สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระยะการเจริญของเมล็ดข้าว

Bioactive compounds in rice during grain development

พิรานันท์ แก้วโพธิ์นันทกุล
สาธิตา ละม้ายกุล

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2559

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระยะการเจริญของเมล็ดข้าว

Bioactive compounds in rice during grain development

T148837

พิรานันท์ แก้วโพธิ์นันทกุล

สาธิตา ละมัยกุล

ฉบับที่ 148837
เลขทะเบียน
วัน เดือน ปี 30 มิ.ย. 2560

b 12876227
i

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระยะการเจริญของเมล็ดข้าว

Bioactive compounds in rice during grain development

จัดทำโดย

พิรานันท์	แก้วโพธิ์นันทกุล	รหัสนักศึกษา	55080178
สาธิตา	ละมัยกุล	รหัสนักศึกษา	55080202

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 1 / ม.ค. / 59

(ผศ.ดร.พอใจ ถามากร)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระยะการเจริญของเมล็ดข้าว			
ชื่อนักศึกษา	พิรานันท์	แก้วโพธิ์นันทกุล	รหัสนักศึกษา	55080178
	สาธิตา	ละมัยกุล	รหัสนักศึกษา	55080202
หลักสูตร	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร			
พ.ศ.	2559			
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.พอใจ ถามากร			

บทคัดย่อ

ข้าวถือได้ว่าเป็นอาหารหลักของประชากรทั่วโลก มีคุณค่าทางโภชนาการที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพที่ดีให้แก่ร่างกาย ช่วยลดความเสี่ยงจากโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเบาหวาน โรคอ้วน โรคระบบประสาทและสมอง ทั้งยังช่วยลดคลอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือดได้อีกด้วย งานวิจัยในครั้งนี้ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา องค์ประกอบทางเคมี (ความชื้น, เถ้า, ไขมัน, โปรตีน, เยื่อใย และคาร์โบไฮเดรต) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และ กิจกรรมต้านออกซิเดชั่นของข้าวไร่พันธุ์สามเดือน (ทำการเพาะปลูกที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร) ที่มีช่วงระยะเวลาการเจริญที่แตกต่างกัน คือ 7 วัน , 12 วัน และ 15 วัน โดยทำการสกัดสารสำคัญจากเมล็ดข้าวด้วยเอทานอล 80% นำสารสำคัญที่สกัดได้มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric method และศึกษากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging, ABTS assays และ FRAP assaya (ferric reducing ability of plasma) จากผลการวิจัยพบว่าเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดต่างๆมีปริมาณองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ ความชื้น, เถ้า, โปรตีน, ใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรต ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ปริมาณไขมันของเมล็ดข้าวที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 15 วัน(3.72%) มีค่าสูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) เมื่อเทียบกับช่วงระยะการเจิญของเมล็ดที่ 12 วัน(2.68%) และพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดข้าวที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

คำสำคัญ : สารประกอบฟีนอลิก, กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ, การเจริญของเมล็ดข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem	Bioactive compounds in rice during grain development			
Student	Piranun	Kaewponuntakul	Student ID	55080178
	Sathita	Lamaikul	Student ID	55080202
Program	Bachelor of Science in Food process Engineering			
Year	2016			
Thesis Advisors	Assist.Prof. Porjai Thamokorn,			

Abstract

Rice is one of the staple crop that feeds almost half of the world's population. Rice grain contains many bioactive compounds associated with reducing the risks of developing several chronic diseases, such as cancer, cardiovascular disease, diabetes, obesity, neurodegenerative disease and decrease cholesterol and triglycerides in plasma. This study aims to determine in proximate composition, total phenolic conpounds (TPC) and antioxidant activities of the Upland Thai rice cultivars Sarm Deun rice varieties at three developmental stages, including 7, 12 and 15 days. Rice grain was extracted using 80% ethanol. The obtained extracts were determined for their levels of total phenolic compound by the Folin-Ciocalteu colorimetric method and antioxidant activities by DPPH radical scavenging, ABTS assays and FRAP assays (ferric reducing ability of plasma). The results showed that there was no significant different ($p>0.05$) in moisture, ash, protein, fiber and carbohydrate of 12 and 15 days of harvesting rice. But the 15 days harvested had total fat content (3.72%) significant ($p>0.05$) higher than 12 days harvested rice (2.68%). The total phenolic compounds (TPC) and antioxidant activities results showed that the developing rice grain at 12 days and 15 days are no significant ($p>0.05$).

Keywords : Phenolic conpounds, Antioxidant activities, Rice grain development

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

รายงานการทำปัญหาพิเศษเรื่อง สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในระยะการเจริญของเมล็ดข้าว (Bioactive compounds in rice during grain development) เล่มนี้สำเร็จลงได้เนื่องจากได้รับความกรุณาจาก ผศ.ดร.พอใจ ถามากร ที่ให้เกียรติมาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา แนะนำแนวทาง ตลอดจนตรวจทานแก้ไขการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้จนสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ ดร.กิตติชัย บรรจง ที่ให้ความกรุณามาเป็นคณะกรรมการ ค่อยช่วยเหลือแก้ไขให้คำแนะนำคำติชมทางด้านการศึกษาและการทำงานที่ดีมาโดยตลอด

ขอขอบคุณ คุณฉวี คุณวันทนีย์ คุณลำพึง และเจ้าหน้าที่ นักวิทยาศาสตร์ของคณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำและสิ่งอำนวยความสะดวกต่างในระหว่างการทำปัญหาพิเศษทำให้สามารถดำเนินงานได้อย่างราบรื่นและบรรลุผลตามเป้าหมาย

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้การสนับสนุน ขอแนะนำ และให้กำลังใจมาโดยตลอด

สุดท้ายนี้หากมีข้อผิดพลาดประการใด ทางคณะผู้จัดทำต้องขออภัยมา ณ ที่นี้ด้วย และหวังว่ารายงานการทำปัญหาพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์สูงสุดแก่ผู้ที่สนใจและผู้ที่ต้องการศึกษาต่อ

พิรานันท์ แก้วโพธิ์นันทกุล
สาธิตา ละมัยกุล
21 มิถุนายน 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย		I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ		II
กิตติกรรมประกาศ		III
สารบัญ		IV
สารบัญตาราง		VI
สารบัญภาพ		VII
บทที่ 1 บทนำ		1
1.1	ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2	วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง		3
2.1	ข้าว	3
2.2	การจำแนกประเภทของข้าว	3
2.3	โครงสร้างของเมล็ดข้าว	5
2.4	องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางอาหารของข้าว	7
2.5	สารประกอบฟีนอลิก	8
2.6	กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ	12
2.7	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	15
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง		18
3.1	วัตถุดิบและสารเคมี	18
3.2	อุปกรณ์	19
3.3	ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	19
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์		22
4.1	การศึกษาระยะการเจริญของเมล็ดข้าวต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ในข้าวไร่พันธุ์สามเดือน	22
4.2	การศึกษาระยะการเจริญของเมล็ดข้าวต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ในข้าวไร่พันธุ์สามเดือน	23
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ		25
เอกสารอ้างอิง		26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
ภาคผนวก	28
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี	29
ภาคผนวก ข การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก	44
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ	46
ภาคผนวก ง ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ	52
ภาคผนวก จ ภาพการทดลอง	62
ประวัติผู้เขียน	67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบทางเคมีของข้าวดำในส่วนของของเปลือกหุ้มเมล็ด (Outer layer) และเม็ดข้าวเต็มเมล็ด (Whole granule)	8
4.1	องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ระยะการเจริญของเมล็ด 7, 12 และ 15 วัน	22
4.2	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แล้วความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7, 12 และ 15 วัน	24
ก.1	ค่าเจอลดาห์แฟกเตอร์ของอาหารชนิดต่างๆ	35
ข.1	ปริมาณความเข้มข้นของกรดแกลลิก และค่าการดูดกลืนแสง	44
ค.1	ปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ	46
ค.2	ปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการดูดกลืนแสง	48
ค.3	ปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการดูดกลืนแสง	50
ง.1	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของความชื้นในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน	52
ง.2	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเถ้าของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 12 และ 15 วัน	53
ง.3	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของโปรตีนในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน	54
ง.4	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของไขมันในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน	55
ง.5	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของใยอาหารในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน	56
ง.6	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคาร์โบไฮเดรตในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ง.7	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน	58
ง.8	การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน	59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	การจำแนกความแตกต่างของข้าวแต่ละสายพันธุ์	5
2.2	โครงสร้างการเติบโตของเมล็ดข้าวเปลือก	6
2.3	ส่วนประกอบของเมล็ดข้าวกล้อง	6
2.4	โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกพื้นฐาน	9
2.5	ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลที่พบตามธรรมชาติในพืช	10
2.6	โครงสร้าง Butylated hydroxytoluene (BHT)	10
2.7	โครงสร้าง Butylated hydroxyanisole (BHA)	11
2.8	โครงสร้าง Tertiary Butyl Hydro Quinone (TBHQ)	11
ข.1	กราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของกรดแกลลิก และค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร	44
ค.1	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร	47
ค.2	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร	49
ค.3	กราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร	51
จ.1	ตัวอย่างข้าว 7, 12 และ 15 วัน	62
จ.2	ตัวอย่างข้าว 15 วันหลังผ่านการทำแห้ง	62
จ.3	การหาองค์ประกอบทางเคมี ความชื้น (Moisture)	63
จ.4	การหาองค์ประกอบทางเคมี เถ้า (Ash)	63
จ.5	การหาองค์ประกอบทางเคมี ไขมัน (Crude Fat)	64
จ.6	การหาองค์ประกอบทางเคมี ไขมัน (Crude Fat)	64
จ.7	การหาองค์ประกอบทางเคมี โปรตีน (Crude Protein)	65
จ.8	การหาองค์ประกอบทางเคมี เยื่อใย (Crude Fiber)	65
จ.9	สาร Diatomaceous earth (Celite) เป็นสารช่วยกรองเยื่อใยหยาบ (Crude fiber)	66
จ.10	การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านออกซิเดชั่นโดยวิธี DPPH ABTS และFRAP ตามลำดับ	66

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าว จัดเป็นอาหารหลักที่มีความสำคัญต่อประชากรโลก มีผู้คนกว่าครึ่งโลกที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก ประเทศไทยเรานั้นก็มีการบริโภคข้าวเป็นอาหารหลักเช่นเดียวกัน และที่สำคัญข้าวเป็นแหล่งของอาหารที่ให้พลังงานแก่ร่างกายในแต่ละวันของคนไทย ข้าวจัดเป็นอาหารหลักของคนทุกชาติทุกภาษา เพียงแต่ข้าวที่บริโภคนั้นจะต่างชนิดกันออกไปอาจเป็นชนิดที่แปรรูป มาจากข้าวชนิดต่างๆ เช่น ข้าวเจ้า ข้าวเหนียว ข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวไรย์ ข้าวบาร์เลย์ ซึ่งล้วนแต่เป็น ธัญพืชประเภทข้าว ให้สารอาหารคาร์โบไฮเดรต นอกจากนี้ยังมีวิตามินและแร่ธาตุ เป็นแหล่งที่ให้พลังงานและความอบอุ่น ซึ่งจะเห็นได้ว่าคนไทยส่วนใหญ่ยังคงบริโภคข้าวทุกวัน แต่บริโภคในรูปแบบที่แตกต่างกันออกไป อาทิเช่น ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ จะนิยมบริโภคข้าวเหนียวมากกว่าข้าวเจ้า

ในข้าวมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์มากมายประกอบไปด้วย วิตามินและแร่ธาตุต่างๆ, sterol, gamma-oryzanols, tocopherols, tocotrienols และ phenolic compounds ซึ่งสารอาหารเหล่านี้มีคุณประโยชน์มากมายที่จะช่วยส่งเสริมสุขภาพที่ดีให้แก่ร่างกาย และยังช่วยลดความเสี่ยงจากโรคเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง, โรคหลอดเลือดหัวใจ, โรคเบาหวาน, โรคอ้วน, โรคระบบประสาทและสมอง และยังช่วยลดคอเลสเตอรอลและไตรกลีเซอไรด์ในเลือด

นอกจากนี้แล้วยังมีการบริโภคผลิตภัณฑ์จากข้าวที่ยังเจริญไม่สุกเต็มเมล็ดในตะวันออกกลางและอเมริกาเหนือเนื่องจากคุณค่าทางโภชนาการสารอาหารของข้าวที่ยังไม่สุกเต็มเมล็ดที่มีอยู่มาก (Lin and Lai , 2010) แต่ยังมีงานวิจัยอยู่น้อยที่ศึกษาเรื่องความแตกต่างความเปลี่ยนแปลงของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) และสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ในเมล็ดข้าวที่ช่วงการเจริญของเมล็ดต่างๆกัน ซึ่งเรื่องที่กล่าวมาข้างต้นนั้นนับเป็นเรื่องที่น่าสนใจในการศึกษาต่อเพื่อนำไปพัฒนาผลิตภัณฑ์และเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้แก่ผู้บริโภค

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เพื่อศึกษาองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ปริมาณสารประกอบ phenolic และ antioxidant activity ในช่วงระยะเวลาการพัฒนาของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือน ปลูกโดยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เขตอุดมศักดิ์ มีอายุการเก็บเกี่ยวที่ 7, 12, 15 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อให้ทราบถึงช่วงระยะเวลาในการเก็บเกี่ยวที่แตกต่างกันมีผลต่อองค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในเมล็ดข้าว สามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ๆที่จะเกิดขึ้นในอนาคต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าว

ข้าว (Rice) เป็นธัญพืชมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Oryza sativa L. เป็นแหล่งอาหารหลักที่ให้คาร์โบไฮเดรตที่สำคัญในการดำรงชีวิตของประชากรโลก การจำแนกกลุ่มข้าวโดยอาศัยความรู้ด้านอนุกรมวิธาน สามารถแบ่งออกมาได้แก่ Oryza sativa L. ซึ่งปลูกกันโดยทั่วไปในส่วนต่าง ๆ ของโลก O. glaberrima Strud มีปลูกเฉพาะในแอฟริกาและข้าวป่า ซึ่งขึ้นอยู่ทั่วไป ตามธรรมชาติในส่วนต่าง ๆ ของโลกบางชนิดเชื่อว่า เป็นบรรพบุรุษของข้าวที่ปลูกกันอยู่ในปัจจุบัน

ข้าวเป็นอาหารอันดับหนึ่งของโลก โดยครึ่งหนึ่งของประชากรโลกบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก โดยเฉพาะประเทศไทย และชาวเอเชีย ส่วนประกอบหลักของข้าว คือ สตาร์ช ซึ่งประกอบด้วย amylose และ amylopectin ซึ่งมีผลต่อเนื้อสัมผัสของข้าวหุงสุก และใช้จำแนกชนิดของข้าว ข้าวนอกจากรับประทานเป็นข้าวหุงสุกแล้วยังใช้เป็นวัตถุดิบ เพื่อการแปรรูป (food processing) เพื่อการถนอมอาหารและเพิ่มมูลค่าเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น แป้งข้าว ข้าวกระป๋อง ข้าวนึ่ง ขนมจีน เส้นหมี่ ก๋วยจั๊บ และนำมาหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ (alcholic fermentaion) เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น สาเก (sake)

2.2 การจำแนกประเภทของข้าว

2.2.1 จำแนกตามคุณสมบัติทางเคมีภายในเมล็ด

2.2.1.1 ข้าวเจ้า ประกอบด้วยแป้งประมาณ 90% ซึ่งในส่วนของแป้งนี้จะประกอบด้วยส่วนใหญ่ๆ 2 ส่วนด้วยกัน คือ อะมิโลเปคติน (amylopetin) 60 – 90% และอะมิโลส (amylose) 10 – 30%

2.2.1.2 ข้าวเหนียว ประกอบด้วย อะมิโลเปคตินสูงถึง 95% มีปริมาณอะมิโลสน้อยมากหรือบางครั้งไม่พบเลย

2.2.2 จำแนกตามสภาพพื้นที่ปลูก

2.2.2.1 ข้าวไร่ (upland rice) เป็นข้าวที่ปลูกได้ทั้งบนที่ราบและที่ลาดชันไม่ต้องทำคันนาเก็บกักน้ำ นิยมปลูกกันมากในบริเวณที่ราบสูงตามไหล่เขาทางภาคเหนือ ภาคใต้ ภาคตะวันออกและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศ คิดเป็นเนื้อที่เพาะปลูกประมาณร้อยละ 10 ของเนื้อที่เพาะปลูกทั่วประเทศ

2.2.2.2 ข้าวนาสวน (lowland rice) เป็นข้าวที่ปลูกในที่ลุ่มทั่ว ๆ ไปในสภาพที่มีน้ำหล่อเลี้ยงต้นข้าวตั้งแต่ปลูกจนกระทั่งก่อนเก็บเกี่ยว โดยที่สามารถรักษาระดับน้ำได้และระดับน้ำต้องไม่สูงเกิน 1 เมตร ข้าวนาสวนนิยมปลูกกันมากแทบทุกภาคของประเทศคิดเป็นเนื้อที่เพาะปลูก ประมาณร้อยละ 80 ของเนื้อที่เพาะปลูกทั่วประเทศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2.3 ข้าวขึ้นน้ำหรือข้าวนาเมือง (floating rice) เป็นข้าวที่ปลูกในแหล่งที่ไม่สามารถรักษาระดับน้ำได้ บางครั้งระดับน้ำในบริเวณที่ปลูกอาจสูงกว่า 1 เมตร ต้องใช้ข้าวพันธุ์พิเศษที่เรียกว่า ข้าวลอย หรือ ข้าวฟ่างลอย ส่วนมากปลูกแถบจังหวัดพระนครศรีอยุธยา สุพรรณบุรี ลพบุรี พิจิตร อ่างทอง ชัยนาทและสิงห์บุรี คิดเป็นเนื้อที่เพาะปลูกประมาณร้อยละ 10 ของเนื้อที่เพาะปลูกทั่วประเทศ

2.2.3 จำแนกตามอายุการเก็บเกี่ยว

2.2.3.1 ข้าวเบา (early maturing rice) ออกดอกในช่วงปลายเดือนกันยายนถึงราววันที่ 20 ตุลาคม มีอายุเก็บเกี่ยว 90 – 100 วัน

2.2.3.2 ข้าวกลาง (medium maturing rice) ออกดอกประมาณวันที่ 20 ตุลาคม ถึง 31 ตุลาคม มีอายุเก็บเกี่ยว 100 – 120 วัน

2.2.3.3 ข้าวหนัก (late maturing rice) ส่วนใหญ่ออกดอกเดือน พฤศจิกายน บางพันธุ์ออกดอกเดือนธันวาคมหรือมกราคม มีอายุเก็บเกี่ยว 120 วันขึ้นไป

2.2.4 จำแนกตามลักษณะความไวต่อช่วงแสง

2.2.4.1 พันธุ์ข้าวไวต่อความยาวของช่วงแสง (photoperiod sensitive rice variety) โดยปกติข้าวเป็นพืชวันสั้น (short-day plant) ซึ่งต้องการสภาพช่วงวันหรือช่วงแสงสั้น ในขณะที่มีการเจริญเติบโตในระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นให้มีการสร้างและออกดอกหรือรวงข้าว ซึ่งมีวันออกดอกที่ค่อนข้างแน่นอนทุกปี

