

การสกัดหาสารสำคัญในน้ำมันรำข้าว
ด้วยวิธีอัลตราโซนิกแบบโพรบ

EXTRACTION OF ESSENTIAL IN RICE BRAN OIL
BY ULTRASONIC PROBE



โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งาน **ปีการศึกษา 2559** ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EXTRACTION OF ESSENTIAL IN RICE BRAN OIL
BY ULTRASONIC PROBE


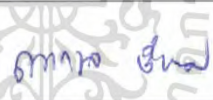


A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF
THE REQUIREMENT FOR
THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE (BIOTECHNOLOGY)
DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ของบุคคลหรือหน่วยงานนั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ACADEMIC YEAR 2016
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การสกัดหาสารสำคัญในน้ำมันรำข้าวด้วยวิธีอัลตราโซนิคแบบโพรบ		
	Extraction of essential in rice bran oil		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวปภาดา ปานทองคำ	รหัสนักศึกษา	56050858
	นางสาวอรณิชา จรัสศรีสุนทร	รหัสนักศึกษา	56050948
	นางสาวอริภัส มิตรสงเคราะห์	รหัสนักศึกษา	56050951
ปริญญา	วิทยาศาสตร์บัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม		

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ประจำปีการศึกษา 2559

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การสกัดหาสารสำคัญในน้ำมันรำข้าวด้วยวิธีอัลตราโซนิกแบบโพรบ Extraction of essential in rice bran oil by ultrasonic probe		
ชื่อนักศึกษา	นางสาวปภาดา ปานทองคำ	รหัสนักศึกษา	56050858
	นางสาวอรณิชา จรัสศรีสุนทร	รหัสนักศึกษา	56050948
	นางสาวอริศ มิตรสงเคราะห์	รหัสนักศึกษา	56050951
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)		
ภาควิชา	ชีววิทยา		
ปีการศึกษา	2559		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ดวงกมล เรืองงาม		

บทคัดย่อ

รำข้าวเป็นผลพลอยได้จากการสีข้าว ปัจจุบันได้มีการนำรำข้าวมาสกัดเป็นน้ำมันรำข้าว ซึ่งในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวหอมมะลิชัยนาท และข้าวไรต์ดอกขาม สกัดด้วยวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกแบบโพรบเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสม ปัจจัยที่ทำการศึกษาได้แก่ ผลของตัวทำละลาย (เฮกเซน เอทานอล 95% เอทิลอะซิเตต) ผลของอุณหภูมิ (30°C และ 40°C) และ ผลของอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายที่ 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีต่อปริมาณน้ำมัน ปริมาณแกมมาออริซานอล ปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ และรวมถึงประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งวิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH assay (IC₅₀), FRAP assay, ABTS⁺ assay จากการวิจัยพบว่า ชนิดตัวทำละลาย อุณหภูมิ และอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายมีผลต่อตัวแปรดังกล่าว

น้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท พบว่าอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย (w/v) ที่ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากที่สุดคือ ที่อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวเท่ากับ 0.8240±0.0088 g อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% เมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนอื่นๆ ขณะที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณแกมมาออริซานอลและปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันมากที่สุดเท่ากับ 2.8733±0.3861 mg QE/g DW และ 4.4233±0.9496 mg QE/g DW ตามลำดับ และที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำมันมากที่สุดเท่ากับ 17.1767±1.1099 mg QE/g DW และ 18.7167±2.7418 mg QE/g DW ตามลำดับ และเมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดด้วยวิธี DPPH assay พบว่าที่อัตราส่วน 1:8 ให้ค่า IC₅₀ ต่ำสุดเท่ากับ 2.3867±0.0203 mg/ml ขณะที่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย FRAP assay และ ABTS⁺ assay พบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ดีที่สุดเท่ากับ 11.5867±0.3123 mg QE/g DW และ 2.8767±0.1291 mg QE/g DW ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิพบว่า ที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณน้ำมันมากที่สุดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย ABTS⁺ assay ดีที่สุด แต่ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแกมมาออริซานอล ปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย FRAP assay และ DPPH assay ดีที่สุด โดยผลของตัวทำละลายเมื่อพิจารณาแล้วพบว่าเฮกเซนให้ปริมาณน้ำมันและปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุด ขณะเอทานอล 95% ให้ปริมาณแกมมาออริซานอล, ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดและให้ฤทธิ์ต้านอนุมูล

อิสระที่ทดสอบด้วย DPPH assay และ ABTS⁺ assay ดีที่สุดและเอทิลอะซิเตตให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วย FRAP assay ดีที่สุด

น้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกขาม พบว่าอัตราส่วนตัวทำละลายที่ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากที่สุดคือที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวและปริมาณแกรมมาออริซานอลมากที่สุดเท่ากับ 0.7206 ± 0.0120 g และ 4.5133 ± 2.5439 mg QE/g DW ตามลำดับและที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 4.4267 ± 1.1756 mg QE/g DW และ 28.7433 ± 2.7014 mg QE/g DW ตามลำดับ ขณะที่อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดเท่ากับ 32.8067 ± 3.6116 mg QE/g DW และเมื่อทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดวิธี DPPH assay พบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ค่า IC₅₀ ต่ำสุดเท่ากับ 2.3933 ± 0.0742 mg/ml ขณะที่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย FRAP assay และ ABTS⁺ assay ที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดในที่อัตราส่วนเท่ากับ 22.9167 ± 0.9248 mg QE/g DW และ 5.5933 ± 0.3832 mg QE/g DW ตามลำดับ เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณน้ำมัน ปริมาณแอนโทไซยานิน ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดและให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย DPPH assay และ ABTS⁺ assay ดีที่สุด แต่ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบด้วย FRAP assay และ ดีที่สุด และเมื่อพิจารณาผลของตัวทำละลายพบว่าเฮกเซนให้ปริมาณแอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด ขณะที่เอทานอล 95% ให้ปริมาณน้ำมัน ปริมาณแกรมมาออริซานอลและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์มากที่สุดและให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเมื่อทดสอบ DPPH assay และ FRAP assay ดีที่สุด ขณะที่เอทิลอะซิเตตให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ทดสอบด้วย ABTS⁺ assay ดีที่สุด

คำสำคัญ : แอนโทไซยานิน, แกรมมาออริซานอล, อัลตราโซนิค, สารต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title	Extraction of essential in rice bran oil by ultrasonic probe		
Student	Miss. Papada Panthongkam	Student	ID 56050858
	Miss. Ornnicha Charassrisoonthorn	Student	ID 56050948
	Miss. Aripat Mitsongkoh	Student	ID 56050951
Degree	Bachelor of Science (Biotechnology)		
Department	Biology		
Faculty	Science		
University	King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)		
Academic Year	2016		
Advisor	Asst.Prof.Dr. Duangkamol Ruen-ngam		

Abstract

Rice bran is a by product from milling process. Currently, rice bran has been extracted to rice bran oil. Objectives of this research are to find out the optimum condition for extracting of antioxidant compounds from two varieties of rice ; Chainart Jasmine and Dokkam rice by ultrasonic probe system. Many factors includes solvents (hexane, ethanol 95, ethyl acetate), temperature (30°C and 40°C) and rice bran:solvent ratio (1:6, 1:8 and 1:10 w/v) have been examined in this research. The effect of such parameters on yield of oil, amount of gamma-oryzanol, anthocyanin, phenolic compound, flavonoid compound and antioxidant activity by DPPH assay (IC_{50}), FRAP assay and $ABTS^+$ assay have been determined here and found that solvent types, temperature and rice bran:solvent ratio have affected to rice bran oil extraction.

Rice bran oil which gets from Chainart jasmine rice bran show 1:8 (w/v) has amount of maximum oil that was 0.8240 ± 0.0088 g significantly at 95% confidence level compared to others while 1:10 (w/v) had amount of maximum gamma-oryzanol and anthocyanin are 2.8733 ± 0.3861 mg QE/g DW and 4.4233 ± 0.9496 mg QE/g DW, respectively. At 1:6 (w/v) ratio had amount of maximum phenolic and flavonoid compound are 17.1767 ± 1.1099 mg QE/g DW and 18.7167 ± 2.7418 mg QE/g DW, respectively. Thereafter, antioxidants analysis found DPPH assay at 1:6 (w/v) has been the lowest IC_{50} that is 2.3867 ± 0.0203 mg/ml. $ABTS^+$ and FRAP assay at 1:6 (w/v) have been the best antioxidant activity these are 11.5867 ± 0.3123 mg QE/g DW and 2.8767 ± 0.1291 mg QE/g DW repetitively. Considering, the effect of temperature showed at 30°C had amount of maximum oil and when analyzed with $ABTS^+$ assay had been the best antioxidant activity. At 40°C had amount of maximum gamma-

oryzanol, anthocyanin, phenolic compound and flavonoid compound. When analyzed with FRAP and DPPH assay had been the best antioxidant activity. Considering, effect of solvent found hexane got amount of maximum oil and anthocyanin while ethanol 95% got amount of maximum gamma-oryzanol, phenolic compound and flavonoid compound. When analyzed with DPPH and ABTS⁺ assay, they had been the best antioxidant activity. Ethyl acetate had the best antioxidant activity when analyzed with FRAP assay.

Rice bran oil that extracted from Dokkarm rice bran show 1:10 (w/v) had amount of maximum oil and gamma-oryzanol those were 0.7206 ± 0.0120 g and 4.5133 ± 2.5439 mg QE/g DW respectively. At 1:6 (w/v) had amount of maximum anthocyanin and phenolic compound were 4.4267 ± 1.1756 mg QE/g DW and 28.7433 ± 2.7014 mg QE/g DW respectively while at 1:8 (w/v) had amount of maximum flavonoid compound was 32.8067 ± 3.6116 mg QE/g DW. Thereafter, antioxidants analysis found DPPH assay at 1:10 (w/v) has been the lowest IC₅₀ that is 2.3933 ± 0.0742 mg/ml while FRAP and ABTS⁺ assay at 1:6 (w/v) have been the best antioxidant activity these are 22.9167 ± 0.9248 mg QE/g DW และ 5.5933 ± 0.3832 mg QE/g DW repetitively. Considering, the effect of temperature showed at 30°C had amount of maximum oil, anthocyanin, phenolic compound and flavonoid compound. When analyzed with DPPH and ABTS⁺ assay had been the best antioxidant activity. At 40°C had amount of maximum gamma-oryzanol. When analyzed with FRAP assay, it had been the best antioxidant activity. Considering, effect of solvent found hexane got amount of maximum anthocyanin and phenolic compound while ethanol 95% got amount of maximum oil, gamma-oryzanol and flavonoid. When analyzed with DPPH and FRAP assay, they had been the best antioxidant activity while Ethyl acetate had the best antioxidant activity when analyzed with ABTS⁺ assay.

Keyword : Anthocyanin, Gamma-oryzanol, Ultrasonic, Antioxidant

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดีจากความช่วยเหลือของอาจารย์ผศ.ดร.ดวงกมล เรือนงาม อาจารย์ที่ปรึกษาโดยท่านได้ให้ความช่วยเหลือและคำแนะนำต่างๆซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำโครงการพิเศษฉบับนี้และให้แนวทางในการแก้ปัญหาที่เกิดขึ้นระหว่างการทำโครงการพิเศษ นอกจากนี้ขอขอบคุณ นายธารินทร์ วาเต็ง นักศึกษาปริญญาโท ครอบครัวและเพื่อนๆทุกคนที่คอยให้คำปรึกษาและเป็นกำลังใจในการทำโครงการพิเศษฉบับนี้

ผู้วิจัยหวังว่าโครงการพิเศษฉบับนี้จะมีประโยชน์อยู่ไม่มากนักน้อยสำหรับผู้สนใจจะศึกษา จึงขอมอบโครงการพิเศษฉบับนี้ให้แก่อาจารย์ที่ปรึกษา หากมีข้อผิดพลาดประการใด ผู้วิจัยต้องขอภัยไว้ ณ ที่นี้ และยินดีที่จะรับฟังคำแนะนำจากทุกท่านที่ได้เข้ามาศึกษาเพื่อเป็นประโยชน์ในการพัฒนา งานวิจัยต่อไป

นางสาวปภาดา ปานทองคำ
นางสาวอรณิชา จรัสศรีสุนทร
นางสาวอริศ มิตรสงเคราะห์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หัวข้อ	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ญ
สารบัญรูปภาพ	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	3
2.1 ข้าว	3
2.1.1 โครงสร้างและส่วนประกอบของข้าว	3
2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว	4
2.1.3 รำข้าว	5
2.1.4 ประโยชน์ของรำข้าว	5
2.2 น้ำมันรำข้าว	5
2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ	6
2.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ	7
2.4.1 สภาวะที่เหมาะสมกับการออกฤทธิ์ของแอนติออกซิแดนท์	7
2.4.2 กลไกการออกฤทธิ์ของสารแอนติออกซิแดนท์โดยทั่วไป	7
2.4.3 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมโดยทั่วไป	7
2.5 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระด้วยตัวทำละลาย	10
2.5.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย เป็นการใช้ตัวทำละลาย	10
2.5.2 คุณสมบัติของตัวทำละลาย	10
2.5.3 ชนิดตัวทำละลาย	10
2.6 สารแกมมาออริซานอล	11
2.6.1 คุณสมบัติของแกมมาออริซานอลต่อสุขภาพมนุษย์	12
2.7 สารประกอบฟลาโวนอยด์	12
2.8 สารประกอบฟีนอลิก	13
2.8.1 โครงสร้างทางเคมี	14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หัวข้อ	หน้า
2.8.2 ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลิก	14
2.9 แอนโทไซยานิน	14
2.9.1 การเกิดและโครงสร้างของแอนโทไซยานิน	15
2.9.2 คุณสมบัติทางเคมีของแอนโทไซยานิน	16
2.9.3 ประโยชน์ของแอนโทไซยานิน	17
2.9.4 การสกัดการทำให้บริสุทธิ์และการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน	18
2.10 การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด	20
2.10.1 ระบบอัลตราโซนิก	21
2.10.2 เครื่องอัลตราโซนิก	21
2.11 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography	24
2.11.1 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC	24
2.12 การวิเคราะห์เครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง	26
2.12.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ/ปริมาณ	27
2.12.2 ส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโตรโฟโตมิเตอร์	27
2.12.3 กฎของเบียร์ และแลมเบิร์ต	29
2.13 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	30
บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	40
3.1 วัสดุและอุปกรณ์	40
3.1.1 ไร่ข้าว	40
3.1.2 สารเคมีและอุปกรณ์	40
3.2 แผนผังการดำเนินการ	42
3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย	43
3.3.1 การคัดขนาด	43
3.3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด	43
3.3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบของแกรมมาออริซานอล	43
3.3.4 การหาปริมาณแอนโทไซยานิน	44
3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	45
3.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	45
3.3.7 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay	45
3.3.8 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay	46
3.3.9 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS ⁺ assay	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หัวข้อ	หน้า
3.3.10 การคำนวณทางสถิติ	46
บทที่ 4 ผลการวิจัยและอภิปรายผล	47
4.1 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้	47
4.1.1 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท	47
4.1.2 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขาม	49
4.2 ปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้	51
4.2.1 ปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท	51
4.2.2 ปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขาม	54
4.3 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้	57
4.3.1 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท	57
4.3.2 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขาม	60
4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าว	62
4.4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวหอมมะลิชัยนาท	62
4.4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไร้ดอกขาม	65
4.5 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าว	68
4.5.1 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวหอมมะลิชัยนาท	68
4.5.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไร้ดอกขาม	70
4.6 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay	73
4.6.1 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ในน้ำมันรำข้าวหอมมะลิชัยนาท	73
4.6.2 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ในน้ำมันรำข้าวไร้ดอกขาม	76
4.7 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay	78
4.7.1 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ในน้ำมันรำข้าวหอมมะลิชัยนาท	78
4.7.2 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ในน้ำมันรำข้าวไร้ดอกขาม	81
4.8 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ⁺ assay	84
4.8.1 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ⁺ assay ในน้ำมันรำข้าวหอมมะลิชัยนาท	84

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หัวข้อ	หน้า
4.8.2 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ⁺ assay ในน้ำมันรำข้าว ไร้ดอกขาม	86
4.9 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าว 2 ประเภท	89
4.9.1 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท	89
4.9.2 เปรียบเทียบปริมาณแกมมาออริซานอลในน้ำมันที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท	90
4.9.3 เปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท	90
4.9.4 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท	90
4.9.5 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันที่ได้จาก รำข้าว 2 ประเภท	91
4.9.6 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH assay ในน้ำมัน ที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท	91
4.9.7 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี FRAP assay ในน้ำมัน ที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท	91
4.9.8 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ABTS ⁺ assay ในน้ำมัน ที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท	92
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	94
5.1 สรุปผลการวิจัย	94
5.2 ข้อเสนอแนะ	95
เอกสารอ้างอิง	96
ภาคผนวก ก	104
ภาคผนวก ข	112

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของข้าวและส่วนที่ได้จากการขัดสีที่ระดับความชื้น 14%	4
2.2 แสดงรงควัตถุในกลุ่มแอนโทไซยานิน	16
2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	31
4.1 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาทต่อตัวทำละลาย 1:8 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	48
4.2 ปริมาณน้ำมันทั้งหมดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาทต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	49
4.3 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:8 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	50
4.4 ปริมาณน้ำมันทั้งหมดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	51
4.5 ปริมาณแกรมมาออริซานอลที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาทต่อตัวทำละลาย 1:10 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	52
4.6 ปริมาณแกรมมาออริซานอลทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาทต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	54
4.7 ปริมาณแกรมมาออริซานอลที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:10 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	55
4.8 ปริมาณแกรมมาออริซานอลทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	57
4.9 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาทต่อตัวทำละลาย 1:10 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	58
4.10 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาทต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	59
4.11 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	61
4.12 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.13 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาต่อตัวทำละลาย 1:6 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	63
4.14 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	65
4.15 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	66
4.16 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	67
4.17 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาต่อตัวทำละลาย 1:8 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	69
4.18 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	70
4.19 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:8 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	71
4.20 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C	73
4.21 ค่า IC ₅₀ ของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาต่อตัวทำละลาย 1:10 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay	74
4.22 ค่า IC ₅₀ ของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay	75
4.23 ค่า IC ₅₀ ของน้ำมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:8 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay	77
4.24 ค่า IC ₅₀ ของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
4.25	79
4.26	81
4.27	82
4.28	83
4.29	85
4.30	86
4.31	87
4.32	89
4.33	93
ก.1	107
ก.2	108
ก.3	109
ก.4	110
ก.5	111

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ

รูปที่	หน้า
2.1 โครงสร้างและส่วนประกอบของข้าว	4
2.2 แสดงการเกิดสีของวิธีการ FRAP assay	8
2.3 โครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt	9
2.4 แสดงลักษณะ 4 โครงสร้างหลักทางเคมีของสาร γ -oryzanol	11
2.5 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์	12
2.6 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไป	14
2.7 แสดงโครงสร้างของ 3-glycoside และ 3,5-diglycoside	17
2.8 ความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิกในช่วงต่างๆ	21
2.9 อ่างอัลตราโซนิก	22
2.10 ลักษณะของฮอร์นชนิดต่างๆ	23
2.11 ระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบ	24
2.12 แสดงส่วนประกอบของ HPLC	24
3.1 แผนผังการทดลองทั้งหมด	42
ก.1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกสำหรับวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด	107
ก.2 กราฟมาตรฐานโพลีฟีนอลสำหรับวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay	108
ก.3 กราฟมาตรฐานควาซีตินสำหรับหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด	109
ก.4 กราฟมาตรฐานโพลีฟีนอลสำหรับวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS ⁺ assay	110
ก.5 กราฟมาตรฐานเข้มข้นของแกรมมาออริซานอล	111
ข.1 แสดงลักษณะของเครื่อง High Performance Liquid Chromatograph	112
ข.2 แสดงลักษณะของเครื่อง Ultrasonic probe	113
ข.3 คอนโทรลเลอร์ของเครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบ	113
ข.4 เครื่องระเหยสุญญากาศ	114
ข.5 บีมลัมของเครื่องระเหยสุญญากาศ	115
ข.6 เครื่อง microplate reader	116

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

รำข้าวเป็นส่วนหนึ่งของเมล็ดข้าวและเป็นผลพลอยได้จากการสีข้าว รำข้าวอุดมไปด้วยสารสำคัญต่างๆ ได้แก่ วิตามินอีธรรมชาติ (ทั้งTocopherol และ Tocotrienol) แกรมมาออริซานอล (γ -oryzanol) สารกลุ่มฟอสโฟลิปิด เช่น Lecithin, Cephalin, Lysolecithin กลุ่มซาราไมด์ วิตามินบี-คอมเพล็กซ์ (Vitamin B Complex) โคเอนไซม์คิวเท็น (Q-enzyme Q10) และสารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) ปัจจุบันได้มีการนำรำข้าวมาเพิ่มมูลค่าและใช้ประโยชน์โดยสกัดเป็นน้ำมันรำข้าวที่ยังคงมีสารสำคัญเหล่านี้ ซึ่งการสกัดน้ำมันรำข้าวสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การสกัดเย็น การสกัดโดยใช้คาร์บอนไดออกไซด์เหนือจุดวิกฤติ การสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ การสกัดโดยใช้น้ำกึ่งวิกฤติ การสกัดด้วยคลื่นไมโครเวฟ การสกัดด้วยคลื่นเสียง เป็นต้น

แกรมมาออริซานอล (γ -oryzanol) เป็นสารสำคัญที่พบมากในรำข้าวมีจุดเด่นในการช่วยลดอัตราเสี่ยงของโรคหลอดเลือดแข็งตัวตีบตัน เช่น โรคหัวใจขาดเลือด และหัวใจวายโดยช่วยยับยั้งการจับตัวของเกล็ดเลือด ทำให้เลือดสามารถไหลเวียนในร่างกายได้ดีขึ้น ช่วยควบคุมให้ระดับคลอเลสเตอรอลในร่างกายเป็นไปอย่างปกติโดยเร่งกระบวนการกำจัดคลอเลสเตอรอลให้ดีขึ้นและกรดไขมันอย่างกรดโอเลอิก (Oleic Acid) หรือโอเมก้า 9 (Omega 9) สามารถช่วยลดคลอเลสเตอรอลชนิดเลว (LDL) ที่อาจไปเกาะตัวของไขมันที่ผนังหลอดเลือด ช่วยควบคุมระดับไขมันในเลือดและเพิ่มความยืดหยุ่นให้กับหลอดเลือด (Rohman และคณะ, 2014) นอกจากนี้ยังพบสารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) เป็นสารสีในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งเป็นสารประกอบไกลโคไซด์หรือเอซิลไกลโคไซด์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก (Lee และคณะ, 2007, Shen และคณะ, 2009) มักพบในข้าวที่มีสีและรำข้าวไร้ เช่น ข้าวหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และ ข้าวเหนียวดำ มีการรายงานทางการแพทย์ว่า แอนโทไซยานินมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้สูงกว่าวิตามินซี ช่วยลดโอกาสการเป็นมะเร็ง ป้องกันการเกิดโรคความดันโลหิตสูงโรคเบาหวานโรคหัวใจช่วยเสริมให้ร่างกายต่อต้านเชื้อโรค สมานแผล เสริมภูมิคุ้มกันได้ดีขึ้น และสามารถกระตุ้นสารพันธุกรรมที่เกี่ยวข้องกับการควบคุมและสะสมปริมาณเม็ดสีในร่างกายให้สูงขึ้นด้วย อีกทั้งส่งเสริมการทำงานของเม็ดเลือดแดงได้อีกด้วย (พิเชษฐ, 2544)

ในการศึกษานี้เป็นการศึกษากระบวนการสกัดสารแกรมมาออริซานอล และแอนโทไซยานินจากรำข้าวมีสีโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic wave) สมบัติคลื่นอัลตราโซนิกคือมีทิศทางที่สามารถเล็งคลื่นเสียงไปยังเป้าหมายที่ต้องการได้โดยเจาะจง เครื่องอัลตราโซนิกมีหลายประเภท ได้แก่ แบบบ่ออ่าง (ultrasonic bath system) และแบบโพรบ (ultrasonic probe system) และมีงานวิจัยในอดีตที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารสำคัญจากตัวอย่างธรรมชาติด้วยคลื่นเสียง เช่น การสกัดสารสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากน้ำมันมะกอก (Klen และคณะ, 2012), การสกัดเปลือกมะเขือเทศเพื่อหาSteroidal alkaloid (Hossain และคณะ, 2014) ซึ่งการสกัดดังกล่าวสามารถสกัดสารและมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระได้ (พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2557)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากข้อมูลข้างต้นในโครงการพิเศษนี้จึงทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวมีสีโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมัน สารแกรมมาอริซานอล แอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบฟลาโวนอยด์ เพื่อให้ได้ปริมาณมากที่สุดโดยวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วยวิธีโครมาโทกราฟีสมรรถภาพสูงและวิธี spectrophotometry และวิเคราะห์เชิงคุณภาพด้วยการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีต่างๆ ได้แก่ DPPH assay, FRAP assay และ ABTS⁺ assay

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

- 1) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดรำข้าวโดยใช้ระบบสกัดอัลตราโซนิกแบบโพรบ เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันรำข้าว สารแกรมมาอริซานอล, แอนโทไซยานิน, สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด
- 2) ศึกษาประสิทธิภาพสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากระบบสกัดอัลตราโซนิกแบบโพรบ

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

- 1) ใช้รำข้าว 2 สายพันธุ์ ได้แก่ รำข้าวหอมมะลิชัยนาทและรำข้าวไรต์ดอกขาม ขนาด 850 ไมโครเมตร เก็บที่อุณหภูมิ 4°C
- 2) อัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6 1:8 และ 1:10 (w/v) ตัวทำละลายที่ใช้ได้แก่ เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต อุณหภูมิที่ใช้คือ 30°C และ 40°C
- 3) สกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกชนิดโพรบ สกัดที่คลื่นเสียงความถี่สูง 20 kHz
- 4) วิเคราะห์ปริมาณสารแกรมมาอริซานอลด้วยเครื่องโครมาโทกราฟีของเหลวความดันสูง (HPLC) และวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยวิธี Spectrophotometry
- 5) ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay, FRAP assay และ ABTS⁺ assay

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

- 1) ทราบถึงสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดรำข้าวโดยใช้ระบบสกัดอัลตราโซนิกแบบโพรบเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันรำข้าว สารแกรมมาอริซานอล สารแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด
- 2) ทราบถึงประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยระบบสกัดอัลตราโซนิกแบบโพรบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าว

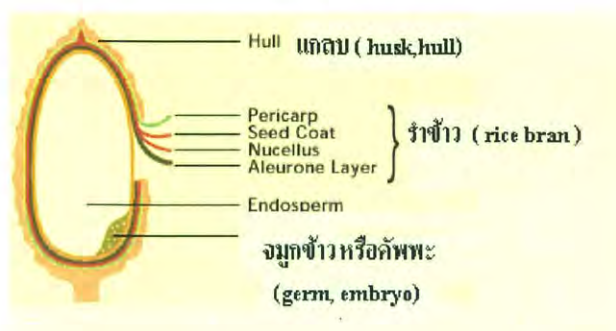
ข้าวเป็นพืชที่สามารถปลูกได้ทั่วโลกโดยเฉพาะทวีปเอเชีย ข้าวเป็นอาหารหลักและมีสารประกอบที่มีหมู่ฟังก์ชันที่มีประโยชน์หลายอย่าง เมล็ดข้าวที่บริโภคเป็นอาหารนั้นจะต้องผ่านกระบวนการต่างๆ เช่น การทำความสะอาด การสี และกระบวนการภายหลังการขัดสีข้าว (การทำให้เมล็ดข้าวขาว ขัดแต่ง และการคัดเมล็ด) ได้ผลพลอยได้หลายประเภท ได้แก่ แกลบ ข้าวขาว และรำ ซึ่งจากการสีข้าวได้ข้าวขาว (เอนโดสเปิร์ม) เป็นผลิตภัณฑ์หลัก 70% ส่วนผลพลอยได้ประกอบด้วย แกลบ 20 % รำ 8% และเมล็ดพันธุ์ 2% (Yilmaz, 2016)

รำข้าวเป็นผลพลอยได้จากการขัดสีข้าวซึ่งมีสีน้ำตาล โดยในแต่ละปี 90% ของรำข้าวที่ได้ถูกนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์เนื่องจากมีราคาถูก ส่วนที่เหลือนำมาใช้ในการสกัดน้ำมันรำข้าว รำข้าวมีอายุการเก็บรักษาสั้นมากเนื่องจากปริมาณไขมันสูง และมีเอนไซม์ไลเปสสามารถย่อยน้ำมันทำให้รำข้าวเหม็นหืน จึงมีการรักษาเสถียรภาพรำข้าวโดยการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปส เนื่องจากรำข้าวเส้นใยอาหารสูงและยับยั้งการเกิดโรคได้ รำข้าวถูกนำมาใช้อย่างมากมายในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อเพิ่มคุณภาพทางโภชนาการของอาหารแปรรูป ตัวอย่างเช่น มีการเติมในขนมปัง เค้ก อาหารเส้นพาสต้า และไอศกรีม

องค์ประกอบของรำข้าว ข้าวประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 80% โปรตีน 7-8% ไขมัน 3% และเส้นใย 3% นอกจากนี้รำข้าวมีสารอาหารอนุมูลอิสระ และ Phytochemicals จึงมีประโยชน์ต่อสุขภาพมนุษย์ อันได้แก่ tocopherols, tocotrienol และ γ -oryzanol ซึ่ง γ -oryzanol เป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่า tocopherols ซึ่งช่วยลดความเสี่ยงของโรคเรื้อรัง สเตอรอลที่เกิดในพืชมีทั้งที่อยู่ในรูปอิสระและในรูปของเอสเทอร์ เช่น ferulic acid ester ของสาร phytochemicals (Yilmaz, 2016)

2.1.1 โครงสร้างและส่วนประกอบของข้าว

ข้าวเป็นธัญพืช (cereal grain) ชนิดหนึ่ง เมล็ดข้าวหุ้มด้วยชั้นเปลือกหลายชั้น ชั้นนอกสุดเป็น แกลบ (husk) ซึ่งเป็นเซลลูโลส (cellulose) และเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เมื่อสีเอาชั้นแกลบออกจะได้ข้าวกล้อง ในเมล็ดข้าวกล้องประกอบด้วย จมูกข้าวหรือคัพพะ (germ หรือ embryo) และส่วนเอนโดสเปิร์ม หรือข้าวขาว ห่อหุ้มด้วยชั้นรำข้าว (rice bran) ซึ่งประกอบด้วยเยื่อหุ้มเมล็ดหลายชั้น เยื่อออลูโรน (aleurone layer) หรือชั้นรำละเอียด เป็นชั้นในสุดที่ติดกับเอนโดสเปิร์ม แสดงดังรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างและส่วนประกอบของข้าว

ที่มา : <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1657/rice-%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7>

2.1.2 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว

องค์ประกอบทางเคมีของข้าวแปรผันตามพันธุ์ สภาพการปลูก การเก็บเกี่ยวและกระบวนการแปรรูป องค์ประกอบทางเคมีของข้าวคือ โปรตีน ไขมัน เส้นใยหยาบ เกล็ด และคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้ยังมีวิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ข้าวที่ผ่านกระบวนการแปรรูปจะมีองค์ประกอบทางเคมีต่างกัน (ตารางที่ 2.1) เช่น ข้าวเปลือกมีโปรตีนประมาณ 5.8-7.7 กรัม แต่เมื่อกะเทาะเปลือกออกจะมีโปรตีนประมาณ 7.1-8.3 กรัม เส้นใยจะพบมากในแกลบ รำข้าว และเปลือก ส่วนไขมันพบมากที่สุดที่รำข้าวคือ 15-19.7 กรัม ปริมาณวิตามินที่พบมากได้แก่ บี 1, บี 2, โนอะซิน และวิตามินอี (อรอนงค์, 2547)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีโดยประมาณของข้าวและส่วนที่ได้จากการขัดสีที่ความชื้น14%

ส่วนของข้าว	โปรตีน (กรัม)	ไขมัน (กรัม)	เส้นใย (กรัม)	เถ้า (กรัม)	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	เส้นใยอาหาร (กรัม)	พลังงาน (กิโลจูล)	พลังงาน (กิโลแคลอรี)
ข้าวเปลือก	5.8-7.7	1.5-2.3	7.2-10.4	2.9-5.2	64-73	16.4-19.2	1580	378
ข้าวกล้อง	7.1-8.3	1.6-2.8	0.6-1.0	1.0-1.5	73-87	2.9-3.9	1520-1610	363-385
ข้าวสาร	6.3-7.1	0.3-0.5	0.2-0.5	0.3-0.8	77-89	0.7-2.3	1460-1560	349-373
รำข้าว	11.3-14.9	15.0-19.7	7.0-11.4	6.6-9.9	34-62	24-29	670-1990	399-476
แกลบ	2.0-2.8	0.3-0.8	34.5-45.9	13.2-21.0	22-34	66-74	1110-1390	265-322

ที่มา: Juliano (1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 รำข้าว

รำข้าว คือ เยื่อสีทองที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าวกล้องหรือข้าวทั่วไป ได้จากการขัดข้าวกล้องให้เป็นข้าวสาร ซึ่งเป็นส่วนที่มีคุณค่า ทางโภชนาการสูงที่สุดของข้าว โดยทั่วไปจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ รำหยาบ (bran) ซึ่งได้จากการขัดผิวเมล็ดข้าวกล้องและ รำละเอียด (polish) ได้จากการขัดขาวและขัดมัน รำข้าวทั้งสองส่วนนี้มีคุณค่าทางอาหารสูง จึงได้มีการนำรำข้าวมาใช้ประโยชน์ ได้แก่ น้ำมันรำข้าวเป็นน้ำมันสำหรับบริโภคที่มีคุณภาพดี เนื่องจากมีกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวจำนวนมากถึง 80% โดยในจำนวนนี้เป็นกรดไขมันที่จำเป็น 31.7% มีปริมาณวิตามินอีสูง และยังมีสาร γ -oryzanol ที่มีสมบัติเป็นสารกันหืน และมีประโยชน์ในการช่วยเร่งการเจริญเติบโตรวมทั้งช่วยให้ระบบการหมุนเวียนของเลือดดีขึ้นรำข้าวสามารถใช้เป็นอาหารสัตว์ รำข้าวทั้งชนิดรำหยาบและรำละเอียดสามารถนำมาผสมในอาหารสัตว์ได้ ใช้ในเครื่องสำอางและครีมบำรุงผิว เนื่องจากในน้ำมันรำข้าวมีสารแกรรรมาออริซานอล และวิตามินอี ซึ่งเป็น สารต้านอนุมูลอิสระ และช่วยบำรุงผิวพรรณ ให้ความชุ่มชื้น และ ชะลอความเหี่ยวย่น

2.1.4 ประโยชน์ของรำข้าว

การรับประทานรำข้าวทำให้ช่วยให้ถ่ายอุจจาระคล่อง ท้องไม่ผูก และทำหน้าที่กวาดลำไส้ โดยรำข้าวจะเป็นตัวอุ้มน้ำ ทำให้อุจจาระพองตัวช่วยทำให้การเคลื่อนของอุจจาระเร็วและสะดวกขึ้น ป้องกันเนื้องอกในลำไส้ใหญ่ และทวารหนัก ป้องกันลำไส้โป่ง (Diverticulosis) ป้องกันริดสีดวง ตลอดจนการเกิดไส้ติ่ง และนิ่วในถุงน้ำดี รวมทั้งป้องกันการเกิดโรคเกี่ยวกับหลอดเลือดแดงที่ไปเลี้ยงหัวใจ (Coronary artery)

