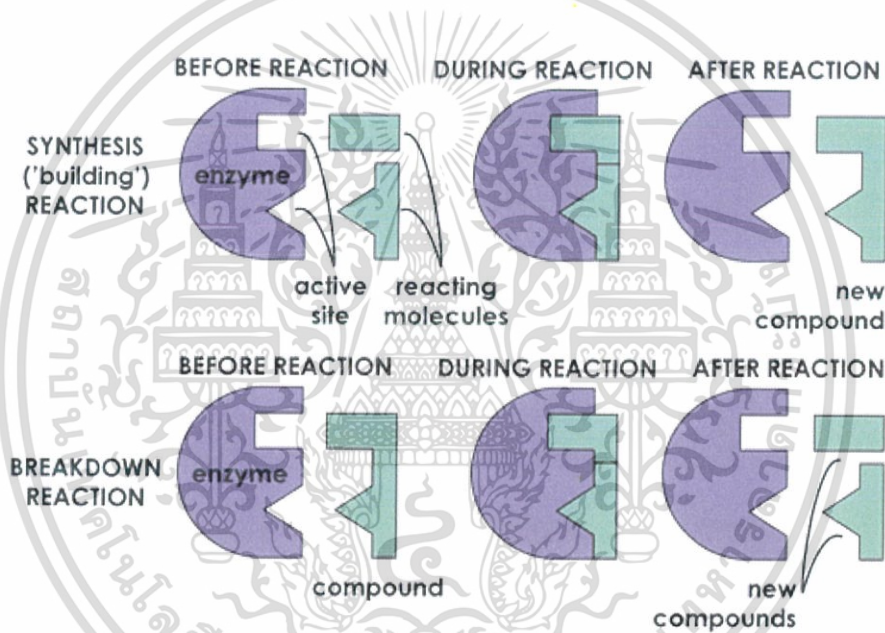
โค เอ็มไซม์ คิว เท็น (Q-enzyme Q10)ช่วยต่อต้านสารอนุมูลอิสระ ลดรอยจุดต่างดํา ชะลอความเสื่อมของเซลล์

## 2.2 เอนไซม์ (Enzyme)

### 2.2.1 นิยามของเอนไซม์ (จิตติมา, 2553)

เอนไซม์ (Enzyme) เป็นกลุ่มของโปรตีนที่มีหน้าที่พิเศษแตกต่างจากโปรตีนอื่นๆ ทั่วไป เอกสารกล่าวคือ มีความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสูง เพื่อใช้ในการสังเคราะห์องค์ประกอบภายในเซลล์ และระบบการย่อยอาหาร เป็นต้น

โดยเอนไซม์จะมีความจำเพาะต่อสารที่ทำปฏิกิริยาที่เรียกว่า “ซับสเตรต” (Substrate) และสามารถเร่งปฏิกิริยาโดยไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น ตลอดทั้งเอนไซม์จะเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาโดยลดพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยาได้ โดยกระบวนการเร่งปฏิกิริยาเริ่มขึ้นจากเอนไซม์จะเข้ายึดกับโมเลกุลของสารตั้งต้นและมีการทำหน้าที่ตามแต่ชนิดของเอนไซม์ พอหลังจากปฏิกิริยาเสร็จสิ้นลงจะได้เอนไซม์ในรูปเดิมกลับมา โดยมีทฤษฎีที่ใช้อธิบายความจำเพาะและประสิทธิภาพของเอนไซม์ “สมมติฐานแม่กุญแจลูกกุญแจ (The lock and key)” เสนอโดย Emil Fischer กล่าวว่า การที่เอนไซม์มีความจำเพาะต่อซับสเตรตนั้น เนื่องมาจากทั้งโมเลกุลของเอนไซม์จะมีโครงรูปบริเวณที่เฉพาะเจาะจงกับซับสเตรตซึ่งทำให้ซับสเตรตเข้ามาสวมได้พอดี เปรียบได้กับความพอดีของลูกกุญแจกับแม่กุญแจ แสดงถึงสภาพแข็งแรงของบริเวณเร่งของเอนไซม์ นั่นคือ โครงสร้างของทั้งซับสเตรตและเอนไซม์จะเกิดการเปลี่ยนแปลงไม่ได้



รูปที่ 2.2 สมมติฐานแม่กุญแจลูกกุญแจ (The lock and key)  
(ที่มาจาก [http://www.hi.com.au/.../heinemannfiles/586/3f3\\_4s.gif](http://www.hi.com.au/.../heinemannfiles/586/3f3_4s.gif))

### 2.2.2 ชนิดของเอนไซม์ (อริญ, 2555)

เอนไซม์สามารถจำแนกได้หลายวิธี แต่วิธีที่เป็นที่ยอมรับและใช้อย่างกว้างขวาง คือ การจำแนกชนิดตามข้อตกลงของเอนไซม์ (Commission on enzymes, E.C.) ซึ่งจำแนกของเอนไซม์ไว้ 6 กลุ่ม คือ

กลุ่มที่ 1 ออกซิโดรีดักเทส (oxidoreductase) หมายถึง กลุ่มเอนไซม์นี้เร่งปฏิกิริยาที่มีการถ่ายเทอิเล็กตรอน (Oxidation reduction) ระหว่างซับสเตรต 2-3 ชนิด มีลักษณะปฏิกิริยาหลายรูปแบบตามลักษณะตัวรับอิเล็กตรอน เช่น โคแฟกเตอร์ในที่นี้ขอใช้ตัวย่อเป็น cof หรือ ออกซิเจนและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ชนิดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น ตัวอย่างเอนไซม์เหล่านี้ ได้แก่ ดีไฮโดรจีเนส (dehydrogenases) ซึ่งเร่งไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปฏิกิริยาการรับอิเล็กตรอนด้วยตัวรับที่ไม่ใช้ออกซิเจน เช่น alcohol dehydrogenase แต่ถ้าใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนก็จะเรียกเอนไซม์นี้ว่า (oxidase) เช่น กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase) ตัวอย่างกลุ่มของเอนไซม์ เช่น dehydrogenases, oxidases, peroxidases, catalases, oxygenases และ hydroxylases ตัวอย่างชนิดเอนไซม์ เช่น แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcoholdehydrogenase) เร่งออกซิเดชันของเอทานอล (ethanol) ได้อะเซตาลดีไฮด์ (acetaldehyde)

กลุ่มที่ 2 ทรานส์เฟอร์เรส (transferases) หมายถึง เอนไซม์กลุ่มนี้ เร่งปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายหมู่สารใด (X) จากตัวให้ (donor) ไปยังตัวรับ (acceptor) หมู่ X ได้แก่ หมู่ไกลโคซิล หมู่เอซิล หมู่อะมิโน และหมู่เมทิล และหมู่ X จะต้องไม่ใช่ไฮโดรเจนอะตอม มิฉะนั้นจะเป็นออกซิโดรีดักเทส ตัวอย่างกลุ่มของเอนไซม์ transaldolases และ transketolases, acylglucosyl และ phosphoryl tranferases ตัวอย่างชนิดเอนไซม์ ได้แก่ กลูโคไคเนส (glucokinase; EC 2.7.1.2) เร่งการย้ายหมู่ฟอสเฟตจาก ATP ไปยังกลูโคส ได้ กลูโคส-6-ฟอสเฟต เป็นผลิตภัณฑ์

กลุ่มที่ 3 ไฮโดรเลส (hydrolase) หมายถึง เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการสลายพันธะเคมี กระบวนไฮโดรไลซิส หรือเร่งปฏิกิริยาที่มีการเติมน้ำ ตัวอย่างกลุ่มของเอนไซม์ esterases, glycosidases, peptidases, phosphatases, thiolases, phospholipases, amidases, deaminases, และ ribonucleases ตัวอย่างชนิดเอนไซม์ ได้แก่ คาร์บอกซีเพปติเดสเอ (carboxypeptidase A; EC 3.4.17.1) เร่งการตัดพันธะเพปไทด์บนเส้นโพลีเพปไทด์ (polypeptide) ด้วยน้ำ

กลุ่มที่ 4 ไลเอส (lyases) หมายถึง เอนไซม์กลุ่มไลเอสเร่งปฏิกิริยาการแยกโปรตอน (H) ของสารประกอบตั้งต้น ทำให้เกิดพันธะคู่ในสารประกอบผลิตภัณฑ์หรืออาจจะทำปฏิกิริยาเพื่อเปลี่ยนพันธะคู่ในสารประกอบตั้งต้นเป็นสารประกอบมีพันธะเดี่ยว ตัวอย่างกลุ่มของเอนไซม์ aldolases, hydratases, dehydratases, synthases, และ lyases ตัวอย่างชนิดเอนไซม์ ตัวอย่างได้แก่ ไพรูเวต ดีคาร์บอกซิเลส (pyruvate decarboxylase; EC 4.1.1.1) เร่งการขจัดหมู่คาร์บอกซิล

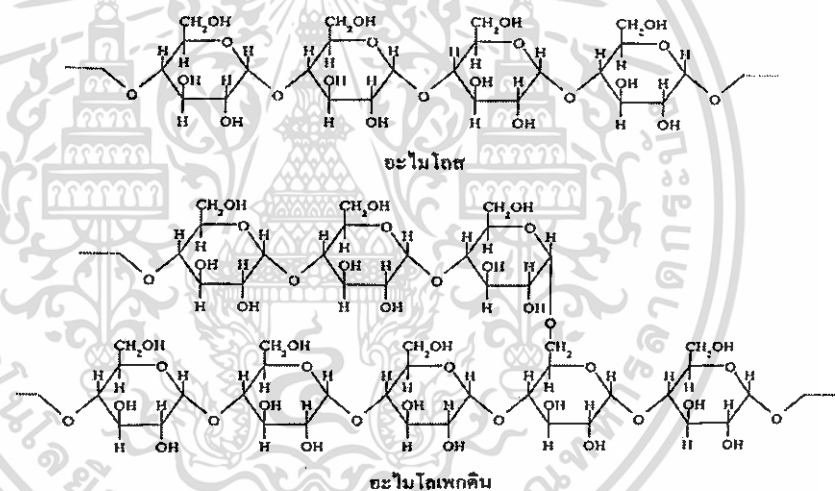
กลุ่มที่ 5 ไอโซเมอเรส (isomerases) หมายถึง เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งการย้ายหมู่ใดๆ ในโมเลกุลเดียวกันทำให้ได้ไอโซเมอร์ (isomer) ได้แก่ cis-trans isomerase, เร่งการเปลี่ยน สลับ D- และ L-isomer ตัวอย่างกลุ่มของเอนไซม์ racemases, isomerases, และ mutases บางชนิด ตัวอย่างได้แก่ มาลีเอตไอโซเมอเรส (maleate isomerase; EC 5.2.1.1) เร่งการย้ายหมู่ คาร์บอกซิล ภายในโมเลกุลของมาลีเอต

กลุ่มที่ 6 ไลเกสหรือซินเทเทส หรือซินเทส (ligase or syntetases or synthases) หมายถึง เอนไซม์กลุ่มนี้เร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะโควาเลนต์ระหว่างโมเลกุล 2 โมเลกุล ด้วยการให้พลังงาน การสลายโมเลกุลของ ATP เป็น ADP หรือ AMP และไพโรฟอสเฟต (PPi) เอนไซม์กลุ่มนี้ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์โปรตีน กรดนิวคลีอิก ลิพิด และการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต ซึ่งส่วนใหญ่เกิดในเซลล์

ของสิ่งมีชีวิต ยกเว้นการสังเคราะห์เดกซ์แทรน การสังเคราะห์เลวาน (levan) ซึ่งเกิดขึ้นนอกเซลล์ โดยไม่ใช่เอนไซม์กลุ่มนี้ ตัวอย่างได้แก่ ไพรูเวต คาร์บอกซิเลส (pyruvate carboxylase; EC 6.4.1.1) เร่งการรวมไพรูเวตกับคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้ได้ออกซาโลอะซีเตต (oxaloacetate)

### 2.2.3 เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง (อรัญ, 2555)

แป้ง เป็นคาร์โบไฮเดรตหรือพอลิแซ็กคาไรด์ที่มีองค์ประกอบหลัก คือ อะไมโลส (Amylose) และอะไมโลเพกติน (Amylopectin) หน่วยย่อยของแป้ง คือ กลูโคส โดยอะไมโลสจะประกอบด้วย กลูโคส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะอัลฟา-1,4-ไกลโคซิดิก ( $\alpha$ -1,4-glycosidic) เป็นหลัก ในขณะที่ อะไมโลเพกตินนั้นมีกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะอัลฟา-1,4-ไกลโคซิดิก และมีบางส่วนที่มีกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะอัลฟา-1,6-ไกลโคซิดิก ( $\alpha$ -1,6-glycosidic) โครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน ดังรูปที่ 2.3 และชนิดของเอนไซม์สำคัญที่ใช้ในการย่อยแป้งเป็นเป็นน้ำตาลกลูโคส ประกอบด้วย เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) เบต้าอะไมเลส ( $\beta$ - Amylase) กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) และพูลูลาเนส (Pullulase)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของอะไมโลสและอะไมโลเพกติน

(ที่มา: <http://www.vcharkarn.com/lesson/1468>)

เอนไซม์อะไมเลส (Amylase) เป็นเอนไซม์ที่นำมาย่อยวัตถุดิบพวกแป้งให้เป็นผลิตภัณฑ์ที่มี โมเลกุลเล็กลง เช่น น้ำตาลมอลโทส (Maltose), กลูโคส (Glucose), เดกซ์ตริน (Dextrin) การผลิต อะไมเลสทางการค้าได้จากจุลินทรีย์ มีทั้งเชื้อราและแบคทีเรีย ได้แก่ เชื้อรา *Aspergillus oryzae* และเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus licheniformis* เอนไซม์อะไมเลส สามารถย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมอาหารประเภทต่างๆ รวมทั้งใช้ในขั้นตอนการผลิตเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์อะไมเลส จะทำงานได้ดีในสภาวะค่า pH 6.4–7.2 และทำงานได้ดีในอุณหภูมิใกล้เคียงกับอุณหภูมิของร่างกายถ้าอุณหภูมิสูงมากจะทำลายเอนไซม์ และถ้าสภาวะแวดล้อมเป็นกรดเป็นเบสเอนไซม์จะถูกทำลาย

เหตุที่ใช้เอนไซม์อะไมเลสในการย่อยแป้ง เอนไซม์อะไมเลส (Amylase) เป็นเอนไซม์ในกลุ่ม Hydrolases และเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา (Catalyst) ในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล โดยไฮโดรไลซ์พันธะ 1,4-glycosidase bond ในโมเลกุลของสตาร์ช (starch) ให้มีขนาดของโมเลกุลเล็กลง ทำให้ได้เป็น เดกซ์ทรีน (dextrin) และน้ำตาล (sugar) (วิราสิณและนพพล, 2557)

#### 2.2.4 ชนิดของเอนไซม์อะไมเลส (อรัญ, 2555)

เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) เป็นเอนไซม์ย่อยแป้ง โดยการย่อยภายในโมเลกุลตรงพันธะอัลฟา-1,4-ไกลโคซิดิกแบบสุ่มทำให้แป้งมีความหนืดลดลงหลังจากลิควิแฟคชัน (Liquefaction) น้ำแป้งควรมีค่า DE (dextrose equivalent) 8-12 และมีพีเอชต่ำ เอนไซม์อัลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase) ที่นิยมใช้มักผลิตจากแบคทีเรีย มีพีเอชเหมาะสมต่อการทำงานอยู่ระหว่าง พีเอช 6.0-6.5 บางชนิดทนอุณหภูมิสูง เช่น Termamyl ผลิตโดย *Bacillus licheniformis* ทนอุณหภูมิได้ที่ 95 องศาเซลเซียส แต่ถ้าเป็นอัลฟาอะไมเลสจากเชื้อรา เช่น *Aspergillus niger* ทำงานดีที่พีเอช 5.5 และอุณหภูมิ 50-55 องศาเซลเซียส

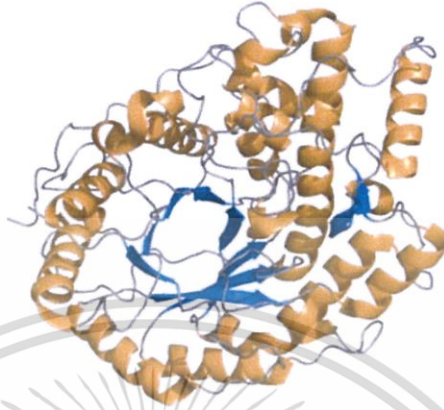


รูปที่ 2.4 โครงสร้างของเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส ( $\alpha$ -Amylase)

(ที่มา: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Salivary\\_alphaamylase\\_1SMD.png](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Salivary_alphaamylase_1SMD.png))

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

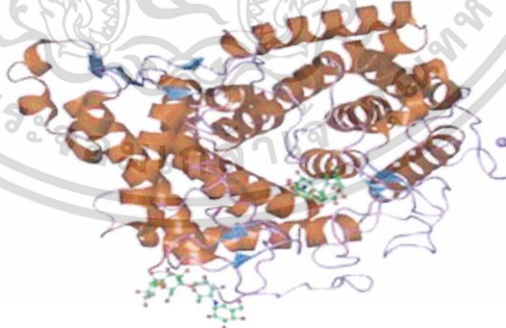
เอนไซม์เบต้าอะไมเลส ( $\beta$ -Amylase) เป็นเอนไซม์ย่อยแป้งด้านนอกโมเลกุลทางปลายนอนรีดิวซ์ (non reducing end) โดยย่อยกลูโคสออกทีละ 2 โมเลกุล ได้เป็นมอลโตส ซึ่งเอนไซม์นี้พบมากในข้าวบาเลย์



รูปที่ 2.5 โครงสร้างของเอนไซม์เบต้าอะไมเลส ( $\beta$ -Amylase)

(ที่มา: [https://en.wikipedia.org/wiki/File:Salivary\\_alphaamylase\\_1SMD.png](https://en.wikipedia.org/wiki/File:Salivary_alphaamylase_1SMD.png))

เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) เป็นเอนไซม์ย่อยแป้งด้านนอกโมเลกุลทางปลายนอนรีดิวซ์และย่อยกลูโคสออกทีละโมเลกุล สามารถย่อยได้ทั้งอัลฟา-1,4-ไกลโคซิดิก ( $\alpha$ -1,4-glycosidic) และพันธะอัลฟา-1,6-ไกลโคซิดิก ( $\alpha$ -1,6-glycosidic) แต่จะย่อยพันธะอัลฟา-1,6-ไกลโคซิดิก ( $\alpha$ -1,6-glycosidic) ได้ช้ากว่า 20-30 เท่า เอนไซม์ส่วนใหญ่ผลิตได้จากเชื้อราในสภาวะที่เหมาะสม คือ มีพีเอช 4.3-4.5 และอุณหภูมิ 60-63 องศาเซลเซียส