2.2.4.2 พันธุ์ข้าวไม่ไวต่อความยาวของช่วงแสง (photoperiod insensitive rice variety) เป็นข้าวที่มีการออกดอกตามอายุ ซึ่งนับเป็นจำนวนวันตั้งแต่วันตกกล้าถึงวันออกรวง และจะเก็บเกี่ยวได้ภายหลังจากออกรวงประมาณ 30 วัน ซึ่งมักมีอายุตั้งแต่ 90-140 วัน สามารถปลูกได้ตลอดปีและนิยมปลูกในนาปรังที่มีน้ำเพียงพอต่อการปลูก

2.2.5 จำแนกตามรูปร่างของเมล็ดข้าวสาร

2.2.5.1 ข้าวเมล็ดสั้น (Short grain) ความยาวของเมล็ด ไม่เกิน 5.50 มิลลิเมตร

2.2.5.2 ข้าวเมล็ดยาวปานกลาง (Medium grain) ความยาวของเมล็ด ตั้งแต่ 5.51- 6.60 มิลลิเมตร

2.2.5.3 ข้าวเมล็ดยาว (Long grain) ความยาวของเมล็ด ตั้งแต่ 6.61-7.50 มิลลิเมตร

2.2.5.4 ข้าวเมล็ดยาวมาก (Extra-long grain) ความยาวเมล็ดตั้งแต่ 7.51 มิลลิเมตรขึ้นไป

2.2.6 จำแนกตามฤดูปลูก

2.2.6.1 ข้าวนาปีหรือข้าวนาน้ำฝน คือ ข้าวที่ปลูกในฤดูการทำนาปกติ เริ่มตั้งแต่เดือนพฤษภาคมถึงตุลาคมและเก็บเกี่ยวเสร็จสิ้นล่าสุดไม่เกิน เดือนกุมภาพันธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.6.1 ข้าวนาปรัง คือ ข้าวที่ปลูกนอกฤดูการทำนาปกติ เริ่มตั้งแต่เดือนมกราคม ในบางท้องที่จะเก็บเกี่ยวอย่างช้าที่สุดไม่เกินเดือนเมษายน นิยมปลูกในท้องที่มีการชลประทานดี เช่น ในภาคกลาง

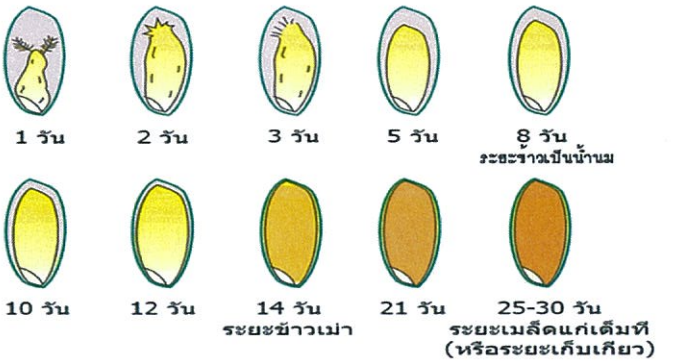
ซึ่งจากข้อมูลที่กล่าวมาในข้างต้นทำให้เกิดความหลากหลายในเมล็ดข้าว เกิดเป็นข้าวในสายพันธุ์ต่างๆ ที่มีลักษณะ องค์ประกอบที่แตกต่างกันออกไป ดังที่แสดงในภาพที่ 2.1

ภาพที่ 2.1 การจำแนกความแตกต่างของข้าวแต่ละสายพันธุ์
ที่มา : http://www.jeamrice.com/%E0%.html

2.3 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

เมล็ดข้าว หมายถึง ส่วนที่เป็นแป้งที่เรียกว่า เอ็นโดสเปิร์ม (endosperm) และส่วนที่เป็นคัพภะ ซึ่งห่อหุ้มไว้โดยเปลือกนอกใหญ่สองแผ่น เอ็นโดสเปิร์มเป็นแป้งที่เราบริโภค คัพภะเป็นส่วนที่มีชีวิตและงอกออกมาเป็นต้นข้าวเมื่อเอาไปเพาะการที่ละอองเกสรตัวผู้ตกลงบนที่รับละอองเกสรของเกสรตัวเมียนั้นเรียกว่า การผสมเกสร หลังจากการผสมเกสรเล็กน้อย ละอองเกสรตัวผู้ก็จะงอกลงไปในก้านของที่รับละอองเกสร เพื่อจะได้นำนิวเคลียส จากละอองเกสรตัวผู้ลงไปผสม โดยรวมตัวกับไข่และนิวเคลียสอื่นๆ ในรังไข่ นิวเคลียสที่ได้รวมตัวกับไข่จะเจริญเติบโตเป็นคัพภะ ส่วนนิวเคลียสที่ได้รวมตัวกับนิวเคลียสอื่นๆ (polar nuclei) ก็จะเจริญเติบโตเป็นแป้งที่เรียกว่า เอ็นโดสเปิร์ม หลังจากการผสมเกสรในระยะแรกจะอยู่ในระยะน้ำนม (milky) เปลี่ยนเป็นแป้งอ่อน (dough) จนกระทั่งเมล็ดสุก (ripening) เป็นแป้งแข็งเป็นระยะสุกแก่หรือเก็บเกี่ยว (harvest maturity) จากนั้นประมาณ ๓๐ วัน เมล็ดข้าวก็จะแก่พร้อมที่จะเก็บเกี่ยว ดังที่แสดงในภาพที่ 2.2

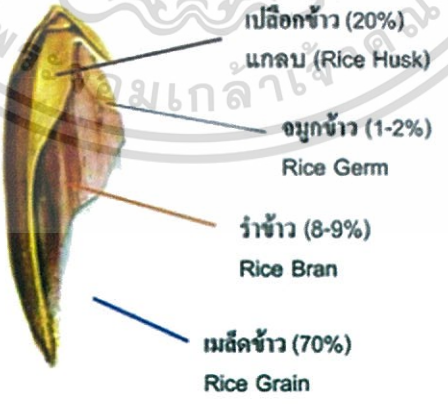
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างการเติบโตของเมล็ดข้าวเปลือก

ที่มา : http://narapimon.com/B8%A7/

เมื่อได้แกะเปลือกนอกใหญ่ของเมล็ดข้าวเปลือกที่เก็บเกี่ยวมา จะได้เมล็ดข้าวที่เรียกว่า ข้าวกล้อง (brown rice) เมล็ดข้าวกล้องมักจะเป็นสีน้ำตาลอ่อน ๆ ดังแสดงในภาพที่ 2.3 และเมื่อผ่าตัดเมล็ดข้าวกล้องออกตามความยาวแล้วศึกษาลักษณะของมันอย่างละเอียด จะพบว่า เมล็ดข้าวกล้องประกอบด้วย เยื่อชั้นนอกบาง ๆ เรียกว่า เพอริคาร์พเลเยอร์ (pericarp layers) จำนวน ๓ ชั้น เยื่อชั้นกลางบางหนึ่งชั้น เรียกว่า เท็กเมน (tegmen) และเยื่อชั้นในบาง ๆ อีกหนึ่งชั้นเรียกว่า อะลูโรนเลเยอร์ (aleurone layer) ถ้าเพอริคาร์พเลเยอร์เป็นสีน้ำตาล เมล็ดข้าวกล้องก็จะเป็นสีน้ำตาล และถ้าเพอริคาร์พเลเยอร์เป็นสีแดง เมล็ดข้าวกล้องก็จะเป็นสีแดง ส่วนภายในที่เป็นแป้งจะมีลักษณะเป็นแป้งสีขาวหรือใส เป็นจำนวนน้อยมากที่มีแป้งเป็นสีแดง ข้าวเหนียวจะมีแป้งเป็นสีขาวขุ่น ส่วนข้าวเจ้ามีแป้งใสกว่า อย่างไรก็ตาม ที่แป้งของ เมล็ดข้าวเจ้า อาจมีจุดสีขาวขุ่นเกิดขึ้นที่ด้านข้างหรือตรงกลางของเมล็ดก็ได้ ซึ่งเรียกว่า ท้องไข่ หรือ ท้องปลาซิว (chalkiness หรือ white center)



ภาพที่ 2.3 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าวกล้อง

ที่มา : http://narapimon.com/B8%A7/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 องค์ประกอบทางเคมีและคุณค่าทางอาหารของข้าว

2.4.1 แกลบ ประกอบไปด้วย โปรตีน ไขมัน เยื่อใย คาร์โบไฮเดรต เถ้า สารซิลิกา แคลเซียม ฟอสฟอรัส ลิกนิน เซลลูโลส เพนโตแซน เฮมิเซลลูโลส และอื่นๆ เราสามารถนำแกลบไปใช้งานได้หลายอย่าง เช่น ทำปุ๋ยใส่ต้นไม้ นำไปเผาใช้เป็นพลังงานความร้อนได้ เป็นขี้เถ้าใช้ทำสบู่หรือใส่ในนาข้าวเพื่อปรับสภาพดิน และช่วยลดการทำลายของโรคและแมลงศัตรูข้าว ใช้ผสมดินเหนียวเป็นส่วนประกอบของอิฐ ฯลฯ

2.4.2 ข้าวกล้อง เมื่อนำข้าวกล้องมาขัดเอาผิวออกจะได้รำหยาบและจมูกข้าว (5 – 8 %), รำละเอียดและจมูกข้าว (2 – 3 %) และข้าวสาร (60 -73 %) องค์ประกอบหลักของเมล็ดข้าวคือ คาร์โบไฮเดรต หรือแป้งข้าว (Starch)

2.4.3 คาร์โบไฮเดรตหรือแป้งข้าว ข้าวจะมีแป้งอยู่ 90 % ของน้ำหนักแห้ง เม็ดแป้ง 20 – 60 เม็ด อัดรวมกันอยู่ในอมิโลพลาสและล้อมรอบเม็ดแป้งด้วยโปรตีน แป้งข้าวสามารถแยกออกเป็นองค์ประกอบย่อย 2 ชนิด ได้แก่ อมิโลเปคติน (Amylopectin) และอมิโลส (Amylose)

2.4.3.1 อมิโลเปคติน เป็นแป้งที่เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสมีโครงสร้างโมเลกุลเหมือนกิ่งไม้ โดยมีพันธะ α 1-4 D เชื่อมน้ำตาลกลูโคสเป็นเส้นยาว และพันธะ α 1-6 D เชื่อมน้ำตาลกลูโคสที่แตกแยกออกจากเส้นตรง คุณสมบัติของอมิโลเปคติน ทำปฏิกิริยากับสารไอโอดีนได้สีม่วงหรือน้ำตาลแดง ดูดซับไอโอดีนและเซลลูโลสได้ต่ำ และย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์ β-amylase ได้ต่ำ

2.4.3.2 อมิโลส เป็นแป้งที่เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสเช่นกัน มีโครงสร้างโมเลกุลเป็นแบบเส้นตรงมีพันธะ α 1-4 D เชื่อมน้ำตาลกลูโคสเป็นเส้นยาว คุณสมบัติของอมิโลส คือ ทำปฏิกิริยากับสารไอโอดีนได้สีน้ำเงินเข้ม ดูดซับไอโอดีนและเซลลูโลสได้มาก และย่อยสลายด้วยเอ็นไซม์ β-amylase ได้ 100%

2.4.4 โปรตีน เมล็ดข้าวมีส่วนประกอบของโปรตีนอยู่ประมาณ 4.3 – 18.2 % หรือเฉลี่ย 9.5 % เป็นอันดับสองรองจากแป้ง ปริมาณโปรตีนที่พบในเมล็ดข้าวมีความแปรปรวนขึ้นอยู่กับสถานที่ปลูกและสภาพแวดล้อม โปรตีนในเมล็ดข้าวสามารถแบ่งเป็น 4 ชนิดตามคุณสมบัติในการละลายได้แก่

2.4.4.1 อัลบลูมิน (Alblumin) มีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำ (Water soluble protein)

2.4.4.2 โกลบูลิน (Globulin) มีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำเกลือ (Salt soluble protein)

2.4.4.3 โปรลามิน (Prolamin) มีคุณสมบัติละลายได้ในแอลกอฮอล์ (Alcohol soluble protein)

2.4.4.4 กลูเตลลิน (Glutelin) มีคุณสมบัติละลายได้ในกรดหรือด่าง (Acid or alkali soluble protein)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.5 ไขมัน ไขมันที่อยู่ในเมล็ดข้าวมักจะอยู่ในสภาพเป็นหยดไขมันเล็กๆ ขนาดเล็กกว่า 1.5 ไมครอนอยู่บริเวณเยื่อหุ้มผิวเมล็ด (รำหยาบและรำละเอียด) และจมูกข้าว (คัพภะ) เมล็ดข้าวมีไขมัน 1.6 – 2.8% ส่วนใหญ่อยู่ในรำข้าว ไขมันที่ได้จากข้าวเป็นไขมันชนิดที่มีคุณภาพดี โดยมีปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวสูง (Linoleic acid, Oleic acid และ Palmitic acid) มีสารแกมม่า ออไรซานอล (Gamma Oryzanol) ช่วยในการควบคุมระดับโคเลสเตอรอลในเส้นเลือด และช่วยในการเจริญเติบโตของทารกในครรภ์ เด็กแรกเกิด และเด็กเล็ก

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวดำในส่วนของของเปลือกหุ้มเมล็ด (Outer layer) และเม็ดข้าวเต็มเมล็ด (Whole granule)

Composition / 100mg	Black Rice (Outer layer)	Black Rice (Whole granule)
Protein (g)	17	10.0
Fat (g)	9.8	2.0
Moisture (g)	8.3	11.0
Ash (g)	7.6	1.4
Carbohydrate (g)	57.0	76.0
Energy (kjoules)	1610	1510

ที่มา : ดัดแปลงจากตารางของ Forbes Medi-Tech Inc. (2002) http://www.google.com/patents/WO2003080084A1?cl=en

จากตัวอย่างงานวิจัย ดังตารางที่ 2.1 Forbes Medi-Tech Inc. (2002) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวดำในส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ด (Outer layer) และเม็ดข้าวเต็มเมล็ด (Whole granule) พบว่าข้าวดำในปริมาณ 100 มิลลิกรัม ส่วนของเปลือกหุ้มเมล็ดมีความเข้มข้นขององค์ประกอบทางเคมีสูงกว่าเม็ดข้าวเต็มเมล็ด

2.5 สารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) หรือสารประกอบฟีนอล เป็นสารที่พบตามธรรมชาติในพืชหลายชนิด เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่วเมล็ดแห้ง เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในการเจริญเติบโต สารประกอบฟีนอล มีโภชนเภสัช ซึ่งสรรพคุณที่ดีต่อสุขภาพคือ มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) สามารถละลายได้ในน้ำ

2.5.1 โครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟีนอล มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวน ที่เป็นอนุพันธ์ของวงแหวนเบนซิน มีหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ต่ออยู่

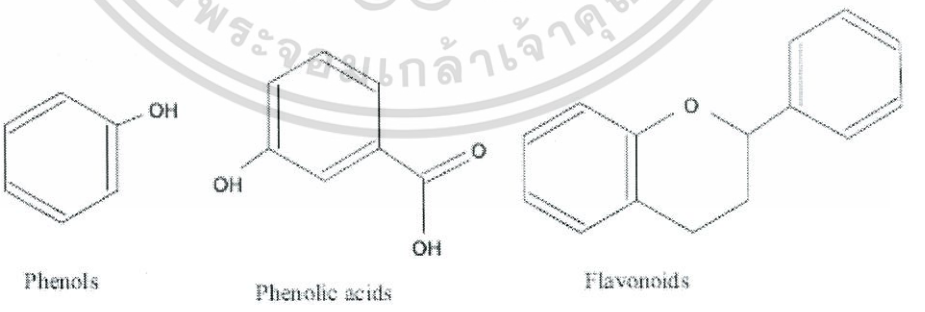
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารประกอบฟีนอลพื้นฐาน (ดังภาพที่ 2.4) คือ สารฟีนอล (phenol) ในโมเลกุลประกอบด้วยวงแหวนเบนซิน 1 วง และหมู่ ไฮดรอกซิล 1 หมู่ สารประกอบฟีนอลที่พบในธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด และมีลักษณะสูตรโครงสร้างทางเคมีที่แตกต่างกัน ตั้งแต่กลุ่มที่มีโครงสร้างอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก (phenolic acids) ไปจนถึงกลุ่มที่มีโครงสร้างเป็นพอลิเมอร์ เช่น ลิกนิน (lignin) กลุ่มใหญ่ที่สุดที่พบคือ สารประกอบพวกฟลาโวนอยด์ (flavonoid) สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมักจะรวมอยู่ในโมเลกุลของน้ำตาลในรูปของสารประกอบไกลโคไซด์ (glycoside) น้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุดในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) และพบว่าอาจมีการรวมตัวกันระหว่างสารประกอบฟีนอลด้วยกันเอง หรือสารประกอบฟีนอลกับสารประกอบอื่นๆ เช่น กรดอินทรีย์ (organic acid) รวมอยู่ในโมเลกุลของโปรตีน แอลคาลอยด์ (alkaloid) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) เป็นต้น

2.5.2 แหล่งที่พบ

2.5.2.1 สารประกอบฟีนอล พบอยู่ในส่วนของช่องว่างภายในเซลล์ (cell vacuole) ในส่วนต่างๆ ของพืช เป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นเพื่อประโยชน์ในกระบวนการเจริญเติบโตและการขยายพันธุ์ของพืชแต่ละชนิด (ดังภาพที่ 2.5)

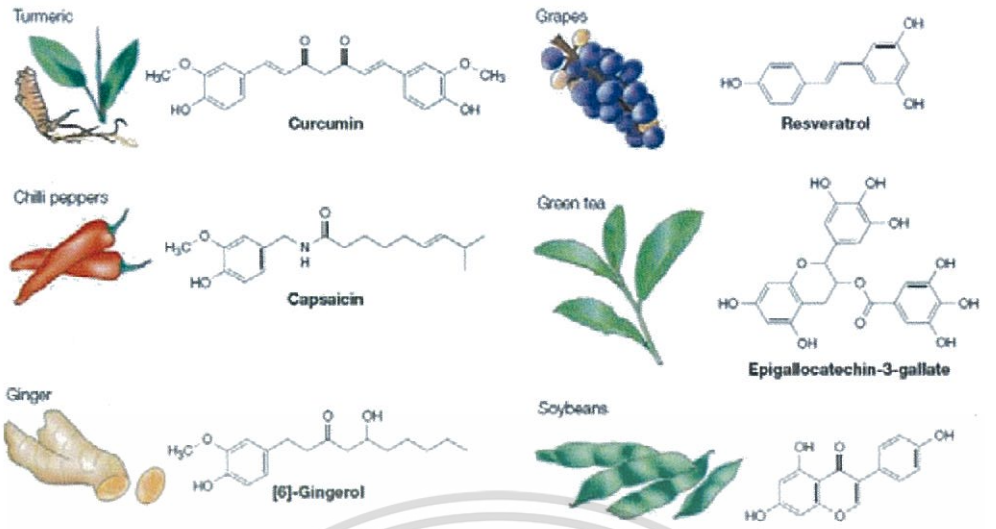
1. ถั่วเมล็ดแห้ง ได้แก่ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง
2. เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว และ งา
3. ผลไม้ ได้แก่ องุ่น ส้ม กระท้อน
4. เครื่องเทศ เช่น พริกไทย พริก ขิง กระเทียม หอมแดง หอมหัวใหญ่
5. พืชเครื่องดื่ม ได้แก่ ชา โกโก้
6. พืชหัว ได้แก่ มันเทศ



