

บทที่ 4

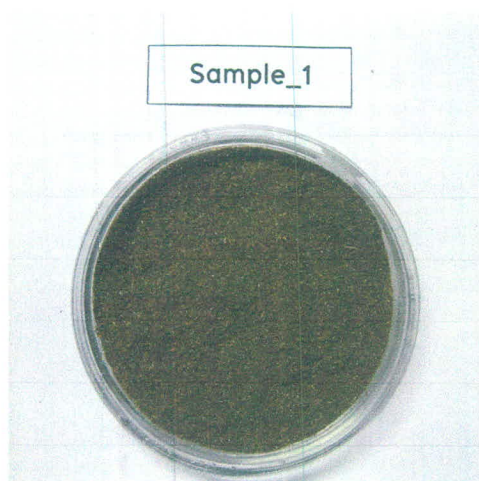
ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

4.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเก่า

จากการคัดเลือกรำข้าวเก่าทั้งหมด 7 ตัวอย่าง คือ ข้าวเก่าลิ้มผัว ข้าวเก่าดอยสะเก็ด ข้าวเก่าพะเยา ข้าวเก่าเชียงราย ข้าวเก่าต่อ ข้าวเก่าปึงและข้าวเก่าปาอีคอก และรำข้าวขาวจำนวน 2 ตัวอย่าง คือ ข้าวเหนียวสันป่าตองและข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยแหล่งวัตถุดิบตัวอย่างข้าวดังแสดงในตารางที่ 4.1 จากนั้นจึงทำการกะเทาะเปลือกด้วยเครื่องสีข้าวทองทวี รุ่น 1000 TURBO เพื่อเก็บตัวอย่างรำข้าว โดยรูปตัวอย่างรำข้าวที่ได้ดังแสดงในรูปที่ 4.1 เมื่อได้ตัวอย่างรำข้าวแล้วจึงทำการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเก่าด้วยเทคนิคการบีบเย็น (FEA-100SS-M-H-TC, ห้างหุ้นส่วนจำกัดเพื่อนพลังงาน, เชียงใหม่) และการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด (supercritical carbon dioxide extraction, SCDE) ที่ความดัน 450 bar อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ซึ่งคัดเลือกสภาวะการสกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดมาจากโครงการวิจัย “การพัฒนาระบบนำส่งสารสกัดแกมมา-โอไรซานอลจากข้าวสายพันธุ์ไทยที่มีศักยภาพในการป้องกันการก่อมะเร็งลำไส้ใหญ่และลำไส้ตรง” โดยปริมาณร้อยละของน้ำมันรำข้าวเก่าที่เตรียมได้จากทั้ง 2 วิธี ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.1 แหล่งวัตถุดิบตัวอย่างข้าว

ลำดับที่	ตัวอย่าง	แหล่งวัตถุดิบ
1	ข้าวเก่าลิ้มผัว	สำนักงานเกษตรอำเภอพบพระ จังหวัดตาก
2	ข้าวเก่าดอยสะเก็ด	ศูนย์วิจัยข้าวเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่
3	ข้าวเก่าหงส์หิน (พะเยา)	กลุ่มบ้านชาวนาข้าวเก่าพะเยา อำเภอจุน จังหวัดพะเยา (ศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวพะเยา)
4	ข้าวเก่าเวียงป่าเป้า (เชียงราย)	วิสาหกิจชุมชนกลุ่มผลิตข้าวกล้องอินทรีย์เพื่อสุขภาพอำเภอเวียงป่าเป้า จังหวัดเชียงราย (ศูนย์วิจัยข้าวเชียงราย จังหวัดเชียงราย)
5	ข้าวเก่าต่อ	สำนักงานเกษตรอำเภอพบพระ จังหวัดตาก
6	ข้าวเก่าปึง	สำนักงานเกษตรอำเภออุ้มผาง จังหวัดตาก
7	ข้าวเก่าปาอีคอก	ศูนย์วิจัยข้าวปางมะผ้า จังหวัดแม่ฮ่องสอน
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	ศูนย์วิจัยข้าวเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	ศูนย์วิจัยข้าวเชียงใหม่ จังหวัดเชียงใหม่



Sample_1

รำข้าวกำลิมพั่ว



Sample_2

รำข้าวกำดอยสะเกิด



Sample_3

รำข้าวกำหงส์หิน (พะเยา)



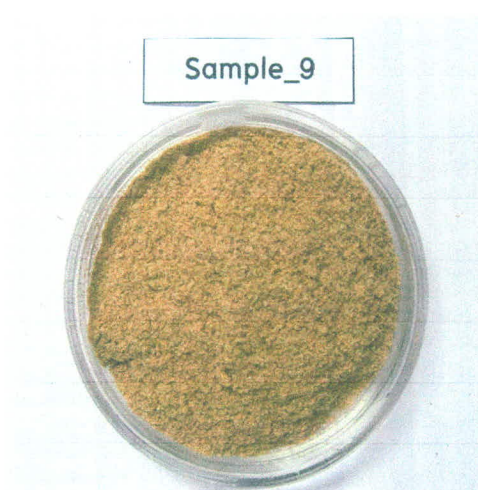
Sample_4

รำข้าวกำเวียงป่าเป้า (เชียงราย)



Sample_8

รำข้าวเหนียวสันป่าตอง



Sample_9

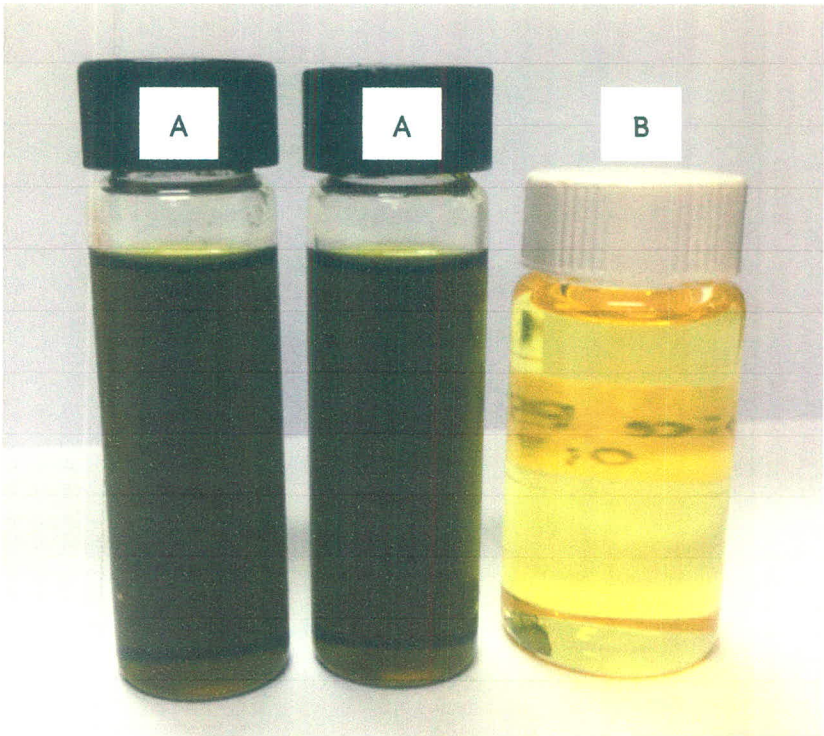
รำข้าวขาวดอกมะลิ 105

รูปที่ 4.1 ตัวอย่างรำข้าวที่เตรียมได้จากการกระเทาะเปลือกข้าว

ตารางที่ 4.2 ปริมาณร้อยละ (%yield) น้ำมันรำข้าวเก่าที่ได้

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณร้อยละ (%yield) น้ำมันรำข้าว	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวกล้องสีม้วน	4.65 ± 0.55	6.88 ± 0.58
2	ข้าวกล้องดอຍสะเกิด	4.27 ± 0.45	6.26 ± 0.38
3	ข้าวกล้องพะเยา	4.08 ± 0.39	6.16 ± 0.53
4	ข้าวกล้องเชียงราย	3.93 ± 0.47	5.87 ± 0.44
5	ข้าวกล้องต่อ	4.19 ± 0.43	6.32 ± 0.52
6	ข้าวกล้องปิ้ง	4.33 ± 0.42	6.73 ± 0.47
7	ข้าวกล้องปาอีคอ	4.54 ± 0.51	7.15 ± 0.45
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	3.68 ± 0.45	5.85 ± 0.36
9	ข้าวข้าวดอกมะลิ 105	3.75 ± 0.38	5.56 ± 0.43

SCDE: Supercritical Carbon Dioxide Extraction; Mean ± SD



รูปที่ 4.2 น้ำมันรำข้าวเก่า (A) และน้ำมันรำข้าวขาว (B) ที่เตรียมได้

จากการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเก่าด้วยเทคนิคการบีบเย็นและคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด พบว่าเทคนิคการสกัดน้ำมันรำข้าวเก่าด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดให้ร้อยละผลผลิตน้ำมันรำข้าวเก่า (%yield) สูงกว่าการสกัดน้ำมันรำข้าวด้วยการบีบเย็น เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำมันรำข้าวเก่ากับน้ำมันรำข้าวขาวที่ได้จากการสกัดทั้ง 2 วิธี พบว่ารำข้าวเก่าให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวเก่าที่สูงกว่าน้ำมันรำข้าวขาวซึ่งเป็นชุดควบคุม (ข้าวเหนียวสันป่าตองและข้าวขาวดอกมะลิ 105) สำหรับการสกัดน้ำมันรำข้าวเก่าด้วยเทคนิคการบีบเย็นนั้นพบว่ารำข้าวเก่าสีมัวให้ร้อยละของน้ำมันรำข้าวเก่าสูงที่สุดเท่ากับร้อยละ 4.65 ± 0.55 ตามมาด้วยรำข้าวเก่าปาอีคและรำข้าวเก่าปั้ง ตามลำดับ ในขณะที่การสกัดน้ำมันรำข้าวเก่าด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดนั้นพบว่ารำข้าวเก่าปาอีคให้ร้อยละของน้ำมันรำข้าวสูงที่สุดเท่ากับ 7.15 ± 0.45 ตามมาด้วยรำข้าวเก่าสีมัวและรำข้าวเก่าปั้ง ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบสีของน้ำมันรำข้าวที่เตรียมด้วยเทคนิคการบีบเย็นและคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดพบว่าน้ำมันรำข้าวเก่าที่เตรียมได้จะมีสีที่เข้มกว่าน้ำมันรำข้าวขาวซึ่งมีความเป็นไปได้ที่น้ำมันรำข้าวเก่าที่เตรียมได้อาจมีสารกลุ่มแอนโทไซยานิน (สารสีม่วงแดง) ถูกสกัดออกมาด้วยจึงทำการวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานินด้วยเทคนิค pH different spectrometry วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลโดยรวมและปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์โดยรวม จากนั้นจึงนำตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเก่าทั้ง 14 ตัวอย่างและน้ำมันรำข้าวขาวอีก 4 ตัวอย่างมาวิเคราะห์หาปริมาณแอมมา-โอโรซานอลด้วยเทคนิค reversed-phase HPLC ด้วยตัวตรวจวัดชนิดยูวี วิเคราะห์รูปแบบและปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอรอลด้วยเทคนิค reversed-phase HPLC ด้วยตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ รวมทั้งชนิดและปริมาณของกรดไขมันด้วยเทคนิค GC/MS/MS

4.2 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากรายงานการวิจัยพบว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Saenjum *et al.*, 2010) โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกนั้นประกอบด้วยวงแหวนอะโรมาติกและมีหมู่แทนที่ที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิลอย่างน้อย 1 หมู่ จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วย Folin-Ciocalteu reagent ในสารสกัดที่เตรียมได้จากน้ำมันรำข้าวเก่า 14 ตัวอย่างและน้ำมันรำข้าวขาว 4 ตัวอย่าง จากการผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกโดยรวม (mg GAE/100 g น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวกล้องลิ้มผิว	38.59 ± 1.47 ^A	27.65 ± 1.58 ^{ab}
2	ข้าวกล้องดอยสะเก็ด	28.43 ± 1.35 ^{BC}	22.27 ± 1.35 ^c
3	ข้าวกล้องพะเยา	26.54 ± 1.42 ^C	21.76 ± 1.27 ^{cd}
4	ข้าวกล้องเชียงราย	25.88 ± 1.36 ^C	19.34 ± 1.16 ^d
5	ข้าวกล้องต่อ	31.28 ± 1.33 ^B	23.48 ± 1.28 ^c
6	ข้าวกล้องปึ้ง	32.38 ± 1.29 ^B	25.38 ± 1.32 ^{bc}
7	ข้าวกล้องปาอีคอง	36.74 ± 1.37 ^A	28.24 ± 1.46 ^a
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	15.78 ± 1.25 ^D	11.68 ± 1.43 ^e
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	14.36 ± 1.18 ^D	11.16 ± 1.37 ^e

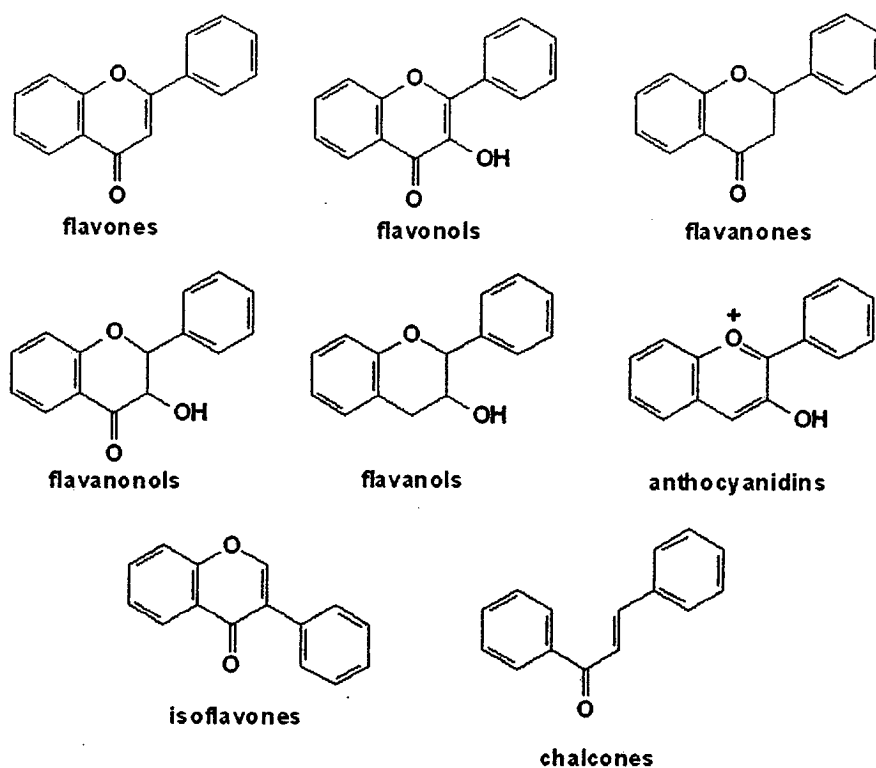
SCDE: Supercritical Carbon Dioxide Extraction; Mean ± SD; วิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในแต่ละวิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าว

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัดที่เตรียมได้จากน้ำมันรำข้าวทั้ง 7 ตัวอย่างและน้ำมันรำข้าวขาว 2 ตัวอย่าง พบว่าน้ำมันรำข้าวที่เตรียมด้วยการบีบเย็นตรวจวิเคราะห์พบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าน้ำมันรำข้าวที่เตรียมด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด อาจมีความเป็นไปได้จากการเตรียมน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดนั้นสามารถสกัดได้เฉพาะสารสำคัญกลุ่มไม่มีขั้ว (Bimkr *et al.*, 2010) สารสำคัญกลุ่มไม่มีขั้วที่พบในน้ำมันรำข้าวคือ สารกลุ่มแกมมา-โอโรซานอล โทโคไตรอีนอล และโทโคเฟอรอล เมื่อพิจารณาจากโครงสร้างของแกมมา-โอโรซานอลซึ่งเป็นเอสเทอร์ของกรดเพอรูลิกซึ่งมีส่วนประกอบของฟีนอลในโครงสร้าง นอกจากนั้นโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอรอลก็มีส่วนประกอบของฟีนอลในโครงสร้างในส่วนหางของวงแหวนโครมานอล (ดังแสดงในรูปที่ 2.2) จึงให้ผลบวกเมื่อตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วย Folin-Ciocalteu reagent ในขณะที่การเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคการบีบเย็นนั้นมีสารสำคัญอื่นๆ ถูกสกัดออกมามากกว่าการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด เช่น สารกลุ่มแอนโทไซยานิน ฟลาโวนอยด์ เป็นต้น ซึ่งแสดงให้เห็นจากผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์และแอนโทไซยานินทั้งหมดดังแสดงในตารางที่ 4.4 และ 4.5 ตามลำดับ นอกจากนั้นเมื่อเปรียบเทียบระหว่างกลุ่มตัวอย่างน้ำมันรำข้าวกล้องและน้ำมันรำข้าวขาวพบว่า น้ำมันรำข้าวกล้องที่เตรียมด้วยเทคนิค

การสกัดทั้ง 2 วิธีนั้นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าน้ำมันรำข้าวขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยที่น้ำมันรำข้าวกำลังสีผิวที่เตรียมด้วยการบิบเย็นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงสุดที่ 38.59 ± 1.47 mg GAE/100 g น้ำมัน

4.3 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลประเภทพอลิฟีนอล (polyphenol) มีสูตรโครงสร้างทางเคมีเป็นวงแหวนอะโรมาติกที่มีหมู่จำนวนหมู่แทนที่ไฮดรอกซิลรวมอยู่ในโมเลกุลตั้งแต่ 2 โมเลกุลขึ้นไป สารกลุ่มฟลาโวนอยด์แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม ตามสูตรโครงสร้างทางเคมีโดยเฉพาะวงแหวนที่มีอะตอมของออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่างๆ ดังแสดงในรูปที่ 4.3 ซึ่งจากรายงานวิจัยพบว่าสารกลุ่มฟลาโวนอยด์มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่หลากหลาย เช่น ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ฤทธิ์ป้องกันการก่อมะเร็ง ฤทธิ์ต้านการอักเสบ ฤทธิ์ป้องกันหลอดเลือดแดงแข็ง (antiatherosclerotic effects) ฤทธิ์ป้องกันกระดูกพรุน เป็นต้น (Nijveldt *et al.*, 2001) ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเก่า 14 ตัวอย่างและน้ำมันรำข้าวขาว 4 ตัวอย่าง โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน quercetin (mg QAE/100 g น้ำมัน) แสดงในตารางที่ 4.4



รูปที่ 4.3 สารประกอบกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Nijveldt *et al.*, 2001)

ตารางที่ 4.4 ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (mg QAE/100 g น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวกล้องสีม่วง	15.77 ± 1.63 ^A	13.27 ± 1.29 ^a
2	ข้าวกล้องดอยสะเก็ด	14.38 ± 1.38 ^{AB}	12.48 ± 1.17 ^{ab}
3	ข้าวกล้องพะเยา	13.29 ± 1.44 ^B	12.18 ± 1.25 ^{ab}
4	ข้าวกล้องเชียงราย	13.16 ± 1.38 ^B	11.32 ± 1.09 ^b
5	ข้าวกล้องต่อ	14.56 ± 1.49 ^{AB}	12.55 ± 1.27 ^a
6	ข้าวกล้องปึ้ง	15.45 ± 1.47 ^A	13.58 ± 1.33 ^a
7	ข้าวกล้องปาอีคอง	16.25 ± 1.56 ^A	13.22 ± 1.16 ^a
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	7.46 ± 1.36 ^C	6.39 ± 1.15 ^c
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	7.67 ± 1.24 ^C	6.53 ± 1.08 ^c

SCDE: Supercritical Carbon Dioxide Extraction; Mean ± SD; วิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในแต่ละวิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าว

จากการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของสารสกัดน้ำมันรำข้าวเก่า 14 ตัวอย่าง และน้ำมันรำข้าวขาว 4 ตัวอย่าง พบว่าน้ำมันรำข้าวเก่าที่เตรียมตัวอย่างน้ำมันด้วยการบีบเย็นและคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าในรำข้าวขาวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ จากผลการทดลองที่กล่าวมาก่อนหน้านี้แสดงให้เห็นว่าน้ำมันรำข้าวเก่าจะมีสีที่เข้มกว่าน้ำมันรำข้าวขาวดังแสดงในรูปที่ 4.2 จึงมีความเป็นไปได้ที่น้ำมันรำข้าวเก่าที่เตรียมได้นั้นจะประกอบด้วยสารกลุ่มแอนโทไซยานินซึ่งเป็นสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่ตรวจพบในรำข้าวเก่า (Zhang *et al.*, 2010) ซึ่งให้ผลบวกกับการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเช่นเดียวกัน ดังนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดของน้ำมันรำข้าวเก่าจึงมีปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดสูงกว่าในน้ำมันรำข้าวขาว

4.4 การตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบแอนโธไซยานินทั้งหมด

จากลักษณะทางกายภาพของน้ำมันรำข้าวเก่าที่เตรียมได้จากทั้งเทคนิคการบีบเย็นและคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดนั้นมีสีเข้ม (สีน้ำตาล ดังแสดงในรูปที่ 4.2) จึงมีความเป็นไปได้ในการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเก่าอาจมีสารสีม่วงแดง (แอนโธไซยานิน) ถูกสกัดออกมาด้วย แต่เมื่อสารกลุ่มแอนโธไซยานินอยู่ในสถานะความเป็นกรด-ด่างที่เป็นกลางนั้นโครงสร้างของสารกลุ่มแอนโธไซยานินจะอยู่ในรูปของ chalcone จากการวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมดด้วยเทคนิค pH different spectrophotometry ซึ่งได้ดัดแปลงจากวิธีการของ Kim *et al.* (2005) เมื่อนำตัวอย่างน้ำมันรำข้าวที่เตรียมได้มาสกัดสารกลุ่มแอนโธไซยานินด้วยสารละลาย 0.1 N กรดไฮโดรคลอริกใน ethyl alcohol จะทำให้โครงสร้างที่อยู่ในรูปของ chalcone เปลี่ยนเป็นโครงสร้างของสารกลุ่มแอนโธไซยานิน (Moldovan *et al.*, 2012) จากนั้นจึงระเหยตัวทำละลายออกแล้วนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมดด้วยเทคนิค pH different spectrophotometry ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณสารประกอบแอนโธไซยานินทั้งหมด

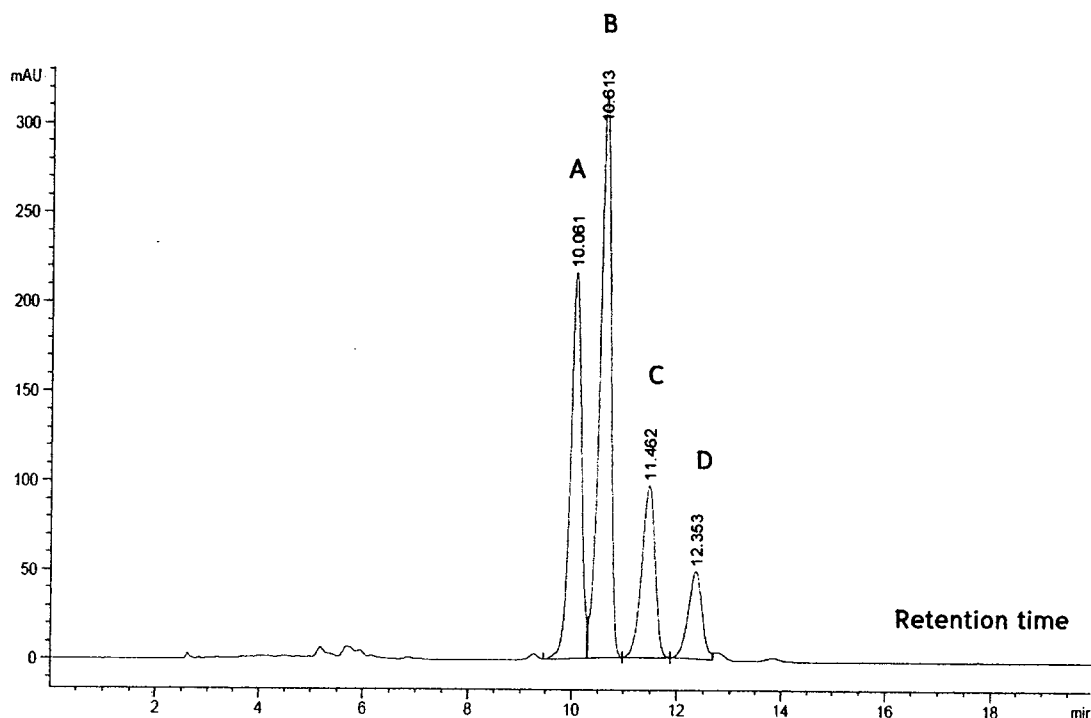
ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณสารประกอบแอนโธไซยานินทั้งหมด (cyanidin 3- glucoside equivalent mg/100 g น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวกล้องผั้ว	6.23 ± 0.44 ^A	4.39 ± 0.38 ^a
2	ข้าวกล้องหุงสุก	4.82 ± 0.55 ^{BC}	3.36 ± 0.35 ^{bc}
3	ข้าวกล้องพะเยา	4.56 ± 0.47 ^{BC}	3.08 ± 1.25 ^c
4	ข้าวกล้องเชียงราย	4.48 ± 0.58 ^{BC}	3.12 ± 1.09 ^c
5	ข้าวกล้องหอม	5.46 ± 0.43 ^{AB}	3.65 ± 0.37 ^{ab}
6	ข้าวกล้องปิ่น	5.78 ± 0.52 ^A	4.48 ± 0.42 ^a
7	ข้าวกล้องปายีค	6.12 ± 0.48 ^A	3.96 ± 0.36 ^{ab}
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	nd.	nd.
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	nd.	nd.