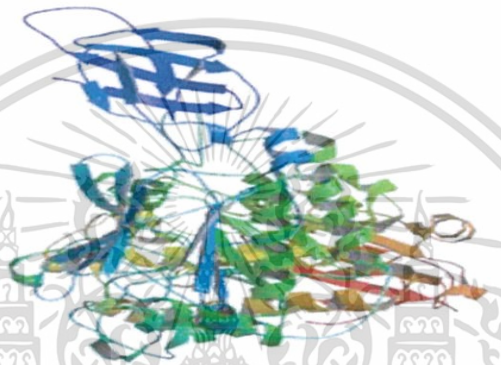


รูปที่ 2.6 โครงสร้างของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase)

(ที่มา: <https://www.globalhealingcenter.com/naturalhealth/wpcontent/uploads/2013/04/glucoamylase.jpg>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์พุลลูลานเนส (Pullulase) เป็นเอนไซม์ย่อยพุลลูแลน (pullulan) โดยสามารถย่อยพันธะอัลฟา-1,6-ไกลโคซิดิก ( $\alpha$ -1,6-glycosidic) ของอะไมโลเพกตินได้ดี และมีสมบัติที่ทนร้อน เอนไซม์พุลลูลานเนส มี 2 ชนิด โดยชนิดแรกจะย่อยตรงพันธะอัลฟา-1,6-ไกลโคซิดิก ( $\alpha$ -1,6-glycosidic) อย่างเดียว และอีกชนิดจะย่อยทั้งอัลฟา-1,6-ไกลโคซิดิก ( $\alpha$ -1,6-glycosidic) และ อัลฟา-1,4-ไกลโคซิดิก ( $\alpha$ -1,4-glycosidic) โดยปกติพุลลูลานเนสจะย่อยหน่วยมอลโตไตรโอส (maltotriose unit) ที่ต่อกันด้วย พันธะอัลฟา-1,6 นอกจากนี้ยังนิยมใช้ร่วมกับกลูโคอะไมเลส เพื่อเพิ่มผลผลิตในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล เอนไซม์พุลลูลานเนส (Pullulase) ทำงานได้ดีที่พีเอช 4.5 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส



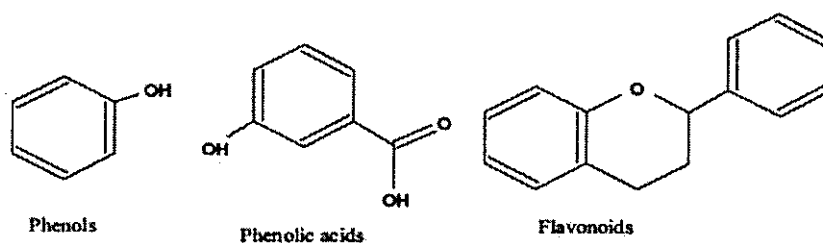
รูปที่ 2.7 โครงสร้างของเอนไซม์เอนไซม์พุลลูลานเนส (Pullulanase)

(ที่มา: [https://www.creative-enzymes.com/service/enzyme-activity-measurement-of-pullulanase\\_234.html](https://www.creative-enzymes.com/service/enzyme-activity-measurement-of-pullulanase_234.html))

### 2.3 ฟีนอลิก (ปริยานุช อินทร์รอด, 2551)

สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) จัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ พบได้ในธรรมชาติ ได้แก่ ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร และเมล็ดธัญพืช ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติมากกว่า 8,000 ชนิด ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่ายเช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโพรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน มีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด สารต้านการก่อมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตสูง โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วย โครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่ รวมไปถึงอนุพันธ์ของสารประกอบฟีนอล ซึ่งมีการแทนที่ด้วยหมู่ฟังก์ชันต่างๆ เช่น ฟลาโวนอยด์ ลิกนิน กรดซินนามิก และ โคเอ็นไซม์คิว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Structures of common phenolic compounds.

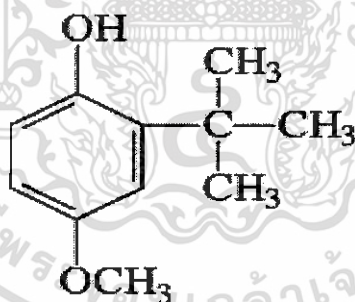
### รูปที่ 2.8 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก

(ที่มา : <http://www.phelic.co.th/2017/02/02/>)

ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลิกที่พบในธรรมชาติ เช่น ถั่วเมล็ดแห้ง ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง เมล็ดธัญพืช ได้แก่ ข้าว งา ผลไม้ ได้แก่ องุ่น ส้ม จินเจอร์อล (Gingerol) พบในขิง ยูเจนอนอล (Eugenol) ในกานพลู ตะไคร้ ไบกระเพรา แคปไซซิน (Capsaicin) ในพริก เคอคิวมิน (Curcumin) ใบมัน แคทีชิน (Catechin) ในชา

ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลิกที่ทำการสังเคราะห์ขึ้นมาเอง

Butylated hydroxyanisole (BHA) เป็นวัตถุกันหืนที่นิยมใช้พบมากในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีส่วนประกอบของไขมันและน้ำมัน มีผลกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นฉุน ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในแอลกอฮอล์ ส่วนใหญ่จะพบในรูปของสารผสมหรืออาจใช้ร่วมกับแกลเลตหรือบีเอชที เพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น



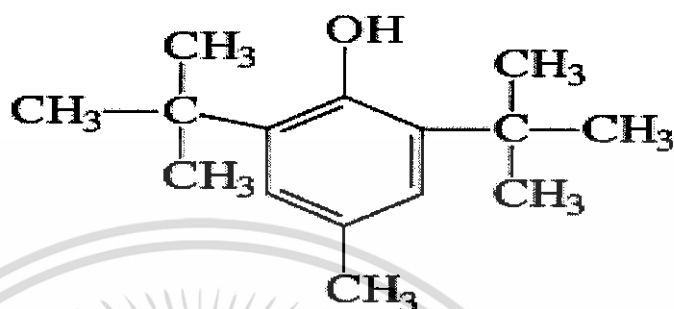
Butylated hydroxyanisole (BHA)

### รูปที่ 2.9 โครงสร้าง BHA

(ที่มา : <http://m.biomolecule.myreadyweb.com>)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Butylated hydroxytoluene (BHT) เป็นวัตถุกันหืนชนิดหนึ่งที่ยิยมใช้ เช่นเดียวกับบีเอชเอ แต่มีประสิทธิภาพน้อยกว่า เป็นสารประกอบผลึกสีขาวหรือวิหเสืองอ่อน ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในแอลกอฮอล์ นิยมใช้ในอาหารประเภทน้ำมันพืช ผลิตภัณฑ์นม ขนมอบ และน้ำมันหอมระเหย



butylated hydroxytoluene (BHT)

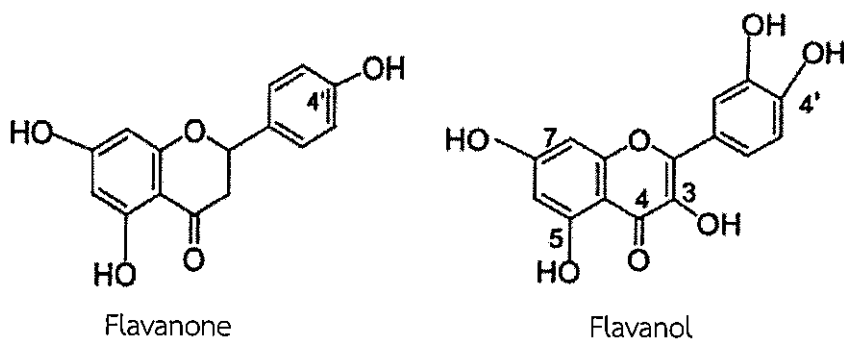
รูปที่ 2.10 โครงสร้าง BHT

(ที่มา : <http://m.biomolecule.myreadyweb.com>)

#### 2.4 ฟลาโวนอยด์ (ปริยานุช อินทร์รอด, 2551)

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) จัดเป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอล (Polyphenolic compounds) แบ่งกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่มตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้างโดยเฉพาะที่วงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่างๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน เป็นกลุ่มของสารประกอบที่มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (Phenylbenzopyrones) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กและมีโครงสร้างประกอบด้วยการจัดเรียงตัวของคาร์บอน 15 ตัว ( $C_6-C_3-C_6$ ) เป็นวงแหวน 3 วง ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (benzene ring) 2 วง (A and B) เชื่อมต่อกับวงแหวนไพแรน (geerocyclic pyran ring) ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง ( $C_6$ ) โดยสามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามตำแหน่งของหมู่ฟังก์ชันซึ่งแทนที่ในโครงสร้างพื้นฐานได้เป็น 7 กลุ่ม ได้แก่ ฟลาแวน (Flanvanes), ฟลาวาโนล (Flavanols), ฟลาวานอล (Flavanols), ฟลาโวนอล (Flavonols), ฟลาโวน (Flavonoes) ฟลาวาโนนอล (Flavanonols) และแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins) พบมากในผักและผลไม้ เช่น พริกหยวกสีแดง กระเทียม กะหล่ำปลี ส้ม มะนาว แอปเปิ้ล มะละกอ นอกจากนี้ยังพบในเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ไวน์ และชา มีคุณสมบัติต่อการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถป้องกันไม่ให้เซลล์หรือเนื้อเยื่อในร่างกายเสื่อมลง ช่วยลดการอักเสบ (antiinflammation) ลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ มีฤทธิ์ต้านการขยายตัวของเซลล์มะเร็งตับและมะเร็งลำไส้ใหญ่ (anticancer) ด้านโรคเบาหวาน (antidiabetes) ลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด (cholesterol and triglyceride lowering effects)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.11 ตัวอย่างของกลุ่มฟลาโวนอยด์  
(ที่มา :Von Elbe and Schwartz (1996))

## 2.5 สารต้านอนุมูลอิสระ (ปริยานุช อินทร์รอด, 2551)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) คือ สารสามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยปกติแล้วการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายเพียงพอต่อการเกิดอนุมูลอิสระภายในร่างกาย แต่หากมีสภาวะผิดปกติในร่างกาย เช่น ความเครียด การนอนติดต่อกันเป็นเวลานานๆ อาจจะทำให้การสร้างอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นจนเสียสมดุล อนุมูลอิสระที่ไม่ได้ถูกกำจัดจะไปทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อเป็นต้นเหตุของการเกิดโรคต่างๆ เช่น ภาวะหลอดเลือดอุดตัน อากาศอักเสบต่างๆ และโรคมะเร็ง จะเห็นได้ว่าสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายมีความสำคัญในการป้องกันการเกิดโรคและความเสื่อมของร่างกาย นอกจากการไปจับกับสารต้านอนุมูลอิสระแล้วสารต้านอนุมูลอิสระยังมีคุณสมบัติอื่นร่วมด้วย เช่น ช่วยขับสารพิษที่อาจจะก่อให้เกิดโรคมะเร็ง ขับสารพิษออกจากร่างกาย ป้องกันโรคหอบหืด หลอดลมอักเสบ ลดระดับคอเลสเตอรอล และลดความเสี่ยงการเกิดโรคหัวใจ สารต้านอนุมูลอิสระ สามารถแบ่งเป็น 2 ประเภท ตามลักษณะการออกฤทธิ์ คือ สารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิ เป็นสารที่หยุดปฏิกิริยาอนุมูลอิสระโดยการให้อนุมูลไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระโดยตรงเป็นผลให้อนุมูลนั้นกลายเป็นสารที่มีความเสถียรขึ้น สารออกฤทธิ์ในลักษณะดังกล่าว ได้แก่ สารประกอบกลุ่ม phenolic เช่น flavonoid, eugenol และ vanillin สารต้านอนุมูลอิสระทุติยภูมิ สารประเภทนี้ไม่ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับอนุมูลอิสระแต่จะช่วยการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระปฐมภูมิในลักษณะต่างๆ เช่น จับกับ  $Fe^{2+}$  ตักจับออกซิเจน ดูดซับรังสียูวีไว้ พบในผักและผลไม้ที่มีวิตามินซีสูง วิตามินอีสูง และมีเบต้าแคโรทีนสูง ดังตารางที่ 2.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แหล่งธาตุพืชที่พบและประโยชน์ของสารต้านอนุมูลอิสระ

| แหล่งที่พบ  | ประโยชน์   |
|---|--|
| ผักและผลไม้ที่มีวิตามินซีสูง เช่น ส้มเขียวหวาน, ฝรั่ง, มะขามป้อม, พริกชี้ฟ้าเขียว, มะละกอสุก        | ช่วยเสริมสร้างคอลลาเจนให้กับชั้นผิว ซ่อมแซมกระดูกอ่อน เส้นเอ็น ผันงหลอดเลือดให้มีความแข็งแรง ลดการอักเสบ การติดเชื้อ และกำจัดแบคทีเรียและไวรัสไม่ให้เข้าสู่ร่างกาย |
| ผักและผลไม้ที่มีวิตามินอีสูง เช่นงา, เมล็ดทานตะวัน, ฟักทอง, น้ำมันพืช, เนยเทียม, นมและข้าวโพด       | ป้องกันความเสื่อมสภาพของเซลล์จากแสงแดดและรังสียูวี ลดการเกิดริ้วรอยบนใบหน้าและตามผิวหนัง ช่วยเสริมการสร้างคอลลาเจนให้กับผิว  |
| ผักและผลไม้ที่มีเบต้าแคโรทีนสูง เช่น แครอท, ฟักทอง, แคนตาลูป, มะละกอ, ผักที่มีสีส้มสดใสและมะเขือเทศ | ป้องกันการเกิดโรคในร่างกายน ลดความเสื่อมสภาพของเซลล์ต่างๆ ซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอ และที่สำคัญยังมีหน้าที่กำจัดสารก่อมะเร็ง ยับยั้งเซลล์มะเร็งให้น้อยลง                |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการศึกษาเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่มีผลต่อการย่อยรำข้าว โดยวัตถุดิบหลักส่วนใหญ่ที่ใช้ คือ รำข้าว โดยมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เชื่อมโยง และได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมจากวารสารดังต่อไปนี้

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

| ผู้แต่งผลงานวิจัย                   | วัตถุดิบ  | วิธีการสกัด  | ผลการวิจัย   |
|-------------------------------------|---|--|--|
| Gerson Lopes Teixeira และคณะ (2018) | เมล็ดถั่ว sapucaia ( <i>Lecythis pisonis</i> )                                  | - สกัดโดยใช้ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ใช้อุณหภูมิ 333 K ความดัน 20 MPa<br>- สกัดโดยใช้ก๊าซโพรเพน ใช้ อุณหภูมิ 293-333 K ความดัน 2-10 MPa                              | การสกัดด้วยก๊าซโพรเพนให้ผลผลิตสูงกว่า 46.22% ที่ 333 K และ 10 MPa มีประสิทธิภาพสูงกว่า Soxhlet ถึง 93%   |
| Ruby Pandey และคณะ (2018)           | ข้าวเปลือก ( <i>Oryza sativa</i> )<br>รำละเอียดที่มีความชื้น = $11.8 \pm 0.3\%$ | สกัดโดยคลื่นไมโครเวฟแบบสองขั้นตอนใช้พลังงาน 200, 320, 450, 560 วัตต์ ใช้เวลา 30, 60, 90, 120 วินาที อัตราส่วนของตัวทำละลายต่อรำข้าว (1.6, 2.3, 3 มิลลิลิตร/กรัม) | การสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้คลื่นไมโครเวฟแบบสองขั้นตอน ได้ผลดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลาย ให้ปริมาณ phospholipid $0.64 \pm 0.11$ เทียบกับ $1.02 \pm 0.15\%$ ปริมาณ $\alpha$ -tocopherol $7.85 \pm 0.19$ เทียบกับ $6.83 \pm 0.12$ mg/g RBO กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ ( $1.50 \pm 0.05$ เทียบกับ $1.27 \pm 0.08$ เท่าของสารต้านอนุมูลอิสระ เทียบเท่า trolox) และปริมาณกรดไขมันอิสระ ( $4.88 \pm 0.26$ เทียบกับ $5.77 \pm 0.25\%$ ) |
| Maria C. Capellini และคณะ (2017)    | รำข้าวจาก (Pelotas, RS, ประเทศบราซิล)   | สกัดน้ำมันรำข้าว (RBO) ด้วยตัวทำละลายแอลกอฮอล์   | การสกัดน้ำมันรำข้าว (RBO) โดยใช้เอทานอลและไอโซ โพรพานอลเป็นตัวทำละลายดีที่สุดเพื่อให้ได้โปรตีนและน้ำมัน  |

|                                       |   |  |  |
|---------------------------------------|---|--|--|
| Pablo Juliano และคณะ (2017)           | รำข้าว  | ใช้เครื่อง Ultrasound และ Megasonic                            | Megasonic มีผลดีในการเพิ่มความสามารถในการสกัด น้ำมันมะกอกโดยการเติมสารเจือปนในน้ำหลังการ ตกตะกอน 30% ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด   |
| Juliana Ferreira Soares และคณะ (2016) | รำข้าวจาก (Santa Maria, RS, ประเทศบราซิล)   | สกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้ supercritical CO2                       | การสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้ supercritical CO2 และบีบอัดก๊าซบีโตรเลียมเหลว ผลผลิตสูงสุดคือ 12.68  |
| Maryam Khoe และคณะ (2016)             | รำข้าวจากโรงงานข้าวในท้องถิ่น   | ใช้ N-Hexane เป็นตัวทำละลาย ควบคุม pH โดยการเติม NaOH หรือ HCl | ความเป็นกรดต่ำสูง (pH 12) และอุณหภูมิสูง (45 องศาเซลเซียส) ความเร็ว 800 รอบต่อนาทีและเวลาดำเนินการ 15 นาที ดีที่สุดสำหรับการสกัด   |
| Ladda Wattanasiritham และคณะ (2016)   | รำข้าวขาวดอกมะลิ 105 จากโรงสีข้าวปทุมและบริษัท แบริ่ง จำกัด (กรุงเทพฯ, ประเทศไทย) | นำรำข้าวขาวดอกมะลิไฮโดรไลซ์ ด้วย papain และ trypsin            | กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของข้าวขาวดอกมะลิที่ไฮโดรไลซ์ด้วย papain และ trypsin จะเสียคุณสมบัติสูงกว่าเมื่อเทียบกับการไฮโดรไลซ์ RBP แบบดั้งเดิม  |
| Patiwit Loypimai และคณะ (2016)        | รำข้าว  | สกัดโดยวิธี OHM-ASE และ ST-ASE                                 | สารพฤกษเคมีจากรำข้าวที่สกัดด้วย OHM-ASE มากกว่าที่สกัดด้วย ST-ASE และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด ความเข้มข้นของกรด gallic สูงขึ้น (253.29 -257.57 ไมโครกรัม/กรัม), กรดคาเฟอีน (129.34-136.12 ไมโครกรัม/กรัม) กรดเฟอูลิก (630.74-663.34 ไมโครกรัม/กรัม) ฟีนอลิกรวม (187.18-201.61 ไมโครกรัม GAE /g), ลูทีน (70.6-72.4 ไมโครกรัม/กรัม) เบต้าแคโร |