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกพื้นฐาน

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound

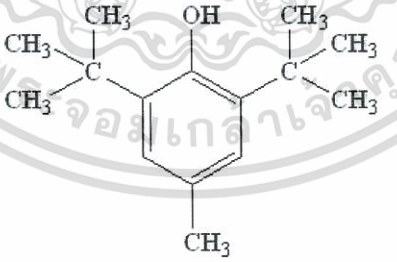
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.5 ตัวอย่างของสารประกอบฟีนอลที่พบตามธรรมชาติในพืช
ที่มา : http://isnff.org/files/ISNFF_Newsletter_March_2011-1.pdf

2.5.2.2 สารประกอบฟีนอล ประเภทสารสังเคราะห์

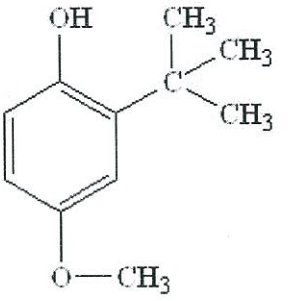
1. Butylated hydroxytoluene หรือเรียกย่อว่า BHT (ดังภาพที่ 2.6) เป็นสารประกอบฟีนอล (phenolic compound) ที่ใช้เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) ใช้เป็นสารต้านออกซิเดชัน(antioxidant) ป้องกันการหืน (rancidity) ของไขมันและน้ำมันจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation) เช่นเดียวกับ BHA มักผสมรวมกับวัตถุกันหืนชนิดอื่น เพื่อเสริมให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น



ภาพที่ 2.6 โครงสร้าง Butylated hydroxytoluene (BHT)
ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1576/butylated-hydroxytoluene-bht

2. Butylated hydroxyanisole หรือย่อว่า BHA (ดังภาพที่ 2.7) เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) ที่เป็น phenolic compound ใช้เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) ป้องกันการหืน (rancidity) ของไขมันและน้ำมันจากปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation)

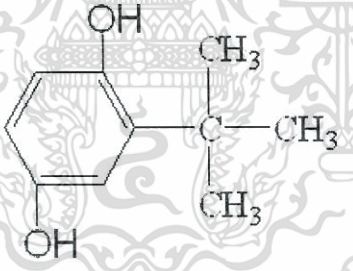
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.7 โครงสร้าง Butylated hydroxyanisole (BHA)

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1577/bha

3. Tertiary Butyl Hydro Quinone เรียกย่อว่า TBHQ (ดังภาพที่ 2.8) เป็นวัตถุเจือปนอาหาร (food additive) มี E-number คือ E319 เป็นphenolic compounds ใช้เพื่อเป็นเป็นสารกันหืน (antioxidant) ป้องกันการหืน (rancidity) ที่เกิดจากปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิพิด (lipid oxidation)



ภาพที่ 2.8 โครงสร้าง Tertiary Butyl Hydro Quinone (TBHQ)

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2123/tertiary-butyl-hydro-quinone-tbhq

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ

2.6.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ (อังกฤษ: radical หรือมักใช้ว่า free radical) คือ อะตอม โมเลกุลหรือไอออน ซึ่งมีอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวหรือการจัดเรียงเป็นเชลล์เปิด (open shell) อนุมูลอิสระอาจมีประจุเป็นบวก ลบ หรือเป็นศูนย์ก็ได้ ด้วยข้อยกเว้นบางประการ อิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวเหล่านี้ทำให้อนุมูลอิสระว่องไวต่อปฏิกิริยาสูง อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการสันดาป เคมีบรรยากาศ พอลิเมอไรเซชัน เคมีพลาสมาชีวเคมี และกระบวนการทางเคมีอีกหลายอย่าง ในสิ่งมีชีวิต ซูเปอร์ออกไซด์ ไนตริกออกไซด์และผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาของมันควบคุมหลายกระบวนการ เช่น ควบคุมการบีบตัวของหลอดเลือด ซึ่งควบคุมความดันโลหิตอีกต่อหนึ่ง นอกจากนี้ อนุมูลอิสระยังมีบทบาทสำคัญในเมแทบอลิซึมตัวกลางของสารประกอบทางชีวภาพหลายชนิด

อนุมูลอิสระเกิดขึ้นเป็นปกติจากปฏิกิริยาในร่างกายอยู่แล้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เมื่อมีธาตุเหล็ก ทองแดง แมงกานีส โคบอลต์ โครเมียม นิเกิลน้อย มักเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยร่างกายจะมีระบบกำจัดอนุมูลอิสระ แต่หากร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระจากภายนอก เช่น ได้รับจากอาหารบางชนิด จากขบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีไขมันประกอบสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่อุณหภูมิสูง ๆ มาใช้อีก หรือจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสงอาทิตย์ซึ่งมีรังสีอัลตราไวโอเลต การแผ่รังสี รังสีเอกซ์ หรือจากมลพิษ เช่น ควันบุหรี่ ก๊าซคาร์บอนมอนอกไซด์จากไอเสียรถยนต์ มากเกินไป หรือในภาวะที่ร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ลดลง ก็จะทำให้มีอนุมูลอิสระมากเกินไป เป็นสาเหตุของโรคภัยได้

อนุมูลอิสระที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อไขมัน (โดยเฉพาะไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ) โปรตีน หน่วยพันธุกรรม และคาร์โบไฮเดรต ซึ่งจะไม่กล่าวถึงรายละเอียดในที่นี้ ทำให้เพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด โรคที่สำคัญและมีการศึกษากันมาก ได้แก่ โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว โรคมะเร็งบางชนิด โรคอัลไซเมอร์ โรคไขข้ออักเสบ โรคความแก่ เป็นต้น

2.6.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระ คือโมเลกุลของสารที่สามารถจับกับตัวรับและสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของโมเลกุลสารอื่นๆได้ ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นปฏิกิริยาเคมีที่เกี่ยวเนื่องกับการแลกเปลี่ยนอิเล็กตรอนจากสารหนึ่งไปยังตัวออกซิไดซ์ ปฏิกิริยาดังกล่าวสามารถให้ผลิตภัณฑ์เป็นสารอนุมูลอิสระ (free radical) ซึ่งสารอนุมูลอิสระเหล่านี้จะเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่และทำลายเซลล์ของร่างกาย สารต้านอนุมูลอิสระจะเข้ายุติปฏิกิริยาลูกโซ่เหล่านี้ด้วยการเข้าจับกับสารอนุมูลอิสระและยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยถูกออกซิไดซ์ ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงถือเป็นตัวรีดิวซ์ อาทิ ไธออล กรดแอสคอร์บิก และโพลีฟีนอล

สารต้านออกซิเดชัน สามารถแบ่งตามกลไกการยับยั้งได้เป็น 3 ชนิด คือ

- Preventive antioxidant ป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ
- Scavenging antioxidant ทำลายหรือยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น
- Chain breaking antioxidant ทำให้ลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระสิ้นสุดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6.3 วิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติมีมากมายหลายชนิด จึงมีการคิดวิธีการทดสอบความสามารถของสารในการยับยั้งอนมูลอิสระ ยกตัวอย่างวิธีที่นิยมใช้ในการทดสอบมี 5 วิธี ได้แก่

2.6.3.1.วิธี Scavenging activity of ABTS radical (Re et al., 1999)

วิธีนี้เป็นวิธีวัดทางอ้อมโดยใช้สาร 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) หรือ ABTS มีสูตรโมเลกุล $C_{18}H_{18}N_4O_6S_4$ มาทำให้เป็นอนมูลอิสระโดยการถูกออกซิไดซ์ด้วยโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตให้กลายเป็น $ABTS^{+\bullet}$ ซึ่งเป็นอนุมูลที่มีสีฟ้า-เขียวมีความยาวคลื่นที่ 660, 734 และสูงสุด 820 นาโนเมตร แต่จะนิยมวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 nm โดยปรับค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น $ABTS^{+\bullet}$ให้เป็น 0.700±0.02 เมื่อเติมสารทดสอบที่มีกิจกรรมต้านออกซิเดชันจะทำให้ $ABTS^{+\bullet}$ ลดลงซึ่งจะทำให้สีจางลง และสามารถนำไปคำนวณเป็น %Inhibition ได้ตามสมการ

% Inhibition = [(A734 control – A 734 test sample) / A734 control] × 100

ผลการวิเคราะห์จะคำนวณเป็นค่าที่สัมพันธ์กับสารต้านอนุมูลอิสระมาตราฐาน Trolox จึงมีชื่อว่า Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

ข้อดีของวิธีนี้คือ ทำได้ง่ายอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ จะทำปฏิกิริยาอย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{+\bullet}$ ละลายได้ทั้งในน้ำและสารทำละลายอินทรีย์ จึงทำให้ศึกษาได้ทั้งในสารที่ละลายในน้ำหรือละลายในไขมันส่วน ข้อเสียของวิธีนี้ คือ ABTS ไม่เป็นสารตามธรรมชาติที่ก่อให้เกิดอนุมูลในเซลล์หรือร่างกาย

$$\underset{\text{734 nm}}{ABTS^{+\bullet}} \xrightarrow{+\text{antioxidant}} \underset{\text{colourless}}{ABTS}$$

2.6.3.2 วิธี DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical

อนุมูล DPPH• เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัวมีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้วโดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูลเหมือนกันกรณีอนุมูล $ABTS^{+\bullet}$ การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถของสารทดสอบในการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธีให้ไฮโดรเจนอะตอม การวัดทำโดยใช้เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) วัดการลดลงของสี เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปโดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาว 517 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

DPPH radical ใช้ในการทดสอบความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารตัวอย่าง (scavenging activity) สารละลายของ DPPH• มีสีม่วงในเอทานอลและเมื่อได้รับ H จะเปลี่ยนเป็นสารละลายสีเหลืองตามสมการดังนี้ (Blois, 1958)

$DPPH^{\bullet}$	+	RH	$\longrightarrow$	DPPH-H	+	$R^{\bullet}$
สีม่วง		ตัวอย่างทดสอบ		สีเหลือง		

ค่าที่วัดได้จะแสดงความสามารถในการสารต้านอนุมูลอิสระออกมาในค่า % inhibition ตามสมการดังนี้

% Inhibition = [(A517 control – A517 test sample)/ A517 control)] × 100

ข้อดีของวิธีนี้คือทำได้ง่ายนิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านออกซิเดชันจากธรรมชาติ

ข้อเสียของวิธีนี้คืออนุมูล DPPH• มีความคงตัวไม่ไวต่อการทำปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้

2.6.3.3 วิธี Reducing power

ความสามารถของการเป็นตัวให้อิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชันรีดักชันของสารที่ต้องการทดสอบสามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้

วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์หรือให้อิเล็กตรอนขอสารตัวอย่างที่ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบโดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระแล้วทำให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัวอีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วยโดยอาศัยจากการวัดปฏิกิริยา reduction ของ $Fe^{3+}(CN^{-})_6$ ไปเป็น $Fe^{2+}(CN^{-})_6$ ซึ่งจะทำให้มีสีน้ำเงินที่เข้มข้นขึ้นสามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงความสามารถในการริดิวซ์ที่มากขึ้น

2.6.3.4 วิธี Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) assay

วิธีการนี้ อาศัยหลักการของสารต้านอนุมูลอิสระสามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน $[\ Fe\ (III)\ (TPTZ)_2\ ]^{3+}$ ทำให้เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น $[\ Fe\ (II)\ (TPTZ)_2\ ]^{2+}$ ดังสมการ

$$[\ Fe\ (III)\ (TPTZ)_2\ ]^{3+} \xrightarrow{\text{antioxidant}} [\ Fe\ (II)\ (TPTZ)_2\ ]^{2+}$$

ซึ่ง $[\ Fe\ (II)\ (TPTZ)_2\ ]^{2+}$ มีความสามารถในการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ปริมาณของ $[\ Fe\ (II)\ (TPTZ)_2\ ]^{2-}$ ที่เกิดขึ้นสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูป FRAP value เทียบกับกราฟมาตรฐานของเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) ซึ่งขั้นตอนโดยละเอียดของวิธีการนี้ได้แก่ การทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน [Fe (III) $(TPTZ)_2$ $]^{3+}$ ประกอบด้วย นำสารละลาย TPTZ (2,4,6-tri (2-pyridyl)-striazine) ที่ละลายด้วยกรดไฮโดรคลอริกเจือจางมาทำปฏิกิริยากับสารละลายอะซิเทตบัฟเฟอร์และสารละลายเฟอริกไตรคลอไรด์เฮกซะไฮเดรต จากนั้นทำการรีดิวซ์เฟอร์ริกโดยการเติมสารละลายมาตรฐานเฟอร์รัสซัลเฟตหรือสารตัวอย่าง (สารต้านอนุมูลอิสระ) และตั้งทิ้งไว้ในที่มืดวิธีการนี้เป็นวิธีที่ง่าย ใช้เวลาน้อย ไม่แพงและสามารถทำซ้ำแล้วให้ผลเหมือนเดิม แต่ข้อเสียคือ ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นเป็นปฏิกิริยา เคมีที่ไม่เกี่ยวข้องกับสภาวะร่างกายและสารละลายที่ใช้อ้างอิงต้องใช้น้ำปราศจากไอออน (deionizedwater) ตัวอย่างงานวิจัยที่ใช้วิธีการดังกล่าว เช่น การตรวจพบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดเอทิลอะซิเทตและบิวทานอลของใบฝรั่ง สารสกัดรังกะแท้ ในประเทศจีนที่สกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ และสารสกัดเมทานอลและเอทิลอะซิเทตในพืชวงศ์Lamiaceae และวงศ์Apiaceae จำนวน 7 ชนิดจากประเทศอิหร่าน

2.6.3.5 วิธี Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC) assay

วิธี ORAC นี้เป็นการรวมกันระหว่างการหาค่าเวลาในการยับยั้งอนุมูลอิสระและปริมาณการยับยั้งอนุมูลอิสระ ในขณะที่วิธีการอื่นมักหาค่าเวลาในการยับยั้งเมื่อกำหนดปริมาณการยับยั้งอนุมูลอิสระหรือหาปริมาณในการยับยั้งอนุมูลอิสระเมื่อกำหนดระยะเวลาหลักการโดยย่อของวิธี ORAC คือนำตัวอย่างหรือตัวควบคุมหรือสารมาตรฐานผสมกับสารฟลูออเรสซีน แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส แล้วเติม AAPH เพื่อเริ่มปฏิกิริยา วัดความเข้มของแสงฟลูออเรสเซนซ์ที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร ความยาวคลื่นกระตุ้นที่ 525 นาโนเมตรและความยาวคลื่นทะลุผ่าน (emission) ที่ 525 นาโนเมตร เป็นเวลา 35 นาทีโดยประมาณและตั้งอุณหภูมิภายในเครื่องที่ 37 องศาเซลเซียส โดยในการทดลองใช้สาร Trolox (วิตามินอีสังเคราะห์) ความเข้มข้น 4-5 ระดับ เป็นสารมาตรฐาน นำผลที่ได้มาคำนวณหาพื้นที่ใต้กราฟ (area under curve, 19 AUC) แล้วคำนวณเป็นค่าพื้นที่ใต้กราฟสุทธิ นำค่าที่ได้มาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ Trolox กับพื้นที่ใต้กราฟ

2.7 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Lin และ Lai (2010) ได้ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวสองสายพันธุ์ที่เมล็ดกำลังเจริญประกอบด้วยสายพันธุ์ KFSW (a waxy indica red rice) และ TK16 (a nonwaxy japonica rice) นำมาตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอย์ของเมล็ดข้าวที่กำลังเจริญ พบว่ามีปริมาณมากกว่าในเมล็ดที่เจริญสุกเต็มที่แล้วอย่างมีนัยสำคัญ สารสกัดฟีนอลิกถูกแบ่งออกเป็น 3 ส่วน คือ free, soluble-ester และ insoluble-bound โดย ferulic acid เป็นองค์ประกอบที่พบมากที่สุดในสารสกัดฟีนอลิกทั้งสามส่วนทั้งในเมล็ดข้าวที่ยังไม่เจริญสุกเต็มที่และที่เจริญสุกเต็มที่แล้ว และพบ alpha-tocopherol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งเป็นวิตามินอีที่พบในปริมาณสูงที่สุด รองลงมา คือ gamma-tocotrienol ใน KFSW พบ alpha-tocotrienol เป็นองค์ประกอบที่พบมากที่สุดใน TK16 โดยพบทั้งใน free และ soluble-ester ferulic acids และเยื่อใยอาหารที่ละลายได้ (soluble dietary fiber) total tocols และ oryzanols ใน 15 และ 18 วัน หลังการบานของดอกแสดงให้เห็นว่าเมล็ดข้าวที่ยังเจริญไม่สุกเต็มที่ประกอบไปด้วยสารปะกอบทางชีวภาพมากมายที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งสามารถพัฒนามาประยุกต์ใช้ในอาหารที่เป็นโภชนเภสัช

Shao และคณะ (2013) ได้ศึกษาความแตกต่างของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก, ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และกรดฟีนอลิกในส่วนที่เป็น free, conjugated และ bound ของข้าวขาว ข้าวแดง และข้าวดำ ที่ระยะเวลา 1, 2, และ 3 สัปดาห์หลังจากที่ข้าวออกดอก และเมื่อเมล็ดข้าวสุกเต็มที่ โดยผลการทดลองพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของข้าวขาว และข้าวแดงมีปริมาณมากอย่างมีนัยสำคัญที่ 1 สัปดาห์มากกว่าช่วงระยะการเจริญของเมล็ดช่วงอื่นๆ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของข้าวดำมีปริมาณมากที่สุดเมื่อเมล็ดข้าวสุกเต็มที่ และความสามาถในการต้านอนุมูลอิสระทำการวัดโดยวิธี DPPH free radical scavenging และ ORAC method ผลที่ได้มีแนวโน้มเช่นเดียวกับค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิก นอกจากนี้ยังศึกษาปริมาณสารแอนโทไซยานินที่พบเฉพาะในข้าวดำ โดยตรวจพบ cyaniding-3-glucoside (C3G) และ peonidin-3-glucoside (P3G) เป็นสารประกอบแอนโทไซยานินหลักที่พบในข้าวดำซึ่งพบว่าที่ระยะ 2 และ 3 สัปดาห์มีปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าที่ 1 สัปดาห์และเมล็ดข้าวที่สุกเต็มที่