SCDE: Supercritical Carbon Dioxide Extraction; Mean ± SD; วิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในแต่ละวิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าว

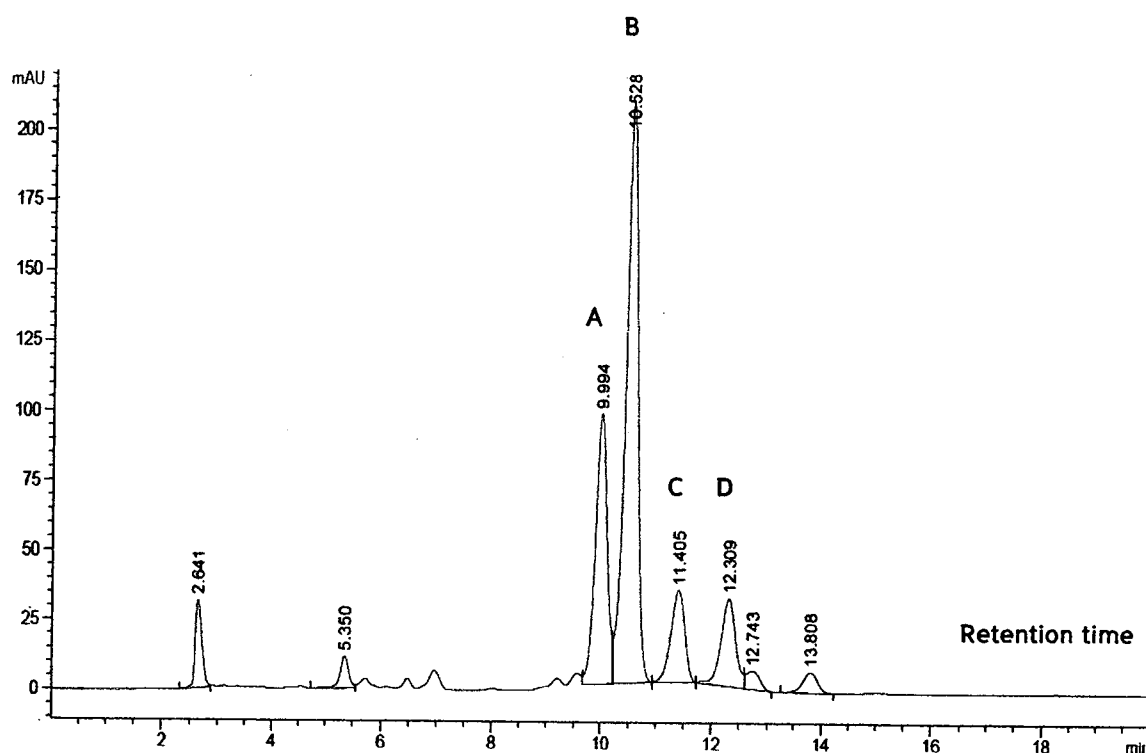
จากการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดของสารสกัดน้ำมันรำข้าวเก่า 14 ตัวอย่าง และน้ำมันรำข้าวขาว 4 ตัวอย่าง ตรวจพบสารกลุ่มแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวเก่าที่เตรียม ตัวอย่างน้ำมันด้วยการบีบเย็นและคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด โดยที่ตรวจไม่พบในน้ำมันรำข้าวขาว (น้ำมันรำข้าวเหนียวสันป่าตอง 1 และน้ำมันรำข้าวหอมมะลิ 105) การเตรียมตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยเทคนิค pH different spectrometry นั้นก็มีความสำคัญ เนื่องจากสภาวะที่ใช้วิเคราะห์นั้นเป็นสารละลายที่มีขี้ทั้งหมด ดังนั้นการวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวเก่าจึงต้องทำการสกัดสารกลุ่มแอนโทไซยานินออกมาจากน้ำมันรำข้าวเก่าก่อน ด้วยสารละลาย 0.1 N กรดไฮโดรคลอริกใน ethyl alcohol โดยที่ไม่สามารถนำตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเก่ามาตรวจวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยเทคนิค pH different spectrometry ได้โดยตรง นอกจากนี้ปริมาณสารกลุ่มแอนโทไซยานินในน้ำมันรำข้าวเก่ามีปริมาณน้อย จึงอาจมีค่าต่ำกว่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิคดังกล่าว จึงต้องทำการสกัดสารกลุ่มแอนโทไซยานินออกจากน้ำมันรำข้าวเก่า แล้วทำการระเหยตัวทำละลายออกเพื่อให้มีความเข้มข้นของสารกลุ่มแอนโทไซยานินมากขึ้นเพื่อให้สามารถตรวจวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยเทคนิค pH different spectrometry ได้ จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งในน้ำมันรำข้าวเก่าพบว่า น้ำมันรำข้าวเก่าสีม่วงที่เตรียมด้วยเทคนิคการบีบเย็นมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงที่สุดเท่ากับ 6.23 ± 0.44 mg cyanidin 3-glucoside/100 g น้ำมัน นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำมันรำข้าวเก่าที่เตรียมด้วยเทคนิคการบีบเย็นตรวจพบสารกลุ่มแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงกว่าน้ำมันรำข้าวเก่าที่เตรียมด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด

4.5 การวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โอโรซานอล

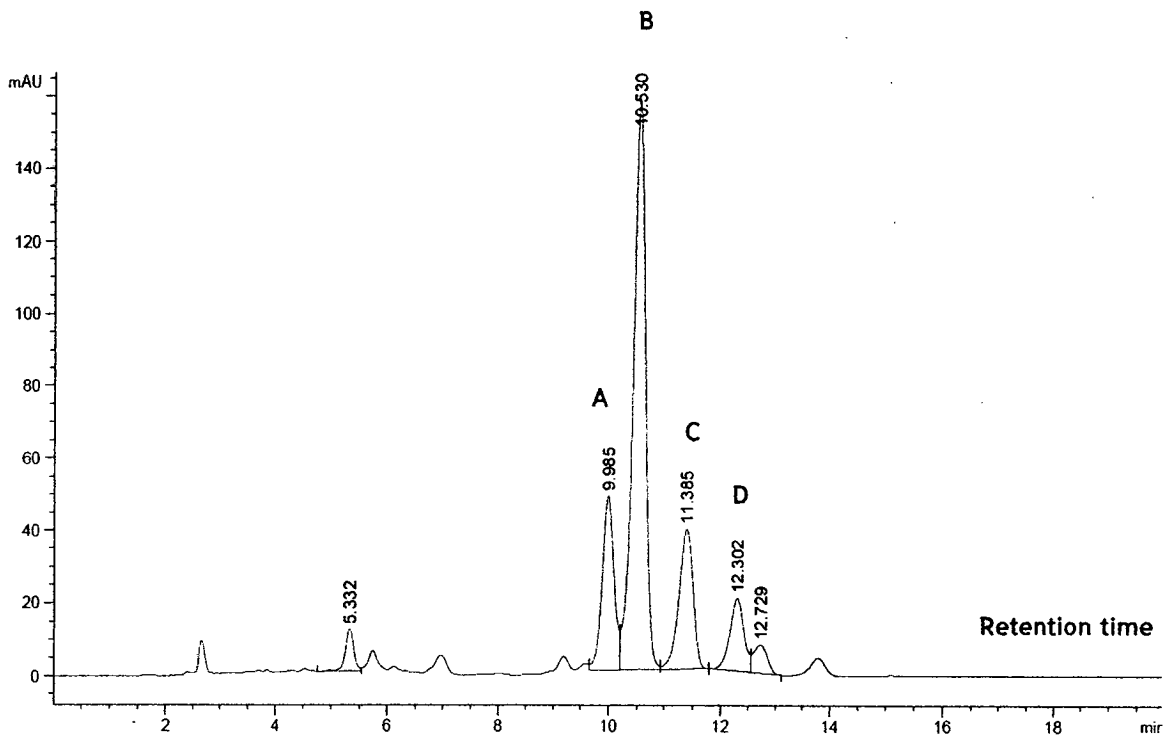
จากการวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โอโรซานอลของน้ำมันรำข้าวเก่าทั้งหมด 14 ตัวอย่างและน้ำมันรำข้าวขาว 4 ตัวอย่าง เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานแกมมา-โอโรซานอลด้วยเทคนิค reversed-phase HPLC จากการวิเคราะห์พบว่าสารมาตรฐานแกมมา-โอโรซานอลประกอบด้วยสารสำคัญหลักทั้งหมด 4 ชนิดดังนี้คือ cycloartenyl ferulate (A), 24-methylenecycloartenyl ferulate (B), campesteryl ferulate (C) และ sitosteryl ferulate (D) ตามลำดับ โดยในปี ค.ศ. 1999 Xu และ Godber สามารถแยกสารสำคัญจากน้ำมันรำข้าวได้ถึง 10 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย Δ^7 -stigmastenyl ferulate, stigmasteryl ferulate, cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartenyl ferulate, Δ^7 -campestenyl ferulate, campesteryl ferulate, Δ^7 -sitostenyl ferulate, sitosteryl ferulate, campestanol ferulate และ sitostanol ferulate และพบว่า cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartenyl ferulate และ campesteryl ferulate เป็นสารสำคัญหลักที่พบในน้ำมันรำข้าว โดยที่ HPLC โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแกมมา-โอโรซานอล น้ำมันรำข้าวเก่าและน้ำมันรำข้าวขาวดังแสดงในรูปที่ 4.4 – 4.12



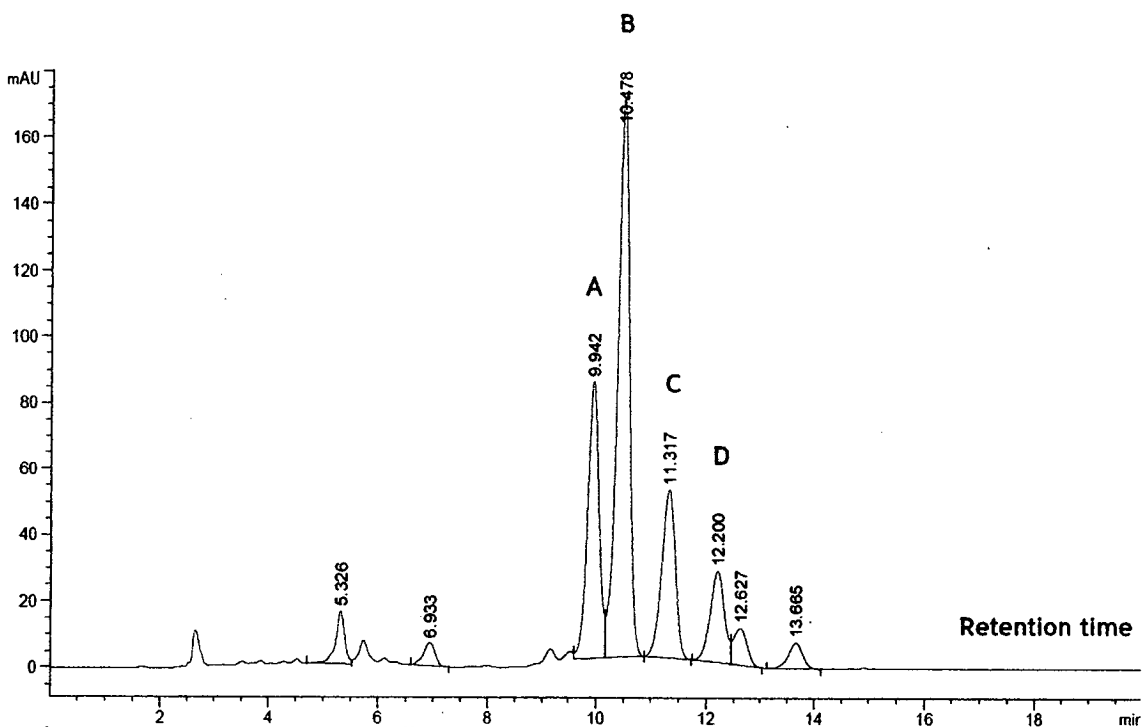
รูปที่ 4.4 HPLC โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานแกมมา-โอไรซานอล เมื่อ A: cycloartenyl ferulate, B: 24-methylenecycloartanyl ferulate, C: campesteryl ferulate, และ D: sitosteryl ferulate



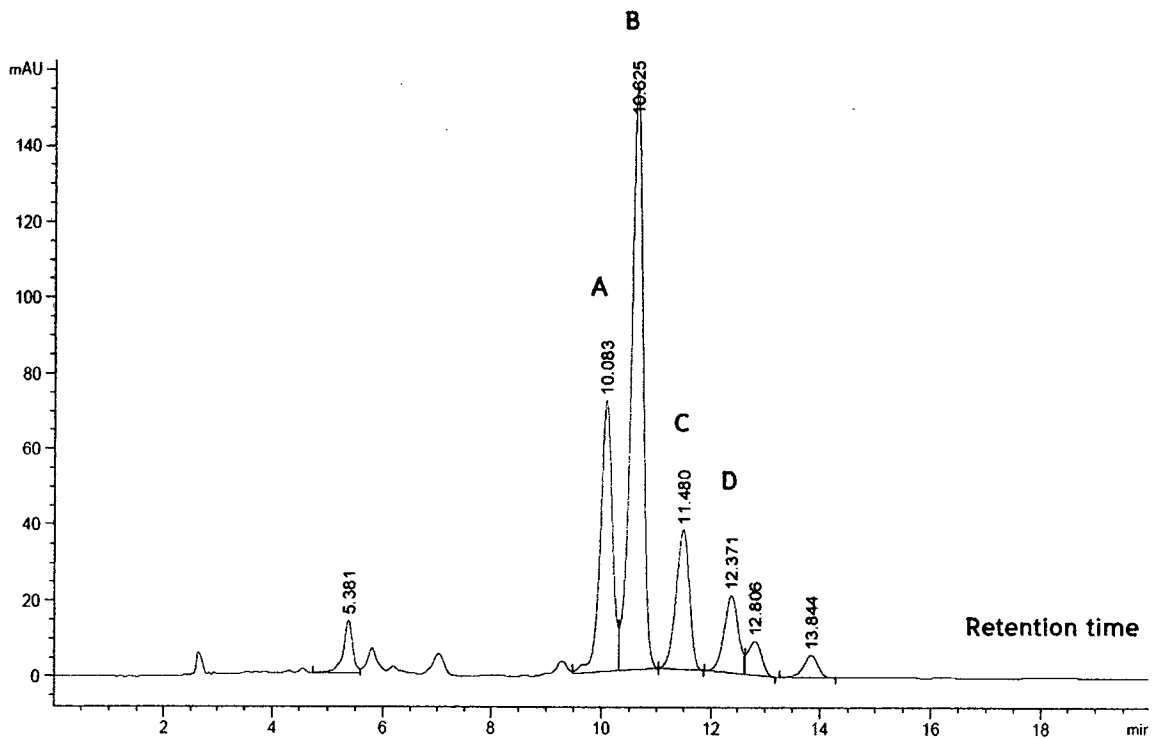
รูปที่ 4.5 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวกำลังสีม่วง เมื่อ A: cycloartenyl ferulate, B: 24-methylenecycloartanyl ferulate, C: campesteryl ferulate, และ D: sitosteryl ferulate



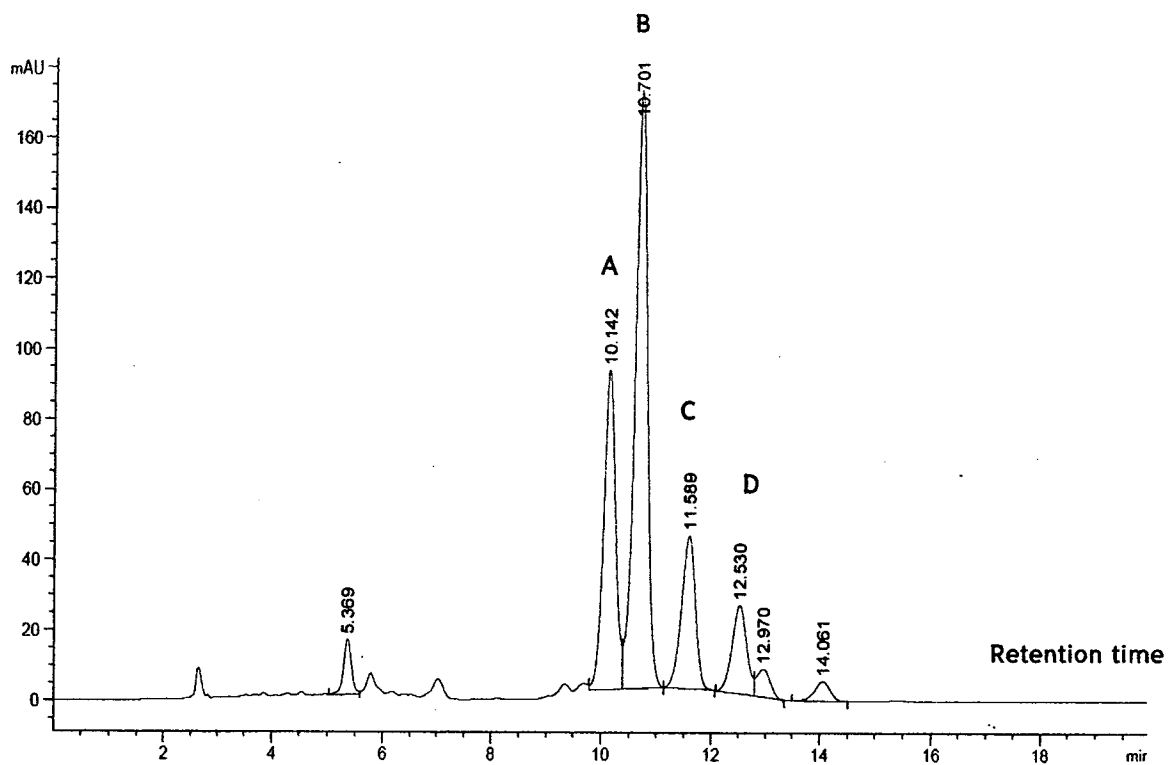
รูปที่ 4.6 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเก่าโดยสะกัด เมื่อ A: cycloartenyl ferulate, B: 24-methylenecycloartanyl ferulate, C: campesteryl ferulate, และ D: sitosteryl ferulate



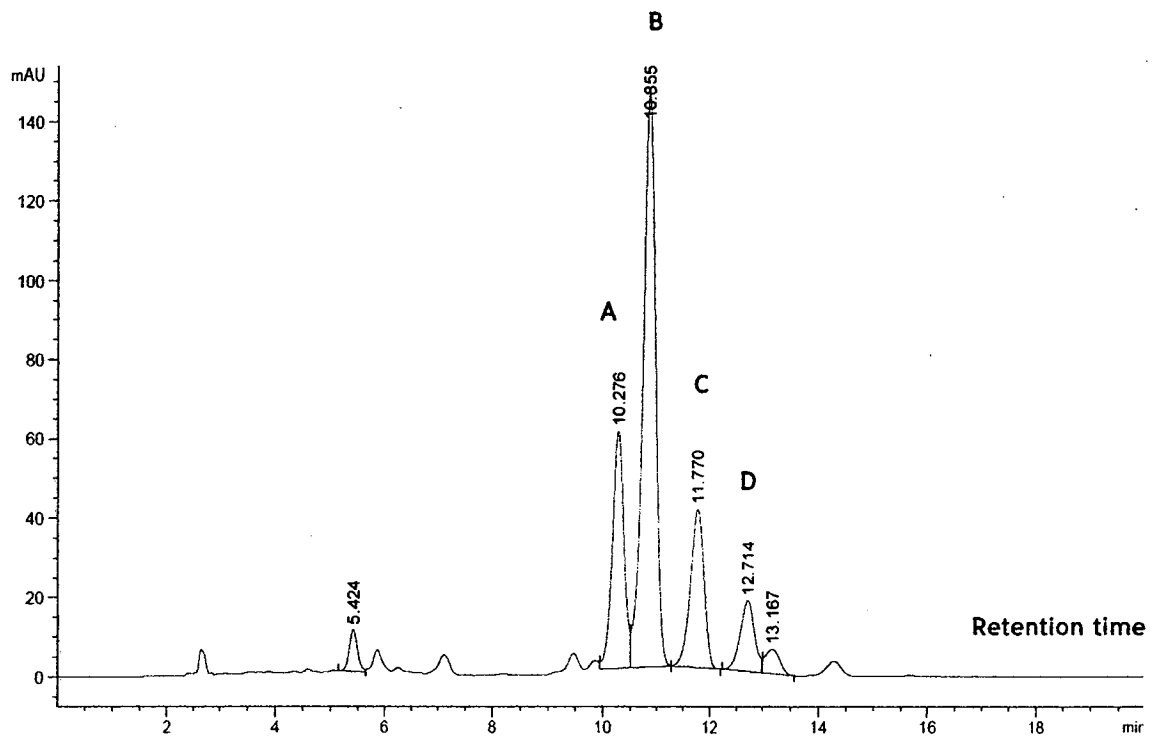
รูปที่ 4.7 HPLC โครมาโทแกรมน้ำมันรำข้าวเก่าพะเยา เมื่อ A: cycloartenyl ferulate, B: 24-methylenecycloartanyl ferulate, C: campesteryl ferulate, และ D: sitosteryl ferulate