|                                   |   |  |  |
|-----------------------------------|---|--|--|
|                                   |   |  | ทิน (4.81-5.12 ไมโครกรัม/กรัม) และ แอนโทไซยานิน (812.17-847.09 มิลลิกรัม/100 กรัม)   |
| Sandra L.B. Navarro และคณะ (2016) | รำข้าวจากจมูกข้าวโพดจากบริษัท Caramuru S.A. (บราซิล)  | ใช้ตัวทำละลายแอลกอฮอล์ในการสกัดน้ำมันรำข้าวจากจมูกข้าวโพด  | สารสกัดจากน้ำมันรำข้าวโพดที่มีส่วนผสมของแอลกอฮอล์สามารถละลายได้โดยมีส่วนประกอบของกรดไขมันทั่วไป การสกัดเอทานอลเอธานอลสูงกว่าระดับโทโคฟีรอลและ tocotrienols และไอโซไพรพานอลมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการสกัด carotenoids (373 mg / kg) |
| Suphat Phongthai และคณะ (2016)    | รำข้าวจาก บริษัท Urmatt Ltd. (เชียงใหม่, ประเทศไทย)   | สกัดน้ำมันรำข้าวด้วยคลีนไมโครเวฟ   | การสกัดด้วยคลีนไมโครเวฟ (MAE) โดย วิธีการ (RSM) ผลผลิตโปรตีนสูงกว่าที่ได้จากการสกัดด้วยอัลคาไลน์   |
| Dongfang Chen และคณะ (2015)       | ข้าวโอ๊ตจากซูเปอร์มาร์เก็ตท้องถิ่น ในเมือง Yangling, เมือง Xianyang และเมือง Shaanxi Province ประเทศจีน | นำข้าวโอ๊ตย่อยด้วย thermostable $\alpha$ -amylase ที่ 100 °C เป็นเวลา 15, 30, 45 และ 60 นาที - สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล โดยเครื่อง Ultrasonic | ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 0.46-1.35 $\mu\text{mol gallic/g}$ ข้าวโอ๊ต ปริมาณกรดแกลลิกเพิ่มขึ้น 2.6 เท่า ปริมาณกรดคาเฟอีนเพิ่มขึ้น 2.4 เท่า ปริมาณกรดฟีนอลิกอื่นๆ 1.0-1.8 เท่า   |
| M.N.Islam และคณะ (2015)           | เมล็ดสน   | นำเมล็ดสนมาทำให้แห้งแล้วนำมาบดหยาบใช้ตัวทำละลายเฮกเซน สกัดโดยใช้ Soxhlet   | ความร้อนที่สูงขึ้นของน้ำมันสนที่สกัดได้คือ 34.65 MJ/kg   |
| Patiwit Loypimai และคณะ (2015)    | รำข้าว  | สกัดด้วยตัวทำละลายไอโซนความร้อน (OHM)  | สกัดโดย OHM ที่ปริมาณความชื้น (MC) 40% สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูงสุด  |

|                               |                                      |  |  |
|-------------------------------|--------------------------------------|--|--|
| Karin Tomita และคณะ<br>(2014) | ตัวอย่างรำข้าวจากสหพันธ์<br>เศรษฐกิจ | สกัดโดยใช้ SCCO <sub>2</sub> ที่อุณหภูมิ 40,<br>60 และ 80 องศาเซลเซียส ความ<br>ดัน 20, 30 และ 40 MPa และ<br>อัตราการไหลของ CO <sub>2</sub> ที่ 1, 3, 6<br>และ 9 มล. / นาที | อัตราการไหลของ CO <sub>2</sub> (1-9 มล. / นาที) อุณหภูมิ<br>(40-80 °C) และความดัน (20-40 MPa) พบว่าที่ความดัน<br>มากกว่า 30 MPa ให้ปริมาณน้ำมันมากที่สุด |
|-------------------------------|--------------------------------------|--|--|



## บทที่ 3

### วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.1 วัสดุและอุปกรณ์

##### 3.1.1 วัสดุ

รำข้าวหอมมะลิจากจังหวัดสุพรรณบุรี ประเทศไทย

##### 3.1.2 อุปกรณ์

1. อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) ยี่ห้อ BEC THAI, Thailand
2. เครื่องระเหยสูญญากาศ (Evaporator) ยี่ห้อ Heidolph, Germany
3. ตู้ดูดควัน (Hood) ยี่ห้อ Astec
4. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) ยี่ห้อ Shimadzu รุ่น UV-1280 UV-VIS-Spectrophotometer, Japan
5. เครื่องล้างความถี่สูง (Ultrasonic bath) ยี่ห้อ Elma รุ่น S70H Elmasonic, Germany
6. Microplate reader ยี่ห้อ biochromb รุ่น EZ Read 2000 Microplate Reader
7. ตู้อบ (Hot Air Oven) ยี่ห้อ Contherm รุ่น Thermotec 2000 oven, Newzerland
8. ตู้เย็น ยี่ห้อ Samsung รุ่น RT35FTAP
9. ตู้แช่แข็ง ยี่ห้อ Mirage
10. เครื่องวัดค่า pH (pH meter) ยี่ห้อ Mettler Toledo รุ่น FiveGo pH F2, Switzerland
11. เครื่องชั่งสาร 2 ตำแหน่ง (Precision Balance) ยี่ห้อ Mettler toledo รุ่น GmbH, Switzerland
12. เครื่องชั่งสาร 4 ตำแหน่ง (Analytical Balance) ยี่ห้อ Sartorius Group รุ่น BSA224S-CW, Germany
13. ชุดแก้วกรองสูญญากาศ (Glass Vacuum Filter) ยี่ห้อ GE Motors รุ่น SKH36KN193GT,USA
14. เครื่องผสมสารละลาย (Vortex) ยี่ห้อ Genie 2 บริษัท Scientific industries, USA
15. ปิเปต (Pipette) ยี่ห้อ Sartorius บริษัท Gibthai, Thailand
16. กระดาษกรอง (Filter paper) ยี่ห้อ Whatman รุ่น Filter paper 70mm บริษัท GE Healthcase UK Limited, China

##### 17. ขวดรูปชมพู่

##### 18. หลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19. บีกเกอร์
20. กระบอกตวง
21. ปีเปต
22. ขวดปรับปริมาตร
23. แท่งแก้ว
24. ซ้อนตักสาร
25. ขวดสีชา

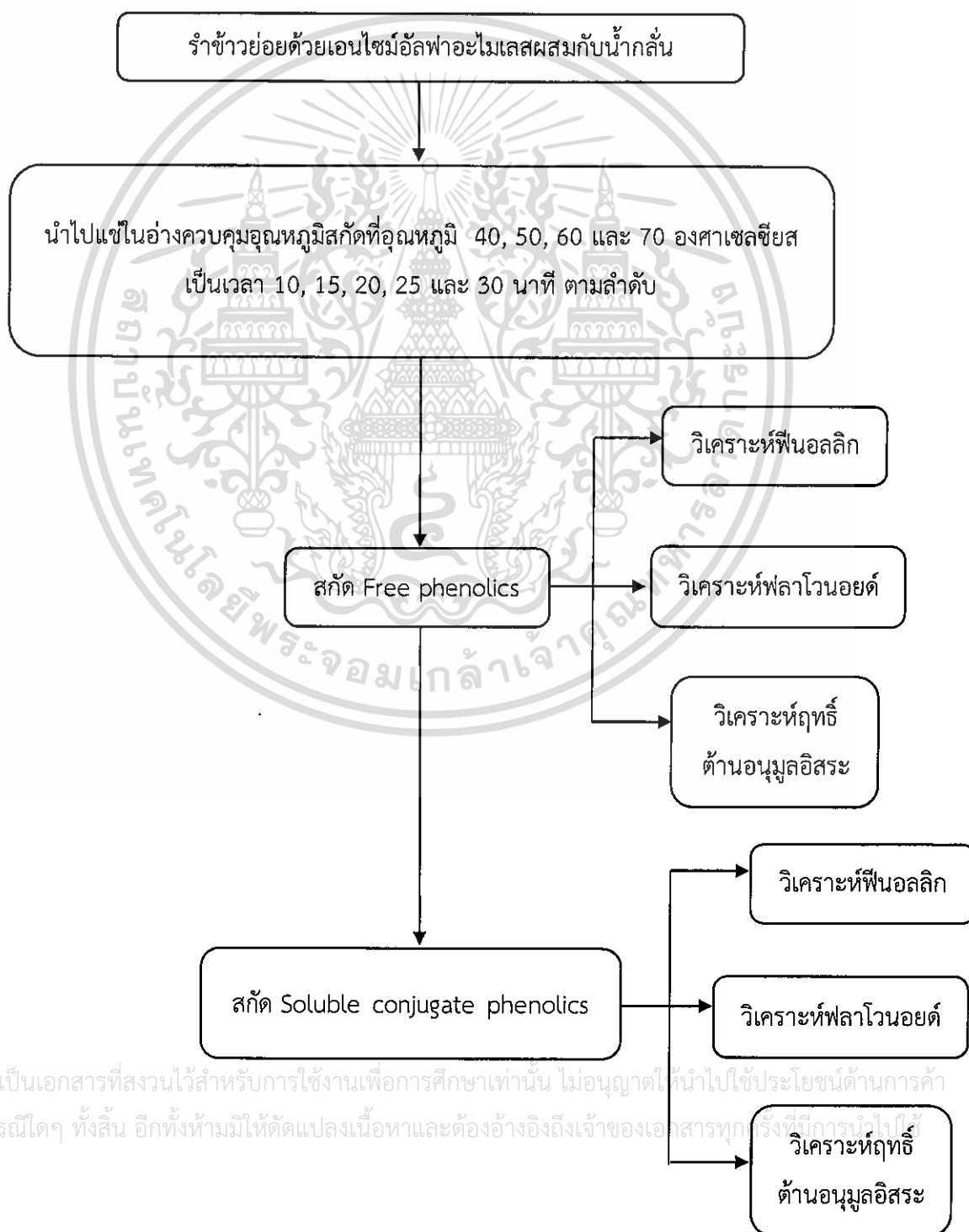
### 3.1.3 สารเคมี

1.  $\alpha$ -amylase ยี่ห้อ REACH บริษัท Reach biotechnology Co.,Ltd,Thailand
2. Methanol บริษัท Merck, Germany
3. ethanol ยี่ห้อ Pure Extra Neutral Alcohol บริษัท องค์การสุรา กรมสรรพสามิต ประเทศไทย
4. ethyl acetate ( $\text{CH}_3\text{COOC}_2\text{H}_5$ ) assay 99.9% ยี่ห้อ J.T. Baker บริษัท Avantor Performance Materials., Inc., USA
5. hydrochloric acid 36% (HCl) ยี่ห้อ Univar บริษัท Ajax Finechem pty Ltd, Australia
6. sodium acetate (NaAc)
7. acetic acid 100% (HAc) บริษัท VWR international S.A.S, EC
8. Aluminium Chloride hydrate ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ) ยี่ห้อ Univar บริษัท Ajax Finechem pty Ltd, Australia
9. sodium hydroxide 97% (NaOH) บริษัท Univar บริษัท Ajax Finechem pty Ltd, Australia
10. Sodium nitrite 99% ( $\text{NaNO}_2$ ) บริษัท Asia Pacific specialty chemical limited
11. Sodium acetate trihydrate 100.8% ยี่ห้อ Analar Normapor บริษัท VWR International bvba
12. Folin & Cioalteus phenol (Reagent AR) บริษัท Sisco Research Laboratories pvt Ltd.ยี่ห้อ SRL, India
13. Ferrous sulfate บริษัท Univar บริษัท Ajax Finechem pty Ltd, Australia
14. 2,4,6-Tris (2-pyridyl)-s-triazine 99% (TPTZ) ยี่ห้อ Flukar บริษัท Sigma-Alarich, Switzerland

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

15. 6-Hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) 97% (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid) ยี่ห้อ ALDRICH บริษัท Sigma-Alarich,Co., Russia
16. Ferric ยี่ห้อ Emsore บริษัท ACS, Rag ph Eur, Geramany
17. Gallic ยี่ห้อ Alorich บริษัท Sigma-Alorich, Germany
18. Quercetin ยี่ห้อ Sigma, USA

### 3.2 แผนผังการทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้ง

### 3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

#### 3.3.1 การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์ (ดัดแปลงจาก Liu และคณะ, 2017)

ย่อยรำข้าวโดยนำเอนไซม์  $\alpha$ -amylase 1 มิลลิลิตร (40,000 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) เจือจางด้วยน้ำกลั่น 60 มิลลิลิตร เกลบรำข้าว 40 กรัม ที่อยู่ในขวดรูปชมพู่คลุกเคล้าอย่างทั่วถึงปิดฝาขวดด้วยฟอยล์ จากนั้นนำรำข้าวไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิสกัดที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที ตามลำดับ รอให้รำข้าวเย็นให้อุณหภูมิลดเหลือประมาณ 35.5 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)

#### 3.3.2 สกัดสาร Free phenolics (ดัดแปลงจาก Liu และคณะ, 2017)

ชั่งรำข้าว 5 กรัม จากการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส ผสมกับน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ที่มี pH 3.0 สกัดด้วย Ethyl acetate ปริมาตร 50 มิลลิลิตร 2 ครั้ง จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Evaporator จนแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สารที่แห้งจะเติมเมทานอล 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ เพื่อให้ได้สาร free phenolics เทสารละลายใส่ขวดสีชาปิดฝาให้เรียบร้อยเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำตัวอย่างมาวิเคราะห์

#### 3.3.3 สกัดสาร Soluble conjugate phenolics (ดัดแปลงจาก Liu และคณะ, 2017)

ปิเปตสาร Free phenolics 3 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่มาเติม 2 โมลลาร์ของ Sodium hydroxide ปริมาตร 40 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 ชั่วโมง ปรับ pH เป็น 2.0 ด้วย 6 โมลลาร์ของ Hydrochloric acid สกัดด้วย Ethyl acetate ปริมาตร 50 มิลลิลิตร 2 ครั้ง จากนั้นนำไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง Evaporator จนแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สารที่แห้งจะเติม Methanol 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปกรองด้วยเครื่องกรองสุญญากาศ เพื่อให้ได้สาร Soluble conjugate phenolics เทสารละลายใส่ขวดสีชาปิดฝาให้เรียบร้อยเก็บตัวอย่างไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสจนกว่าจะนำตัวอย่างมาวิเคราะห์

#### 3.3.4 วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Liu และคณะ, 2017)

วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric นำสาร Free phenolics และ Soluble conjugate phenolics ตัวอย่างละ 125 ไมโครลิตร (วิเคราะห์ทีละตัวอย่าง) มาผสมกับน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร ต่อมาทำปฏิกิริยากับสารละลาย Folin-Ciocalteu ปริมาตร 125 ไมโครลิตร เป็นเวลา 6 นาที จากนั้นเติม 7% sodium carbonate ปริมาตร 125 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 3 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น บ่มในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ใช้เกลติกเป็นสารละลายมาตรฐานและมีหน่วยเป็นไมโครกรัมเกลติกต่อมิลลิลิตรของสารสกัด ( $\mu\text{g GAE/ml Extract}$ )

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.3.5 วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Liu และคณะ, 2017)

วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Colorimetric method นำสาร Free phenolics และ Soluble conjugate phenolics ตัวอย่างละ 300 ไมโครลิตร (วิเคราะห์ทีละตัวอย่าง) มาเจือจางด้วยน้ำกลั่น 1.5 มิลลิลิตร เติม 5% Sodium nitrite ปริมาตร 90 ไมโครลิตร เป็นเวลา 6 นาที เติม 10% Aluminium Chloride Hexahydrate ปริมาตร 180 ไมโครลิตร เป็นเวลา 5 นาที และเติม 1 โมลาร์ Sodium hydroxide ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 3 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ใช้ควอดริทอนเป็นสารละลายมาตรฐานและมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมควอดริทอนต่อมิลลิลิตรของสารสกัด ( $\mu\text{g QE/ml Extract}$ )

### 3.3.6 วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Liu และคณะ, 2017)

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay นำสาร Free phenolics และ Soluble conjugate phenolics ตัวอย่างละ 30 ไมโครลิตร (วิเคราะห์ทีละตัวอย่าง) ผสมน้ำกลั่นปริมาตร 90 ไมโครลิตร เติม FRAP ปริมาตร 900 ไมโครลิตร ปั่นในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นปิเปตลงใน 96-Well plate แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader ใช้ Trolox และ Ferrous sulfate เป็นสารละลายมาตรฐานและมีหน่วยเป็นไมโครกรัมโทรลอคต่อมิลลิลิตรของสารสกัด ( $\mu\text{g TE/ml Extract}$ ) และมีหน่วยเป็นมิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟส (mM)

### 3.2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลและความแปรปรวนโดย ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's multiple range tests (DMRT) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ (SPSS) program for Windows Version 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 4

### ผลการวิจัยและอภิปรายผล

#### 4.1 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด

##### 4.1.1 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัด Free phenolics

ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส แสดงผลดังตารางที่ 4.1 พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.1 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $239.1146 \pm 11.1458$  ไมโครกรัมแกลลิคต่อมิลลิลิตรสารสกัด นอกจากนี้ เวลาที่ใช้ในการสกัด 25 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับเวลา 10 และ 20 นาที ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.1 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $227.5174 \pm 2.1709$  ไมโครกรัมแกลลิคต่อมิลลิลิตรสารสกัด นอกจากนี้ เวลาที่ใช้ในการสกัด 25 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับเวลา 30 นาที ดังนั้นระยะเวลาในการบ่ม 25 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.1 และพบว่าที่เวลา 15 นาที ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $272.3438 \pm 12.6776$  ไมโครกรัมแกลลิคต่อมิลลิลิตรสารสกัด นอกจากนี้ เวลาที่ใช้ในการสกัด 25 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับเวลา 30 นาที ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 25 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.1 และพบว่าที่เวลา 10 นาที ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $228.5938 \pm 6.9597$  ไมโครกรัมแกลลิคต่อมิลลิลิตรสารสกัด นอกจากนี้ เวลาที่ใช้ในการสกัด 10 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับเวลา 20 นาที ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการใช้ยอยรำข้าวด้วยเอนไซม์ อัลฟาอะไมเลส

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้น จะเปรียบเทียบผลอุณหภูมิที่มีผลต่อการยอยรำข้าวที่เวลา 10 นาที เนื่องจากที่ระยะเวลา 10 นาที โดยส่วนมากเกือบทุกอุณหภูมิให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากและ ใช้เวลาน้อย พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด คือ  $236.6840 \pm 0.7887$  ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับอุณหภูมิ 60 และ 70 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พอเพียงพอต่อการใช้ยอยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

ตารางที่ 4.1 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ในสาร Free phenolics เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่าง ๆ กัน