Kim และคณะ (2015) ได้ศึกษาถึงหน่วยย่อยของลิพิด ได้แก่ กรดไขมัน, ϒ-oryzanol, policosanols และ tocol (tocopherol และ tocotrienol) โดยทำการตรวจวัดในเมล็ดข้าวสองสายพันธุ์ที่อยู่ในช่วงการเจิญของเมล็ด คือ Ilpum และ Dasan พบว่าข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีองค์ประกอบของกรดไขมันที่แตกต่างกันขึ้นกับช่วงระยะการเจริญของเมล็ดข้าว และปริมาณของ ϒ-oryzanol มีปริมาณเพิ่มขึ้นในขณะที่เมล็ดข้าวอยู่ในช่วงการเจริญ มีองค์ประกอบของ ϒ-oryzanol ที่แตกต่างกันระหว่างข้าวทั้งสองสายพันธุ์ และปริมาณของ policosanols ลดลงอย่างรวดเร็วในช่วงระยะแรกของการเจริญของเมล็ดข้าวทั้งสองสายพันธุ์ และปริมาณของ tocol ทั้งหมดมีแนวโน้มลดลงในช่วงระยะการเจริญของเมล็ด โดยใน Ilpum พบ α-tocophorol มากในช่วงการเจริญของเมล็ด และใน Dasan พบ α-tocophorol มากที่ช่วงแรกของการเจริญของเมล็ดแต่ ϒ-tocotrienol พบมากที่ช่วงระยะหลังของการเจริญของเมล็ด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สุพัทธยา (2015) การศึกษาครั้งนี้มุ่งศึกษาพัฒนาสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105 ที่มีมาตรฐาน เพื่อประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอางโดยทำการสกัดเศษข้าวหอมมะลิด้วยวิธี การแช่ย่า ที่150 รอบต่อนาทีที่ อัตราส่วน ตัวอย่างต่อตัวทำ ละลาย(70% เอทานอล) 1:10 w/v เป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมง ที่30องศาเซลเซียส โดยทา การสกัด 3 ครั้ง เพื่อเทียบมาตรฐาน จากนั้นนา สารสกัด ที่ได้มาวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พร้อมทั้งศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดเพื่อหาเอกลักษณ์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟ ฟี่ ของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC)ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าร้อยละผลผลิตของสารสกัด เศษข้าวหอมมะลิอยู่ ระหว่าง 0.510-0.563และสารสกัด เศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ชุดมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใกล้เคียงกัน โดยปริมาณรวมสารกลุ่มฟีนอลิกมีค่าอยู่ระหว่าง 0.121-0.127 mg GAE/g sample และมีปริมาณสารกลุ่มฟ ลาโวนอยล์มีค่าระหว่าง 0.033-0.034 mg QE/g sample และสารกลุ่มโปรแอนโทไซยานิดิน อยู่ระหว่าง 12.828-12.966 mg CE/g sample ประกอบกับผลการศึกษาโครมาโตแกรมของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ชุดพบว่ามีลักษณะโครมาโตแกรม คล้ายคลึงกัน ดังนั้นสารสกัดทั้ง 3 ชุดจึงมีองค์ประกอบสารและปริมาณ สารที่คล้ายคลึงกัน นอกจากนี้ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด เศษข้าวหอมมะลิทั้ง3 ชุด พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชุดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิธี DPPH radical scavenging activity มีค่าระหว่าง 0.287-0.320 mg TEAC/g sample และ ABTS activity มีค่าระหว่าง 1.937-2.051 mg TEAC/g sample และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีFRAP อยู่ระหว่าง 0.415-0.452 mg TEAC/g sample ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดเศษข้าวหอมมะลิ105 มีมาตรฐาน โดยให้สารออกฤทธิ์ ทางชีวภาพ และ ฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถมาประยุกต์ใช้เป็นสารออกฤทธิ์ ในเครื่องสำอางได้และยังเป็นการเพิ่มมูลค่า ของเศษข้าวให้แก่เกษตรกรอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
148837

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

ข้าวไร่พันธุ์สามเดือน อายุการเก็บเกี่ยวเมล็ดข้าว 7, 12 และ 15 วัน

3.1.2 สารเคมี

กรดซัลฟูริกเข้มข้น (H_2SO_4)

กรดบอริก 2%

สารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริก 1 N

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 40%

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 1.25%

ตัวเร่ง (catalyst) (เตรียมจาก 1:10 ของ $CuSO_4/K_2SO_4$)

สารละลายอินดิเคเตอร์

เตรียม 0.1% เมทธิลบูลใน alcohol 95%

เตรียม 0.2% เมทธิลเรดใน alcohol 95%

ปิโตเลียมอีเทอร์ที่มีจุดเดือด 40-60 °c

อะซีโตน

n-Octanol

80% Ethanol

Methanol AR grade

Na_2CO_3

DPPH (2, 2-diphenly-1-picryhydrazyl)

Trolox

Gallic acide

ABTS (2, 2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6- suphonic acid)

โปแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต

Acetate buffer

TPTZ (2,4,6- Tripyridyl-s-Triazine)

$FeCl_3$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์

ตู้อบลมร้อน (hot air oven)

ครก

Micropipette

เครื่องปั่น (blender)

เครื่องบดแห้ง (pin mill)

เครื่องชั่งสารแบบละเอียด 4 ตำแหน่ง

เครื่อง Orbital Shaker

เครื่อง Centrifugation

เครื่อง Rotary Evaporator

เครื่อง Vortex

เครื่องกรองชนิดสุญญากาศ (vacuum filter)

เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer)

เตาเผาไฟฟ้า (muffle furnace)

เตาไฟฟ้า (hot plate)

อุปกรณ์ชุดวิเคราะห์โปรตีน (Kjeldahl apparatus)

ชุดสกัดซอกซ์เล็ต(soxhlet apparatus) พร้อมทิมเบิล

เครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร (fiber extraction apparatu)

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การปลูกและขนส่งตัวอย่างข้าว

ตัวอย่างเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่นำมาใช้ในการศึกษาครั้งนี้ทำการเพาะปลูกที่สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง วิทยาเขตชุมพร เขตอุดมศักดิ์ หลังจากการเก็บเกี่ยวแล้วนำไปแช่แข็งในตู้แช่แข็งที่อุณหภูมิ -18 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 คืน นำรวงข้าวแช่แข็งห่อกระดาษหนาสีน้ำตาลบรรจุในถุงพลาสติกปิดซีลสนิท บรรจุลงในกล่องโฟมโดยมีน้ำแข็งบรรจุในกล่องโฟมเพื่อให้ความเย็นตลอดการขนส่ง ใช้เวลาในการขนส่งประมาณ 9 ชั่วโมง เมื่อขนส่งตัวอย่างมาถึงห้องวิเคราะห์ตัวอย่าง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังแล้วทำการแช่แข็งตัวอย่างรวงข้าว จากนั้นแยกเมล็ดข้าวออกจากรวง

3.3.2 การเตรียมตัวอย่างข้าว

นำตัวอย่างรวงข้าวที่แช่แข็งมาแยกเมล็ดออกจากรวง ล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง สะเด็ดน้ำด้วยตะแกรง นำมาทำแห้งโดยใช้ตู้อบลมร้อน (hot air oven) อบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 4 ชั่วโมง ทำการแกะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลือกออกจากเมล็ด แล้วนำเมล็ดไปบดโดยขั้นแรกทำการบดโดยใช้เครื่องบดหยาบ (blender) แล้วนำไปทำการบดละเอียดอีกครั้งโดยใช้เครื่องบด Pin mill ขนาดตะแกรง 0.25 มิลลิเมตร

3.3.3 การวิเคราะห์สารสำคัญในตัวอย่างข้าว

3.3.3.1 การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง

นำตัวอย่างข้าวที่บดละเอียดแล้วมาชั่ง 2.0 กรัม ผสมกับ 80% Ethanol ปริมาตร 40 มิลลิลิตร (1:20) เขย่าด้วยเครื่อง Orbital Shaker อย่างต่อเนื่องเป็นเวลา 10 นาที และนำไปเข้าเครื่อง Centrifugation ทำการปั่นเหวี่ยงที่ 4000xg เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปกรองด้วยเครื่องกรองชนิดสุญญากาศ ทำการสกัดซ้ำโดยใช้ 80% Ethanol 3 รอบ จากนั้นนำสารละลายที่กรองได้มารวมกันและนำไปกลั่นระเหยสารโดยใช้เครื่อง Rotary evaporator เมื่อทำการกลั่นระเหยสารแล้วทำการชะสารสำคัญที่สกัดได้ออกจากขวดแก้วระเหยสารด้วย methanol ปรับปริมาตรสารละลายให้ได้ 20 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดสีชา และเก็บรักษาโดยการแช่เย็น

3.3.3.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

นำตัวอย่างข้าวบดที่เตรียมจากข้อ 3.3.2 มาวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ดังนี้

- ความชื้น (Moisture) (AOAC, 2005)
- เถ้า (Ash) (AOAC, 2005)
- โปรตีน (Crude protein) (AOAC, 2005)
- ไขมัน (Crude fat) (AOAC, 2005)
- เยื่อใยหยาบ (Crude fiber) (AOAC, 2005)
- คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) (AOAC, 2005)

3.3.3.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่ทำปฏิกิริยากับ Folin-Ciocalteu reagent ทำการทดสอบโดยใช้วิธีของ Pourmorad et al. (2006) โดยดูดสารตัวอย่างจากข้อ 3.3.3.1 มา 0.5 ml มาทำปฏิกิริยากับ 5 ml ของสารละลาย Folin-Ciocalteu/น้ำกลั่น ที่อัตราส่วน 50:50 ทิ้งไว้ 5 นาที แล้วปรับสภาพให้เป็นกลางโดย 4 ml ของ1 M Na_2CO_3 ทิ้งไว้อีก 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm.

3.3.3.4 กิจกรรมสารต้านออกซิเดชัน

1. DPPH (DPPH free radical scavenging activity)

สารตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 3.3.3.1 ทำปฏิกิริยากับ DPPH (2, 2-diphenly-1-picryhydrazyl) ทำการทดสอบโดยใช้วิธีของ Thaipong et al. (2006) คือ เตรียมสารละลาย DPPH โดยละลาย DPPH 0.012 g ใน Methanol 50 ml จากนั้นนำ DPPH ที่ละลายใน Methanol มา 10 ml. ผสมกับ Methanol อีก 45 ml. ทำการทดสอบโดยดูดสารตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 3.3.3.1 มา 300 µl มาทำปฏิกิริยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กับสารละลาย DPPH 5700 µl เขย่าให้สารเข้ากัน ปิดกันแสงด้วย foil แล้วทิ้งไว้ 2 ชั่วโมงในที่มืด นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm.

2. ABTS (ABTS free radical-scavenging activity)

ABTS (2, 2-Azino-bis-3-ethylbenzothiazoline-6- suphonic acid) จะถูกเปลี่ยนเป็นอนุมูลอิสระที่มีประจุบวกด้วยการเติมโปแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต เมื่อทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระจะเปลี่ยนจากสีเขียวเป็นไม่มีสี โดยใช้วิธีทดสอบตามวิธีของ Thaipong et al. (2006) คือ เตรียมสารละลายผสมระหว่าง ABTS 7.4 mM กับ โปแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (Potassium persulfate) 2.6 mM ในอัตราส่วน 1:1 จากนั้นทิ้งไว้ 4 ชั่วโมง ทำการทดสอบโดยดูดสารตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 3.3.3.1 มา 300 µl ทำปฏิกิริยากับสารละลาย ABTS 5700 µl เขย่าให้สารเข้ากัน ปิดกันแสงด้วย foil แล้วทิ้งไว้ 2 ชั่วโมงในที่มืด นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm.

3. FRAP (Ferric reducing antioxidant power)

เป็นการวัดความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการให้อิเล็กตรอนอิสระ (reducing agent) โดยอาศัยคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวซ์ในปฏิกิริยา redox-linked colorimetricmethod โดยที่ ferric tripyridyltriazine (Fe^{3+}-TPTZ) complex จะถูกรีดิวซ์ด้วยสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สามารถให้อิเล็กตรอนได้ทำให้เกิด Fe^{2+}-TPTZ complex โดยใช้วิธีทดสอบตามวิธีของ Thaipong et al. (2006) และ Benzie & Strain (1996) คือ เตรียมสารละลาย FRAP โดยผสม 300 mM acetate buffer pH 3.6 , 10 mM TPTZ (2,4,6- Tripyridyl-s-Triazine) ที่ผสมกับ 40 mM HCl และ 20 mM $FeCl_3$ $6H_2O$ ในอัตราส่วน 10:1:1 แล้วนำไปอุ่นที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ก่อนใช้ ทำการทดสอบโดยดูดสารตัวอย่างที่เตรียมจากข้อ 3.3.3.1 มา 300 µl มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย FRAP 5700 µl เขย่าให้สารเข้ากัน ปิดกันแสงด้วย foil แล้วทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืด นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

ตัวอย่างของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ส่งมายังห้องวิเคราะห์ตัวอย่าง สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง มีลักษณะเป็นรวงข้าว ห่อในกระดาษหนาสีน้ำตาลโดยแยกออกเป็นรวงข้าวที่มีการเจริญของเมล็ดที่ระยะเวลา 7, 12 และ 15 วัน ทำการแยกเมล็ดข้าวออกจากรวงข้าวที่ผ่านการแช่แข็งอีกครั้ง พบว่าตัวอย่างเมล็ดข้าวที่ระยะการเจริญของเมล็ด 7 วัน มีปริมาณเมล็ดข้าวน้อยที่สุด เมื่อแยกเปลือกออกจากเมล็ดข้าวแล้วทำให้มีปริมาณของเมล็ดข้าวน้อยลง เนื่องจากปริมาณตัวอย่างข้าวที่ระยะการเจริญของเมล็ด 7 วัน มีปริมาณน้อย จึงไม่เพียงพอต่อการทดลอง 3 ซ้ำ ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติได้

4.1 การศึกษาระยะการเจริญของเมล็ดข้าวต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ในข้าวไร่พันธุ์สามเดือน

การศึกษาระยะเวลาในการเจริญของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือน ที่มีต่อปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ได้แก่ ความชื้น เถ้า โปรตีน ไขมัน ใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรต โดยนำข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7 , 12 และ 15 วัน มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และคำนวณหาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีโดยที่ เถ้า, โปรตีน, ไขมัน, ใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรตคิดเป็นร้อยละของฐานแห้งแสดงผลดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 องค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ระยะการเจริญของเมล็ดข้าว 7, 12 และ 15 วัน (องค์ประกอบโดยน้ำหนักแห้ง, dry basis)

องค์ประกอบทางเคมี	ระยะเวลาในการเจริญของเมล็ด (วัน)		
	7	12	15
เถ้า^{ns}	1.85	1.60 $\pm$ 0.07	1.55 $\pm$ 0.02
โปรตีน^{ns}	8.70	6.99 $\pm$ 0.60	7.07 $\pm$ 0.48
ไขมัน	3.42	2.93 $\pm$ 0.04^{b}	4.11 $\pm$ 0.29^{a}
ใยอาหาร^{ns}	1.88	1.35 $\pm$ 0.32	1.59 $\pm$ 0.09
คาร์โบไฮเดรต^{ns}	84.16	87.13 $\pm$ 0.58	85.67 $\pm$ 0.79

หมายเหตุ ตัวอักษรที่กำกับในแนวนอนที่แตกต่างกันแสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย$\pm$SD ที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของตัวอย่าง 12 และ 15 วัน เนื่องจาก 7 วันไม่มีซ้ำของการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากตารางที่ 4.1 การเก็บเกี่ยวข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7, 12 และ 15 วัน พบว่าผลของช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 12 และ 15 วัน ต่อค่าความชื้น, เถ้า, โปรตีน, ใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรตนั้นไม่มีตวามแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่ไขมันของข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดข้าวที่ 12 และ 15 วัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p \leq 0.05$) โดยค่าของไขมันที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 12 วัน เท่ากับ 2.68% และที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 15 วัน เท่ากับ 3.72%

จากงานวิจัยของ Kariyawasam และคณะ (2015) ได้ทำการศึกษาปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมืองของประเทศศรีลังกา ได้รายงานไว้ว่าปริมาณความชื้นในเมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมืองของประเทศศรีลังกามีค่าระหว่าง 11.2±0.2% - 11.9±0.2% ปริมาณโปรตีนมีค่าระหว่าง 9.4±0.2% - 11.0±0.4% ปริมาณไขมันมีค่าระหว่าง 2.3±0.0% - 2.9±0.1% ปริมาณใยอาหารมีค่าระหว่าง 0.9±0.0% - 1.1±0.0% ปริมาณเถ้ามีค่าระหว่าง 1.2±0.0% - 1.9±0.1% และคาร์โบไฮเดรตมีค่าระหว่าง 72.0±0.1% - 76.3±0.1%

และจากงานวิจัยของ Lin และ Lai (2010) ได้ทำการศึกษาปริมาณใยอาหารในเมล็ดข้าวแดงที่ระยะการเจริญของเมล็ด 15, 18 และเมล็ดข้าวสุกเต็มเมล็ด ได้รายงานไว้ว่าที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดข้าวแดง 15 วัน มีปริมาณใยอาหาร 6.72±0.76% ที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 18 วัน มีปริมาณใยอาหาร 5.82±0.40% และเมล็ดข้าวที่สุกเต็มเมล็ดมีปริมาณใยอาหาร 6.03±1.49%

ปริมาณใยอาหารของเมล็ดข้าวที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 7, 12 และ 15 วัน มีค่าของปริมาณใยอาหารสูงกว่าเมล็ดข้าวที่สุกเต็มเมล็ด

4.2 การศึกษาระยะการเจริญของเมล็ดข้าวต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ในข้าวไร่พันธุ์สามเดือน

จากตารางที่ 4.2 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 12 และ 15 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีอยู่ในข้าว มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7, 12 และ 15 วัน

ระยะเวลาในการเจริญของเมล็ด (วัน)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก^{ns} (mg GAE/g rice grain)	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (mg TE/g rice grain)		
		DPPH^{ns}	ABTS^{ns}	FRAP^{ns}
7	1.07	10.54	7.59	0.94
12	0.82 ± 0.05	10.64 ± 0.39	8.71 ± 0.31	0.79 ± 0.05
15	0.78 ± 0.07	11.18 ± 0.89	8.81 ± 0.24	0.76 ± 0.12

หมายเหตุ ค่าที่แสดงในตารางเป็นค่าเฉลี่ย±SD ที่ได้จากการทดลอง 3 ซ้ำ

วิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติของตัวอย่าง 12 และ 15 วัน เนื่องจาก 7 วันไม่มีซ้ำของการทดลอง

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ทำการวิเคราะห์ 3 วิธี ได้แก่ DPPH, ABTS และ FRAP พบว่าเมื่อนำค่าที่ได้จากการทดลองไปวิเคราะห์ทางสถิติ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 12 และ 15 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยได้ผลการทดลองเช่นเดียวกันทั้ง 3 วิธีการทดสอบ

จากงานวิจัยของ Shao และคณะ (2014) ได้ทำการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวขาวที่ระยะการเจริญของเมล็ด 1, 2, 3 สัปดาห์ และเมล็ดข้าวที่สุกเต็มเมล็ด ด้วยวิธีการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 2 วิธี คือ วิธี DPPH และวิธี ORAC ได้มีการรายงานผลไว้ว่าที่ระยะการเจริญของเมล็ด 1 และ 2 สัปดาห์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิระที่สูงกว่าเมล็ดข้าวที่ระยะการเจริญของเมล็ด 3 สัปดาห์ และเมล็ดข้าวที่เจริญเต็มเมล็ดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) โดยได้ผลของความสามารถในการต้านอนุมูลอิระเช่นเดียวกันทั้งสองวิธีการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผล

จากผลการศึกษาปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิระ (antioxidant activities) ในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ 7, 12 และ 15 วัน พบว่า

1. ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (proximate analysis) ได้แก่ เถ้า, โปรตีน, ใยอาหาร และคาร์โบไฮเดรตของข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 12 และ 15 วันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่มีปริมาณไขมันที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) คือ ที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดข้าวที่ 12 วันมีปริมาณไขมันเท่ากับ 2.68% ซึ่งน้อยกว่าเมล็ดข้าวที่อยู่ในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 15 วันมีปริมาณไขมันเท่ากับ 3.72% และปริมาณใยอาหารของเมล็ดข้าวที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 7, 12 และ 15 วัน มีค่าของปริมาณใยอาหารสูงกว่าเมล็ดข้าวที่สุกเต็มเมล็ด

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) พบว่าเมล็ดของข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 12 และ 15 วัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

3. กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant activities) พบว่าเมล็ดของข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 12 และ 15 วัน มีความสามารถในการต้านอนมูลอิสระที่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากผลของงานวิจัยนี้ทำให้เป็นประโยชน์แก่การสร้างผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มาจากข้าวในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดต่างๆที่สามารถให้คุณค่าทางโภชนาการได้สูงกว่าข้าวเต็มเมล็ดที่มีอยู่ทั่วไปตามท้องตลาด เพื่อให้เกิดผลิตภัณฑ์ใหม่เป็นทางเลือกให้แก่ผู้บริโภคที่ต้องการจะได้รับคุณค่าทางโภชนาการมากที่สุด

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรแยกเมล็ดของข้าวไร่พันธุ์สามเดือนให้ได้ตามอายุการเจริญของเมล็ดจริง โดยในรวงข้าวหนึ่งรวงอาจจะประกอบไปด้วยเมล็ดข้าวที่เจริญหลังจากการออกดอกแล้วทั้ง 7, 12 และ 15 วันได้

5.2.2 ควรมีตัวอย่างเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7 วันปริมาณมากเพียงพอต่อการทดลอง 3 ซ้ำ เพื่อที่จะสามารถวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ข้าว (Rice). 2549. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก :
http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1657/rice. 19 พฤษภาคม 2559

ข้าว (Rice) Oryza sativa L. 2540. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก :
http://www.baanjomyut.com/library_2/extension-2/cereals/01_2.html. 19 พฤษภาคม 2559

ชนิดของข้าว. 2552. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก : http://www.openbase.in.th/node/10223. 19 พฤษภาคม 2559

นราพร ดาลัย. 2553. การเก็บรักษาและการใช้ความร้อนชื้นต่อสมบัติทางเคมีและกายภาพของข้าวและแป้งข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีอาหาร. คณะเกษตร. มหาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บุหรัน พันธุ์สวรรค์. 2556. อนุมูลอิสระ สารต้านอนุมูลอิสระและการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. ปีที่ 21. 283-284.
วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม. มหาวิทยาลัยพะเยา.

วิจิตรา แดงปรก. 2557. ผลของวิธีการทำแห้งต่อความสามารถในการต้านออกซิเดชันของสาหร่ายสไปรูลินา. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร. คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยแม่โจ้

อรวรรณ กริ่งเกษมศรี. 2555. ปริมาณสารโพลีฟีนอล และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของเปลือกและเมล็ดของผลไม้ไทย. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. สาขาวิทยาศาสตร์สิ่งแวดล้อม. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยศิลปากร

ส่วนประกอบของข้าว. 2540. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก : http://narapimon.com/. 21 พฤษภาคม 2559

ส่วนประกอบและคุณค่าทางโภชนาการของสารอาหารในเมล็ดข้าว. 2552. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก :
http://ubn.brrd.in.th/web/index.php/2011-06-11-06-01-19/67-2009-09-16-12-31-15. 20 พฤษภาคม 2559

Forbes Medi-Tech Inc. A process for the extraction of anthocyanins from black rice and composition thereof. U.S. patent no. 2480471. 26 March 2002

Phenolic compounds. 2546. [ออนไลน์] เข้าถึงได้จาก :
http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2585/phenolic-compound. 20 พฤษภาคม 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kariyawasam, T. I., Godakumbura, P. I., Prashantha, M.A.B. and Premakumara, G.A.S. (2015) Proximate composition, calorie content and heavy metals (As, Cd, Pb) of selected Sri Lankan traditional rice (Oryza Sativa L.) varieties. International Conference of Sabaragamuwa University of Sri Lanka 2015 (ICSUSL 2015). 6: 253-256.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. (1999). "Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay." Free Radical Biology and Medicine 26:1231-1237

Shao, Y., Xu F., Sun, S., Bao, J. and Beta, T. (2013) Phenolic acids, anthocyanins, and antioxidant capacity in rice (Oryza sativa L.) grains at four stages of development after flowering. Food Chemistry. 143: 90-96.

Kim, N. H., Kwak, J., Baik, J.Y., Yoon, M., Lee, J., Yoon, S.W. and Kim, I. (2015) Changes in lipid substances in rice during grain development. Phytochemistry. 116: 170-179.

Lin, P.-Y. and Lai, H.-M. (2010) Bioactive compounds in rice during grain development. Food Chemistry. 127(1): 86-93.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี
(Proximate Analysis)

การวิเคราะห์โดยประมาณ (proximate analysis) หรือบางทีเรียกว่า approximate analysis เป็นการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีอาหาร โดยเป็นการวิเคราะห์องค์ประกอบหลักของอาหาร (major component) ประกอบไปด้วยการวิเคราะห์หาปริมาณความชื้น (moisture) ไขมัน (crude fat) โปรตีน (crude protein) ใยอาหาร (crude fiber) และเถ้า (ash) ถ้าต้องการทราบปริมาณคาร์โบไฮเดรต ให้รวมเปอร์เซ็นต์ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน ใยอาหาร และเถ้าที่วิเคราะห์ได้ นำไปหักออกจาก 100 จะได้เปอร์เซ็นต์ของคาร์โบไฮเดรตในตัวอย่างอาหารนั้นๆ ซึ่งเป็นค่าที่ร่วมทั้งน้ำตาลและโพลีแซคคาไรด์ การที่เรียกว่าการวิเคราะห์ “proximate” หรือในภาษาไทยแปลว่าการประมาณ เนื่องจากเป็นการวิเคราะห์ที่เริ่มต้นจากการนำอาหารหรือวัตถุดิบไปวิเคราะห์ต่อเนื่อง โดยอาจเริ่มต้นจากการหาความชื้น นำตัวอย่างที่ได้จากการอบแห้งไปหาปริมาณไขมัน และนำตัวอย่างที่สกัดไขมันออกไปวิเคราะห์หาใยอาหารและเถ้า ส่วนปริมาณโปรตีนนำตัวอย่างไปย่อยโดยตรง และเป็นการวิเคราะห์ที่ใช้วิธีการวิเคราะห์ที่ไม่ซับซ้อน ไม่ต้องอาศัยเทคนิคที่ต้องทำให้องค์ประกอบบริสุทธิ์ เช่นการวิเคราะห์ปริมาณไขมัน อาศัยเทคนิคการสกัดโดยตัวทำละลายเพื่อสกัดเอาองค์ประกอบที่ละลายในตัวทำละลายออกมา สำหรับในอาหารองค์ประกอบที่ละลายในตัวทำละลายส่วนใหญ่เป็นไขมัน จึงเป็นการวิเคราะห์ปริมาณของไขมันแบบหยาบ (crude fat)

Proximate analysis มีประโยชน์ในการวิเคราะห์เพื่อให้ทราบถึงคุณค่าทางโภชนาการของอาหาร เช่น การทำ nutrition fact ที่ติดอยู่บนฉลากอาหาร ทำให้ผู้บริโภคสามารถเลือกบริโภคอาหารและเครื่องดื่มได้อย่างเหมาะสม ในอุตสาหกรรมอาหารจำเป็นต้องวิเคราะห์องค์ประกอบทั้งวัตถุดิบและผลิตภัณฑ์สุดท้ายเพื่อประโยชน์ในการควบคุมคุณภาพและการแปรรูปอาหาร เช่น การหาความชื้นในวัตถุดิบเพื่อกำหนดราคาซื้อขายที่ยุติธรรมม ตัวอย่างเช่นการซื้อขายข้าวเปลือก ราคาของข้าวจะขึ้นกับเปอร์เซ็นต์ความชื้น หรือวัตถุดิบที่ใช้ผลิตอาหารที่เป็นผงแห้งจำพวกนมผง น้ำตาล เกลือ ผู้ซื้อจะต้องการวัตถุดิบที่มีความชื้นต่ำ เนื่องจากวัตถุดิบเหล่านี้ถ้ามีความชื้นสูงมีโอกาสที่จะดูดความชื้นกลับเข้าไปใหม่ ทำให้เกิดการจับตัวกันเป็นก้อน จึงจำเป็นต้องควบคุมความชื้น เป็นต้น

Proximate analysis ในบทปฏิบัติการนี้ จะแบ่งออกเป็นการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น ไขมัน โปรตีน ใยอาหาร และเถ้าของตัวอย่างอาหาร โดยมีรายละเอียดของวิธีการทดลองของแต่ละองค์ประกอบดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.1 ความชื้น (Moisture)

หลักการ

น้ำถือได้ว่าเป็นองค์ประกอบหลักของอาหาร ตัวอย่างเช่น กระหล่ำปลี แตงกวา มีน้ำมากกว่า 90 เปอร์เซ็นต์ เนื้อไก่ เนื้อหมู มีน้ำประมาณ 60-65 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ธัญชาติมีน้ำประมาณ 12 เปอร์เซ็นต์ น้ำจึงมีบทบาทต่อลักษณะของอาหาร เช่นอาหารที่มีความชื้นสูงย่อมมีโอกาสเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์มากกว่าอาหารที่มีความชื้นต่ำ รวมทั้งปริมาณน้ำในอาหารยังมีความเกี่ยวข้องกับการควบคุมคุณภาพ การแปรรูป ตัวอย่างเช่น การทราบปริมาณน้ำในวัตถุดิบ ทำให้สามารถทำนายลักษณะอาหารที่เปลี่ยนไประหว่าง การผสม การไหลตามท่อ หรือในระหว่างการทำแห้ง

เนื่องจากน้ำในอาหารไม่ได้อยู่อิสระแต่ทำหน้าที่เป็นตัวทำละลายองค์ประกอบต่างๆในอาหาร น้ำในอาหารจึงสามารถแบ่งออกเป็นสองส่วนหลักคือ น้ำที่จับองค์ประกอบของอาหารที่เรียกว่า น้ำผูกพัน (bound water) และน้ำอิสระ (free water) เนื่องจากอาหารเป็นสารประกอบที่ไม่เป็นเนื้อเดียวกัน มีองค์ประกอบแตกต่างกันไป ทำให้น้ำผูกพันที่เกาะจับกับองค์ประกอบของอาหารมีความแตกต่างกัน เป็นผลให้สมบัติทางเคมีกายภาพ เช้น จุดเดือด จุดหลอมเหลว ความหนาแน่น ของน้ำเหล่านี้มีความแตกต่างกัน ดังนั้น นักวิทยาศาสตร์การอาหาร อาจต้องมีการทดลองเลือกใช้วิธีให้เหมาะสมกับชนิดของน้ำที่มีอยู่ในอาหารนั้น ตัวอย่างเช่น การศึกษาความสามารถของจุลินทรีย์ที่จะเจริญในอาหาร นิยมที่จะวิเคราะห์ปริมาณน้ำอิสระมากกว่าที่สนใจปริมาณน้ำทั้งหมด (total of water present) ที่มีอยู่ในอาหารเป็นต้น

การวิเคราะห์ปริมาณน้ำหรือความชื้นในอาหาร ทำได้หลายวิธีการ ตัวอย่างเช่น

1) การระเหยน้ำ (evaporation method)

วิธีการนี้ทำการระเหยน้ำออกจนตัวอย่างแห้ง ปริมาณน้ำในอาหารจะหาได้จากน้ำหนักของอาหารเริ่มต้นลบน้ำหนักของอาหารแห้ง เนื่องจากจุดเดือดของน้ำในอาหารมีค่าต่ำกว่าองค์ประกอบหลักต่างๆในอาหาร เช่น โปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต แร่ธาตุ ดังนั้น น้ำหนักของตัวอย่างแห้งที่เหลือจึงมีค่าเท่ากับปริมาณของแข็งที่มีอยู่ในอาหาร ดังสมการ

$$\%\text{Total solid} = (100 - \%\text{moisture})$$

เครื่องมือที่ใช้ในการระเหยน้ำออกจากอากหารมีหลายประเภท เช่น ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ตู้อบสูญญากาศ (vacuum oven) ตู้อบไมโครเวฟ (microwave oven) และการใช้หลอดไฟอินฟาเรด (infrared lamp drying) โดยแต่ละวิธีมีข้อดีข้อจำกัดแตกต่างกัน เช่นการใช้หลอดไฟอินฟาเรด จะใช้เวลาในการทดลองน้อยกว่าการใช้ตู้อบลมร้อน แต่ราคาของเครื่องมือสูงกว่าและต้องวางในระยะห่างจากหลอดไฟอินฟาเรดให้เหมาะสม เพราะอาจทำให้ตัวอย่างไหม้ก่อนที่จะดึงน้ำออกจากอาหารได้หมด เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2) การกลั่น (distillation method)

วิธีการนี้จะเป็นการวัดปริมาณน้ำที่กลั่นออกจากอาหารโดยตรง น้ำที่กลั่นจากอาหารจะถูกเก็บในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่นไซลีน (xylene) หรือ โทลูอิน (tolulene) เหมาะกับอาหารที่มีความชื้นต่ำหรือประกอบด้วยน้ำมันหอมระเหย เช่น เครื่องเทศ สมุนไพร

3) ปฏิกิริยาเคมี (chemical reaction method)

วิธีการนี้จะวิเคราะห์หาปริมาณของน้ำ โดยการทำให้น้ำในอาหารเกิดปฏิกิริยาเคมีกับสารเคมีที่เติมลงไปแล้วอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลง เช่น สี ความเป็นกรดด่าง การนำไฟฟ้า บริมาณน้ำในอาหารมีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น วิธีการที่นิยมใช้คือ วิธีการคาล์ขฟิสเชอร์ (Karl-Fisher method) โดยนำอาหารที่อยู่ในตัวทำละลายไปไตเตรทกับสารละลายที่มีองค์ประกอบของไอโอดีน ที่จุดยุติมีปริมาณไอโอดีน (I_2) เหลืออยู่ทำให้เกิดสีน้ำตาลแดงในสารละลาย

$$2H_2O + SO_2 + I_2 \longrightarrow H_2SO_4 + 2HI \text{ (colorless)}$$

4) การใช้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า (electromagnetic radiation method)

เนื่องจากเมื่อผ่านสเปคตรัมของคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าเข้าสู่อาหาร โมเลกุลของน้ำดูดกลืนคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นเฉพาะแตกต่างจากองค์ประกอบอื่นในอาหาร จึงสามารถใช้เครื่องมือที่ให้คลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เช่น เครื่องอินฟาเรดสเปกโทรสโคปี (infrared spectroscopy) เครื่องเอ็นเอ็มอาร์สเปกโทรสโคปี (nuclear magnetic resonance spectroscopy) ในการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในอาหารได้

ใน proximate analysis วิธีการหาความชื้นในอาหารนิยมที่นิยมใช้คือ การระเหยน้ำโดยใช้ตู้อบลมร้อนโดยตัวอย่างอาหารจะวางในภาชนะที่ทนความร้อน เช่น ถ้วยอลูมิเนียม (aluminium can) นำเข้าอบในตู้อบลมร้อน น้ำหนักของอาหารจะลดลงเมื่อเวลาในการอบนานขึ้น เวลาในการอบจะสิ้นสุดเมื่อน้ำหนักของอาหารคงที่ ปริมาณความชื้นในอาหารจะคำนวณจากน้ำหนักของอาหารที่หายไป อย่างไรก็ตามในตัวอย่างอาหารที่มีน้ำตาลอยู่สูง เช่น ผลไม้แช่อิ่ม การใช้อุณหภูมิสูงในการอบ ทำให้ตัวอย่างเกิดผิวนอกแห้งแข็ง (case hardening) น้ำภายในชิ้นอาหารไม่สามารถระเหยออกมาได้ ดังนั้นการหาความชื้นโดยการอบในตู้อบลมร้อนถ้าในกรณีของอาหารทั่วไป อสจใช้อุณหภูมิ 110-130 องศสเซลเซียส แต่ในกรณีของอาหารที่มีน้ำตาลสูงควรใช้อุณหภมิไม่เกิน 70°C หรือใช้การอบในตู้อบสุญญากาศ

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. ถ้วยอลูมิเนียม (aluminum can)
3. ตู้อบลมร้อน (hot air oven)
4. โถดูดความชื้น (desiccator)
5. ที่คีบ (Tong)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. นำถ้วยอลูมิเนียมไปอบไล่ความชื้นที่ 100°C 2 ชั่วโมง แล้วนำออกจากตู้อบ ใส่ในโถดูดความชื้น รอทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งจนได้น้ำหนักแน่นอน (4ตำแหน่ง) (W)

2. ใส่ตัวอย่างอาหารที่บดแล้วลงในถ้วยอลูมิเนียม ให้น้ำหนักตัวอย่างอาหารที่บดแล้ว 3-5 กรัม บันทึกน้ำหนักของถ้วยอลูมิเนียมกับตัวอย่าง (น้ำหนักแน่นอน) (W_1)

3. นำเข้าไปในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส 2 ชั่วโมง โดยเปิดฝาถ้วยอลูมิเนียม

4. เมื่อครบเวลา นำมาทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ก่อนนำมาชั่งน้ำหนัก อบซ้ำอีกครั้ง ครั้งละครึ่งชั่วโมงจนน้ำหนักคงที่ หรือผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งได้ 2 ครั้งต้องแตกต่างกันไม่เกิน 0.003-0.005 กรัม (W_2)

5. คำนวณเปอร์เซ็นต์ความชื้นของอาหาร จากสมการ

$$\text{ความชื้น (เปอร์เซนต์)} = \frac{\text{น้ำหนักอาหารเริ่มต้น (W-W}_1\text{)} - \text{น้ำหนักอาหารแห้ง (W-W}_2\text{)}}{\text{น้ำหนักอาหารเริ่มต้น (W-W1)}} \times 100$$

หมายเหตุ เก็บตัวอย่างไว้เพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน

ก.2 เถ้า (Ash)