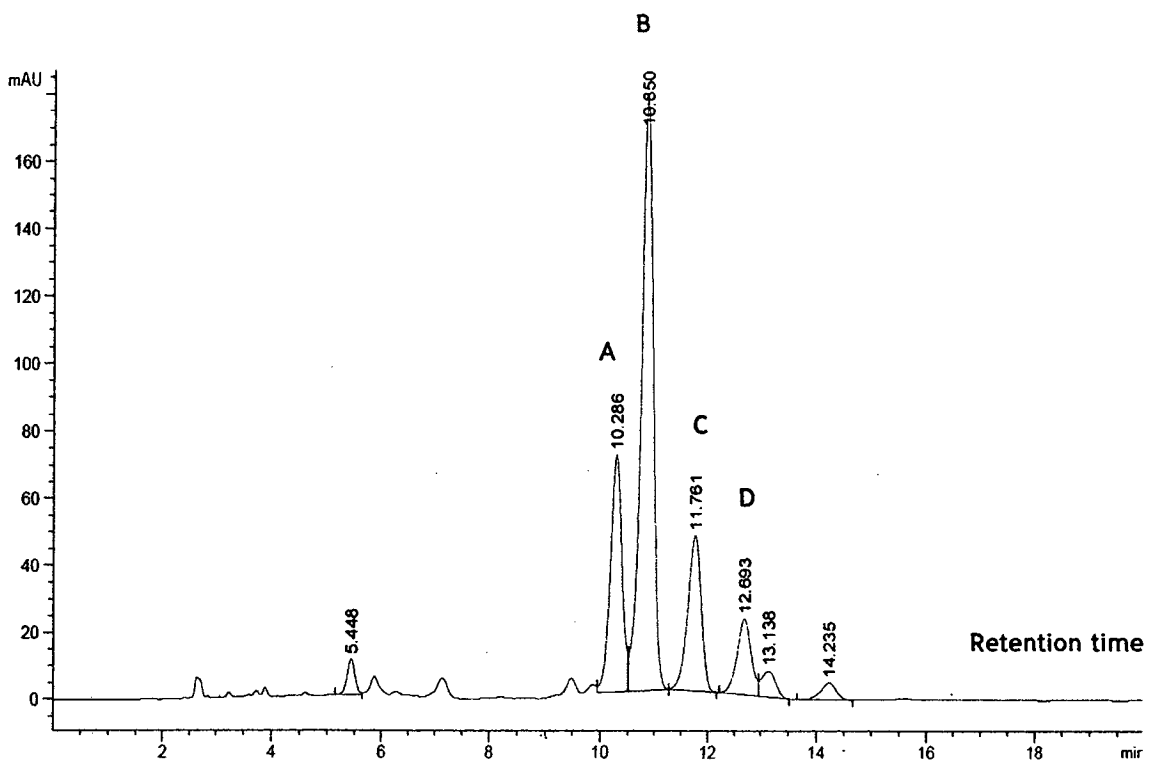
รูปที่ 4.8 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเก่าเชียงราย เมื่อ A: cycloartenyl ferulate, B: 24-methylenecycloartanyl ferulate, C: campesteryl ferulate, และ D: sitosteryl ferulate



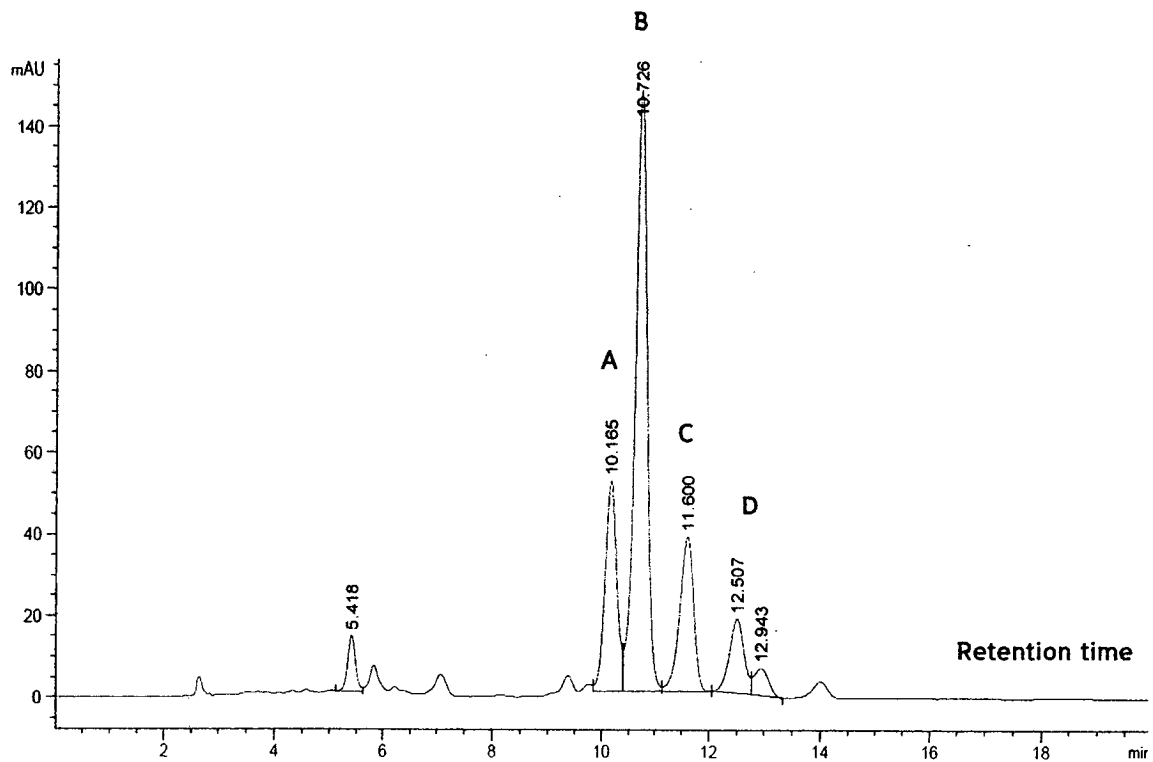
รูปที่ 4.9 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเหนียวสันป่าตองเมื่อ A: cycloartenyl ferulate, B: 24-methylenecycloartanyl ferulate, C: campesteryl ferulate, และ D: sitosteryl ferulate



รูปที่ 4.10 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่อ A: cycloartenyl ferulate, B: 24-methylenecycloartanyl ferulate, C: campesteryl ferulate, และ D: sitosteryl ferulate



รูปที่ 4.11 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเก่าป้าอีค เมื่อ A: cycloartenyl ferulate, B: 24-methylenecycloartanyl ferulate, C: campesteryl ferulate, และ D: sitosteryl ferulate



รูปที่ 4.12 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเก่าบั้ง เมื่อ A: cycloartenyl ferulate, B: 24-methylenecycloartanyl ferulate, C: campesteryl ferulate, และ D: sitosteryl ferulate

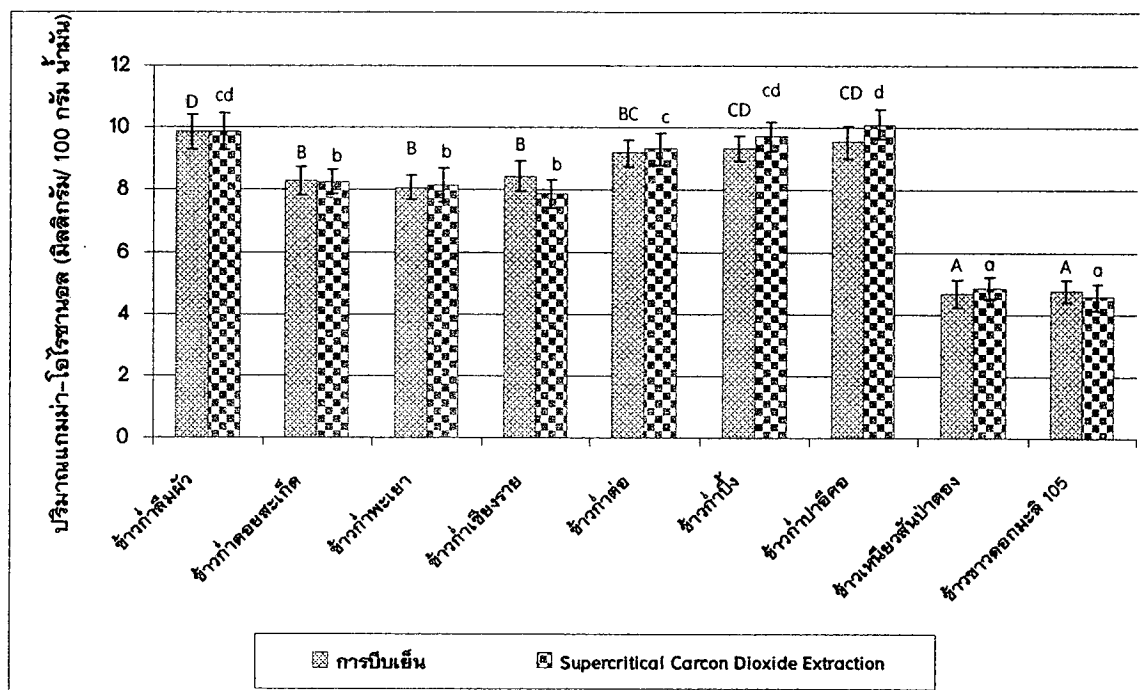
จากการวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โอโรซานอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเก่า 14 ตัวอย่างและน้ำมันรำข้าวขาว 4 ตัวอย่าง พบว่าน้ำมันรำข้าวทั้ง 18 ตัวอย่างประกอบด้วยสารสำคัญหลักทั้ง 4 ชนิดเหมือนที่พบในสารมาตรฐานแกมมา-โอโรซานอลซึ่งประกอบด้วย cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartanyl ferulate, campesteryl ferulate, และ sitosteryl ferulate โดยที่ยังประกอบด้วยสารสำคัญรองอีกประมาณ 3-5 ชนิด จากที่กล่าวมาแล้วข้างต้นนั้น Xu และ Godber (1999) สามารถแยกสารสำคัญจากแกมมา-โอโรซานอลได้ถึง 10 ชนิด จึงมีความเป็นไปได้ที่น้ำมันรำข้าวเก่าจะประกอบด้วยสารสำคัญหลักทั้ง 4 ชนิด และสารสำคัญรองอีกประมาณ 3-5 ชนิด ซึ่งต้องมีการศึกษาต่อไป เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแกมมา-โอโรซานอลระหว่างน้ำมันรำข้าวเก่าและน้ำมันรำข้าวขาวโดยคำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟของสารสำคัญหลักทั้ง 4 ชนิด พบว่าน้ำมันรำข้าวเก่ามีปริมาณแกมมา-โอโรซานอลสูงกว่าน้ำมันรำข้าวขาวประมาณ 1.5 – 2 เท่า ซึ่งมีความสัมพันธ์กับรายงานวิจัยของ Boonsit และคณะ (2010) ที่ได้สกัดและวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โอโรซานอลของข้าวขาวและข้าวเก่า ซึ่งพบว่าข้าวหอมมะลิ 105 มีปริมาณแกมมา-โอโรซานอลเท่ากับ 30.89 มิลลิกรัมต่อเมล็ดข้าว 100 กรัม ข้าว กข 6 มีปริมาณแกมมา-โอโรซานอลเท่ากับ 30.44 มิลลิกรัมต่อเมล็ดข้าว 100 กรัม ในขณะที่ข้าวเก่าดอยสะเก็ดมีปริมาณแกมมา-โอโรซานอลเท่ากับ 74.84 มิลลิกรัมต่อเมล็ดข้าว 100 กรัม ข้าวเก่าดอยมูลเขามีปริมาณแกมมา-โอโรซานอลเท่ากับ 75.30

มิลลิกรัมต่อเมล็ดข้าว 100 กรัม ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบปริมาณแกมมา-โอโรซานอลที่พบในข้าวขาว และข้าวเก่าพบว่า ข้าวเก่ามีปริมาณแกมมา-โอโรซานอลสูงกว่าข้าวขาวประมาณ 2 เท่าเช่นเดียวกันกับผลการวิเคราะห์ในการวิจัยครั้งนี้ นอกจากนั้นยังพบว่าในการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคการบีบเย็น น้ำมันรำข้าวเก่าสีม้วนมีปริมาณแกมมา-โอโรซานอลสูงสุดเท่ากับ 9.85 ± 0.55 มิลลิกรัมต่อน้ำมันรำข้าว 100 มิลลิกรัม ตามมาด้วยน้ำมันรำข้าวเก่าปาอีคองและน้ำมันรำข้าวเก่าบั้ง ตามลำดับ ในขณะที่การเตรียมตัวอย่างด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดนั้นพบว่า น้ำมันรำข้าวเก่าปาอีคองมีปริมาณแกมมา-โอโรซานอลสูงสุดเท่ากับ 10.11 ± 0.48 มิลลิกรัมต่อน้ำมันรำข้าว 100 มิลลิกรัม ตามมาด้วยน้ำมันรำข้าวเก่าสีม้วนและน้ำมันรำข้าวเก่าบั้ง ตามลำดับ ผลการวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โอโรซานอลดังแสดงในตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.13

ตารางที่ 4.6 ปริมาณแกมมา-โอโรซานอล

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณแกมมา-โอโรซานอล (mg/ 100 mg น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวเก่าสีม้วน	9.85 ± 0.55^D	9.88 ± 0.58^{cd}
2	ข้าวเก่าคอยสะเก็ด	8.27 ± 0.45^B	8.26 ± 0.38^b
3	ข้าวเก่าพะเยา	8.08 ± 0.39^B	8.16 ± 0.53^b
4	ข้าวเก่าเชียงราย	8.43 ± 0.47^B	7.87 ± 0.44^b
5	ข้าวเก่าต่อ	9.19 ± 0.43^{BC}	9.32 ± 0.52^c
6	ข้าวเก่าบั้ง	9.33 ± 0.42^{CD}	9.73 ± 0.47^{cd}
7	ข้าวเก่าปาอีคอง	9.54 ± 0.51^{CD}	10.11 ± 0.48^d
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	4.68 ± 0.45^A	4.85 ± 0.36^a
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	4.75 ± 0.38^A	4.56 ± 0.43^a

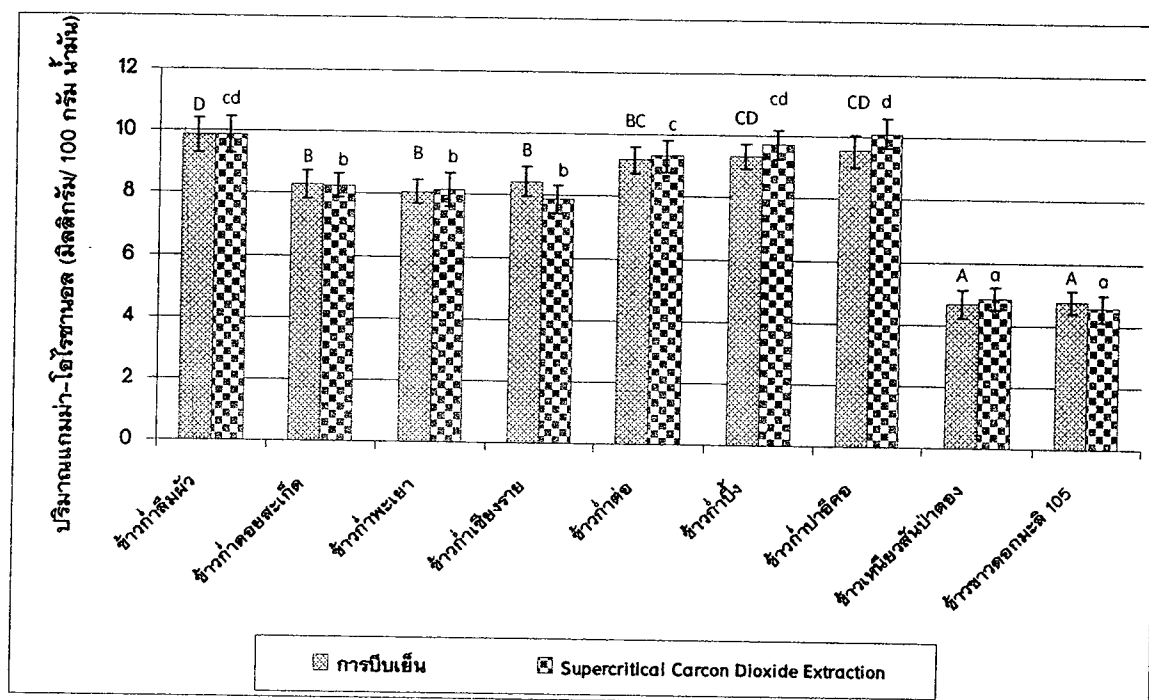
SCDE: Supercritical Carbon Dioxide Extraction; Mean $\pm$ SD; วิเคราะห์ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ในแต่ละวิธีการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าว



รูปที่ 4.13 ปริมาณแกมมา-ไอโรซานอล

4.6 การทดสอบสถานะที่เหมาะสมและการวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอล

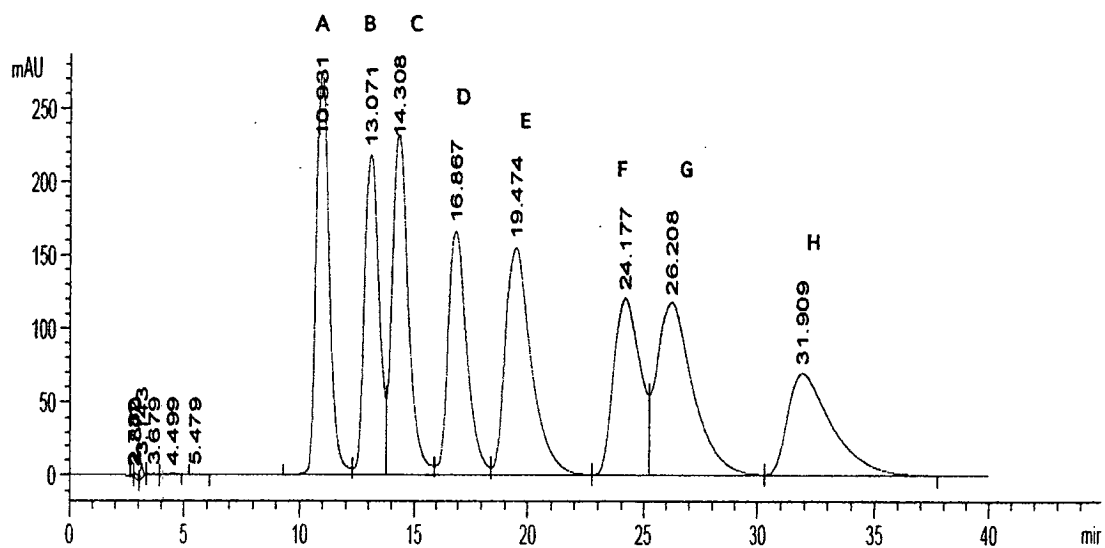
จากการที่โทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลประกอบด้วยโครงสร้างอย่างละ 4 รูปแบบ คือ เดลต้า-, บีต้า-, แกมมา-, และแอลฟา ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบมวลโมเลกุลของทั้ง 8 รูปแบบแล้วจะพบว่าบีต้า-โทโคไตรอินอล ($C_{28}H_{42}O_2$) และแกมมา-โทโคไตรอินอล ($C_{28}H_{42}O_2$) มีมวลโมเลกุลเท่ากันคือ 410.68 ในขณะที่บีต้า-โทโคเฟอร์รอล ($C_{28}H_{48}O_2$) และแกมมา-โทโคเฟอร์รอล ($C_{28}H_{48}O_2$) มีมวลโมเลกุลเท่ากันคือ 416.68 (ดังแสดงในรูปที่ 4.14) ซึ่งทำให้การวิเคราะห์หาปริมาณของทั้ง บีต้า-โทโคไตรอินอล แกมมา-โทโคไตรอินอล บีต้า-โทโคเฟอร์รอลและแกมมา-โทโคเฟอร์รอลด้วยเทคนิค HPLC นั้นค่อนข้างยาก เนื่องจากสารมีมวลโมเลกุลที่เท่ากัน จากการที่คณะผู้วิจัยได้ทำการพัฒนาการวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลทั้ง 8 รูปแบบด้วยเทคนิค Reversed-phase HPLC โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิดยูวีพบว่าไม่สามารถแยกพีคของบีต้า-โทโคไตรอินอลและแกมมา-โทโคไตรอินอล รวมทั้งบีต้า-โทโคเฟอร์รอลและแกมมา-โทโคเฟอร์รอลได้อย่างสมบูรณ์ดังแสดงในรูปที่ 4.15 นอกจากนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวซึ่งมีสารสำคัญและสารตัวกลาง (matrix) อยู่หลายชนิดทำให้ค่า retention time ของการวิเคราะห์นั้นไม่สัมพันธ์กับค่า retention time ของสารมาตรฐานดังแสดงในรูปที่ 4.16 ซึ่งโดยปกติแล้วในน้ำมันที่ได้จากพืชจะมีโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลในปริมาณน้อยมาก ซึ่งการใช้ตัวตรวจวัดชนิดยูวีบางครั้งไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ เนื่องจากความไว (sensitivity) ของตัวตรวจวัดชนิดยูวีมีค่าต่ำกว่าตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ นอกจากนั้นปริมาณของโทโคไตรอินอลและโท



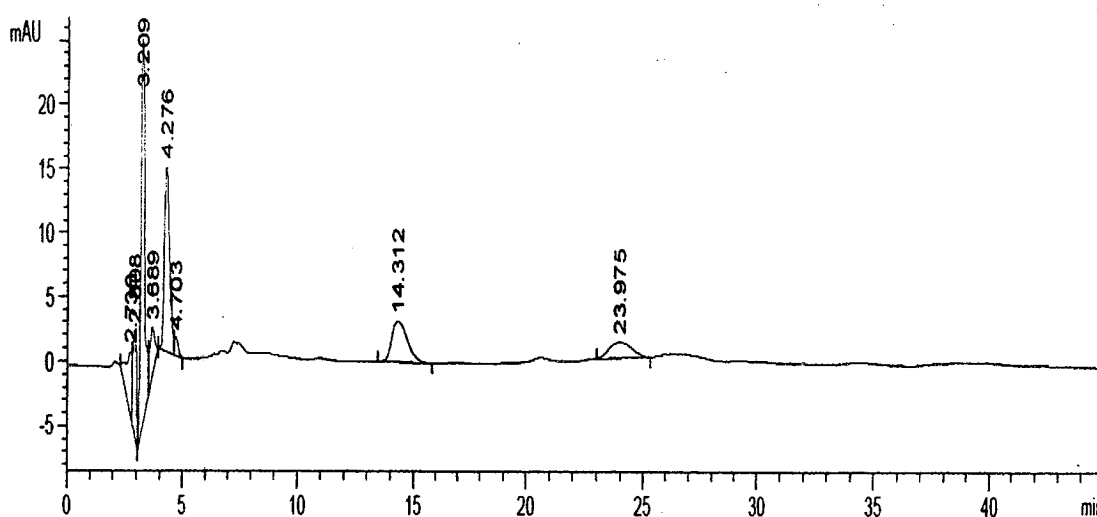
รูปที่ 4.13 ปริมาณแกมมา-ไอโซซานอล

4.6 การทดสอบสภาวะที่เหมาะสมและการวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอล