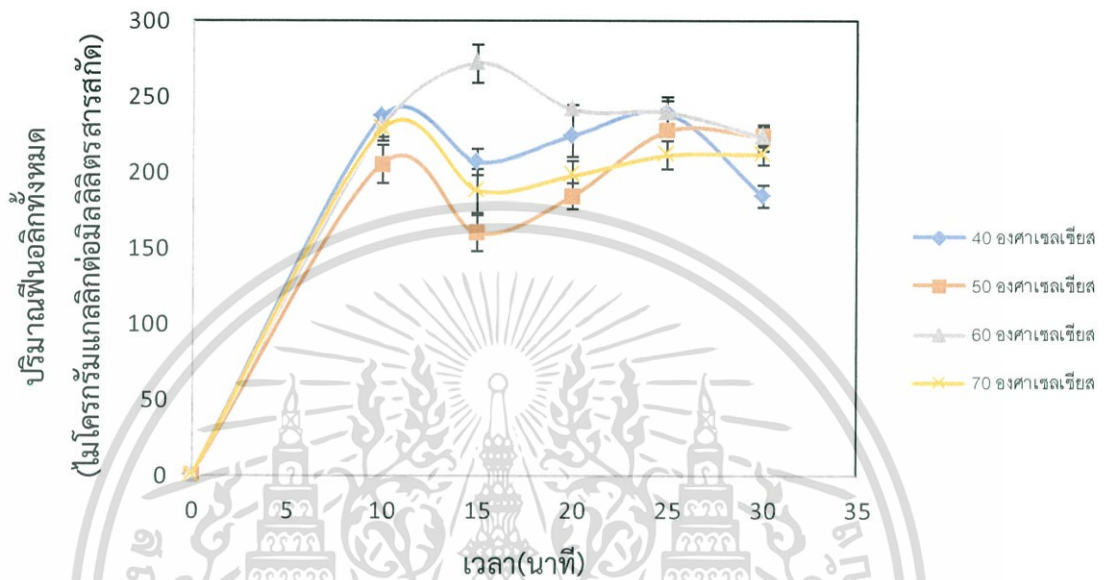
| อุณหภูมิ<br>(องศาเซลเซียส) | เวลา (นาที) | ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเฉลี่ย $\pm$ SD<br>( $\mu\text{g GAE/ml extract}$ ) |
|----------------------------|-------------|---|
| 40                         | 10          | $236.6840 \pm 0.7887^{a,A}$   |
|                            | 15          | $206.9618 \pm 8.3932^{b,B}$   |
|                            | 20          | $224.2535 \pm 13.8711^{a,A}$  |
|                            | 25          | $239.1146 \pm 11.1458^{a,A}$  |
|                            | 30          | $236.6840 \pm 0.7887^{b,C}$   |
| 50                         | 10          | $205.7465 \pm 13.1965^{b,B}$  |
|                            | 15          | $159.9826 \pm 12.1658^{c,D}$  |
|                            | 20          | $184.3229 \pm 8.7003^{b,C}$   |
|                            | 25          | $227.5174 \pm 2.1709^{a,A}$   |
|                            | 30          | $223.9757 \pm 6.4720^{a,A}$   |
| 60                         | 10          | $230.2604 \pm 7.1950^{a,BC}$  |
|                            | 15          | $272.3438 \pm 12.6776^{a,A}$  |
|                            | 20          | $241.8576 \pm 3.4959^{b,B}$   |
|                            | 25          | $239.6701 \pm 7.6867^{b,B}$   |
|                            | 30          | $223.4201 \pm 8.7359^{a,c}$   |
| 70                         | 10          | $228.5938 \pm 6.9597^{a,A}$   |
|                            | 15          | $188.2813 \pm 14.6620^{b,C}$  |
|                            | 20          | $197.8299 \pm 9.3230^{b,BC}$  |
|                            | 25          | $211.4063 \pm 9.1897^{b,AB}$  |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่ควรนำข้อมูลไปใช้โดยไม่ได้รับความยินยอมจากเจ้าของลิขสิทธิ์

|  |    |                              |
|--|----|------------------------------|
|  | 30 | $211.8924 \pm 6.4720^{a,AB}$ |
|--|----|------------------------------|

หมายเหตุ : a, b และ c คือ ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของอุณหภูมิ ณ เวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

A, B, C และ D คือ ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของเวลา ณ อุณหภูมิเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%



รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด Free phenolics กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

#### 4.1.2 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัด Soluble conjugate phenolics

ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส แสดงผลดังตารางที่ 4.2 พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.2 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $27.0313 \pm 2.2414$  ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 25 นาที เพียงพอต่อการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.2 และพบว่าที่เวลา 30 นาที ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $26.8576 \pm 0.3007$  ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะ

ไมเลส

เอกสารนี้ได้รับการสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่แสดงดังรูปที่ 4.2 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $29.3576 \pm 1.5946$  ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารสกัด อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 25 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่แสดงดังรูปที่ 4.2 และพบว่าที่เวลา 20 นาที ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $23.3507 \pm 1.069$  ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารสกัด นอกจากนี้ เวลาที่ใช้ในการสกัด 20 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับเวลา 10 นาที ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

จากข้อมูลดังกล่าวมาข้างต้น จะเปรียบเทียบผลอุณหภูมิที่มีผลต่อการย่อยที่เวลา 15 นาที เนื่องจากที่ระยะเวลา 15 นาที โดยส่วนมากเกือบทุกอุณหภูมิให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากและใช้เวลาน้อย พบว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด คือ  $25.9896 \pm 0.6250$  ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับอุณหภูมิ 60 และ 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พอเพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

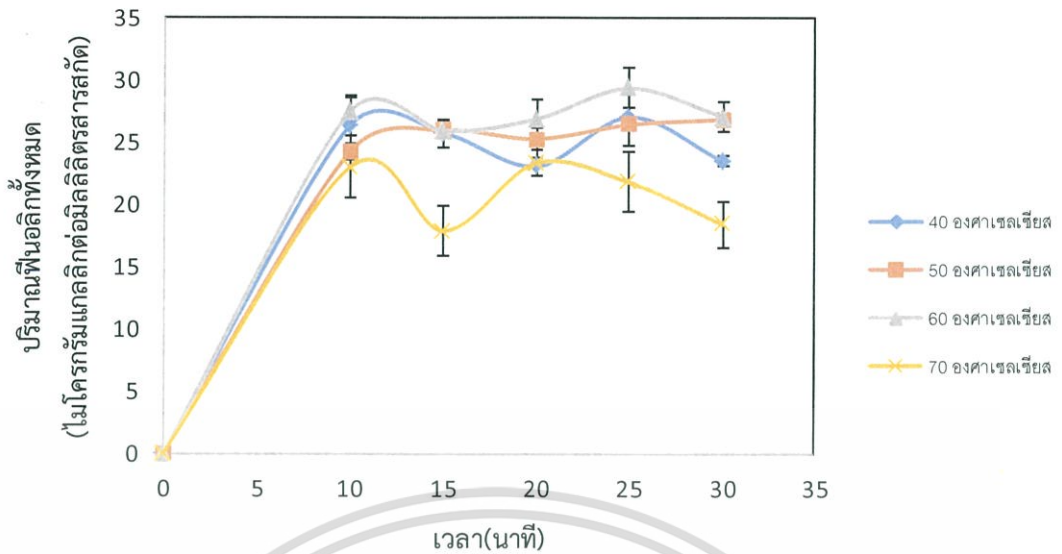
ตารางที่ 4.2 ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ในสาร Soluble conjugate phenolics เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆกัน

| อุณหภูมิ<br>(องศาเซลเซียส) | เวลา (นาที) | ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด $\pm$ SD<br>( $\mu\text{g}$ GAE/ml extract) |
|----------------------------|-------------|--|
| 40                         | 10          | 26.3715 $\pm$ 2.2470 <sup>ab,AB</sup>                            |
|                            | 15          | 25.7465 $\pm$ 1.1040 <sup>a,ABC</sup>                            |
|                            | 20          | 23.0729 $\pm$ 0.7864 <sup>c,C</sup>                              |
|                            | 25          | 27.0313 $\pm$ 2.2414 <sup>a,A</sup>                              |
|                            | 30          | 23.4896 $\pm$ 0.3756 <sup>b,BC</sup>                             |
| 50                         | 10          | 24.2882 $\pm$ 0.6697 <sup>ab,C</sup>                             |
|                            | 15          | 25.9896 $\pm$ 0.6250 <sup>a,AB</sup>                             |
|                            | 20          | 25.2951 $\pm$ 0.8355 <sup>ab,BC</sup>                            |
|                            | 25          | 26.4410 $\pm$ 0.1203 <sup>a,AB</sup>                             |
|                            | 30          | 26.8576 $\pm$ 0.3007 <sup>a,A</sup>                              |
| 60                         | 10          | 27.5174 $\pm$ 1.1983 <sup>a,AB</sup>                             |
|                            | 15          | 25.9201 $\pm$ 0.3007 <sup>a,B</sup>                              |
|                            | 20          | 26.8924 $\pm$ 1.5179 <sup>a,B</sup>                              |
|                            | 25          | 29.3576 $\pm$ 1.5946 <sup>a,A</sup>                              |
|                            | 30          | 27.0660 $\pm$ 1.1615 <sup>a,AB</sup>                             |
| 70                         | 10          | 23.0382 $\pm$ 2.4855 <sup>c,A</sup>                              |
|                            | 15          | 17.8993 $\pm$ 1.9553 <sup>b,C</sup>                              |
|                            | 20          | 23.3507 $\pm$ 1.069 <sup>bc,A</sup>                              |
|                            | 25          | 21.7882 $\pm$ 2.4214 <sup>b,AB</sup>                             |
|                            | 30          | 18.4201 $\pm$ 1.8409 <sup>c,BC</sup>                             |

หมายเหตุ : a, b และ c คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของอุณหภูมิ ณ เวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

A, B และ C คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของเวลา ณ อุณหภูมิเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัด Soluble conjugate phenolics กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

#### 4.2 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

##### 4.2.1 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัด Free phenolics

ผลการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส แสดงผลดังตารางที่ 4.3 พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.3 และพบว่าที่เวลา 20 นาที ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $419.2407 \pm 13.9812$  ไมโครกรัมแควอซิทินต่อมิลลิลิตรสารสกัด นอกจากนี้ เวลาที่ใช้ในการสกัด 20 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับเวลา 30 นาที ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 20 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.3 และพบว่าที่เวลา 30 นาที ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $436.4630 \pm 18.1075$  ไมโครกรัมแควอซิทินต่อมิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 30 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลง แสดงดังรูปที่ 4.3 และพบว่าที่เวลา 15 นาที ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $506.2778 \pm 87.0947$  ไมโครกรัมแกลิกตอมีลลิตรสารสกัด นอกจากนี้ เวลาที่ใช้ในการสกัด 15 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับเวลา 10 นาที ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แสดงดังรูปที่ 4.3 และพบว่าที่เวลา 10 นาที ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $580.3519 \pm 21.9731$  ไมโครกรัมเคอซิทินต่อมิลลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการบ่ม 10 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้น จะเปรียบเทียบผลอุณหภูมิที่มีผลต่อการย่อยที่เวลา 15 นาที เนื่องจากที่ระยะเวลา 15 นาที โดยส่วนมากเกือบทุกอุณหภูมิให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากและใช้เวลาน้อย พบว่าที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด คือ  $506.2778 \pm 87.0947$  ไมโครกรัมเคอซิทินต่อมิลลิตรสารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับอุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พอเพียงพอเพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

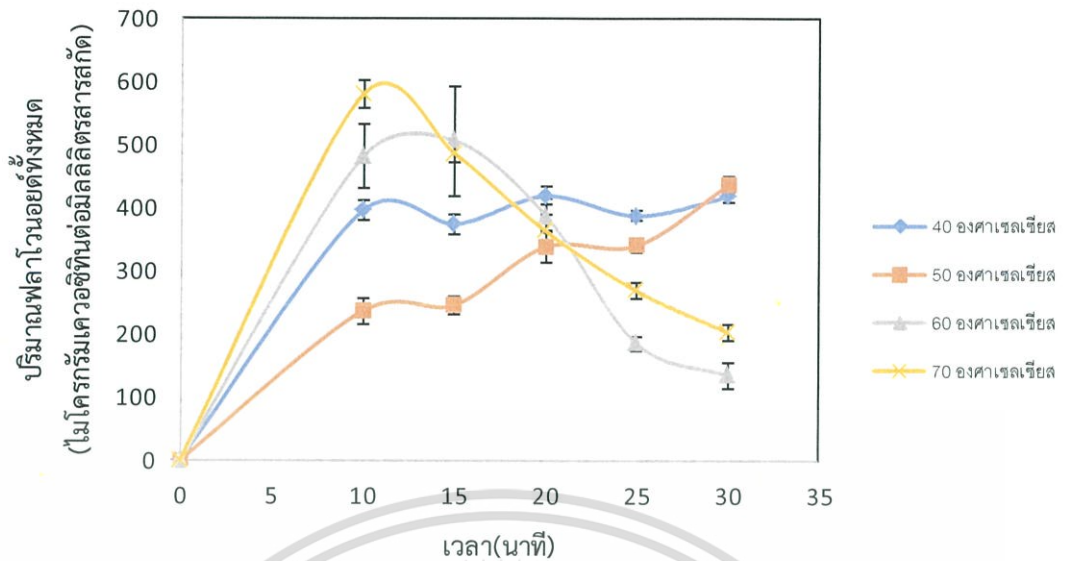
ตารางที่ 4.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สกัดได้ในสาร Free phenolics เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆกัน

| อุณหภูมิ<br>(องศาเซลเซียส) | เวลา (นาท) | ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด $\pm$ SD<br>( $\mu\text{g}$ QE/ml extract) |
|----------------------------|------------|--|
| 40                         | 10         | 396.0926 $\pm$ 15.0855 <sup>c,AB</sup>                             |
|                            | 15         | 374.4259 $\pm$ 16.5210 <sup>b,B</sup>                              |
|                            | 20         | 419.2407 $\pm$ 13.9812 <sup>a,A</sup>                              |
|                            | 25         | 387.9444 $\pm$ 8.7312 <sup>a,B</sup>                               |
|                            | 30         | 418.3148 $\pm$ 8.3580 <sup>a,A</sup>                               |
| 50                         | 10         | 236.2778 $\pm$ 13.4830 <sup>d,C</sup>                              |
|                            | 15         | 246.0926 $\pm$ 3.0598 <sup>c,C</sup>                               |
|                            | 20         | 338.6852 $\pm$ 2.6255 <sup>c,B</sup>                               |
|                            | 25         | 341.2778 $\pm$ 0.5556 <sup>b,B</sup>                               |
|                            | 30         | 436.4630 $\pm$ 18.1075 <sup>a,A</sup>                              |
| 60                         | 10         | 481.2778 $\pm$ 50.5556 <sup>b,A</sup>                              |
|                            | 15         | 506.2778 $\pm$ 87.0947 <sup>a,A</sup>                              |
|                            | 20         | 388.1296 $\pm$ 27.4668 <sup>ab,b</sup>                             |
|                            | 25         | 185.7222 $\pm$ 12.0313 <sup>d,C</sup>                              |
|                            | 30         | 134.9815 $\pm$ 20.1410 <sup>c,C</sup>                              |
| 70                         | 10         | 580.3519 $\pm$ 21.9731 <sup>a,A</sup>                              |
|                            | 15         | 486.4630 $\pm$ 14.7231 <sup>a,B</sup>                              |
|                            | 20         | 363.8704 $\pm$ 24.7227 <sup>bc,C</sup>                             |
|                            | 25         | 269.0556 $\pm$ 11.8243 <sup>c,D</sup>                              |
|                            | 30         | 203.6852 $\pm$ 12.2516 <sup>b,E</sup>                              |

หมายเหตุ : a, b, c และ d คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของอุณหภูมิ ณ เวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

A, B, C, D และ E คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของเวลา ณ อุณหภูมิเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัด Free phenolics กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

#### 4.2.2 ผลของเวลาและอุณหภูมิในการสกัด Soluble conjugate phenolics

ผลการศึกษการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสแสดงผลดังตารางที่ 4.4 พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้น ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.4 และพบว่าที่เวลา 10 นาที ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $65.9074 \pm 1.7859$  ไมโครกรัมแควอซิทินต่อมิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้น ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.4 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $72.5741 \pm 1.6973$  ไมโครกรัมแควอซิทินต่อมิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 25 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.4 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $152.3889 \pm 4.7467$  ไมโครกรัม แกลกติกต่อมิลลิลิตรสารสกัด นอกจากนี้ เวลาที่ใช้ในการสกัด 25 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับเวลา 10 นาที ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.4 และพบว่าที่เวลา 20 นาที ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $123.3148 \pm 23.8975$  ไมโครกรัมแควอซิทินต่อมิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 20 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

จากข้อมูลทีกล่าวมาข้างต้น จะเปรียบเทียบผลอุณหภูมิที่มีผลต่อการย่อยที่เวลา 15 นาที เนื่องจากที่ระยะเวลา 15 นาที โดยส่วนมากเกือบทุกอุณหภูมิให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากและใช้เวลาน้อย พบว่าที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด คือ  $95.1667 \pm 11.6402$  ไมโครกรัมแควอซิทินต่อมิลลิลิตรสารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส พอเพียงพอเพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

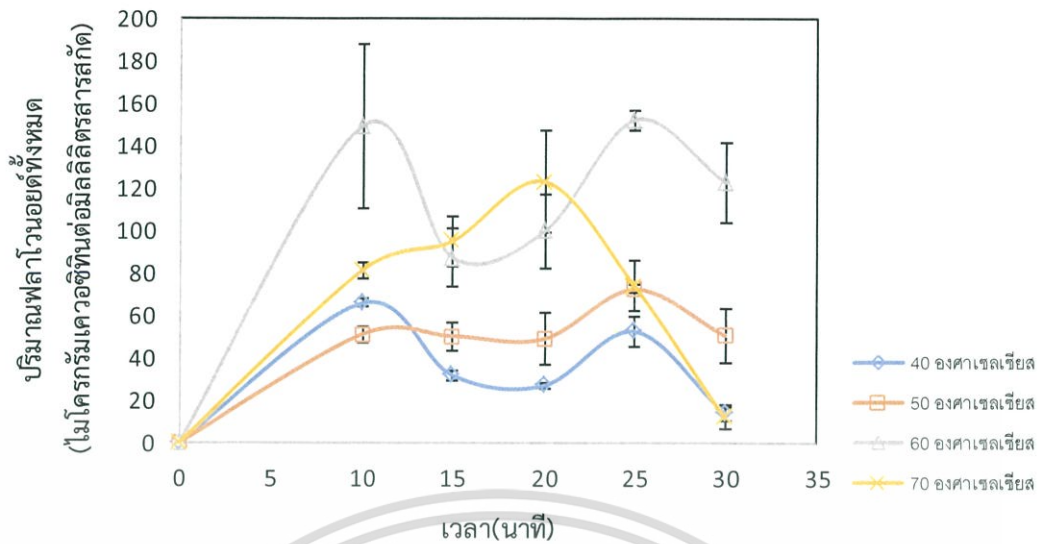
ตารางที่ 4.4 ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สกัดได้ในสาร Soluble conjugate phenolics เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆกัน

| อุณหภูมิ<br>(องศาเซลเซียส) | เวลา (นาที) | ค่าเฉลี่ยปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด $\pm$ SD<br>( $\mu\text{g}$ QE/ml extract) |
|----------------------------|-------------|---|
| 40                         | 10          | 65.9074 $\pm$ 1.7859 <sup>b,A</sup>   |
|                            | 15          | 32.0185 $\pm$ 2.5051 <sup>c,C</sup>   |
|                            | 20          | 27.2037 $\pm$ 1.6038 <sup>b,C</sup>   |
|                            | 25          | 52.7593 $\pm$ 7.2507 <sup>c,B</sup>   |
|                            | 30          | 14.2407 $\pm$ 4.0190 <sup>c,U</sup>   |
| 50                         | 10          | 51.2778 $\pm$ 3.8889 <sup>b,B</sup>   |
|                            | 15          | 50.5370 $\pm$ 6.4868 <sup>b,B</sup>   |
|                            | 20          | 49.2407 $\pm$ 12.5010 <sup>b,B</sup>  |
|                            | 25          | 72.5741 $\pm$ 1.6973 <sup>b,A</sup>   |
|                            | 30          | 50.9074 $\pm$ 12.9139 <sup>b,B</sup>  |
| 60                         | 10          | 149.6111 $\pm$ 38.5541 <sup>a,A</sup>                                       |
|                            | 15          | 87.3889 $\pm$ 13.6874 <sup>a,B</sup>  |
|                            | 20          | 99.9815 $\pm$ 17.3413 <sup>a,B</sup>  |
|                            | 25          | 152.3889 $\pm$ 4.7467 <sup>a,A</sup>  |
|                            | 30          | 122.9444 $\pm$ 18.8152 <sup>a,AB</sup>                                      |
| 70                         | 10          | 81.2778 $\pm$ 3.3793 <sup>b,B</sup>   |
|                            | 15          | 95.1667 $\pm$ 11.6402 <sup>a,B</sup>  |
|                            | 20          | 123.3148 $\pm$ 23.8975 <sup>a,A</sup>                                       |
|                            | 25          | 74.2407 $\pm$ 12.0740 <sup>b,B</sup>  |
|                            | 30          | 12.2037 $\pm$ 5.0410 <sup>c,L</sup>   |