หลักการ

เถ้าในอาหารหมายถึง ส่วนที่เหลือหลังจากการเผาตัวอย่างอาหารที่อุณหภูมิสูง เพื่อทำให้องค์ประกอบที่เป็นสารอินทรีย์เผาไหม้หมด โดยอุณหภูมิที่ใช้อยู่ระหว่าง 500-600 องศาเซลเซียส ดังนั้นเถ้าในอาหารจึงหมายถึง ส่วนของสารอนินทรีย์ (inorganic matter) ที่เหลืออยู่ในอาหาร หลังจากน้ำและสารอินทรีย์ถูกกำจัดออกไป เช่น โพแตสเซียม โซเดียม แคลเซียม คลอไรด์ และอื่นๆ เป็นต้น ปริมาณเถ้ามีความสัมพันธ์โดยตรงกับแร่ธาตุในอาหาร เถ้านอกจากจะใช้บอกถึงคุณค่าทางอาหารในด้วนแร่ธาตุแล้ว นักวิทยาศาสตร์ยังอาจวิเคราะห์ปริมาณเถ้าเพื่องบ่งบอกถึงการปนเปื้อน เช่น การปนเปื้อนของโลหะจากเครื่องบดอาหาร หรือการปนเปื้อนของตะกั่ว แคดเมียมจากน้ำมันหรือดิน เป็นต้น

วิธีการวิเคราะห์ปริมาณเถ้าหลักๆมีสามวิธี คือ การหาเถ้าแบบแห้ง (dry ashing) การหาเถ้าแบบเปียก (wet ashing) การหาเถ้าแบบพลาสมาที่อุณหภูมิต่ำ (low temperature plasma dry ashing) ซึ่งการที่จะเลือกใช้วิธีใดขึ้นกับเหตุผลของการวิเคราะห์ตัวอย่าง เช่น การหาเถ้าแบบเปียก จะใช้เป็นวิธีการเริ่มต้นในการเตรียมตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์หาแร่ธาตุเฉพาะเจาะจง โดนสารอินทรีย์ในตัวอย่างจะถูกกำจัดออกให้หมดเหลือเพียงเถ้าในสารละลาย ทำได้โดยการใส่ตัวอย่างลงในขวดรูปชมพู่ที่มีกรดเข้มข้นและมีออกซิไดซิงเอ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจนต์ และนำไปให้ความร้อนจนกระทั่งสารอินทรีย์ถูกย่อยไปหมดเหลือเพียงออกไซด์ของแร่ธาตุในสารละลาย อุณหภูมิและเวลาที่ใช้ขึ้นกับชนิดของกรดและออกซิไดซ์ซิงเอเจนต์

การหาเถ้าแบบพลาสมาที่อุณหภูมิต่ำ ตัวอย่างอาหารจะบรรจุลงในภาชนะที่เป็นสูญญากาศ ก่อนที่จะปล่อยแก๊สออกซิเจนที่ทำให้เปลี่ยนเป็นรูป nascent oxygen ($O_2 \longrightarrow 2O$) หรืออกซิเจนอะตอมเดี่ยวโดยสนามแม่เหล็กไฟฟ้า ซึ่งออกซิเนอะตอมเดี่ยวเป็นออกซิไดซ์ซิงเอเจนต์ที่แรงทำให้สารอินทรีย์ถูกออกซิไดซ์ไปและน้ำจะระเหยออกไปเนื่องจากความร้อน วิธีการนี้อุณหภูมิที่ใช้ประมาณ 150 องศาเซลเซียส จึงทำให้มีการสูญเสียแร่ธาตุที่ระเหยได้ (volatile mineral) เช่น เหล็ก สังกะสี ตะกั่ว ปรอท น้อยกว่าการหาเถ้าแบบแห้งที่มีการใช้อุณหภูมิสูง แต่เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์มีราคาสูงกว่ามาก

ใน proximate analysis วิธีการหาเถ้าในอาหารนิยมที่นิยมใช้คือ การหาเถ้าแบบแห้ง โดยการนำตัวอย่างอาหารไปเผาในเตาเผาไฟฟ้า (muffle furnace) ที่อุณหภูมิประมาณ 500-600 องศาเซลเซียส น้ำจะระเหยไปและสารอินทรีย์จะถูกเผาในสภาพที่มีออกซิเจนเปลี่ยนเป็น CO_2 H_2O N_2 ระเหยหายไป ในขณะที่แร่ธาตุเปลี่ยนไปในรูปของออกไซด์ ซัลเฟต ซิลิเคต เป็นต้น ปริมาณเถ้าจึงหาได้จากน้ำหนักที่เหลือหลังจากการเผา ภาชนะที่ใช้บรรจุตัวอย่างในการเผาต้องสามารถทนความร้อนได้สูง โดยอาจทำจาก quartz เหล็กแพลทินัม (platinum) กระเบื้อง(porcelain) ชนิดที่นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการคือ crucible หรือถ้วยกระเบื้อง เนื่องจากราคาไม่แพง สามารถทนอุณหภูมิสูงได้มาก และทำความสะอาดได้ง่าย ถ้วยกระเบื้องสามารถทนกรดแต่ถูกกัดกร่อนด้วยด่าง และแตกได้ง่ายถ้ามีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิอย่างรวดเร็ว การหาเถ้าโดยใช้เตาเผาไฟฟ้ามีข้อดีคือ ปลอดภัยไม่มีการใช้สารเคมี สามารถวิเคราะห์ได้ทีละหลายตัวอย่าง แต่มีข้อเสียคือใช้เวลานาน (12-24 ชั่วโมง) ทำให้สิ้นเปลืองค่าไฟฟ้า

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. ถ้วยกระเบื้อง (crucible)
3. เตาเผาไฟฟ้า 9muffle furnace)
4. เตาไฟฟ้า (hot plate)
5. ที่คีบ (Tong)

วิธีการทดลอง

1. เผาถ้วยกระเบื้องที่แห้งและสะอาดในเตาเผาที่ 600°C นาน 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักละเอียด (4 ตำแหน่ง) บันทึก (W)

2. ชั่งตัวอย่างที่บดแล้ว 3-5 กรัม (4 ตำแหน่ง) ใส่ในถ้วยกระเบื้อง (W_1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เผาตัวอย่างบนเตาไฟฟ้า (ทำในตู้ดูดควัน) จนหมดควัน

4. นำไปเผาบนเตาไฟฟ้าที่ 600°C เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งตัวอย่างกลายเป็นเถ้าสีขาวหรือสีเทา

5. รอให้เตาเผาไฟฟ้าเย็นลง จึงคีบถ้วยกระเบื้องออกจากเตาเผาไฟฟ้า ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วชั่งน้ำหนักของถ้วยกระเบื้องหลังเผา (W_2)

6. คำนวณเปอร์เซ็นต์เถ้าของอาหาร จากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์เถ้า} = \frac{W_2 - W}{W_1 - W} \times 100$$

W = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้อง

W_1 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องกับน้ำหนักตัวอย่างที่ใช้ในการวิเคราะห์

W_2 = น้ำหนักของถ้วยกระเบื้องกับน้ำหนักเถ้าหลังเผา

ก.3 โปรตีน (Crude protein)

หลักการ

โปรตีนเป็นโพลิเมอร์ของกรดอะมิโน เกิดจากกรดอะมิโนมาจับกันด้วยพันธะเป็ปไทด์ ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนส่วนใหญ่อาศัยความเฉพาะเจาะจง (specific) ของกรดอะมิโนหรือพันธะเป็ปไทด์ การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนทำได้หลายวิธี เช่น การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจน การวิเคราะห์โดยใช้สเปคโตรมิเตอร์ เช่น วิธีไบยูเรต (biuret method) วิธีเลารี (lowry method) วีการย้อมสี (dye binding) การวัดความขุ่น (turbidity method) เป็นต้น

ใน proximate analysis การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนอาศัยหลักการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนในอาหารโดยวิธีการที่นิยมเรียกว่าวิธีเจลดาห์ (kjeldajl method) เนื่องจากโปรตีนเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีธาตุไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบ ในขณะที่องค์ประกอบหลักของอาหารอื่น เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน มีเพียงแต่ธาตุของคาร์บอน ออกซิเจน ไฮโดรเจน โดยเฉลี่ยโปรตีน 100 กรัมประกอบด้วยไนโตรเจน 16 กรัม ดังนั้นเมื่อทราบปริมาณไนโตรเจนในอาหาร สามารถคำนวณหาปริมาณโปรตีนทั้งหมดโดยการนำปริมาณไนโตรเจนคูณกับค่าเจลดาห์แฟกเตอร์ 6.25 ซึ่งแหกเตอร์ 6.25 หาได้จากการเทียบบรรยัดไตรยางค์ของ 100 หารด้วย 16 อย่างไรก็ตามปริมาณไนโตรเจนในโปรตีนของอาหารชนิดต่างกันก็แตกต่างกันออกไป ค่าเจลดาห์แฟกเตอร์ของอาหารชนิดต่างๆจึงแตกต่างกันไปดังตารางที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 ค่าเจอลดาห์แฟกเตอร์ของอาหารชนิดต่างๆ

อาหาร	ค่าเจลดาห์แฟกเตอร์
นม	6.38
ไข่	6.25
เนื้อ	6.25
แป้งสาลี	5.70
ถั่วเหลือง	5.71
ถั่วลิสง	5.46

ในการหาปริมาณโปรตีนโดยวิธีเจลดาห์ล อาหารจะถูกย่อยด้วยกรด ทำให้ได้สารประกอบไนโตรเจนที่อยู่ในสภาพเนไอ คือ แอมโมเนีย จากนั้นจึงใช้เทคนิคของหารไตเทรตวิเคราะห์หาปริมาณของแอมโมเนีย ขั้นตอนการวิเคราะห์ประกอบด้วย 3 ขั้นตอน คือ

1) การย่อยสารตัวอย่าง โดยใช้การต้มกับกรดซัลฟูริกเข้มข้น และเพิ่มจุดเดือดของกรดซัลฟูริกด้วยการเติมโซเดียมหรือโปแตสเซียมซัลเฟต (ในรูปไม่มีน้ำ) และเติมตัวเร่ง (catalyst) เช่น ทองแดง เซเลเนี่ยม ปรอท เพื่อเร่งปฏิกิริยาการย่อยให้เร็วขึ้น การย่อยจะทำให้ไนโตรเจนในอาหารเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย และเพื่อเร่งปฏิกิริยาการย่อยให้เร็วขึ้น การย่อยจะทำให้ไนโตรเจนในอาหารเปลี่ยนเป็นแอมโมเนีย และสารอินทรีย์อื่นๆเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ แก๊สแอมโมเนียจะไม่ระเหยไป เนื่องจากแอมโมเนียจะอยู่ในรูปของแอมโมเนียมอิออน (NH_4^+) ซึ่งจะจับกับซัลเฟตอิออน กลายเป็นแอมโมเนียมไบซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ ละลายอยู่ในสารละลาย

$$N\ (\text{อาหาร}) \longrightarrow (NH_4)_2SO_4$$

2) การกลั่น เมื่อไนโตรเจนถูกเปลี่ยนเป็นเกลือแอมโมเนียไบซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ ทั้งหมดแล้วให้นำมาเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ แอมโมเนียไบซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ จะถูกเปลี่ยนให้มีสภาพเป็นด่าง และจะเปลี่ยนไปอยู่ในรูปของแก๊สแอมโมเนีย (NH_3) ที่ระเหยได้

$$(NH_4)_2SO_4 + 2NaOH \longrightarrow 2NH_3 + 2H_2O + Na_2SO_4$$

แก๊สแอมโมเนียที่เกิดขึ้น จะถูกกลั่นและเก็บลงในกรดบอริค พีเอชที่ต่ำของสารละลายกรดบอริค ทำให้แก๊สแอมโมเนีย เปลี่ยนเป็นแอมโมเนียมอิออน และในสารละลายที่มีการเติมอิดิเคเตอน์ของเมทธิเรดและเมทธิบูล จะทำให้สารละลายเปลี่ยนจากสีชมพูม่วงไปเป็นสีเขียว

$$NH_3 + H_3BO_3 \longrightarrow NH_4^+ + H_2BO_3\ (\text{borate ion})$$

ชมพูม่วง เขียว $(NH_4H_2BO_3)$ (methyl red + methyl blue)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) การไตเตรทหาปริมาณไนโตรเจน นำกรดบอริกที่เก็บแอมโมเนียไว้มาไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริก โดยที่แอมโมเนีย 1 โมงจะทำปฏิกิริยาพอดีกับกรดไฮโดรคลอริก 1 โมล โดยที่จุดยุติสารละลายจะเปลี่ยนกลับไปเป็นสีชมพูม่วง เมื่อทราบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด สามารถคำนวณหาปริมาณโปรตีนทั้งหมดได้

$$NH_4H_2BO_3 + HCl \longrightarrow NH_4Cl + H_3BO_3$$

วิธีเจลดาห์ล เป็นวิธีที่นิยมใช้กันอย่างกว้างขวางทั่วโลก โดยมีเครื่องกึ่งอัตโนมัติที่ทำงานสะดวก สามารถใช้กับอาหารที่มีปริมาณโปรตีนต่ำ รวมทั้งมีขนาดที่เรียกว่า micro kjeldahl ที่สามารถใช้กับตัวอย่างที่มีปริมาณน้อย อย่างไรก็ตามวิธีการนี้มีข้อจำกัดคือการใช้กรดซัลฟูริคเข้มข้นในระดับอุณหภูมิสูง ทำให้เกิดไอกรดที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม รวมทั้งควรหลักเลี่ยงการใช้ตัวเร่งพวกปรอทที่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมเช่นกัน

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. หลอดย่อยโปรตีน
3. อุปกรณ์ชุดวิเคราะห์โปรตีน (kjeldahl apparatus)
4. บิวเรตขนาด 50 มิลลิลิตร
5. ขวดชมพู่ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
6. boiling chip

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. กรดบอริก 2% เตรียมได้จากการละลายกรดบอริค 2 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. สารละลายมาตราฐานกรดไฮโดรคลอริก 1 N : ปิเปต 37% กรดไฮโดรคลอริก 8.26 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ก่อนปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น
4. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 32% เตรียมจากชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
5. ตัวเร่ง (catalyst) (เตรียมจาก 1:8 ของ $CuSO_4$ / K_2SO_4)
6. สารละลายอินดิเคเตอร์

เตรียม 0.1% เมทธิลกรีนใน alcohol 95%

เตรียม 0.2% เมทธิลเรด ใน alcohol 95%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

1. การย่อย

1.1 ชั่งตัวอย่าง 0.5-5 กรัม (4ตำแหน่ง) ถ้าเป็นของเหลว 10-30 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดย่อยโปรตีน พยายามอย่าให้ตัวอย่างเปื้อนข้างขวด (ปริมาณของตัวอย่างขึ้นอยู่กับปริมาณโปรตีนในตัวอย่าง ถ้าปริมาณโปรีนน้อยให้ใช้ตัวอย่างมาก) เติมตัวเร่ง 10 กรัม เติมกรดซัลฟูริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร ใส่ boiling chip 2-3 ลูก (ปริมาณตัวเร่ง และกรดซัลฟูริกที่ใช้ขึ้นอยู่กับรุ่นของเครื่องย่อยที่ใช้)

1.2 นำหลอดย่อยโปรตีนวางลงในแลค (rack) ก่อนนำไปประกอบเข้ากับเครื่องย่อย ปิดที่บังความร้อน (heat shield) และสวมที่ดูดควัน ที่ต่อเข้ากับชุดกำจัดไอกรด (exhaust) ก่อนเปิดสวิทช์ (power on)

1.3 ตั้งอุณหภูมิที่ใช้ย่อย 380-400 องศาเซลเซียส (ถ้าตัวอย่างเป็นของเหลวหรือมีฟองขณะทำการย่อย อาจลดอุณหภูมิ (preheat) มาที่ 250 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที) ก่อนปรับไปที่อุณหภูมิที่ใช้ย่อย

1.4 ทำการย่อย จนได้สารละลายใสหรือสีฟ้าใส ซึ่งเวลาในการย่อยขึ้นอยู่กับตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

1.5 ปิดสวิทช์ พร้อมยกแลคที่มีหลอดย่อยตัวอย่างขึ้นพัก รอให้สารบะบานใสสีฟ้าเย็นลง ซึ่งในช่วงนี้ยังคงเปิดชุดกำจัดไอกรดไว้จนไม่มีไอกรด (สังเกตจากควันสีขาว) ก่อนนำไปต่อเข้ากับชุดกลั่น

2. การกลั่น

2.1 นำหลอดย่อยตัวอย่างต่อเข้ากับชุกกลั่นโปรตีน ตรวจเช็คความเรียบร้อยของระบบน้ำสำหรับหล่อเย็น ถังน้ำกลั่น ถังโซเดียมไฮดรอกไซด์ 32% โดยสายยางต้องจุ่มลงในถังของน้ำกลั่นหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์

2.2 เติมกรดบอริกเข้มข้น 2% ปริมาณ 60 มิลลิลิตรใส่ในขวดชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร หยดอินดิเคเตอร์ทั้งสอง อย่างละ 1 หยด จะได้สารละลายสีชมพูม่วง วางขวดชมพู่ในชุดกลั่นเสียบท่อพลาสติกที่ต่อจากคอนเด็นเซอร์ลงในกรดบอริค เพื่อดักจับแก๊สแอมโมเนียที่กลั่นออกมาได้

2.3 เปิดเครื่องเพื่อเติมน้ำกลั่นและโซเดียมไฮดรอกไซด์ลงในหลอดย่อย สารละลายในหลอดย่อยจะเปลี่ยนเป็นสีดำ

2.4 เปิดไอน้ำและตั้งเวลาในการกลั่น เวลาที่ใช้ในการกลั่นขึ้นกับปริมาณไนโตรเจนในตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การไตเตรท

3.1 นำขวดชมพู่ที่บรรจุสารละลายที่กลั่นเสร็จแล้วซึ่งมีสีเขียว มาไตเตรทกับกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 1 หรือ 0.1 N จนสารละลายเปลี่ยนไปเป็นสีชมพูม่วง บันทึกปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้

4. การคำนวณ

เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจนในอาหาร = $\frac{(A-B)\times N\times 14}{W} \times 100$

A = ปริมาณของสารละลายไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง

B = ปริมาณของกรดไฮดดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทกับ blank

N = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ (normal)

W = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

5. การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์โปรตีนในตัวอย่าง

เปอร์เซ็นต์โปรตีนในอาหาร = เปอร์เซ็นต์ไนโตรเจน × 6.25

ก.4 ไขมัน (Crude fat)

หลักการ

ไขมันเป็นองค์ประกอบหลักตัวหนึ่งของอาหาร เป็นสารอินทรีย์ที่ส่วนใหญ่ไม่สามารถละลายในน้ำแต่ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น ปีโตเลียมอีเทอร์ เฮกเซน คลอโรฟอร์ม ไขมันในอาหารรวมถึงสารประกอบในกลุ่ม ไตรกลีเซอไรด์ โมโนหรือไดกลีเซอไรด์ กรดไขมันอิสระ ฟอสโฟลิปิด สเตรอล แคโรทินิยด์ วิตามันเอและดี ดังนั้นไขมันในอาหารจึงมีองค์ประกอบที่ซับซ้อน อย่างไรก็ตามไขมันในอาหารส่วนใหญ่ประกอบด้วยไตรกลีเซอไรด์มากว่า95 เปอร์เซ็นต์ของไขมันทั้งหมด

การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในอาหาร มีหลักการที่นิยมใช้อยู่สองหลักการคือ

1) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย(solvent extraction)