จากการที่โทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลประกอบด้วยโครงสร้างอย่างละ 4 รูปแบบ คือ เดลต้า-, บีต้า-, แกมมา-, และแอลฟา ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบมวลโมเลกุลของทั้ง 8 รูปแบบแล้วจะพบว่าบีต้า-โทโคไตรอีนอล ($C_{28}H_{42}O_2$) และแกมมา-โทโคไตรอีนอล ($C_{28}H_{42}O_2$) มีมวลโมเลกุลเท่ากันคือ 410.68 ในขณะที่บีต้า-โทโคเฟอร์รอล ($C_{28}H_{48}O_2$) และแกมมา-โทโคเฟอร์รอล ($C_{28}H_{48}O_2$) มีมวลโมเลกุลเท่ากันคือ 416.68 (ดังแสดงในรูปที่ 4.14) ซึ่งทำให้การวิเคราะห์หาปริมาณของทั้ง บีต้า-โทโคไตรอีนอล แกมมา-โทโคไตรอีนอล บีต้า-โทโคเฟอร์รอลและแกมมา-โทโคเฟอร์รอลด้วยเทคนิค HPLC นั้นค่อนข้างยาก เนื่องจากสารมีมวลโมเลกุลที่เท่ากัน จากการที่คณะผู้วิจัยได้ทำการพัฒนาการวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลทั้ง 8 รูปแบบด้วยเทคนิค Reversed-phase HPLC โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิดยูวีพบว่าไม่สามารถแยกพีคของบีต้า-โทโคไตรอีนอลและแกมมา-โทโคไตรอีนอล รวมทั้งบีต้า-โทโคเฟอร์รอลและแกมมา-โทโคเฟอร์รอลได้อย่างสมบูรณ์ดังแสดงในรูปที่ 4.15 นอกจากนั้นในการวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวซึ่งมีสารสำคัญและสารตัวกลาง (matrix) อยู่หลายชนิดทำให้ค่า retention time ของการวิเคราะห์นั้นไม่สัมพันธ์กับค่า retention time ของสารมาตรฐานดังแสดงในรูปที่ 4.16 ซึ่งโดยปกติแล้วในน้ำมันที่ได้จากพืชจะมีโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลในปริมาณน้อยมาก ซึ่งการใช้ตัวตรวจวัดชนิดยูวีบางครั้งไม่สามารถตรวจวิเคราะห์ได้ เนื่องจากความไว (sensitivity) ของตัวตรวจวัดชนิดยูวีมีค่าต่ำกว่าตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ นอกจากนั้นปริมาณของโทโคไตรอีนอลและโท



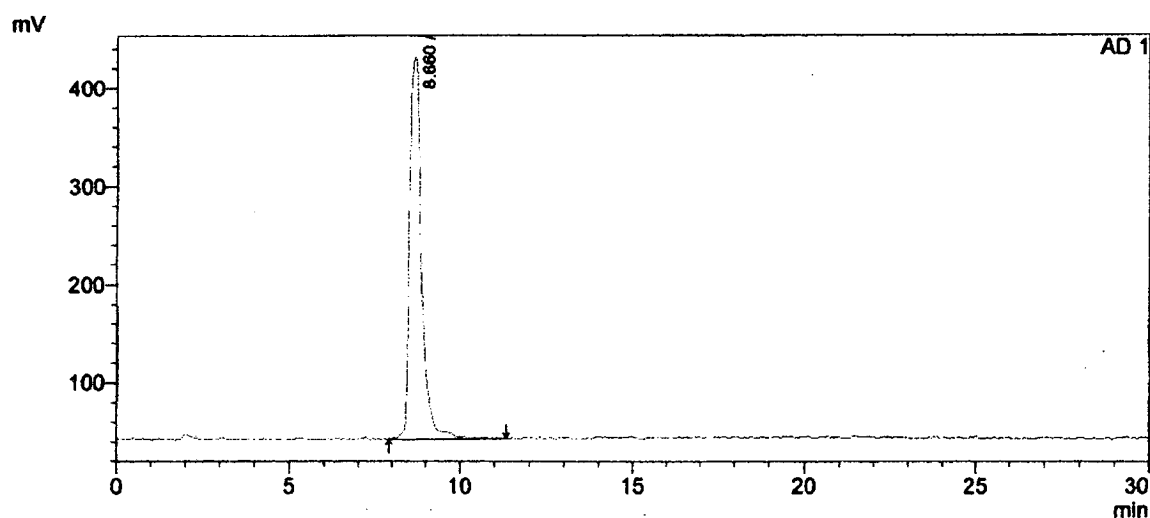
รูปที่ 4.15 HPLC โครมาโทแกรมของสารละลายผสมของโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลเมื่อวิเคราะห์ด้วยตัวตรวจวัดชนิดยูวี โดยที่ A: เคลต้า-โทโคไตรอินอล, B: บีต้า-โทโคไตรอินอล, C: แกมมา-โทโคไตรอินอล, D: แอลฟา-โทโคไตรอินอล, E: เคลต้า-โทโคเฟอร์รอล, F: บีต้า-โทโคเฟอร์รอล, G: แกมมา-โทโคเฟอร์รอล, และ H: แอลฟา-โทโคเฟอร์รอล ตามลำดับ



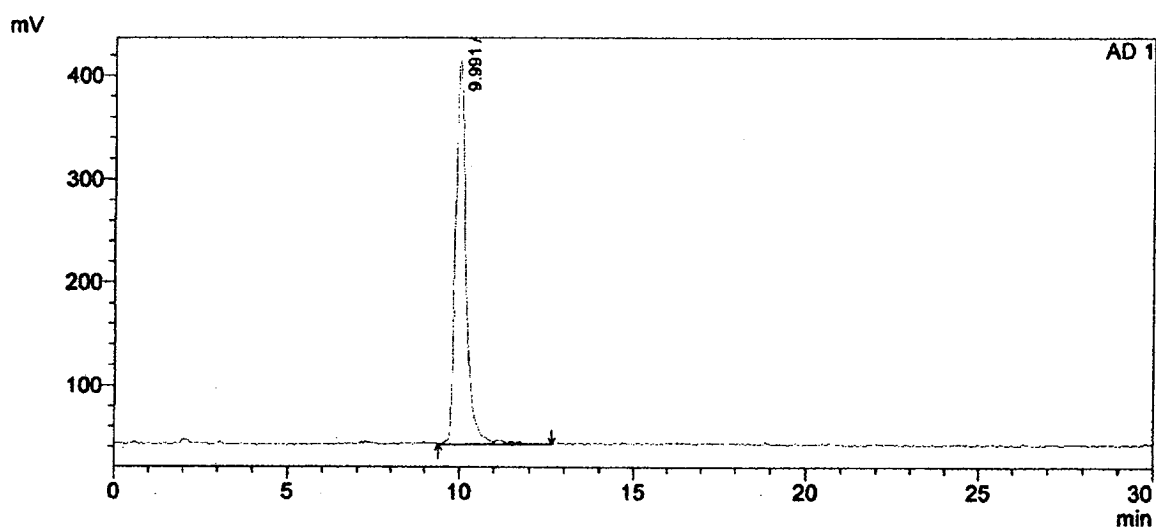
รูปที่ 4.16 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวกำลังผสมเมื่อวิเคราะห์ด้วยเทคนิค Reversed-phase HPLC โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิดยูวี

จากการดัดแปลงวิธีตรวจวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลด้วยเทคนิค Reversed-phase HPLC ด้วยตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ในการตรวจวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลทั้ง 8 รูปแบบคือ เคลต้า-, บีต้า-, แกมมา-, และแอลฟา โดยดัดแปลงจากวิธีการของ Jang and Xu (2009) โดยสถานะที่ใช้วิเคราะห์ประกอบด้วยคอลัมน์ RP-Column C-30 (ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 250 x 4.6 มิลลิเมตร) ขนาดของวัฏภาคคงที่ (stationary phase) เท่ากับ 5 ไมโครเมตร โดยวัฏภาคเคลื่อนที่ (mobile phase) ประกอบด้วยอะเซทโทไนไตรล์ เม

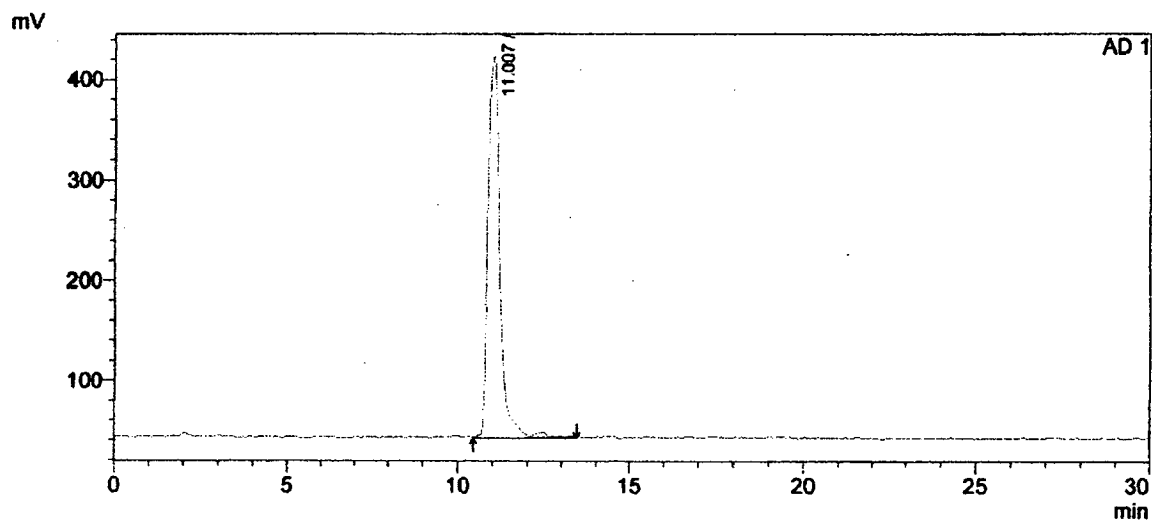
ทานอลและน้ำในอัตราส่วน 50:40:10 โดยปริมาตร อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาทีและตรวจวิเคราะห์โทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์อลที่ความยาวคลื่นการกระตุ้น (excitation wavelength) ที่ 292 นาโนเมตรและความยาวคลื่นการเรืองแสง (emission wavelength) ที่ 330 นาโนเมตร ผลการวิเคราะห์ดังแสดงในรูปที่ 4.17 - 4.25



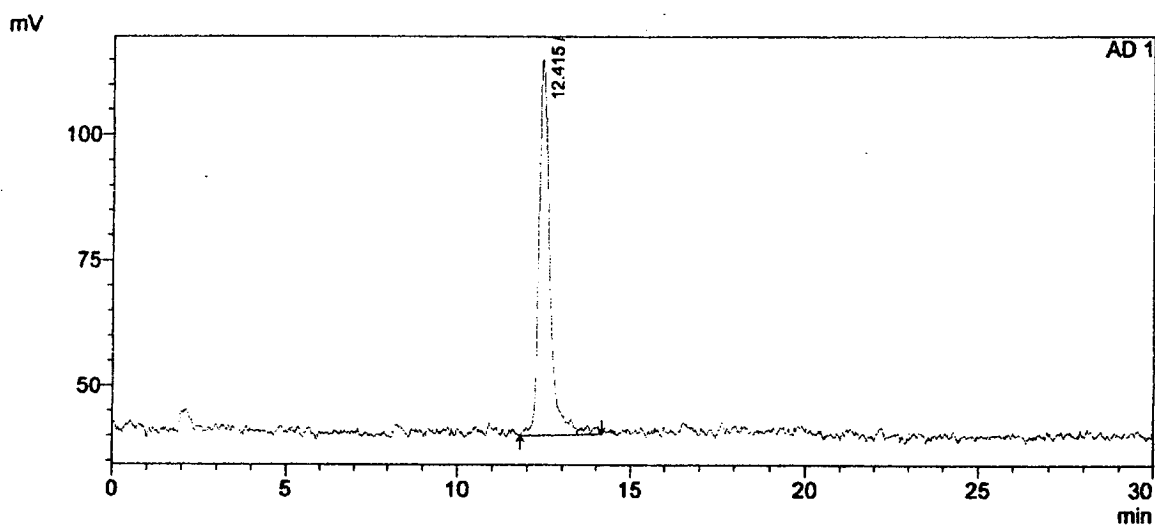
รูปที่ 4.17 HPLC โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานเดลต้า-โทโคไตรอินอล



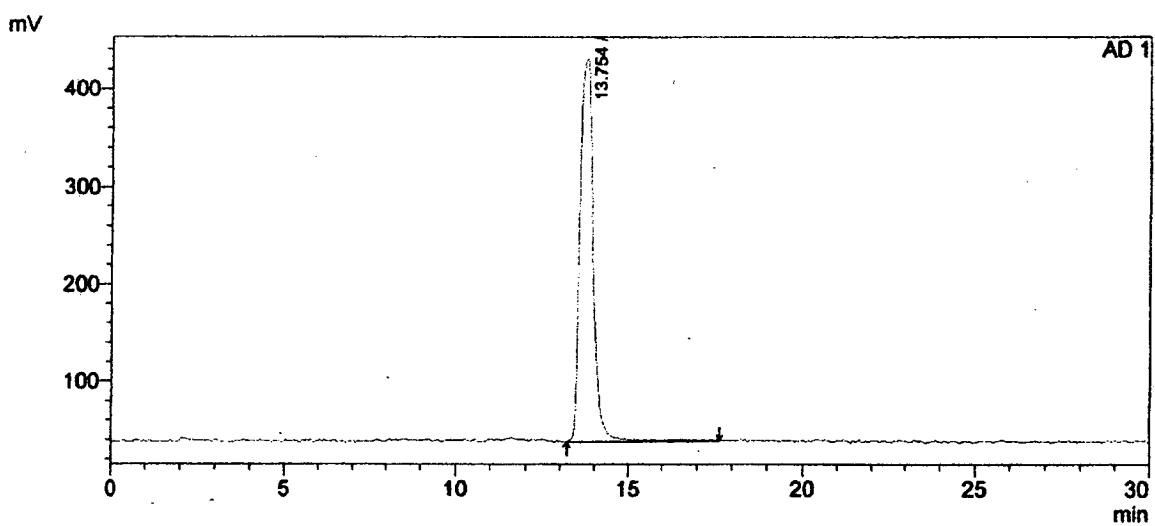
รูปที่ 4.18 HPLC โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานบีต้า-โทโคไตรอินอล



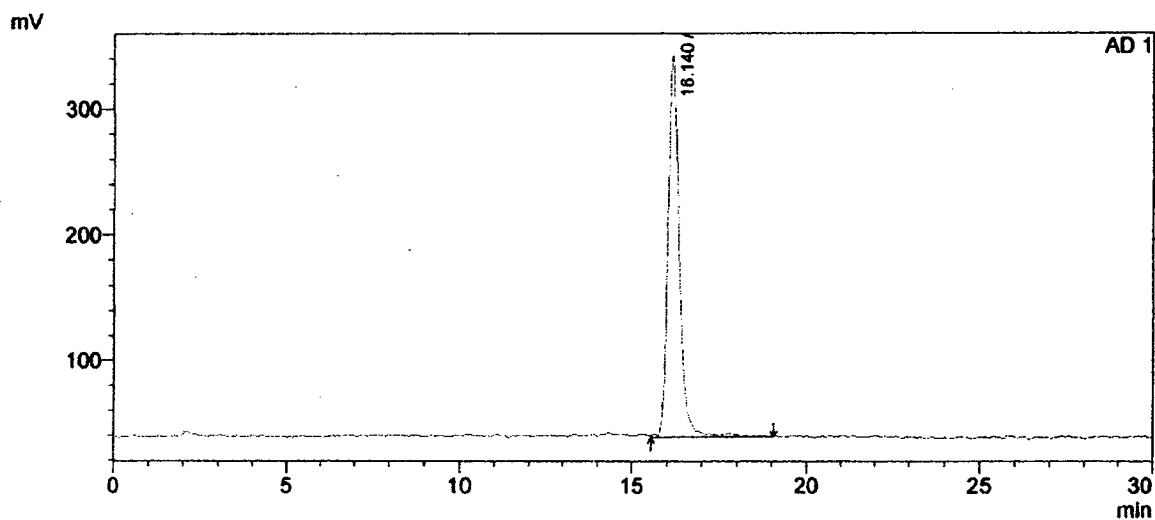
รูปที่ 4.19 HPLC โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานแกมมา-โทโคไตรอินอล



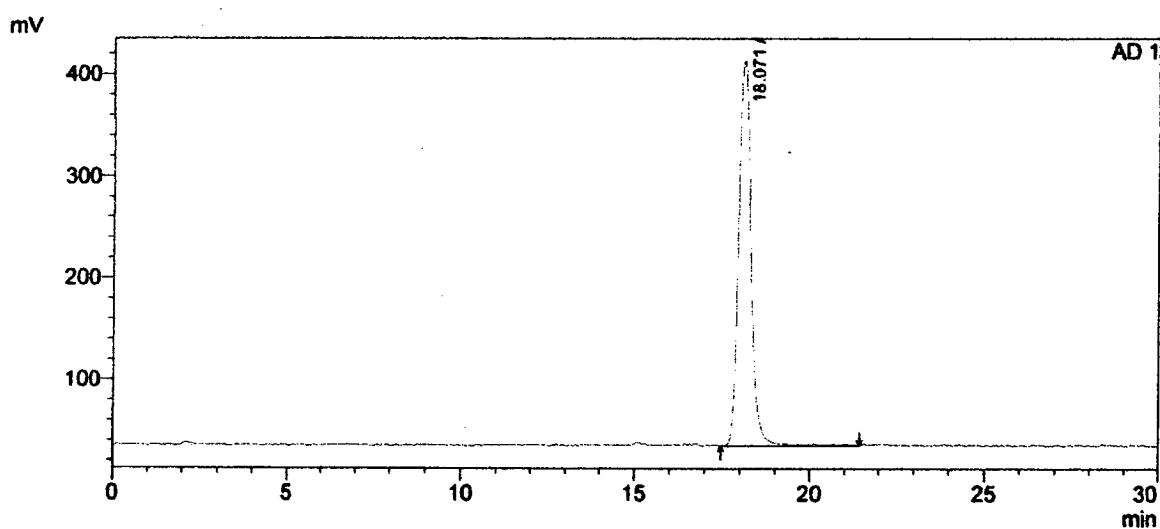
รูปที่ 4.20 HPLC โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอลฟา-โทโคไตรอินอล



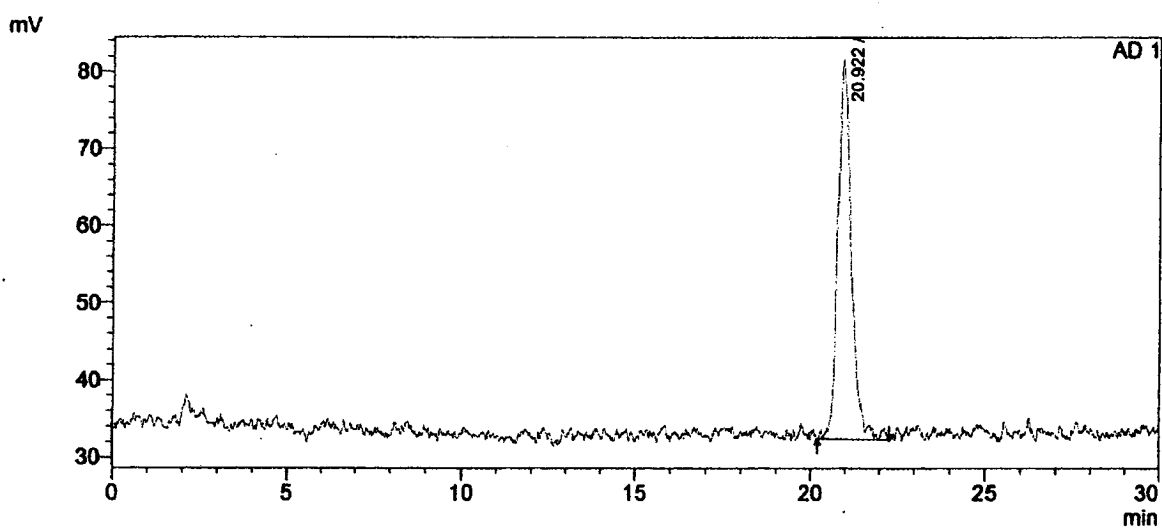
รูปที่ 4.21 HPLC โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานเดลต้า-โทโคเฟอรอล



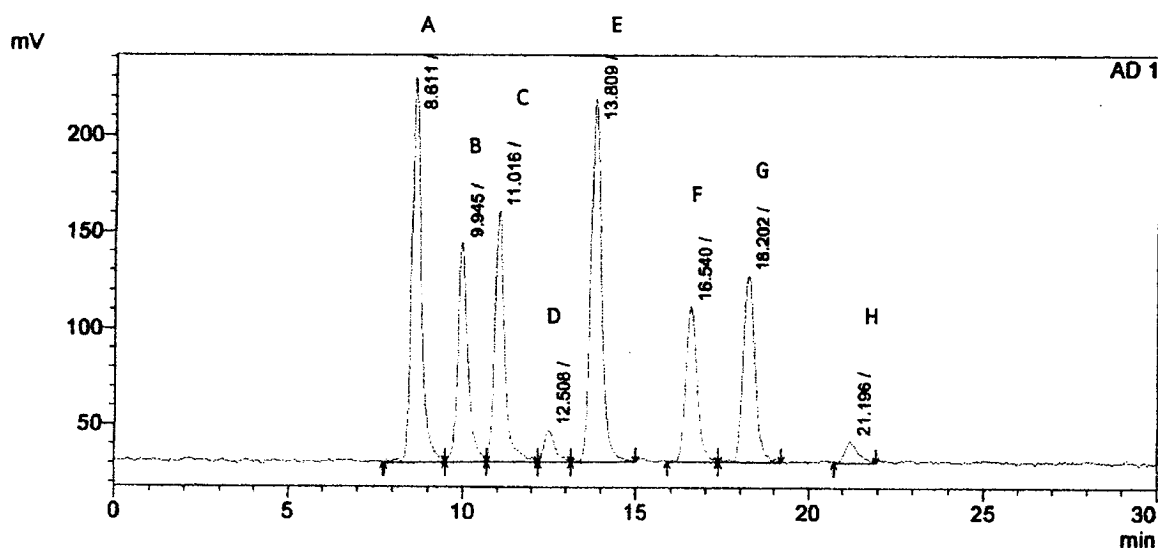
รูปที่ 4.22 HPLC โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานปีต้า-โทโคเฟอร์อล



รูปที่ 4.23 HPLC โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานแกมมา-โทโคเฟอร์อล