2.2 น้ำมันรำข้าว

น้ำมันรำข้าว (Rice bran oil) เป็นหนึ่งในน้ำมันที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง และดีต่อสุขภาพ ซึ่งประกอบไปด้วยกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่า 80% ซึ่งส่วนใหญ่เป็นกรดไขมันโอเลอิกและลิโนเลอิก ในอัตราส่วน 1:1 มีกรดไขมันอิ่มตัวร้อยละ 18 กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว (Monounsaturated Fatty Acid : MUFA) 45% กรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน (Polyunsaturated Fatty Acid : PUFA) 37% น้ำมันรำข้าวมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินอี ในกลุ่ม tocopherols ประมาณ 19-40% และกลุ่ม tocotrienols 51-81% และ oryzanol ซึ่งสามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าวิตามินอีถึง 6 เท่า จากข้อมูลข้างต้นน้ำมันรำข้าวจึงเหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการลดคอเลสเตอรอลที่ไม่ดี (LDL)

น้ำมันรำข้าวเป็นทางเลือกที่น่าสนใจของผู้บริโภค อย่างไรก็ตามยังมีความยุ่งยากในการทำน้ำมันรำข้าวให้บริสุทธิ์ เนื่องจากมีสิ่งเจือปน กรดไขมันอิสระ และสารสีในปริมาณสูง (Swapnil และคณะ, 2015) รำข้าวเป็นแหล่งของ γ -oryzanol และเนื่องจาก γ -oryzanol มีประโยชน์ต่อสุขภาพ มนุษย์จึงมีการพัฒนาวิธีที่สะดวก และง่ายในการแยก γ -oryzanol ออกมา โดยวิธีการแยก γ -oryzanol จากน้ำมันรำข้าวหยาบนั้นมีหลายวิธี เช่น การกำจัดกัมม (Degumming) การกำจัดไข (Dewaxing) การทรีตด้วยด่าง (alkali treatment) การสกัดของแข็งด้วยตัวทำละลาย (solid-liquid extraction) การตกผลึก (crystallization) และการสกัดของเหลวด้วยของเหลว (liquid-liquid extraction) (Gul และคณะ, 2015) น้ำมันรำข้าวประกอบด้วยสารสำคัญหลายกลุ่ม ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) กลุ่ม Phospholipids เช่น Lecithin, Cephalin, Lysolecithin ซึ่งมีความสำคัญในการนำไปสร้าง และซ่อมแซมส่วนที่สึกหรอของเซลล์ประสาทสมองและช่วยป้องกันเซลล์ประสาทจากสารที่เป็นพิษและอนุมูลอิสระต่างๆ ช่วยลดความเครียดและช่วยเสริมสร้างในด้านความจำ

2) กลุ่ม Ceramide เป็นส่วนประกอบที่สำคัญของชั้นใต้ผิวหนัง เป็นองค์ประกอบของสปีงโกซิล และกรดไขมัน ช่วยทำให้ผิวหนังมีความยืดหยุ่น ช่วยรักษาผิวพรรณให้สดใส ลดริ้วรอยก่อนเวลาอันควร นอกจากนี้ Ceramide ยังมีคุณสมบัติเป็น Whitener ซึ่งสามารถยับยั้งการสังเคราะห์ melanin อันเป็นสาเหตุให้เกิดฝ้า กระ จุดด่างดำบนผิวพรรณได้ดี (Hill และคณะ, 2009)

3) กลุ่ม Tocols เป็นวิตามินอีธรรมชาติในรูปของ Tocopherols และ Tocotrienols มีประโยชน์ต่อร่างกายในการสร้างและซ่อมแซมเซลล์ต่างๆของร่างกายและยังช่วยทำให้ร่างกายมีภูมิคุ้มกันต่อโรคต่างๆช่วยต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นเหตุสำคัญของการเกิดโรคมะเร็ง อีกทั้งยังป้องกันโรคความดันเลือด โรคไตและโรคหลอดเลือดตีบ

4) กลุ่ม Linoleic Fatty Acid และ Linoleic เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวและเป็นวิตามินประเภทที่ละลายในไขมันที่มีประโยชน์ช่วยให้ร่างกายเผาผลาญไขมันอิ่มตัวได้ดีขึ้นช่วยให้เซลล์ได้รับสารอาหารได้มากขึ้นโดยเป็นตัวบ่อนสารอาหารให้แก่เซลล์รักษาสมดุลของระบบการแข็งตัวของเลือด เสริมสร้างความแข็งแรงให้แก่ผนังหลอดเลือดและเยื่อหุ้มเซลล์ (Morel และคณะ, 2013)

5) กลุ่ม γ -oryzanol เป็นสารอนุมูลอิสระมีฤทธิ์ในการลดระดับคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ ทำให้ลดการตีบตันของหลอดเลือด นอกจากนี้ยังและยังป้องกันแสงยูวีได้เมื่อใช้กินหรือใช้ทา ทำให้ผิวหนังชุ่มชื้น (Patel และคณะ, 2004)

2.3 สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant หรือ antiradical) หมายถึง สารที่ทำหน้าที่ยับยั้งหรือต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน หรือจัดอนุมูลอิสระ เป็นสารที่มีสมบัติยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ ในกรณีที่อยู่ในร่างกายสารแอนติออกซิแดนท์มีฤทธิ์ทำลายอนุมูลอิสระที่มีในร่างกายโดยใช้ในความเข้มข้นที่ค่อนข้างต่ำ ก็มีผลในการยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้อย่างมีนัยสำคัญ นอกจากนี้แอนติออกซิแดนท์ยังถูกประยุกต์ใช้เพื่อเป็นสารยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่างๆหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์อาหาร ผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์ยา (บุหรัน, 2556)

บทบาทสำคัญของสารต้านอนุมูลอิสระคือ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกาย ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคต่างๆของมนุษย์ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุหลักของการเสื่อมคุณภาพในอาหาร ปัจจุบันองค์กรที่เกี่ยวข้องในอุตสาหกรรมอาหารและยาได้พยายามพัฒนาสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากธรรมชาติเช่น สารห่วยทะเล แบคทีเรีย เชื้อรา และพืชชั้นสูงอย่างไรก็ตามในภาวะปกติร่างกายของคนเรา จะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระอยู่แล้ว ซึ่งแบ่งออกเป็นสองส่วนคือ ส่วนแรกเกิดจากร่างกายสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และส่วนที่สองคือ กลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มาจากวิตามินเอ ซี อี หรือ เบต้าแคโรทีนรวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งเป็นพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้ เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบการต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้นตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย เช่น

เอกสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในร่างกาย เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน โพลีฟีนอล และเอนไซม์ต่างๆ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์คะตะเลส (catalase), กลูตาไธโอนเพอรอกซิ-เดส (glutathione peroxidase) และซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase) หรือสารประกอบโปรตีนบางอย่าง เช่น อัลบูมิน (albumin), บิลิรูบิน (bilirubin), เซอรูโลพลาสมิน (ceruloplasmin), กลูตาไธโอน (glutathione), ทรานสเฟอริน (transferrin), ยูบิควินอล (ubiquinol) และยูเรต (urate) เป็นต้น สารเหล่านี้มีหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่าง ๆ ให้อยู่ในระดับพอเหมาะ แต่ถ้าเมื่อใดที่มีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในปริมาณมากเกินไปที่ระบบป้องกันจะยับยั้งได้หมดจะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า “oxidative stress” ขึ้นภายใต้สภาวะดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่ออวัยวะและเนื้อเยื่อต่าง ๆ ของร่างกาย ซึ่งถ้าสะสมมาก ๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติหลายอย่าง (เจนจิราและประสงค์, 2554)

2.4 การวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธี แต่ส่วนใหญ่เป็นการวัดความสามารถโดยรวมในการต้านออกซิเดชันของสารตัวอย่าง (Total Antioxidant Capacity ; TAC) ซึ่งการเลือกใช้วิธีวิเคราะห์ที่ใดขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยเช่น

2.4.1 สภาวะที่เหมาะสมกับการออกฤทธิ์ของแอนติออกซิแดนซ์

สารแอนติออกซิแดนซ์ที่ละลายได้ดีในไขมันเหมาะสมกับวิธีการที่ระบบของไขมัน หรือ อิมัลชัน ในขณะที่สารแอนติออกซิแดนซ์ที่ละลายได้ดีในสารที่มีขั้วเหมาะสมกับวิธีการวิเคราะห์ที่เป็นระบบทดสอบที่เป็นสารมีขั้วนอกจากนี้ยังขึ้นกับความเหมาะสมเกี่ยวกับเวลาที่ใช้ เครื่องมือ และค่าใช้จ่ายในการวิเคราะห์

2.4.2 กลไกการออกฤทธิ์ของสารแอนติออกซิแดนซ์โดยทั่วไป

หลักการและกลไกที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระมีดังนี้

1) การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมของไฮโดรเจน (hydrogen atom transfer) จากโมเลกุลของสารแอนติออกซิแดนซ์ เช่น การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ วิธี ORAC (oxygen radical absorbance capacity, TRAP (total radical trapping antioxidant parameter), Inhibition of linoleic acid oxidantion (Inhibition lipid peroxidantion) และ carotene bleaching assay

2) การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (electron transfer) เป็นการหาความสามารถในการส่งผ่านอิเล็กตรอน ไปรีดิวซ์สารอื่น ได้แก่ โลหะ และอนุมูล วิธีการจะไวต่อไวตามินซี กรดยูริก สารปนเปื้อน และโลหะ ซึ่งอาจรบกวนการวิเคราะห์ ทำให้ผลการวิเคราะห์โดยวิธีนี้มีค่าความแปรปรวนสูง

2.4.3 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมโดยทั่วไป

1) การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

DPPH หรือ 2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) ที่นำมาใช้วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ โดยใช้หลักการถ่ายทอดอิเล็กตรอน (electron-transfer) ที่ทำให้ได้สารละลายสีม่วงในเอทานอล ซึ่งสารอนุมูลอิสระนี้เสถียรที่อุณหภูมิห้องและทำให้โมเลกุลสารต้านอนุมูลอิสระที่มีอยู่ลดลง ส่งผลให้สีของสารละลายสีม่วงจางลง วิธีนี้เป็นวิธีที่ง่ายและรวดเร็วเมื่อใช้วิธีการเทียบความทึบแสง (Spectrophotometry) สามารถประเมินตัวอย่างได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการเชิงงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

หลากหลายในเวลาเดียวกัน (Eugenio และคณะ, 2012)

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธี DPPH เป็นวิธีทั่วไปที่ใช้วัดสารต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวสาลี รำข้าว พืชผัก conjugated linoleic acids สมุนไพร น้ำมันจากเมล็ดพืช และแป้ง ในตัวทำละลายต่างๆ เช่น เอทานอล อะซีโตน เมทานอล สารละลายแอลกอฮอล์ และเบนซีน DPPH มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร ในเมทานอลหลักการคือ DPPH จะรับอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลสารต้านอนุมูลอิสระ เป็นผลให้เกิดการรีดักชัน DPPH เป็น DPPH2 เปลี่ยนสารละลายสีม่วงให้เป็นสีเหลือง (Krishnan และคณะ, 2012)



เมื่อพิจารณางานวิจัยต่างๆที่ผ่านมา มีหลายกลุ่มงานวิจัยที่ใช้วิธีการทดลองที่แตกต่างกันเช่น ความเข้มข้นของ DPPH ใช้ตั้งแต่ 22.5 ถึง 250 ไมโครโมล บ่มที่เวลา 5 นาทีถึง 60 นาที ปฏิกริยาของตัวทำละลาย และ pH ซึ่งที่ความเข้มข้นของ DPPH สูงจะให้ค่าการดูดกลืนแสงที่มีความแม่นยำมากกว่า ผลของสถานะที่ต่างกันนี้ทำให้การหาค่า IC₅₀ จากสารมาตรฐานวิตามินซี (ascorbic acid) และสาร butylatedhydroxytoluene (BHT) มีความแปรปรวนอย่างมาก ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่จะเปรียบเทียบผลจากการทดลองที่มีสถานะที่ต่างกันได้ นอกจากนี้ แสง ออกซิเจน และ pH มีผลต่อค่าการดูดกลืนแสงของ DPPH ด้วย

2) การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay

FRAP assay หรือ Ferric reducing antioxidant power เป็นอีกวิธีหนึ่งที่ใช้ในการตรวจสอบความสามารถในการต้านออกซิเดชัน โดยอาศัยปฏิกิริยารีดอกซ์และติดตามการเปลี่ยนแปลงสีของสารประกอบเชิงซ้อน คือเมื่อสารประกอบเชิงซ้อน ferric tripyridyltriazine (Fe³⁺-TPTZ) ได้รับอิเล็กตรอนจากสารต้านออกซิเดชัน แล้วจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน ferrous tripyridyltriazine (Fe²⁺-TPTZ) ที่มีสีม่วงน้ำเงิน ดังรูปที่ 2.2



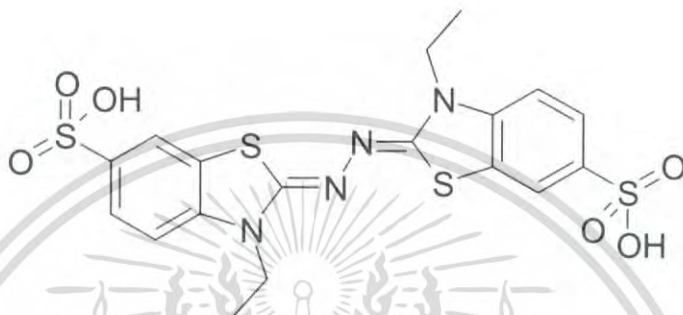
รูปที่ 2.2 แสดงการเกิดสีของวิธีการ FRAP assay

ที่มา : https://www.researchgate.net/figure/51816333_fig17_Figure-12-1-Fe3-TPTZ23-Fe3-TPTZ22-reduction-reaction-for-FRAP-assay

วิธี FRAP สามารถติดตามปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยวัดค่า absorbance ที่ 595 nm จากนั้นศึกษาความสามารถในการต้านออกซิเดชันในสารตัวอย่าง โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Ferrous sulfate แล้วรายงานเป็นค่า FRAP value ข้อดีของวิธีนี้คือ เสียค่าใช้จ่ายน้อย สะดวก รวดเร็ว มี ขั้นตอนในการทดลองไม่ยุ่งยาก ซ้ำซ้อนและมี reproducibility ดี (เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) (พรณี, 2550) งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรรมใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay

ABTS⁺ assay หรือ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) cation radical -scavenging assay : เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านออกซิเดชัน (antioxidant capacity) ซึ่งใช้ reagent คือ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt เป็น stable radical ใน aqueous solution สารละลายนี้มีสีเขียว ดูดกลืนแสงได้ดีที่ ความยาวคลื่น 734 nm สูตรโครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6- sulfonic acid) diammonium salt ดังรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของ 2,2'-Azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) diammonium salt

ที่มา: <http://www.mpbio.com/product.php?pid=02195023&country=223>

การทำให้เกิด ABTS⁺ cation radical ทำได้หลายวิธีดังนี้

1. ใช้ enzyme reaction คือใช้เอนไซม์เร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันให้เกิด ABTS⁺ cation radical เช่น peroxidase, myoglobin เป็นต้น
2. ใช้ chemical reaction โดยใช้สารเคมี เช่น manganese dioxide, potassium persulfate, 2,2'-azo-bis-(2-amidinopropane) (ABAP) เป็นต้น



antioxidant (AH) จะทำปฏิกิริยากับ ABTS⁺ ดังนี้



ในการทดลองพบว่าความเข้มข้นของสารละลายสีเขียวลดลงโดยจะรายงานผลการทดลองเป็นค่า 50% effective concentration (EC₅₀) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ ABTS⁺ เหลืออยู่ 50% หรือรายงานผลเป็น 50% inhibition concentration (IC₅₀) ซึ่งหมายถึง ปริมาณสารต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของ ABTS⁺ ลดลง 50%(เปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ) (พรรมณี, 2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระด้วยตัวทำละลาย

2.5.1 การสกัดด้วยตัวทำละลาย

เป็นการใช้ตัวทำละลาย (solvent) เพื่อสกัดหรือแยกสารประกอบที่ต้องการออกจากของผสม โดยในการสกัดด้วยตัวทำละลายอาศัยปัจจัยเรื่องสมดุลเคมี (chemical equilibrium) ของสารประกอบระหว่างเฟสของตัวถูกละลายและตัวทำละลาย หลักการของการสกัดคือใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมเข้าไปละลายสารที่ต้องการออกมา แบ่งได้ 3 วิธีคือ

- 1) Solid/Liquid Extraction เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของแข็งการสกัดแบบนี้มีหลักการไม่แตกต่างจากการหาตัวทำละลายเพื่อตกผลึกสาร
- 2) Liquid/Liquid Extraction เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของเหลว
- 3) Acid/Base Extraction เป็นการใช้ปฏิกิริยากรดเบสเพื่อแยกสารอินทรีย์ที่มีสมบัติเป็นกรดแก่หรือกรดอ่อนกลางและเบสออกจากกัน (สุภาพ และคณะ, 2540)

2.5.2 คุณสมบัติของตัวทำละลาย

- 1) มีประสิทธิภาพสูงในการละลายตัวถูกละลายที่จะแยกได้ดี
- 2) ละลายสารประกอบที่ต้องการได้ในปริมาณมากและละลายสารประกอบอื่นได้น้อย
- 3) เสถียรทางเคมี (ไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่ต้องการสกัด)
- 4) สามารถแยกออกมาจากสารที่ต้องการได้
- 5) ควรเสถียรทางเคมี (ไม่เสียสภาพเมื่อทำปฏิกิริยากับสารประกอบ)
- 6) สามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้
- 7) ความหนืดต่ำ

คุณสมบัติความมีขั้วเป็นคุณสมบัติที่เห็นได้ชัดของตัวทำละลาย โดยโมเลกุลมีคุณสมบัติเป็นไดโพล (electric dipole) และอะตอมมีค่า electronegativities ที่แตกต่างกัน เมื่อของเหลวที่ไม่มีขั้วเข้ามาในสนามไฟฟ้า จะมีเพียงอิเล็กตรอนในอะตอมเท่านั้นที่ตอบสนองต่อไฟฟ้าภายนอกเป็นผลให้เกิดอะตอมมีขั้ว (atomic polarization) ซึ่งการสร้างค่าความนำสนามไฟฟ้าสัมพัทธ์ (relative permittivity) นี้ทำให้เกิดโมเลกุลที่มีขั้ว และอันตรกิริยาระหว่างโมเลกุล (Intermolecular Interactions) ระหว่างโมเลกุลของตัวทำละลายและตัวถูกละลายสามารถกำหนดความสามารถในการละลายเข้าด้วยกัน (Mutual solubility) ได้

2.5.3 ชนิดตัวทำละลาย

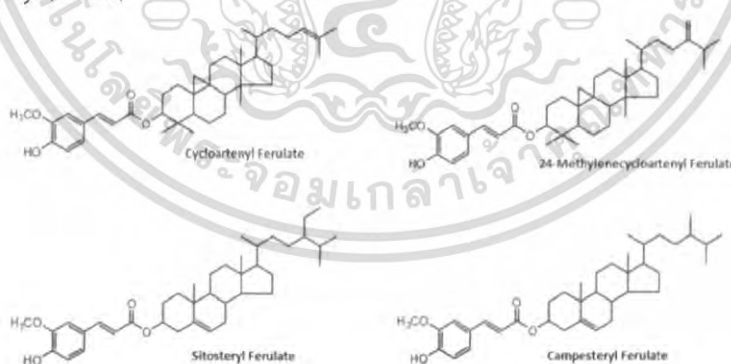
1) เอทานอลเป็นตัวทำละลายหนึ่งทีนิยมใช้ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ เนื่องจากมีราคาถูก นำกลับมาใช้ใหม่ได้ ไม่เป็นพิษ และสารสกัดสามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ การสกัดสารฟีนอลด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ สามารถแยกฟีนอลิกออกมาได้โดยใช้คุณสมบัติของการมีขั้ว และในการสกัดฟีนอลิกโดยใช้ความเข้มข้นของเอทานอลที่สูงจะให้ค่าผลได้ของฟีนอลิกสูงกว่า รวมทั้งกรดไฮดรอกซีซินนามิก (Hydroxycinnamic Acid) ฟลาโวนอยด์ (flavonols) และ o-diphenols

2) เมทานอลมีราคาถูกกว่าเอทานอล แต่ไม่นิยมเนื่องจากมีความเป็นพิษมากกว่าเอทานอล จึงไม่สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้ ในทางตรงกันข้ามสาร carotenoids เช่น ไม่วากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โลโคป็นในมะเขือเทศสามารถละลายในไขมันได้ดีกว่า ดังนั้นจึงควรเลือกใช้ตัวทำละลายที่ไม่มีขี้ ซึ่งในกรณีนี้ตัวทำละลายควรจะต้องเอาออกจากสารสกัดให้หมดก่อนนำไปใส่ในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งในการสกัดสารฟีนอล แครอทินอยด์และสารที่ให้กลิ่น บางครั้งต้องใช้กระบวนการใช้ความดัน (pressurized process) และกระบวนการกลั่นร่วมด้วย ซึ่งจะช่วยให้กระบวนการในการสกัดสารที่ระเหยง่าย (volatile compounds) ได้การใช้ตัวทำละลายสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดได้โดยใช้อุณหภูมิ โดยที่อุณหภูมิสูงจะมีสัมประสิทธิ์การแพร่ (diffusion coefficient) สูงกว่า แต่ปัญหาที่สำคัญในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระคือการเก็บรักษา เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระจะมีคุณสมบัติคงที่เพียงช่วงหนึ่ง (Mircea และคณะ, 2015)

2.6 สารแกรมมาออริซานอล

แกรมมาออริซานอล (γ -oryzanol) เป็นสารที่มีอยู่ประมาณร้อยละ 80 ในน้ำมันรำข้าวโดยครั้งแรกสันนิษฐานว่าเป็นองค์ประกอบเดี่ยว แต่ต่อมาก็ถูกค้นพบว่าเป็นสารประกอบเชิงซ้อนโดยมี cycloartenylferulate, 24-methylenecycloartenyl ferulate, sitosterylferulate และ campesterylferulate เป็น 4 โครงสร้างหลักของสาร γ -oryzanol (Ohara และคณะ, 2011) ดังรูปที่ 2.4 ที่พบในน้ำมันรำข้าวยังมีความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระ โดยพบว่า γ -oryzanol เป็นสารที่มีความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระได้มากกว่าวิตามินอีถึง 4 เท่า โดยคุณสมบัติในการต้านสารอนุมูลอิสระของ γ -oryzanol อาจเป็นเพราะมีโครงสร้างของ ferulic acid หรือกรดฟีนอลิก และ γ -oryzanol เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความสามารถในการลดคอเลสเตอรอลในเลือด ลดการดูดซึมคอเลสเตอรอล และลดแข็งตัวของเกล็ดเลือด และ γ -oryzanol เป็นหนึ่งในองค์ประกอบของสารที่มีแนวโน้มนำมาใช้ทางด้านเภสัชโภชนศาสตร์ (อาหารเสริม) เภสัชและเวชสำอาง การแยกส่วนประกอบ γ -oryzanol ในน้ำมันรำข้าวสามารถแยกได้โดยใช้ high performance liquid chromatography (HPLC)



รูปที่ 2.4 แสดงลักษณะ 4 โครงสร้างหลักทางเคมีของสาร γ -oryzanol

ที่มา : Ohara และคณะ, 2011

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.1 คุณสมบัติของแกรมมาออริซานอลต่อสุขภาพมนุษย์

1) เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant)

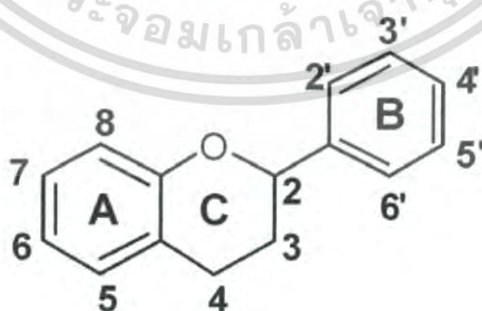
Antioxidant หรือ สารต้านอนุมูลอิสระคือสารที่สามารถยับยั้ง หรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดอนุมูลอิสระ (free radical) โดยอนุมูลอิสระเกิดขึ้นตามชาติในกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์ ซึ่งอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุที่ทำให้ผนังเซลล์ โครงสร้างเซลล์ และสารพันธุกรรมเสียหายได้ แต่ในร่างกายมนุษย์มีวิตามินอีซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีประสิทธิภาพในปริมาณมาก วิตามินอีจึงถูกใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ส่วน γ -oryzanol พบในน้ำมันรำข้าวและมีแนวโน้มนำมาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ หมู่ฟังก์ชันในสาร γ -oryzanol มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ เพราะมีโครงสร้างของ ferulic acid โดย ferulic acid เป็นสารประกอบประเภท phenolic

2) ผลต่อคอเลสเตอรอล (Cholesterol)

คุณสมบัติหนึ่งที่สำคัญของ γ -oryzanol คือมีคุณสมบัติช่วยลดคอเลสเตอรอลโดยทำการศึกษาทั้งในมนุษย์ และสัตว์พบว่าน้ำมันรำข้าวมีคุณสมบัติช่วยลดปริมาณไขมัน low-density lipoprotein cholesterol (LDL) และคอเลสเตอรอลรวม (total serum cholesterol) และเพิ่ม high-density lipoprotein cholesterol (HDL) โดยมีการดูดซึมคอเลสเตอรอลที่อยู่ในอาหารที่เรารับประทาน (Dietary Cholesterol) หรือเปลี่ยนคอเลสเตอรอลให้เป็น fecal bile acids และ สเตอรอล (Patel และคณะ, 2004)

2.7 สารประกอบฟลาโวนอยด์

ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) จัดเป็นสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenolic compounds) และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่พบได้ในธรรมชาติมีมากกว่า 4,000 ชนิด โดยมีโครงสร้างพื้นฐานเป็นฟีนิลเบนโซไพโรน (phenylbenzopyrone) ซึ่งมีโมเลกุลขนาดเล็กและมีโครงสร้างประกอบด้วยการจัดเรียงตัวของคาร์บอน 15 ตัว (C6- C3 - C6) เป็นวงแหวน 3 วง ได้แก่ วงแหวนเบนซีน (benzene ring) 2 วง (A and B) เชื่อมต่ออยู่กับวงแหวนไพแรน (heterocyclicpyran ring) ซึ่งอยู่ตรงกลางของโครงสร้าง (C) โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์แสดงดังรูปที่ 2.5



รูปที่ 2.5 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟลาโวนอยด์

ที่มา : Milvia, 2013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถแบ่งเป็นกลุ่มย่อยตามโครงสร้างเคมีได้ 7 กลุ่ม ได้แก่

- 1) ฟลาโวนอล (flavonols) เช่น เคอร์ซีติน (quercetin), แคมป์เฟอรอล (kaempferol), ไมริซิ-ติน (myricetin)
- 2) ฟลาโวน (flavones) เช่น ลูติโอลิน (luteolin), อาพิจินิน (apigenin), ไครซิน (chrysin)
- 3) ฟลาวาโนน (flavanones) เช่น เฮสเพอริติน (hesperetin), นารินจินิน (naringenin), อิริ-โอดิคทออล (eriodictyol)
- 4) ฟลาวานอล (flavanols) เช่น แคทชิน (catechin), แกลโลแคทชิน (gallocatechin), อีพิ-แคทชิน(epicatechin), อีพิแกลโลแคทชิน (epigallocatechin), อีพิแคทชิน-3-แกลเลต (epicatechin-3-gallate), และอีพิแกลโลแคทชิน-3-แกลเลต (epigallocatechin-3-gallate)
- 5) ฟลาวาโนนอล (flavanonols) เช่น แทกซิโฟลีน(taxifolin)
- 6) ไอโซฟลาโวน (isoflavones) เช่น เดดซีน (daidzein), จินิสเติน (genistein), ไกลซิ-ติน (glycitein), ฟอร์โมนอนเนติน(formononetin)
- 7) แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) เช่น ไชยานิดิน(cyanidin), เดลฟินิดิน (delphinidin), มาลวีดิน (malvidin), เปลาร์โกนิดีน (pelargonidin), พีโอนิดิน (peonidin), พีทูนิดีน (petunidin)

ฟลาโวนอยด์เป็นสารเมแทบอลิท์ขั้นทุติยภูมิในพืชสร้างจากกรดอะมิโนที่มีวงแหวน (aromatic amino acids) ได้แก่phenylalanine, tyrosine และmalonate โดยทำหน้าที่เป็นสารให้สีที่สำคัญในพืช ช่วยในการกรองรังสีอัลตราไวโอเล็ต และการช่วยตรึงไนโตรเจน ฟลาโวนอยด์พบได้ใน ผักผลไม้ ธัญพืช พืชตระกูลถั่ว เครื่องเทศ สมุนไพร ลำต้น กิ่งก้านดอก และเมล็ด รวมถึงเครื่องดื่มบางชนิด เช่น ชา โกโก้ เบียร์และไวน์ เป็นต้นฟลาโวนอยด์ที่พบในพืชส่วนใหญ่อยู่ในรูปที่จับอยู่กับน้ำตาล ในรูปแบบตัวไกลโคไซด์ (β -glycosides) ในระบบทางเดินอาหารฟลาโวนอยด์จะถูกย่อยโดยน้ำย่อยและถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กเป็นส่วนใหญ่ ส่วนฟลาโวนอยด์ที่ไม่ถูกดูดซึมที่ลำไส้เล็กและฟลาโวนอยด์ที่ถูกดูดซึมแล้วถูกขับออกทางน้ำดีจะเข้าสู่ลำไส้ใหญ่และถูกสลายโดยจุลินทรีย์บางชนิดทำให้ได้กรดฟีนอลิกซึ่งจะถูกดูดซึมกลับเข้ากระแสเลือดอีกครั้ง โดยฟลาโวนอยด์ที่อยู่ในกระแสเลือดก็จะไปยังเนื้อเยื่อของอวัยวะต่างๆ ทั่วร่างกาย และสามารถถูกกำจัดได้ทางไต โดยที่เซลล์ของเนื้อเยื่อต่างๆ ฟลาโวนอยด์อาจผ่านกระบวนการเมแทบอลิซึมหรือเปลี่ยนแปลงโครงสร้างซึ่งอาจทำให้ฤทธิ์ทางชีวภาพเปลี่ยนแปลงไปได้ (วิกิพี, 2556)

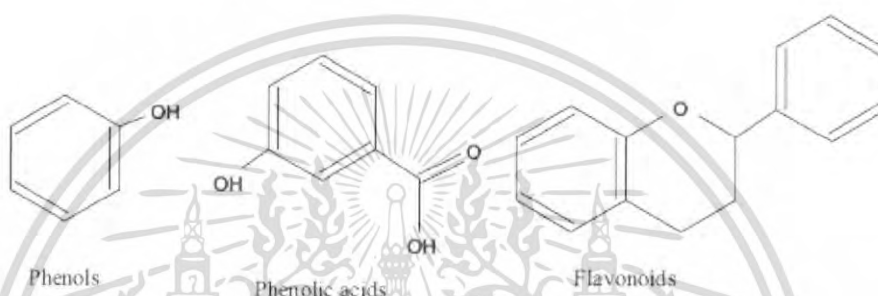
2.8 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลหรือสารประกอบฟีนอลเป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอลมีโมชนเภสัช ซึ่งสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพคือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถละลายได้ในน้ำสารประกอบฟีนอล มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซีน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่ สารประกอบฟีนอลพื้นฐานคือสารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซีน 1 วง และหมู่ไฮดรอกซิล 1 หมู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่บนสื่อออนไลน์โดยไม่ผ่านการอนุมัติจากผู้เกี่ยวข้อง หากมีข้อผิดพลาดประการใด ขออภัยเป็นอย่างสูงและขอสงวนสิทธิ์ในเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.1 โครงสร้างทางเคมี

สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมี ที่แตกต่างกันตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือสารประกอบพวงฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชผักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดโมเลกุลของสารประกอบฟีนอลคือ น้ำตาลกลูโคสและพบว่า อาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกแสดงดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกโดยทั่วไป

ที่มา : Afam และคณะ, 2014

2.8.2 ประโยชน์ของสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดมีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและเป็นสารต้านการกรกลายพันธุ์ (antimutagens) มีสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพ สามารถการป้องกันโรคต่างๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง โดยสารประกอบฟีนอล จะทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ (free radical) และไอออนของโลหะที่สามารถเร่งการ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันและโมเลกุลอื่นๆ โดยใช้ตัวเองเป็นตัวรับอนุมูลอิสระ (free radical) ทำให้ยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ ที่มีอนุมูลอิสระเป็นสาเหตุ แต่สารต้านอนุมูลอิสระจะถูกทำลายไปด้วย นอกจากนี้ใช้เพื่อการถนอมอาหาร โดยใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation)

2.9 แอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานิน (anthocyanins) มีชื่อย่อมาจากรากศัพท์เดิมของกรีกคือ anthos แปลว่า ดอกไม้และkyanos แปลว่าสีน้ำเงินแอนโทไซยานินจึงหมายถึงดอกไม้สีน้ำเงินแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ (water-soluble pigments) จัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) สีของแอนโทไซยานินจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาวะความเป็นกรด-ด่างโดยมีสีน้ำเงินเข้มในสภาวะที่เป็นด่าง (pH มากกว่า 7) มีสีม่วงเมื่อเป็นกลาง (pH7) และจะเปลี่ยนเป็นสีแดงส้มในสภาวะที่เป็นกรด (pH น้อยกว่า 7) สามารถพบแอนโทไซยานินได้ทั่วไปในแควิวอลและเซลล์เนื้อเยื่อชั้นนอกของดอกผลและ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อมีผู้เห็นการใช้โดยไม่ขออนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบของพืชดอก (angiosperms) ยกเว้นในพืชพวกตะบองเพชรผักกาดหัวผักขมและพืชพวกสาหร่าย บางครั้งปรากฏในส่วนเนื้อเยื่อพืช (plant tissue) ได้แก่รากหัวใต้ดินของพืชลำต้นหน้อย่อยและพืช เมล็ดเปลือย (gymnosperms) ต่างๆเช่นเฟิร์นและไบโอไฟต์ (bryophytes) นอกจาก แอนโทไซยานินจะทำให้ดอกไม้มีสีสันสวยงามแล้วยังช่วยป้องกันพืชไม่ให้ได้รับอันตรายจากสิ่งแวดล้อม และแมลงต่างๆแอนโทไซยานินจากธรรมชาติสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเครื่องดื่ม และผลิตภัณฑ์อื่นๆได้หลายชนิดแต่ที่ได้รับความสนใจมากในปัจจุบันคือคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (anti-oxidant) จึงมีแนวโน้มนำมาประยุกต์ใช้ในด้านสุขภาพและความงามโดยช่วยลด การเกิดริ้วรอยของผิวจากรังสียูวีและมลภาวะอีกทั้งช่วยป้องกันเซลล์เส้นผมไม่ให้อ่อนแอและทำให้ เส้นผมเงางามแข็งแรง

2.9.1 การเกิดและโครงสร้างของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินประกอบด้วยส่วนของอะไกลโคน (aglycone) น้ำตาล (sugar) และหมู่เอซิล (acylgroup) (Anderson และ Markham, 2006) กำลังการผลิตแอนโทไซยานินทั่วโลกมีประมาณ 10,000 ตัน (คำนวณกำลังการผลิตจากอุณหภูมิเพียงชนิดเดียว) (Kim และคณะ, 2008) ปัจจุบันมีการ ค้นพบแอนโทไซยานินมากกว่า 300 ชนิดจากสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ได้พบกว่า 7,000 ชนิด แต่ละ ชนิดจะมีสีและคุณสมบัติแตกต่างกันไปแม้ว่าแอนโทไซยานินจะมีด้วยกันหลายชนิดแต่ทุกชนิดจะมี โครงสร้างหลักเป็นสารชนิดเดียวกันที่เรียกว่าแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) ที่มีคาร์บอน 15 อะตอมอยู่ภายในโมเลกุล (สัมพันธ์คัมภีรานนท์, 2546) คือโครงสร้างแบบ C6-C3-C6 ซึ่งเป็นไกลโคไซด์ (glycoside) ของ 2-phenylbenzopyrylium หรือ flavylum cation แอนโทไซยานิดิน สามารถเกิดได้ประมาณ 20 ชนิดแต่มีอยู่ 6 ชนิดเท่านั้นที่พบได้บ่อยใน พืชคือ petargonidin (Pg) คิดเป็น 18 % cyanidin (Cy) คิดเป็น 30 % delphinidin (Dp) คิดเป็น 22 % และ peonidin (Pn) petunidin (Pt) และ malvidin (Mv) คิดเป็น 20 % (Anderson และ Markham, 2006)แอนโทไซยานินแต่ละชนิดมีความแตกต่างกันดังนี้