เนื่องไขมันละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ แต่ไม่ละลายในน้ำ นักวิทยาศาสตร์การอาหาร จึงใช้วิธีนี้ในการแยกไขมันออกจากองค์ประกอบในอาหารที่ละลายน้ำได้ เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต แร่ธาตุ ตัวทำละลายอุดมคติควรจะสามารถสกัดไขมันออกจากอาหารได้หมด ประสิทธิภาพในการสกัดด้วยตัวทำละลายขึ้นอยู่กับความเป็นขั้ว (polarity) ของไขมันในอาหาร เปรียบเทียบกับความเป็นขั้วของตัวทำละลาย สำหรับโพลาร์ลิปิดหรือไขมันที่ค่อนข้างมีขั้ว เช่น ไกลโคลิปิด หรือ ฟอสโฟลิปิด ละลายได้ดีในตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้ว เช่น แอลกอฮอล์ มากกว่าในตัทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น เฮกเซน ในขณะเดียวกัน นอนโพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลาร์ลิปิด เช่น ไตรกลีเซอไรด์ก็สามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์ที่ไม่มีขั้วได้ดีกว่าตัวทำละลายที่มีขั้ว ดังนั้นการใช้ตัวทำละลายชนิดเดียวอาจไม่สามารถสกัดไขมันออกจากอาหารได้ทั้งหมด อย่างไรก็ตามในการวิเคราะห์หาปริมาณไขมันในอาหาร นักวิทยาศาสตร์การอาหารนิยมเลือกใช้ เอทธิลอีเธอร์ และปิโตรเลียมอีเทอร์ เนื่องจากมีจุดเดือดต่ำ

ในการสกัดไขมันด้วยวิธีการใช้ตัวทำละลาย ตัวอย่างที่ใช้ควรเป็นตัวอย่างที่แห้ง จึงแนะนำที่จะนำตัวอย่างไปทำการอบแห้งก่อนน้ำมาสกัดไขมัน เนื่องจากการซึมผ่านของตัวทำละลายอินทรีย์ลงในอาหารทำได้ยากขึ้นถ้ามีน้ำอยู่ในอาหาร นอกจากนี้ในอาหารที่มีไขมันจับอยู่กับโปรตีน เช่น ลิโปโปรตีน หรือจับกับโฟลิแซคคาไรด์ เช่น ไกลโคไลปิด อาจจำเป็น ต้องทำลายพันธะที่จับกันเหล่านี้ออกก่อนที่จะใส่ตัวทำละลายอินทรีย์เพื่อแยกไขมัน การย่อยด้วยกรด (acid hydrolysis) เช่นนำตัวอย่างไปต้มใน 3 นอร์มัล ไฮโครคลอริคเป็นเวลาหนึ่งชั่วโมง จะช่วยทำให้ไขมันที่จับกันกับโปรตีนในอาหารหลุดออก ทำให้การสกัดไขมันด้วยตัวทำละลายได้ง่ายขึ้น

เนื่องจากปัญหาของการกำจัดตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม จึงมีการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่นแทนตัวทำละลายอินทรีย์ เช่นการสกัดด้วยของไหลในสภาพวิกฤตยิ่งยวด (supercritical fluid extraction) โดยการใช้คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดแทนในตัวทำละลายอินทรีย์ โดยการนำคาร์บอนไดออกไซด์เหลวมาให้ความร้อนในสภาพที่มีแรงดันเหนือจุดวิกฤต (critical temperature)ทำให้กลายเป็นของเหลววิกฤตยิ่งยวด คือมีทั้งสมบัติของแกสและของเหลว ก่อนนำไปใส่ในอาหารที่รรจุในภาชนะที่ทนแรงดัน คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดสามารถสกัดไขมันออกจากอาหารเกิดการแยกชั้นของตัวทำละลาย และเมื่อลดอุณหภูมิและแรงดัน ทำให้คาร์บอนไดออกไซด์เปลี่ยนเป็นแกส เหลือเพียงชั้นของไขมันแยกออกมา

2) การสกัดโดยไม่ใช้ตัวทำละลาย (non-solvent liquid extraction)

การสกัดโดยของเหลวอาจไม่จำเป็นต้องใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ แต่อาจใช้สารเคมีชนิดอื่นเพื่อแยกไขมันออกจากอาหาร วิธีที่นิยมใช้คือ วิธีแบบดอก (Babcock) วิธีเกอร์เบอร์ (Gerber) และการใช้ดีเทอร์เจนต์ซึ่งเป็นวิธีที่นิยมใช้ในการหาปริมาณไขมันในนมหรือผลิตภัณฑ์จากนม

วิธีแบบคอค ทำได้โดยการการตวงนมที่ทราบปริมาตรที่แน่นอนใส่ในขวดแบคคอค เตดมกรดซัลฟูริคเขย่าเพื่อให้กรดไปย่อยโปรตีนที่เป็นเมมเบรนล้อมรอบเม็ดไขมันให้หลุดออก ทำให้เม็ดไขมันแยกออกมาก่อนนำไปหมุนเวียงที่อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส ทำให้ชั้นของไขมันเคลื่อนที่มาด้านบนคอขวดและที่คอขวดมีสแกลบอกปริมาณของไขมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีเกอร์เบอร์คล้ายกับวิธีแบบคอค แตกต่างกันที่วิธีนี้นอกจากกรดซัลฟูริค มีการเติมไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นสารที่ช่วยป้องกันไม่ให้น้ำตาลในนมเกิดการไหม้ เนื่องจากกรดและความร้อน ซึ่งเป็นปัญหาในวิธีแบบคอค ทำให้เกิดคราบสีน้ำตาล การสังเกตอ่านระดับของไขมันข้างขวดจึงทำได้ยาก

ในการวิเคราะห์โดยประมาณ วิธีการที่นิยมใช้ในการวิเคราะห์ประมาณไขมัน คือการสกัดด้วยตัวทำละลาย ในเครื่องมือกึ่งอัตโนมัติที่เรียกว่า ชุดซอกซ์เลต (soxhlet apparatus) (ภาพที่) โดยตัวอย่างที่แห้งบดละเอียดจะบรรจุลงในทิมเบิล (extraction thimble) (ภาพที่) ซึ่งเป็นภาชนะที่มีรูพรุนเพื่อให้ตัวทำละลายไหลผ่านได้ เมื่อตัวทำละลายไหลผ่านตัวอย่างจะพาเอาไขมันที่มีอยู่ในตัวอย่างออกมารวมลงในบิกเกอร์ก่อนไหลรวมลงในบิกเกอร์ กระบวนการสกัดดำเนินต่อเนื่องเป็นเวลา 1-2 ชั่วโมงขึ้นกับปริมาณไขมันในตัวอย่างอาหาร เมื่อครบกำหนดเวลา นำบิกเกอร์ที่บรรจุตัวทำละลายและไขมันไปอบในตู้อบลมร้อน เพื่อระเหยตัวทำละลายออก ชั่งน้ำหนักของไขมันที่เหลืออยู่ในบิกเกอร์

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. ชุดสกัดซอกซ์เล็ต (soxhlet apparatus) พร้อมทิมเบิล (thimble) และบิกเกอร์ไขมัน
3. ตู้อบไฟฟ้า (hot air oven)
4. โถดูดความชื้น (desiccators)
5. ที่คีบ (Tong)
6. Boiling chip จำนวน 2 เม็ด

วิธีการทดลอง

1. อบบิกเกอร์ไขมันพร้อมกับ boiling chip ที่อุณหภูมิ 130°C 1 ชั่วโมง บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W)
2. ชั่งตัวอย่างที่บดละเอียดอบไล่ความชื้นแล้ว 5.00-10.00 กรัม (ปริมาณของตัวอย่างขึ้นอยู่กับปริมาณไขมันในตัวอย่าง ถ้าปริมาณไขมันน้อยให้ใช้ตัวอย่างมาก) บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W) ห่อด้วยกระดาษกรอง ใส่ในทิมเบิล (extraction thimble)
3. ตวงตัวทำละลายปิโตเลียมอีเทอร์จำนวน 140 – 180 มิลลิลิตรใส่ในบิกเกอร์ไขมัน ต่อทิมเบิลใส่ตัวอย่างและบิกเกอร์ไขมันเข้ากับเครื่องสกัดไขมัน ทำการสกัดไขมันตามโปรแกรมของเครื่อง
4. เมื่อครบเวลานำบิกเกอร์ไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 105°C 30 นาที เพื่อระเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. นำบิกเกอร์ไขมันใส่ในโถดูดความชื้น เพื่อรอให้เย็น ก่อนนำบิกเกอร์ไขมันไปชั่งน้ำหนักที่แน่นอน (W)
6. การคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ไขมันในตัวอย่าง

$$\text{เปอร์เซ็นต์ไขมัน} = \frac{W_2 - W_1}{W} \times 100$$

เมื่อ W = น้ำหนักตัวอย่าง

W1 = น้ำหนักของบิกเกอร์ไขมันก่อนสกัด

W2 = น้ำหนักของบิกเกอร์ไขมันหลังสกัด

ก.5 ใยอาหาร (crude fiber)

หลักการ

ใยอาหาร คือส่วนของคาร์โบไฮเดรตที่ย่อยไม่ได้ ประกอบด้วยเซลลูโลส ลิกนิน เฮมิเซลลูโลส เพคติน กัม มิวซิเลจ เป็นต้น เป็นส่วนประกอบที่พบในพืชไม่ว่าจะเป็นผักผลไม้ ธัญญชาต หรือถั่วต่างๆ มีประโยชน์ต่อระบบสรีรวิทยาของร่ากายหลายด้าน เช่น ลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด ช่วยลดการดูดซึมของน้ำตาล ลดอัตราเสี่ยงการเป็นโรคหัวใจ ปรับปรุงหน้าที่ของลำไส้ใหญ่

การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหารสามารถทำได้โดย นำตัวอย่างที่สกัดไขมันออกแล้วไปย่อยด้วยสารละลายกรดและเบสในเวลาและสภาวะที่กำหนด ส่วนที่เหลือหลังจากการย่อยประกอบด้วยส่วนของใยอาหารและเถ้า ปริมาณของใยอาหารหรือที่เรียกว่าครูดไฟเบอร์หาได้โดยนำส่วนที่เหลือจากการย่อยไปอบแห้งก่อนนำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-600 องศาเซลเซียส ปริมาณใยอาหารเท่ากับน้ำหนักที่หายไปโดยคิดจากน้ำหนักหลังจากการอบลบน้ำหนักหลังจากการเผา

การวิเคราะห์ปริมาณใยอาหาร นอกจากจะใช้กรดด่างย่อยเพื่อหาปริมาณครูดไฟเบอร์แล้ว อาจใช้วิธีวิเคราะห์ที่ใช้เอ็นไซม์ในการย่อยตัวอย่าง แล้วชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่เหลือจากการย่อย ส่วนของสารอินทรีย์ที่เหลือจากการย่อยด้วยเอ็นไซม์ ซึ่งเป็นการจำลองระบบการย่อยในร่างกาย เรียกว่า ไดเอ็ททารีไฟเบอร์ (dietary fiber) ปริมาณครูดไฟเบอร์และไดเอ็ททารีไฟเบอร์มีความสัมพันธ์โดยตรง ดังนั้นโรงงานอาหาร เช่น โรงงานอาหารสัตว์ จึงนิยมที่จะวิเคราะห์หาปริมาณครูดไฟเบอร์ เนื่องจากทำการทดลองได้ง่ายและประหยัดค่าใช้จ่ายมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์

1. เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง
2. เครื่องวิเคราะห์ใยอาหาร (fiber extraction apparatus)
3. ถ้วยชนิดทนไฟ (sinter glass crucible) ขนาดตัวกรอง(filter) ประมาณ 40-90 ไมครอน
4. เตาเผาไฟฟ้า (muffle furnace)
5. ตู้อบลมร้อน (hot air oven_
6. โถดูดความชื้น (desiccators)
7. ที่คีบ (Tong)

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก (H_2SO_4) เข้มข้น 0.255 N (1.25 เปอร์เซ็นต์): ปิเปตกรดซัลฟูริก 98.1% จำนวน 6.93 มิลลิลิตร หรือปิเปตกรดซัลฟูริก 96% จำนวน 7.10 มิลลิลิตร ลงในขวดปรับปริมาตร 1 ลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.313 N (1.25 เปอร์เซนต์) เตรียมจากชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.25 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3. อะซิโตน

4. n-Octanil

วิธีการทดลอง

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างที่แห้งและสกัดไขมันออกแล้ว 1 กรัม ๖น้ำหนักที่แน่นอน๗ ใส่ในถ้วยชนิดทนไฟ (ในกรณีที่ตัวอย่างกรองได้ยาก อาจมีการเติมสารช่วยการกรอง ซีไรท์ (celite) ประมาณ 1 กรัมลงบนตัวอย่าง)

2. นำถ้วยชนิดทนไฟ ต่อเข้ากับเครื่องวิเคราะห์ใยอาหารในส่วนของ hot extraction unit ปิดล็อคให้แน่น

3. เปิดฝาด้านบนของเครื่อง เติมกรดซัลฟูริก 0.255 N ที่อุ่นๆ จำนวน 150 มิลลิลิตร ลงในขวดย่อยของแต่ละตัวอย่าง

4. เติม n-Octanol ปริมาณ 2-3 หยด เพื่อป้องกันการเกิดฟองล้น ให้ความร้อนจนเดือด

5. ลดความร้อนลง และต้มต่อเป็นเวลา 30 นาที

6. กรองเอากรดออก โดยเลื่อนคันโยกไปที่ตำแหน่ง vacuum ถ้ากรองไม่ลงให้ใช้แรงดันที่ตำแหน่ง pressure ช่วย

7. ล้างกากด้วยน้ำกลั่นร้อนสามครั้ง ครั้งละประมาณ 30 มิลลิลิตร กรองจนแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. ทำซ้ำข้อ 5 ถึง 7

9. ล้สงกากที่อยู่บนถ้วยชนิดทนไฟด้วยอะซิโตน 25 มิลลิลิตร กรองให้แห้ง

10. นำถ้วยชนิดทนไฟ ไปอบที่อุณหภูมิ 130 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น นำไปชั่งน้ำหนัก บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W_1)

11. นำไปเปาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 600°C นานประมาณ 3 ชั่วโมง แล้วนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น บันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (W_2)

12. คำนวณเปอร์เซ็นต์ใยอาหารจากสมการ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ของใยอาหาร} = \frac{W_1 - W_2}{W} \times 100$$

เมื่อ W = น้ำหนักตัวอย่าง

W_1 = น้ำหนักถ้วยชนิดทนไฟและกากหลังอบแห้ง (กรัม)

W_2 = น้ำหนักถ้วยชนิดทนไฟและเถ้าหลังจากเผา(กรัม)

ก.5 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate)

คาร์โบไฮเดรต = 100 – (%ความชื้น + %โปรตีน + %ไขมัน +%เยื่อใย +%เถ้า)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

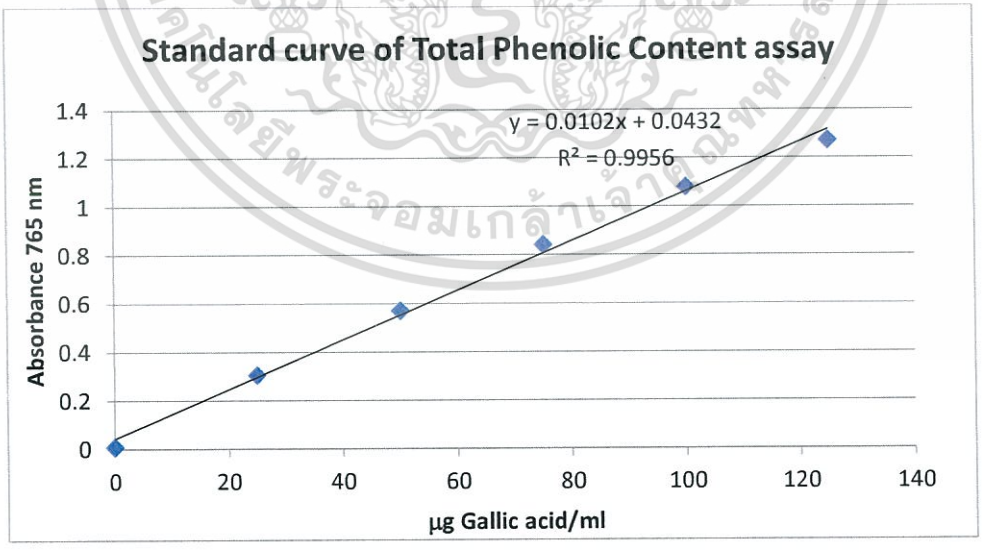
ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิก
(Phenolic content)

ข.1 การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัด

จากผลดังแสดงตารางที่ ข.1 สามารถสร้างกราฟมาตราฐานได้สมการคือ y = 0.0102x + 0.0432 สามารถคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดได้ โดยการแทนค่าการดูดกลืนแสงเป็นตัวแปร y ในสมการแล้วคำนวณหาค่า x ซึ่งจะได้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

ตารางที่ ข.1 ปริมาณความเข้มข้นของกรดแกลลิก และค่าการดูดกลืนแสง

ปริมาณความเข้มข้นของกรดแกลลิก (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร
0	0.009
25	0.306
50	0.57
75	0.842
100	1.081
125	1.273



ภาพที่ ข1 กราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของกรดแกลลิก และค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดตัวอย่างของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7 วัน โดยใช้ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างข้าว 0.5 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร ครั้งที่ 1 ได้ 0.527 จากกราฟมาตราฐานของกรดแกลลิก ดังภาพที่ ข.1 ได้สมการเส้นตรง $y = 0.0102x + 0.0432$, $R^2 = 0.9956$ แทนค่า y ในสมการ , $y = 0.527$

$x = 47.43$ ไมโครกรัมสมมูลกรดแกลลิก/มิลลิลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 0.047 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.88 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 20 มิลลิลิตร มาจากข้าว 2 กรัม

ดังนั้น ข้าว 2 กรัม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 1.88 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ถ้า ข้าว 1 กรัม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 0.94 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

ดังนั้นในสารสกัดตัวอย่างข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7 วัน การวัดค่าการดูดกลืนแสงครั้งที่ 1 จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 0.94 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก / 1 กรัมตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ
(Antioxidant activities)

ค.1 การคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดด้วยวิธี DPPH

จากผลดังแสดงตารางที่ ค.1 สามารถสร้างกราฟมาตราฐานได้สมการคือ y = 0.0012x - 0.0145 สามารถคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดได้ โดยการแทนค่าการดูดกลืนแสงเป็นตัวแปร y ในสมการแล้วคำนวณหาค่า x ซึ่งจะได้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ ค.1 ปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ

ปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox (ไมโครโมล/ลิตร)	ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 515 นาโนเมตร
20	0.0335
40	0.045
60	0.058
80	0.0805
100	0.095
120	0.1185
140	0.164
160	0.1735
200	0.237
300	0.359
400	0.4885
500	0.612
600	0.723
700	0.8345
800	0.998