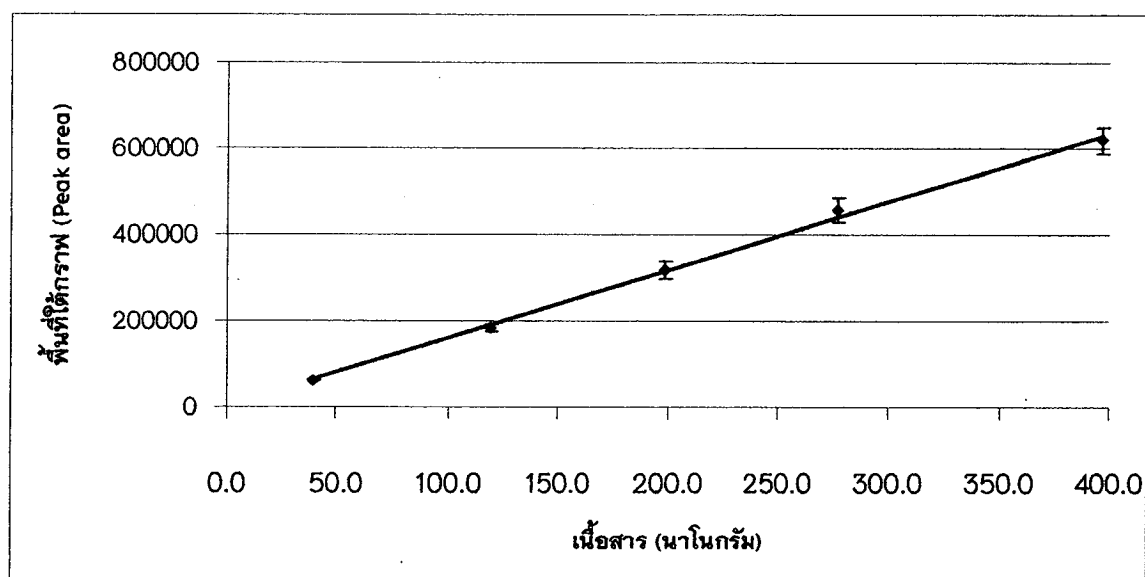


รูปที่ 4.24 HPLC โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานแอลฟา-โทโคเฟอร์อล

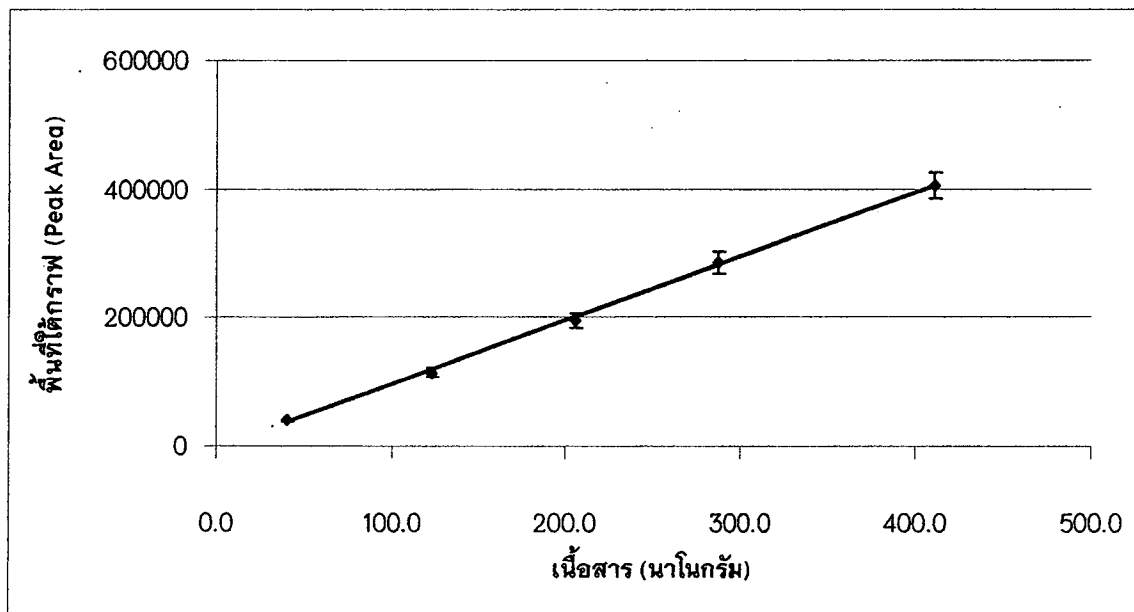


รูปที่ 4.25 HPLC โครมาโทแกรมของสารละลายผสมของโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอล เมื่อ A: เดลต้า-โทโคไตรอินอล, B: บีต้า-โทโคไตรอินอล, C: แกมมา-โทโคไตรอินอล, D: แอลฟา-โทโคไตรอินอล, E: เดลต้า-โทโคเฟอร์รอล, F: บีต้า-โทโคเฟอร์รอล, G: แกมมา-โทโคเฟอร์รอล, และ H: แอลฟา-โทโคเฟอร์รอล ตามลำดับ

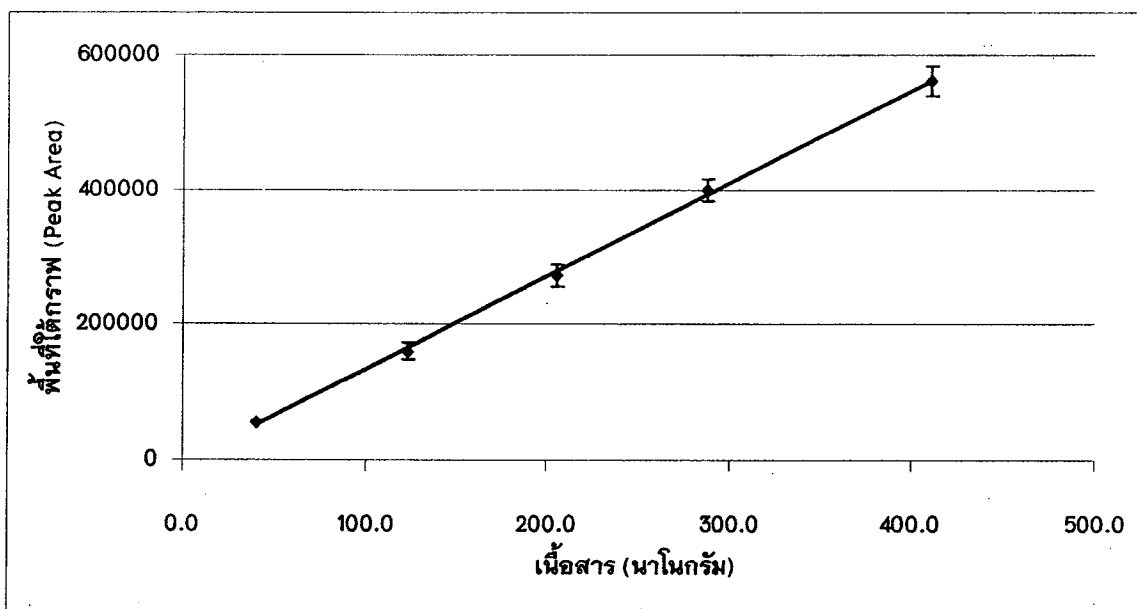
จากการทดสอบความสมเหตุสมผลของวิธีวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลด้วยเทคนิค reversed-phase HPLC ด้วยตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ที่ได้ทำการดัดแปลงขึ้นนั้น กราฟมาตรฐานของเดลต้า-โทโคไตรอินอล บีต้า-โทโคไตรอินอล แกมมา-โทโคไตรอินอล แอลฟา-โทโคไตรอินอล เดลต้า-โทโคเฟอร์รอล บีต้า-โทโคเฟอร์รอล แกมมา-โทโคเฟอร์รอลและแอลฟา-โทโคเฟอร์รอล ดังแสดงในรูปที่ 4.26 - 4.33



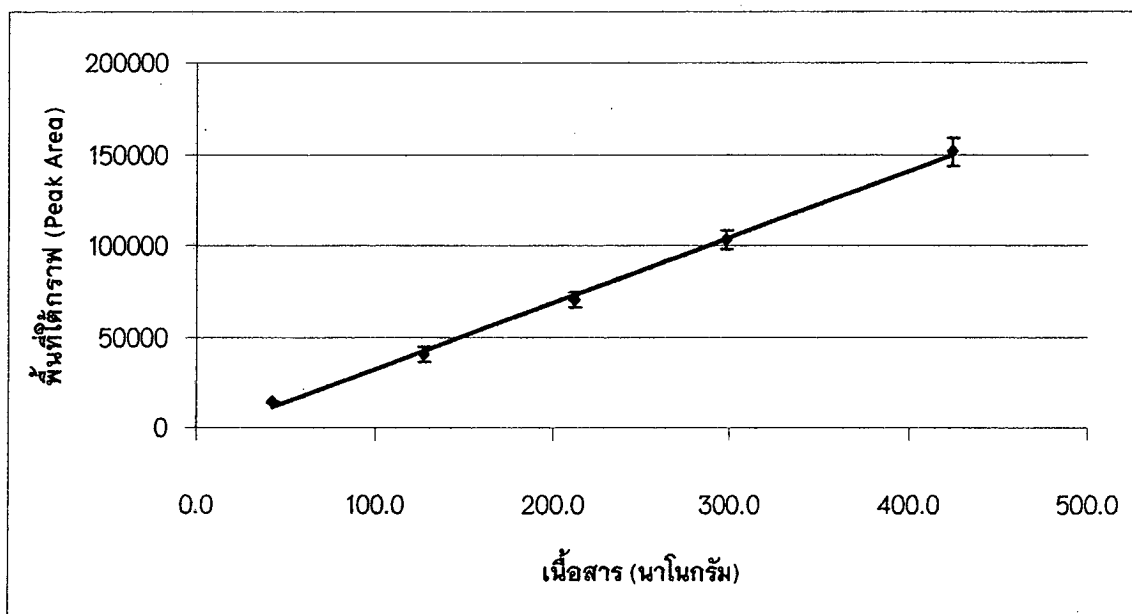
รูปที่ 4.26 กราฟมาตรฐานของเดลต้า-โทโคไตรอินอล



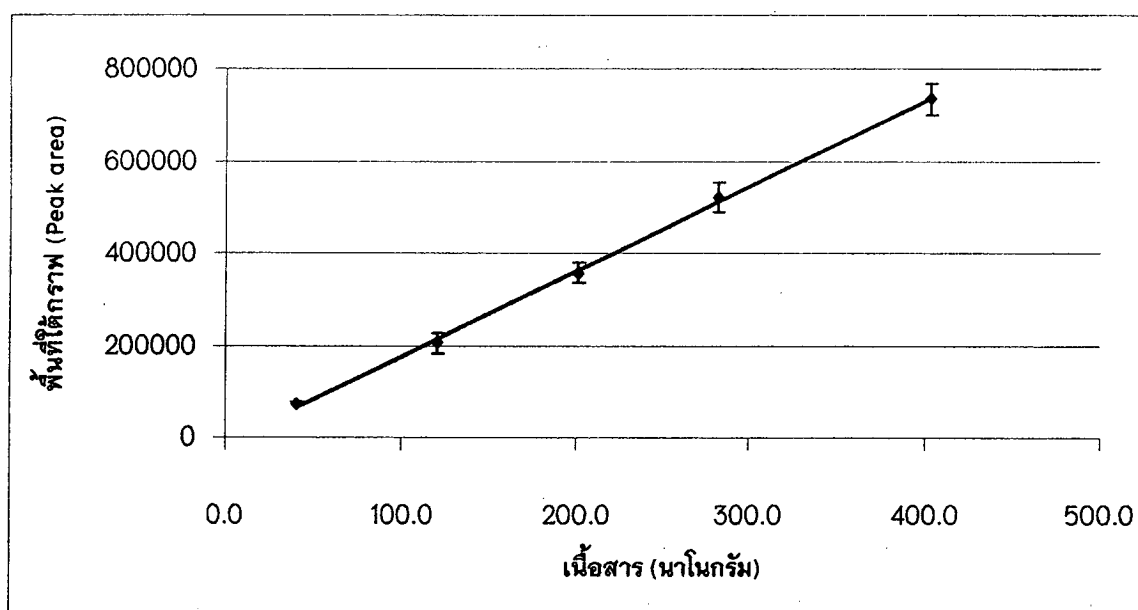
รูปที่ 4.27 กราฟมาตรฐานของปีต้า-โทโคไตรีนอล



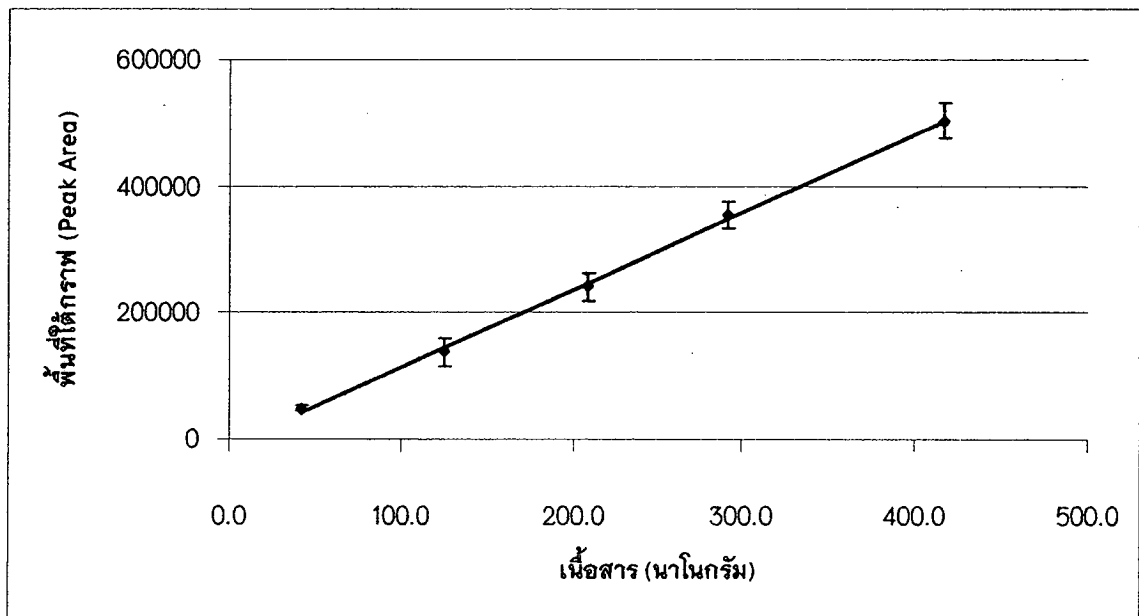
รูปที่ 4.28 กราฟมาตรฐานของแกมมา-โทโคไตรีนอล



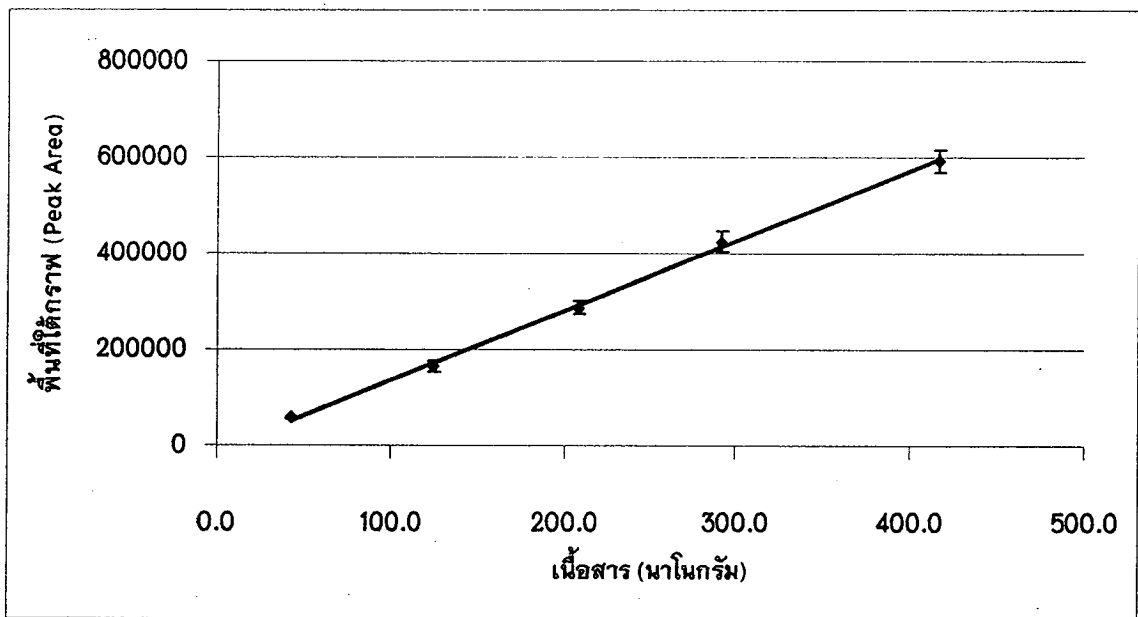
รูปที่ 4.29 กราฟมาตรฐานของแอลฟา-โทโคไตรอีนอล



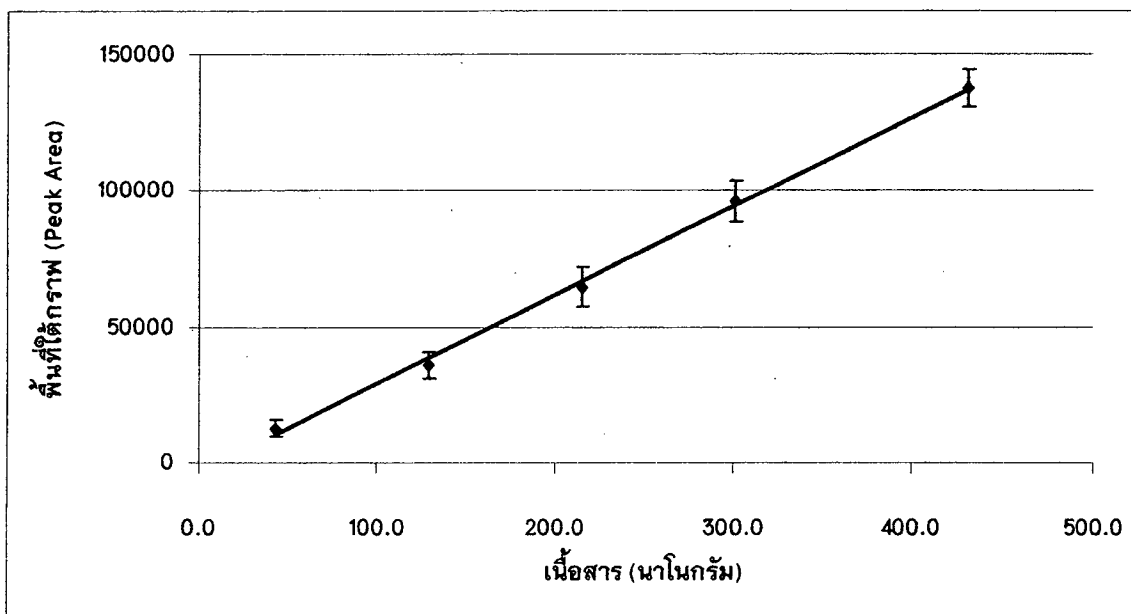
รูปที่ 4.30 กราฟมาตรฐานของเซลต้า-โทโคเฟอรอล



รูปที่ 4.31 กราฟมาตรฐานของปีต้า-ไทโคเฟอรอล



รูปที่ 4.32 กราฟมาตรฐานของแกมมา-ไทโคเฟอรอล



รูปที่ 4.33 กราฟมาตรฐานของแอลฟา-โทโคเฟอรอล

จากรูปที่ 4.26-4.33 แสดงกราฟมาตรฐานโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอรอลทั้ง 8 รูปแบบ สามารถสรุปค่าพารามิเตอร์ในการทดสอบความสมเหตุสมผลของวิธีวิเคราะห์โทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอรอลด้วยเทคนิค reversed-phase HPLC ด้วยตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 พารามิเตอร์ของการทดสอบความเหมาะสมผลของวิธีวิเคราะห์โทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอล

พารามิเตอร์	โทโคไตรอินอล			
	เดสด้า-	ปีต้า-	แกมม่า-	แอลฟ่า-
R ²	0.9980	0.9991	0.9991	0.9981
Precision (%CV)	1.25	1.82	1.67	1.49
Range (ng)	25-500	25-500	25-500	25-500
LOD (ng)	8	5	5	11
LOQ (ng)*	25	16	16	34
พารามิเตอร์	โทโคเฟอร์รอล			
	เดสด้า-	ปีต้า-	แกมม่า-	แอลฟ่า-
R ²	0.9989	0.9987	0.9984	0.9982
Precision (%CV)	1.48	1.75	1.52	1.65
Range (ng)	20-500	20-500	20-500	20-500
LOD (ng)	9	8	8	12
LOQ (ng)*	27	23	23	36

* คำนวณจาก 3 x LOD

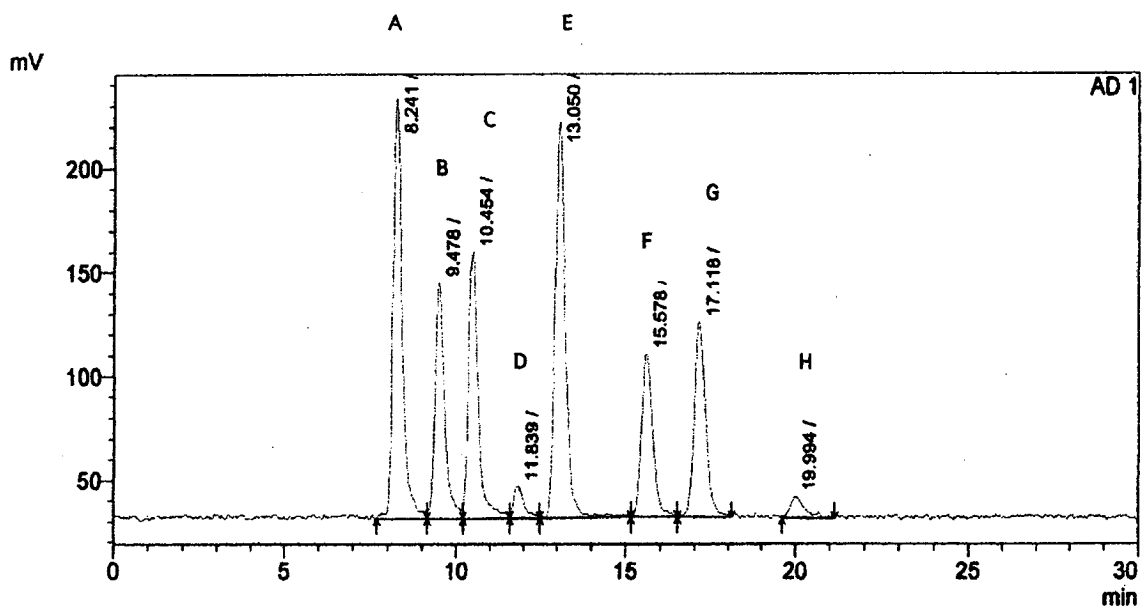
จากตารางที่ 4.7 แสดงพารามิเตอร์ในการทดสอบความเหมาะสมผลของวิธีวิเคราะห์โทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลด้วยเทคนิค reversed-phase HPLC โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนส์ที่ได้การพัฒนามานี้ มีค่าใกล้เคียงกับรายงานวิจัยของ Bele และคณะ (2013) ที่ทำการทดสอบความเหมาะสมผลของวิธีวิเคราะห์โทโคเฟอร์รอลด้วยเทคนิค reversed-phase HPLC โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนส์เช่นเดียวกัน ผลการทดสอบความเหมาะสมผลของวิเคราะห์ของ Bele และคณะ ดังแสดงในตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 พารามิเตอร์ของการทดสอบความสมเหตุสมผลของวิธีวิเคราะห์โทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอล (Bele และคณะ, 2013)