หมายเหตุ : a, b และ c คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของอุณหภูมิ ณ เวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

A, B, C และ D คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของเวลา ณ อุณหภูมิเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัด Soluble conjugate phenolics กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด

### 4.3 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.3.1 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัด Free phenolics (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานโทโรลิก)

ผลการศึกษาผลอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส แสดงผลดังตารางที่ 4.5 พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.5 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $81.1833 \pm 3.1353$  ไมโครกรัมโทโรลิกต่อมิลลิตรสารสกัด นอกจากนี้ เวลาที่ใช้ในการสกัด 25 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับเวลา 10 นาที ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.5 และพบว่าที่เวลา 30 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $55.0418 \pm 4.2155$  ไมโครกรัมโทโรลิกต่อมิลลิตรสารสกัด ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการบ่ม 30 นาที ใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.5 และพบว่าใช้เวลา 10 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $51.1297 \pm 6.0161$  ไมโครกรัมโทรลล็อกต่อมิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการสกัด 10 นาที ใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.5 และพบว่าใช้เวลา 25 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $47.0247 \pm 1.5114$  ไมโครกรัมโทรลล็อกต่อมิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 25 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้น จะเปรียบเทียบผลอุณหภูมิที่มีผลต่อการย่อยที่เวลา 15 นาที เนื่องจากที่ระยะเวลา 15 นาที โดยส่วนมากเกือบทุกอุณหภูมิให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากและใช้เวลา น้อย พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ  $55.2026 \pm 3.6030$  ไมโครกรัมโทรลล็อกต่อมิลลิลิตรสารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับอุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พอเพียงพอเพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

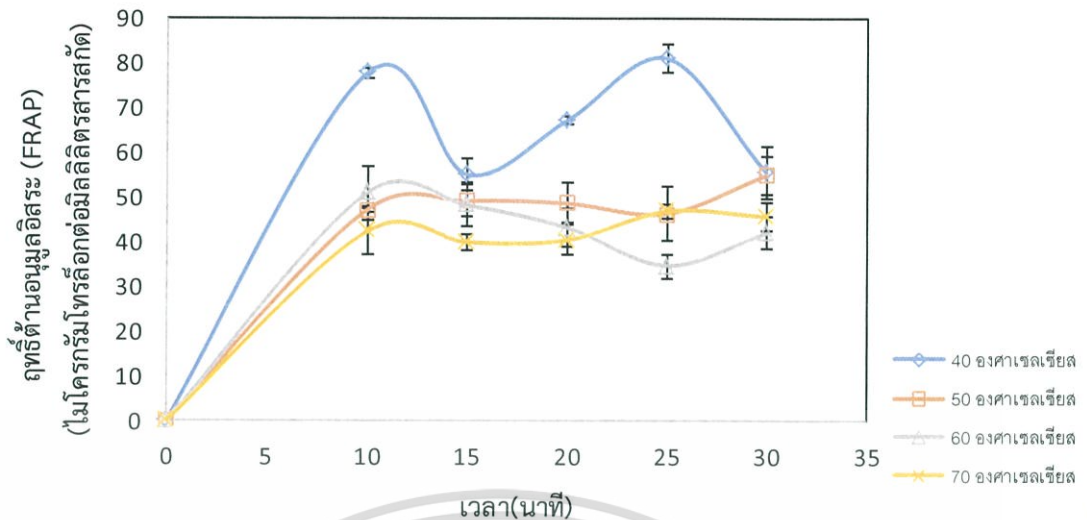
ตารางที่ 4.5ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ในสาร Free phenolics บ่มที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่าง ๆ กัน (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานโพลีฟีนอล)

| อุณหภูมิ<br>(องศาเซลเซียส) | เวลา (นาที) | ค่าเฉลี่ยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $\pm$ SD<br>( $\mu\text{g TE/ml extract}$ ) |
|----------------------------|-------------|---|
| 40                         | 10          | 78.0000 $\pm$ 1.1097 <sup>a,A</sup>                                       |
|                            | 15          | 55.2026 $\pm$ 3.6030 <sup>a,C</sup>                                       |
|                            | 20          | 67.3462 $\pm$ 0.7905 <sup>a,B</sup>                                       |
|                            | 25          | 81.1833 $\pm$ 3.1353 <sup>a,A</sup>                                       |
|                            | 30          | 55.6956 $\pm$ 5.6796 <sup>a,C</sup>                                       |
| 50                         | 10          | 47.3569 $\pm$ 0.6527 <sup>bc,AB</sup>                                     |
|                            | 15          | 49.2862 $\pm$ 3.5630 <sup>a,AB</sup>                                      |
|                            | 20          | 48.8039 $\pm$ 4.4192 <sup>b,AB</sup>                                      |
|                            | 25          | 46.4887 $\pm$ 6.1606 <sup>b,B</sup>                                       |
|                            | 30          | 55.0418 $\pm$ 4.2155 <sup>a,A</sup>                                       |
| 60                         | 10          | 51.1297 $\pm$ 6.0161 <sup>b,A</sup>                                       |
|                            | 15          | 48.3751 $\pm$ 4.8976 <sup>a,AB</sup>                                      |
|                            | 20          | 43.3162 $\pm$ 4.3027 <sup>bc,AB</sup>                                     |
|                            | 25          | 34.8596 $\pm$ 2.6691 <sup>c,C</sup>                                       |
|                            | 30          | 42.0943 $\pm$ 3.5418 <sup>bc,BC</sup>                                     |
| 70                         | 10          | 42.4909 $\pm$ 5.2005 <sup>c,AB</sup>                                      |
|                            | 15          | 40.0900 $\pm$ 1.7691 <sup>b,B</sup>                                       |
|                            | 20          | 40.6152 $\pm$ 3.4602 <sup>c,AB</sup>                                      |
|                            | 25          | 47.0247 $\pm$ 1.5114 <sup>b,A</sup>                                       |
|                            | 30          | 45.8992 $\pm$ 3.1285 <sup>d,AB</sup>                                      |

หมายเหตุ : a, b และ c คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของอุณหภูมิ ณ เวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

A, B และ C คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของเวลา ณ อุณหภูมิเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Free phenolics กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานโพลีฟีนอล)

#### 4.3.2 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัด Soluble conjugate phenolics (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานโพลีฟีนอล)

ผลการศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่มีผลการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส แสดงผลดังตารางที่ 4.6 พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้น ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.6 และพบว่าที่เวลา 10 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $5.4812 \pm 0.9243$  ไมโครกรัมโพลีฟีนอลต่อมิลลิกรัมสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.6 และพบว่าที่เวลา 15 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $4.5916 \pm 1.3721$  ไมโครกรัมโพลีฟีนอลต่อมิลลิกรัมสารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการสกัด 10 นาที ใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.6 และพบว่าที่เวลา 10 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $4.1308 \pm 0.9187$  ไมโครกรัมโพลีฟีนอลต่อมิลลิลิตร สารสกัด ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการบ่ม 10 นาที ใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.6 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $3.1554 \pm 0.4436$  ไมโครกรัมโพลีฟีนอลต่อมิลลิลิตร สารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 25 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

จากข้อมูลทีกล่าวมาข้างต้น จะเปรียบเทียบผลอุณหภูมิที่มีผลต่อการย่อยที่เวลา 25 นาที เนื่องจากที่ระยะเวลา 25 นาที ทุกอุณหภูมิให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาก พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ  $4.1093 \pm 0.8090$  ไมโครกรัมโพลีฟีนอลต่อมิลลิลิตร สารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับอุณหภูมิ 60, 70 และ 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พอเพียงพอเพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

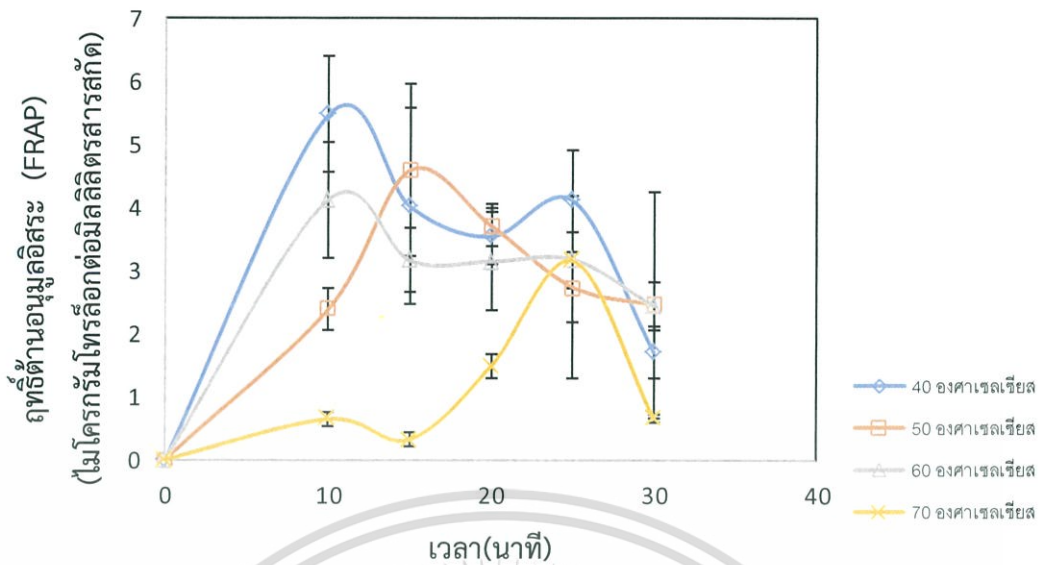
ตารางที่ 4.6ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ในสาร Soluble conjugate phenolics เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่าง ๆ กัน (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานโพลีฟีนอล)

| อุณหภูมิ<br>(องศาเซลเซียส) | เวลา (นาที) | ค่าเฉลี่ยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $\pm$ SD<br>( $\mu\text{g TE/ml extract}$ ) |
|----------------------------|-------------|---|
| 40                         | 10          | $5.4812 \pm 0.9243^{a,A}$   |
|                            | 15          | $4.0129 \pm 1.5524^{a,AB}$  |
|                            | 20          | $3.5413 \pm 0.4517^{a,B}$   |
|                            | 25          | $4.1093 \pm 0.8090^{a,AB}$  |
|                            | 30          | $1.7085 \pm 0.4197^{a,C}$   |
| 50                         | 10          | $2.3944 \pm 0.3221^{c,A}$   |
|                            | 15          | $4.5916 \pm 1.3721^{a,A}$   |
|                            | 20          | $3.7128 \pm 0.3300^{a,A}$   |
|                            | 25          | $2.7374 \pm 1.4545^{a,A}$   |
|                            | 30          | $2.4587 \pm 1.7973^{a,A}$   |
| 60                         | 10          | $4.1308 \pm 0.9187^{b,A}$   |
|                            | 15          | $3.1554 \pm 0.5108^{a,AB}$  |
|                            | 20          | $3.1447 \pm 0.7724^{a,AB}$  |
|                            | 25          | $3.1768 \pm 1.0071^{a,AB}$  |
|                            | 30          | $2.4373 \pm 0.3912^{a,B}$   |
| 70                         | 10          | $0.6474 \pm 0.1129^{d,C}$   |
|                            | 15          | $0.3258 \pm 0.1217^{d,C}$   |
|                            | 20          | $1.4834 \pm 0.1884^{b,B}$   |
|                            | 25          | $3.1554 \pm 0.4436^{a,A}$   |
|                            | 30          | $0.6581 \pm 0.0669^{a,C}$   |

หมายเหตุ : a, b, c และ d คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของอุณหภูมิ ณ เวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

A, B และ C คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของเวลา ณ อุณหภูมิเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Soluble conjugate phenolics กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐาน โทรล็อก)

4.3.3 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัด Free phenolics (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต)

ผลการศึกษาผลอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส แสดงผลดังตารางที่ 4.7 พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.7 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $0.7260 \pm 0.0257$  มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อมิลลิลิตรสารสกัด นอกจากนี้ เวลาที่ใช้ในการสกัด 25 นาที ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับเวลา 10 นาที ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.7 และพบว่าที่เวลา 30 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $0.5115 \pm 0.0346$  มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อมิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการสกัด 30 นาที ใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.7 และพบว่าที่เวลา 10 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $0.4794 \pm 0.0493$  มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อ มิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการสกัด 10 นาที ใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.7 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $0.4458 \pm 0.0124$  มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อ มิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 25 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

จากข้อมูลที่กล่าวมาข้างต้น จะเปรียบเทียบผลอุณหภูมิที่มีผลต่อการย่อยที่เวลา 15 นาที เนื่องจากที่ระยะเวลา 15 นาที โดยส่วนมากเกือบทุกอุณหภูมิให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากและใช้เวลาน้อย พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ  $0.5128 \pm 0.0296$  มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อมิลลิลิตรสารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับอุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พอเพียงพอเพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

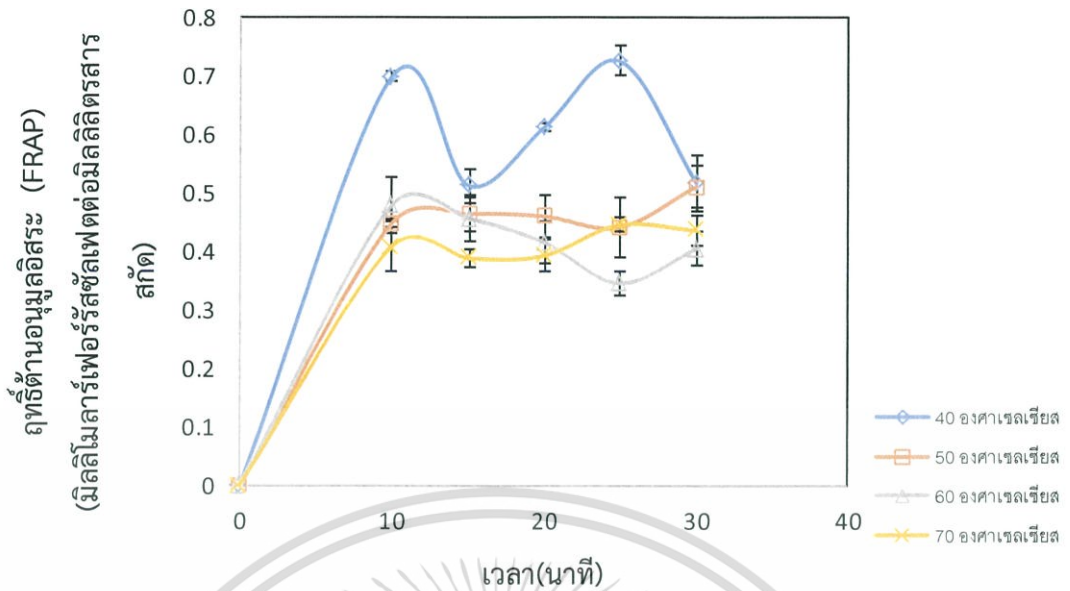
ตารางที่ 4.7 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ในสาร Free phenolics เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่าง ๆ กัน (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต)

| อุณหภูมิ<br>(องศาเซลเซียส) | เวลา (นาที) | ค่าเฉลี่ยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $\pm$ SD<br>(mM FES /ml extract) |
|----------------------------|-------------|--|
| 40                         | 10          | $0.6998 \pm 0.0091^{a,A}$                                      |
|                            | 15          | $0.5128 \pm 0.0296^{a,C}$                                      |
|                            | 20          | $0.6125 \pm 0.0065^{a,B}$                                      |
|                            | 25          | $0.7260 \pm 0.0257^{a,A}$                                      |
|                            | 30          | $0.5169 \pm 0.0466^{a,C}$                                      |
| 50                         | 10          | $0.4485 \pm 0.0054^{bc,AB}$                                    |
|                            | 15          | $0.4643 \pm 0.0292^{a,AB}$                                     |
|                            | 20          | $0.4604 \pm 0.0362^{b,AB}$                                     |
|                            | 25          | $0.4414 \pm 0.050^{b,B}$                                       |
|                            | 30          | $0.5115 \pm 0.0346^{a,A}$                                      |
| 60                         | 10          | $0.4794 \pm 0.0493^{b,A}$                                      |
|                            | 15          | $0.4568 \pm 0.0402^{a,AB}$                                     |
|                            | 20          | $0.4153 \pm 0.0353^{bc,AB}$                                    |
|                            | 25          | $0.3460 \pm 0.0219^{c,C}$                                      |
|                            | 30          | $0.4053 \pm 0.0291^{c,BC}$                                     |
| 70                         | 10          | $0.4086 \pm 0.0427^{c,AB}$                                     |
|                            | 15          | $0.3889 \pm 0.0145^{b,B}$                                      |
|                            | 20          | $0.3932 \pm 0.0284^{c,AB}$                                     |
|                            | 25          | $0.4458 \pm 0.0124^{b,A}$                                      |
|                            | 30          | $0.4365 \pm 0.0257^{b,AB}$                                     |

หมายเหตุ : a, b และ c คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของอุณหภูมิ ณ เวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

A, B และ C คือ ตัวอักษรที่แตกต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของเวลา ณ อุณหภูมิเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Free phenolics กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเพอร์รัสซัลเฟต)

#### 4.3.4 ผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัด Soluble conjugate phenolics (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเพอร์รัสซัลเฟต)