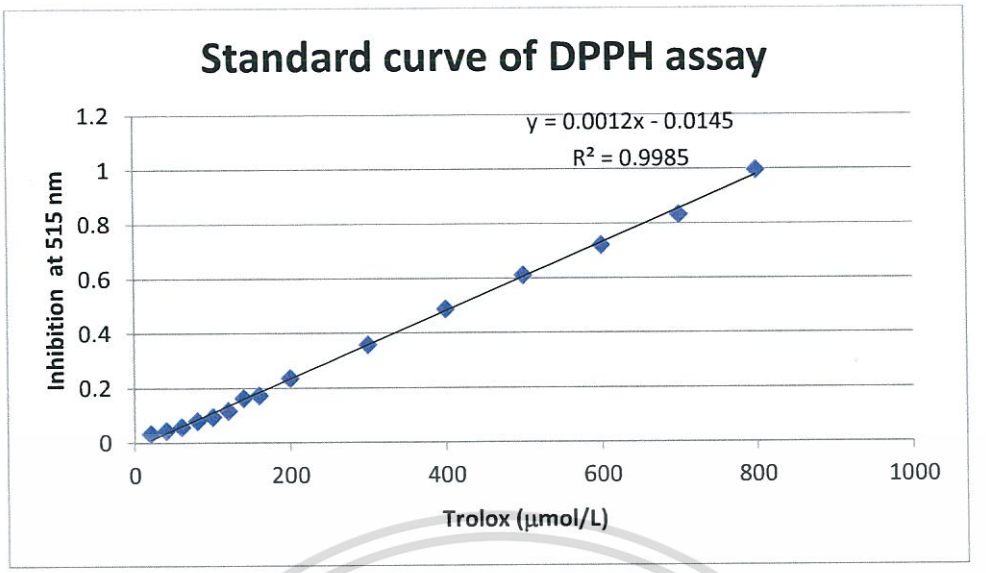
คำนวณหาค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสมการ

$$\text{ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ} = A_{control} - A_{sample}$$

โดยที่ A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาจากตัวอย่างสารสกัดข้าว

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค.1 กราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดตัวอย่างของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7 วัน โดยใช้ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างข้าว 0.3 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 515 นาโนเมตร ครั้งที่ 1 ได้ 0.241 จากกราฟมาตราฐานของสารมาตราฐาน Trolox ดังภาพที่ ค.1 ได้สมการเส้นตรง y = 0.0012x - 0.0145, R^2= 0.9985

แทนค่า y ในสมการ , y = 0.299

x = 261.25 ไมโครโมล/ลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 0.26125 มิลลิโมล/ลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 8.71 มิลลิโมล/ลิต

สารสกัดตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร มาจากข้าว 1 กรัม

ดังนั้น ข้าว 1 กรัม มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 8.71 มิลลิโมลสมมูลของสารมาตราฐานTrolox / 1 กรัมตัวอย่าง

ดังนั้นในสารสกัดตัวอย่างข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7 วัน การวัดค่าการดูดกลืนแสงครั้งที่ 1 จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดทั้งหมดเท่ากับ 8.71 มิลลิโมลสมมูลของสารมาตราฐาน Trolox / 1 กรัมตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดด้วยวิธี ABTS

จากผลดังแสดงตารางที่ ค.2 สามารถสร้างกราฟมาตราฐานได้สมการคือ y = 0.0014x - 0.0112 สามารถคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดได้ โดยการแทนค่าการดูดกลืนแสงเป็นตัวแปร y ในสมการแล้วคำนวณหาค่า x ซึ่งจะได้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ ค.2 ปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการดูดกลืนแสง

ปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox (ไมโครโมล/ลิตร)	ค่าการยับยั้งที่ 734 นาโนเมตร
20	0.049
40	0.0656
60	0.068
80	0.085
100	0.118
120	0.1465
140	0.1795
160	0.195
200	0.2495
300	0.3845
400	0.5335
500	0.676
600	0.82

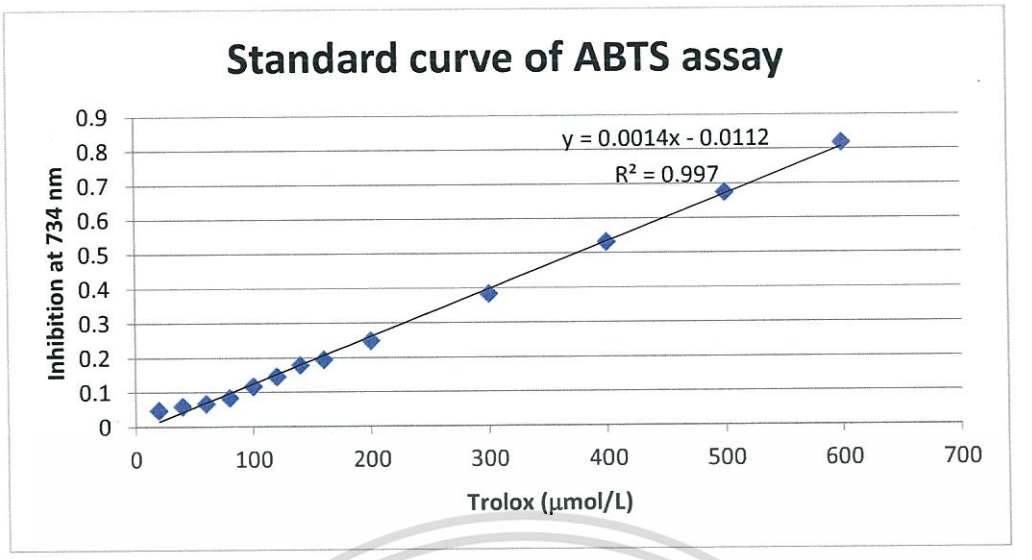
คำนวณหาค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระจากสมการ

$$\text{ค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ} = A_{control} - A_{sample}$$

โดยที่ A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาจากตัวอย่างสารสกัดข้าว

$A_{control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค.2 กราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดตัวอย่างของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7 วัน โดยใช้ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างข้าว 0.3 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ครั้งที่ 1 ได้ 0.295 จากกราฟมาตราฐานของสารมาตราฐาน Trolox ดังภาพที่ ค.2 ได้สมการเส้นตรง y = 0.0014x - 0.0112, R^2= 0.997

แทนค่า y ในสมการ , y = 0.295

x = 218.71 ไมโครโมล/ลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 0.21871 มิลลิโมล/ลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 7.29 มิลลิโมล/ลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร มาจากข้าว 1 กรัม

ดังนั้น ข้าว 1 กรัม มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 7.29 มิลลิโมลสมมูลของสารมาตราฐานTrolox / 1 กรัมตัวอย่าง

ดังนั้นในสารสกัดตัวอย่างข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7 วัน การวัดค่าการดูดกลืนแสงครั้งที่ 1 จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดทั้งหมดเท่ากับ 7.29 มิลลิโมลสมมูลของสารมาตราฐานTrolox / 1 กรัมตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดด้วยวิธี FRAP

จากผลดังแสดงตารางที่ ค.3 สามารถสร้างกราฟมาตราฐานได้สมการคือ y = 0.0023x - 0.0149 สามารถคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดได้ โดยการแทนค่าการดูดกลืนแสงเป็นตัวแปร y ในสมการแล้วคำนวณหาค่า x ซึ่งจะได้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ ค.3 ปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการดูดกลืนแสง

ปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox (ไมโครโมล/ลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร
20	0.0405
40	0.072
60	0.127
80	0.1755
100	0.2255
120	0.2745
140	0.286
160	0.3515
200	0.4565
300	0.695
400	0.919

คำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี FRAP จากสมการ

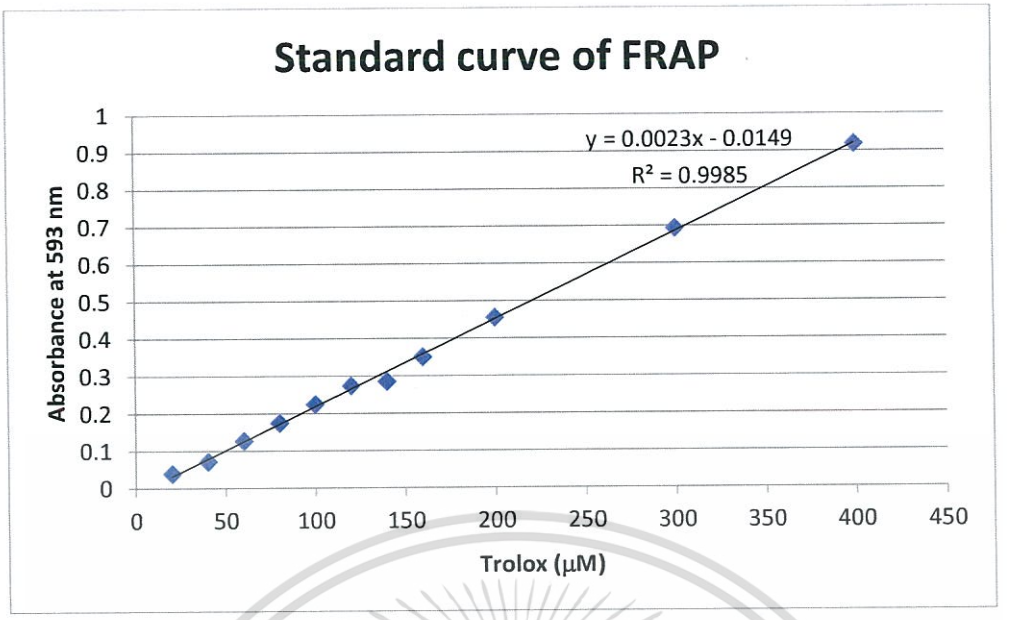
$$A_{FRAP} = A_{control} - A_{sample}$$

โดยที่ A_{FRAP} = ค่าการดูดกลืนแสงด้วยวิธี FRAP

A_{sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาจากตัวอย่างสารสกัดข้าว

A_{contro} = ค่าการดูดกลืนแสงของปฏิกิริยาควบคุม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค.3 กราฟมาตราฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณความเข้มข้นของสารมาตราฐานTrolox และค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร

ตัวอย่างการคำนวณ

สารสกัดตัวอย่างของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7 วัน โดยใช้ปริมาตรสารสกัดตัวอย่างข้าว 0.3 มิลลิลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 นาโนเมตร ครั้งที่ 1 ได้ 0.013 จากกราฟมาตราฐานของสารมาตราฐาน Trolox ดังภาพที่ ค.3 ได้สมการเส้นตรง y = 0.0023x - 0.0149, R^2= 0.9985

แทนค่า y ในสมการ , y = 0.013

x = 12.13 ไมโครโมล/ลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 0.01213 มิลลิโมล/ลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 0.40 มิลลิโมล/ลิตร

สารสกัดตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร มาจากข้าว 1 กรัม

ดังนั้น ข้าว 1 กรัม มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมด 0.40 มิลลิโมลสมมูลของสารมาตราฐานTrolox / 1 กรัมตัวอย่าง

ดังนั้นในสารสกัดตัวอย่างข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 7 วัน การวัดค่าการดูดกลืนแสงครั้งที่ 1 จะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดทั้งหมดเท่ากับ 0.40 มิลลิโมลสมมูลของสารมาตราฐานTrolox / 1 กรัมตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง
ตารางการวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติ

ตารางที่ ง.1 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของความชื้นในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน

T-Test

Group Statistics

	time	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
moisture	12	3	8.0433	.23502	.13569
	15	3	9.6367	.86835	.50134

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
moisture	Equal variances assumed	7.021	.057	-3.068	4	.037	-1.59333	.51938	-3.03536	-.15130
	Equal variances not assumed			-3.068	2.291	.077	-1.59333	.51938	-3.57660	.38994

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.2 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของเถ้าของเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดที่ 12 และ 15 วัน

T-Test

Group Statistics

	time	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
ash	12	3	1.5981	.07051	.04071
	15	3	1.5533	.01784	.01030

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
ash Equal variances assumed	4.104	.113	1.067	4	.346	.04479	.04199	-.07180	.16138
Equal variances not assumed			1.067	2.255	.387	.04479	.04199	-.11765	.20723

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.3 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของโปรตีนในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน

T-Test

Group Statistics

	time	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
protein	12	3	6.9925	.60424	.34886
	15	3	7.0736	.48115	.27779

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					
								95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
protein	Equal variances assumed	.403	.560	-.182	4	.865	-.08104	.44595	-1.31918	1.15710
	Equal variances not assumed			-.182	3.809	.865	-.08104	.44595	-1.34406	1.18198

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.4 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของไขมันในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน

T-Test

Group Statistics

	time	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
fat	12	3	2.9311	.04037	.02331
	15	3	4.1124	.29252	.16889

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
fat Equal variances assumed	3.128	.152	-6.929	4	.002	-1.18127	.17049	-1.65462	-.70791
Equal variances not assumed			-6.929	2.076	.018	-1.18127	.17049	-1.88963	-.47291

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.5 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของใยอาหารในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน

T-Test

Group Statistics

	time	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
fiber	12	3	1.3503	.31739	.18324
	15	3	1.5898	.09418	.05438

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
									95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
fiber	Equal variances assumed	1.788	.252	-1.253	4	.278	-.23950	.19114	-.77019	.29120
	Equal variances not assumed			-1.253	2.350	.320	-.23950	.19114	-.95511	.47612

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.6 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของคาร์โบไฮเดรตในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน

T-Test

Group Statistics

	time	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
carbo	12	3	87.1260	.58580	.33821
	15	3	85.6709	.79128	.45684

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					
								95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
carbo	Equal variances assumed	.718	.445	2.560	4	.063	1.45516	.56841	-.12301	3.03332
	Equal variances not assumed			2.560	3.686	.068	1.45516	.56841	-.17749	3.08781

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.7 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สาม เดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน

T-Test

Group Statistics

	time	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
phenolic	12	3	.8210	.05434	.03137
	15	3	.7843	.06947	.04011

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
phenolic	Equal variances assumed	.156	.713	.720	4	.511	.03667	.05092	-.10472	.17805
	Equal variances not assumed			.720	3.781	.513	.03667	.05092	-.10801	.18134

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.8 การวิเคราะห์ความแปรปรวนทางสถิติของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวไร่พันธุ์สามเดือนที่ช่วงระยะการเจริญของเมล็ด 12 และ 15 วัน

ผลการวิเคราะห์ของการทดสอบด้วยวิธี DPPH

T-Test

Group Statistics

	days	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
DPPH	12	3	10.6433	.39425	.22762
	15	3	11.1800	.89353	.51588

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means					
								95% Confidence Interval of the Difference	
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
DPPH	Equal variances assumed	2.644	.179	-.952	4	.395	-.53667	.56387	-2.10221	1.02888
	Equal variances not assumed			-.952	2.750	.417	-.53667	.56387	-2.42693	1.35359

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์ของการทดสอบด้วยวิธี ABTS

T-Test

Group Statistics

	day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
FRAP	12	3	.7900	.04583	.02646
	15	3	.8133	.02517	.01453

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
FRAP Equal variances assumed	1.225	.330	-.773	4	.483	-.02333	.03018	-.10714	.06047
Equal variances not assumed			-.773	3.106	.494	-.02333	.03018	-.11757	.07090

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์ของการทดสอบด้วยวิธี FRAP

T-Test

Group Statistics

	day	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error Mean
FRAP	12	3	.7900	.04583	.02646
	15	3	.7633	.11930	.06888

Independent Samples Test

	Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
								95% Confidence Interval of the Difference	
	F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	Lower	Upper
FRAP Equal variances assumed	4.522	.101	.361	4	.736	.02667	.07379	-.17820	.23153
Equal variances not assumed			.361	2.578	.745	.02667	.07379	-.23150	.28483

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

ภาพการทดลอง

ภาพที่ จ.1 ตัวอย่างข้าว 7 , 12 และ 15 วัน ตามลำดับ

ภาพที่ จ.2 ตัวอย่างข้าว 15 วันหลังผ่านการทำแห้ง

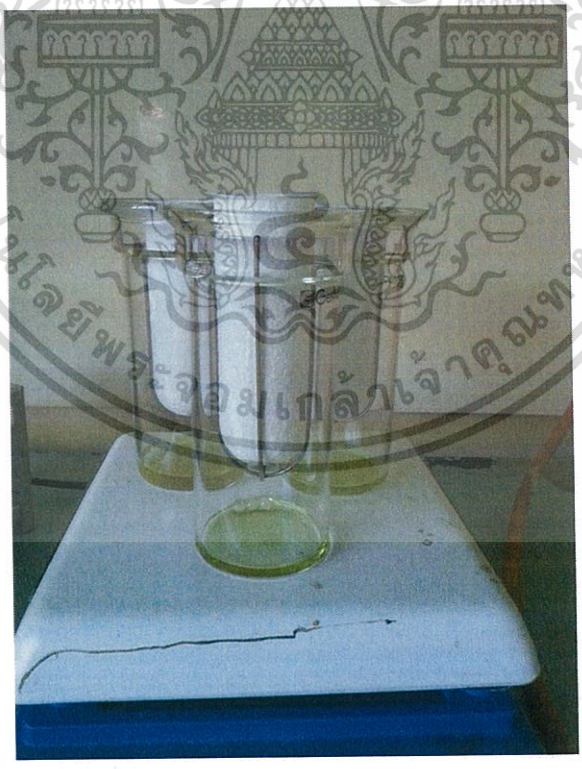
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ จ.3 การหาองค์ประกอบทางเคมี ความชื้น (Moisture)

ภาพที่ จ.4 การหาองค์ประกอบทางเคมี เถ้า (Ash)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ จ.5 การหาองค์ประกอบทางเคมี ไขมัน (Crude fat)



ภาพที่ จ.6 การหาองค์ประกอบทางเคมี ไขมัน (Crude fat)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ จ.7 การหาองค์ประกอบทางเคมี โปรตีน (Crude protein)

ภาพที่ จ.8 การหาองค์ประกอบทางเคมี เยื่อใยหยาบ (Crude fiber)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ จ.9 สาร Diatomaceous earth (Celite) เป็นสารช่วยกรองเยื่อใยหยาบ (Crude fiber)

ภาพที่ จ.10 การวิเคราะห์ปริมาณสารต้านออกซิเดชั่นโดยวิธี DPPH ABTS และFRAP ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาว พิรานันท์ แก้วโพธิ์นันทกุล
วัน เดือน ปี เกิด	1 มีนาคม พ.ศ. 2537
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนสุรศักดิ์มนตรี จังหวัดกรุงเทพมหานคร ในปีการศึกษา 2554 สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิตจากสาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย	ผ่านการฝึกอบรมภาคปฏิบัติจากศูนย์วิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ผลงานการวิจัย พิรานันท์ แก้วโพธิ์นันทกุล และสาธิตา ละมัยกุล. **สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดข้าว.** ปัญหาพิเศษหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง,2559.
ชื่อ-นามสกุล	นางสาว สาธิตา ละมัยกุล
วัน เดือน ปี เกิด	8 กรกฎาคม พ.ศ. 2536
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลายจากโรงเรียนบดินทร์เดชา(สิงห์ สิงหเสนี)4 จังหวัด กรุงเทพมหานคร ในปีการศึกษา 2554 สำเร็จการศึกษาปริญญาตรีวิทยาศาสตร์บัณฑิตจากสาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์การทำงานและผลงานวิจัย	ผ่านการฝึกอบรมภาคปฏิบัติจากบริษัทเพรซิเดนท์เบเกอรี่ จำกัด(มหาชน) ผลงานการวิจัย พิรานันท์ แก้วโพธิ์นันทกุล และสาธิตา ละมัยกุล. **สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในช่วงระยะการเจริญของเมล็ดข้าว.** ปัญหาพิเศษหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร ลาดกระบัง,2559.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้