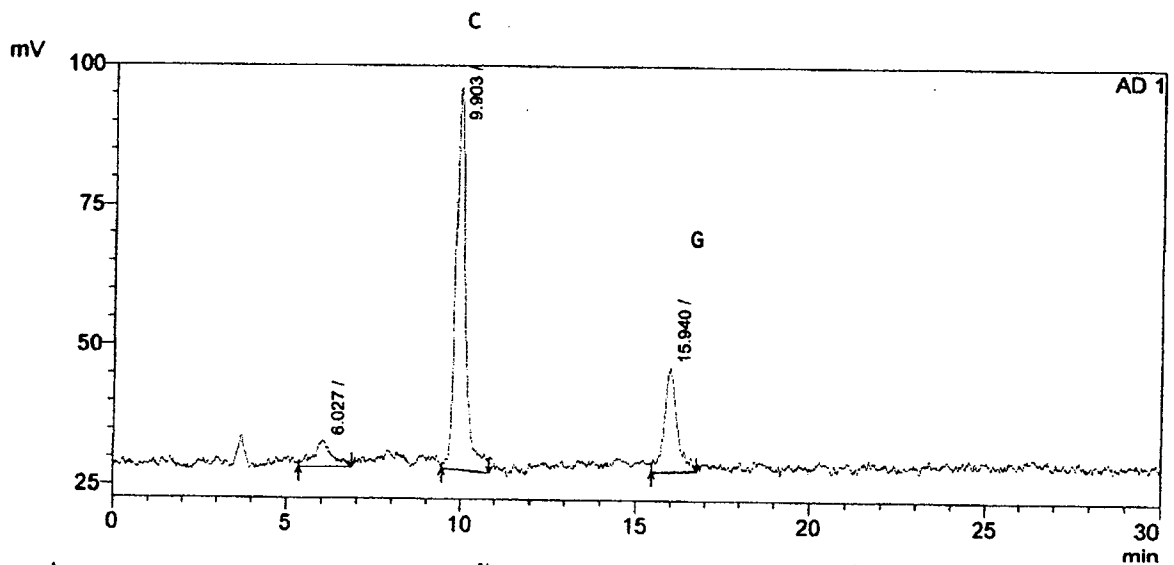
พารามิเตอร์	โทโคเฟอร์รอล			
	เดลต้า-	บีต้า-	แกมมา-	แอลฟา-
R ²	0.9979	0.9967	0.9974	0.9956
Precision (%CV)	2.3	2.9	2.7	1.6
Range (µg)	0.05-10	0.05-10	0.05-10	0.05-10
LOD (ng)	8	8	8	9
LOQ (ng)*	23	23	23	28

* คำนวณจาก 3 x LOD

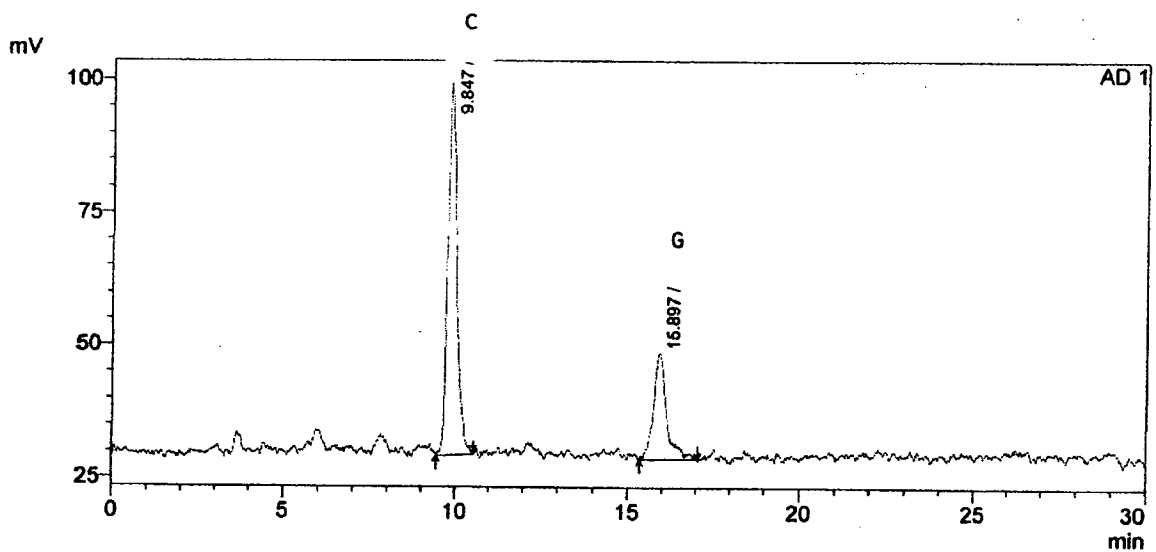
เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลในตัวอย่างน้ำมันรำข้าวขาว 4 ตัวอย่างเปรียบเทียบกับ HPLC โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอล ดังแสดงในรูปที่ 4.34 พบว่าน้ำมันรำข้าวขาวที่สกัดด้วยการบีบเย็นและคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดตรวจพบสารสำคัญในกลุ่มโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอลทั้งหมด 2 ชนิดคือ แกมมา-โทโคไตรอินอลและแกมมา-โทโคเฟอร์รอล ดังแสดงในรูปที่ 4.35 - 4.38



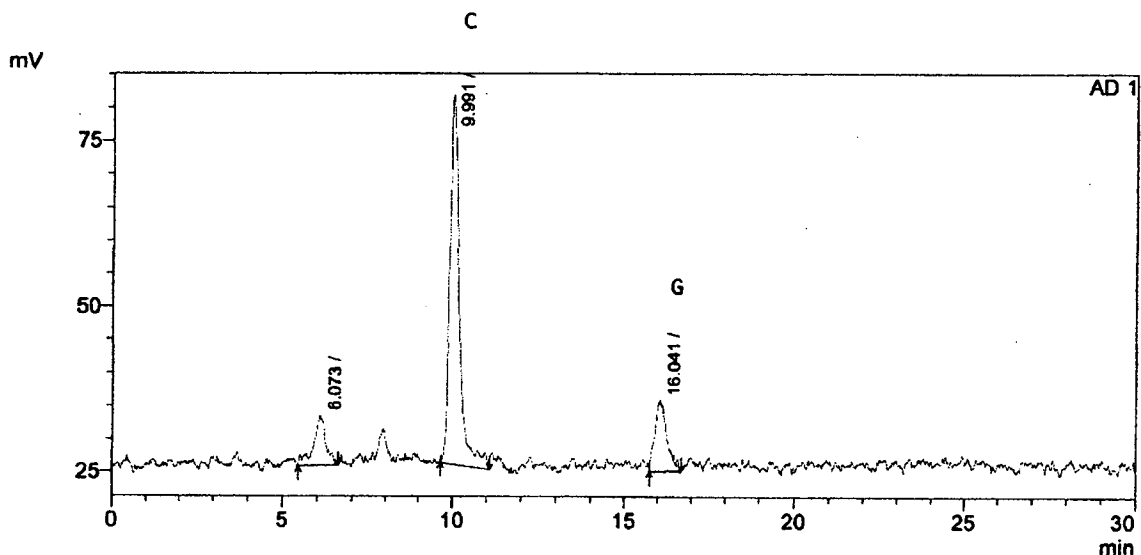
รูปที่ 4.34 HPLC โครมาโทแกรมของสารละลายผสมของโทโคไตรอินอลและโทโคเฟอร์รอล เมื่อ A: เดลต้า-โทโคไตรอินอล, B: บีต้า-โทโคไตรอินอล, C: แกมมา-โทโคไตรอินอล, D: แอลฟา-โทโคไตรอินอล, E: เดลต้า-โทโคเฟอร์รอล, F: บีต้า-โทโคเฟอร์รอล, G: แกมมา-โทโคเฟอร์รอล, และ H: แอลฟา-โทโคเฟอร์รอล ตามลำดับ



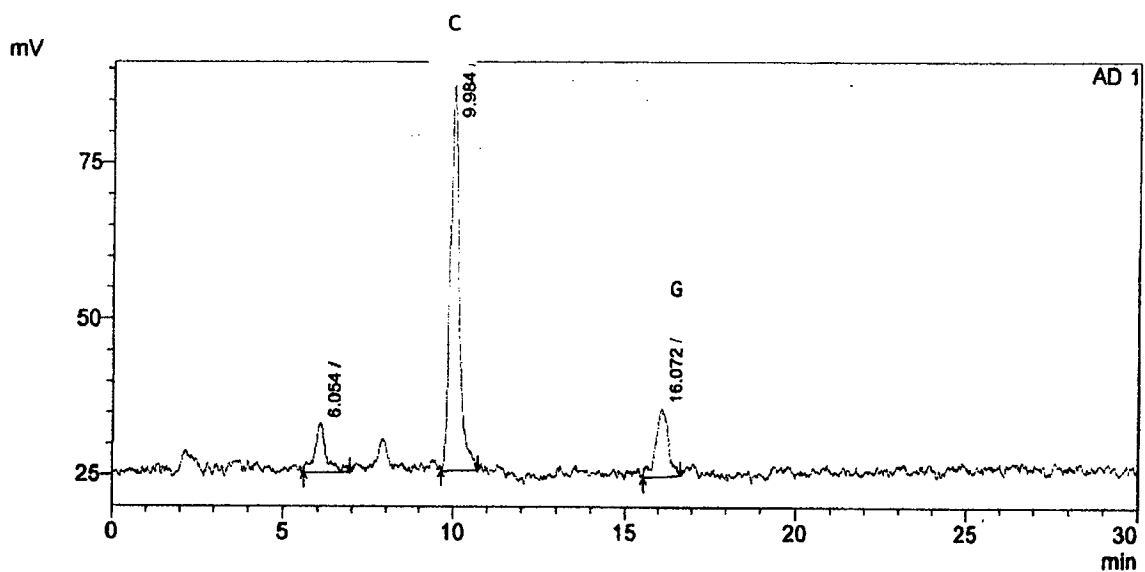
รูปที่ 4.35 HPLC โคโรมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเหนียวสันป่าตอง เมื่อสกัดด้วยการบีบเย็นซึ่งประกอบด้วย C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล และ G: แกมมา-โทโคเฟอรอล



รูปที่ 4.36 HPLC โคโรมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเหนียวสันป่าตอง เมื่อสกัดด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ซึ่งประกอบด้วย C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล และ G: แกมมา-โทโคเฟอรอล



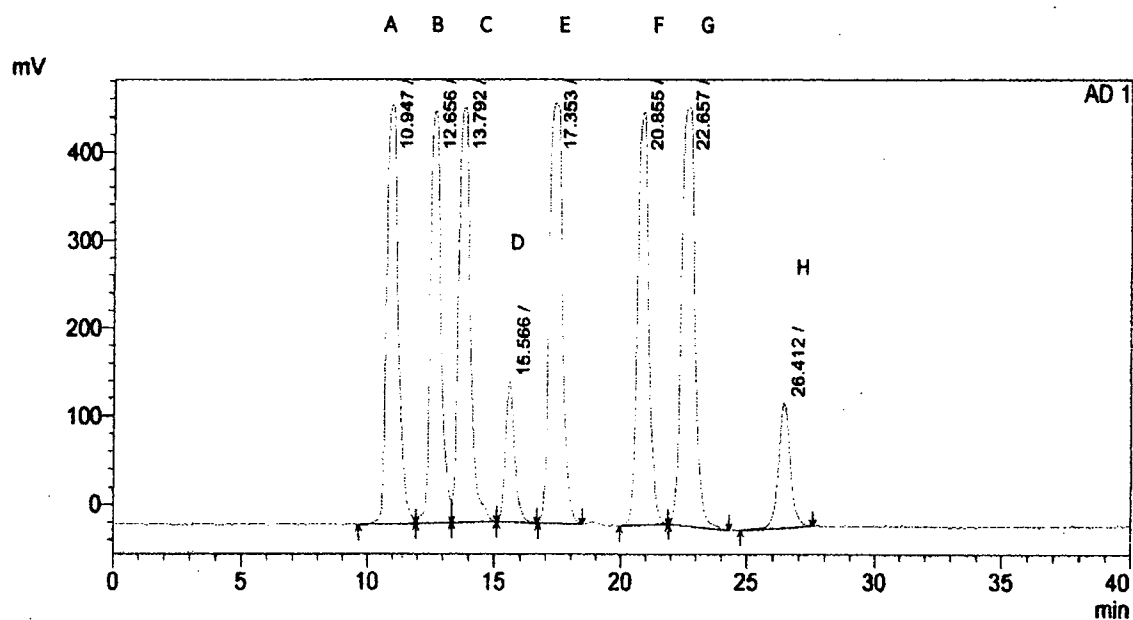
รูปที่ 4.37 HPLC โคโรมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่อสกัดด้วยการบีบเย็นซึ่งประกอบด้วย C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล และ G: แกมมา-โทโคเฟอร์รอล



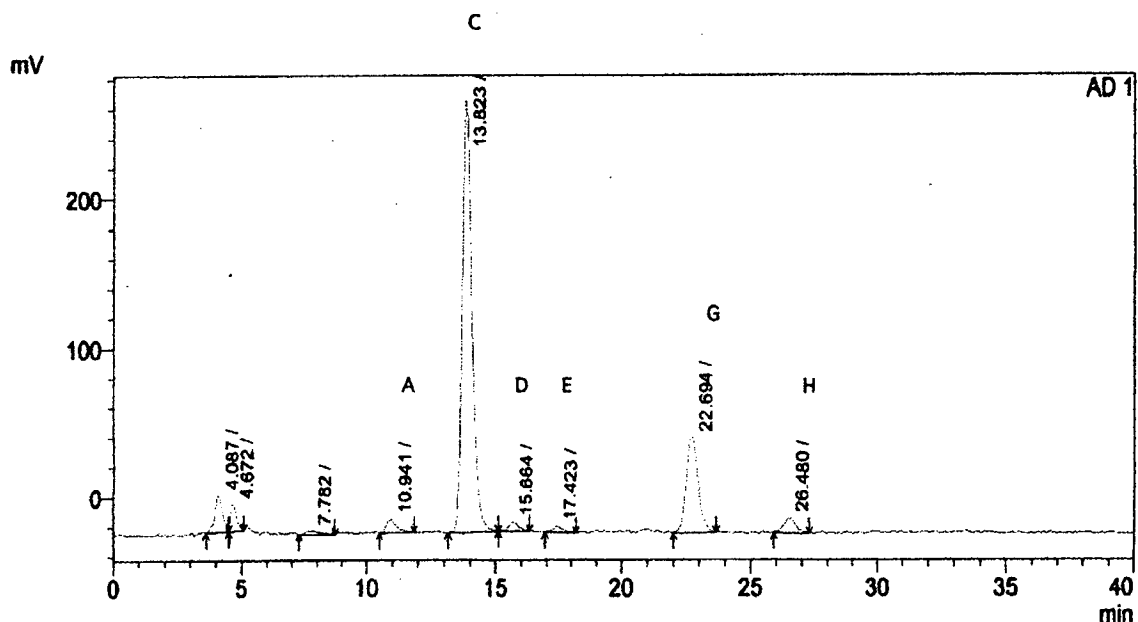
รูปที่ 4.38 HPLC โคโรมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 เมื่อสกัดด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด ซึ่งประกอบด้วย C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล และ G: แกมมา-โทโคเฟอร์รอล

จากการวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลในน้ำมันรำข้าวเก่าทั้งหมด 14 ตัวอย่างดังแสดงในรูปที่ 4.40 – 4.45 เปรียบเทียบกับ HPLC โคโรมาโทแกรมของสารมาตรฐานโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอล ดังแสดงในรูปที่ 4.39 แสดงให้เห็นว่าน้ำมันรำข้าวเก่าประกอบด้วยสารสำคัญกลุ่มโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลมากกว่าน้ำมันรำข้าวขาว โดยตรวจวิเคราะห์พบเดลต้า-โทโคไตรอีนอล แกมมา-โทโคไตรอีนอล แอลฟา-โทโคไตรอีนอล เดลต้า-โทโคเฟอร์รอล แกมมา-โทโคเฟอร์รอล และแอลฟา-โทโคเฟอร์รอล มีเพียงน้ำมันรำข้าวเก่าดอยสะเก็ดเท่านั้นที่ตรวจ

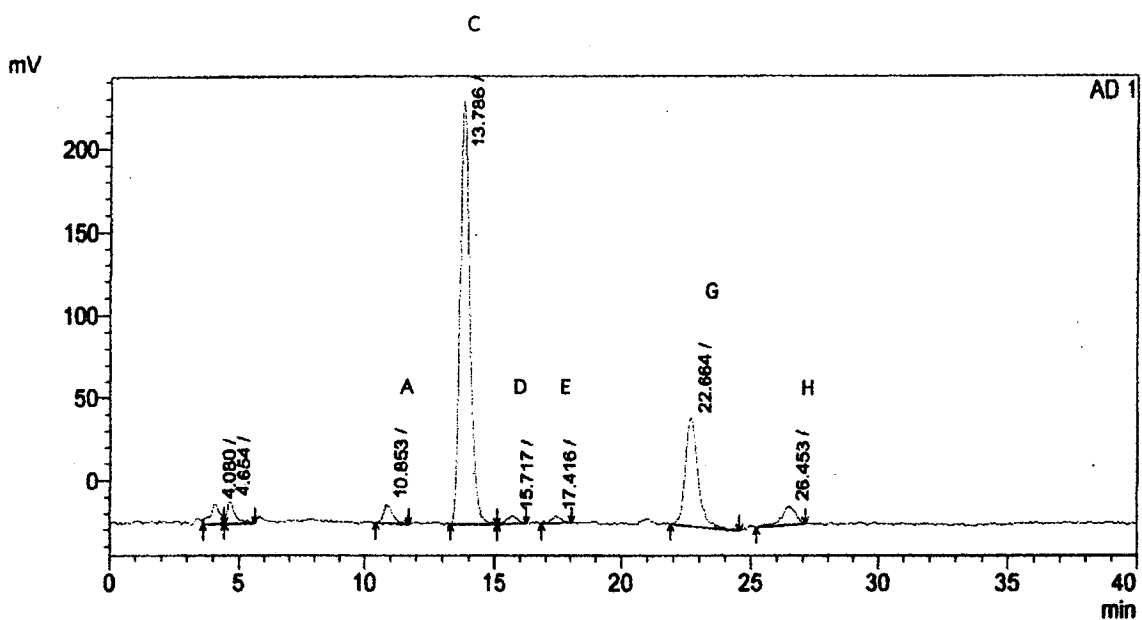
ไม่พบแอลฟา-โทโคไตรอีนอล แต่กลับตรวจวิเคราะห์พบบีต้า-โทโคเฟอรอล ซึ่งแตกต่างจากน้ำมัน
รำข้าวเก่าอื่นๆ ผลการวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอรอลดังแสดงในตารางที่ 4.9 -
4.14



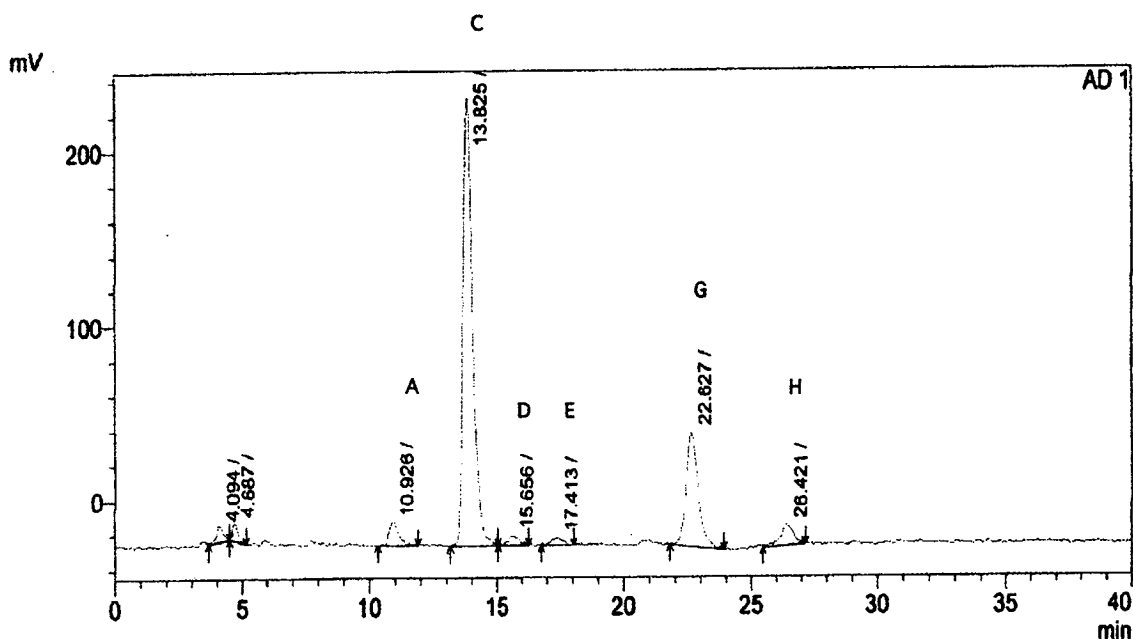
รูปที่ 4.39 HPLC โครมาโทแกรมของสารละลายผสมของโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอรอล เมื่อ A: เดลต้า-โทโคไตรอีนอล, B: บีต้า-โทโคไตรอีนอล, C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล, D: แอลฟา-โทโคไตรอีนอล, E: เดลต้า-โทโคเฟอรอล, F: บีต้า-โทโคเฟอรอล, G: แกมมา-โทโคเฟอรอล, และ H: แอลฟา-โทโคเฟอรอล ตามลำดับ