ผลการศึกษาอุณหภูมิและเวลาที่มีผลต่อการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส แสดงผลดังตารางที่ 4.8 พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.8 และพบว่าที่เวลา 10 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $0.1055 \pm 0.0070$  มิลลิโมลาร์เพอร์รัสซัลเฟตต่อมิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 10 นาที เพียงพอต่อการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.8 และพบว่าที่เวลา 15 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $0.0981 \pm 0.0105$  มิลลิโมลาร์เพอร์รัสซัลเฟตต่อมิลลิลิตรสารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการสกัด 10 นาที ใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.8 และพบว่าที่เวลา 10 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $0.0944 \pm 0.0068$  มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อ มิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นจึงเลือกระยะเวลาในการสกัด 10 นาที ใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

การย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส สกัดด้วยเวลาต่างๆ เมื่อเวลาที่ใช้ในการสกัดมากขึ้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเล็กน้อยในช่วงแรกและคงที่ แสดงดังรูปที่ 4.8 และพบว่าที่เวลา 25 นาที ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดอื่นๆ คือ  $0.0864 \pm 0.0032$  มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อ มิลลิลิตรสารสกัด ดังนั้นระยะเวลาในการสกัด 25 นาที เพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

จากข้อมูลทีกล่าวมาข้างต้น จะเปรียบเทียบผลอุณหภูมิที่มีผลต่อการย่อยที่เวลา 25 นาที เนื่องจากที่ระยะเวลา 25 นาที ทุกอุณหภูมิให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมาก พบว่าที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ  $0.0943 \pm 0.0071$  มิลลิโมลาร์เฟอร์รัสซัลเฟตต่อ มิลลิลิตรสารสกัด ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับอุณหภูมิ 60, 70 และ 40 องศาเซลเซียส ดังนั้นที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พอเพียงพอเพียงพอต่อการใช้ย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์อัลฟาอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

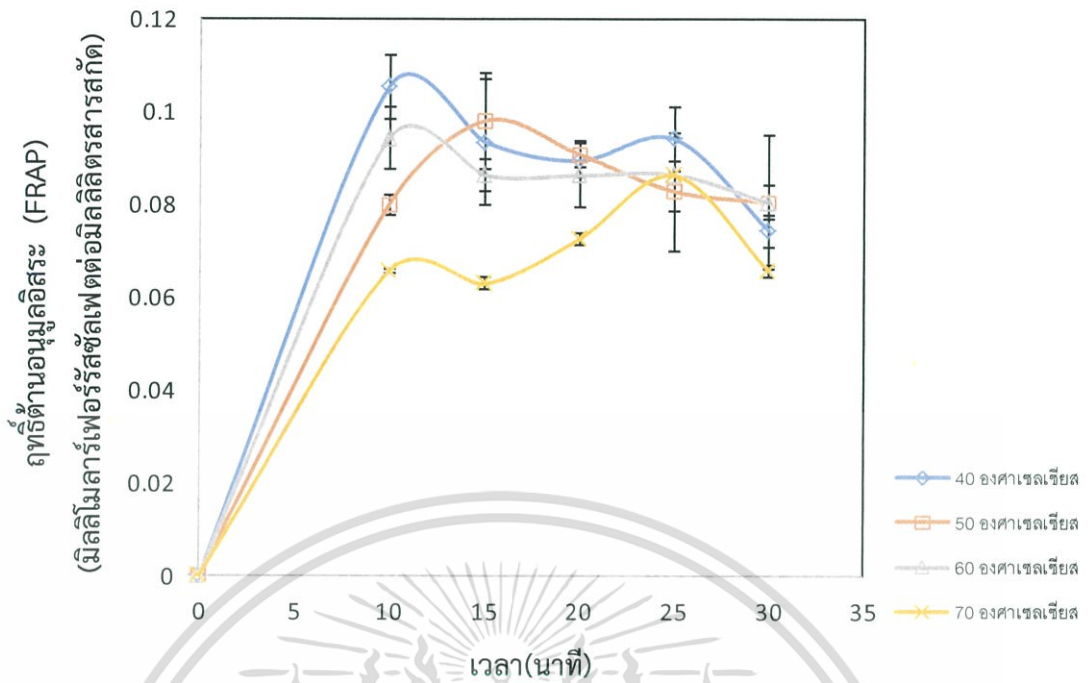
ตารางที่ 4.8 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สกัดได้ในสาร Soluble conjugate phenolics เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาต่างๆกัน (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต)

| อุณหภูมิ<br>(องศาเซลเซียส) | เวลา (นาที) | ค่าเฉลี่ยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $\pm$ SD<br>(mM FES /ml extract) |
|----------------------------|-------------|--|
| 40                         | 10          | 0.1055 $\pm$ 0.0070 <sup>a,A</sup>                             |
|                            | 15          | 0.0935 $\pm$ 0.0137 <sup>a,AB</sup>                            |
|                            | 20          | 0.0896 $\pm$ 0.0037 <sup>a,B</sup>                             |
|                            | 25          | 0.0943 $\pm$ 0.0071 <sup>a,AB</sup>                            |
|                            | 30          | 0.0744 $\pm$ 0.0033 <sup>a,C</sup>                             |
| 50                         | 10          | 0.0801 $\pm$ 0.0021 <sup>c,A</sup>                             |
|                            | 15          | 0.0981 $\pm$ 0.0105 <sup>a,A</sup>                             |
|                            | 20          | 0.0910 $\pm$ 0.0026 <sup>a,A</sup>                             |
|                            | 25          | 0.0830 $\pm$ 0.0127 <sup>a,A</sup>                             |
|                            | 30          | 0.0806 $\pm$ 0.0144 <sup>a,A</sup>                             |
| 60                         | 10          | 0.0944 $\pm$ 0.0068 <sup>b,A</sup>                             |
|                            | 15          | 0.0863 $\pm$ 0.0034 <sup>a,AB</sup>                            |
|                            | 20          | 0.0863 $\pm$ 0.0069 <sup>a,AB</sup>                            |
|                            | 25          | 0.0865 $\pm$ 0.0080 <sup>a,AB</sup>                            |
|                            | 30          | 0.0805 $\pm$ 0.0037 <sup>a,B</sup>                             |
| 70                         | 10          | 0.0657 $\pm$ 0.0006 <sup>d,C</sup>                             |
|                            | 15          | 0.0630 $\pm$ 0.0013 <sup>b,C</sup>                             |
|                            | 20          | 0.0726 $\pm$ 0.0012 <sup>b,B</sup>                             |
|                            | 25          | 0.0864 $\pm$ 0.0032 <sup>a,A</sup>                             |
|                            | 30          | 0.0658 $\pm$ 0.0012 <sup>a,C</sup>                             |

หมายเหตุ : a, b, c และ d คือ ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของอุณหภูมิ ณ เวลาเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

A, B และ C คือ ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงถึงความแตกต่างของเวลา ณ อุณหภูมิเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด Soluble conjugate phenolics กับเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเพอร์รัสซัลเฟต)

#### 4.4 อภิปรายผล

จากการศึกษาดังกล่าวข้างต้น พบว่าการย่อยรำข้าวด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสมีประสิทธิภาพในการปลดปล่อยฟีนอลิก ทำให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น และพบว่าที่เวลาในการสกัด 30 นาที ณ อุณหภูมิสูง สารสกัด Free phenolic มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่า สารสกัด Soluble conjugate phenolic ซึ่งค้ำกับงานวิจัยของ Lui และคณะ (2017) พบว่าสารสกัด Soluble conjugate phenolic มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ  $103.5 \pm 3.5$  มิลลิกรัมแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของรำข้าว  $33.2 \pm 2.1$  มิลลิกรัมแคเทชินต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของรำข้าว และ  $207.5 \pm 21.7$  มิลลิกรัมโทรล็อกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของรำข้าว ตามลำดับ มากกว่าสารสกัด Free phenolic ซึ่งมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ เท่ากับ  $85.1 \pm 3.3$  มิลลิกรัมแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของรำข้าว  $16.6 \pm 2.2$  มิลลิกรัมแคเทชินต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของรำข้าว และ  $163.6 \pm 16.3$  มิลลิกรัมโทรล็อกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้งของรำข้าว ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5

### สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการวิจัย

สารสกัด Free phenolics และ Soluble conjugate phenolics ของรำข้าวหอมมะลิ สุพรรณผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและแซในอ่างควบคุมอุณหภูมิสกัดที่อุณหภูมิ 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10, 15, 20, 25 และ 30 นาที จากการศึกษาพบว่า ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้จาก Free phenolics ที่ระยะเวลาในการสกัด 10 นาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ  $236.6840 \pm 0.7887$  ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารสกัด และสารสกัด Soluble conjugate phenolics ที่ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดมากอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ  $25.9896 \pm 0.6250$  ไมโครกรัมแกลลิกต่อมิลลิลิตรสารสกัด

ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ได้จากการสกัด Free phenolics ที่ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ  $506.2778 \pm 87.0947$  ไมโครกรัมเคอเวอซิทินต่อมิลลิลิตรสารสกัด และสารสกัด Soluble conjugate phenolics ที่ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ  $95.1667 \pm 11.6402$  ไมโครกรัมเคอเวอซิทินต่อมิลลิลิตรสารสกัด

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสกัด Free phenolics (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานโธรส็อก) ที่ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ  $55.2026 \pm 3.6030$  ไมโครกรัมโธรส็อกต่อมิลลิลิตรสารสกัด สารสกัด Soluble conjugate phenolics ที่ระยะเวลาในการสกัด 25 นาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ  $4.1093 \pm 0.8090$  ไมโครกรัมโธรส็อกต่อมิลลิลิตรสารสกัด สารสกัด Free phenolics (ค่าการดูดกลืนแสงประเมินเทียบกับสารมาตรฐานเพอร์ร็อกซัลเฟต) ที่ระยะเวลาในการสกัด 15 นาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ  $0.5128 \pm 0.0296$  มิลลิโมลาร์เพอร์ร็อกซัลเฟตต่อมิลลิลิตรสารสกัด และสารสกัด Soluble conjugate phenolic ที่ระยะเวลาในการสกัด 25 นาที อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ  $0.0943 \pm 0.0071$  มิลลิโมลาร์เพอร์ร็อกซัลเฟตต่อมิลลิลิตรสารสกัด

จากการศึกษาทั้งหมดที่กล่าวมาข้างต้น พบว่าช่วงระยะเวลาในการสกัด 10-15 นาที และ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จะให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งช่วงเวลาและอุณหภูมินี้จะช่วยประหยัดเวลาในการทดลองและเอนไซม์ไม่เสียสภาพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ควรตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระวิธีอื่นด้วย เช่น ORAC
2. การสกัดอาจใช้วิธีอื่นมาสกัดหรือเพิ่มขั้นตอนในการสกัด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

- อรุณศรี และผดุงขวัญ. 2548. รำข้าวที่มีคุณภาพ:คุณค่าต่อสุขภาพ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [https://home.kku.ac.th/uac/journal/year\\_13\\_3\\_2548/01\\_13\\_3\\_2548.pdf](https://home.kku.ac.th/uac/journal/year_13_3_2548/01_13_3_2548.pdf). สืบค้นวันที่ 19/01/2561
- ฉลวย ทับศรี ม่วงพรวน. 2555. การศึกษาผลการบริโภคผลิตภัณฑ์เสริมอาหารน้ำมันรำข้าวและจมูกข้าว P2PLUS. บริษัทปฐมสิทธิ์จำกัดประเทศไทย จังหวัดปทุมธานี ประเทศไทย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.organellelife.com/pdf/P2Plus.pdf>. สืบค้นวันที่ 19/01/2561
- ปรีดาวรรณ ขอช่วยกลาง, วรณช ศรีเจษฎารักษ์. 2556. การเปรียบเทียบวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายต่อการสกัดวิตามินอีและแกมมา-โอโรซานอลจากรำข้าวพันธุ์ กข6. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://gsbooks.gs.kku.ac.th/56/grc14/files/bmp17.pdf>. สืบค้นวันที่ 20/01/2561
- ปัทมา ฤชาฤทธิ. 2554. การเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจากรำข้าวดิบและรำข้าวที่สกัดน้ำมันออกแล้ว. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://cuir.car.chula.ac.th/handle/123456789/51986>. สืบค้นวันที่ 20/01/2561
- จิราภรณ์ ทองตัน, วรพงศ์ ภูพงค์. 2560. การประยุกต์ใช้น้ำมันรำข้าวและสารสกัดรำข้าวหอมมะลิแดงในเครื่องสำอางค์สำหรับผิว. วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <https://www.tcithaijo.org/index.php/vrurdistjournal/article/view/97624>. สืบค้นวันที่ 20/01/2561
- จิราภรณ์ พึ่งธรรม, กรณ์กนก อายุสุข. 2551. การสกัด การทำให้บริสุทธิ์และการวิเคราะห์องค์ประกอบของโพลีโคซานอลจากรำข้าวของไทย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [file:///C:/Users/User/Downloads/kmuttv31n2\\_7.pdf](file:///C:/Users/User/Downloads/kmuttv31n2_7.pdf). สืบค้นวันที่ 21/01/2561
- ศศิวิมล จิตรการ, แพรจันทร์ สังขะจันทร์. 2553. การศึกษาความคงตัวของรำข้าว กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวและสมุนไพรร. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.crdc.kmutt.ac.th/document/download/agr/agr4/221-224.pdf>. สืบค้นวันที่ 21/01/2561
- จันทร์สม แก้วอุตร. 2546. การทำให้รำข้าวมีความคงตัวด้วยไมโครเวฟ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.crdc.kmutt.ac.th/document/download/agr/agr4/221-224.pdf>. สืบค้นวันที่ 22/01/2561
- กรณ์กนก อายุสุข. 2548. ปัจจัยขององค์ประกอบในน้ำมันรำข้าวดิบที่มีต่อการสูญเสียไขมันในกระบวนการรีไฟน์น้ำมัน. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: [http://library.cmu.ac.th/newbook/data/2008-09-2209-05-33\\_abs\\_abs.pdf](http://library.cmu.ac.th/newbook/data/2008-09-2209-05-33_abs_abs.pdf). สืบค้นวันที่ 22/01/2561

- ประวิทย์ สันติวัฒนา, จิตตินันท์ ปานระไพ. 2560. การเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าว น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันปาล์ม มะเขือเทศ และงาดำ. บริษัทน้ำมันบริโภคไทยจำกัด. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
<http://www.journal.sci.kmutnb.ac.th/OnlineFirst/OnlineFirst20160401011623.pdf>. สืบค้นวันที่ 22/01/2561
- อมรรัตน์ ถนอมแก้ว, สุรพจน์ วงศ์ใหญ่. 2555. การสกัดน้ำมันรำข้าวสังข์หยดโดยวิธีเชิงกลและการประยุกต์ใช้ในอิมัลชันชนิดน้ำมันในน้ำ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
[http://beyond.library.tu.ac.th/cdm/ref/collection/trf\\_or\\_th/id/17202](http://beyond.library.tu.ac.th/cdm/ref/collection/trf_or_th/id/17202). สืบค้นวันที่ 23/01/2561
- ปภาวดี คล่องพิทยาพงษ์, รุ่งตะวัน สุภาผล. 2558. ฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของน้ำมันรำข้าวต่อเซลล์มะเร็งตับ. วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
<https://www.tci-thaijo.org/index.php/EAUHJSci/article/view/38630/31964>. สืบค้นวันที่ 23/01/2561
- ลือชัย บุตุคป. 2554. สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
<http://www.thaiscience.info/Journals/Article/JSMU/10888192.pdf>. สืบค้นวันที่ 24/01/2561
- สุชาติ มานอก, ปวีณา ลิ้มเจริญ. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://sci.bsru.ac.th/sciweb/e-magazine/15-1/chapter-10.pdf>. สืบค้นวันที่ 24/01/2561
- นวลอนงค์ เสมสังข์, ณกมล แก้วลังการ และวีรพงษ์ จันทะชัย. 2558. ปริมาณฟลาโวนอยด์ สารประกอบฟีนอลทั้งหมดและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าวไทย. มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
<file:///C:/Users/User/Downloads/545-58-SCI-NRCT.pdf>. สืบค้นวันที่ 25/01/2561
- วิราลณี จันทรเป็ง และนพพล เล็กสวัสดิ์. 2557. อะไมเลส. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
<http://www.agro.cmu.ac.th/absc/data/57/57-025.pdf>. สืบค้นวันที่ 25/01/2561
- นิตยา ตันติวา และนพพล เล็กสวัสดิ์. 2557. การศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์อัลฟาอะไมเลสที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus* sp. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:  
<http://www.agro.cmu.ac.th/absc/data/57/57-004.pdf>. สืบค้นวันที่ 25/01/2561
- สุนีย์ โชติเนีรนาท, รังสิมา ชลคุป และกล้าณรงค์ ศรีรอด. 2555. จลนพลศาสตร์และผลิตภัณฑ์ของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในการย่อยแป้งมันสำปะหลัง. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

[ออนไลน์]. แหล่งที่มา: <http://www.lib.ku.ac.th/KUCONF/KC3606002.pdf>. สืบค้นวันที่ 26/01/2561

ชยานนท์ พีระพิทยมงคล. 2553. Enzyme. มหาวิทยาลัยมหิดล. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:

<http://www.si.mahidol.ac.th/department/biochemistry/home/md/Lecture/Me dEnzyme2010.pdf>. สืบค้นวันที่ 26/01/2561

สุคนธ์ ตันติไพบูลย์วุฒิ, อนุวัช พินิจศักดิ์กุล, มลฤดี เจนกุลประสูติ และวิภาดา วิฑูพงษ์. 2553. การผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสด้วย *Bacillus subtilis* โดยใช้ น้ำทิ้งจากขั้นตอนการลอกแป้งของอุตสาหกรรมพอกย้อม

กระทรวงวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.).

2557. เทคโนโลยีเอนไซม์ : จากสิ่งมีชีวิตสู่อุตสาหกรรมที่ยั่งยืน. ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยี

เอนไซม์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:

<https://www.nstda.or.th/sciencecamp/th/file/49165439KU4NRHICG.pdf>. สืบค้นวันที่ 27/01/2561

เมทินี มาเวียง. 2557. จลนพลศาสตร์ของเอนไซม์และจุลินทรีย์. มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. [ออนไลน์]

แหล่งที่มา: <https://docs.google.com/viewer?a=v&pid=sites&srcid=ZGVmYXVsdGRvbWVpbnxiaW90ZWNo cm11dGlzdXJpbm xneDoyOWE4MjY5ND A0YzZlMDAx>.

สืบค้นวันที่ 27/01/2561

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนานนท์. 2546. ชนิดของเอนไซม์อะไมเลส. [ออนไลน์].

แหล่งที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1174/amylase-%E0%B8%AD%E0%B8%B0%E0%B9%84%E0%B8%A1%E0%B9%80%E0%B8%A5%E0%B8%AA>. สืบค้นวันที่ 28/01/2561

วรัญญา พงษ์ไพบูลย์ และสุภัทรี ไชยกุล. 2558. ผลของความเข้มข้นเอนไซม์และเวลาในการย่อยต่อสมบัติทางเคมีและความหนืดของแป้งข้าวเจ้าไทยอะไมเลสสูงที่ผ่านการย่อย.