1. จำนวนของหมู่ไฮดรอกซี (hydroxyl group) ในโมเลกุล
2. ระดับการเกิดเมทิลเลชัน (degree of methylation) ของหมู่ไฮดรอกซี
3. ธรรมชาติจำนวนและตำแหน่งของการเกิดไกลโคซิเลชัน (glycosylation)
4. ธรรมชาติและจำนวนของอะโรมาติก (aromatic) หรือ aliphatic acids ที่อยู่ใกล้กับ glycosyl residue

glycosyl residue

การแทนที่ของหมู่ไฮดรอกซี (OH) และหมู่เมทอกซี (OCH₃) ของ flavylum ring จะทำให้เกิดสีของแอนโทไซยานิดินกล่าวคือ การเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีจะทำให้เกิดเขตของสีฟ้า (bluish shade) ส่วนการเพิ่มจำนวนของหมู่เมทอกซีจะทำให้เกิดสีแดง (redness) Mazza, (2007) ได้รายงานว่าการเพิ่มจำนวนของหมู่ไฮดรอกซีจะทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activity) เพิ่มขึ้นซึ่งสีและการดูดกลืนแสงของแอนโทไซยานิดินแต่ละชนิดแสดงไว้ในตารางที่ 2.2 และเนื่องจากการแทนที่ของกรดและด่างเกิดขึ้นได้ในหลายตำแหน่งจึงทำให้จำนวนของแอนโทไซยานินมีมากกว่าแอนโทไซยานิดิน 15-20 เท่า โมเลกุลของน้ำตาลที่ต่อกับแอนโทไซยานิดินได้แก่ กลูโคส (glucose) กาแลกโตส (galactose) แรมโนส (rhamnose) อะราบินโนส (arabinose) ไคแท็กคาไรต์ และไตรแซ็กคาไรต์ โดยแอนโทไซยานินที่พบมากที่สุดคือ 3-monoside, 3-biosides, 3,5-diglycosides และ 3,7-diglycosides (Sikorski, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงรงควัตถุในกลุ่มแอนโทไซยานิน

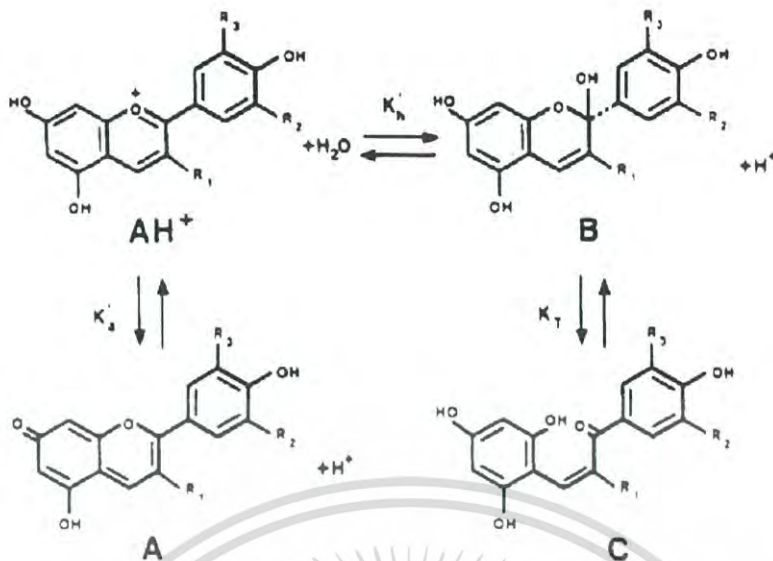
กลุ่มรงควัตถุ (Pigment class)	ชนิดโครงสร้าง (strucral class)	การให้สี (colour)	การดูดกลืนแสง (nm) (Sikorski, ZE., 2007)
แอนโทไซยานิน (anthocyanins)			
ไซยานิดิน ไกลโคไซด์ (Cyanidins glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	ส้ม-แดง	535
เดลฟิไดน ไกลโคไซด์ (Delphinidin glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	น้ำเงิน-แดง	546
มัลวิดิน (malvidin)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	น้ำเงิน-แดง	542
เพลาโกนิน ไกลโคไซด์ (Pelargonidins glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	ส้ม	520
พีโอนิดิน ไกลโคไซด์ (Peonidins glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	ส้ม-แดง	532
เพทูนิดิน ไกลโคไซด์ (Petunidins glycosides)	แอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins)	น้ำเงิน-แดง	543

ที่มา : Sikorski, 2007

2.9.2 คุณสมบัติทางเคมีของแอนโทไซยานิน

ในสารละลายตัวกลาง (aqueous media) แอนโทไซยานินจะทำหน้าที่เป็นอินดิเคเตอร์วัดความเป็นกรด-ด่าง (pH indicator) คือให้สีแดงที่ pH ต่ำให้สีน้ำเงินที่สภาวะเป็นกลางและไม่มีสีที่ pH สูงในสารละลายที่เป็นกรดและเป็นกลางนั้นมีโครงสร้างของแอนโทไซยานิน 4 โครงสร้างที่อยู่ในสภาวะสมดุลคือ red flavylumcation (AH^+), blue quinonoidal base หรือ red quinonoidal base (A), colorless carbinol pseudobase (B) และ colorless chalcone (C) ดังแสดงในรูปที่ 2.7 ในสภาวะที่เป็นกรดและ pH ต่ำกว่า 2 จะมี AH^+ เป็นโครงสร้างเด่นเมื่อ pH เพิ่มขึ้น AH^+ จะเกิดการสูญเสียโปรตอนเกิดเป็นสารละลาย blue quinonoidal base หรือ red quinonoidal base (A) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่เกิดเป็นปกติแต่การเกิดปฏิกิริยาไฮเดรชัน (hydration) ของ AH^+ จะทำให้เกิด colorless carbinol pseudobase (B) ซึ่งเกี่ยวข้องกับความแตกต่างกันของ pH และโครงสร้างของแอนโทไซยานินจึงทำให้ปริมาณของ AH^+ , A, B และ C ที่สภาวะสมดุลมีความแตกต่างกันเช่น โครงสร้างของ 3-glycoside และ 3,5-diglycoside จะเกิดขึ้นเมื่อ pH เพิ่มขึ้นมากกว่า 3 ซึ่งจะเกิดเป็น colorless carbinol pseudobase (B) อย่างไรก็ตามปริมาณเพียงเล็กน้อยของ blue quinonoidal base (A) และ colorless chalcone (C) จะปรากฏให้เห็นและมีปริมาณเพิ่มขึ้นที่ pH สูงขึ้น (pH 4-6) (Sikorski, 2007)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.7 แสดง โครงสร้างของ 3-glycoside และ 3,5-diglycoside
ที่มา : Sikorski, 2007

2.9.3 ประโยชน์ของแอนโทไซยานิน

แอนโทไซยานินเป็นสารให้สีธรรมชาติในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ที่มีขนาดใหญ่จึงทำให้มีความแตกต่างกันทั้งทางเภสัชวิทยาและชีววิทยาเช่นเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (biological activity) ช่วยต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถลดอาการอักเสบ (anti-inflammatory) โดยเพิ่มความแข็งแรงของเส้นใยโปรตีนในเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) และกระดูกอ่อน (cartilage) จึงลดการทำลายจากอนุมูลอิสระอันตรายที่สำคัญได้แก่ DPPH, H₂O₂ (Changlian และคณะ, 2006) นอกจากนี้ยังช่วยปกป้องหลอดเลือด (vasoprotective) โดยการขยายหลอดเลือดและกระตุ้นการไหลเวียนของเลือดลดคอเลสเตอรอลในเลือดโดยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัว (lipid peroxidation) ลดความเสี่ยงของโรคมาเรียมและต้านไวรัส ช่วยกระตุ้นให้เส้นผมดำชะลอมผมหงอกช่วยให้ผิวพรรณเปล่งปลั่งและมีฤทธิ์ต้านรังสียูวี แต่คุณสมบัติเด่นที่สุดของแอนโทไซยานินคือประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant effectiveness) โดยแอนโทไซยานินมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิตามินซีและอีถึง 2 เท่าความสนใจเกี่ยวกับแอนโทไซยานินจึงเน้นไปยังการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระธรรมชาติที่มีอยู่ในบลูเบอร์รี่ (blueberries) เชอร์รี่ (cherries) ราสเบอร์รี่ (raspberries) ลูกเกด (black currants) องุ่นม่วง (purple grape) และไวน์แดง (red wine) (Duan และคณะ, 2007) ได้ศึกษาและเปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย DPPH ของแอนโทไซยานิน กรดแอสคอร์บิกและ butylated hydroxytoluene (BHT) จากเปลือกหุ้มเมล็ดของผลลิ้นจี่ (litchi fruit pericarp) ที่ปริมาณเท่ากันคือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตรพบว่าแอนโทไซยานินมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด รองลงมาคือกรดแอสคอร์บิกและ BHT โดยประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 91.3 %, 20.1 % และ 9.73 % ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณของแอนโทไซยานินที่มนุษย์สามารถบริโภคได้เฉลี่ยสูงสุดคือ 200 มิลลิกรัมต่อวันโดยชาวอเมริกันส่วนใหญ่นิยมบริโภคแอนโทไซยานิน 180-215 มิลลิกรัมต่อวัน (Einbond และคณะ 2004) ในไวน์แดงพบว่ามีปริมาณของแอนโทไซยานินมากกว่าไวน์ขาวและน้ำองุ่นไวน์แดงจึงได้ชื่อว่าอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติมากที่สุดชนิดหนึ่งอาจเป็นเพราะว่าในไวน์แดงมี superoxideradical scavenging และมีประสิทธิภาพในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ LDL (low density lipoprotein) (Sikrski, 2007) แอนโทไซยานินยังมีบทบาทดึงดูดแมลงและนกให้ช่วยผสมเกสร (pollination) และช่วยในการกระจายเมล็ดพันธุ์ออกไป (seed dispersal) รวมทั้งมีบทบาทยับยั้งการทำลายของแมลงต่างๆเมื่อแอนโทไซยานินอยู่ที่ส่วนบนของผิวหน้าใบหรือในส่วนของ epidermal cell จะมีบทบาทเกี่ยวกับการอยู่รอดทางกายภาพ (physiological survival) ของพืช (Anderson และ Markham, 2006)

2.9.4 การสกัดการทำให้บริสุทธิ์และการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน (Anderson และ Markham, 2006 ; Nollet และคณะ, 1996)

การวิเคราะห์เชิงปริมาณ (quantitative) และเชิงคุณภาพ (qualitative) ของแอนโทไซยานินถูกนำไปพิจารณาถึงการใช้ประโยชน์ของแอนโทไซยานินในพืชและการศึกษาโครงสร้างและหน้าที่ของแอนโทไซยานิน เช่นการเป็นแหล่งที่ให้สีตามธรรมชาติแอนโทไซยานินสามารถสกัดจากพืชได้ถึง 539 โครงสร้าง การที่แอนโทไซยานินมีโครงสร้างหลากหลายทำให้แยกได้ยากแอนโทไซยานินส่วนใหญ่จะไม่มีผลเสถียรเท่าที่ควรเนื่องจากตัวแปรทางเคมีและฟิสิกส์เช่นออกซิเจนอนุมูลอิสระและความเป็นกรด-ด่างซึ่งวิธีวิเคราะห์และเครื่องมือที่ใช้วัดแอนโทไซยานินได้แก่ HPLC, LC-MS และ NMR spectroscopy อย่างไรก็ตามการศึกษาโครงสร้างของแอนโทไซยานินต้องใช้พืชมากกว่าหรือเท่ากับ 100 กรัมโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายแอลกอฮอล์ในสภาวะกรดจากนั้นนำไปทำให้บริสุทธิ์ (purification) และแยก (separation) แอนโทไซยานินโดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีแล้วจึงนำไปศึกษาโครงสร้างโดยใช้ spectroscopy หรือ chemical degradation โดยรายละเอียดดังต่อไปนี้

1. การสกัด (extraction) การสกัดแอนโทไซยานินเป็นขั้นตอนแรกในการวินิจฉัยชนิดของแอนโทไซยานินรวมและแอนโทไซยานินในแต่ละส่วนของพืชโดยคำนึงถึงจุดประสงค์ในการสกัดและธรรมชาติของแอนโทไซยานินวิธีการสกัดที่ได้นั้นควรมีการได้กลับคืนมา (recovery) ของแอนโทไซยานินมากที่สุดและเกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินน้อยที่สุดอีกทั้งต้องเป็นวิธีที่ไม่ซับซ้อนอันตรายใช้เวลาหรือค่าใช้จ่ายสูงการสกัดแอนโทไซยานินสามารถใช้ตัวทำละลายได้หลายตัวเช่น เมทานอลอะซีโตนเอทานอล และน้ำเพื่อให้ได้แอนโทไซยานินใกล้เคียงกับธรรมชาติจึงมีนักวิจัยใช้ตัวทำละลายที่เป็นกลางในการสกัดเริ่มต้นเช่น 60% methanol, ethylene glycol, *n*-butanol และ acetone โดยเมทานอลเป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัดมากที่สุดทั้งนี้ได้มีการเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลายที่ใช้สกัดแอนโทไซยานิน 3 ชนิด (เมทานอลเอทานอลและน้ำ) พบว่าเมทานอลมีประสิทธิภาพในการสกัดมากกว่าเอทานอลและน้ำเท่ากับ 20 % และ 73 % ตามลำดับการสกัดโดยใช้เอทานอลและน้ำเหมาะสมสำหรับนำมาใช้กับอาหารได้ดีกว่าเนื่องจากต้องการหลีกเลี่ยงความเป็นพิษที่อาจเกิดจากเมทานอลแต่การ recovery ของแอนโทไซยานินมีประสิทธิภาพน้อยกว่าเมทานอล

การสกัดด้วยสารละลายกรดมีความสำคัญในการทำให้แอนโทไซยานิน (flavylium cation) มีความเสถียรและช่วยปรับปรุงประสิทธิภาพในการสกัดอย่างไรก็ตามกรดสามารถเปลี่ยนฟอร์มของแอนโทไซยานินในเนื้อเยื่อได้โดยไม่เชื่อมต่อกับโลหะและ/หรือรงควัตถุอื่นซึ่งการทำให้การสลายตัวของแอนโทไซยานินเกิดน้อยที่สุดคือการสกัดในสารละลายกรดอ่อนและกรดอินทรีย์ที่ระเหยได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ซึ่งการขงานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรเอาไปเผยแพร่โดยไม่ขออนุญาต
ไม่มีการผิดใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Volatile organic acids) เช่นกรดฟอร์มิก (formic acid) กรดอะซิติก (acetic acid) หรือกรดทาร์ทาริก (tartaric acid) หรือปริมาณเล็กน้อยของ 0.01-3 % ของกรดไตรฟลูออโรอะซิติก (trifluoroacetic acid) ที่สามารถสกัดออกได้ระหว่างการทำให้รงควัตถุมีความเข้มข้นขึ้น (pigment concentration) ปัจจุบันมีวิธีการศึกษาเทคนิคการสกัดแอนโทไซยานินที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม รวดเร็วและมีประสิทธิภาพได้แก่ accelerated solvent extraction (ASE) และ pressurized liquid extraction (PLE) ทั้ง 2 วิธีนี้เป็นวิธีที่น่าสนใจเนื่องจากสามารถสกัดให้สารเคมีที่ต้องการได้ในปริมาณสูงและมีประสิทธิภาพอีกทั้งใช้ได้กับตัวอย่างพืชสัตว์และสิ่งมีชีวิตอื่นๆ ASE และ PLE จะใช้ตัวทำละลายแบบ combined solvents ในการสกัดที่อุณหภูมิ 40-200 องศาเซลเซียส และความดัน 500-3,000 psi ร่วมกับก๊าซเฉื่อยโดยใช้เวลาน้อย 5-10 นาทีเนื่องจากแอนโทไซยานินมีความไวต่อความร้อน (heat sensitive) ทำให้แอนโทไซยานินสามารถละลายตัวได้ที่อุณหภูมิตั้งแต่ 70 องศาเซลเซียสเป็นต้นไปได้มีการศึกษาการสกัดแอนโทไซยานินด้วยวิธี PLE ในผลองุ่นแห้งด้วยตัวทำละลาย 6 ชนิดโดยใช้อุณหภูมิ 20-140 องศาเซลเซียสและความดัน 10.1 MPa พบว่าชนิดของตัวทำละลายและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อชนิดและปริมาณของแอนโทไซยานิน Supercritical fluid extraction (SFE) เป็นเทคโนโลยีใหม่สามารถสกัดสารประกอบที่ชอบไขมัน (lipophilic compound) เช่นน้ำมันจากเมล็ดแครนเบอร์รี่ (cranberry seed oil) ไลโคปีน (lycopene) คิวมาริน (coumarin) และน้ำมันจากเมล็ดพืชอื่นๆโดยทั่วไปแอนโทไซยานินและ glycosylated anthocyanin เหมาะสำหรับการสกัดด้วยวิธี SFE เนื่องจากมีคุณสมบัติที่ชอบน้ำ (hydrophilic properties) นอกจากนี้ SFE ยังสามารถให้แอนโทไซยานินมีความบริสุทธิ์และนำไปประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางได้

- การทำให้บริสุทธิ์ (purification) การทำให้แอนโทไซยานินที่สกัดได้นั้นมีความสะอาดทำได้หลายวิธีคือใช้ lead acetate, paper chromatography และ solvent-solvent extraction แต่ทั้ง 3 วิธีนี้ใช้เวลานานและทำให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินปัจจุบันจึงมีการคิดค้นวิธีการสกัด solid-phase extraction ด้วย insoluble poly (vinylpyrrolidone; PVP) Sephadex G-25, Sephadex LH-20, polyamide, ion-exchange resins, acid alumina, Amberlite XAD-7 และ octadecylsilane ซึ่งเป็นวิธีที่ง่ายและเร็วกว่าโดยใช้ตัวดูดซับ (absorbents) ขณะที่สารที่ไม่ต้องการ (น้ำตาลและกรดต่างๆ) จะถูกล้างออกจากคอลัมน์สารแอนโทไซยานินจะถูกดูดซับและต้องแยกออกโดยการละลายล้าง (elute) ด้วยเมทานอลในสารละลายกรด

- การวิเคราะห์ (analysis) สามารถทำได้หลายวิธีเช่น spectrophotometry, TLC และ HPLC โดยวิธีที่ใช้มากในปัจจุบันคือการแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีแบบแผ่นบาง (Thin-layer chromatography ;TLC) เป็นวิธีที่ใช้เวลาน้อยใช้ปริมาณตัวอย่างและมีการแพร่กระจาย (diffusion) น้อยจึงนิยมใช้ในการแยกแอนโทไซยานินในรสรสเบอร์รี่และองุ่นนักวิจัยส่วนใหญ่นิยมใช้ MN 300 cellulose powder บนแผ่นบางโดยให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสนาน 5 นาทีก่อนนำไปใช้แยกองค์ประกอบของแอนโทไซยานินในองุ่นมีความซับซ้อนมากและสามารถแยกโดยใช้แผ่นบางผสม (mixed thin layer) ของซิลิกาเจลและเซลลูโลส (1:1)การแยกสารด้วยเทคนิคโครมาโตกราฟีขึ้นอยู่กับความเป็นขั้ว (polarity) จากการเพิ่มขึ้นของจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลของแอนโทไซยานิน (delphinidin ความเป็นขั้วมากกว่า cyaniding และ 3,5-diglucoside เป็นแอนโทไซยานินที่มีความเป็นขั้วมากที่สุด) โดยความเป็นขั้วขึ้นอยู่กับธรรมชาติและจำนวนการแทนที่ของน้ำตาล

High performance liquid chromatography (HPLC) เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพมากสำหรับ

เอกสารการวิเคราะห์องค์ประกอบของพืชที่เป็นสารฟีนอลิกสามารถวิเคราะห์ได้ทั้งเชิงปริมาณและคุณภาพการคำนวณว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

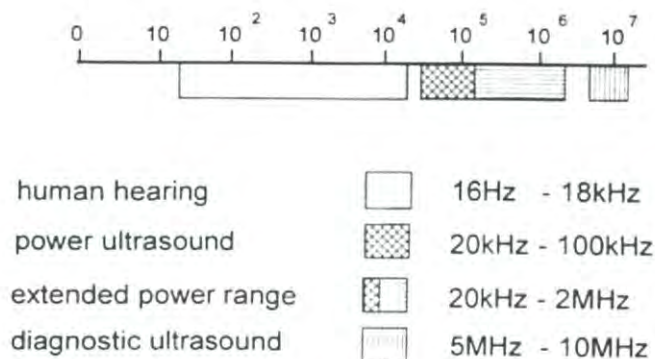
โดยอาศัยความเป็นขั้วของแอนโทไซยานินเป็นสำคัญเช่นกันวิธี reverse-phase HPLC จะแยกแอนโทไซยานินตามความเป็นขั้วคือ delphinidin <cyanidin <petunidin <pelargonidin <peonidin <malvidin สารละลายที่ใช้ในการวิเคราะห์แบบ HPLC เป็นสารละลายกรดที่มี pH น้อยกว่า 2 ซึ่งเป็นสภาวะที่ปรากฏแอนโทไซยานินในรูปของ red flavylium cation มากที่สุดสารละลายกรดที่ใช้โดยทั่วไปคือกรดฟอร์มิก (ความเข้มข้น 10% ขึ้นไป) กรดอะซิติก 15% กรดฟอสฟอริก 3-4% หรือฟอสเฟตบัฟเฟอร์ทั้งนี้การใช้สารละลายกรดมีส่วนทำให้อายุการใช้งานของคอลัมน์ที่ใช้แยกสารสั้นลงเนื่องจากการสูญเสียส่วนที่ยึดเกาะ (bond phase) ออกจากผิวหน้าของซิลิกาใน stationary phase support

2.10 การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัด

การสกัดสารด้วยการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงร่วมด้วยในการสกัดเป็นวิธีที่ใช้คลื่นเสียงความถี่สูงหรืออัลตราโซนิก (Ultrasonic) ร่วมกับตัวทำละลายอินทรีย์หรือน้ำในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากวัตถุดิบ เครื่องมือชนิดนี้มีลักษณะเป็นแท่งทรงกระบอกมีขนาดความยาวและมีคลื่นความถี่ที่แตกต่างกันไป เครื่องมือดังกล่าวจะปล่อยคลื่นเสียงความถี่สูงออกมาในตัวพาซึ่งในที่นี้คือน้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ กระบวนการดังกล่าวจะทำให้เกิดฟองก๊าซซึ่งเกิดการหดตัวและขยายตัวเป็นวัฏจักรเมื่อฟองก๊าซขยายตัวจะดึงสารที่อยู่ภายในวัสดุออกมาละลายในตัวทำละลาย และในขณะที่ฟองก๊าซแตกออกจะเกิดความดันและความร้อนอย่างมากในบริเวณนั้นซึ่งจะมีผลทำให้เนื้อเยื่อของวัสดุฉีกขาดด้วยอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่ต้องการสกัดละลายในตัวทำละลายได้ดีขึ้น การสกัดด้วยวิธีนี้จะมีประสิทธิภาพดีหรือไม่ขึ้นกับปัจจัยหลายประการได้แก่ ความถี่ของคลื่นเสียงที่ใช้ ถ้าใช้ความถี่สูงจะใช้เวลาน้อยในการสกัด สมบัติที่แตกต่างกันของตัวทำละลาย ได้แก่ ความดันไอ ตัวทำละลายที่มีความดันไอสูงสามารถสกัดได้ดีกว่าตัวทำละลายที่มีความดันไอต่ำ อุณหภูมิที่ใช้ซึ่งการสกัดเกิดได้ดีเมื่อมีอุณหภูมิสูง และความเข้มของคลื่นเสียงที่ใช้ โดยทั่วไปวิธีนี้จะใช้สกัดสารกลุ่มเมตาบอไลต์ทุติยภูมิ (Secondary Metabolites) ของพืช วิธีนี้ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพทำให้สกัดสารได้ปริมาณมาก ตัวอย่างวัตถุดิบที่สกัดด้วยวิธีนี้ได้แก่ ใบชา มินท์ เครื่องเทศ (Sage) และ โสม เป็นต้น (ดวงกมล, 2014)

คลื่นอัลตราซาวด์หรือคลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic waves) เป็นพลังงานที่เกิดจากคลื่นเสียงที่มีการสั่นของคลื่นประมาณ 20,000 ครั้งต่อวินาทีหรือสูงกว่า (Hoover, 2000) หรือหมายถึงคลื่นความดัน (pressure waves) ที่มีความถี่ (frequency) สูงกว่าคลื่นเสียงปกติ (สูงกว่า 20,000 กิโลเฮิร์ตซ์, kHz) ส่วนคำว่าอัลตราโซนิกส์ (ultrasonics) หรือโซนิเคชันส์ (sonications) หมายถึงการศึกษาเกี่ยวกับคลื่นเสียงหรืออัลตราซาวด์ในช่วงความถี่ดังกล่าวซึ่งมนุษย์ไม่สามารถได้ยิน โดยทั่วไปแล้วคลื่นเสียงที่มนุษย์ได้ยินนั้นเกิดจากการสั่นสะเทือนของตัวกลางที่ยืดหยุ่นที่มีความถี่อยู่ในช่วง 20 – 20,000 kHz คลื่นเสียงจะผ่านเข้าสู่ตัวกลางที่ยืดหยุ่นในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาว (longitudinal waves) แต่คลื่นเสียงที่ผ่านเข้าไปภายในวัตถุที่เป็นของแข็งอาจอยู่ในลักษณะที่เป็นคลื่นตามยาวหรือคลื่นตามขวาง (transverse waves) ในการศึกษาการใช้ประโยชน์จากอัลตราซาวด์ตั้งแต่ต้นจนถึงปัจจุบันพบว่าการนำอัลตราซาวด์มาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมหรือในกระบวนการแปรรูปอาหาร (Mason, 2000) ความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิกในช่วงต่างๆ แสดงดังรูปที่ 2.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 ความถี่ของคลื่นอัลตราโซนิกในช่วงต่างๆ

ที่มา : Mason, 1998

2.10.1 ระบบอัลตราโซนิก

การสกัดด้วยระบบอัลตราโซนิกเป็นการใช้คลื่นเสียงความถี่สูงในการเข้าไปทำปฏิกิริยากับเมทริกซ์ของของแข็งเพื่อจะสารที่ต้องการออกมา ดังนั้นการวางระบบและการออกแบบระบบการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกจึงมีความสำคัญ โดยสรุปแล้วระบบอัลตราโซนิกจะต้องมีอุปกรณ์ที่สำคัญและจำเป็นอยู่ 3 ส่วนได้แก่

1) เครื่องกำเนิดกระแสไฟฟ้า (generator)

เป็นการเปลี่ยนกระแสไฟฟ้ากระแสตรงไปเป็นกระแสสลับที่มีความถี่ที่ต้องการและผ่านเข้าสู่ทรานส์ดิวเซอร์

2) ทรานส์ดิวเซอร์ (transducer)

ทำหน้าที่เปลี่ยนไฟฟ้ากระแสสลับความถี่สูงไปเป็นการสั่นเนื่องจากพลังงานกล ทรานส์ดิวเซอร์ที่นิยมในปัจจุบันคือชนิดที่ใช้เทคโนโลยีไพโซอิเล็กทริกโดยที่รูปร่างและขนาดของทรานส์ดิวเซอร์ที่นำมาประกบกันจะขึ้นอยู่กับความถี่ที่ต้องการใช้งานและพลังงานจากทรานส์ดิวเซอร์ แต่ละชนิดจะแปรผกผันกับกำลังสองของความถี่ ดังนั้นในการประยุกต์ใช้พาวเวอร์อัลตราซาวนด์จึงมักใช้ในช่วงความถี่ต่ำโดยตัวทรานส์ดิวเซอร์จะอยู่ติดกับบูสเตอร์ (booster) หรือฮอร์น (horn) ด้านบนและเชื่อมต่อกับระบบส่งถ่ายพลังงาน

3) ระบบส่งถ่ายพลังงาน (delivery systems)

ซึ่งจะทำหน้าที่ส่งถ่ายพลังงานจากการสั่นสะเทือนไปยังของเหลวในกรณีที่เป็นอ่างอัลตราโซนิก (ultrasonic bath) ตัวทรานส์ดิวเซอร์จะอยู่บริเวณฐานตรงด้านล่างของตัวอ่างหรือถังและส่งถ่ายพลังงานโดยตรงไปยังของเหลวที่อยู่ภายในอ่าง ส่วนระบบที่ต้องการพลังงานที่สูงกว่านี้จะใช้วิธีขยายสัญญาณหรือพลังงานและส่งถ่ายพลังงานไปยังของเหลวโดยใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่าฮอร์นซึ่งเป็นแท่งโลหะที่มีรูปร่างแตกต่างกันและจะติดกับทรานส์ดิวเซอร์โดยตัวฮอร์นมักทำจากวัสดุที่ทำให้เกิดขนาดของความยาวคลื่นครึ่งหนึ่งหรือเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนเท่าตัวของความยาวคลื่นเสียงนิยมใช้ส่วนปลายฮอร์นชนิดที่ถอดเข้าออกได้และเป็นเกลียวซึ่งสามารถเปลี่ยนได้ง่าย

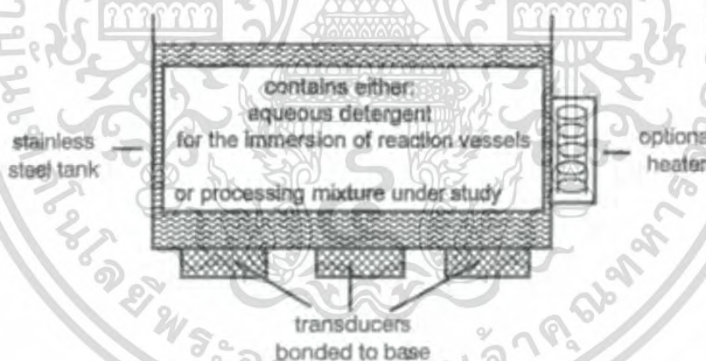
2.10.2 เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic equipment)

การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกนิยมนำมาใช้สกัดสารกึ่งระเหย (Semi-volatile) และระเหยง่าย (Non-volatile Organic Compounds) จากตัวอย่างของแข็ง เช่น ดิน ตัวอย่างชีวภาพ น้ำ หรือไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อื่นๆ โดยคลื่นอัลตราโซนิกเป็นคลื่นเสียงที่มีความถี่สูงเกินกว่าที่มนุษย์จะได้ยินมีความถี่สูงกว่า 20 kHz ขึ้นไป สาเหตุที่มีการนำเอาคลื่นย่านอัลตราโซนิกมาใช้ก็เพราะว่าเป็นคลื่นที่มีทิศทางทำให้เราสามารถเล็งคลื่นเสียงไปยังเป้าหมายที่ต้องการได้โดยเจาะจง (สิทธิกร, 2528) ในวิธีการสกัดเราจะใส่ตัวทำละลายที่ใช้สกัดลงไปในตัวอย่าง (เลือกตัวทำละลายที่เหมาะสมกับสารที่จะสกัดออกมา) ซึ่งขบวนการสกัดจะเป็นการสัมผัสกันระหว่างตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดและตัวอย่าง ซึ่งวิธีนี้จำเป็นที่จะต้องกำจัดความชื้นออกจากตัวอย่างก่อนเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัด หลังจากนั้นจึงเติมตัวทำละลายลงไป โดยตัวอย่างจะไปแขวนลอยอยู่ในตัวทำละลาย หลังจากนั้นก็นำภาชนะที่บรรจุตัวอย่างและตัวทำละลายวางใน Ultrasonic bath คลื่นอัลตราโซนิกจะไปรบกวนและเขย่าตัวทำละลายทำให้เกิดการสั่นของโมเลกุลตัวทำละลาย เพื่อช่วยให้สารที่ต้องการวิเคราะห์ละลายออกมา (จากตัวอย่างมาสู่สารละลาย) ได้ดียิ่งขึ้นหรือบางครั้งอาจใช้ Ultrasonic probe จุ่มลงโดยตรงก็ได้ เครื่องอัลตราโซนิกที่ใช้อยู่ทั่วไปในปัจจุบันมีความแตกต่างกันตรงที่การออกแบบแหล่งกำเนิดไฟฟ้า แหล่งกำเนิดคลื่นและตัวเครื่องหรือเซลล์ที่ใช้ร่วมกับแหล่งกำเนิดคลื่นโดย สามารถแบ่งเป็นชนิดต่างๆ ดังนี้

1) อัลตราโซนิก (ultrasonic baths)

อ่างอัลตราโซนิกเป็นอุปกรณ์ที่นิยมใช้กันอย่างแพร่หลายและมีการนำมาใช้เป็นเวลานานแล้ว โดยเฉพาะในห้องปฏิบัติการเนื่องจากมีราคาไม่แพงเมื่อเปรียบเทียบกับเครื่องที่ใช้ระบบโพรม โดยทั่วไปทรานส์ดีวเซอร์จะติดอยู่กับบริเวณฐานด้านล่างของอ่างและความถี่ที่ใช้งานส่วนใหญ่ประมาณ 40 kHz (Mason, 1998) อ่างอัลตราโซนิกแสดงดังรูปที่ 2.9



รูปที่ 2.9 อ่างอัลตราโซนิก (Ultrasonic baths)

ที่มา : Mason, 1998

อ่างอัลตราโซนิกนั้นมีอุปกรณ์เสริมประเภทต่างๆ ที่นำมาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานให้ดีขึ้น เช่น อุปกรณ์ควบคุมอุณหภูมิอัตโนมัติ (thermostatically controlled heating) อุปกรณ์กระจายคลื่น (frequency sweeps) อุปกรณ์ปรับระดับพลังงาน สวิตช์เปิดปิดแบบจิ้งหะหรือนาฬิกาจับเวลา เป็นต้น อ่างอัลตราโซนิกทั่วไปมักจะให้พลังงานต่ำ เพื่อหลีกเลี่ยงความเสียหายจากแคปพิเทชัน (การแตกตัวอย่างรวดเร็วในของเหลว) ที่เกิดขึ้นตรงบริเวณผนังด้านในของอ่าง นอกจากนั้นของเหลวที่เติมในอ่างมักมีปริมาณมากทำให้ปริมาณพลังงานมีค่าลดลง รูปแบบของอ่างอัลตราโซนิกอีกประเภทหนึ่งเรียกว่าคัพฮอร์น (cup horn) โดยจัดว่าเป็นอ่างอัลตราโซนิกที่สร้างพลังงานได้สูงมาก ทั้งนี้เนื่องจากบริเวณผิวหน้าที่เกิดคลื่นอัลตราซาวนด์ซึ่งติดอยู่กับทรานส์ดีวเซอร์จะไม่วางระนาบใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ดัดแปลงเนื้อหาและตองอาจอิงถึงเจาะของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สัมผัสโดยตรงกับของเหลวและลักษณะการทำให้เกิดพลังงานหรือคลื่นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่เกี่ยวข้อง และระดับของของเหลวซึ่งมีความสำคัญมาก

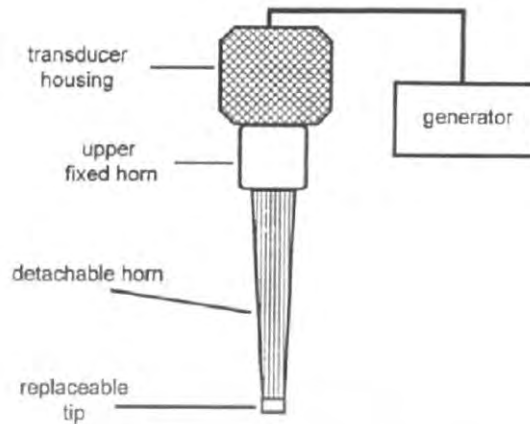
2) ระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบ (ultrasonic probe systems)

ระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบดังรูปที่ 2.11 จะมีความแตกต่างกับอ่างอัลตราโซนิกตรงที่ อ่างอัลตราโซนิกจะมีทรานส์ดีเวอร์จะติดอยู่กับบริเวณฐานด้านล่างของอ่างและความถี่ประมาณ 40 kHz ต่างกับระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบที่ทรานส์ดีเวอร์จะต่อเข้ากับฮอ์นโดยตรง ซึ่งฮอ์นจะเป็น ส่วนที่นำไปจุ่มลงไปในตัวอย่างเพื่อสกัดและความถี่ที่ใช้ จะใช้ประมาณ 20 kHz (Mason, 1998) ซึ่ง ฮอ์นก็จะมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปดังรูปที่ 2.10



แอมพลิฟายด์ที่สร้างขึ้นจากระบบนี้จะขึ้นกับรูปร่างลักษณะของฮอ์นสำหรับฮอ์นที่มีลักษณะ เป็นแท่งทรงกระบอก (uniform cylinder) นั้นแอมพลิฟายด์จะไม่มีเปลี่ยนแปลง แต่ฮอ์นจะทำ หน้าที่ขยายหรือเพิ่มการส่งถ่ายพลังงานเสียง ในขณะที่ฮอ์นชนิด Stepped จะมีความสามารถในการขยายสัญญาณได้สูงกว่าขนาดของพลังงานสูงสุดที่ได้จากแหล่งกำเนิดพลังงานนั้นขึ้นอยู่กับปัจจัยที่ สำคัญสองส่วน ได้แก่ คุณสมบัติของวัสดุที่ใช้ในการผลิตทรานส์ดีเวอร์และพื้นผิวที่ปลดปล่อยคลื่น (emitting surface) ซึ่งในส่วนของวัสดุที่นำมาใช้ผลิตทรานส์ดีเวอร์นั้น นิยมใช้วัสดุที่สามารถยึด และคืนตัวกลับได้ดี เช่นไทเทเนียม (titanium) หรืออะลูมิเนียมอัลลอย (aluminium alloy) ซึ่งวัสดุ ทั้งสองชนิดมีความทนต่อการล้าเนื่องมาจากแรงกล แต่อะลูมิเนียมอัลลอยนั้นไม่เหมาะสมที่จะสัมผัส กับของเหลวที่เกิดปฏิกิริยาแคปวิตชัน (การแตกตัวอย่างรวดเร็วในของเหลว) เนื่องจากถูกกัดกร่อนได้ ง่าย จึงควรใช้วัสดุพวกไทเทเนียมอัลลอยแทน สำหรับพื้นผิวที่ปลดปล่อยคลื่นนั้น พบว่าพื้นที่ขนาด เล็กจะให้ประสิทธิภาพที่สูงกว่า แต่ที่แอมพลิฟายด์สูงจะมีข้อจำกัดเนื่องจากฟองอากาศที่เกิดขึ้นบริเวณ พื้นผิวหน้าจากปฏิกิริยาแคปวิตชันจะรบกวนการส่งถ่ายของพลังงานไปยังของเหลว (Mason, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



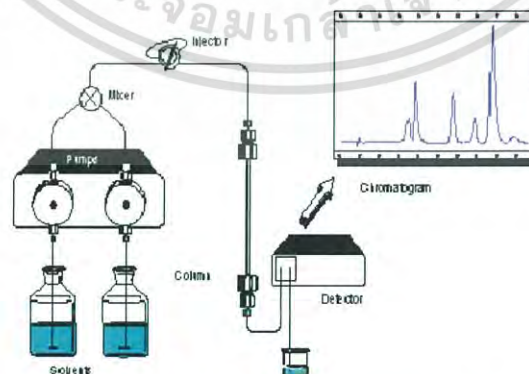
รูปที่ 2.11 ระบบอัลตราโซนิกแบบโพรบ (ultrasonic probe systems)

ที่มา : Mason, 1998

2.11 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

เป็นเครื่องมือใช้สำหรับแยกสารประกอบที่สนใจที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดยกระบวนการแยกสารประกอบที่สนใจจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (column) กับเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) ซึ่งสารจะถูกแยกออกมาในเวลาที่แตกต่างกัน โดยสารผสมที่อยู่ในตัวอย่างสามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับ mobile phase หรือ stationary phase สารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับ mobile phase จะเคลื่อนที่ผ่าน column ได้เร็วสารนั้นก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับ mobile phase หรือเข้ากันได้ดีกับ stationary phase จะเคลื่อนที่ผ่าน column ได้ช้า ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัด สัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่า โครมาโตแกรม โดย HPLC สามารถทดสอบได้ทั้งเชิงคุณภาพ และทดสอบเชิงปริมาณ โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน (S C SCIENCE CO.,LTD)

2.11.1 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC มีดังนี้



รูปที่ 2.12 แสดงส่วนประกอบของ HPLC

ที่มา : [http://www.sec.psu.ac.th/web-](http://www.sec.psu.ac.th/web-board/?pid=view_replies&thread_id=423&forum_id=7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ส่ง board/?pid=view_replies&thread_id=423&forum_id=7 ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) Solvent (Mobile Phase) Solvent เป็นตัวแปรที่มีความสำคัญมากในการแยกสารตัวอย่าง ออกเป็นองค์ประกอบย่อย Solvent ที่ใช้เป็น Mobile Phase ใน HPLC ได้แก่ Organic Solvent รวมทั้ง Aqueous Solution ของเกลือชนิดต่างๆ

1.1 คุณสมบัติที่สำคัญบางประการของ Mobile Phase ที่ใช้ใน HPLC ได้แก่

- ไม่ทำปฏิกิริยากับ Column หรือ Packing Material ซึ่งจะเป็นให้คุณสมบัติในการแยกสารผิด
- สามารถละลายสารตัวอย่างได้
- ปราศจาก Particulate (ทำให้เกิดการอุดตันใน Column เป็นการเพิ่มความดันในระบบ) และ Dissolved Gas Solvent และสารละลายตัวอย่างทุกชนิดก่อนการวิเคราะห์โดยใช้ HPLC ควรกรองผ่านกระดาษกรองที่มีรูพรุนขนาด 0.45 – 0.5 ไมครอน, Centrifuge เพื่อกำจัดก๊าซซึ่งละลายในสารละลายทั้งหมดซึ่งอาจทำได้โดยใช้ Ultrasonic Bath

- บริสุทธิ์ปราศจากสิ่งเจือปนซึ่งรวมถึงพวก Preservative และ Stabilizer ต่างๆ สำหรับน้ำกลั่นจะต้องปราศจากสารอินทรีย์และแบคทีเรียต่างๆ

- เหมาะสมกับชนิดของ Detector ที่ใช้

1.2 การดูดกลืนแสงของ Mobile phase

- ความบริสุทธิ์ของตัวทำละลายมีความสำคัญต่อการใช้ประโยชน์ของเครื่องตรวจวัด HPLC ที่มี sensitivity สูง

- Oxygen ที่ละลายอยู่ใน mobile phase ทำให้เพิ่ม background ในช่วง UV ต่ำ การไล่อากาศสามารถช่วยแก้ปัญหาได้

- เกลือที่เป็นสาร ion-pairing เช่น tetramethylammonium salts (TMA) มักมีสารปนเปื้อนที่ดูดกลืนแสง UV จึงควรเลือกชนิดที่มีความบริสุทธิ์สูงเท่าที่จะหาได้

2) Pump

ทำหน้าที่สูบ Mobile Phase เพื่อส่งเข้าสู่ Column ในอัตราเร็วที่เราเลือก ความดันของระบบจะขึ้นอยู่กับ อัตราการเคลื่อนที่ของ Mobile Phase (ถ้าความเร็วสูงจะทำให้เกิดความดันสูง) นอกจากนี้ยังขึ้นอยู่กับ Viscosity ของ Mobile Phase ขนาดของ Packing Material และความยาวของ Column อีกด้วย โดยปกติ ความดันที่ใช้มักไม่เกิน 4,000 psi

Pump สามารถแบ่งออกได้เป็น 2 แบบ

1. Isocratic pump ใช้อัตราส่วนของ Mobile Phase ได้คงที่ตลอดเวลา

2. Gradient Pump เป็น pump ที่สามารถควบคุมการเปลี่ยนแปลงอัตราส่วนของ Mobile Phase ได้ตามเวลาที่กำหนด

2.1 การเข้ากันได้ระหว่างตัวทำละลายและ Pump (compatibility)

- วัสดุที่สัมผัสกับของเหลวในระบบ HPLC ได้แก่ Stainlesssteel, โพลีเมอร์ หลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายที่สามารถกัดกร่อนโลหะได้แก่ buffer หรือกรดที่มีธาตุ halogen โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นเกิน 2M หรือ pH ต่ำกว่า 2

- หลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายที่มีธาตุ halogen อยู่ในโมเลกุลมาก เช่น Trifluoroacetic acid (TFA)

- หลีกเลี่ยงการใช้ตัวทำละลายที่สามารถเกิดกรด HCl เช่น CCl_4 , $CHCl_3$

เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 เอกสารนี้เป็นเอกสารลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
 ไม่ว่ากรรมใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- หลีกเลี่ยงการใช้สารละลาย buffer ที่มี pH มากกว่า 10

3) Injector

เป็นตำแหน่งที่ฉีดสารเข้าสู่ Column มี 2 แบบ ได้แก่

1. Manual Injector
2. Auto samples Injector ที่นิยมใช้มาก

4) Column

4.1 ตัว Column ทำด้วย Stainless Steel แก้ว หรือ Teflon มีขนาดเล็ก เส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1- 25 มิลลิเมตร ในงานวิเคราะห์ที่ใช้ขนาด 1 – 5 มิลลิเมตร และใช้ขนาดใหญ่กว่านี้กับงาน Preparative Separation และ Steric Exclusion Chromatography สำหรับ Analysis Column ซึ่งเป็น Column ที่ใช้ในการแยกสารเพื่อการวิเคราะห์และควบคุมคุณภาพจะประกอบด้วย

4.1.1 Guard Column จะอยู่ก่อน Analysis Column ทำหน้าที่ป้องกันอันตรายซึ่งจะเกิดแก่ Column ช่วยให้ Column มีอายุการใช้งานนานขึ้น

4.1.2 Precolumn Material ทำหน้าที่กรอง Particle

4.2 Packing Material ที่ใช้ในงานวิเคราะห์มี 2 ชนิด คือ Pellicular Type และ Microparticulate

5) Detector

Detector ที่นิยมใช้กันมากมี 3 ชนิด

1. UV-Detector สารที่จะวิเคราะห์ต้องสามารถดูดกลืนแสง UV ได้ เมื่อต้องการใช้ UV Detector อาจเตรียม derivative ของสารประกอบที่วิเคราะห์เพื่อให้ได้สารซึ่งดูดกลืนคลื่นแสง UV

2. RI Detector จะใช้เมื่อต้องการเปรียบเทียบความแตกต่างของ Refractive Index ของสารตัวอย่างและสาร Reference

3. Fluorescence Detector ใช้ได้กับสารที่เมื่อดูดกลืนคลื่นแสง UV จากแหล่งแสงใน Detector แล้วสามารถเปล่ง Fluorescence ได้ (สิทธิโชค และคณะ, 2558)

2.12 การวิเคราะห์เครื่องตรวจวัดสารด้วยการดูดกลืนแสง (UV-Vis Spectrophotometer)

UV-Vis spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่ใช้ในการตรวจวัดปริมาณแสงในช่วงรังสียูวี และช่วงแสงขาว ที่ทะลุผ่านหรือถูกดูดกลืน โดยตัวอย่างที่วางอยู่ในเครื่องมือ ความยาวคลื่นแสงจะมีความสัมพันธ์กับ ปริมาณ และชนิดของสารที่มีอยู่ในตัวอย่างซึ่งโดยส่วนใหญ่จะเป็นสารอินทรีย์ สารประกอบเชิงซ้อน และสารอินทรีย์ที่สามารถดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นเหล่านี้ได้ เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ในปัจจุบันได้รับการพัฒนาให้มีขนาดที่ เล็กลง มีความไวมากขึ้น ให้ผลลัพธ์ที่ถูกต้องแม่นยำมากยิ่งขึ้น รวมไปถึงการพัฒนา โปรแกรมที่ใช้ควบคู่กันกับเครื่องมือในการวิเคราะห์ และการฟ่งต่อ ด้วยเทคนิคอื่นๆทำให้สามารถ นำไปใช้งานได้กว้างขึ้น มีการนำไปประยุกต์ ใน งานควบคุมคุณภาพสินค้าได้อย่างกว้างขวาง เช่น อุตสาหกรรมสี อุตสาหกรรมอาหาร และ เครื่องดื่ม เป็นต้น

เครื่อง UV-Vis Spectrophotometer เป็นเครื่องมือที่นำเทคนิค UV-Vis spectroscopy ไปใช้งาน เครื่องมือตัวนี้ทำหน้าที่ในการตรวจวัดความเข้มแสงที่ผ่านหรือสะท้อนจากตัวอย่าง เปรียบเทียบกับความเข้มแสงจากแหล่งกำเนิดเครื่อง UV-Vis spectrophotometer โดยทั่วไปแล้ว ไม่วางกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะมีส่วนประกอบหลักๆที่เหมือนกัน ได้แก่ แหล่งกำเนิดแสง เกรตติง หรือโมโนโครเมเตอร์ เซลล์ที่บรรจุสารตัวอย่าง และเครื่องตรวจวัดแหล่งกำเนิดแสงจะต้องให้แสงที่คงที่อย่างต่อเนื่อง ตัวที่นิยมใช้คือ หลอดทังสเตนฮาโลเจน ซึ่งให้แสงที่มีความยาวคลื่นในช่วง 320-2,500 นาโนเมตร สำหรับแหล่งกำเนิดแสงในช่วงรังสียูวีนั้นจะใช้หลอดไฮโดรเจน หรือหลอดดิวทีเรียม ซึ่งให้แสงในช่วงความยาวคลื่น 160-375 นาโนเมตร แต่แสงที่ได้จากแหล่งกำเนิดนั้นจะมีความยาวคลื่นต่างๆ ดังนั้นจึงต้องใช้โมโนโครเมเตอร์เป็นตัวกระจายแสงออกเพื่อให้แสงที่จะผ่านไปยังตัวอย่างมีความยาวคลื่นค่าเดียวตามที่ต้องการ หลังจากนั้นแสงความยาวคลื่นค่าเดียวจะผ่านไปยังเซลล์ที่บรรจุสารตัวอย่างและสารเปรียบเทียบ (cuvettes) ซึ่งมีรูปร่างต่างๆกันออกไป แต่โดยส่วนใหญ่จะมีลักษณะเป็นกล่องทรงสี่เหลี่ยมผืนผ้าที่มีความกว้างภายใน 1 เซนติเมตร (ซึ่งค่านี้จะเป็นค่าระยะทางเดินของแสงที่ผ่านเข้าไปใน ตัวอย่างตาม กฎของ Beer-Lambert) เครื่อง UV-Vis spectrophotometer บางรุ่น สามารถใช้หลอดทดลองเป็น cuvettes ได้ แต่ cuvettes ที่ดีที่สุดนั้นทำมาจากควอร์ตที่มีคุณภาพสูง สำหรับ cuvettes ที่ทำจากแก้วหรือพลาสติกนั้นก็เป็นที่นิยมใช้กันทั่วไปแต่สามารถใช้ได้เฉพาะในช่วงแสงขาวเท่านั้นเพราะแก้วและพลาสติกดูดกลืนแสงในช่วงรังสียูวีแสงในส่วนที่ไม่ถูกดูดกลืนจะเดินทางผ่านตัวอย่างมาถึงเครื่องตรวจวัด สำหรับเครื่องตรวจวัดที่นิยมใช้ ได้แก่ PMT (photomultiplier tube), diode arrays และ CCDs (charge coupled devices) เครื่องจะทำการบันทึกค่าความยาวคลื่นร่วมกับค่ามุมของแต่ละความยาวคลื่นที่เกิดการดูดกลืน ผลของสเปกตรัมที่ได้จะแสดงในรูปของกราฟระหว่างค่า absorbance และค่าความยาวคลื่นเครื่อง UV-Vis spectrophotometer สามารถแบ่งได้เป็น 2 ระบบ คือ แบบลำแสงเดี่ยว และแบบลำแสงคู่ สำหรับเครื่องแบบลำแสงเดี่ยวเป็นเครื่องที่ใช้ลำแสงเดี่ยว จากแหล่งกำเนิดผ่านไปยังตัวอย่าง เครื่องมือนี้ได้รับการออกแบบให้สามารถใช้งานได้ง่าย สะดวก และมีราคาไม่แพงมากนัก

สำหรับเครื่องแบบลำแสงคู่ นั้น แสงจะถูกแยกออกเป็น 2 ลำ ก่อนที่จะไปตกลงบนตัวอย่าง โดยแสงลำหนึ่งจะใช้เป็นลำแสงอ้างอิง ขณะที่อีกลำจะผ่านไปยังตัวอย่าง เครื่องมือที่เป็นแบบลำแสงคู่ บางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัด 2 ตัว เพื่อที่จะตรวจวัดแสงอ้างอิงและแสงที่มาจากตัวอย่างได้พร้อมกัน แต่ในบางรุ่นจะมีเครื่องตรวจวัดเพียงตัวเดียวโดยแสงทั้งสองลำจะผ่านตัว beam chopper ซึ่งจะทำหน้าที่กักแสงลำหนึ่งไว้ในช่วงระยะเวลาหนึ่งเครื่องตรวจวัดจึงสามารถตรวจวัดความแตกต่างของแสงทั้งสองลำได้

2.12.1 การวิเคราะห์เชิงคุณภาพ/ปริมาณ

โดยหลักการแล้วสเปกตรัมซึ่งเกิดจากการดูดกลืนแสงในช่วงรังสียูวีและแสงขาวของสารตัวอย่างจะแสดงคุณสมบัติเฉพาะของสารนั้นๆทำให้สามารถนำไปใช้วิเคราะห์สารชนิดต่างๆได้ แต่ทั้งนี้การวิเคราะห์ด้วยเทคนิคนี้เท่านั้นจะให้ผลได้เพียงคร่าวๆ เพราะลักษณะของสเปกตรัมของสารแต่ละชนิดที่ได้จะมีความกว้างมากและยังมีรายละเอียดอีกเยอะจึงต้องใช้เทคนิคอื่นๆร่วมวิเคราะห์ด้วย สำหรับการวิเคราะห์สารในเชิงปริมาณด้วยเทคนิค UV-Vis spectroscopy สามารถทำได้โดยใช้วิธีการทำกราฟมาตรฐานระหว่างค่า absorbance และ ค่าความเข้มแสง ดังนั้นเมื่อสามารถวัดค่า absorbance ของสารได้ก็สามารถหาปริมาณของสารที่จะวิเคราะห์ ได้จากกราฟ

2.12.2 ส่วนประกอบหลักของเครื่องยูวี-วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์

มีอยู่ 5 ส่วนด้วยกันดังนี้

1. แหล่งกำเนิดแสง (light source): แหล่งกำเนิดแสงในเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะต้องให้รังสีในช่วงความยาวคลื่นที่ต้องการอย่างต่อเนื่องและคงที่ตลอดเวลา รวมทั้งมีความเข้มแสงที่มากไม่วากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พอด้วย สำหรับความยาวคลื่นในช่วงอัลตราไวโอเล็ตจะใช้หลอดดิวเทอเรียม (deuterium lamp) เป็นแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งให้แสงในช่วง 185-375 nm หลักการคือทำให้อะตอมดิวเทอเรียมที่อยู่ในสถานะเร้าคายพลังงานออกมา ส่วนหลอดทังสเตน (tungsten filament lamp) จะให้ความยาวคลื่นครอบคลุมช่วงแสงที่มองเห็นได้ คือตั้งแต่ 320-2500 nm หลักการจะคล้ายกับหลอดไฟทังสเตนธรรมดา คือ ให้กระแสไฟฟ้าผ่านเข้าไปจนกระทั่งหลอดทังสเตนร้อนและเปล่งรังสีออกมาโดยปกติจะเปิดเครื่องทิ้งไว้ก่อนใช้งานประมาณ 30 นาที เพื่อให้แน่ใจว่าหลอดดิวเทอเรียมหรือหลอดทังสเตนให้แสงที่มีความเข้มสม่ำเสมอ

2. ส่วนเลือกความยาวคลื่น (wavelength selector) : เป็นส่วนที่ใช้แยกความยาวคลื่นที่ออกมาจากแหล่งกำเนิดแสง ซึ่งเป็นแสงที่มีหลายๆ ความยาวคลื่น (polychromatic wavelength) ให้เป็นแถบแสงในช่วงแคบๆ หรือ เป็นความยาวคลื่นเดี่ยว (monochromatic wavelength) เครื่องมือสมัยก่อนจะใช้ปริซึมหรือ ฟิลเตอร์สำหรับแยกความยาวคลื่น แต่ปัจจุบันเปลี่ยนมาใช้โมโนโครเมเตอร์ (monochromater) แบบเกรตติง (grating) สะท้อนแสงซึ่งมีลักษณะเป็นร่องเล็กๆ ขนานกันจำนวนมาก แสงจากแหล่งกำเนิดแสงจะตกกระทบลงบนผิวหน้าของร่อง แล้วสะท้อนออกมาที่มุมต่างๆ เฉพาะความยาวคลื่นที่เราเลือกเท่านั้นจึงจะผ่าน ช่องแสงออก (exit slit) ไปสู่สารตัวอย่าง

3. ภาชนะใส่สารตัวอย่าง (cell หรือ cuvette) : ภาชนะใส่สารตัวอย่างสำหรับสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จะเรียกว่า เซลล์หรือคิวเวทท์ (cuvette) มีหลายแบบหลายขนาดด้วยกันขึ้นกับการใช้งาน หลักสำคัญในการเลือกใช้ก็คือ การวัดในช่วงแสงอัลตราไวโอเล็ต จะต้องใช้เซลล์ที่ทำจากควอตซ์ (quartz) เท่านั้น เนื่องจากแก้วสามารถดูดกลืนแสงในช่วงอัลตราไวโอเล็ตได้ ส่วนเซลล์ที่ทำจากแก้วจะใช้วัดในช่วงแสงที่มองเห็นได้ นั้นหมายความว่าถ้าเราต้องการวัดสารในช่วงแสงที่มองเห็นได้ก็ควรจะใช้เซลล์ที่ทำจากแก้ว การใช้เซลล์ควอตซ์ไม่ได้มีผลให้การวัดแสงดีขึ้น แต่จะสิ้นเปลืองเปล่าประโยชน์เพราะควอตซ์ราคาแพง กว่าแก้วมาก

4. ตัวตรวจจับสัญญาณ (detector) : เครื่องตรวจจับสัญญาณที่ดีต้องมีสภาพไวสูง คือแม้ปริมาณแสงจะเปลี่ยนไปเล็กน้อย ก็สามารถตรวจจับสัญญาณความแตกต่างได้ ปัจจุบันเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ส่วนใหญ่ นิยมใช้ตัวตรวจจับสัญญาณ 2 ชนิดคือ

4.1 หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (photomultiplier tube; PMT) : หลอด PMT ประกอบไปด้วยแคโทด (cathode) ที่ฉาบผิวด้วยสารที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้เมื่อถูกแสง จำนวน 9 ชุด เรียกว่า ไดโนด (dynode) แต่ละไดโนดจะมีศักย์ไฟฟ้าสูงขึ้นไปเรื่อยๆ เมื่อแสงตกกระทบกับไดโนดตัวที่หนึ่งสารที่ฉาบผิวจะเกิดอิเล็กตรอนขึ้น แล้ววิ่งไปกระทบไดโนดที่สอง สาม สี่ จนครบทั้งเก้าตัว ดังนั้นปริมาณอิเล็กตรอนจะเพิ่มขึ้นถึง 10^6 - 10^7 เท่า แล้วจึงชนแอนโนดให้กระแสไฟฟ้าออกมาเข้าเครื่องขยายสัญญาณต่อไป

4.2 โฟโตไดโอดอาร์เรย์ (photodiode arrays; PDA) : ตัวตรวจจับสัญญาณชนิดนี้สามารถจับสัญญาณได้ครอบคลุมทั้งสเปกตรัมโดยใช้ไดโอดนี้ มาเรียงต่อกันเป็นแถว ซึ่งสามารถวัดครอบคลุมสเปกตรัมได้ตั้งแต่ 200-1100 nm ตัวตรวจจับสัญญาณนี้ประกอบไปด้วยโฟโตไดโอดและตัวเก็บประจุ (capacitor) ประมาณ 200- 4000 ตัวเรียงต่อกันเป็นแถว หลักการเริ่มต้นด้วยการให้ประจุผ่านผิวหน้าไดโอด ซึ่งไดโอดก็จะเก็บประจุไว้ที่ตัวเก็บประจุ เมื่อแสงตกลงบนไดโอดจะทำให้เกิดประจุไฟฟ้าไปทำลายประจุที่เก็บไว้ที่ตัวเก็บประจุ ทำให้ต้องใส่ประจุเพิ่มเข้าไปใหม่ซึ่งเป็นช่วงของการสแกนแต่ละครั้งนั่นเอง ปริมาณของประจุที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นเพื่อใช้ในการเรียนการสอนเท่านั้น การนำเอกสารนี้ไปใช้โดยไม่ผ่านการอนุมัติจากเจ้าของเอกสารถือว่าผิดกฎหมาย

การวัดปริมาณแสงที่แตกต่างกันตลอดช่วงความยาวคลื่นจะได้เป็นสเปกตรัมการดูดกลืนของสารนั้นออกมา

5. ส่วนบันทึกและแปรผลสัญญาณ (recorder and processor) : ทำหน้าที่ขยายสัญญาณและแปรผลสัญญาณให้ออกมาในมาตราส่วนแบบล็อก (log scale) (แม้น, 2539)

2.12.3 กฎของเบียร์ และแลมเบิร์ต (Beer and Lambert's Law)

กฎของ Beer (Beer's Law) กล่าวว่า "ถ้าสารละลายมีความเข้มข้นมากขึ้นค่าดูดกลืนแสงของสารจะมากขึ้นตาม เป็นสัดส่วนกับความเข้มข้นที่เพิ่มขึ้น ในทางกลับกันถ้าสารละลายมีความเข้มข้นลดลงค่าการดูดกลืนแสงจะลดลงอย่างเป็นสัดส่วนเช่นกัน" สรุปคือ ค่าดูดกลืนแสงของสารจะแปรผันตรงกับความเข้มข้นของสารละลาย

กฎของ Lambert (Lambert's Law) กล่าวว่า "ถ้าเพิ่มความกว้างของระยะทางที่แสงเดินทาง ผ่านสารละลาย ค่าการดูดกลืนแสงจะมากขึ้นตามอย่างเป็นสัดส่วน" สรุปคือ ค่าดูดกลืนแสงของสารละลายจะแปรผันตามความกว้างของสารละลายที่แสงผ่าน

เมื่อเราวัดการดูดกลืนแสงของสารละลาย ปริมาณความเข้มของแสงที่ถูกดูดกลืนจะขึ้นอยู่กับทั้งความเข้มข้นของสารละลายและความหนาของสารละลายที่ลำแสงต้องผ่าน จึงจำเป็นต้องรวมกฎของเบียร์และกฎของแลมเบิร์ต เรียกเป็น กฎของเบียร์-แลมเบิร์ต (Beer-Lambert law) (วิสุทธิ, 2546)

การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างเราสามารถทำได้โดยให้ลำแสงผ่านเข้าไปในตัวอย่าง (Incident light: I_0) แล้ววัดปริมาณแสงที่เหลือผ่านออกมา (I) โดยเทียบกับแสงที่ผ่านออกมาเมื่อไม่มีสารตัวอย่าง

Transmittance (T) เป็นสัดส่วนปริมาณแสงที่ผ่านออกมา (I) ต่อปริมาณแสงที่ผ่านเข้าไปในตัวอย่าง (I_0) เขียนสมการได้ว่า

$$T = \frac{I}{I_0}$$

Absorbance (A) นิยามสมการได้เป็น

$$A = \log \frac{I_0}{I} = -\log T$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.13 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดสารสำคัญด้วยวิธีต่างๆจากวัสดุธรรมชาติ รวมถึงการสกัดน้ำมันจากรำข้าวด้วยวิธีต่างๆ เพื่อหาสารสำคัญนั้นมีทั้งแบบสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมและวิธีใหม่ๆ เช่น

- การสกัดรำข้าวสาลีด้วยวิธี Ultrasonic bath เพื่อหาปริมาณฟีนอลิก (wang และคณะ, 2008)
- สกัดรำข้าวด้วยวิธี supercritical extraction และ LPG extraction เพื่อหาปริมาณแกรμμαออริ

ซานอล (Juliana และคณะ, 2016)

- สกัดรำข้าวด้วย soxhlet extraction เพื่อหาปริมาณกรดโอเลอิก, โลโนเลอิก, ปาล์มิติก

(Amarasinghe และคณะ, 2009)

- สกัดถั่วเหลืองด้วย Ultrasound-assisted extraction เพื่อหาปริมาณน้ำมันและกรดไขมัน

(Haizhou และคณะ, 2004)

โดยมีการรวบรวมข้อมูลจากงานวิจัยที่ผ่านมาซึ่งเกี่ยวข้องกับการสกัดสารสำคัญด้วยวิธีต่างๆ จากวัสดุธรรมชาติ รวมถึงการสกัดน้ำมันจากรำข้าวด้วยวิธีต่างๆ เพื่อหาสารสำคัญ (ตารางที่ 2.3)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

No.	ชื่อคนแต่ง (Authors)	วัตถุดิบ (Material)	วิธีการสกัด (Extraction methods)	วิธีการวิเคราะห์ (Analysis methods)	สารที่ต้องการสกัด (Extracted compounds)	ผลได้ (Yield/results)
1.	ช่อแก้ว อนิลบล และคณะ (2554)	ข้าวเหนียวดำ 9 สายพันธุ์	Ethanol - 0.1%TFA (Trifluoroacetic acid)	Spectrophotometric และ HPLC	แอนโทไซยานิน	ข้าวเหนียวดำ Gs. no. 09475 มี ปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุดทั้ง ในสองวิธีการคือ 133.24 และ 172.83 mg/100g see ตามลำดับ
2.	นันทิยา วงศ์แสงตา และคณะ (2552)	ดอกอัญชัน สีน้ำเงิน	สกัดด้วยน้ำ ปราศจากไอออน(deionized water) หรือ acidified methanol ประกอบด้วย 0.2 M กรดไฮโดรคลอริก	Thin Layer Chromatography (TLC)	แอนโทไซยานิน	กลีบดอกสดให้ปริมาณแอนโทไซ ยานิน
3.	รัตนา ม่วงรัตน์ และคณะ (2557)	ข้าวโพดสีม่วง	อัตราส่วนน้ำหนักขังข้าวโพด สีม่วงต่อเมทานอลต่างๆ	วิธี pH differential method, DPPH inhibition	แอนโทไซยานิน	อัตราส่วนน้ำหนักรังข้าวโพดสีม่วง ต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:13 ที่ ความเข้มข้นของตัวทำละลาย เมทานอลเท่ากับ 90 เปอร์เซ็นต์ สกัดสารแอนโทไซยานินจากขัง ข้าวโพดสีม่วงได้มากที่สุด

No.	ชื่อคนแต่ง (Authors)	วัตถุดิบ (Material)	วิธีการสกัด (Extraction methods)	วิธีการวิเคราะห์ (Analysis methods)	สารที่ต้องการสกัด (Extracted compounds)	ผลได้ (Yield/results)
4.	ยุพาพร ผลาขจรศักดิ์ (2547)	เปลือกมังคุด	1% HCl ใน 95% ethanol	Fuleki และ Francis, 1968	แอนโทไซยานิน	อัตราส่วนที่เหมาะสมของตัวทำละลายต่อเปลือกมังคุดคือ 25:1 ปัจจัยที่มีผลต่อความคงตัวคือ pH, อุณหภูมิ, แสง และเวลา
5.	ณัฐราวุฒิ ฐิติปราโมทย์ และคณะ (2554)	ข้าวมีสี 4 ชนิด	ทำละลาย คือ น้ำกลั่น, 1% กรดเกลือในน้ำกลั่น, เอทานอล, 1% กรดเกลือในเอทานอล อะซีโตน	AOAC Official Method Highperformance liquid chromatography (HPLC)	แอนโทไซยานิน	ในขณะที่แอนโทไซยานินมีปริมาณมากในข้าวเหนียวดำ ข้าวหอมนิล ข้าวสังข์หยด ข้าวมันปู ตามลำดับ
6.	ชุตินา และคณะ (2556)	หัวแก่นตะวัน	วิธี Ultrasonic probe	วิธีการสกัดใช้ตัวทำละลายคือน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80°C, อุณหภูมิในการสกัดคือ 25°C และ 80 °C, แอมพลิจูด 20, 40, 60, 80 และ 100	สารประกอบอินนูลิน	ร้อยละการสกัดอินนูลินด้วยน้ำร้อนเพียงอย่างเดียวมีค่า 49.8 (โดยน้ำหนักแห้ง) และการพริทรีตเมนต์ด้วยอัลตราซาวด์ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดอินนูลินได้ ประสิทธิภาพการสกัดมีแนวโน้มสูงขึ้นเมื่อพริทรีตเมนต์ที่ค่าแอมพลิจูดและเวลาที่สูงขึ้นและการพริทรีตเมนต์ที่อุณหภูมิ 80°Cช่วยเพิ่มร้อยละการสกัดได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 25°C

No	ชื่อคนแต่ง (Authors)	วัตถุดิบ (Material)	วิธีการสกัด (Extraction methods)	วิธีการวิเคราะห์ (Analysis methods)	สารที่ต้องการสกัด (Extracted compounds)	ผลได้ (Yield/results)
7	Juliana และคณะ (2016)	รำข้าว	supercritical extraction (SC-CO ₂) และ LPG extraction	DPPH assay, gas chromatography - mass spectrometry	แกมมาออริซานอล	ผลผลิตที่มากที่สุดอยู่ที่ 12.68% และ 12.07 wt% ในขณะที่กิจกรรมของสาร แอนติออกซิแดนซ์ที่มากที่สุด มีค่า 71.67 และ 67.49% ซึ่ง ใช้ SC- CO ₂ และ LPG ตามลำดับ
8.	Zhiqian และคณะ, (2016)	นมดิบ	วิธี Folch หรือ Bligh และ วิธีdryer	Liquid chromatography- mass spectrometry	ลิปิด	ผู้วิจัยผสมตัวทำละลาย
9.	Setyaningsih และคณะ, (2015)	เมล็ดข้าว	วิธี microwave-assisted (MAE)	วิธี Chromatographic	สารประกอบฟีนอลิก	สภาวะที่ใช้สกัดโดยวิธี MAE จะใช้ อุณหภูมิ 185 °C ไมโครเวฟ 1000 W เวลาการ สกัด 20 นาที ตัวทำละลาย 100% MeOH และตัวทำ ละลาย:ตัวอย่างเท่ากับ 10:1 สภาวะเหล่านี้มีผลต่อความ หลากหลายของสารประกอบ ฟีนอลิกในเมล็ดข้าวมากที่สุด

No	ชื่อคนแต่ง (Authors)	วัตถุดิบ (Material)	วิธีการสกัด (Extraction methods)	วิธีการวิเคราะห์ (Analysis methods)	สารที่ต้องการสกัด (Extracted compounds)	ผลได้ (Yield/results)
10.	Yingjian Lu และคณะ, (2016)	ข้าวสาลี 3 ชนิด	วิธี ultrasonic(UAE) และ microwave (MAE)	liquid chromatography-mass spectrometry, DPPH assay, SPSS Program	กรดฟีนอลิก	ปริมาณกรดฟีนอลิกทั้งหมดในรำข้าวสาลีจากการสกัดทั้ง 2 แบบ จะมีปริมาณฟีนอลิกมากกว่าข้าวสาลีที่ยังไม่ผ่านการสี การสกัดข้าวสาลีที่ผ่านการสีแล้ว และยังไม่ได้ผ่านการสีพบว่า การสกัดด้วยวิธี MAE จะมีปริมาณกรดฟีนอลิกทั้งหมดน้อยกว่าการสกัดแบบ UAE อย่างมีนัยสำคัญ
11.	Amarasinghe และคณะ (2009)	รำข้าวที่อุดมไปด้วยไขมัน	soxhlet extraction	liquid chromatography	กรดโอเลอิก, ไลโนเลอิก, ปาล์มิติก,	สภาวะที่เหมาะสมจะมี ช่วง pH 10-12 ถ้าอุณหภูมิสูง น้ำมันที่ได้ก็จะมากขึ้น (60-80 °C)
12.	Krishna B. Gutte และคณะ (2015)	เมล็ดแฟลกซ์	วิธี ultrasonic	GC analysis	กรดไขมัน	ใช้ แอมพลิจูด 40 kHz อุณหภูมิ 30°C ใช้เวลา 40 นาที ตัวอย่างต่อตัวทำละลาย เท่ากับ 1:10 ถ้าใช้ตัวทำละลาย hexane จะได้น้ำมันเมล็ดแฟลกซ์มากกว่าใช้ตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน

No	ชื่อคนแต่ง (Authors)	วัตถุดิบ (Material)	วิธีการสกัด (Extraction methods)	วิธีการวิเคราะห์ (Analysis methods)	สารที่ต้องการสกัด (Extracted compounds)	ผลได้ (Yield/results)
13.	Hossain และคณะ (2014)	เปลือก มะเขือเทศ	วิธี Ultrasonic probe	Ultra-performance liquid chromatography, the Design Expert Version 7.1.3 software	Steroidal alkaloids	ผลของแอมพลิจูดในการสกัด มีอิทธิพลมากกว่าเวลาที่ใช้ การใช้อัลตราโซนิกช่วยในการสกัดมีความเหมาะสมในการสกัดสาร alkaloid
14.	Haizhou และคณะ (2004)	ถั่วเหลือง	Ultrasound-assisted extraction	GC	ปริมาณน้ำมัน, กรดไขมัน	สกัดน้ำมันจากถั่วเหลือง 2 สายพันธุ์ด้วยอัลตราโซนิกที่ 20 kHz โดยใช้ hexane, isopropanol และส่วนผสม hexane- isopropanol 3: 2 เวลา 0-3 ชั่วโมงที่ระดับความเข้มของอัลตราโซนิกตั้งแต่ 16.4 ถึง 47.6 W/cm ² พบว่า การใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลายให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาและความเข้มของอัลตราโซนิกเพิ่มขึ้น โดยตัวทำละลายผสมให้ผลการสกัดดีสุดและพบว่าการสกัดด้วยอัลตราโซนิกไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกรดไขมัน

No.	ชื่อคนแต่ง (Authors)	วัตถุดิบ (Material)	วิธีการสกัด (Extraction methods)	วิธีการวิเคราะห์ (Analysis methods)	สารที่ต้องการสกัด (Extracted compounds)	ผลได้ (Yield/results)
15.	Spinelli และคณะ (2016)	brewer's spent gain (BSG)	วิธี SC-CO ₂	วิธีDPPH assay, วิธี aluminium trichloride (วิเคราะห์สารประกอบ ฟลาโวนอยด์)	สารประกอบฟีนอลิก และสารประกอบ ฟลาโวนอยด์	สภาวะที่เหมาะสมที่มีปริมาณ สารประกอบฟีนอลิก สารประกอบฟลาโวนอยด์ มากที่สุด คือใช้ความดัน 35 Mpa อุณหภูมิ 40°C และ คาร์บอนไดออกไซด์ +60% เอทานอลธรรมดาที่ใช้เฮกเซน หรือเอทานอลเป็นตัวทำ ละลาย
16.	Centeno และคณะ (2015)	กากองุ่น (<i>Vitis vinifera</i> L.)	sonic power 100 W	ABTS ⁺ และ FRAP, Folin-Ciocalteu method	สารประกอบฟีนอลิก และสารต่อต้านอนุมูล อิสระ	เปรียบเทียบการสกัดวิธี ธรรมดาและวิธีการใช้อัลตรา- โซนิคช่วยในการสกัดสาร ฟีนอลิกใน heteroxylans จากรำข้าวสาลีพบว่า โพลี แซคคาไรด์ที่ได้จากการสกัดมี สมบัติจำเพาะ โดยเมื่อใช้คลื่น อัลตราซาวด์ช่วยในการสกัด เป็นเวลาสั้นๆ ในขั้นตอนแรก (ไม่เกิน 10 นาที) และใช้ NaOH 0.5-2%

No.	ชื่อคนแต่ง (Authors)	วัตถุดิบ (Material)	วิธีการสกัด (Extraction methods)	วิธีการวิเคราะห์ (Analysis methods)	สารที่ต้องการสกัด (Extracted compounds)	ผลได้ (Yield/results)
17.	Wang และคณะ (2008)	รำข้าวสาลี	วิธี Ultrasonic bath	Folin-Ciocalteu method, STATISTICA 6.0 software	สารประกอบฟีนอลิก	ภายใต้สภาวะดังกล่าวได้สารฟีนอลิก 3.12 มิลลิกรัมกรดแกลลิกต่อกรัมจากรำข้าวสาลีที่สภาวะที่เหมาะสมที่สุดคือ เอทานอล 64% อุณหภูมิ 60°C เวลา 25 นาที และเวลาในการสกัดเป็นปัจจัยที่มีนัยสำคัญในการทดสอบ
18.	Klen และคณะ (2012)	น้ำมันมะกอก	วิธี Ultrasonic probe	HPLC-DAD-FLD และ LC-MS, STATGRAPHIC S Plus 4.0	สารประกอบฟีนอลิก	ในการวิเคราะห์ฟีนอลของน้ำมันมะกอกบริสุทธิ์ โดยสามตัวแปรในการสกัด คือ ชนิดของตัวทำละลาย 100%, 80%, 50% เมทานอล เวลา 5, 10, 20 นาที พบว่าการใช้อัลตราโซนิกสามารถช่วยในการสกัดได้

No.	ชื่อคนแต่ง (Authors)	วัตถุดิบ (Material)	วิธีการสกัด (Extraction methods)	วิธีการวิเคราะห์ (Analysis methods)	สารที่ต้องการสกัด (Extracted compounds)	ผลได้ (Yield/results)
19.	Dilini Bopitiya, Terrence Madhujith (2014)	รำข้าวแดงและ รำข้าวขาว	Soxhlet extraction	Folin–Ciocalteu’s reagent method, DPPH assay, ABTS ⁺ assay	สารประกอบฟีนอลิก	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่ได้จากทั้ง 2 สายพันธุ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) แต่น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวแดงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อทดสอบด้วย DPPH assay นอกจากนี้ น้ำมันรำข้าวที่ได้ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีเมื่อเทียบกับแอลฟาโทโคฟีรอล
20.	Ethel และคณะ (2011)	เมล็ดทานตะวัน	batch extractor	-	น้ำมัน	ดำเนินการโดยใช้เครื่องสกัดแยกชิ้นส่วนที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 40°C, 50°C, 60°C อัตราการสกัดตัดสินใจจากขนาดเมล็ดทานตะวัน พบว่า ปริมาณน้ำมันในสารสกัดเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาในการสัมผัสและอุณหภูมิในการสกัดสูงขึ้น และสมดุลที่ 50°C

No.	ชื่อคนแต่ง (Authors)	วัตถุดิบ (Material)	วิธีการสกัด (Extraction methods)	วิธีการวิเคราะห์ (Analysis methods)	สารที่ต้องการสกัด (Extracted compounds)	ผลได้ (Yield/results)
21.	Erica และคณะ (2016)	เมล็ดทานตะวัน	Soxhlet extraction	AOCS method, HPLC, GLC	น้ำมัน, วิตามินอี, แวกซ์, น้ำตาล, ฟอส โฟลิปิด	เมื่อใช้เอทานอลเป็นตัวทำ ละลายผลที่ได้คือ แวกซ์น้อย กว่า 70% วิตามินอีและฟอส โฟลิปิดได้น้อย 38% นอกจากนี้ เอทานอลสามารถ สกัดน้ำตาลได้ดีกว่าเฮกเซน ซึ่งส่วนใหญ่เป็นราฟฟิโนส และซูโครสซึ่งได้มากกว่า 75%
22.	Zhan-jun และคณะ (2016)	เมล็ดทารา	Ultrasonic extraction, Soxhlet extraction	GC	ปริมาณน้ำมัน, กรด ไขมัน	พบว่า การสกัดด้วยอัลตรา โซนิคสามารถสกัดได้สมบูรณ์ โดยใช้เวลาน้อย ซึ่งน้ำมัน เพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มพลังงาน และอุณหภูมิการสกัด เมื่อ วิเคราะห์กรดไขมันจากน้ำมัน ที่ ส กั ด โ ต ย ส อ ง วิ ธี องค์ประกอบไขมันของน้ำมัน จากทั้งสองวิธีการสกัดพบว่า มี ความใกล้เคียงกัน

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 วัสดุและอุปกรณ์

3.1.1 รำข้าว

รำข้าวที่ใช้ในการทำวิจัยมี 2 ประเภท ได้แก่

รำข้าวหอมมะลิชัยนาท ขนาด 850 ไมโครเมตร (เก็บเกี่ยวและทำการสี เดือนกันยายน 2015)

รำข้าวไร้พันธุ์ดอกขาม ขนาด 850 ไมโครเมตร (เก็บเกี่ยวเดือนตุลาคม 2015, ทำการสี เดือนธันวาคม 2015)

3.1.2 สารเคมีและอุปกรณ์

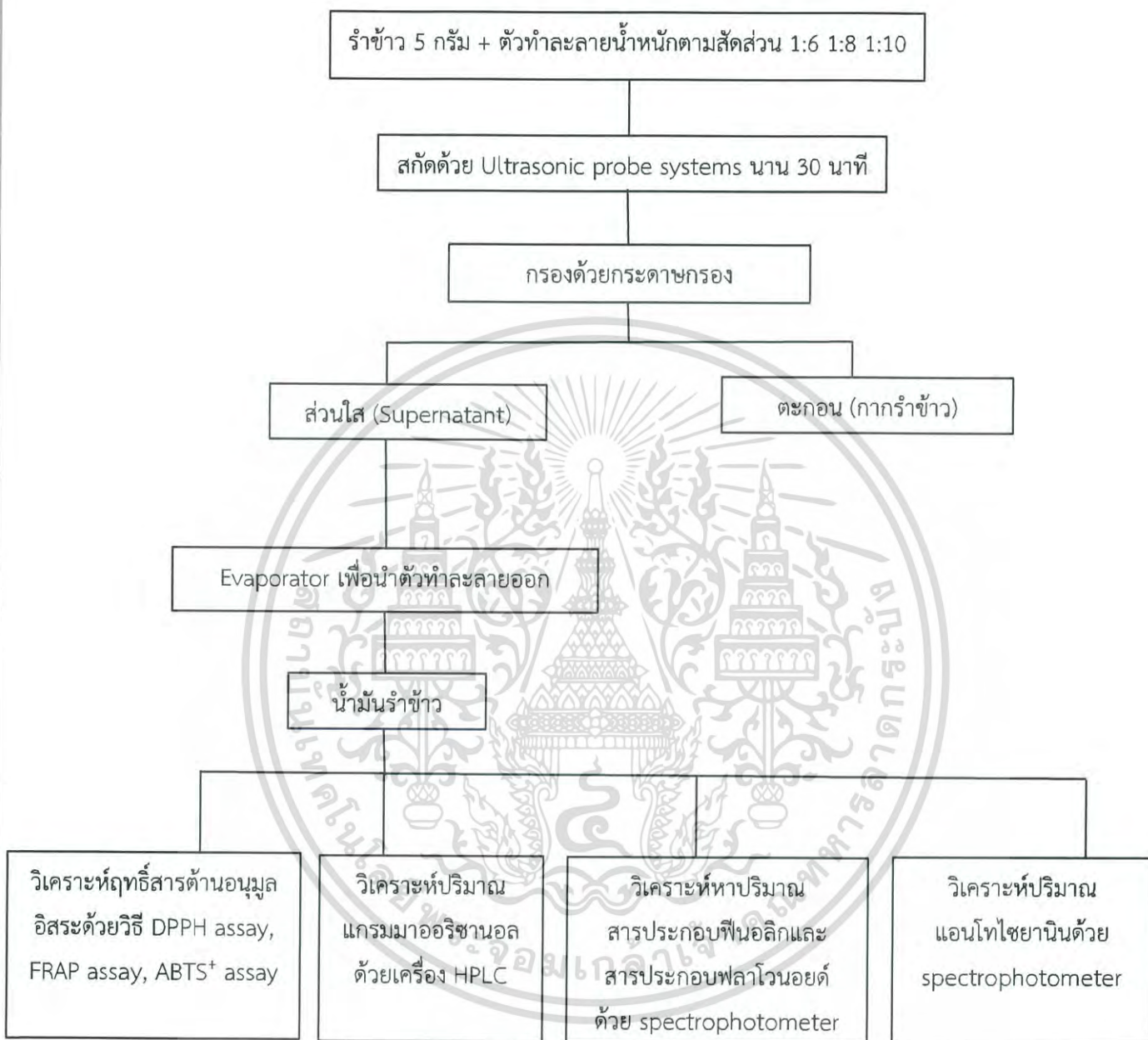
1. เฮกเซน 98.5% (Avantor Performance Materials, Inc., USA)
2. เอทานอล 95% (องค์การสุรา กรมสรรพสามิต)
3. ไอโซโพรพานอล (RCI Labscan, V. S. CHEM HOUSE, Thailand)
4. เอทิลอะซิเตต (LC1070-G4L HPLC grade, RCI LAB SCAN CO., LTD)
5. เมทานอล (HPLC grade, RCI LAB SCAN CO., LTD)
6. กรดไฮโดรคลอริก (QREC, Newzealand)
7. เฟอริกคลอไรด์ (Ajax Finechem Pty Ltd, Austria)
8. โซเดียมคาร์บอเนต (AnalaR, BDH Laboratory Supplies Poole, England)
9. โซเดียมไนไตรต์ (E. Merck, Darmstadt, Germany)
10. อลูมิเนียมคลอไรด์ (Univar, Ajax Finechem Pty Ltd, Austria)
11. โปแทสเซียมคลอไรด์ (Univar, Ajax Finechem Pty Ltd, Austria)
12. โซเดียมอะซิเตต (Univar, Ajax Finechem Pty Ltd, Austria)
13. น้ำกลั่น (Deionized water)
14. 6-hydroxy-2, 5, 7, 8-tetramethylchroman-2-carboxylic acid (Trolox) (Sigma-Aldrich, Germany)
15. Butylated hydroxytoluene (BHT) (Sigma-Aldrich, Germany)
16. 2, 2-diphenyl-1-pic-rylhydrazy (DPPD) (Sigma-Aldrich, Germany)
17. 2, 20-azino-bis 3-ethylbenzothiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) (Sigma-Aldrich, Germany)
18. 2, 4, 6-Tripyridyl-s-triazine (TPTZ) (Sigma-Aldrich, Germany)
19. กระดาษกรอง What man No.5, กระดาษกรอง What man No.1
20. เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (SPD-M20A, Bare Scientific Co., Ltd, Thailand)
21. Injector 50 µl. (SGE Analytical Science, Australia)
22. HPLC Column ACE5 C18 (Dimensions 250x4.6 mm, UK)
23. ปั๊มลม (GE Motors, GAST manufacturing inc., USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือการเขียนขึ้นเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

24. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง (SI-234, Denver, England)
25. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง (PB 3002, Mettler Toledo, Thailand)
26. Rotary Evaporator, Heating bath, Base (Heidolph, Heidolh Instruments GmbH & Co, KG, Germany)
27. Probe sonicator (Vibra cell, Sonics & Materials, inc., United States of America)
28. Spectrophotometer (Biomate 3, Thermo electron corporation, United States of America)
29. Microplate reader (iEMS Labsystems, Thailand)
30. กรวยแก้ว
31. ขวดสีชา
32. ปีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร และ 500 มิลลิลิตร (SCHOTT, Duran Group, Germany)
33. ขวดตูแรน (SCHOTT, Duran Group, Germany)
34. กระบอกตวง
35. ขวดปรับปริมาตร
36. ซ้อนตักสาร
37. แท่งแก้วคนสาร
38. เครื่องผสมสาร (Genie 2, Sciencetific industries, United States of America)
39. ชุดกรองบุขนเนอร์ (Millipore Corporation, United States of America)
40. ชุดตะแกรงร่อน (ASTM E11, Endecotts, United States of America)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 แผนผังการดำเนินการ



รูปที่ 3.1 แผนผังการทดลองทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 วิธีการดำเนินงานวิจัย

ดัดแปลงจากวิธีของ ดวงกลม และคณะ (2014)

3.3.1 การคัดขนาด

- 1) คัดขนาดรำข้าวด้วยชุดตะแกรงร่อนคัดแยกขนาดประกอบไปด้วยขนาด 850 500 300 150 และ 75 ไมโครเมตร
- 2) เลือกรำข้าวขนาด 850 ไมโครเมตร

3.3.2 การหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด

- 1) ชั่งรำข้าวแต่ละประเภทขนาด 850 ไมโครเมตร ปริมาณ 5 กรัมใส่บีกเกอร์ขนาด 100 มิลลิลิตร และเติมตัวทำละลายเอทานอล เฮกเซน และเอทิลอะซิเตตปริมาตร 30 มิลลิลิตร ซึ่งใช้อัตราส่วนระหว่างรำข้าวต่อตัวทำละลายคือ 1:6 (w/v)
- 2) ทำการสกัดโดยนำบีกเกอร์ที่มีตัวอย่างรำข้าวและตัวทำละลายแต่ละตัวและแต่ละอัตราส่วนมาเข้าเครื่องอัลตราโซนิกเพื่อทำการสกัด โดยนำหัว โพรบจุ่มลงในบีกเกอร์ให้ลึกประมาณ 2.5 เซนติเมตร แล้วนำแผ่นพาราฟิล์มปิดฝาบีกเกอร์ และเจาะรูเพื่อนำเทอร์โมมิเตอร์ใส่เพื่อใช้วัดอุณหภูมิโดยควบคุมสภาวะการสกัดที่คลื่นเสียงความถี่สูง 20 kHz เวลาที่ใช้คือ 30 นาที และอุณหภูมิที่ใช้คือ 30 และ 40 °C
- 3) หลังจากเสร็จสิ้นการสกัด นำตัวอย่างที่ได้ไปกรองด้วยกระดาษกรอง (What man No.5) เพื่อแยกเอาส่วนที่เป็นของเหลว
- 4) นำของเหลวที่กรองได้ไปเข้าเครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporator) เพื่อระเหยตัวทำละลายออกให้เหลือเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำมันนำน้ำมันที่ได้ไปซึ่งเพื่อวัดน้ำหนักและแบ่งน้ำมันเป็นสองส่วน ส่วนแรกนำไปเข้าเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (SHIMADZU L201046, Japan) เพื่อวิเคราะห์แกรมมาออริซานอล
- 5) นำไปวัดปริมาณแอนโทไซยานิน
- 6) นำอีกส่วนไปวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกและนำไปวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์
- 7) วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay FRAP assay ABTS⁺ assay แล้วนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบเพื่อสภาวะที่เหมาะสมที่สุด
- 8) ทำเช่นเดียวกับข้อที่ 1) ถึง 8) แต่เปลี่ยนอัตราส่วนระหว่างรำข้าวต่อตัวทำละลายเป็น 1:8 และ 1:10 (w/v) ตามลำดับ
- 9) ทำเช่นเดียวกับข้อที่ 1) ถึง 8) แต่เปลี่ยนสายพันธุ์รำข้าว

3.3.3 การวิเคราะห์องค์ประกอบของแกรมมาออริซานอล

- 1) นำน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ไปวิเคราะห์ผลด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (SHIMADZU L201046, Japan) ซึ่งภายในระบบประกอบไปด้วย degasser, ป้อนลม (GAST manufacturing Inc., USA), D2 detector ซึ่งการวิเคราะห์องค์ประกอบแกรมมาออริซานอลจะใช้คอลัมน์ PhenomenexKinetexACE5 C18 (250 มิลลิเมตร x 4.6 มิลลิเมตร) ภายใต้อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส และบรรจุตัวอย่างเข้าระบบปริมาตร 20 ไมโครลิตรโดยใช้ injector (SGE Analytical Science, Australia) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 2) เตรียมเฟสเฟสเคลื่อนที่ที่มีองค์ประกอบของตัวทำละลายเป็น เมทานอล:โพรพานอล:เอทิลอะซิเตต ในอัตราส่วน 47.5 : 40 : 12.5 (v:v:v) ใช้แบบระบบ Isocratic
- 3) ตั้งความยาวคลื่นของ detector ไว้ที่ 330 นาโนเมตรเพื่อตรวจสอบองค์ประกอบของแกรมมาออริซานอลและก่อนจะเริ่มการทำงานจะทำการปรับสภาพของคอลัมน์ก่อนโดยปล่อยให้เฟสเคลื่อนที่ไหลเข้าสู่คอลัมน์ประมาณ 30 นาทีจนระบบคงที่ก่อนฉีดตัวอย่างซึ่งรายละเอียดจะแสดงไว้ในภาคผนวก ข
- 4) ฉีดตัวอย่างที่ผสมเฟสเคลื่อนที่ตามภาคผนวก ข 20 ไมโครลิตร
- 5) คำนวณหาปริมาณแกรมมาออริซานอลโดยใช้สูตร

$$\text{ปริมาณแกรมมาออริซานอล} = \frac{\text{พื้นที่ใต้กราฟ}+5627.3}{7741.2}$$

ซึ่งสูตรปริมาณแกรมมาออริซานอลหาได้โดยใช้สมการจากกราฟมาตรฐานของสาร

แกรมมาออริซานอลตามภาคผนวก ก

3.3.4 การหาปริมาณแอนโทไซยานิน (ดัดแปลงวิธีวิเคราะห์จากวิธีการของ Hosseinian

และคณะ, 2008)

- 1) วิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินโดยวิธี pH differential โดยการปรับระดับความเจือจางของตัวอย่างใน 0.03 โมลาร์ โพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ที่ความเป็นกรด-ด่าง 1.0 และ 0.4 โมลาร์โซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่ความเป็นกรด-ด่าง 4.5 จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร
- 2) วิเคราะห์หาปริมาณสารแอนโทไซยานิน โดยนำน้ำมันที่สกัดได้ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมบัฟเฟอร์พีเอช 1.0 ปริมาณ 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดอุณหภูมิห้อง 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร
- 3) นำน้ำมันที่สกัดได้ 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมบัฟเฟอร์พีเอช 4.5 ปริมาณ 4 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร
- 4) นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานิน โดยวิธีการคำนวณหาปริมาณแอนโทไซยานินหาได้จาก

$$\text{ปริมาณแอนโทไซยานิน} = \frac{A \times MW \times DF \times 1000}{\epsilon}$$

โดยที่ A คือ ค่าการดูดกลืนแสง ($A_{520} - A_{700}$)_{pH1.0} - ($A_{520} - A_{700}$)_{pH4.5}

MW คือ มวลโมเลกุลของแอนโทไซยานิน 499.2 กรัมต่อโมล

DF คือค่าการเจือจาง

ϵ คือ ค่าสัมประสิทธิ์มีค่าเท่ากับ 29,600 โมลาร์

1000 คือ เปลี่ยนหน่วยจากกรัมเป็นมิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (ดัดแปลงจากวิธี Folin-Ciocalteu

Colorimetric Method) (ภาคผนวก ก)

- 1) ใส่ Folin-Ciocalteu reagent ที่เจือจางแล้ว 10X ลงในหลอดทดลองปริมาตร 1 มิลลิลิตรและใส่สารมาตรฐาน (สำหรับทำกราฟมาตรฐาน) หรือตัวอย่างปริมาตร 200 ไมโครลิตร จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex
- 2) ใส่ Na_2CO_3 ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
- 3) ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex และบ่มในที่มืดเป็นเวลา 1 ชั่วโมง
- 4) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer
- 5) คำนวณหาปริมาณ total Phenolic content (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากกราฟมาตรฐาน Gallic acid และคำนวณในหน่วยของ มิลลิกรัมกรดแกลกติกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg GAE/gDW)

3.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (ดัดแปลงวิธีของ Chang และคณะ, 2002)

(ภาคผนวก ก)

- 1) ใส่สารมาตรฐาน (สำหรับทำกราฟมาตรฐาน) หรือตัวอย่างปริมาตร 500 ไมโครลิตรลงในหลอดทดลองและใส่ NaNO_2 ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง
- 2) จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex จากนั้นทำการใส่ AlCl_3 ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 1 มิลลิลิตรและใส่ NaOH ความเข้มข้นร้อยละ 4.3 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร
- 3) จากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง Vortex และบ่มในที่มืดเป็นเวลา 40 นาที
- 4) จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 415 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Spectrophotometer
- 5) คำนวณหาปริมาณ total flavonoid content (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากกราฟมาตรฐาน Quercetin และคำนวณในหน่วยของมิลลิกรัม Quercetin ต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (mg QE/g DW)

3.3.7 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH assay (ดัดแปลงวิธีของ Bao Yang และคณะ, 2012) (ภาคผนวก ก)

- 1) เตรียม 96 well-plate สำหรับทดสอบตัวอย่าง
- 2) หยอด control (เอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95) จำนวน 6 หลุมหลุมละ 100 ไมโครลิตร
- 3) หยอดตัวอย่างและสารมาตรฐานที่เตรียมไว้ลงหลุม หลุมละ 100 ไมโครลิตร
- 4) นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง microplate reader เพื่อทำการวัด Blank
- 5) หยดสาร DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงในหลุมที่มีตัวอย่างสารมาตรฐานและตัวควบคุม จากนั้นบ่มในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงของ control ควรอยู่ในช่วงค่าการดูดกลืนแสง 0.6-0.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับของงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (JST) ปีที่ 25 ฉบับที่ 1 (พฤษภาคม 2562) หน้า 43-45
 เอกสารนี้เป็นเอกสารต้นฉบับของงานวิจัยที่ตีพิมพ์ในวารสารวิชาการของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี (JST) ปีที่ 25 ฉบับที่ 1 (พฤษภาคม 2562) หน้า 43-45
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.8 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี FRAP assay (ดัดแปลงจาก Rabeta, 2013) (ภาคผนวก ก)

- 1) นำสารละลาย FRAP reagent อุณหภูมิอย่างควบคุมอุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 30 นาที
- 2) นำตัวอย่างน้ำมันละลายในตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 70 เพื่อเตรียมสารสกัดแต่ละช่วงความเข้มข้น คือ 0.1-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- 3) นำสารสกัดตัวอย่างแต่ละความเข้มข้นใส่หลอดทดลอง 0.25 มิลลิลิตร จากนั้นเติม FRAP reagent 0.75 มิลลิลิตร บ่มในที่มืด 5 นาที
- 4) เมื่อครบเวลานำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วย spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร
- 5) นำค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่วัดได้คำนวณเทียบกับการต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานโทลลิกซ์

3.3.9 การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS⁺ assay (ดัดแปลงจาก Hwang et al., 2014) (ภาคผนวก ก)

- 1) นำสารละลาย ABTS⁺ reagent เตรียมไว้เจือจางด้วยเอทานอลความบริสุทธิ์ร้อยละ 95 ให้มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.70 ± 0.03 ช่วงความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร (เอทานอลร้อยละ 95 เป็น blank และ negative control)
- 2) นำตัวอย่างน้ำมันละลายในตัวทำละลายเอทานอลความบริสุทธิ์ร้อยละ 95 เพื่อเตรียมสารสกัดแต่ละช่วงความเข้มข้นเป็น 0.25-10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
- 3) นำตัวอย่างน้ำมันใส่หลอดทดลอง 40 ไมโครลิตร จากนั้นเติม ABTS reagent 2 มิลลิลิตร บ่มในที่มืด 6 นาที
- 4) เมื่อครบเวลาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง spectrophotometer ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร
- 5) นำค่าการดูดกลืนแสงของน้ำมันที่วัดได้คำนวณเทียบกับการต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานโทลลิกซ์

3.3.10 การคำนวณทางสถิติ

ข้อมูลทางสถิติแสดงออกมาในค่าเฉลี่ยของตัวอย่างทั้ง 3 ซ้ำ \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานค่าความเชื่อมันอยู่ที่ร้อยละ 95 ($p < 0.05$) เปรียบเทียบค่าเฉลี่ย \pm ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานโดยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test โดยใช้โปรแกรม IBM SPSS Statistics 22 ในการคำนวณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้

4.1.1 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:8 โดยใช้ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ ดังตารางที่ 4.1 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C ตัวทำละลายเฮกเซนมีผลในการสกัดน้ำมันได้มากกว่าเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ปริมาณน้ำมันที่ได้จากเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตตไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สาเหตุที่เฮกเซนสามารถสกัดน้ำมันได้ดีที่สุดเพราะว่าเป็นสารที่มีความเป็นขั้วต่ำ สามารถนำไปสกัดน้ำมันรำข้าวโดยใช้หลักการ like dissolves like และเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายน้ำมันได้ดีกว่าตัวทำละลายอื่นๆ นอกจากนี้เฮกเซนสามารถแทรกเข้าไปในรำข้าวได้ดี ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C ตัวทำละลายเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) อาจเป็นไปได้ว่าที่อุณหภูมิสูงทำให้ตัวทำละลายมีความหนาแน่นลดลงทำให้แทรกเข้าไปในวัสดุได้ดีขึ้น

เมื่อพิจารณตารางที่ 4.1 ในเรื่องอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ พบว่าตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต พบว่าที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณน้ำมันมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องจากเอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายที่ดีแต่มีขั้วสูงกว่าเฮกเซนและเอทานอลและมีความหนาแน่นสูงกว่าเฮกเซนและเอทานอลทำให้แพร่ได้เข้าสกัดได้น้ำมันในปริมาณน้อย ในขณะที่การสกัดด้วยเฮกเซนให้ผลตรงกันข้ามโดยที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณน้ำมันมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Hu และคณะ, (1996) และ Xu และ Godber (2000) เนื่องจากอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น และในงานวิจัยของ Ethel และคณะ (2011) ที่ทำการสกัดน้ำมันจากเมล็ดทานตะวันด้วยเฮกเซนพบว่า การเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจะเพิ่มความสามารถในการละลายและการแพร่กระจายของน้ำมันและลดลงความหนืดน้ำมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาท ต่อตัวทำละลาย 1:8 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	ปริมาณน้ำมัน (g)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	0.8240 ± 0.0088 ^{aA}	0.5963 ± 0.0080 ^{aB}
เอทานอล 95%	0.5425 ± 0.0108 ^{bA}	0.5316 ± 0.0100 ^{aA}
เอทิลอะซิเตต	0.4711 ± 0.0193 ^{bB}	0.5959 ± 0.0114 ^{aA}

หมายเหตุ a, b ที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A, B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.2 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกับที่อัตราส่วน 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และได้ปริมาณน้ำมันมากกว่าที่สกัดด้วยอัตราส่วน 1:6 ดังนั้นสำหรับการสกัดด้วยเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:8 เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าว และเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วนอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังจากนั้นเมื่อพิจารณาปริมาณน้ำมันที่สกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากที่สุดและมากกว่าอัตราส่วน 1:6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นสำหรับเอทิลอะซิเตตให้อัตราส่วนที่ 1:8 เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าว

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลาย ดังตารางที่ 4.2 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากที่สุดในแต่ละตัวทำละลาย พบว่าที่อุณหภูมิ 30°C เฮกเซนที่อัตราส่วน 1:8 สามารถสกัดน้ำมันให้ปริมาณมากกว่าเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตตอย่างมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ส่วนที่อุณหภูมิ 40°C เอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำมันทั้งหมดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิ ชัยนาทต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ปริมาณน้ำมัน (g)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	0.5601 ± 0.0149 ^b	0.4042 ± 0.0108 ^c
	1:8	0.8240 ± 0.0088 ^{aA}	0.5963 ± 0.0080 ^{aB}
	1:10	0.4915 ± 0.0511 ^c	0.5217 ± 0.0185 ^b
เอทานอล 95%	1:6	0.4371 ± 0.0126 ^b	0.4574 ± 0.0069 ^c
	1:8	0.5425 ± 0.0108 ^a	0.5316 ± 0.0100 ^b
	1:10	0.5808 ± 0.0070 ^{aB}	0.6778 ± 0.0139 ^{aA}
เอทิลอะซิเตต	1:6	0.5183 ± 0.0066 ^b	0.4356 ± 0.0118 ^b
	1:8	0.4711 ± 0.0193 ^b	0.5959 ± 0.0114 ^{aB}
	1:10	0.6279 ± 0.0195 ^{aB}	0.5242 ± 0.0146 ^a

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ในอัตราส่วนต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.1.2 ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไรด์อกขาม

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวไรด์อกขาม เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:8 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ ดังตารางที่ 4.3 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เอทานอล 95% มีผลในการสกัดน้ำมันได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งไม่เป็นไปตามงานวิจัยเนื่องจากเฮกเซนสามารถสกัดน้ำมันได้ดีที่สุด เพราะว่าเป็นสารที่มีความเป็นขั้วต่ำ สามารถนำไปสกัดรำข้าวแล้วดึงน้ำมันออกมาโดยใช้หลักการ like dissolves like นอกจากนี้เฮกเซนสามารถแทรกเข้าไปในรำข้าวได้ดี (สิทธิโชค และคณะ, 2558) ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตมีผลในการสกัดน้ำมันได้มากกว่าเฮกเซนและ เอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.3 ในเรื่องอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ พบว่าตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณน้ำมันมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ไม่สามารถแก้ไขได้ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Erica และคณะ, (2016) ที่ทำการสกัดน้ำมันทานตะวันด้วยเอทานอลพบว่าเมื่อมีอุณหภูมิเพิ่มขึ้นปริมาณน้ำมันก็จะสูงขึ้นเนื่องจากอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นทำให้ความสามารถในการละลายและการแพร่กระจายของตัวทำละลายเพิ่มขึ้น เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ปริมาณน้ำมันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตให้ผลตรงกันข้ามโดยที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณน้ำมันมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.3 ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไรด์อกขามต่อตัวทำละลาย 1:8 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	ปริมาณน้ำมัน (g)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	0.5920 ± 0.0108 ^{bA}	0.5230 ± 0.0133 ^{bA}
เอทานอล 95%	0.7206 ± 0.0120 ^{aA}	0.4980 ± 0.0114 ^{cB}
เอทิลอะซิเตต	0.5848 ± 0.0178 ^{bB}	0.6701 ± 0.0144 ^{aA}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.4 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) หลังจากนั้นเมื่อพิจารณาปริมาณน้ำมันที่สกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แต่ที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่สกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากที่สุดและมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลาย ดังตารางที่ 4.4 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวมากที่สุดในแต่ละตัวทำละลาย จากข้อมูลพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 % ที่อัตราส่วน 1:8 สามารถสกัดน้ำมันให้ปริมาณมากกว่าเฮกเซน และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ส่วนที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต ที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณน้ำมันทั้งหมดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ปริมาณน้ำมัน (g)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	0.3845 ± 0.0153 ^c	0.3425 ± 0.0093 ^c
	1:8	0.4804 ± 0.0174 ^b	0.4201 ± 0.0163 ^b
	1:10	0.5920 ± 0.0108 ^{ab}	0.5230 ± 0.0133 ^{ac}
เอทานอล 95%	1:6	0.3591 ± 0.0175 ^c	0.5382 ± 0.0216 ^b
	1:8	0.4103 ± 0.0066 ^b	0.5780 ± 0.0183 ^{ab}
	1:10	0.7206 ± 0.0120 ^{aa}	0.4980 ± 0.0114 ^b
เอทิลอะซิเตต	1:6	0.2937 ± 0.0173 ^c	0.5278 ± 0.0163 ^b
	1:8	0.4032 ± 0.0160 ^b	0.5586 ± 0.0223 ^b
	1:10	0.5848 ± 0.0178 ^{ab}	0.6701 ± 0.0144 ^{aa}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ ในอัตราส่วนต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณน้ำมันที่สกัดได้โดยเลือกจากอัตราส่วนตัวทำละลายที่ให้ปริมาณน้ำมันมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.2 ปริมาณแกรมนาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้

4.2.1 ปริมาณแกรมนาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40° ที่อัตราส่วน 1:8 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และ

เอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณแกรมนาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ ดังตารางที่ 4.5 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณไม่วากรณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) แตกต่างจากงานวิจัยของปริตาวรรณ และคณะ, (2013) ที่ทำการสกัดวิตามินอีและแกรมมาออริซานอลจากรำข้าวพันธุ์ กข 6 พบว่าเฮกเซนมีความเป็นขี้ต้ำสามารถสกัดน้ำมันวิตามินอีและแกรมมาออริซานอลได้ดีกว่าเอทานอล

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.5 ในเรื่องอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ พบว่าตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสูงที่สุดมากกว่าตัวทำละลายเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ให้ผลตรงกันข้ามโดยที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัย Photchanathip และคณะ (2008) ที่ทำการวิจัยสกัดแกรมมาออริซานอลและวิตามินอีโดยใช้เฮกเซนและเอทานอลเป็นตัวทำละลายพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นมีผลทำให้อัตราการสกัดดีขึ้นเนื่องจากลดความหนืดและเพิ่มการแพร่ของตัวทำละลาย

ตารางที่ 4.5 ปริมาณแกรมมาออริซานอลที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชั้ยนาต่อตัวทำละลาย 1:10 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	ปริมาณแกรมมาออริซานอล (mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	1.5867 ± 0.2716^{cA}	1.6967 ± 0.2100^{bA}
เอทานอล 95%	2.8733 ± 0.3817^{aA}	2.4200 ± 0.2797^{aB}
เอทิลอะซิเตต	2.4133 ± 0.3762^{bA}	2.4767 ± 0.2967^{aA}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.6 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่ไม่วากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นใช้เฮกเซนที่อัตราส่วน 1:8 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสูงสุด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นใช้เอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสูงสุด และเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นใช้เอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสูงสุด หลังจากนั้นเมื่อพิจารณาปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวมากกว่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นใช้เฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสูงสุด และเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นใช้เอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสูงสุด เมื่อสกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นใช้เอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสูงสุด

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.6 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลมากที่สุดในแต่ละตัวทำละลายจากข้อมูลพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95 % ที่อัตราส่วน 1:10 สามารถสกัดได้ปริมาณแกรมมาออริซานอลมากกว่าเฮกเซน และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 40°C สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ปริมาณแกรมมาออริซานอลทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณนาทต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ปริมาณแกรมมาออริซานอล (mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	1.4500 ± 0.2883 ^{aC}	1.8300 ± 0.3800 ^{ab}
	1:8	1.5967 ± 0.2510 ^a	0.9700 ± 0.3057 ^b
	1:10	1.5867 ± 0.2716 ^a	1.6967 ± 0.2033 ^a
เอทานอล 95%	1:6	1.8167 ± 0.2514 ^a	2.0567 ± 0.3078 ^a
	1:8	2.5467 ± 0.3882 ^a	1.7733 ± 0.4081 ^a
	1:10	2.8733 ± 0.3861 ^{aA}	2.4200 ± 0.2810 ^{aA}
เอทิลอะซิเตต	1:6	2.2900 ± 0.3182 ^a	1.9400 ± 0.2554 ^a
	1:8	2.3700 ± 0.2259 ^a	2.1533 ± 0.3659 ^a
	1:10	2.4133 ± 0.3762 ^{ab}	2.4767 ± 0.2967 ^{aA}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.2.2 ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไรต์ดอกขาม

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวไรต์ดอกขาม เมื่ออุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:10 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่ได้ ดังตารางที่ 4.7 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C พบว่าตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าตัวทำละลายเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องจากเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C พบว่าตัวทำละลายเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของปริตวารรณ และคณะ (2013) ที่ได้วิจัยเปรียบเทียบระหว่างการใช้เอทานอล 95% และเฮกเซนเป็นตัวทำละลายในการสกัดแกรมมาออริซานอลจากรำข้าวพันธุ์ กข 6 พบว่าเฮกเซนสามารถสกัดแล้วให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลมากกว่า ซึ่งสาเหตุที่เอทิลอะซิเตตสามารถสกัดได้ดีเนื่องจากมีค่าคงที่ค่าคงที่ไดโพลีทริกต่ำและความหนืดต่ำทำให้ได้ปริมาณน้ำมันมากขึ้น (Ruen-Ngam และคณะ, 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ในช่องทางใดๆ ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.7 ในเรื่องอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้พบว่าตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวมากกว่าตัวทำละลายเฮกเซน และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย Photchanathip และคณะ (2008) ที่ทำการวิจัยสกัดแกรมมาอริซานอลและวิตามินอีโดยใช้เฮกเซนและเอทานอลเป็นตัวทำละลายพบว่าเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นมีผลทำให้อัตราการสกัดดีขึ้นเนื่องจากลดความหนืดของน้ำมันและเพิ่มการแพร่ของตัวทำละลาย ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อุณหภูมิ 40°C และ 30°C ให้ปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.7 ปริมาณแกรมมาอริซานอลที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:10 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	ปริมาณแกรมมาอริซานอล (mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	1.4467±0.2088 ^{CA}	1.6600±0.36460 ^{CA}
เอทานอล 95%	1.9167±0.2782 ^{BB}	4.5133±2.5439 ^{AA}
เอทิลอะซิเตต	2.2400±0.2155 ^{AA}	2.4367±0.1126 ^{BA}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.8 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อสกัดด้วยอุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกรมมาอริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูโรงเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่วารณใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นทุกตัวทำละลายสามารถใช้ที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ปริมาณแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสูงสุด เมื่อพิจารณาการสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าอัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นทุกตัวทำละลายสามารถใช้ที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ปริมาณแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวสูงสุด

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.8 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแกมมาออริซานอลมากที่สุดในแต่ละตัวทำละลาย จากข้อมูลพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:8 สามารถสกัดได้ปริมาณแกมมาออริซานอลมากกว่าเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 40°C สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Reza และ Ashraf (2011) ซึ่งในงานวิจัยได้เปรียบเทียบผลของอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย (เอทานอล) 1:10 1:20 1:40 และ 1:80 (w/v) พบว่าที่อัตราส่วน 1:20 (w/v) ขึ้นไปฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 ปริมาณแกรมมาออริซานอลทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ปริมาณแกรมมาออริซานอล (mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	1.8333 ± 0.2918 ^{ab}	1.7333 ± 0.2747 ^a
	1:8	1.5000 ± 0.2909 ^a	1.8033 ± 0.3187 ^{aC}
	1:10	1.4467 ± 0.2088 ^a	1.6600 ± 0.3646 ^a
เอทานอล 95%	1:6	1.6000 ± 0.3763 ^a	1.5833 ± 0.3263 ^a
	1:8	1.6233 ± 0.3742 ^a	1.7033 ± 0.3020 ^a
	1:10	1.9167 ± 0.2782 ^{ab}	4.5133 ± 2.5439 ^{aA}
เอทิลอะซิเตต	1:6	1.9500 ± 0.2569 ^a	1.8433 ± 0.1927 ^a
	1:8	2.4700 ± 0.4181 ^{aA}	2.3667 ± 0.3531 ^a
	1:10	2.2400 ± 0.2155 ^a	2.4367 ± 0.1126 ^{ab}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแกรมมาออริซานอล ในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแกรมมาออริซานอลใน น้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.3 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้

4.3.1 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:10 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และ เอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ ดังตารางที่ 4.9 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งสาเหตุที่เอทิลอะซิเตตสามารถสกัดได้ดีเนื่องจากมีค่าคงที่ไดโพลีทริกต่ำและความหนืดต่ำทำให้ได้ปริมาณน้ำมันมากขึ้น (Ruen-Ngam และคณะ, 2014) ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C พบว่าเฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของปรีดาวรรณ และคณะ (2013) เนื่องจากเฮกเซนมีความเป็นขั้วต่ำสามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระออกมาได้และมีความสามารถในการละลายน้ำมันรำข้าวได้ดี

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.9 ในเรื่องอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ พบว่าตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิ 40°C เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณไม่วากรณ์ใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวได้สูงที่สุดมากกว่าตัวทำละลายเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ethel และคณะ, (2011) ที่ทำการสกัดน้ำมันจากเมล็ดทานตะวันด้วยเฮกเซนพบว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจะเพิ่มความสามารถในการละลายและการแพร่กระจายของน้ำมันและลดลงความหนืดน้ำมัน เมื่อสกัดด้วยเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตให้ผลตรงกันข้ามโดยที่อุณหภูมิ 30°C เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.9 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชียนาต่อตัวทำละลาย 1:10 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	1.4967±0.518 ^{bb}	4.4233±0.9496 ^{aA}
เอทานอล 95%	0.6733±0.2730 ^{bb}	0.8333±0.2564 ^{bA}
เอทิลอะซิเตต	2.9567±0.6913 ^{aA}	0.8333±0.6009 ^{bb}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรพิมพ์เล็กที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่ต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.10 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าอัตราส่วน 1:6 และ 1:8 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวสูงสุด ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อพิจารณาการสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้สำหรับเอกสารของหน่วยงานเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ในการค้า
ไม่วารณใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด

ผลการศึกษาพบว่าประเภตัวทำละลายดังตารางที่ 4.10 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดในแต่ละตัวทำละลาย จากข้อมูลพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:8 และ เอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:10 สามารถสกัดได้ปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าเฮกเซน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 40°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.10 ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	1.9167 ± 1.1989 ^{ab}	1.4733 ± 0.9867 ^c
	1:8	1.3567 ± 1.0180 ^b	2.9033 ± 2.1535 ^b
	1:10	1.4967 ± 0.8418 ^b	4.4233 ± 0.9496 ^{aA}
เอทานอล 95%	1:6	2.2000 ± 1.0792 ^a	2.7700 ± 2.0053 ^{aB}
	1:8	2.6600 ± 0.8554 ^{aA}	1.6100 ± 0.1137 ^b
	1:10	0.6733 ± 0.2730 ^b	0.8333 ± 0.2564 ^c
เอทิลอะซิเตต	1:6	0.7733 ± 0.2980 ^c	2.0433 ± 0.7671 ^{aB}
	1:8	2.1333 ± 0.9762 ^b	1.9667 ± 0.5406 ^a
	1:10	2.9567 ± 0.6913 ^{aA}	0.8333 ± 0.6010 ^b

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไรต์ดอกขาม

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวไรต์ดอกขาม เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:6 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ดังตารางที่ 4.11 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เฮกเซนเป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของปริตาวรรณ และคณะ (2013) ที่ได้วิจัยเปรียบเทียบระหว่างการใช้เอทานอล 95% และเฮกเซนเป็นตัวทำละลายในการสกัดแกรมมาออริซานอลพบว่าเฮกเซนสามารถสกัดแล้วให้ปริมาณแกรมมาออริซานอลมากกว่า ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C พบว่าเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.11 ในเรื่องอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้พบว่าตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวสูงสุดมากกว่าเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนให้ผลตรงกันข้ามโดยที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ethel และคณะ (2011) ที่ทำการสกัดน้ำมันจากเมล็ดทานตะวันด้วยเฮกเซนพบว่าการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิจะเพิ่มความสามารถในการละลายและการแพร่กระจายของน้ำมันและลดลงความหนืดน้ำมัน

ตารางที่ 4.11 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	4.4267±1.1756 ^{aA}	1.5100±1.4443 ^{bB}
เอทานอล 95%	1.5300±0.7049 ^{bB}	4.0567±2.2998 ^{aA}
เอทิลอะซิเตต	1.7233±0.4709 ^{bB}	2.6433±0.3297 ^{bA}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.12 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด ในขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด และเมื่อพิจารณาเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าอัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับอัตราส่วน 1:8 และ 1:10 ในขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าอัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.11 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ปริมาณแอนโทไซยานินมากที่สุดในแต่ละตัวทำละลาย จากข้อมูลพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ที่อัตราส่วน 1:6 สามารถสกัดได้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 40°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.12 ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไว้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	4.4267 ± 1.1756 ^{aA}	2.1767 ± 1.2351 ^{aB}
	1:8	1.8267 ± 0.7245 ^a	1.6233 ± 1.1193 ^a
	1:10	1.2900 ± 0.6301 ^a	2.1400 ± 0.6590 ^a
เอทานอล 95%	1:6	1.5300 ± 0.7049 ^a	4.0567 ± 2.2998 ^{aA}
	1:8	1.9600 ± 0.7131 ^a	1.8300 ± 1.2134 ^b
	1:10	3.0133 ± 1.4002 ^{aB}	1.2500 ± 0.3819 ^b
เอทิลอะซิเตต	1:6	1.7233 ± 0.4709 ^{aC}	2.6433 ± 0.3297 ^{aB}
	1:8	1.7233 ± 0.2967 ^{aC}	1.4300 ± 0.5672 ^a
	1:10	1.2267 ± 0.5979 ^a	2.1144 ± 0.4931 ^a

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าว

4.4.1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวหอมมะลิชัยนาท

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:6 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าว

ที่สกัดได้ ดังตารางที่ 4.13 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต อย่างมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้ภายในงานวิจัยเท่านั้น ไม่ควรนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์อื่นใดโดยไม่ได้รับความเห็นชอบจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C พบว่าเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สาเหตุที่เอทานอลสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดได้มากที่สุดเนื่องจากคุณสมบัติของการมีขั้วและในการสกัดฟีนอลิกโดยใช้ความเข้มข้นของเอทานอลที่สูงจะให้ค่าผลได้ของฟีนอลิกสูงกว่าและผลการทดลองยังสอดคล้องกับการทดลองของ Tabaraki และคณะ (2011) ที่พบว่าเอทานอลสกัดได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าเอทิลอะซิเตตและเฮกเซน

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.13 ในเรื่องอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้พบว่าตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวได้สูงที่สุดมากกว่าตัวทำละลายเฮกเซน และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เนื่องจากอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hu และคณะ, 1996 และ Xu และ Godber, 2000) ในขณะที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตให้ผลตรงกันข้ามโดยที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.13 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาต่อตัวทำละลาย 1:6 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	ปริมาณฟีนอลิก(mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	4.7600 ± 0.5714^{bB}	10.8333 ± 0.4068^{bA}
เอทานอล 95%	16.5433 ± 0.9968^{aB}	17.1767 ± 1.1100^{aA}
เอทิลอะซิเตต	4.4700 ± 0.3535^{bA}	3.8633 ± 0.2281^{cB}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.14 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด และเมื่อพิจารณาการสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.14 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดในแต่ละตัวทำละลาย จากข้อมูลพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 สามารถสกัดได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 40°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ปริมาณฟีนอลิก(mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	4.7600 ± 0.5714 ^{ab}	10.8333 ± 0.4068 ^{ab}
	1:8	4.5567 ± 0.2198 ^a	2.7167 ± 0.3762 ^c
	1:10	4.5700 ± 0.1229 ^a	5.6367 ± 0.6730 ^b
เอทานอล 95%	1:6	16.5433 ± 0.9968 ^{aA}	17.1767 ± 1.1099 ^{aA}
	1:8	10.2467 ± 2.2796 ^b	8.6567 ± 0.6279 ^b
	1:10	3.6533 ± 0.2916 ^c	6.6400 ± 0.7061 ^b
เอทิลอะซิเตต	1:6	4.7400 ± 0.3535 ^{ab}	3.8633 ± 0.2281 ^b
	1:8	3.4600 ± 0.1825 ^a	3.1833 ± 0.2338 ^b
	1:10	4.2211 ± 0.3342 ^a	9.1533 ± 0.3922 ^{aC}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไร้ดอกขาม

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวไร้ดอกขาม เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:6 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ ดังตารางที่ 4.15 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เฮกเซน เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของของ Tabaraki และคณะ (2011) ที่ว่าการใช้ความเข้มข้นของเอทานอลที่สูงจะให้ค่าผลได้ของฟีนอลิกสูงกว่าการใช้เฮกเซนและเอทิลอะซิเตตในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C พบว่าเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.15 ในเรื่องอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้พบว่าตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวสูงสุดมากกว่าการสกัดด้วยเอทานอล และเอทิลอะซิเตต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อวัตถุประสงค์ทางวิชาการเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยที่ว่าอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่าง และเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hu และคณะ, 1996 และ Xu และ Godber, 2000) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ให้ผลตรงกันข้ามโดยที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.15 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	ปริมาณฟีนอลิก(mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	28.7433±2.7014 ^{aA}	7.3667±0.8913 ^{cB}
เอทานอล 95%	5.9867±0.1738 ^{cB}	20.3933±1.4214 ^{aA}
เอทิลอะซิเตต	22.2967±0.7106 ^{bA}	12.8500±0.1552 ^{bB}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.16 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าอัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาการสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวสูงสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับครูอาจารย์ในการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่วารณใด ๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวสูงสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าอัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นทุกตัวทำละลายที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุด

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.16 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดในแต่ละตัวทำละลาย จากข้อมูลพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 สามารถสกัดได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 40°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.16 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ปริมาณฟีนอลิก(mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	28.7433 ± 2.7014 ^{aA}	7.3667 ± 0.8913 ^{aC}
	1:8	23.4833 ± 2.2171 ^b	5.5633 ± 0.5968 ^a
	1:10	17.2833 ± 0.4543 ^c	3.1300 ± 0.3808 ^b
เอทานอล 95%	1:6	5.9867 ± 0.1738 ^b	20.3933 ± 1.4214 ^{aA}
	1:8	26.4433 ± 1.4510 ^{aB}	11.0867 ± 1.1133 ^b
	1:10	4.6533 ± 0.5012 ^b	18.2433 ± 0.1184 ^a
เอทิลอะซิเตต	1:6	22.2967 ± 0.7106 ^{aC}	12.8500 ± 0.1552 ^a
	1:8	12.2900 ± 1.0482 ^b	12.7333 ± 0.2455 ^a
	1:10	3.2933 ± 0.2926 ^c	13.3233 ± 0.4696 ^{aB}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าว

4.5.1 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวหอมมะลิชัยนาท

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:8 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และ เอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ ดังตารางที่ 4.17 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เอทิลอะซิเตต เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเอทานอล 95% และ เฮกเซนอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยผลของการทดลองนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของวีรยุทธ (2014) ซึ่งได้ทำงานวิจัยโดยเปรียบเทียบผลของตัวทำละลายอินทรีย์ 6 ชนิดในการสกัดสารจากรำข้าว 3 ชนิด และทำการวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดซึ่งพบว่าเอทานอลให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าเอทิลอะซิเตตทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดโดยทั่วไปลดลงเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความเป็น hydrophobic (ไม่มีขั้ว) ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C พบว่าเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณารางที่ 4.17 ในเรื่องอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้พบว่าตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวสูงที่สุดมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เนื่องจากอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hu และคณะ, 1996 และ Xu และ Godber, 2000) ในขณะที่การสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตให้ผลตรงกันข้ามโดยที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.17 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัชนาทต่อตัวทำละลาย 1:8 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	8.2267±0.6158 ^{bB}	9.0000±1.5856 ^{cA}
เอทานอล 95%	13.3633±1.6139 ^{aB}	16.2300±2.3333 ^{aA}
เอทิลอะซิเตต	13.3133±0.5761 ^{aA}	10.4600±0.3821 ^{bB}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.18 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด และเมื่อสกัดด้วยอุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวเพื่อให้ได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด เมื่อพิจารณาการสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวสูงสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวเพื่อให้ได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุด และเมื่อสกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.18 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุดในแต่ละตัวทำละลาย จากข้อมูลพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:10 สามารถสกัดได้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 40°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.18 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชียนาต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	11.5000 ± 0.3550 ^b	15.2367 ± 0.6622 ^a
	1:8	8.2267 ± 0.6158 ^b	9.0000 ± 1.5856 ^b
	1:10	15.5133 ± 1.7012 ^{aB}	16.7800 ± 1.8504 ^{aB}
เอทานอล 95%	1:6	15.7033 ± 1.1780 ^a	18.7167 ± 2.7418 ^{aA}
	1:8	13.3633 ± 1.6139 ^a	16.3300 ± 2.3333 ^a
	1:10	18.7100 ± 2.6734 ^{aA}	16.3433 ± 0.9078 ^a
เอทิลอะซิเตต	1:6	12.5700 ± 1.3342 ^a	14.9167 ± 0.5755 ^{aC}
	1:8	13.3133 ± 0.5761 ^{aC}	10.4600 ± 0.3821 ^b
	1:10	11.4067 ± 0.6076 ^a	11.7633 ± 0.9688 ^b

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณสารประกอบ ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.5.2 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไร้ดอกขาม

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวไร้ดอกขาม เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:8 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้

ดังตารางที่ 4.19 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณไม่ต่ำกว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเอทิลอะซิเตต และเฮกเซน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับงานวิจัยของวีรยุทธและจิรศักดิ์ (2556) ซึ่งได้ทำงานวิจัยโดยเปรียบเทียบผลของตัวทำละลายอินทรีย์ 6 ชนิดในการสกัดสารจากรำข้าว 3 ชนิด และทำการวิเคราะห์สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดซึ่งพบว่าเอทานอลให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าเอทิลอะซิเตต ทั้งนี้เนื่องจากปริมาณของสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารสกัดโดยทั่วไปลดลงเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายที่มีความเป็น hydrophobic (ไม่มีขี้) ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C พบว่าเอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำมันรำข้าวได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.19 ในเรื่องอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ พบว่าตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยที่ว่าอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hu และคณะ, 1996 และ Xu และ Godber, 2000) ในขณะที่การสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตให้ผลเช่นเดียวกันโดยที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.19 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:8 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	18.0700 \pm 2.8823 ^{bA}	17.7433 \pm 0.7795 ^{bB}
เอทานอล 95%	32.8067 \pm 2.0852 ^{aA}	26.4633 \pm 2.2308 ^{aB}
เอทิลอะซิเตต	18.5100 \pm 0.1836 ^{bA}	11.5367 \pm 0.8013 ^{bB}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.20 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่การสกัดอุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวสูงสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวเพื่อให้ได้สารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุด และเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าอัตราส่วน 1:6, 1:8 และ 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวเพื่อให้ได้สารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุด ในขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.20 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงสุดในแต่ละตัวทำละลาย จากข้อมูลพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:8 สามารถสกัดได้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ในน้ำมันรำข้าวที่ได้จากเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตไม่แตกต่างกัน ในขณะที่อุณหภูมิ 40°C การสกัดด้วยเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:8 และเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 4.20 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ปริมาณฟลาโวนอยด์ (mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	26.0133 ± 1.6075 ^{aC}	26.6933 ± 2.2131 ^{AA}
	1:8	18.0700 ± 2.8823 ^b	21.0767 ± 2.9731 ^a
	1:10	17.7667 ± 1.3619 ^b	18.8033 ± 1.9634 ^a
เอทานอล 95%	1:6	17.0000 ± 2.1328 ^b	24.0300 ± 1.7356 ^a
	1:8	32.8067 ± 3.6116 ^{AA}	26.4633 ± 2.3083 ^{AA}
	1:10	19.7267 ± 2.5907 ^b	26.2333 ± 2.1948 ^a
เอทิลอะซิเตต	1:6	28.1100 ± 2.2111 ^{ab}	16.3733 ± 1.0891 ^{ab}
	1:8	18.5100 ± 0.1836 ^b	11.5367 ± 0.8013 ^b
	1:10	21.4611 ± 1.8610 ^b	10.9500 ± 1.0073 ^b

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.6 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

4.6.1 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ในน้ำมันรำข้าวหอมมะลิชัยนาท

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:8 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ดังตารางที่ 4.21 พบว่าที่อุณหภูมิ 30°C เอทิลอะซิเตต ให้ค่า IC_{50} ของน้ำมันรำข้าวได้น้อยกว่าเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายที่ให้ค่า IC_{50} ของน้ำมันรำข้าวได้น้อยกว่าเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากผลงานวิจัยของวีรยุทธและคณะ (2014) ที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และ ทดสอบฤทธิ์ด้วย DPPH พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเอทิลอะซิเตต และเฮกเซน โดยให้ค่าการต้าน อนุมูลอิสระของ DPPH เป็น 2427.79 mg/l , 2593.57 mg/l และ 2818.24 mg/l ตามลำดับ เนื่องจากเอทานอลสกัดได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าเอทิลอะซิเตตและเฮกเซนจึงทำให้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า

เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระดังตารางที่ 4.21 พบว่าเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตที่อุณหภูมิ 40°C ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางไม่วารณิใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดเฮกเซนพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ค่า IC_{50} อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน ดังนั้นที่อุณหภูมิ 40°C และ 30°C พบว่าเอทิลอะซิเตตสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดเหมือนกัน ในขณะที่การสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อุณหภูมิ 40°C ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยที่ว่าอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่าน การสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hu และ คณะ, 1996 และ Xu และ Godber, 2000)

ตารางที่ 4.21 ค่า IC_{50} ของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชียนาทต่อตัวทำละลาย 1:10 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

ตัวทำละลาย	ค่า IC_{50} (mg/ml)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	4.6233±0.0952 ^{bB}	4.2067±0.3084 ^{cA}
เอทานอล 95%	4.8333±0.0736 ^{bB}	3.7700±0.0529 ^{bA}
เอทิลอะซิเตต	4.0967±0.0348 ^{aB}	3.0867±0.1135 ^{aA}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.22 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดและได้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าอัตราส่วน 1:8 ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่สกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:8 เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันเพื่อให้ได้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุด และเมื่อพิจารณาเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าอัตราส่วน 1:8 ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมัน

รำข้าวต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าอัตราส่วน 1:8 ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าอัตราส่วน 1:10 ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.22 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดในแต่ละตัวทำละลาย จากข้อมูลพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:8 สามารถสกัดได้ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 40°C การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อัตราส่วน 1:8 ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำกว่าการสกัดน้ำมันรำข้าวด้วยเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นการสกัดด้วยเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระได้

ตารางที่ 4.22 ค่า IC_{50} ของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชัณษาต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ค่า IC_{50} (mg/ml)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	3.5967 ± 0.0899 ^a	4.6033 ± 0.0731 ^c
	1:8	3.3700 ± 0.0404 ^{ab}	3.5200 ± 0.0305 ^{ab}
	1:10	4.6233 ± 0.0953 ^b	4.5400 ± 0.0265 ^b
เอทานอล 95%	1:6	3.2833 ± 0.0498 ^b	3.9567 ± 0.1507 ^b
	1:8	2.7000 ± 0.0862 ^{aA}	2.3867 ± 0.0203 ^{aA}
	1:10	4.0967 ± 0.0348 ^c	3.0333 ± 0.0549 ^b
เอทิลอะซิเตต	1:6	5.1733 ± 0.0426 ^c	4.6533 ± 0.0376 ^b
	1:8	4.5433 ± 0.0667 ^{aC}	4.6800 ± 0.0458 ^b
	1:10	4.8500 ± 0.0962 ^a	3.7700 ± 0.0529 ^{ab}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้โดยอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.2 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay ในน้ำมันรำข้าวไรต์ดอกขาม

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวไรต์ดอกขาม เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:8 โดยใช้ตัวทำละลายเป็น เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีผลต่อค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ ดังตารางที่ 4.23 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เอทิลอะซิเตต เป็นตัวทำละลายที่ให้ค่า IC_{50} ของน้ำมันรำข้าวได้น้อยกว่าเฮกเซน และเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C เอทิลอะซิเตต เป็นตัวทำละลายที่ให้ค่า IC_{50} ของน้ำมันรำข้าวได้น้อยกว่าเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน ซึ่งแตกต่างจากผลงานวิจัยของวีรยุทธและคณะ (2014) ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และ ทดสอบฤทธิ์ด้วย DPPH พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเอทิลอะซิเตต และเฮกเซน โดยให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH เป็น 2427.79 mg/l , 2593.57 mg/l และ 2818.24 mg/l ตามลำดับ เนื่องจากเอทานอลสกัดได้ปริมาณสารฟีนอลิกสูงกว่าเอทิลอะซิเตตและเฮกเซนจึงทำให้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่า ดังนั้นเอทิลอะซิเตตสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าตัวทำละลายอื่นๆ

เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระดังตารางที่ 4.23 พบว่าตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตที่อุณหภูมิ 40°C ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดไม่แตกต่างกันมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับที่อุณหภูมิ 30° เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ค่า IC_{50} ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซนที่อุณหภูมิ 30°C ให้ค่า IC_{50} ในน้ำมันรำข้าวต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังนั้น ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ว่าอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hu และคณะ, 1996 และ Xu และ Godber, 2000)

ตารางที่ 4.23 ค่า IC₅₀ ของน้ำมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขาม ต่อตัวทำละลาย 1:8 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

ตัวทำละลาย	ค่า IC ₅₀ (mg/ml)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	3.4500±0.1473 ^{bA}	4.1567±0.1184 ^{bB}
เอทานอล 95%	5.5267±0.0784 ^{cA}	5.1300±0.2321 ^{cB}
เอทิลอะซิเตต	2.5167±0.1500 ^{aA}	2.4967±0.0491 ^{aA}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของค่า IC₅₀ จากน้ำมันที่สกัดได้จากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของค่า IC₅₀ จากน้ำมันที่สกัดได้จากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.24 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:8 ให้ค่า IC₅₀ ในน้ำมันรำข้าวต่ำกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าอัตราส่วน 1:8 ให้ค่า IC₅₀ ในน้ำมันรำข้าวต่ำกว่าอัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ค่า IC₅₀ ในน้ำมันรำข้าวต่ำกว่าอัตราส่วน 1:6 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อพิจารณาเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 ให้ค่า IC₅₀ ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเฮกเซนที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวเพื่อให้ได้ค่า IC₅₀ ต่ำที่สุด เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ค่า IC₅₀ ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 ให้ค่า IC₅₀ ในน้ำมันรำข้าวต่ำสุดอย่างมีความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:6 ก็เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวเพื่อให้ได้ค่า IC₅₀ ต่ำที่สุด

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.24 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ค่า IC₅₀ ต่ำสุดในน้ำมันรำข้าวมากที่สุดพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทานอล 95 % ที่อัตราส่วน 1:10 สามารถสกัดแล้วให้ค่า IC₅₀ ต่ำกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิ 40°C สกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:10 ให้ IC₅₀ ต่ำที่กว่าการสกัดด้วยเฮกเซน และเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้อง

กับงานวิจัยของ Reza และ Ashraf (2011) ซึ่งในงานวิจัยได้เปรียบเทียบผลของอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย (เอทานอล) 1:10 1:20 1:40 และ 1:80 (w/v) พบว่าที่อัตราส่วน 1:20 (w/v) ขึ้นไปฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลง ดังนั้นอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายที่ 1:10 สามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าที่อัตราส่วนอื่นๆ

ตารางที่ 4.24 ค่า IC₅₀ ของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ค่า IC ₅₀ (mg/ml)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	3.6200 ± 0.1002 ^b	4.2367 ± 0.0968 ^a
	1:8	3.4500 ± 0.1473 ^{aB}	4.1567 ± 0.1184 ^{aB}
	1:10	3.9267 ± 0.0333 ^b	4.5367 ± 0.1167 ^a
เอทานอล 95%	1:6	3.5300 ± 0.0721 ^b	4.2267 ± 0.0536 ^c
	1:8	2.5167 ± 0.1499 ^{aA}	2.4967 ± 0.0491 ^b
	1:10	3.2244 ± 0.1872 ^b	2.3933 ± 0.0742 ^{aA}
เอทิลอะซิเตต	1:6	6.2800 ± 0.0702 ^c	4.7467 ± 0.1770 ^a
	1:8	5.5267 ± 0.0784 ^b	5.1300 ± 0.2303 ^b
	1:10	4.3667 ± 0.2067 ^{aB}	4.4067 ± 0.1353 ^{aB}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างกันของค่า IC₅₀ ในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างกันของค่า IC₅₀ ในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.7 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay

4.7.1 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ในน้ำมันรำข้าวหอมมะลิชัยนาท

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวหอม เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:6 ที่ตัวทำละลาย เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ดังตารางที่ 4.25 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เอทิลอะซิเตต ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้มากกว่าเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C เอทิลอะซิเตตให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้มากกว่าเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าตัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับใช้เฉพาะในการศึกษาเท่านั้น ไม่ควรนำข้อมูลไปใช้ประโยชน์อื่นใด การนำข้อมูลไปใช้โดยไม่ได้รับความเห็นชอบจากเจ้าของเอกสารถือว่าผิดกฎหมาย

ทำละลายอื่นๆซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของวีรยุทธและคณะ (2014) ที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และ ทดสอบฤทธิ์ด้วย DPPH พบว่าการสกัดด้วยเอทานอลให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าเอทิลอะซิเตต และเฮกเซน โดยให้ค่าการต้าน อนุมูลอิสระของ DPPH เป็น 2427.79 mg/l ,2593.57 mg/l และ 2818.24 mg/l ตามลำดับ เนื่องจากเอทานอลสกัดได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าเอทิลอะซิเตตและเฮกเซนจึงทำให้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C เอทิลอะซิเตตและเฮกเซน เป็นตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) สาเหตุที่เอทิลอะซิเตตสามารถสกัดได้ดีเนื่องจากมีค่าคงที่ค่าคงที่ไดโพลทริกต่ำและความหนืดต่ำทำให้ได้ปริมาณน้ำมันมากขึ้น (Ruen-Ngam และคณะ, 2014)

เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระดังตารางที่ 4.25 พบว่าเมื่อสกัดด้วยละลายเฮกเซนพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน โดยเอทิลอะซิเตตที่อุณหภูมิ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตที่อุณหภูมิ 40°C สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระดีกว่าที่ 30°C ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ว่าอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hu และคณะ, 1996 และ Xu และ Godber, 2000)

ตารางที่ 4.25 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิต่อตัวทำละลาย 1:6 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay

ตัวทำละลาย	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	2.8667±0.0491 ^{bB}	11.1433±0.2875 ^{aA}
เอทานอล 95%	4.9933±0.2392 ^{bB}	7.4733±0.0867 ^{bA}
เอทิลอะซิเตต	6.9633±0.0897 ^{aB}	11.5867±0.3123 ^{aA}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สงวนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
ไม่มีการผิดใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.26 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าอัตราส่วน 1:8 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:8 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อพิจารณาเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.26 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวมากที่สุด จากข้อมูลพบว่าสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:8 สามารถสกัดน้ำมันแล้วให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ 40°C สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน อัตราส่วน 1:6 และเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวอย่างไม่มี ความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Reza และ Ashraf (2011) ซึ่งในงานวิจัยได้เปรียบเทียบผลของอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย (เอทานอล) 1:10 1:20 1:40 และ 1:80 (w/v) พบว่าที่อัตราส่วน 1:20 (w/v) ขึ้นไปฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ได้มีค่าลดลง

ตารางที่ 4.26 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชยันตต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	2.8668 ± 0.049 ^c	11.4767 ± 0.1983 ^{aA}
	1:8	4.4200 ± 0.5910 ^b	6.1800 ± 0.0360 ^b
	1:10	5.8633 ± 0.1898 ^{aC}	3.4733 ± 0.1386 ^c
เอทานอล 95%	1:6	4.9933 ± 0.2392 ^b	7.4733 ± 0.0867 ^{aB}
	1:8	8.3568 ± 0.1889 ^{ab}	4.1833 ± 0.0622 ^b
	1:10	5.5767 ± 0.0410 ^b	7.0667 ± 0.1477 ^c
เอทิลอะซิเตต	1:6	6.9633 ± 0.0897 ^b	11.5867 ± 0.3123 ^{aA}
	1:8	9.6500 ± 0.4424 ^{aA}	3.6267 ± 0.0837 ^c
	1:10	6.6733 ± 0.1820 ^b	7.9000 ± 0.2030 ^b

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.7.2 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ในน้ำมันรำข้าวไรดดอกขาม

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวไรดดอกขาม เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:6 ที่ตัวทำละลาย เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือที่อุณหภูมิ 30°C เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้มากกว่าเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตและเอทานอลสามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าเฮกเซน ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของปริตดาวรรณ และคณะ (2013) ที่ทำการสกัดวิตามินอีและแกมมาออริซานอลซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวพันธุ์ กข 6 พบว่าเฮกเซนมีความเป็นขั้วต่ำสามารถวิตามินอีและแกมมาออริซานอลได้ดีกว่าเอทานอล

เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระดังตารางที่ 4.27 พบว่าเมื่อสกัดด้วยเฮกเซนพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างไม่ต่างกันใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยเอทิลอะซิเตตที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 40°C สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าที่อุณหภูมิ 30°C สอดคล้องกับงานงานวิจัยที่ว่าอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hu และคณะ, 1996 และ Xu และ Godber, 2000)

ตารางที่ 4.27 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามตัวทำละลาย 1:6 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay

ตัวทำละลาย	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	13.9567±0.6037 ^{bA}	10.5300±0.2858 ^{bB}
เอทานอล 95%	11.1333±0.4467 ^{bB}	22.9167±0.9248 ^{aA}
เอทิลอะซิเตต	17.7833±1.1986 ^{aA}	14.8800±0.2316 ^{bB}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.28 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:8 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่สกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวสูงสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตตที่อัตราส่วน 1:6 เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด และเมื่อพิจารณาเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์

ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.28 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวพบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าการสกัดด้วยเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ 40°C สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าส่นสกัดเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ที่อัตราส่วน 1:6 สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าอัตราส่วนอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Reza และ Ashraf (2011) ซึ่งในงานวิจัยได้เปรียบเทียบผลของอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย (เอทานอล) 1:10 1:20 1:40 และ 1:80 (w/v) พบว่าที่อัตราส่วน 1:20 (w/v) ขึ้นไปฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ได้มีค่าลดลง

ตารางที่ 4.28 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	13.9567 ± 0.6037 ^{ab}	10.5300 ± 0.2853 ^{ac}
	1:8	6.7633 ± 0.2892 ^b	7.3467 ± 0.4919 ^b
	1:10	5.7067 ± 0.1224 ^b	6.5300 ± 0.1845 ^b
เอทานอล 95%	1:6	11.1333 ± 0.4467 ^b	22.9167 ± 0.9248 ^{aA}
	1:8	12.5767 ± 0.2038 ^{ac}	19.6633 ± 0.6073 ^b
	1:10	3.0600 ± 0.0416 ^c	12.1967 ± 0.2770 ^c
เอทิลอะซิเตต	1:6	16.4500 ± 2.2874 ^{aA}	14.8800 ± 0.2316 ^{ab}
	1:8	11.5133 ± 0.4128 ^b	12.5633 ± 0.5044 ^b
	1:10	15.0633 ± 0.4128 ^{ab}	6.4633 ± 0.1770 ^c

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay

4.8.1 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay ในน้ำมันรำข้าวหอมมะลิ

ชัณนาท

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวหอมมะลิชัณนาท เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:6 โดยใช้ตัวทำละลาย เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ ดังตารางที่ 4.29 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C เอทานอล 95% เป็นตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้มากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ดังนั้นเอทานอล 95% สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าตัวทำละลายอื่นซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของปริตาวรรณ และคณะ (2013) ที่ทำการสกัดวิตามินอีและแกมมาออริซานอลซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวพันธุ์ กข 6 พบว่าเฮกเซนมีความเป็นขั้วต่ำสามารถสกัดวิตามินอีและแกมมาออริซานอลได้ดีกว่าเอทานอล ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยสารสกัดที่สกัดจากเฮกเซนจะได้ฤทธิ์ดีกว่า

เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระดังตารางที่ 4.29 พบว่าเมื่อสกัดด้วยเฮกเซนพบว่า 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 30°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) .ในขณะที่การสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% ที่อุณหภูมิ 30°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยที่ว่าอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hu และคณะ, 1996 และ Xu และ Godber, 2000)

ตารางที่ 4.29 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชียนาหตัวทำละลาย 1:6 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay

ตัวทำละลาย	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	1.5700±0.0551 ^{bA}	1.2267±0.0328 ^{bB}
เอทานอล 95%	2.8767±0.1291 ^{aA}	1.8467±0.1020 ^{aB}
เอทิลอะซิเตต	1.5833±0.0962 ^{bA}	1.1600±0.0153 ^{bA}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดได้จากอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวนอนแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.30 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:8 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวสูงสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าอัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทิลอะซิเตตพบว่าอัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าอัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และเมื่อพิจารณาการสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าอัตราส่วน 1:8 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าอัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% พบว่าอัตราส่วน 1:8 และ 1:10 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวสูงสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:8 เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C และเมื่อสกัดด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าอัตราส่วน 1:6 และ 1:10 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวสูงสุดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:8 เพียงพอต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวให้ได้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.26 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวมากที่สุดในแต่ละตัวทำละลายพบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากที่สุด อย่างไรก็ตามมีข้อสังเกตว่าเมื่อใช้เอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ผลดีที่สุดในการสกัดน้ำมันรำข้าว แต่เมื่อใช้เอทานอล 95% อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 ให้ผลดีที่สุดในการสกัดน้ำมันรำข้าว

น้ำมันรำข้าวมากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่ 40°C สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าเฮกเซนและเอทิลอะซิเตตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังนั้นเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 สามารถสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าอัตราส่วนอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Reza และ Ashraf (2011) ซึ่งในงานวิจัยได้เปรียบเทียบผลของอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย (เอทานอล) 1:10 1:20 1:40 และ 1:80 (w/v) พบว่าที่อัตราส่วน 1:20 (w/v) ขึ้นไปฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ได้มีค่าลดลง

ตารางที่ 4.30 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวหอมมะลิชียนาต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	1.5700 ± 0.0551^a	1.2267 ± 0.0328^b
	1:8	1.5900 ± 0.0551^a	1.4867 ± 0.0449^{ab}
	1:10	1.6633 ± 0.0328^{ab}	0.5000 ± 0.0153^c
เอทานอล 95%	1:6	2.8767 ± 0.1291^{aA}	1.8467 ± 0.1020^{aA}
	1:8	2.1033 ± 0.0410^b	1.6900 ± 0.0458^a
	1:10	1.1033 ± 0.0234^c	1.7767 ± 0.0536^a
เอทิลอะซิเตต	1:6	1.5833 ± 0.0962^{ab}	1.1600 ± 0.0159^{ac}
	1:8	1.1600 ± 0.0379^b	0.6567 ± 0.0234^b
	1:10	0.7367 ± 0.0219^c	1.1167 ± 0.0120^a

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.8.2 ผลการวิเคราะห์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay ในน้ำมันรำข้าวไรต์ดอกขาม

จากการทดลองสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวไรต์ดอกขาม เมื่อพิจารณาอุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C และ 40°C ที่อัตราส่วน 1:6 ที่ตัวทำละลาย เฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต แสดงผลของตัวทำละลายที่มีต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ ดังตารางที่ 4.31 พบว่าที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 30°C เอทิลอะซิเตต เป็นตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้มากกว่าเฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อใช้ในการศึกษาเท่านั้น ไม่สามารถนำไปใช้ประโยชน์อื่นใดได้โดยไม่ได้รับความเห็นชอบจากเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในขณะที่อุณหภูมิในการสกัดคือ 40°C เอทิลอะซิเตตเป็นตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้เฮกเซนและเอทานอล 95% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของปรีดาวรรณ และคณะ (2013) ที่ได้วิจัยเปรียบเทียบระหว่างการใช้เอทานอลและเฮกเซนเป็นตัวทำละลายในการสกัดวิตามินอีและแกมมาออริซานอลจากรำข้าวพันธุ์ กข 6 ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระพบว่าเฮกเซนสามารถสกัดแล้วให้ปริมาณแกมมาออริซานอลมากกว่า ดังนั้นเมื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สกัดด้วยเฮกเซนจะได้ฤทธิ์ดีกว่า

เมื่อพิจารณาผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระดังตารางที่ 4.31 พบว่าเมื่อสกัดด้วยเอทิลอะซิเตต อุณหภูมิ 30°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้สูงสุด ขณะที่สกัดด้วยเฮกเซนที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่สกัดด้วยเอทานอล 95% พบว่าที่อุณหภูมิ 30°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 40°C อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งแตกต่างกับงานวิจัยที่ว่าอุณหภูมิจะช่วยในการคลายโครงสร้างของเมทริกซ์ในตัวอย่างและเพิ่มความคล่องตัวในการซึมผ่านการสกัดทำให้การสกัดมีประสิทธิภาพมากขึ้น (Hu และ คณะ, 1996 และ Xu และ Godber, 2000)

ตารางที่ 4.31 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดได้ด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามตัวทำละลาย 1:6 (w/v) ที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay

ตัวทำละลาย	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(mg QE/g DW)	
	30°C	40°C
เฮกเซน	4.4167±0.1770 ^{bB}	4.8833±0.1684 ^{bA}
เอทานอล 95%	4.4533±0.2179 ^{bA}	1.4500±0.0721 ^{cB}
เอทิลอะซิเตต	5.5933±0.3832 ^{aA}	5.1366±0.0377 ^{aA}

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

A,B ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

เมื่อพิจารณาอัตราส่วนของรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) ที่มีผลต่อการสกัดน้ำมันรำข้าวที่อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ที่ตัวทำละลายเป็นเฮกเซน เอทานอล 95% และเอทิลอะซิเตต ได้ผลดังตารางที่ 4.32 พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่ไม่สามารถใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งยังมีให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 30°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อพิจารณาเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเฮกเซนพบว่าที่อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 95% พบว่าที่อัตราส่วน 1:10 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:6 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตพบว่าอัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากกว่าที่อัตราส่วน 1:8 และ 1:10 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เช่นกัน

ผลการศึกษาพบว่าประเภทตัวทำละลายดังตารางที่ 4.32 พิจารณาจากอัตราส่วนรำข้าวและตัวทำละลายที่ให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวมากที่สุด พบว่าเมื่อสกัดที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในขณะที่ 40°C สกัดด้วยเฮกเซน อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Reza และ Ashraf (2011) ซึ่งในงานวิจัยได้เปรียบเทียบผลของอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย (เอทานอล) 1:10 1:20 1:40 และ 1:80 (w/v) พบว่าที่อัตราส่วน 1:20 (w/v) ขึ้นไปฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่ได้มีค่าลดลง

ตารางที่ 4.32 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในอัตราส่วนรำข้าวไร้ดอกขามต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8, 1:10 (w/v) อุณหภูมิ 30°C และ 40°C ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay

ตัวทำละลาย	อัตราส่วน	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ(mg QE/g DW)	
		30°C	40°C
เฮกเซน	1:6	4.4167 ± 0.1770 ^{ab}	4.8833 ± 0.1684 ^{aA}
	1:8	3.4567 ± 0.1717 ^b	4.0767 ± 0.1749 ^b
	1:10	2.8000 ± 0.2000 ^c	3.2300 ± 0.0777 ^c
เอทานอล 95%	1:6	4.4533 ± 0.2179 ^{ab}	1.4500 ± 0.0721 ^c
	1:8	3.9767 ± 0.0845 ^b	2.6133 ± 0.0524 ^b
	1:10	2.2367 ± 0.0088 ^c	3.3800 ± 0.1212 ^{ab}
เอทิลอะซิเตต	1:6	5.5933 ± 0.3832 ^{aA}	3.1300 ± 0.0379 ^{ab}
	1:8	4.1167 ± 0.1291 ^b	2.9600 ± 0.1250 ^b
	1:10	2.8467 ± 0.0418 ^c	2.5267 ± 0.0706 ^b

หมายเหตุ a,b ตัวอักษรที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

A,B ตัวอักษรพิมพ์ใหญ่ที่แตกต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างกันของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

4.9 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าว 2 ประเภท

4.9.1 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท

จากตารางที่ 4.33 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว 2 ประเภท โดยเลือกจากสภาวะที่สกัดแล้วได้ผลที่ดีที่สุด พบว่าปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากข้าวหอมมะลิชียนาที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเฮกเซน อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.8240 ± 0.0088 g ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.6778 ± 0.0139 g และพบว่าปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากข้าวไร้ดอกขามที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.7206 ± 0.0120 g ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 0.6701 ± 0.0144 g ซึ่งน้ำมันรำข้าวที่ได้จาก 2 ประเภทพบว่าได้ปริมาณใกล้เคียงกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.9.2 เปรียบเทียบปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท

จากตารางที่ 4.33 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว 2 ประเภทโดยเลือกจากสถานะที่สกัดแล้วได้ผลที่ดีที่สุด พบว่าปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากข้าวหอมมะลิชัยนาทที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 2.8733 ± 0.3861 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 2.4767 ± 0.2967 mg QE/g DW และปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 2.4700 ± 0.4181 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 4.5133 ± 2.5439 mg QE/g DW ดังนั้นปริมาณแกรมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามมากกว่าที่สกัดได้จากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท

4.9.3 เปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท

จากตารางที่ 4.33 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว 2 ประเภทโดยเลือกจากสถานะที่สกัดแล้วได้ผลที่ดีที่สุด พบว่าปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากข้าวหอมมะลิชัยนาทที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 2.9567 ± 0.6913 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเฮกเซน อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 4.4233 ± 0.9496 mg QE/g DW และปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเฮกเซน อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณแอนโทไซยานินเท่ากับ 4.4267 ± 1.1756 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 4.0567 ± 2.2998 mg QE/g DW ดังนั้นปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามมากกว่าที่สกัดได้จากหอมมะลิชัยนาท

4.9.4 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันที่ได้จากรำข้าว 2 ประเภท

จากตารางที่ 4.33 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว 2 ประเภทโดยเลือกจากสถานะที่สกัดแล้วได้ผลที่ดีที่สุด พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากข้าวหอมมะลิชัยนาทที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 16.5433 ± 0.9968 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 17.1767 ± 1.1099 mg QE/g DW และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเฮกเซน อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 28.7433 ± 2.7014 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 20.3933 ± 0.0088 mg QE/g DW ดังนั้นปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามมากกว่าที่สกัดได้จากหอมมะลิชั้ยนาท

4.9.5 เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันที่สกัดได้จากรำข้าว 2 ประเภท

จากตารางที่ 4.33 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว 2 ประเภทโดยเลือกจากสภาวะที่สกัดแล้วได้ผลที่ดีที่สุด พบว่าปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากข้าวหอมมะลิชั้ยนาทที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 18.7100 ± 2.6734 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์เท่ากับ 18.7167 ± 2.7418 mg QE/g DW และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:8 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 32.8067 ± 3.6116 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 26.6933 ± 2.2131 mg QE/g DW ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามมากกว่าที่สกัดได้จากหอมมะลิชั้ยนาท

4.9.6 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH assay ในน้ำมันที่สกัดได้จากรำข้าว

2 ประเภท

จากตารางที่ 4.33 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว 2 ประเภทโดยเลือกจากสภาวะที่สกัดแล้วได้ผลที่ดีที่สุด เมื่อนำมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี DPPH assay แสดงค่าเป็น IC_{50} น้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากข้าวหอมมะลิชั้ยนาทที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:8 ให้ค่าเป็น IC_{50} เท่ากับ 2.7000 ± 0.0862 mg/ml ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:8 ให้ค่าเป็น IC_{50} เท่ากับ 2.3867 ± 0.0203 mg/ml และในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:8 ให้ค่าเป็น IC_{50} เท่ากับ 2.5167 ± 0.1499 mg/ml ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:10 ให้ค่าเป็น IC_{50} เท่ากับ 2.3933 ± 0.0742 mg/ml ดังนั้นค่า IC_{50} ที่ได้จากน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวทั้ง 2 ประเภทมีค่าใกล้เคียงกันแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่าๆกัน

4.9.7 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี FRAP assay ในน้ำมันที่สกัดได้จากรำข้าว

2 ประเภท

จากตารางที่ 4.33 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว 2 ประเภทโดยเลือกจากสภาวะที่สกัดแล้วได้ผลที่ดีที่สุด เมื่อนำมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี FRAP assay แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ น้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากข้าวหอมมะลิชั้ยนาทที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:8 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 9.6500 ± 0.4424 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้าน

อนุมูลอิสระเท่ากับ 11.5867 ± 0.3123 mg QE/g DW และในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 16.4500 ± 2.2874 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 22.9167 ± 0.9248 mg QE/g DW ดังนั้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามพบว่าดีกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท

4.9.8 เปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ABTS⁺ assay ในน้ำมันที่ได้จากรำข้าว

2 ประเภท

จากตารางที่ 4.33 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว 2 ประเภทโดยเลือกจากสภาวะที่สกัดแล้วได้ผลที่ดีที่สุด เมื่อนำมาวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทดสอบด้วยวิธี ABTS⁺ assay แสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ น้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ข้าวจากหอมมะลิชัยนาทที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 2.8767 ± 0.1291 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 1.8467 ± 0.1020 mg QE/g DW และในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามที่อุณหภูมิ 30°C ด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 5.5933 ± 0.3832 mg QE/g DW ขณะที่สกัดด้วยอุณหภูมิ 40°C ด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:6 ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 4.8833 ± 0.1684 mg QE/g DW ดังนั้นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวไร้ดอกขามพบว่าดีกว่าน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้จากรำข้าวหอมมะลิชัยนาท

ตารางที่ 4.33 เปรียบเทียบปริมาณน้ำมัน สารสำคัญ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว 2 ประเภท ที่สกัดโดยใช้เครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบโดยเลือกจากสถานะในการสกัดที่ดีที่สุด

การสกัดด้วยโพรบ		ปริมาณน้ำมัน (g)	ปริมาณแกรมมา ออริซานอล (mg QE/g DW)	ปริมาณแอนโทไซยานิน (mg QE/g DW)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (mg QE/g DW)	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ (mg QE/g DW)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH assay (mg/ml)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ FRAP assay (mg QE/g DW)	ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ABTS ⁺ assay (mg QE/g DW)
รำข้าวหอมมะลิ ชั้นนาท	30°C	เฮกเซน 1:8 (0.8240 ± 0.0088)	เอทานอล 95% 1:10 (2.8733 ± 0.3861)	เอทิลอะซิเตต 1:10 (2.9567 ± 0.6913)	เอทานอล 95% 1:6 (16.5433 ± 0.9968)	เอทานอล 95% 1:10 (18.7100 ± 2.6734)	เอทานอล 95% 1:8 (2.7000 ± 0.0862)	เอทิลอะซิเตต 1:8 (9.6500 ± 0.4424)	เอทานอล 95% 1:6 (2.8767 ± 0.1291)
	40°C	เอทานอล 95% 1:10 (0.6778 ± 0.0139)	เอทิลอะซิเตต 1:10 (2.4767 ± 0.2967)	เฮกเซน 1:10 (4.4233 ± 0.9496)	เอทานอล 95% 1:6 (17.1767 ± 1.1099)	เอทานอล 95% 1:6 (18.7167 ± 2.7418)	เอทานอล 95% 1:8 (2.3867 ± 0.0203)	เอทิลอะซิเตต 1:6 (11.5867 ± 0.3123)	เอทานอล 95% 1:6 (1.8467 ± 0.1020)
รำข้าวไร้ดอกขาม	30°C	เอทานอล 95% 1:10 (0.7206 ± 0.0120)	เอทิลอะซิเตต 1:8 (2.4700 ± 0.4181)	เฮกเซน 1:6 (4.4267 ± 1.1756)	เฮกเซน 1:6 (28.7433 ± 2.7014)	เอทานอล 95% 1:8 (32.8067 ± 3.6116)	เอทานอล 95% 1:8 (2.5167 ± 0.1499)	เอทิลอะซิเตต 1:6 (16.4500 ± 2.2874)	เอทิลอะซิเตต 1:6 (5.5933 ± 0.3832)
	40°C	เอทิลอะซิเตต 1:10 (0.6701 ± 0.0144)	เอทานอล 95% 1:10 (4.5133 ± 2.5439)	เอทานอล 95% 1:6 (4.0567 ± 2.2998)	เอทานอล 95% 1:6 (20.3933 ± 1.4214)	เฮกเซน 1:6 (26.6933 ± 2.2131)	เอทานอล 95% 1:10 (2.3933 ± 0.0742)	เอทานอล 95% 1:6 (22.9167 ± 0.9248)	เฮกเซน 1:6 (4.8833 ± 0.1684)

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บแสดงค่าที่ได้จากงานวิจัย

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาสถานะที่เหมาะสมในการสกัดรำข้าวโดยใช้ระบบสกัดอัลตราโซนิคแบบโพรบ จากรำข้าวหอมมะลิชัยนาทและรำข้าวไร้ดอกขามเพื่อให้ได้ปริมาณน้ำมันรำข้าว สารแกรμμαออริซานอล สารแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดมากที่สุด และนำมาทดสอบประสิทธิภาพสารต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยระบบสกัดอัลตราโซนิคแบบโพรบ โดยทำการสกัดเป็นเวลา 30 นาที ทำการพิจารณาผลของตัวทำละลายเฮกเซน เอทานอล และเอทิลอะซิเตต ผลของอุณหภูมิที่ 30°C และ 40°C ผลอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลาย 1:6, 1:8 และ 1:10 (w/v) พบว่าชนิดของตัวทำละลาย, อุณหภูมิ และอัตราส่วนรำข้าวต่อตัวทำละลายมีผลต่อการสกัด ซึ่งพบว่าปริมาณน้ำมันรำข้าวและสารสำคัญต่างๆที่สกัดจากรำข้าวทั้ง 2 ประเภทให้ผลต่างกันด้วย

การสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาทด้วยเฮกเซน อัตราส่วน 1:8 ที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณรำข้าวสูงสุดเท่ากับ 0.8240 ± 0.0088 g และการสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวไร้ดอกขามด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:10 ที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณรำข้าวสูงสุดเท่ากับ 0.7206 ± 0.0120 g เมื่อตรวจสอบปริมาณแกรμμαออริซานอลพบว่าน้ำมันจากรำข้าวจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาทที่สกัดด้วยเอทิลอะซิเตต อัตราส่วน 1:10 ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแกรμμαออริซานอลสูงสุดเท่ากับ 2.8733 ± 0.3861 mg QE/g DW ขณะที่น้ำมันจากรำข้าวจากรำข้าวไร้ดอกขามสกัดด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:10 ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแกรμμαออริซานอลสูงสุดเท่ากับ 2.5439 mg QE/g DW หลังจากนั้นทำการตรวจสอบปริมาณแอนโทไซยานินพบว่าน้ำมันจากรำข้าวจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาทที่สกัดด้วยเฮกเซน อัตราส่วน 1:10 ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดเท่ากับ 4.4233 ± 0.9496 mg QE/g DW ขณะที่น้ำมันจากรำข้าวจากรำข้าวไร้ดอกขามที่สกัดด้วยเฮกเซน อัตราส่วน 1:6 ที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดเท่ากับ 4.4267 ± 1.1756 mg QE/g DW เมื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาทด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ให้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดเท่ากับ 17.1767 ± 1.1099 mg QE/g DW ขณะที่น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกขามที่สกัดด้วยเฮกเซน อัตราส่วน 1:6 ที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดเท่ากับ 28.7433 ± 2.7014 mg QE/g DW และเมื่อหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวหอมมะลิชัยนาทด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 ที่อุณหภูมิ 40°C ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุดเท่ากับ 18.7167 ± 2.7418 mg QE/g DW ขณะที่น้ำมันที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกขามที่เอทานอล 95% อัตราส่วน 1:8 ที่อุณหภูมิ 30°C ให้ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์สูงสุดเท่ากับ 32.8067 ± 3.6116 mg QE/g DW

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการสกัดน้ำมันรำข้าวจากรำข้าวทั้ง 2 ประเภทแล้วนำน้ำมันรำข้าวที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay แล้วแสดงเป็นค่า IC_{50} พบว่าค่า IC_{50} ของน้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวหอมมะลิด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:8 อุณหภูมิ 40°C ให้ค่า IC_{50} ต่ำสุดเท่ากับ 2.3867 ± 0.0203 mg/ml ขณะที่ค่า IC_{50} ของ น้ำมันรำข้าวที่สกัดจากรำข้าวไร้ดอกขามด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:10 ให้ค่า IC_{50} ต่ำสุดเท่ากับ 2.3933 ± 0.0742 mg/ml และเมื่อนำน้ำมันรำข้าวที่ได้มาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay แสดงเป็นค่าเป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวหอมมะลิช้ยนาทด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:10 อุณหภูมิ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเป็น 11.5867 ± 0.3123 mg QE/g DW ขณะที่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสกัดจากรำข้าวไร้ดอกขามด้วยเอทานอล 95% อัตราส่วน 1:6 อุณหภูมิ 40°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 22.9167 ± 0.9248 mg QE/g DW หลังจากนั้นทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay แสดงเป็นค่าเป็นฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของน้ำมันที่สกัดจากรำข้าวหอมมะลิช้ยนาทด้วยเอทานอล อัตราส่วน 1:6 อุณหภูมิ 30°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 2.8767 ± 0.1291 mg QE/g DW ขณะที่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสกัดจากรำข้าวไร้ดอกขามด้วยเอทีลอะซีเตต อัตราส่วน 1:6 อุณหภูมิ 30°C ให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 5.5933 ± 0.3832 QE/g DW

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการสกัดน้ำมันรำข้าวและสารสำคัญในน้ำมันรำข้าวจากรำข้าว 2 ประเภท ปัจจัยต่างๆ ทั้งประเภทของรำข้าว อุณหภูมิ ชนิดตัวทำละลาย อัตราส่วนตัวทำละลาย มีผลต่อการสกัดและฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันรำข้าว ดังนั้นในการวิจัยต่อไปควรศึกษาปัจจัยอื่นๆของคลื่นอัลตราโซนิก ดังนี้

1. ความถี่คลื่นและแอมพลิจูดของคลื่น เพื่อศึกษาผลของปัจจัยร่วมกันในการสกัดและศึกษาผลของคลื่นอัลตราโซนิกต่อการสกัดรำข้าว เช่น การทำปฏิกิริยาของคลื่นต่อรำข้าว เชิงกลหรือการเปลี่ยนแปลงทางโครงสร้างเคมีของรำข้าวเมื่อสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก ตลอดจนผลของคลื่นที่มีผลต่อการสกัดสารภายในรำข้าว
2. ทำการวิจัยหาสารสำคัญอื่นๆที่มีอยู่ในรำข้าวจากรำข้าวหลายๆประเภท

เอกสารอ้างอิง

- เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหนาม. 2554. “อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ : แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา.” วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์. 1(1) : 59-70.
- ช่อแก้ว อนิบล, และคณะ. 2554. “การศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวเหนียวดำ โดยใช้วิธี HPLC และ spectrophotometric.” แก่นเกษตร 39 ฉบับพิเศษ : 353-357.
- ช่อสมน สอดสี, ธีญญลักษณ์ หนูมอ และมณัญญา ดิยั้ง. 2557. “การศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดน้ำมันรำข้าว และสารสำคัญจากรำข้าวหอมมะลิ.” ปริญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ชุตินา วันเพ็ญ, และคณะ. 2556. “ผลของการพรีทรีตเมนต์ด้วยอัลตราซาวด์ต่อการสกัดอินนูลินจากหัวแก่นตะวัน.” วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. 36(2) : 249-258.
- ณัฐธาวุฒิ ฐิติปราโมทย์, นิสากร แซ่วัน, ภาณุพงษ์ ใจวุฒิ. 2554. “ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของโปรแอนโทไซยานินดินและแอนโทไซยานินจากข้าวมีสี 4 ชนิด.” การประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 2 : 557-560.
- ดวงกมล เรืองงาม. 2014. “การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ.” วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง ปีที่ 23 ฉบับที่ 2 เดือนกรกฎาคม-ธันวาคม 2557 : 120-139.
- นันทิยา และคณะ. 2552. “การสกัดแยกแอนโทไซยานินจากกลีบดอกอัญชันสีน้ำเงิน.” คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น : 1-8.
- บุหรัน พันธุ์สุวรรณ. 2556. “การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ.” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 21 ฉบับที่ 3 : 275-286.
- ปรีดาวรรณ ขอช่วยกลาง, วรนุช ศรีใจภูารักษ์. 2013. “การเปรียบเทียบวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายต่อการสกัดวิตามินอีและแกมมา-โอโรซานอลจากรำข้าวพันธุ์ กช 6.” หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น.
- ผศ.ดร.รัชนี คงคาฉุยฉาย อ.ริญู เจริญศิริ. 2550. “สารต้านอนุมูลอิสระ.” วารสารวิชาการโครงการบูรณาการเทคโนโลยีชีวภาพในการสร้างพันธุ์ข้าวเพื่อเพิ่มมูลค่า. 2008.
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนাপนนท์. 2553. antioxidant / สารต้านออกซิเดชัน. [Online]. Available:<http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0188/antioxidant-12> พฤษภาคม 2557.
- พรรณณี เค้นรุ่งเรือง. 2550. “ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเปลือกต้นวงศ์อบเชย.” รายงานผลงานวิจัยประจำปี พ.ศ. 2550., กรมป่าไม้. : 19-26.
- แมน อมรสิทธิ์, อมร เพชรสม. 2539. “หลักการและเทคนิคการวิเคราะห์เชิงเครื่องมือ.” ชวนพิมพ์. : 33-107.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- ยุพาพร ผลาจรศักดิ์. 2547. “การสกัดและความคงตัวของแอนโทไซยานินส์ที่สกัดได้จากเปลือกมังคุด.” วิทยานิพนธ์ตามหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร : 1-102.
- ระวีวรรณ แก้วอมดวงศ์ และทรงพร จึงมั่นคง. 2549. “ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และปริมาณสารฟีนอลรวมของสารสกัดพืชสมุนไพรไทยบางชนิด.” วารสารวิชาการ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี. 8(2) : 76-88.
- รัชนี เพ็ชรช่าง. 2550. การส่งเสริมสมบัติต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในปลายยอดผักหวานบ้าน ที่ได้จากการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ โดยการฉายรังสียูวีซี. มหาวิทยาลัยนเรศวร.
- รัตนา ม่วงรัตน์, รัตนา ม่วงรัตน์, กรวิภา สกกุลไกรพิระ, ธัญญารัตน์ บุระคา. “ปัจจัยที่มีผลต่อการสกัดสารแอนโทไซยานินจากข้าวโพดสีม่วง.” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ : 368-378.
- วิภพ สุทณะ. 2556. “ฤทธิ์ต้านมะเร็งของฟลาโวนอยด์ : กลไกการออกฤทธิ์.” วารสารศรีนครินทร์ เวชสารปีที่ 28 ฉบับที่ 4. : 567-582.
- วิสุทธิ กังวานตระกูล. 2546. “กฎของเบียร์ และแลมเบิร์ต.” ปฏิบัติการเคมีคลินิก. พิมพ์ครั้งที่ 2. : 18-19.
- วีรยุทธ โตสิงหราช. 2014. “การเปรียบเทียบตัวทำละลายอินทรีย์สำหรับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกจากรำข้าว.” หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- สิทธิโชค เกตุแก้ว, สิทธิเดช ห่านพงษ์ศักดิ์, อักษรา เอี่ยมชิว. 2558. “การสกัดน้ำมันรำข้าวและสารต้านอนุมูลอิสระด้วยคลื่นอัตราโซนิกแบบโพรบ.” ปรญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธยา รัตนาปนนท์. “ข้าว.” (ระบบออนไลน์). แหล่งที่มา <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1657/rice-%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7>.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2550. ข้าว : วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรุษา เขาวนลิขิต. 2554. “การสกัดและวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน.” วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ 3 : 26-36.
- โอภา วัชรคุปต์. 2550. สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : นิเวศมิตรการพิมพ์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Anderson, OM., and Markham, KR. 2006. "lavonoids : Chemistry, Biochemistry and Applications." Boca Raton, Fla. : CRC Press / Taylor & Francis, p. 472-478, 508-515.
- Amarasinghe B.M.W.P.K., Kumarasiri M.P.M., Gangodavilage N.C., 2009 "Effect of method of stabilization on aqueous extraction of rice bran oil." Food and Bioproducts Processing 87 : 108–114.
- Bao Yang, Sen Lin. 2012. "Enhanced DPPH radical scavenging activity and DNA protection effect of litchi pericarp extract by *Aspergillus awamori* bioconversion." Chemistry Central Journal, v.6, 2012 Sept 27 : 108.
- Chang C-C, Yang M-H, Wen H-M and Chern J-C. 2002. "Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods." Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 10, No. 3, 2002 : 178-182.
- Choia- Chi Chang, Ming- Hua Yang, Hwei- Mei Wen and Jing- Chuan Chern. 2002. "Estimation of Total Flavonoid Content in Propolis by Two Complementary Colorimetric Methods." Journal of Food and Drug Analysis, Vol. 10, No. 3 : 178-182.
- Dilini Bopitiya, Terrence Madhujith, 2014. "Antioxidant Potential of Rice Bran Oil Prepared from Red and White Rice." Tropical Agricultural Research Vol. 26 : 1 – 11.
- Erica R. Bäumlér, Maria E. Carrin, Amalia A. Carelli. 2016. "Extraction of sunflower oil using ethanol as solvent." Journal of Food Engineering Vol 1781 : 190-197.
- Ethel E. Perez, Amalia A. Carelli, Guillermo H. Crapiste. 2011. "Temperature-dependent diffusion coefficient of oil from different sunflowerseeds during extraction with hexane." Journal of Food Engineering Volume 105, Issue 1 : 180-185.
- Eugenio Jose Garcia, Tatiane Luiza, cadorin OLdOni, Severino Matias de aL,Encar alessandra rEIS3, lessandro d. LOGuErciO, rosa Helena Miranda GrandE. 2012. "Antioxidant Activity by DPPH Assay of Potential Solutions to be Applied on Bleached Teeth." Braz. Dent. J. vol.23 no.1 : 22-27.
- Faran S. Hosseinian and Trust Beta. 2007. "Saskatoon and Wild Blueberries Have Higher Anthocyanin Contents than Other Manitoba Berries." J. Agric. Food Chem., 2007 vol.55 no.26 : 10832–10838.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์หรือมีเครื่องหมายการค้าเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Francis, F.J. Food colorings. In MacDogall, DB. 2002. "Colour in food: improving quality." Boca Raton, Fla. : CRC Press ; Cambridge, : Woodhead Pb : 310-314, 331, 336.
- Gul, K, Singh AK, Jabeen R. 2015. "Nutraceuticals and functional foods : the foods for future world." *Critical Reviews in Food Science & Nutrition*.
- Haizhou Li, Lester Pordesimo, Jochen Weiss, 2004. "High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans." *Food Research International* 37 : 731-738.
- Hosseinian, F.S., Li, W. & Trust Beta. 2008 . "Measurement of anthocyanins and other phytochemicals in purple wheat." *Food Chemistry* Vol.109, Issue 4, 15 August 2008 : 916-924.
- HU, W. et al. 1996. "Comparison of isopropanol and hexane for extraction of vitamin E and oryzanol from stabilized rice bran." *Journal of the American Oil Chemists Society*. Champaign, v.73, n.2 : 1653-1656.
- II. In Bemiller, J., & Whistler, R.(Eds.), Jane, J. 2009. "Structural features of starch granules." *Starch : Chemistry and technology* (3th ed.). Elsevier.
- Jing Wang, Baoguo Sun, Yanping Cao, Yuan Tian and Xuehong Li. 2008. "Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran." *Food Chemistry*. 106(2) : 804-810.
- Juliana Ferreira Soares , Val_eria Dal Pr_a , Matheus de Souza , Felipe Cavalheiro Lunelli , Ederson Abaide, Juliana R.F. da Silva , Raquel C. Kuhn , Julian Martinez and Marcio A. Mazutti , 2016. "Extraction of rice bran oil using supercritical CO₂ and compressed liquefied petroleum gas." *Journal of Food Engineering* 170 :58-63.
- Jun Jin Dan Xie, Hanqing Chen, Xiaosan Wang, Qingzhe Jin and Xingguo Wang. 2016. "Production of Rice Bran Oil with Light Color and High Oryzanol Content by Multi-stage Molecular Distillation." *Journal of the American Oil Chemists' Society* January 2016, Vol.93, Issue 1 : 145-153.
- Krishna B. Gutte, Akshaya K. Sahoo and Rahul C. Ranveer, 2015 "Effect of ultrasonic treatment on extraction and fatty acid profile of flaxseed oil." *OCL* 2015, vol.22 Issue 6 : 1-7.
- Kyung-A Hwang, corresponding author Yu-Jin Hwang, and Jin Song. 2016. "Antioxidant activities and oxidative stress inhibitory effects of ethanol extracts from *Cornus*." *BMC Complement Altern Med*. 2016 Jul 8 no.16 : 196.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Lee, Y.R., Woo, K.S., Kim, K.J., Son, J.R., Jeong, H.S. 2007. "Antioxidant Activities of Ethanol Extracts from Germinated Specialty Rough Rice." *Food Science and Biotechnology*, 16: 765-770.
- Linda S. Einbonda, Kurt A. Reynertson, Xiao-Dong Luo, Margaret J. Basile, Edward J. Kennelly, 2004. "Anthocyanin antioxidants from edible fruits." *Food Chemistry* 84, 2004 : 23-28.
- Mason, T. J. 1998. "Power ultrasound in food processing – the way forward". *Ultrasound in Food Processing* : 105-126.
- Mason, J. 2000. "Asking mathematical questions mathematically." *International Journal of Mathematical Education in Science and Technology*, vol.31 no.1 : 97-111.
- Mazza, G.J. 2007. "Anthocyanins and heart health." *Ann Ist Super Sanita*. 2007 vol.43, no.4 : 369-374.
- Mircea C, Tatarina G, Gille E, Hancianu M, Jitareanu A, Zbancioc AM, Catalina Stan. (2015). Antioxidant and phytochemical studies on two *Allium Cepa* L. Extracts". *Rev Med Chir Soc Med Nat Iasi*. 2015 Apr-Jun ; 119(2) : 597-602.
- Mohammad B. Hossain, Brijesh K. Tiwari, Nirupama Gangopadhyay, Colm P. O'Donnell, Nigel P. Brunton and Dilip K. Rai. 2014. "Ultrasonic extraction of steroidal alkaloids from potato peel waste." *Ultrasonics Sonochemistry*. 21(4) : 1470-1476.
- Myung J. G., Hwang I. K. 2008. "Functional components and antioxidative activities of soybean extracts." *Korea Soybean Digest* : 23-29.
- Neşe Yılmaz, Necati Barış Tuncel, Habib Kocabiyik. 2014. "Infrared stabilization of rice bran and its effects on γ -oryzanol content, tocopherols and fatty acid composition." *Journal of the Science of Food and Agriculture*: 1568-1576.
- Nollet, LML. 1996. "Handbook of Food Analysis." 2nd ed. New York : Marcel Dekker : 833-850.
- Om P. Sharma, Tej K. Bhat. 2009. "DPPH antioxidant assay revisited." *Food Chemistry* Volume 113, Issue 4, 15 April :1202-1205.
- Patel M., Naik, S N. 2004. "gamma-oryzanol from rice bran oil." *JSIR* Vol.63 no.07 July 2004 : 569-578.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Photchanathip Imsanguan, Amorn Roaysubtawee, Ratsuda Borirak, Suwassa Pongamphai, Supaporn Douglas, Peter L. Douglas. 2008. "Extraction of alpha-Tocopherol and gamma-oryzanol From Rice Bran." *LWT- Food Science and Technology* vol.41 no.8 : 1417-1424.
- Rabeta, M.S. and Nur Faraniza, R. 2013. "Total phenolic content and ferric reducing antioxidant power of the leaves and fruits of *Garcinia atrovirdis* and *Cynometra*." *Cauliflora International Food Research Journal* 20 : 1691-1696.
- Reyes González-Centeno, F. Comas-Serra, Antoni Femenia, C. Rosselló and Susana Simal. 2015. "Effect of power ultrasound application on aqueous extraction of phenolic compounds and antioxidant capacity from grape pomace (*Vitis vinifera* L.) : Experimental kinetics and modeling." *Ultrasonics Sonochemistry*. 22 : 506–514.
- Reza Tabaraki, ZeynaBbyosefi, Hossein Ali Aasadi Gharaneh. 2011. "Chemical Composition and Antioxidant Properties of *Malva sylvestris* L." *Journal of Research in Agricultural Science* Vol. 8, No. 1: 59–68.
- Rohman, A., Siti Helmiyati, Mirza Hapsari and Dwi Larasati Setyaningrum. 2014. "Rice in health and nutrition." *International Food Research Journal* 21: 13-24.
- Ruen-Ngam Duangkamol, Thawai Chitti, Nokkoul Raumjit, Sukonthamut Sujitra, 2014. "Gamma-Oryzanol Extraction from Upland Rice Bran." *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics*, Vol. 4 : 252-255.
- Sara Spinelli, Amalia Conte, Lucia Lecce, Lucia Padalino and Matteo Alessandro Del Nobile, 2016. "Supercritical carbon dioxide extraction of brewer's spent grain." *Journal of Supercritical Fluids* 107 : 69–74.
- Sen Lin, Bao Yang, Feng Chen, Guoxiang Jiang, 2012. "Enhanced DPPH radical scavenging activity and DNA protection effect of litchi pericarp extract by *Aspergillus awamori* bioconversion." *Chemistry Central Journal* 2012 Sep 27 vol.6 no.1 : 108.
- Setyaningsih W., Saputro I.E., Palma M., Barroso C.G. 2015. "Optimisation and validation of the microwave-assisted extraction of phenolic compounds from rice grains." *Food Chemistry* 169 : 141–149.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Shen, Y., Jin, L., Xiao, P., Lu, Y. and Bao, Y., 2009. "Total Phenolics, Flavonoids, Antioxidant Capacity in Rice Grain and Their Relations to Grain Color, Size and Weight." *Cereal Science*, 49 : 106–111.
- Sikorski, ZE. 2007. "Chemical and unctional Properties of food Components." 2 nd ed. Boca Raton Fla. : CRC Press : 260-265.
- Sikorski, ZE. 2007. "Health Benefits of Anthocyanins and Their Encapsulation for Potential." *Use in Food Systems: A Review*.
- Swapnil G. Jaiswal, Subhalaxmi Pradhan, Madhumita Patel, Malaya Naik & Satyanarayan Naik. 2015. "Rice Bran Oil Distillate, a Choice for γ -oryzanol: Separation and Oxidative Stability Study." *Journal of Food Research*; Vol. 4: 895-1172.
- Tina Jerman Klen and Branka Mozetic Vodopivec. 2012. "Optimisation of olive oil phenol extraction conditions using a high-power probe ultrasonication." *Food Chemistry*. Vol.134 no.4 : 2481–2488.
- Tom Kupiec, PhD. 2004. "Quality-Control Analytical Methods : High-Performance Liquid Chromatography." *International Journal of Pharmaceutical Compounding*.vol.8 no.3 : 223-227.
- Wu F., Yang N., Touré A., Jin Z., Xu X. 2013. "Germinated brown rice and its role in human health." *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. Vol.53 no.5 : 451–463.
- XU, Z.; GODBER, S. 2000. "Comparison of supercritical fluid and solvent extraction methods in extracting γ -oryzanol from rice bran." *Journal of the American Oil Chemists Society*, vol.77 : 547-551.
- Yingjian Lu and Devanand Luthria, 2016. "Influence of gelatinization on the extraction of phenolic acids from wheat fractions." *Food Chemistry* vol.194 : 1138–1142.
- Zdenka Hromádková, Z. Košťálová and A. Ebringerová. 2008. "Comparison of conventional and ultrasound-assisted extraction of phenolics-rich heteroxylans from wheat bran." *Ultrasonics Sonochemistry*. Vol.15 no, 6 : 1062-1068.
- Zhan-jun Li, Feng-jian Yang, Lei Yang, and Yuan-Gang Zu *Caesalpinia spinos*, 2016. "Ultrasonic Extraction of Oil from *Caesalpinia spinosa* (Tara) Seeds." *Journal of Chemistry* Volume 2016 : 1-6.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