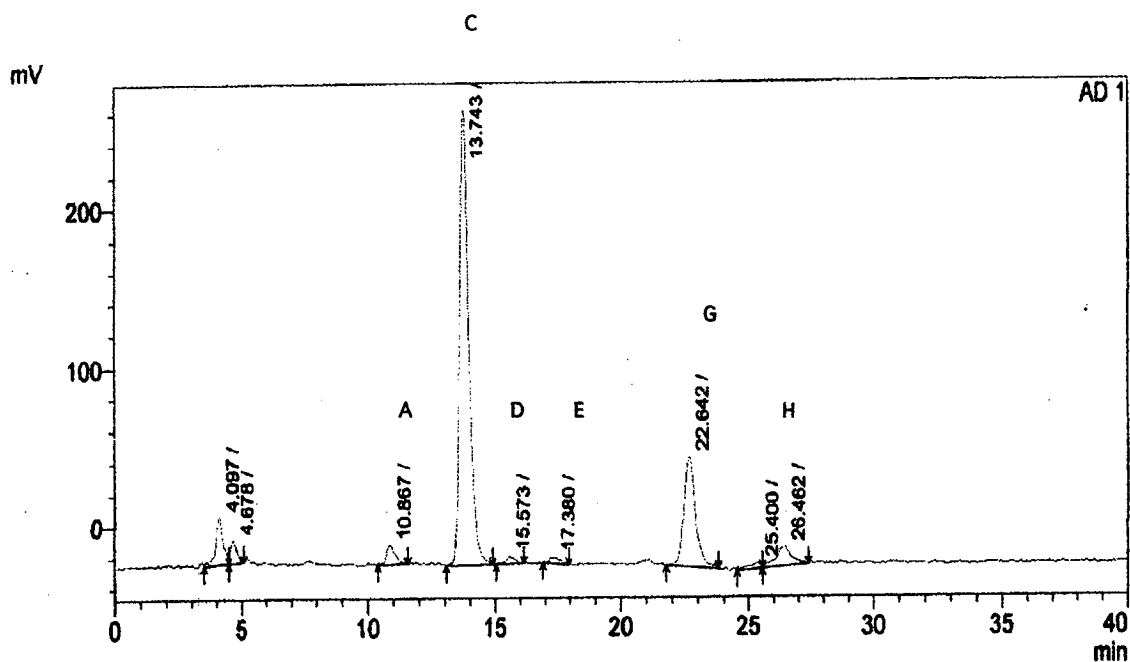
รูปที่ 4.40 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวกำลังลิ้มฟัว เมื่อสกัดด้วยการบีบเย็นซึ่งประกอบด้วย A: เดลต้า-โทโคไตรอีนอล, C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล, D: แอลฟา-โทโคไตรอีนอล, E: เดลต้า-โทโคเฟอรอล, G: แกมมา-โทโคเฟอรอล และ H: แอลฟา-โทโคเฟอรอล



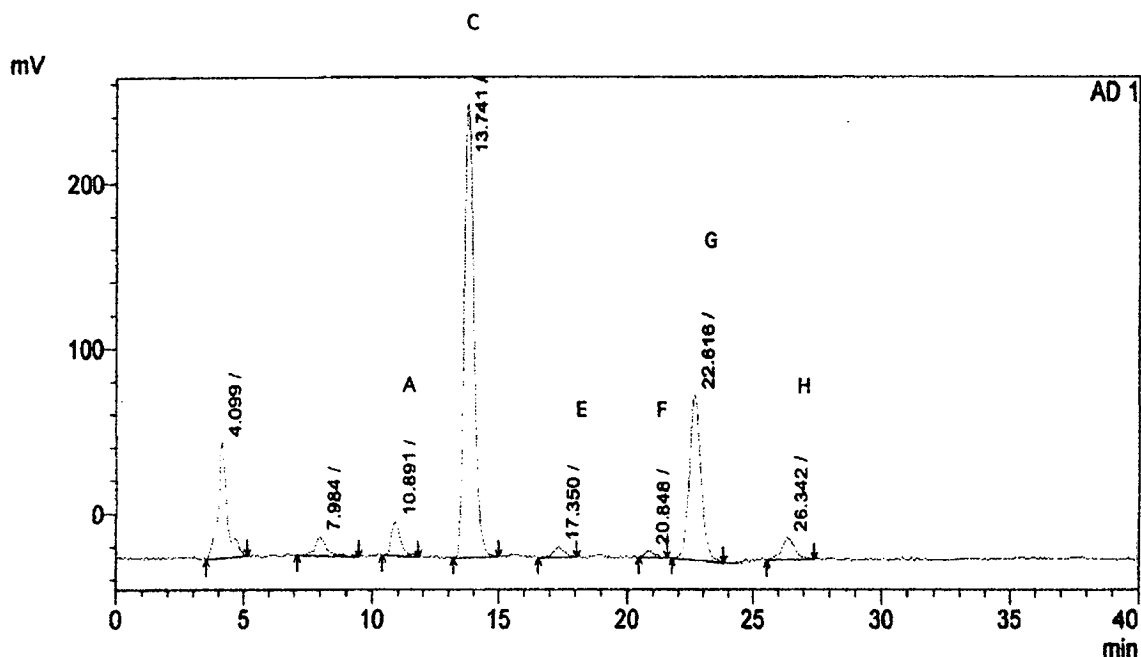
รูปที่ 4.41 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวกำลังลิ้มฟัว เมื่อสกัดด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดซึ่งประกอบด้วย A: เดลต้า-โทโคไตรอีนอล, C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล, D: แอลฟา-โทโคไตรอีนอล, E: เดลต้า-โทโคเฟอรอล, G: แกมมา-โทโคเฟอรอล และ H: แอลฟา-โทโคเฟอรอล



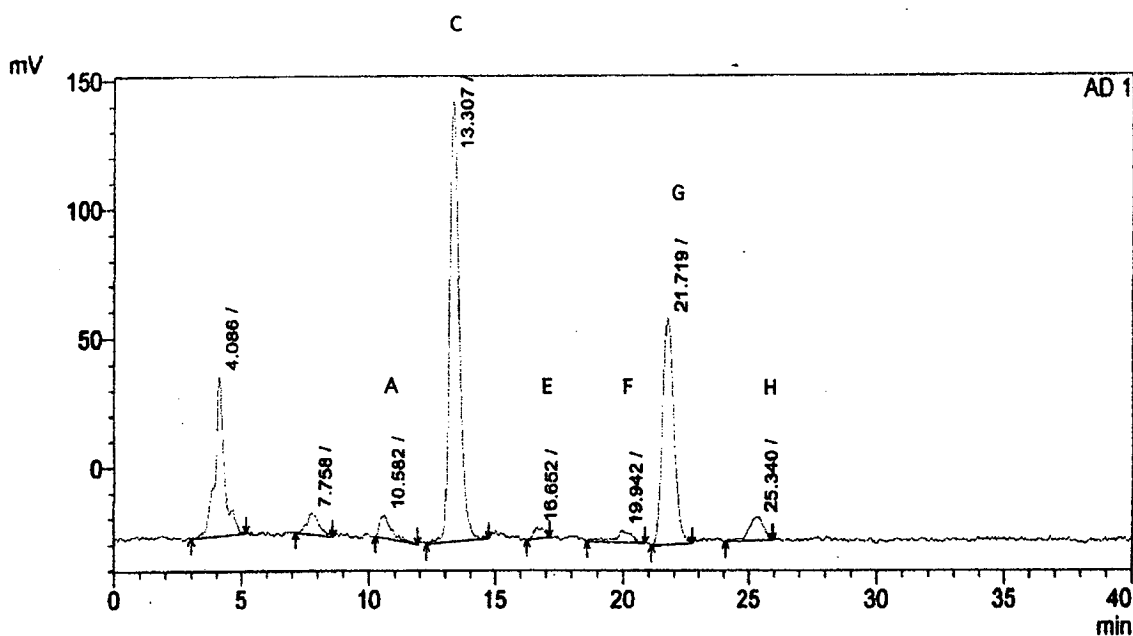
รูปที่ 4.42 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเก่าปาสเจอร์ เมื่อสกัดด้วยการบีบเย็นซึ่งประกอบด้วย A: เดลต้า-โทโคไตรอีนอล, C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล, D: แอลฟา-โทโคไตรอีนอล, E: เดลต้า-โทโคเฟอรอล, G: แกมมา-โทโคเฟอรอล และ H: แอลฟา-โทโคเฟอรอล



รูปที่ 4.43 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเก่าปาสเจอร์ เมื่อสกัดด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดซึ่งประกอบด้วย A: เดลต้า-โทโคไตรอีนอล, C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล, D: แอลฟา-โทโคไตรอีนอล, E: เดลต้า-โทโคเฟอรอล, G: แกมมา-โทโคเฟอรอล และ H: แอลฟา-โทโคเฟอรอล



รูปที่ 4.44 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเก่าดอยสะเก็ด เมื่อสกัดด้วยการบีบเย็นซึ่งประกอบด้วย A: เดลต้า-โทโคไตรอีนอล, C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล, E: เดลต้า-โทโคเฟอรอล, F: บีตา-โทโคเฟอรอล, G: แกมมา-โทโคเฟอรอล และ H: แอลฟา-โทโคเฟอรอล



รูปที่ 4.45 HPLC โครมาโทแกรมของน้ำมันรำข้าวเก่าดอยสะเก็ด เมื่อสกัดด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดซึ่งประกอบด้วย A: เดลต้า-โทโคไตรอีนอล, C: แกมมา-โทโคไตรอีนอล, E: เดลต้า-โทโคเฟอรอล, F: บีตา-โทโคเฟอรอล, G: แกมมา-โทโคเฟอรอล และ H: แอลฟา-โทโคเฟอรอล

ตารางที่ 4.9 ปริมาณเคลด้า-โทโคไตรอินอล

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณเคลด้า-โทโคไตรอินอล (mg/g น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวกล้องสีม่วง	0.12 ± 0.02	0.13 ± 0.03
2	ข้าวกล้องหอยสะเก็ด	0.07 ± 0.01	0.07 ± 0.01
3	ข้าวกล้องพะเยา	nd.	nd.
4	ข้าวกล้องเชียงราย	nd.	nd.
5	ข้าวกล้อง	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.02
6	ข้าวกล้อง	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.02
7	ข้าวกล้องป่าอิคอ	0.11 ± 0.03	0.10 ± 0.02
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	nd.	nd.
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	nd.	nd.

จากตารางที่ 4.9 แสดงให้เห็นว่าน้ำมันรำข้าวขาวทั้ง 2 สายพันธุ์ ข้าวเหนียวสันป่าตองและข้าวขาวดอกมะลิ 105 ทั้งการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคการบีบเย็นและคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดตรวจวิเคราะห์ไม่พบเคลด้า-โทโคไตรอินอลด้วยเทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ด้วยตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ รวมทั้งน้ำมันรำข้าวกล้องพะเยาและน้ำมันรำข้าวกล้องเชียงรายซึ่งตรวจวิเคราะห์ไม่พบ ในขณะที่ตรวจพบเคลด้า-โทโคไตรอินอลในน้ำมันรำข้าวกล้องสีม่วง น้ำมันรำข้าวกล้องป่าอิคอ น้ำมันรำข้าวกล้อง ข้าวกล้องและน้ำมันรำข้าวกล้องหอยสะเก็ด แต่ตรวจพบในปริมาณน้อย ซึ่งสัมพันธ์กับรายงานของ Huang และ Ng (2011) ที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณเคลด้า-โทโคไตรอินอลในข้าวที่มีการจำหน่ายในประเทศได้วันจำนวน 14 ตัวอย่างพบว่าตรวจพบเคลด้า-โทโคไตรอินอลในระดับต่ำโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 2.54 ± 0.71 mg/kg

ตารางที่ 4.10 ปริมาณแกมมา-โทโคไตรอีนอล

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณแกมมา-โทโคไตรอีนอล (mg/g น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวกล้องสีม่วง	1.63 ± 0.12	1.57 ± 0.10
2	ข้าวกล้องหอยสะเก็ด	1.38 ± 0.09	1.32 ± 0.10
3	ข้าวกล้องพะเยา	1.26 ± 0.08	1.28 ± 0.09
4	ข้าวกล้องเชียงราย	1.22 ± 0.10	1.19 ± 0.08
5	ข้าวกล้องต่อ	1.39 ± 0.12	1.33 ± 0.09
6	ข้าวกล้องปทุม	1.45 ± 0.09	1.42 ± 0.08
7	ข้าวกล้องปทุม	1.53 ± 0.13	1.46 ± 0.09
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	0.79 ± 0.08	0.82 ± 0.10
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	0.73 ± 0.08	0.68 ± 0.07

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โทโคไตรอีนอลในน้ำมันรำข้าวขาวและน้ำมันรำข้าวกล้องพบว่า ทั้งน้ำมันรำข้าวขาวและน้ำมันรำข้าวกล้องมีแกมมา-โทโคไตรอีนอลเป็นองค์ประกอบสูงสุดในสารสำคัญกลุ่มโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอรอล โดยพบว่าน้ำมันรำข้าวกล้องสีม่วงที่สกัดด้วยการบีบเย็นตรวจพบแกมมา-โทโคไตรอีนอลสูงสุดเท่ากับ 1.63 ± 0.12 mg/g น้ำมัน ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบระหว่างน้ำมันรำข้าวกล้องและน้ำมันรำข้าวขาว พบว่าน้ำมันรำข้าวกล้องมีปริมาณแกมมา-โทโคไตรอีนอลสูงกว่าน้ำมันรำข้าวขาวประมาณ 1.5 – 2 เท่า นอกจากนั้นการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคการบีบเย็นและเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดนั้นให้ปริมาณของแกมมา-โทโคไตรอีนอลไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.11 ปริมาณแอลฟา-โทโคไตรอีนอล

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณแอลฟา-โทโคไตรอีนอล (mg/g น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวกล้องสีม่วง	0.24 ± 0.03	0.22 ± 0.03
2	ข้าวกล้องดอຍสะเก็ด	nd.	nd.
3	ข้าวกล้องพะเยา	0.16 ± 0.02	0.17 ± 0.03
4	ข้าวกล้องเชียงราย	0.16 ± 0.03	0.14 ± 0.02
5	ข้าวกล้องดอ	0.18 ± 0.02	0.17 ± 0.02
6	ข้าวกล้องป้ง	0.20 ± 0.03	0.18 ± 0.02
7	ข้าวกล้องปาอีคอ	0.28 ± 0.04	0.23 ± 0.03
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	nd.	nd.
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	nd.	nd.

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 4.12 ปริมาณเดลต้า-โทโคเฟอรอล

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณเดลต้า-โทโคเฟอรอล (mg/g น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวกล้องสีม่วง	0.15 ± 0.03	0.12 ± 0.02
2	ข้าวกล้องดอຍสะเก็ด	0.08 ± 0.02	0.07 ± 0.02
3	ข้าวกล้องพะเยา	nd.	nd.
4	ข้าวกล้องเชียงราย	nd.	nd.
5	ข้าวกล้องดอ	0.08 ± 0.02	0.09 ± 0.02
6	ข้าวกล้องป้ง	0.09 ± 0.02	0.09 ± 0.02
7	ข้าวกล้องปาอีคอ	0.12 ± 0.03	0.11 ± 0.03
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	nd.	nd.
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	nd.	nd.

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟา-โทโคไตรอีนอลพบว่าน้ำมันรำข้าวเก่าปาอีคอมีปริมาณแอลฟา-โทโคไตรอีนอลสูงสุด ตามมาด้วยน้ำมันรำข้าวเก่าสีมั่ว โดยที่ตรวจวิเคราะห์ไม่พบแอลฟา-โทโคไตรอีนอลในน้ำมันรำข้าวขาวและน้ำมันรำข้าวเก่าดอยสะเก็ด นอกจากนั้นการวิเคราะห์ปริมาณเดลต้า-โทโคเฟอรอล พบว่าตรวจไม่พบเดลต้า-โทโคเฟอรอลในน้ำมันรำข้าวขาว รวมทั้งน้ำมันรำข้าวเก่าพะเยาและข้าวเก่าเชียงราย ซึ่งผลการวิเคราะห์เดลต้า-โทโคเฟอรอลเป็นไปในทางเดียวกับผลการวิเคราะห์เดลต้า-โทโคไตรอีนอล โดยพบว่าน้ำมันรำข้าวเก่าสีมั่วมีปริมาณเดลต้า-โทโคเฟอรอลสูงสุด ตามมาด้วยน้ำมันรำข้าวเก่าปาอีคอ

ตารางที่ 4.13 ปริมาณบีต้า-โทโคเฟอรอล

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณบีต้า-โทโคเฟอรอล (mg/g น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวเก่าสีมั่ว	nd.	nd.
2	ข้าวเก่าดอยสะเก็ด	0.09 ± 0.02	0.10 ± 0.03
3	ข้าวเก่าพะเยา	nd.	nd.
4	ข้าวเก่าเชียงราย	nd.	nd.
5	ข้าวเก่าต่อ	nd.	nd.
6	ข้าวเก่าบึง	nd.	nd.
7	ข้าวเก่าปาอีคอ	nd.	nd.
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	nd.	nd.
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	nd.	nd.

ค่าเฉลี่ย $\pm$ ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จากการวิเคราะห์ปริมาณบีต้า-โทโคเฟอรอลพบว่าตรวจพบบีต้า-โทโคเฟอรอลเฉพาะในน้ำมันรำข้าวเก่าดอยสะเก็ดเพียงตัวอย่างเดียวเท่านั้น โดยที่ตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเก่าและน้ำมันรำข้าวขาวอื่นๆ ตรวจไม่พบบีต้า-โทโคเฟอรอลหรืออาจมีองค์ประกอบของบีต้า-โทโคเฟอรอลแต่มีในปริมาณที่ต่ำกว่า Limit of quantitation (LOQ) ของวิธีวิเคราะห์ซึ่งมีค่าเท่ากับ 23 นาโนกรัม ซึ่งสัมพันธ์กับรายงานวิจัยของ Huang และ Ng (2011) ที่ทำการวิเคราะห์ปริมาณบีต้า-โทโคเฟอรอลในข้าวที่มีการจำหน่ายในประเทศได้หวั่นจำนวน 14 ตัวอย่างพบว่าตรวจพบบีต้า-โทโคเฟอรอลในระดับต่ำโดยมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 1.90 ± 0.67 mg/kg

ตารางที่ 4.14 ปริมาณแกมมา-โทโคเฟอรอล

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณแกมมา-โทโคเฟอรอล (mg/g น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวกล้องผั้ว	1.19 ± 0.09	1.06 ± 0.08
2	ข้าวกล้องหอยสะเก็ด	1.02 ± 0.09	0.96 ± 0.09
3	ข้าวกล้องพะเยา	0.97 ± 0.07	0.92 ± 0.08
4	ข้าวกล้องเชียงราย	0.94 ± 0.08	0.86 ± 0.07
5	ข้าวกล้องดอ	1.01 ± 0.09	0.95 ± 0.07
6	ข้าวกล้องบึง	1.09 ± 0.07	1.03 ± 0.08
7	ข้าวกล้องป้าอีคอง	1.06 ± 0.08	0.98 ± 0.07
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	0.56 ± 0.07	0.58 ± 0.08
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	0.62 ± 0.06	0.55 ± 0.08

ตารางที่ 4.15 ปริมาณแอลฟา-โทโคเฟอรอล

ลำดับที่	ตัวอย่าง	ปริมาณแอลฟา-โทโคเฟอรอล (mg/g น้ำมัน)	
		การบีบเย็น	SCDE
1	ข้าวกล้องผั้ว	0.54 ± 0.04	0.48 ± 0.03
2	ข้าวกล้องหอยสะเก็ด	0.36 ± 0.03	0.30 ± 0.03
3	ข้าวกล้องพะเยา	0.27 ± 0.03	0.28 ± 0.02
4	ข้าวกล้องเชียงราย	0.29 ± 0.02	0.30 ± 0.03
5	ข้าวกล้องดอ	0.34 ± 0.03	0.32 ± 0.03
6	ข้าวกล้องบึง	0.38 ± 0.04	0.35 ± 0.03
7	ข้าวกล้องป้าอีคอง	0.45 ± 0.03	0.43 ± 0.04
8	ข้าวเหนียวสันป่าตอง	nd.	nd.
9	ข้าวขาวดอกมะลิ 105	nd.	nd.

จากการวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โทโคเฟอรอลและแอลฟา-โทโคเฟอรอลในน้ำมันรำข้าวทั้ง 18 ตัวอย่างพบว่า ตรวจวิเคราะห์พบแกมมา-โทโคเฟอรอลและแอลฟา-โทโคเฟอรอลสูงสุดในน้ำมันรำข้าวกล้องผั้ว โดยที่น้ำมันรำข้าวกล้องมีปริมาณแกมมา-โทโคเฟอรอลสูงกว่าน้ำมันรำข้าวประมาณ 1.5 – 2 เท่า โดยที่ตรวจวิเคราะห์ไม่พบแอลฟา-โทโคเฟอรอลในน้ำมันรำข้าวขาว

จากการวิเคราะห์ปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลในตัวอย่างรำข้าวเก่าทั้งหมด 14 ตัวอย่างและน้ำมันรำข้าวขาวทั้งหมด 4 ตัวอย่างสามารถสรุปปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลได้ดังตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.16 ปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลในน้ำมันรำข้าวเก่าและน้ำมันรำข้าวขาว

ตัวอย่าง	การบีบเย็น					
	δ -T3	γ -T3	α -T3	δ -T4	γ -T4	α -T4
ข้าวกล้องสีม่วง	+++++	+++++	++++	+++++	+++++	+++++
ข้าวกล้องดอขยสะเก็ด	+++	+++	nd.	+++	+++	+++
ข้าวกล้องพะเยา	nd.	++	++	nd.	+++	++
ข้าวกล้องเชียงราย	nd.	++	++	nd.	+++	++
ข้าวกล้องต่อ	+++	+++	+++	+++	+++	+++
ข้าวกล้องบึง	+++	++++	+++	+++	++++	+++
ข้าวกล้องปาอีคอง	+++++	++++	+++++	++++	++++	++++
ข้าวเหนียวสันป่าตอง	nd.	+	nd.	nd.	++	+
ข้าวขาวดอกมะลิ 105	nd.	+	nd.	nd.	++	+
ตัวอย่าง	คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด (SCDE)					
	δ -T3	γ -T3	α -T3	δ -T4	γ -T4	α -T4
ข้าวกล้องสีม่วง	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++	+++++
ข้าวกล้องดอขยสะเก็ด	++	+++	nd.	nd.	+++	+++
ข้าวกล้องพะเยา	nd.	++	+++	+++	+++	++
ข้าวกล้องเชียงราย	nd.	++	++	++	+++	++
ข้าวกล้องต่อ	++++	+++	+++	+++	+++	+++
ข้าวกล้องบึง	+++	++++	+++	+++	+++	+++
ข้าวกล้องปาอีคอง	++++	++++	+++++	+++++	++++	++++
ข้าวเหนียวสันป่าตอง	nd.	+	nd.	nd.	++	nd.
ข้าวขาวดอกมะลิ 105	nd.	+	nd.	nd.	++	nd.