มหาวิทยาลัยมหิดล. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:

<http://www.crdc.kmutt.ac.th/Data%202015/CRDC9/data/481-484.pdf>. สืบค้นวันที่ 29/01/2561

दनัย บุญยเกียรติ. 2549. เอนไซม์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. [ออนไลน์]. แหล่งที่มา:

<http://web.agri.cmu.ac.th/hort/course/359311/teacher.htm>. สืบค้นวันที่ 11/02/2561

Gerson LopesTeixeira, Saeed M.Ghazan, Marcos LúcioCorazza, Alejandro G.Marangoni,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

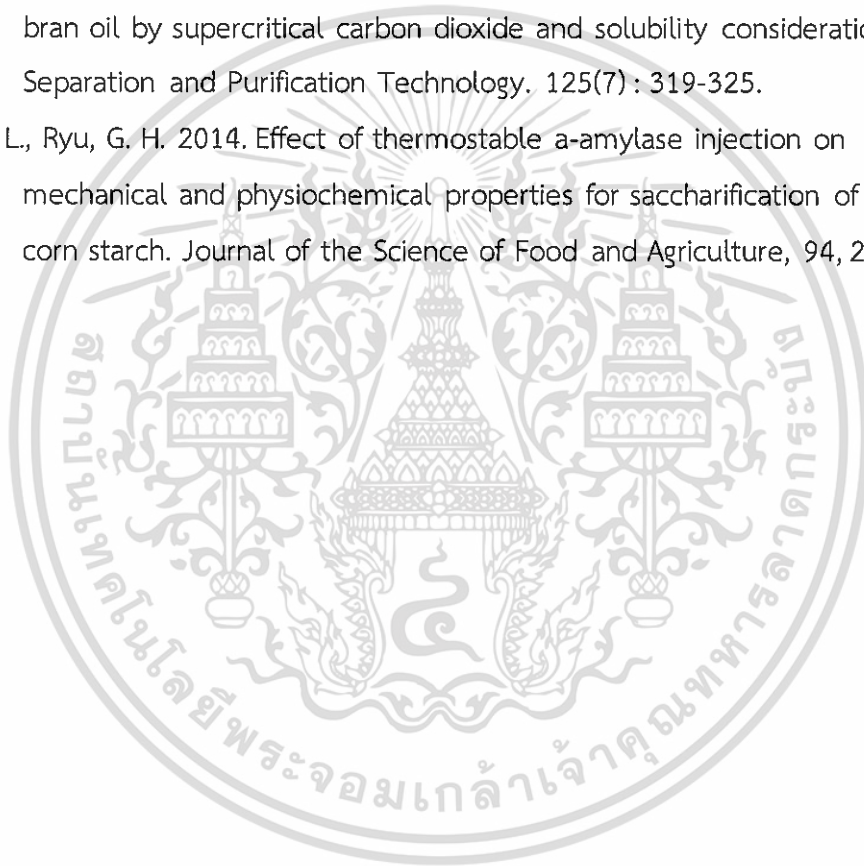


M.N.Islam, A.Sabur, R.Ahmed, M.E.Hoque. 2015. "Oil Extraction from Pine Seed (*Polyalthialongifolia*) by Solvent Extraction Method and its Property Analysis." *Procedia Engineering*. 105 : 613-618.

Patiwit Loypimai, Anuchita Moongngarm, Pheeraya Chottanom, Tanongsak Moontree. 2015. "Ohmic heating-assisted extraction of anthocyanins from black rice bran to prepare a natural food colourant." *Innovative Food Science & Emerging Technologies*. 27 February 2015 : 102-110.

Karin Tomita, Siti Machmudah, Wahyudiono, Ryuichi Fukuzato, Hideki Kanda, Armando T.Quitain, Mitsuru Sasaki, Motonobu Goto. 2014. "Extraction of rice bran oil by supercritical carbon dioxide and solubility consideration." *Separation and Purification Technology*. 125(7) : 319-325.

Myat, L., Ryu, G. H. 2014. Effect of thermostable  $\alpha$ -amylase injection on mechanical and physiochemical properties for saccharification of extruded corn starch. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 288–295.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### การเตรียมสารเคมี

1. การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (7% Sodium carbonate)
 

เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 7 โดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนตมา 3.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปราศจากไอออน 50 มิลลิลิตร ผสมจนละลาย เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด
2. การเตรียมสารละลายโซเดียมไนไตรต์ (5% Sodium nitrate)
 

เตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตร้อยละ 5 โดยชั่งโซเดียมคาร์บอเนตมา 2.5 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ผสมจนละลาย เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
3. การเตรียมสารละลายอลูมิเนียมคลอไรด์ ( $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ )
 

เตรียมอลูมิเนียมคลอไรด์ร้อยละ 10 โดยชั่งอลูมิเนียมคลอไรด์อย่างละเอียด 5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
4. การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (1M NaOH)
 

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยชั่งสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร เพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
5. การเตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (2M NaOH)
 

เตรียมสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์โดยชั่งสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 500 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร
6. การเตรียมสารเฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride)
7. เตรียมเฟอร์ริก โดยชั่งเฟอร์ริก 0.0541 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมจนละลายการเตรียมสาร TPTZ
 

เตรียมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก 34.3  $\mu\text{l}$  ผสมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร

เตรียมสาร TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง TPTZ 0.0312 กรัม ละลายในกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 8. การเตรียมสาร TPTZ

เตรียมกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยใช้กรดไฮโดรคลอริก 34.3  $\mu\text{l}$  ผสมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร

เตรียมสาร TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง TPTZ 0.0312 กรัม ละลายในกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

## 9. การเตรียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ (Acetate buffer)

## - สาร ก อะซิเตทบัฟเฟอร์

เตรียมอะซิเตทบัฟเฟอร์ โดยใช้กรดอะซิติก 0.9 มิลลิลิตร ผสมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

## - สาร ข โซเดียมอะซิเตท

เตรียมโซเดียมอะซิเตท โดยใช้โซเดียมอะซิเตท 2.04 กรัม ผสมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตรเพื่อใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

## - ผสมสาร ก และ สาร ข โดยเปิดสาร ก 46.3 มิลลิลิตร สาร ข 3.7 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 3.6

## 10. การเตรียมสาร FRAP

ผสมอะซิเตทบัฟเฟอร์, TPTZ และเฟอร์ริกคลอไรด์ ในอัตราส่วน 50:5:5 (v/v)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ข

### การวิเคราะห์กราฟมาตรฐาน

1. การวิเคราะห์กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric
  - 1.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก โดยชั่งกรดแกลลิก 0.0010 กรัม
  - 1.2 ทำการละลายด้วยเอทานอล 70% ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (Stock 1000 µg/ml)
  - 1.3 ผสมให้เข้ากัน
  - 1.4 ทำการเจือจางสารละลายกรดแกลลิกให้มีความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, 100 µg/ml)

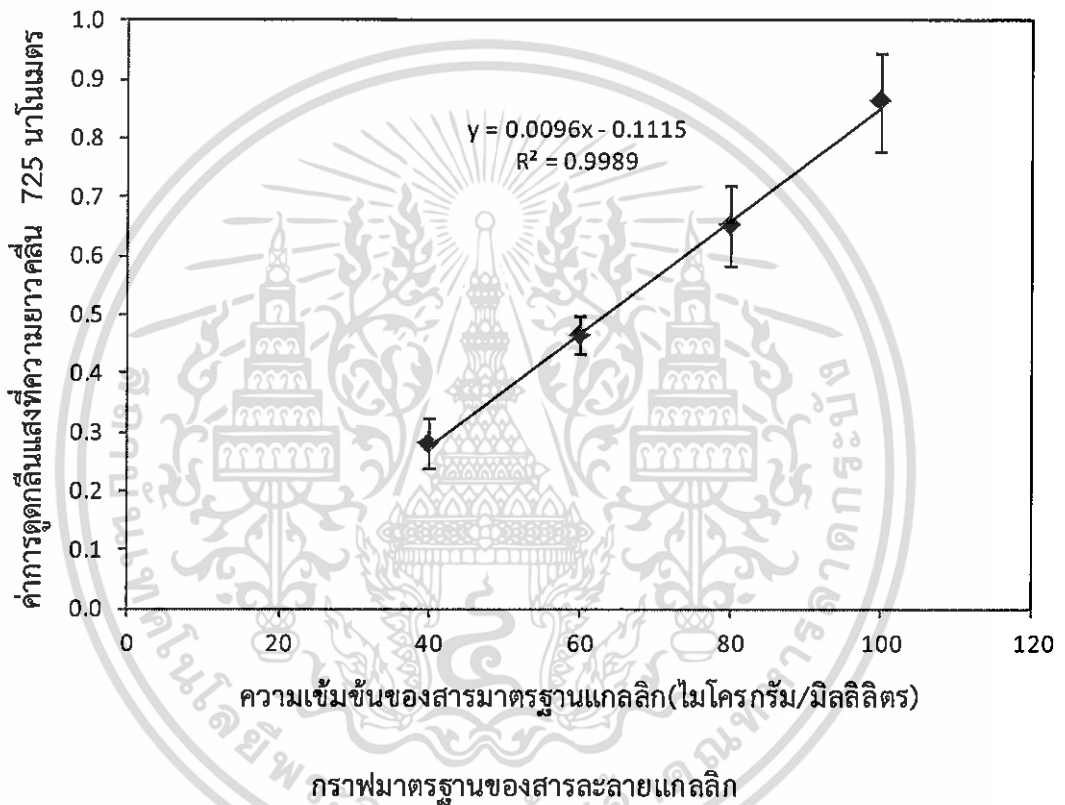
| ความเข้มข้น (µg/ml) | ปริมาตรกรดแกลลิก (µl) | เอทานอล 70% (ml) |
|---------------------|-----------------------|------------------|
| 20                  | 20                    | 980              |
| 40                  | 40                    | 960              |
| 60                  | 60                    | 940              |
| 80                  | 80                    | 920              |
| 100                 | 100                   | 900              |

- 1.5 นำแกลลิกแต่ละความเข้มข้นเติม Folin-Ciocalteu colorimetric (Folin 1ml : น้ำกลั่น 5ml) ปริมาตร 1 ml ทุกหลอด
- 1.6 นำแกลลิกแต่ละความเข้มข้นปริมาตร 200 µl ลงในหลอดที่มี Folin แล้วทิ้งไว้เป็นเวลา 1 นาที
- 1.7 เติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ร้อยละ 10 (w/v) 1 มิลลิลิตร
- 1.8 บ่ม 1 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้องในที่มืด
- 1.9 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตรของสารมาตรฐานแกลลิก

| ความเข้มข้นแกลลิก<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) | ซ้ำ1  | ซ้ำ2  | ซ้ำ3  | เฉลี่ย<br>( $\mu\text{g/ml}$ ) |
|---|-------|-------|-------|--------------------------------|
| 40  | 0.320 | 0.235 | 0.282 | 0.2790                         |
| 60  | 0.494 | 0.428 | 0.470 | 0.4640                         |
| 80  | 0.695 | 0.570 | 0.681 | 0.6487                         |
| 100                                       | 0.936 | 0.768 | 0.875 | 0.8597                         |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2. การวิเคราะห์กราฟมาตรฐานเคอวอซิทิน

2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอวอซิทิน ชั่ง 0.0020 กรัม

2.2 ทำการละลายด้วยเอทานอล 70% 1 มิลลิลิตร (Stock 2000  $\mu\text{g/ml}$ )

2.3 ผสมให้เข้ากัน

2.4 ทำการเจือจางสารละลายเคอวอซิทินให้มีความเข้มข้น 60, 80, 100, 200, 500  $\mu\text{g/ml}$

| ความเข้มข้น ( $\mu\text{g/ml}$ ) | ปริมาตรเคอวอซิทิน( $\mu\text{l}$ ) | เอทานอล 70% (ml) |
|----------------------------------|------------------------------------|------------------|
| 60                               | 30                                 | 970              |
| 80                               | 40                                 | 960              |
| 100                              | 50                                 | 950              |
| 200                              | 100                                | 900              |
| 250                              | 125                                | 875              |
| 500                              | 250                                | 750              |

2.5 เติมสารละลาย  $\text{NaNO}_2$  ร้อยละ 5 (w/v) ปริมาณ 150 ไมโครลิตร

2.6 ผสมให้เข้ากัน

2.7 เติม  $\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  ร้อยละ 10 (w/v) ปริมาณ 1 มิลลิลิตร

2.8 ผสมให้เข้ากัน

2.9 เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ ร้อยละ 5 (w/v) ปริมาณ 1 มิลลิลิตร

2.10 ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากัน

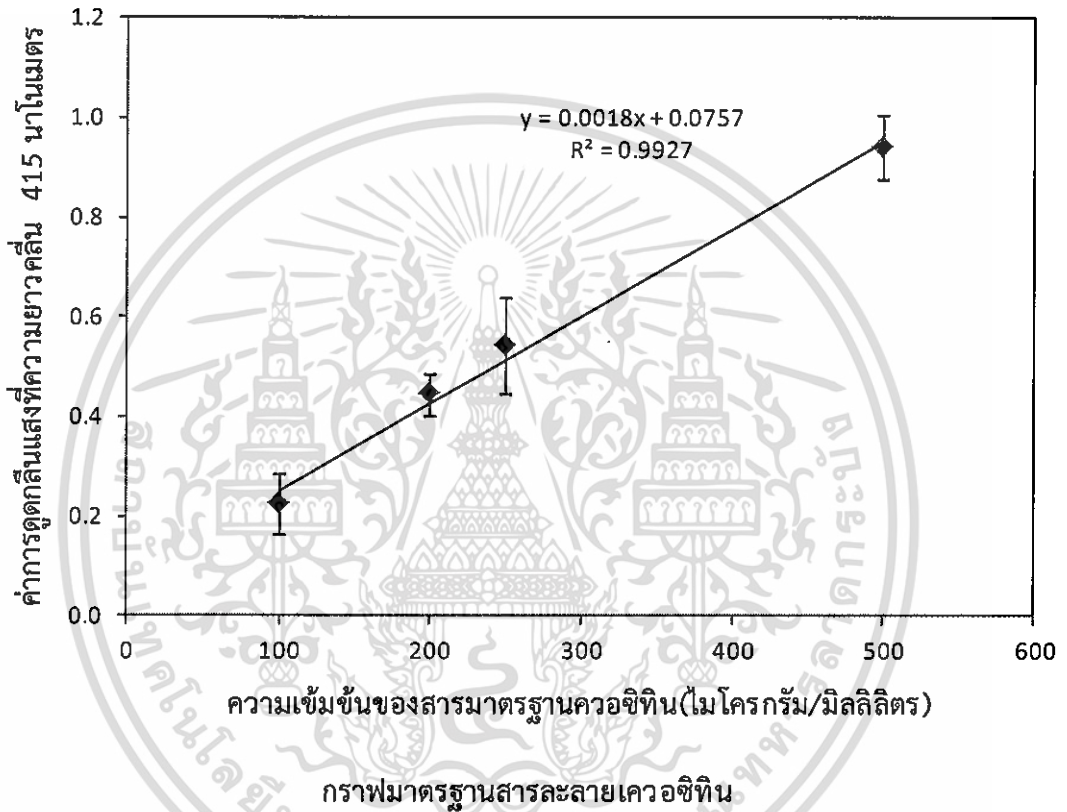
2.11 บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 40 นาที

2.12 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตรของสารมาตรฐานควอซีทิน

| ความเข้มข้นควอซีทิน | ซ้ำ1  | ซ้ำ2  | ซ้ำ3  | เฉลี่ย |
|---------------------|-------|-------|-------|--------|
| 100                 | 0.273 | 0.238 | 0.157 | 0.2227 |
| 200                 | 0.493 | 0.422 | 0.415 | 0.4433 |
| 250                 | 0.649 | 0.501 | 0.472 | 0.5407 |
| 500                 | 1.013 | 0.911 | 0.895 | 0.9397 |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3. การวิเคราะห์กราฟมาตรฐานโทรลือกซ์

- 3.1 เตรียมสารละลายโทรลือกซ์ ชั่ง 0.0010 กรัม
- 3.2 ทำการละลายด้วยเอทานอล 70% 1 มิลลิลิตร
- 3.3 ผสมให้เข้ากัน
- 3.4 ทำการเจือจางสารละลายโทรลือกซ์ให้มีความเข้มข้น 5, 10, 15, 20, 25 และ 30  $\mu\text{g/ml}$

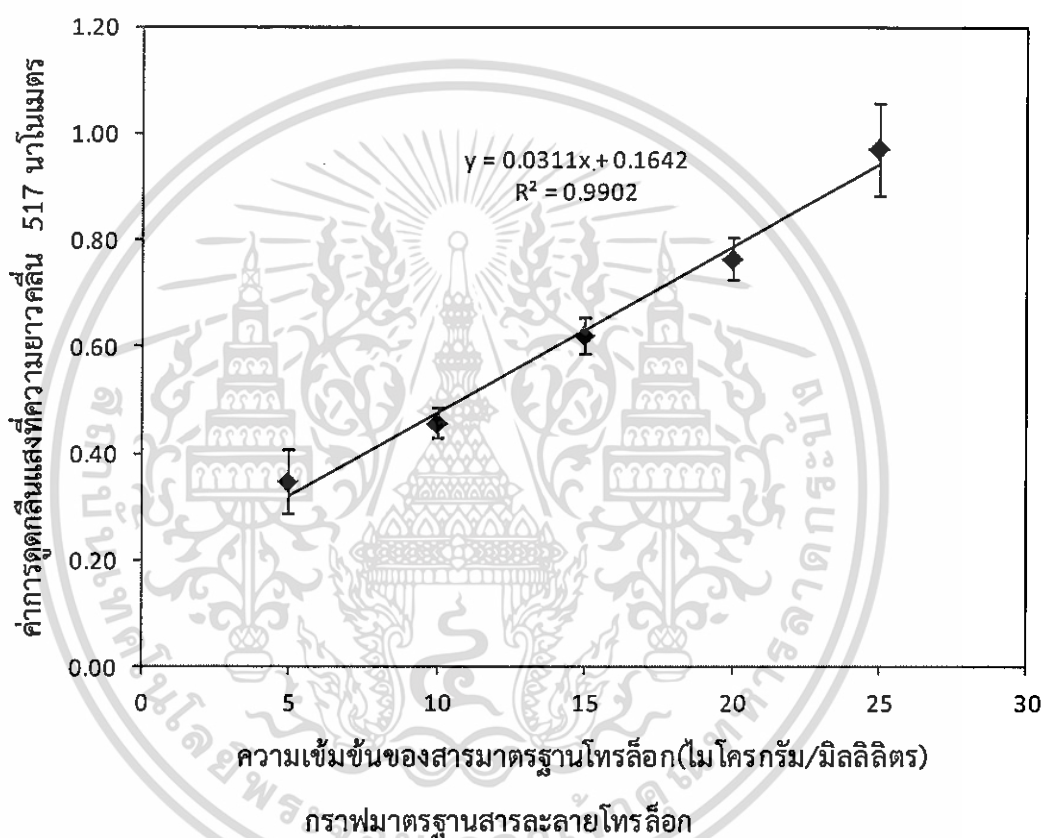
| ความเข้มข้น ( $\mu\text{g/ml}$ ) | ปริมาตรโทรลือก ( $\mu\text{l}$ ) | เอทานอล 70% (ml) |
|----------------------------------|----------------------------------|------------------|
| 5                                | 5                                | 940              |
| 10                               | 10                               | 920              |
| 15                               | 15                               | 900              |
| 20                               | 20                               | 800              |
| 25                               | 25                               | 750              |
| 30                               | 30                               | 500              |