Zhiqian Liua, Simone Rochfort and Benjamin G. Cocks, 2016. “Optimization of a single phase method for lipid extraction from milk.” *Journal of Chromatography A*, 1458 : 145–149.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมสารเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay
 - 1) เตรียมสาร DPPH ชั่งมา 0.004 กรัม ละลายด้วยเอทานอล 95% ปริมาตร 50 มิลลิลิตร และนำไปทำการ sonication เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นห่อฟรอยด์เพื่อป้องกันแสง แล้วเก็บไว้ในตู้เย็น
 - 2) สารมาตรฐานที่ใช้คือ วิตามินซี ซึ่งใช้ความเข้มข้นที่ 1.25, 2.5, 5, 10, 20, 40, 60 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายด้วยเอทานอล 95%
 - 3) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวจะทำนํามาทดสอบจะใช้ที่ความเข้มข้น 100, 500, 1000, 2500, 5000, 8000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายด้วยเอทานอล 95%

2. การเตรียมสารเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay
 - 1) เตรียมสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท 300 มิลลิโมลาร์ พีเอช 3.6 โดย โซเดียมอะซิเตท ($\text{CH}_3\text{COONaH}_2\text{O}$) 1.5 กรัม เติมกรดอะซิติก 8 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 0.5 ลิตร ปรับบัฟเฟอร์ให้มีค่าพีเอชเป็น 3.6
 - 2) เตรียมสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง 0.541 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร
 - 3) เตรียมสารละลาย TPTZ (2, 4, 6-Tripyridyl-s-triazine) 10 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง TPTZ 0.312 กรัม ละลายในกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลาร์ 100 มิลลิลิตร
 - 4) เตรียมสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 40 มิลลิโมลาร์ โดยนำกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 โมลาร์ 4 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 100 มิลลิลิตร
 - 5) ผสมสารละลาย บัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตท 300 มิลลิโมลาร์ พีเอช 3.6 : สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ 20 มิลลิโมลาร์ : สารละลาย TPTZ 10 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10 : 1 : 1 (v/v) ได้เป็นสารละลาย FRAP reagent แล้วนำไปอุ่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที
 - 6) สารมาตรฐานที่ใช้คือ โทรล็อกซ์ ซึ่งใช้ความเข้มข้นที่ 1.563, 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายด้วยเอทานอล 70%
 - 7) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวจะทำนํามาทดสอบจะใช้ที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายด้วยเอทานอล 70%

3. การเตรียมสารเพื่อใช้ในการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay
 - 1) เตรียมสารละลาย ABTS⁺ 7 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง ABTS⁺ 0.192 กรัม ละลายในน้ำกลั่น และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้ก่อนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก (ต่อ)

- 2) เตรียมสารละลายฟอสเฟตซีเอ็มเปอร์ซัลเฟต 2.45 มิลลิโมลาร์ โดยชั่งฟอสเฟตซีเอ็มเปอร์ซัลเฟต 0.0331 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้มีปริมาตร 50 มิลลิลิตร
 - 3) ผสมสารละลาย ABTS⁺ 7 มิลลิโมลาร์ และ สารละลายฟอสเฟตซีเอ็มเปอร์ซัลเฟต 2.45 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 1:1 ทิ้งไว้ในมืด อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
 - 4) สารมาตรฐานที่ใช้คือ โทรล็อกซ์ ซึ่งใช้ความเข้มข้นที่ 10, 20, 40, 60, 80, 100 และ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายด้วยเอทานอล 70%
 - 5) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวจะทำนํามาทดสอบจะใช้ที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายด้วยเอทานอล 70%
4. การเตรียมสารเพื่อใช้ทดสอบหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด
- 1) Folin - Ciocalteu reagent 10X
 - 2) Na₂CO₃ ความเข้มข้นร้อยละ 10 และเอทานอลความเข้มข้น 70 %
 - 3) เตรียมสารมาตรฐาน กรดแกลิก ความเข้มข้น 0, 20, 50, 80, 100, 160 และ 200 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 70 % เป็นตัวทำละลาย
 - 4) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวจะทำนํามาทดสอบจะใช้ที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายด้วยเอทานอล 70%
5. การเตรียมสารเพื่อใช้ทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด
- 1) อะลูมิเนียมคลอไรด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5
 - 2) โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 4.3 และเอทานอลความเข้มข้น 70 %
 - 3) เตรียมสารมาตรฐาน ควาซิติน ความเข้มข้น 0, 50, 80, 100, 150, 200, 250, 300, 350 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลความเข้มข้น 70 % เป็นตัวทำละลาย
 - 4) ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวจะทำนํามาทดสอบจะใช้ที่ความเข้มข้น 10,000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร โดยละลายด้วยเอทานอล 70%
6. การเตรียมสารเพื่อใช้ทดสอบหาปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด
- 1) สารละลายเมทานอลิก เตรียมโดยใช้อัตราส่วนระหว่างเมทานอล 80% และกรดไฮโดรคลอริก เข้มข้น 1.0 นอร์มอล เท่ากับ 85 : 15 (v/v)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก (ต่อ)

- 2) สารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ 0.03 โมลาร์ (บัฟเฟอร์พีเอช 1.0) เตรียมโดยชั่งโพแทสเซียมคลอไรด์ 1.86 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 980 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้ได้ 1.0 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
 - 3) สารละลายโซเดียมอะซิเตท 0.4 โมลาร์ (บัฟเฟอร์พีเอช 4.5) เตรียมโดยชั่งโซเดียมอะซิเตท 54.43 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 960 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้ได้ 4.5 ด้วยกรดไฮโดรคลอริก จากนั้นปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร
7. การเตรียมสารตัวอย่างสำหรับฉีด HPLC
- 1) เตรียมตัวอย่างน้ำมันที่จะนำไปวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC
 - 2) นำหลอด Eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร มาทำการ label ชื่อสถานะของน้ำมัน แล้วทำการชั่งน้ำมันใส่หลอด Eppendorf โดยใช้เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ชั่งปริมาณ 0.0010 กรัม จากนั้นเติมโมบายเฟสปริมาตร 1.0 มิลลิลิตรลงไป จะได้ความเข้มข้นของน้ำมัน 1000 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร
 - 3) แล้วนำไป vortex เพื่อให้น้ำมันกับเฟสเคลื่อนที่ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
 - 4) นำหลอด Eppendorf ขนาด 1.5 มิลลิลิตร ที่เป็นหลอดเปล่ามาทำการ label สถานะของน้ำมันแล้วทำการดูดสารละลายจาก Eppendorf ที่มีความเข้มข้นของน้ำมัน 1000 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร มา 120 ไมโครลิตรแล้วเติมโมบายเฟส 1080 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นของน้ำมัน 100 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร
 - 5) แล้วนำไป vortex เพื่อให้น้ำมันกับโมบายเฟสละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
 - 6) นำตัวกรองขนาด 0.45 ไมโครเมตรและ syringe สำหรับกรองสารมาต่อเข้าด้วยกันนำหลอด Eppendorf ที่มีความเข้มข้นของน้ำมัน 100 ไมโครกรัม/ มิลลิลิตร และทำการกรองผ่านตัวกรอง โดยนำมากรองใส่ขวด Vial แล้วนำเข้าเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

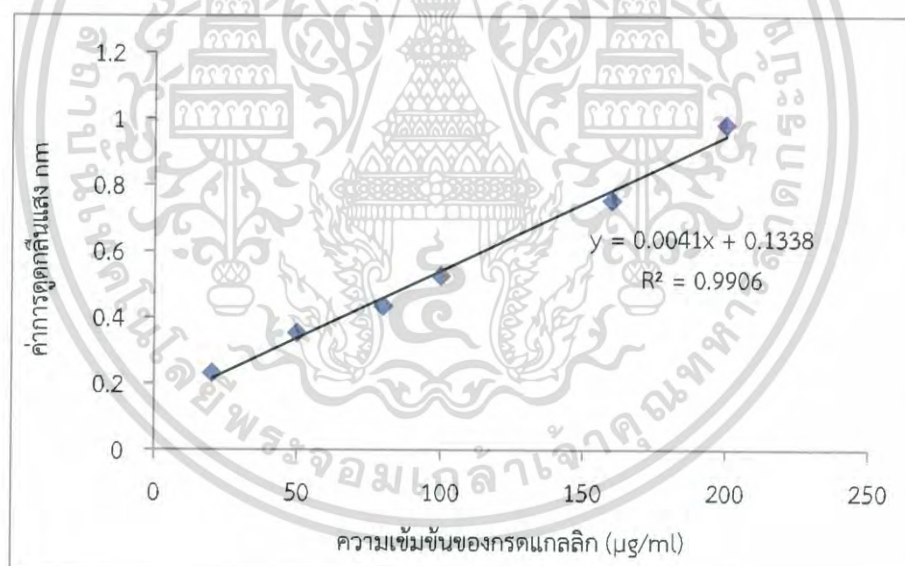
ภาคผนวก ก (ต่อ)

8. กราฟมาตรฐานปริมาณกรดแกลลิก

ตารางที่ ก.1 แสดงความเข้มข้นของกรดแกลลิก ($\mu\text{g/ml}$) ต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 nm.

ความเข้มข้นของกรดแกลลิก ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 nm.
20	0.232
50	0.354
80	0.434
100	0.526
160	0.755
200	0.983

รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกสำหรับวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

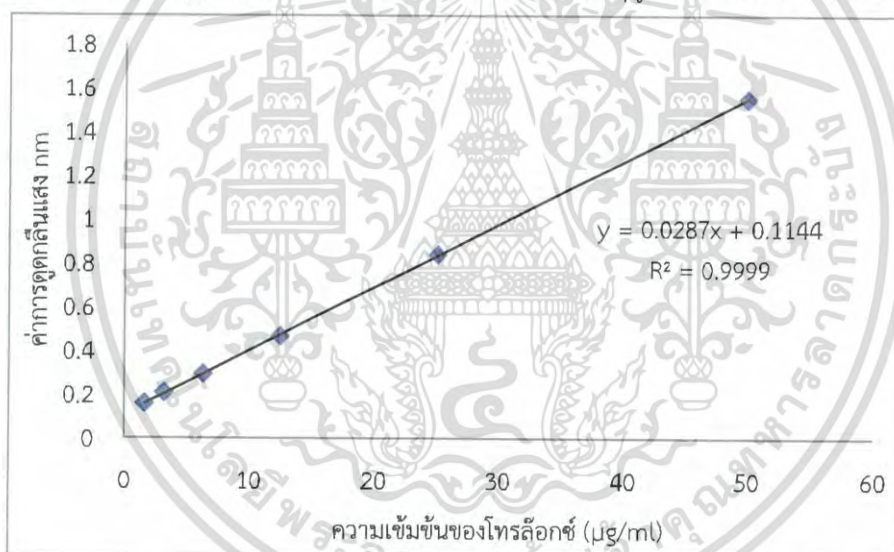
ภาคผนวก ก (ต่อ)

9. กราฟมาตรฐานปริมาณโทรลือกซ์

ตารางที่ ก.2 แสดงความเข้มข้นของโทรลือกซ์ ($\mu\text{g/ml}$) ต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm.

ความเข้มข้นของโทรลือกซ์ ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 nm.
1.563	0.159
3.125	0.207
6.25	0.292
12.5	0.466
25	0.840
50	1.550

รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐานโทรลือกซ์สำหรับวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

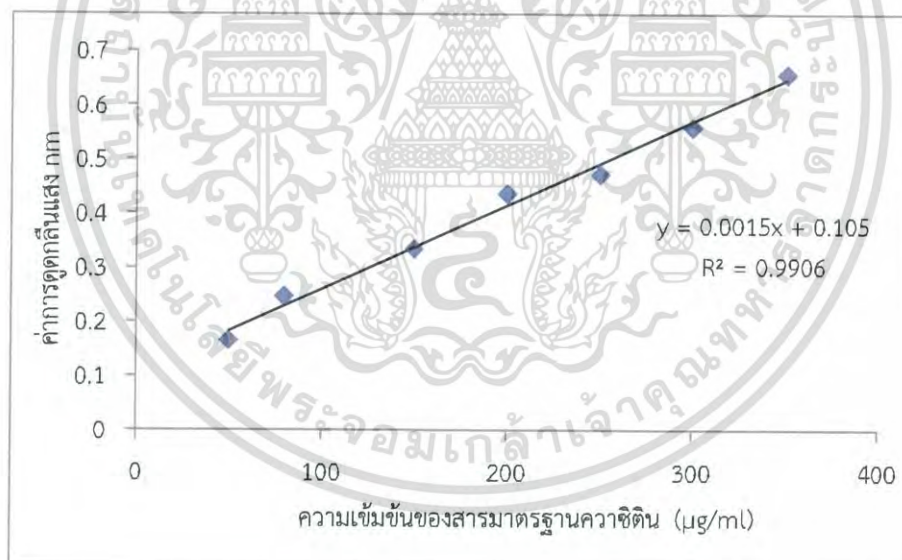
ภาคผนวก ก (ต่อ)

10. กราฟมาตรฐานควาซิติน

ตารางที่ ก.3 แสดงความเข้มข้นของควาซิติน ($\mu\text{g/ml}$) ต่อค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm.

ความเข้มข้นของควาซิติน ($\mu\text{g/ml}$)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 415 nm.
50	0.165
80	0.246
150	0.333
200	0.436
250	0.471
300	0.558
350	0.656

รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐานควาซิตินสำหรับหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

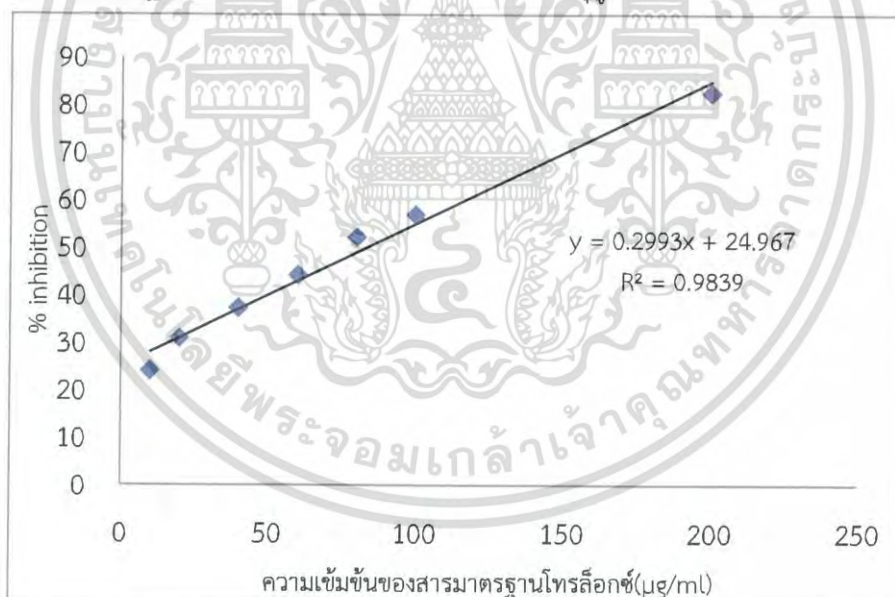
ภาคผนวก ก (ต่อ)

11. กราฟมาตรฐานโทรลือกซ์

ตารางที่ ก.4 แสดงความเข้มข้นของโทรลือกซ์ ($\mu\text{g/ml}$) ต่อ % inhibition

ความเข้มข้นของโทรลือกซ์ ($\mu\text{g/ml}$)	% inhibition
10	24.015
20	30.839
40	37.139
60	44.094
80	52.099
100	56.824
200	82.414

รูปที่ ก.4 กราฟมาตรฐานโทรลือกซ์สำหรับวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS⁺ assay



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

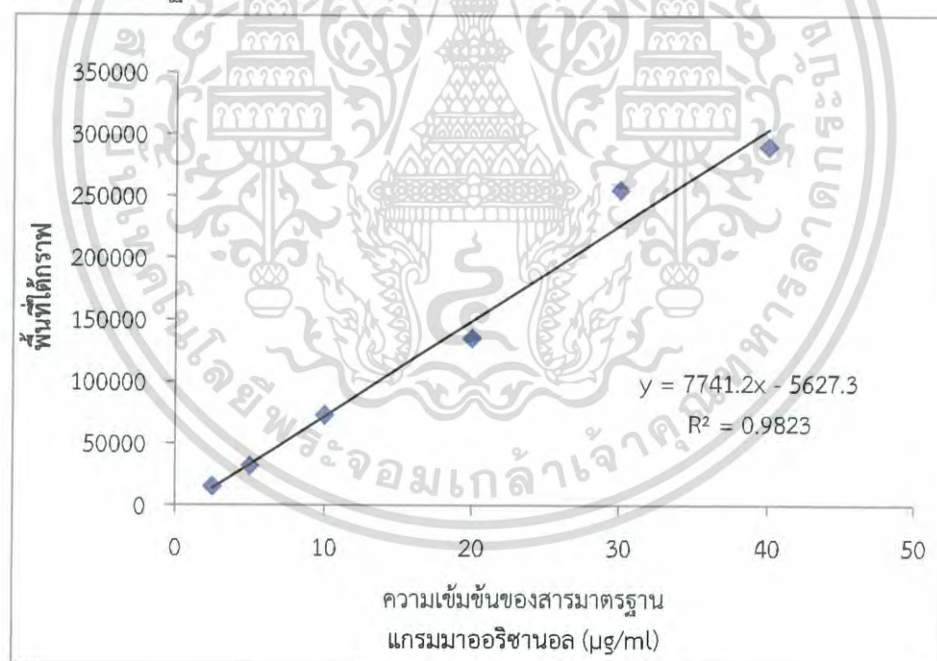
ภาคผนวก ก (ต่อ)

12. กราฟมาตรฐานแกรมมาอริซานอล

ตารางที่ ก.5 แสดงความเข้มข้นของแกรมมาอริซานอล ($\mu\text{g/ml}$) ต่อพื้นที่ใต้กราฟ

ความเข้มข้นของแกรมมาอริซานอล ($\mu\text{g/ml}$)	พื้นที่ใต้กราฟ
2.5	14998.1
5	31301.7
10	72431.0
20	134901.0
30	254710.0
40	290075.0

รูปที่ ก.5 กราฟมาตรฐานความเข้มข้นของแกรมมาอริซานอล



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

1. รายละเอียดอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองและวิธีการใช้

เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

- 1) เปิดเครื่อง HPLC และ เครื่องคอมพิวเตอร์ จากนั้นเปิดโปรแกรม PDA solution
- 2) รัน Clean และ Keep ที่เตรียมมาเพื่อไล่สารเก่าที่มีอยู่ในระบบออก และพีด Mobile phase โดยการปรับอัตราการไหลจาก 0 เป็น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0 ml/min ตามลำดับ แล้วรอให้กราฟคงที่ จากนั้นอุ่นเครื่องเป็นเวลา 30 นาที
- 3) เตรียมตัวอย่างที่ต้องการจะวิเคราะห์ใส่ในขวดไวแอล จากนั้นตั้งโปรแกรม PDA solution เพื่อให้โปรแกรมฉีดตัวอย่างเอง โดยเริ่มตั้งแต่เข็มแรก จนถึงเข็มสุดท้าย ใช้เวลา 15 นาทีในการฉีดตัวอย่างแต่ละครั้ง
- 4) เครื่องจะแสดงโครมาโตแกรมของสารตัวอย่างนำค่าที่ต้องการไปวิเคราะห์
- 5) ก่อนปิดเครื่องต้องรัน Mobile phase ลงมาที่ 0 ml/min แล้วทำการล้างระบบด้วย Keep และ Clean เพื่อปรับช่วงภายในคอลัมน์และทำให้ระบบสะอาดไม่มีตะกอนหรือสิ่งปนเปื้อนโดยทำวิธีการเดียวกับข้อ 2.



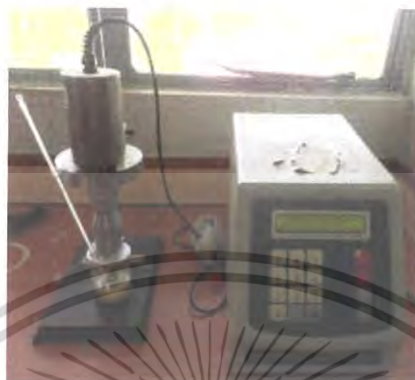
รูปที่ ข.1 แสดงลักษณะของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

ที่มา : <http://www.env.eng.chula.ac.th>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

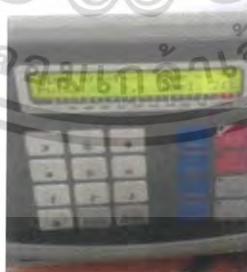
ภาคผนวก ข (ต่อ)

เครื่อง Ultrasonicator (Ultrasonic probe)



รูปที่ ข.2 แสดงลักษณะของเครื่อง Ultrasonic probe

- 1) กดสวิทช์เปิดเครื่องที่ด้านล่างของตัวเครื่องสามารถปรับค่าความถี่คลื่น (แอมพิจูด) ได้ตั้งแต่ 21% ถึง 100% โดยการหมุนที่ปุ่มด้านล่างของเครื่อง
- 2) ตั้งค่าอุณหภูมิที่ต้องการโดยกดปุ่ม Temp 1 ครั้ง จากนั้นกดตัวเลขที่ต้องการเพื่อกำหนดค่าอุณหภูมิแล้วกดปุ่ม Enter/Review
- 3) ตั้งค่าเวลาที่ต้องการโดยกดปุ่ม Timer 1 ครั้ง จากนั้นกดตัวเลขที่ต้องการเพื่อกำหนดค่าอุณหภูมิแล้วกดปุ่ม Enter/Review
- 4) เมื่อได้สภาวะที่ต้องการแล้ว กดปุ่ม Start/Stop เครื่องจะเริ่มทำงาน จนกระทั่งถึงเวลาที่กำหนดก็จะหยุดเองอัตโนมัติ หรือสามารถกดหยุดได้เองหากต้องการโดยกดปุ่ม Start/Stop

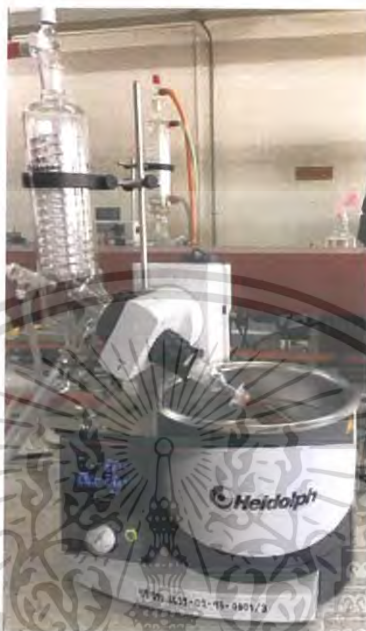


รูปที่ ข.3 คอนโทรลเลอร์ของเครื่องอัลตราโซนิกแบบโพรบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข (ต่อ)

เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporators)



รูปที่ ข.4 เครื่องระเหยสุญญากาศ (Rotary evaporators)

- 1) ตรวจสอบระดับน้ำในอ่างน้ำเติมน้ำให้ถึงขีดที่กำหนด
- 2) กดสวิทช์เปิดเครื่องที่ด้านข้างของตัวเครื่อง
- 3) กดเลือกว่าจะใช้โหมด H₂O หรือ Oil โดยการหมุนแล้วกดตรงกลางของปุ่ม
- 4) ตั้งค่าอุณหภูมิที่ต้องการโดยหมุนปุ่มไปที่ Bath Temp จากนั้นกดตรงกลางของปุ่มกำหนดค่าอุณหภูมิที่ต้องการโดยการหมุนขึ้นลงแล้วกดตรงกลางของปุ่มเพื่อตกลง
- 5) กดปุ่มรูปไอ้คน้ำให้ขึ้นไฟสีเหลืองเพื่อเปิดการทำงานของ bath
- 6) ตั้งค่าความเร็วรอบต่อนาทีที่ต้องการโดยหมุนปุ่มไปที่ Rotation จากนั้นกดตรงกลางของปุ่มเพื่อกำหนดค่าที่ต้องการโดยการหมุนขึ้นลงแล้วกดตรงกลางของปุ่มเพื่อตกลง
- 7) ประกอบเครื่องแก้ว (Reservoir) เข้ากับตัวเครื่อง
- 8) เลื่อนตัวเครื่องลงให้เครื่องแก้วลงสู่อ่างโดยให้ระดับน้ำท่วมสารตัวอย่าง โดยกดปุ่มลง
- 9) เมื่อได้สภาวะที่ต้องการแล้ว กดปุ่มหมุนเครื่องจะเริ่มทำงาน และเวลาจะเริ่มเดินเองอัตโนมัติ
- 10) กดหยุดได้โดยกดปุ่มหมุนเครื่องจะหยุดทำงาน เวลาจะหยุดและรีเซ็ตอัตโนมัติ
- 11) เมื่อต้องการเลิกใช้ให้เลื่อนตัวเครื่องขึ้นให้สุด โดยกดปุ่มขึ้น
- 12) กดสวิทช์ปิดเครื่องที่ด้านข้างของตัวเครื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข (ต่อ)

บีมลม(อุปกรณ์ต่อพ่วงเข้าเครื่องระเหยสุญญากาศ)



รูปที่ ข.5 บีมลมของเครื่องระเหยสุญญากาศ

ที่มา : <http://www.heidolph-instruments.com>

- 1) กดสวิทซ์เปิดเครื่องที่ด้านข้างของตัวเครื่อง
- 2) กดปุ่มเปิด/ปิด เพื่อเปิดเครื่อง
- 3) กดตรงกลางของปุ่มหมุนเพื่อกำหนดความดันที่ต้องการ
- 4) กดปุ่ม Start/Stop เพื่อให้เครื่องเริ่มทำงาน
 - 4.1 โดยจะตั้งเริ่มต้นที่ 500 mbar ลดลงเหลือ 400 mbar เมื่อเวลาผ่านไป 3 นาทีและเมื่อเวลาผ่านไปอีก 3 นาทีก็จะลดลงเหลือ 300 mbar
 - 4.2 เมื่อเวลาผ่านไปอีก 3-5 นาทีก็จะลดลงเหลือ 250, 200, 150, 100 mbar ตามลำดับ
 - 4.3 เมื่อสารหยุดระเหยรอเวลาประมาณ 5 นาที แล้วลดความดันลงเหลือ 50 mbar เพื่อให้เกิดการควบแน่นขั้นสุดท้ายประมาณ 5 นาทีแล้วจึงสิ้นสุดกระบวนการ
- 5) กดปุ่ม Vent เพื่อปล่อยลมออกมาให้ความดันเพิ่มขึ้นหากเกิดการ Bump
- 6) กดปุ่ม Start/Stop เพื่อให้หยุดทำงาน จากนั้นกดปุ่ม Vent เพื่อปล่อยลมออกมาให้ความดันเพิ่มขึ้นจนเป็นความดันบรรยากาศ (1000 mbar)
- 7) กดสวิทซ์ปิดเครื่องที่ด้านข้างของตัวเครื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข (ต่อ)

เครื่อง Microplate reader



รูปที่ ข.6 เครื่อง microplate reader ยี่ห้อ Biochrom Anthos รุ่น Multiread 4000
ที่มา : AZoQuantum.com

- 1) เปิดคอมพิวเตอร์
- 2) เปิดโปรแกรม
- 3) ใส่ filter ที่เครื่อง Microplate Reader
- 4) เปิดเครื่อง Microplate Reader
- 5) เปิดโปรแกรม
- 6) การ set โปรแกรม
 - 6.1 เริ่มต้นจะมี general ขึ้นอยู่ทางด้านแถบด้านซ้าย
 - 6.2 กดที่ shake เพื่อตั้งรอบ และเวลาเขย่า
 - 6.3 กดที่ measure เพื่อตั้งความยาวคลื่น
 - 6.4 กดที่ general จากนั้นกด Area definition เพื่อกำหนดให้เครื่องตรวจอ่านค่าในบริเวณที่เราต้องการบน 96-well plate (สีเขียว = อ่าน, สีแดง = ไม่อ่าน)
 - 6.5 กด plate out – plate in 1 ครั้งเพื่อเช็คว่เครื่องพร้อมใช้งาน
 - 6.6 กด plate out จากนั้นใส่ 96-well plat (96-well plate นี้จะต้องใส่ลงในถาดของเครื่อง Microplate Reader ก่อนใส่เข้าเครื่องโดยตรง) ทำการกด start เครื่องจะอ่านค่าตามบริเวณที่เรากำหนดไว้ที่ Area definition
 - 6.7 เมื่อวัด 96-well plat ต่อไป กด procedureเพื่อทำ plate ต่อไป จากนั้น กด start และ กด continue
- 7) การปิดเครื่อง โดยกด plate in ก่อน แล้วจึงกดปิดเครื่อง Microplate Reader และปิดคอมพิวเตอร์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้