- 3.5 เติม FRAP 0.75 มิลลิลิตร
- 3.6 บ่ม 5 นาทีให้เกิดปฏิกิริยา
- 3.7 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร ของสารมาตรฐานโทรลลิก

| ความเข้มข้นโทรลลิกซ์ | ซ้ำ1  | ซ้ำ2  | ซ้ำ3  | เฉลี่ย |
|----------------------|-------|-------|-------|--------|
| 5                    | 0.340 | 0.410 | 0.287 | 0.3457 |
| 10                   | 0.480 | 0.425 | 0.461 | 0.4553 |
| 15                   | 0.657 | 0.607 | 0.594 | 0.6193 |
| 20                   | 0.808 | 0.751 | 0.734 | 0.7643 |
| 25                   | 1.062 | 0.952 | 0.892 | 0.9687 |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4. การวิเคราะห์กราฟมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต

4.1 เตรียมสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ชั่ง 0.0014 กรัม

4.2 ทำการละลายด้วยเอทานอล 70% 1 มิลลิลิตร

4.3 ผสมให้เข้ากัน

4.4 ทำการเจือจางสารละลายโทรลือกให้มีความเข้มข้น 0.025, 0.05, 0.10, 0.20, 0.35, 0.40 และ 0.50 mM)

| ความเข้มข้น (mM) | ปริมาตรโทรลือก ( $\mu$ l) | เอทานอล 70% (ml) |
|------------------|---------------------------|------------------|
| 0.025            | 5                         | 995              |
| 0.05             | 10                        | 990              |
| 0.10             | 20                        | 980              |
| 0.20             | 40                        | 960              |
| 0.30             | 60                        | 940              |
| 0.40             | 80                        | 920              |
| 0.50             | 100                       | 900              |

4.5 เติม FRAP 0.75 มิลลิลิตร

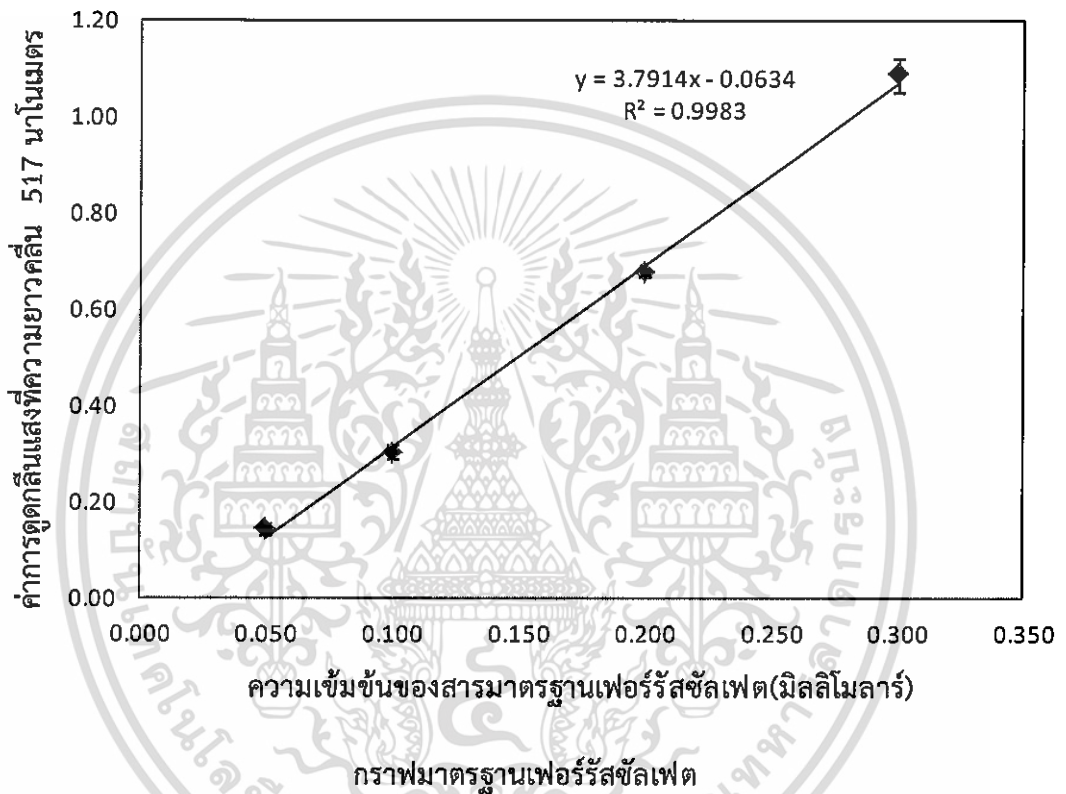
4.6 บ่ม 5 นาทีให้เกิดปฏิกิริยา

4.7 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

| ความเข้มข้นเฟอร์รัสซัลเฟต | ซ้ำ1   | ซ้ำ2   | ซ้ำ3   | เฉลี่ย |
|---------------------------|--------|--------|--------|--------|
| 0.050                     | 0.1493 | 0.1497 | 0.1303 | 0.1431 |
| 0.100                     | 0.3133 | 0.3123 | 0.2843 | 0.3033 |
| 0.200                     | 0.6777 | 0.6690 | 0.6853 | 0.6773 |
| 0.300                     | 1.0497 | 1.0943 | 1.1170 | 1.0870 |



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค

### การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (FRAP) โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ (SPSS) program for Windows Version 20 ยกตัวอย่างมาดังต่อไปนี้

การวิเคราะห์ผลทางสถิติของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (FRAP) ที่อุณหภูมิต่างๆ ณ เวลาบ่ม 10 นาที

หมายเหตุ : P1 คือ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้จากสสารสกัด Free phenolics

P2 คือ ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้จากสสารสกัด Soluble conjugate phenolics

F1 คือ ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ได้จากสสารสกัด Free phenolics

F2 คือ ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ได้จากสสารสกัด Soluble conjugate phenolics

FRAP1 คือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสสารสกัด Free phenolics (ประเมินค่าเทียบกับสารมาตรฐานโธเรลลิก)

FRAP2 คือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสสารสกัด Soluble conjugate phenolics (ประเมินค่าเทียบกับสารมาตรฐานโธเรลลิก)

FRAP3 คือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสสารสกัด Free phenolics (ประเมินค่าเทียบกับสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต)

FRAP4 คือ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสสารสกัด Soluble conjugate phenolics (ประเมินค่าเทียบกับสารมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟต)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

| Descriptives |       |    |            |                |            |                                  |             |          |          |
|--------------|-------|----|------------|----------------|------------|----------------------------------|-------------|----------|----------|
|              |       | N  | Mean       | Std. Deviation | Std. Error | 95% Confidence Interval for Mean |             | Minimum  | Maximum  |
|              |       |    |            |                |            | Lower Bound                      | Upper Bound |          |          |
| P1           | 40    | 3  | 236.684067 | .7887255       | .4553709   | 234.724764                       | 238.643370  | 235.7813 | 237.2396 |
|              | 50    | 3  | 205.746533 | 13.1964807     | 7.6189917  | 172.964658                       | 238.528409  | 190.8854 | 216.0938 |
|              | 60    | 3  | 230.260433 | 7.1950115      | 4.1540418  | 212.387034                       | 248.133833  | 223.9063 | 238.0729 |
|              | 70    | 3  | 228.593800 | 6.9597055      | 4.0181878  | 211.304933                       | 245.882667  | 222.3438 | 236.0938 |
|              | Total | 12 | 225.321208 | 14.1167680     | 4.0751599  | 216.351842                       | 234.290575  | 190.8854 | 238.0729 |
| P2           | 40    | 3  | 26.371567  | 2.2470593      | 1.2973403  | 20.789562                        | 31.953571   | 23.8021  | 27.9688  |
|              | 50    | 3  | 24.288200  | .6697049       | .3866543   | 22.624561                        | 25.951839   | 23.8021  | 25.0521  |
|              | 60    | 3  | 27.517367  | 1.1982776      | .6918259   | 24.540680                        | 30.494053   | 26.3021  | 28.6979  |
|              | 70    | 3  | 23.038200  | 2.4855089      | 1.4350092  | 16.863854                        | 29.212546   | 20.2604  | 25.0521  |
|              | Total | 12 | 25.303833  | 2.3900547      | .6899494   | 23.785265                        | 26.822402   | 20.2604  | 28.6979  |
| F1           | 40    | 3  | 396.092567 | 15.0855125     | 8.7096247  | 358.618076                       | 433.567057  | 386.8333 | 413.5000 |
|              | 50    | 3  | 236.277767 | 13.4829662     | 7.7843941  | 202.784222                       | 269.771311  | 220.7222 | 244.6111 |
|              | 60    | 3  | 481.277767 | 50.5555500     | 29.1882604 | 355.690818                       | 606.864715  | 430.7222 | 531.8333 |
|              | 70    | 3  | 580.351833 | 21.9731375     | 12.6861969 | 525.767534                       | 634.936133  | 567.3889 | 605.7222 |
|              | Total | 12 | 423.499983 | 134.2075702    | 38.7423884 | 338.228561                       | 508.771405  | 220.7222 | 605.7222 |
| F2           | 40    | 3  | 65.907400  | 1.7858330      | 1.0310512  | 61.471145                        | 70.343655   | 64.6111  | 67.9444  |
|              | 50    | 3  | 51.277767  | 3.8889143      | 2.2452657  | 41.617168                        | 60.938365   | 46.8333  | 54.0556  |

|       |       |    |            |            |            |           |            |          |          |
|-------|-------|----|------------|------------|------------|-----------|------------|----------|----------|
|       | 60    | 3  | 149.611133 | 38.5541325 | 22.2592388 | 53.837359 | 245.384908 | 125.1667 | 194.0556 |
|       | 70    | 3  | 81.277767  | 3.3792952  | 1.9510370  | 72.883132 | 89.672401  | 77.3889  | 83.5000  |
|       | Total | 12 | 87.018517  | 42.6975880 | 12.3257320 | 59.889764 | 114.147270 | 46.8333  | 194.0556 |
| FRAP1 | 40    | 3  | 78.000000  | 1.1096504  | .6406570   | 75.243475 | 80.756525  | 76.9068  | 79.1254  |
|       | 50    | 3  | 47.356900  | .6526723   | .3768205   | 45.735572 | 48.978228  | 46.6495  | 47.9357  |
|       | 60    | 3  | 51.129667  | 6.0160903  | 3.4733914  | 36.184870 | 66.074464  | 44.2379  | 55.3312  |
|       | 70    | 3  | 42.490867  | 5.2005138  | 3.0025181  | 29.572074 | 55.409659  | 36.4887  | 45.6527  |
|       | Total | 12 | 54.744358  | 14.7883012 | 4.2690148  | 45.348320 | 64.140397  | 36.4887  | 79.1254  |
| FRAP2 | 40    | 3  | 5.481233   | .9243165   | .5336544   | 3.185104  | 7.777363   | 4.7524   | 6.5209   |
|       | 50    | 3  | 2.394433   | .3220853   | .1859560   | 1.594329  | 3.194538   | 2.0836   | 2.7267   |
|       | 60    | 3  | 4.130767   | .9186966   | .5304097   | 1.848598  | 6.412936   | 3.0804   | 4.7846   |
|       | 70    | 3  | .647400    | .1129308   | .0652006   | .366864   | .927936    | .5402    | .7653    |
|       | Total | 12 | 3.163458   | 1.9844592  | .5728640   | 1.902593  | 4.424324   | .5402    | 6.5209   |
| FRAP3 | 40    | 3  | .699867    | .0091029   | .0052556   | .677254   | .722480    | .6909    | .7091    |
|       | 50    | 3  | .448467    | .0053257   | .0030748   | .435237   | .461696    | .4427    | .4532    |
|       | 60    | 3  | .479433    | .0493503   | .0284924   | .356840   | .602026    | .4229    | .5139    |
|       | 70    | 3  | .408567    | .0426860   | .0246448   | .302529   | .514605    | .3593    | .4345    |
|       | Total | 12 | .509083    | .1213199   | .0350220   | .432000   | .586166    | .3593    | .7091    |
| FRAP4 | 40    | 3  | .105500    | .0069864   | .0040336   | .088145   | .122855    | .1006    | .1135    |
|       | 50    | 3  | .080100    | .0020664   | .0011930   | .074967   | .085233    | .0784    | .0824    |
|       | 60    | 3  | .094400    | .0067506   | .0038974   | .077631   | .111169    | .0867    | .0993    |

|  |       |    |         |          |          |         |         |       |       |
|--|-------|----|---------|----------|----------|---------|---------|-------|-------|
|  | 70    | 3  | .065700 | .0005292 | .0003055 | .064386 | .067014 | .0653 | .0663 |
|  | Total | 12 | .086425 | .0162056 | .0046781 | .076128 | .096722 | .0653 | .1135 |



ตาราง ANOVA

| ANOVA |                |                |    |             |        |      |
|-------|----------------|----------------|----|-------------|--------|------|
|       |                | Sum of Squares | df | Mean Square | F      | Sig. |
| P1    | Between Groups | 1642.165       | 3  | 547.388     | 7.963  | .009 |
|       | Within Groups  | 549.950        | 8  | 68.744      |        |      |
|       | Total          | 2192.115       | 11 |             |        |      |
| P2    | Between Groups | 36.613         | 3  | 12.204      | 3.723  | .061 |
|       | Within Groups  | 26.223         | 8  | 3.278       |        |      |
|       | Total          | 62.836         | 11 |             |        |      |
| F1    | Between Groups | 191232.300     | 3  | 63744.100   | 73.948 | .000 |
|       | Within Groups  | 6896.091       | 8  | 862.011     |        |      |
|       | Total          | 198128.391     | 11 |             |        |      |
| F2    | Between Groups | 17021.617      | 3  | 5673.872    | 14.969 | .001 |
|       | Within Groups  | 3032.307       | 8  | 379.038     |        |      |
|       | Total          | 20053.924      | 11 |             |        |      |
| FRAP1 | Between Groups | 2275.840       | 3  | 758.613     | 46.759 | .000 |
|       | Within Groups  | 129.792        | 8  | 16.224      |        |      |
|       | Total          | 2405.632       | 11 |             |        |      |
| FRAP2 | Between Groups | 39.689         | 3  | 13.230      | 29.159 | .000 |
|       | Within Groups  | 3.630          | 8  | .454        |        |      |
|       | Total          | 43.319         | 11 |             |        |      |
| FRAP3 | Between Groups | .153           | 3  | .051        | 46.746 | .000 |
|       | Within Groups  | .009           | 8  | .001        |        |      |
|       | Total          | .162           | 11 |             |        |      |
| FRAP4 | Between Groups | .003           | 3  | .001        | 36.268 | .000 |
|       | Within Groups  | .000           | 8  | .000        |        |      |
|       | Total          | .003           | 11 |             |        |      |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

- ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้จากสสารสกัด Free phenolics

| Temperature | N | Subset for alpha = 0.05 |            |
|-------------|---|-------------------------|------------|
|             |   | 1                       | 2          |
| 50          | 3 | 205.746533              |            |
| 70          | 3 |                         | 228.593800 |
| 60          | 3 |                         | 230.260433 |
| 40          | 3 |                         | 236.684067 |
| Sig.        |   | 1.000                   | .285       |

- ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ได้จากสสารสกัด Soluble conjugate phenolics

| Temperature | N | Subset for alpha = 0.05 |           |
|-------------|---|-------------------------|-----------|
|             |   | 1                       | 2         |
| 70          | 3 | 23.038200               |           |
| 50          | 3 | 24.288200               | 24.288200 |
| 40          | 3 | 26.371567               | 26.371567 |
| 60          | 3 |                         | 27.517367 |
| Sig.        |   | .062                    | .069      |

- ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ได้จากสสารสกัด Free phenolics

| Temperature | N | Subset for alpha = 0.05 |            |            |            |
|-------------|---|-------------------------|------------|------------|------------|
|             |   | 1                       | 2          | 3          | 4          |
| 50          | 3 | 236.277767              |            |            |            |
| 40          | 3 |                         | 396.092567 |            |            |
| 60          | 3 |                         |            | 481.277767 |            |
| 70          | 3 |                         |            |            | 580.351833 |
| Sig.        |   | 1.000                   | 1.000      | 1.000      | 1.000      |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่ได้จากสสารสกัด Soluble conjugate phenolics

| Temperature | N | Subset for alpha = 0.05 |            |
|-------------|---|-------------------------|------------|
|             |   | 1                       | 2          |
| 50          | 3 | 51.277767               |            |
| 40          | 3 | 65.907400               |            |
| 70          | 3 | 81.277767               |            |
| 60          | 3 |                         | 149.611133 |
| Sig.        |   | .108                    | 1.000      |

- ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสสารสกัด Free phenolics (ประเมินค่าเทียบกับสารมาตรฐานโทรลือก)

| Temperature | N | Subset for alpha = 0.05 |           |           |
|-------------|---|-------------------------|-----------|-----------|
|             |   | 1                       | 2         | 3         |
| 70          | 3 | 42.490867               |           |           |
| 50          | 3 | 47.356900               | 47.356900 |           |
| 60          | 3 |                         | 51.129667 |           |
| 40          | 3 |                         |           | 78.000000 |
| Sig.        |   | .177                    | .284      | 1.000     |

- ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสสารสกัด Soluble conjugate phenolics (ประเมินค่าเทียบกับสารมาตรฐานโทรลือก)

| Temperature | N | Subset for alpha = 0.05 |          |          |          |
|-------------|---|-------------------------|----------|----------|----------|
|             |   | 1                       | 2        | 3        | 4        |
| 70          | 3 | .647400                 |          |          |          |
| 50          | 3 |                         | 2.394433 |          |          |
| 60          | 3 |                         |          | 4.130767 |          |
| 40          | 3 |                         |          |          | 5.481233 |
| Sig.        |   | 1.000                   | 1.000    | 1.000    | 1.000    |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสารสกัด Free phenolics (ประเมินค่าเทียบกับสารมาตรฐานเพอร์ร็อกซัลเฟต)

| Temperature | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |
|-------------|---|-------------------------|---------|---------|
|             |   | 1                       | 2       | 3       |
| 70          | 3 | .408567                 |         |         |
| 50          | 3 | .448467                 | .448467 |         |
| 60          | 3 |                         | .479433 |         |
| 40          | 3 |                         |         | .699867 |
| Sig.        |   | .177                    | .285    | 1.000   |

- ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากสารสกัด Soluble conjugate phenolics (ประเมินค่าเทียบกับสารมาตรฐานเพอร์ร็อกซัลเฟต)

| Temperature | N | Subset for alpha = 0.05 |         |         |         |
|-------------|---|-------------------------|---------|---------|---------|
|             |   | 1                       | 2       | 3       | 4       |
| 70          | 3 | .065700                 |         |         |         |
| 50          | 3 |                         | .080100 |         |         |
| 60          | 3 |                         |         | .094400 |         |
| 40          | 3 |                         |         |         | .105500 |
| Sig.        |   | 1.000                   | 1.000   | 1.000   | 1.000   |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้