T3: โทโคไตรอีนอล, T4: โทโคเฟอร์รอล, +++++ มากที่สุด, ++++ มาก, +++ ปานกลาง, ++ น้อย, + น้อยที่สุด
เปรียบเทียบในแต่ละวิธีการสกัด

จากตารางที่ 4.16 แสดงผลการสรุปปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอล แสดงให้เห็นว่าน้ำมันรำข้าวกล้องสีม่วงทั้งที่เตรียมจากการบีบเย็นและคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดมีปริมาณ

โทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอรอลสูงสุด ตามมาด้วยน้ำมันรำข้าวเก่าปาอีคอง ข้าวเก่าบั้งและข้าวเก่าต่อ ตามลำดับ ในขณะที่น้ำมันรำข้าวเก่าปาอีคองที่เตรียมด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดมี ปริมาณแกมมา-โอโรซานอลสูงสุด แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติแล้วพบว่าน้ำมันรำข้าวเก่าปาอีคองที่ เตรียมด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดยังมีปริมาณแกมมา-โอโรซานอลไม่แตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับน้ำมันรำข้าวเก่าลิ้มฟัวที่เตรียมด้วยการบีบเย็น นอกจากนี้ต้นทุนในการ เตรียมน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดยังสูงกว่าการบีบเย็นประมาณ อย่างน้อย 5 เท่า ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงเลือกการเตรียมตัวอย่างน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคการบีบเย็น มาศึกษาชนิดและปริมาณของกรดไขมัน โดยได้คัดเลือกตัวอย่างน้ำมันรำข้าวเก่าลิ้มฟัว ข้าวเก่าปาอีคอง ข้าวเก่าบั้งและข้าวเก่าต่อที่เตรียมด้วยการบีบเย็นมาวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรด ไขมันเปรียบเทียบกับตัวอย่างน้ำมันรำข้าวขาวอีก 2 ตัวอย่างคือ น้ำมันรำข้าวเหนียวสันป่าตองและ น้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105

4.7 การวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดไขมัน

จากการส่งน้ำมันรำข้าวเก่าลิ้มฟัว น้ำมันรำข้าวเก่าปาอีคอง น้ำมันรำข้าวเก่าบั้ง น้ำมันรำข้าว ต่อ น้ำมันรำข้าวเหนียวสันป่าตองและน้ำมันรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่สกัดด้วยการบีบเย็นเพื่อ ตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันด้วยเทคนิค GC-MS/MS ณ ห้องปฏิบัติการวิจัยและ บริการ ศูนย์วิทยาศาสตร์ฮาลาล จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย พบว่าตรวจวิเคราะห์พบกรดไขมันชนิด oleic acid (C18:1 n-9 cis) มากที่สุด รองลงคือ กรดไขมันชนิด linoleic acid (C18:2 n-6 cis), palmitic acid (C16:0), และ stearic acid (C18:0) ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 4.17 และผลการ ตรวจวิเคราะห์ดังแสดงในภาคผนวก

ตารางที่ 4.17 ร้อยละของกรดไขมันที่ตรวจพบในน้ำมันรำข้าวที่สกัดด้วยการบีบเย็น

ตัวอย่าง	ร้อยละของกรดไขมันที่ตรวจพบ			
	oleic acid	linoleic acid	palmitic acid	stearic acid
ข้าวเก่าลิ้มฟัว	45.84	38.75	14.68	0.73
ข้าวเก่าปาอีคอง	46.66	31.35	20.99	0.99
ข้าวเก่าบั้ง	42.66	34.67	21.78	0.89
ข้าวเก่าต่อ	45.63	32.91	20.30	1.16
ข้าวเหนียวสันป่าตอง	46.29	32.04	20.45	1.23
ข้าวขาวดอกมะลิ 105	49.69	29.70	19.79	0.82

จากการส่งตรวจวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดไขมันพบว่าน้ำมันรำข้าวเก่าและน้ำมันรำข้าวขาวที่สกัดด้วยการบีบเย็นมีชนิดและปริมาณของกรดไขมันไม่แตกต่างกัน

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในน้ำมันรำข้าวเก่าและน้ำมันรำข้าวขาว ซึ่งประกอบด้วย การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและปริมาณสารกลุ่มแอนโทไซยานินทั้งหมดสามารถสรุปผลการตรวจวิเคราะห์ได้ตารางที่ 4.18

ตารางที่ 4.18 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและแอนโทไซยานินทั้งหมด

ตัวอย่าง	การบีบเย็น		
	Total phenolic content	Total flavonoid content	Total anthocyanin content
ข้าวกล้องผั้ว	+++++	+++++	+++++
ข้าวกล้องหุงสุก	+++	++++	+++
ข้าวกล้องพะเยา	++	+++	++
ข้าวกล้องเชียงราย	++	+++	++
ข้าวกล้องหอม	++++	++++	++++
ข้าวกล้องปิ่น	++++	+++++	+++++
ข้าวกล้องปาอีคอง	+++++	+++++	+++++
ข้าวเหนียวสันป่าตอง	+	++	nd.
ข้าวขาวดอกมะลิ 105	+	++	nd.
ตัวอย่าง	คาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด		
	Total phenolic content	Total flavonoid content	Total anthocyanin content
ข้าวกล้องผั้ว	+++++	+++++	+++++
ข้าวกล้องหุงสุก	+++	++++	+++
ข้าวกล้องพะเยา	+++	+++	++
ข้าวกล้องเชียงราย	++	+++	++
ข้าวกล้องหอม	++++	++++	+++
ข้าวกล้องปิ่น	++++	+++++	+++++
ข้าวกล้องปาอีคอง	+++++	+++++	++++
ข้าวเหนียวสันป่าตอง	+	++	nd.
ข้าวขาวดอกมะลิ 105	+	++	nd.

+++++ มากที่สุด, ++++ มาก, +++ ปานกลาง, ++ น้อย, + น้อยที่สุด; เปรียบเทียบในแต่ละวิธีการสกัด

จากตารางที่ 4.18 แสดงให้เห็นว่าน้ำมันรำข้าวกำลังผิวและน้ำมันรำข้าวกำลังผิวที่สกัดด้วยการบีบเย็นมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด สารประกอบฟลาโวนอยด์ทั้งหมดและสารประกอบกลุ่มแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงสุด เมื่อพิจารณาถึงสารสำคัญกลุ่มโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลซึ่งแสดงผลการสรุปปริมาณของสารกลุ่มดังกล่าวในตารางที่ 4.16 แสดงให้เห็นว่าน้ำมันรำข้าวกำลังผิวที่สกัดด้วยการบีบเย็นมีปริมาณโทโคไตรอีนอลและโทโคเฟอร์รอลสูงสุดเช่นเดียวกัน ถึงแม้ว่าในตารางที่ 4.6 จะแสดงให้เห็นว่าน้ำมันรำข้าวกำลังผิวที่สกัดด้วยคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดจะมีปริมาณแกมมา-โอโรซานอลสูงกว่าน้ำมันรำข้าวกำลังผิวที่สกัดด้วยการบีบเย็นและคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดก็ตาม แต่เมื่อวิเคราะห์ในทางสถิติแล้วพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ อีกทั้งการสกัดน้ำมันรำข้าวด้วยเทคนิคคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวดยังมีต้นทุนที่สูงกว่าการบีบเย็นอย่างน้อยประมาณ 5 เท่า เมื่อพิจารณาจากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและต้นทุนการเตรียมตัวอย่างน้ำมันแล้ว คณะผู้วิจัยจึงเลือกน้ำมันรำข้าวกำลังผิวมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดแคปซูลแข็งชนิดเคลือบเอนเทอริกเพื่อป้องกันการสูญเสียและปลดปล่อยสารสำคัญในกระเพาะอาหารต่อไป

4.8 การทดลองหาสารเจือจางที่เหมาะสมกับน้ำมันรำข้าวกำลังผิวและการประเมินประสิทธิภาพสารเจือจาง

เนื่องน้ำมันรำข้าวกำลังผิวมีลักษณะทางกายภาพเป็นของเหลว มีสีเข้ม มีความข้นหนืด การนำมาบรรจุแคปซูลจึงต้องหาสารเจือจางที่เหมาะสม ที่สามารถดูดซับน้ำมันรำข้าวกำลังผิวได้ดี เพื่อเปลี่ยนสภาพจากของเหลวข้นหนืดให้เป็นผงแห้งและสามารถไหลได้ดี เหมาะสมที่จะนำมาบรรจุแคปซูล จากการศึกษาจากโครงการวิจัยเรื่อง “การพัฒนาระบบนำส่งสารสกัดแกมมา-โอโรซานอลจากข้าวสาลีพันธุ์ไทยที่มีศักยภาพในการป้องกันการก่อมะเร็งลำไส้ใหญ่และลำไส้ตรง” ได้ประเมินประสิทธิภาพสารเจือจางชนิดต่างๆ ได้แก่ แป้งข้าวโพด แป้งมันสำปะหลังและแลคโทส กับ microcrystalline cellulose (Avicel® pH 101) ในการดูดซับน้ำมันรำข้าวกำลังผิวพบว่า Avicel® pH 101 มีประสิทธิภาพดีกว่าแป้งชนิดต่างๆและแลคโทส ในการทดลองนี้จึงเลือกใช้ Avicel® pH 101 เป็นสารเจือจางสำหรับการเตรียมแคปซูลน้ำมันรำข้าวกำลังผิว ร่วมกับ colloidal silicon dioxide ในสัดส่วนที่เหมาะสม นอกจากทำหน้าที่เป็นสารดูดซับที่ดีแล้ว colloidal silicon dioxide มีสมบัติเป็นสารช่วยไหล จะช่วยให้แกรนูลไหลได้ดีอีกด้วย

การประเมินประสิทธิภาพสารเจือจาง โดยการวัดปริมาณความชื้นและความสามารถในการไหลด้วยค่า Carr's Compressibility index พบว่า ปริมาณสารเจือจางที่เหมาะสมสำหรับน้ำมันรำข้าวกำลังผิวได้ผงที่แห้ง คือ ผงผสมของ Avicel® pH 101 กับ colloidal silicon dioxide ในอัตราส่วน 4:1 โดยน้ำหนัก โดยมีค่า Carr's Compressibility index เท่ากับ 9.68 ± 1.18 และร้อยละของปริมาณความชื้น 4.46 ± 0.35 ปริมาณของ colloidal silicon dioxide คิดเป็นร้อยละ 15 ของตำรับ เป็น

ปริมาณที่มากกว่าการทำหน้าที่เป็นสารช่วยไหล ซึ่งปกติจะใช้ในการเข้มข้นร้อยละ 0.1–0.5 ของตำรับ

4.9 การเตรียมแกรนูลของน้ำมันรำข้าวกำลังผิว

เพื่อให้ได้ผงแห้งของน้ำมันรำข้าวกำลังผิวที่มีสมบัติการไหลที่ดี จึงนำมาเตรียมเป็นแกรนูลด้วยวิธีแกรนูลเปียกโดยใช้ polyvinyl pyrrolidone K90 ที่ละลายใน isopropyl alcohol เป็นสารยึดเกาะ ปริมาณที่เหมาะสมของ PVP K90 ตามสูตรต่อไปนี้จะได้แกรนูลที่เหมาะสมและร้อยละผลผลิตของแกรนูลแห้งที่ได้ (%yield) เท่ากับ 97.31

สูตรตำรับ

น้ำมันรำข้าวกำลังผิว	10.0 g
ผงผสม Avicel® pH 101: colloidal silicon dioxide (4:1 w/w)	30.0 g
PVP K90	3.43%

4.10 การเตรียมแคปซูลน้ำมันรำข้าวกำลังผิว

การตั้งสูตรตำรับแคปซูลต้องการให้น้ำมันรำข้าวกำลังผิวประมาณ 90–100 มิลลิกรัมต่อแคปซูล แคปซูลเปล่าที่ใช้ในการบรรจุน้ำมันรำข้าวกำลังผิวเป็นชนิด DR capsules หรือ delayed release หรือ enteric coated capsule สำหรับการนำส่งตัวยาไปยังลำไส้เล็กส่วนต้น ขนาดแคปซูลเบอร์ 1 ซึ่งมีความจุโดยประมาณ 0.48 มิลลิลิตร ปริมาณสารที่สามารถบรรจุได้สูงสุดขึ้นกับความหนาแน่นของแกรนูล (ความหนาแน่นของแกรนูล 0.6–0.8 กรัม/มิลลิลิตร ปริมาณที่บรรจุมีน้ำหนัก 288–384 มิลลิกรัม) และเนื่องจากแกรนูลน้ำมันรำข้าวกำลังผิวมีความหนาแน่นค่อนข้างต่ำ (tapped density = 0.41 ± 0.02) ปริมาณแกรนูลน้ำมันรำข้าวกำลังผิวที่บรรจุได้มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 364 ± 14.1 มิลลิกรัม

4.11 การประเมินคุณภาพแคปซูลของน้ำมันรำข้าวกำลังผิว

4.11.1 การตรวจสอบลักษณะทางกายภาพของแคปซูล แคปซูลส่วนใหญ่มีลักษณะสมบูรณ์ เปลือกแคปซูลไม่แตกขาด ตรวจพบเพียงบางแคปซูล (3–5 แคปซูล/150 แคปซูล) ที่ส่วนปลายมีการยุบตัว จึงต้องคัดออก



รูปที่ 4.46 ลักษณะภายนอกของแคปซูลน้ำมันรำข้าวกำลังผสม

4.11.2 ความแปรปรวนของน้ำหนักแคปซูล

ผลิตภัณฑ์แคปซูลน้ำมันรำข้าวกำลังผสมวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์สำหรับใช้เสริมอาหาร (dietary supplement) การประเมินคุณภาพด้านความแปรปรวนของน้ำหนักแคปซูล จึงใช้เกณฑ์ตาม USP/NF <2019> WEIGHT VARIATION OF DIETARY SUPPLEMENTS โดยประเมินความแปรปรวนของน้ำหนักรวม (gross weight) จำนวน 20 แคปซูล กรณีที่การตรวจสอบพบว่ามีแคปซูลใดแคปซูลหนึ่ง มีน้ำหนักรวมแตกต่างจากค่าเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 10 จึงทำการประเมินความแปรปรวนน้ำหนักสุทธิของสารที่บรรจุภายใน

ในการวิจัยครั้งนี้ ได้ทำการประเมินความแปรปรวนของน้ำหนักแคปซูลทั้งสองแบบ พบว่าค่าความแปรปรวนของน้ำหนักรวมและความแปรปรวนของน้ำหนักสุทธิ อยู่ในเกณฑ์ที่ยอมรับได้ดังนี้

1) ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักรวม ได้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักแคปซูลรวมเท่ากับ 364 ± 14.1 มิลลิกรัมและน้ำหนักของแต่ละแคปซูลอยู่ในช่วงร้อยละ 90-110 ของน้ำหนักค่าเฉลี่ย คือ มีค่าร้อยละ 93.52-105.85 ของค่าเฉลี่ย

2) ค่าความแปรปรวนของน้ำหนักสุทธิ ได้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักสุทธิของสารที่บรรจุเท่ากับ 364 ± 14.1 มิลลิกรัมและน้ำหนักสุทธิของแต่ละแคปซูลมีค่าเท่ากับร้อยละ 93.52-107.83 มิลลิกรัม จึงไม่มีแคปซูลใดๆ ที่มีน้ำหนักสุทธิแตกต่างจากค่าเฉลี่ยมากกว่าร้อยละ 10

4.11.3 การวิเคราะห์หาปริมาณสารสำคัญในแคปซูลน้ำมันรำข้าวกำลังผสม

จากน้ำหนักสุทธิของแกรนูลน้ำมันรำข้าวกำลังผสมที่บรรจุในแคปซูลมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 364 ± 14.1 มิลลิกรัม จากสูตรตำรับแกรนูลจำนวนนี้ จะเทียบเท่ากับปริมาณน้ำมันรำข้าวกำลังผสม

เท่ากับ 90.48 ± 3.50 มิลลิกรัมต่อแคปซูล (ตามทฤษฎี) ในการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในแคปซูลน้ำมันรำข้าวกำลังยัดนั้น คณะผู้วิจัยได้เลือกวิเคราะห์สารสำคัญ 4 ชนิดคือ แกมมา-โอโรซานอล แกมมา-โทโคไตรอีนอล แอลฟา-โทโคเฟอรอลและแกมมา-โทโคเฟอรอล เนื่องจากเป็นสารสำคัญที่พบในปริมาณสูงในน้ำมันรำข้าวกำลังยัด ในการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญโดยใช้ HPLC ได้ปริมาณสารสำคัญ ดังนี้

- | | | |
|-----------------------|-----------------|------------------|
| 1) แกมมา-โอโรซานอล | 8.70 ± 0.50 | มิลลิกรัม/แคปซูล |
| 2) แกมมา-โทโคไตรอีนอล | 0.15 ± 0.03 | มิลลิกรัม/แคปซูล |
| 3) แอลฟา-โทโคเฟอรอล | 0.05 ± 0.01 | มิลลิกรัม/แคปซูล |
| 4) แกมมา-โทโคเฟอรอล | 0.10 ± 0.02 | มิลลิกรัม/แคปซูล |

ในส่วนของแกมมา-โอโรซานอล ซึ่งเป็นสารสำคัญหลักวิเคราะห์ปริมาณได้เป็นร้อยละ 96.16 ± 3.74 ของค่าตามทฤษฎี โดยคำนวณจากพื้นที่ใต้กราฟของสารสำคัญหลักทั้ง 4 ชนิด ที่ตรวจวิเคราะห์พบในสารมาตรฐานแกมมา-โอโรซานอล ซึ่งประกอบด้วย cycloartenyl ferulate, 24-methylenecycloartanyl ferulate, campesteryl ferulate, และ sitosterol ferulate

4.11.4 การศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญจากแคปซูลชนิดเคลือบเอนเทอริกในสภาวะจำลองกระเพาะอาหารและลำไส้เล็กส่วนต้น

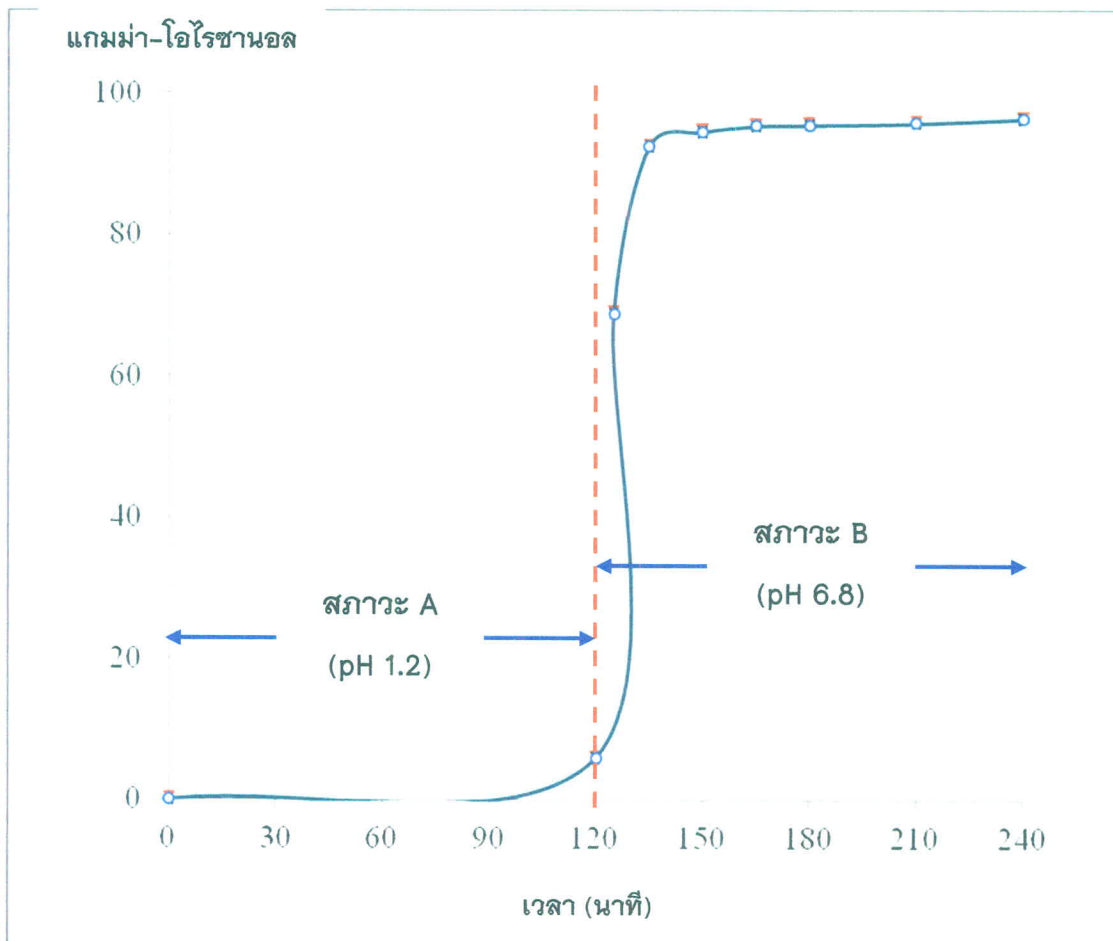
จากการสุ่มตัวอย่างแคปซูลน้ำมันรำข้าวกำลังยัดชนิดเคลือบเอนเทอริกมาศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญ คือ แกมมา-โอโรซานอล แกมมา-โทโคไตรอีนอล แกมมา-โทโคเฟอรอล และแอลฟา-โทโคเฟอรอลในสภาวะที่จำลองทางเดินอาหาร 2 ส่วน คือ กระเพาะอาหารโดยใช้สารละลายตัวกลางในการศึกษา คือ simulated gastric fluid ที่ไม่มีเอนไซม์และมี pH เท่ากับ 1.2 โดยทำการศึกษาในสภาวะนี้นาน 2 ชั่วโมง ตามด้วยการศึกษาการปลดปล่อยสารสำคัญในสภาวะจำลองลำไส้เล็กส่วนต้นในสารละลาย simulated intestinal fluid ที่ไม่มีเอนไซม์และมี pH เท่ากับ 6.8 ซึ่งเป็นบริเวณที่ต้องการให้เกิดการปลดปล่อยตัวยาจากแคปซูลและเกิดการดูดซึมสารสำคัญเข้าสู่ร่างกายที่บริเวณนี้ เนื่องจากสารสำคัญที่พบในน้ำมันรำข้าวกำลังยัดบางชนิดคือ โทโคไตรอีนอล และโทโคเฟอรอลนั้นมีความคงตัวต่ำในกระเพาะอาหารในสภาวะที่เป็นกรดและสภาวะที่มีออกซิเจน (Adam et al., 2007) ทำการทดลองสุ่มตัวอย่างสารละลายมาเตรียมตัวอย่างที่เวลาต่างๆ จนถึง 2 ชั่วโมง ทำการเตรียมตัวอย่างโดยการสกัดสารละลายที่ได้ด้วยสารละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต ทำการระเหยตัวทำละลายออกเพื่อเพิ่มความเข้มข้นให้แก่ตัวอย่างที่จะทำการวิเคราะห์ จากนั้นจึงวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญทั้ง 4 ชนิด ซึ่งประกอบด้วย แกมมา-โอโรซานอล แกมมา-โทโคไตรอีนอล แกมมา-โทโคเฟอรอลและแอลฟา-โทโคเฟอรอล โดยใช้ HPLC คำนวณร้อยละของปริมาณสารสำคัญ ดังแสดงค่าร้อยละในตารางที่ 4.19 และนำมาสร้างกราฟการปลดปล่อยตัวในรูปแบบที่ 4.47 – 4.50

ตารางที่ 4.19 ร้อยละของการปลดปล่อยสารสำคัญจากแคปซูลน้ำมันรำข้าวกำสึมผ้ว

สภาวะทดสอบ	เวลา (นาทึ)	ร้อยละที่ปลดปล่อย (ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน)			
		แกมมา- โอไรซานอล	แกมมา- โทโคไตรอีนอล	แอลฟา- โทโคเฟอรอล	แกมมา- โทโคเฟอรอล
SGF pH 1.2	120	5.89±0.34	7.90±1.12	0	6.19±0.89
SIF pH 6.8	125	68.79±2.16	63.64±4.00	57.18±4.28	54.29±2.12
	135	92.42±1.45	89.94±1.68	79.31±2.67	90.15±1.59
	150	94.47±1.08	91.77±1.91	81.61±4.03	91.29±2.43
	165	95.29±0.78	92.42±1.77	83.05±2.97	92.30±1.88
	180	95.43±1.20	92.53±1.58	86.21±3.62	92.68±2.01
	210	94.67±1.15	93.51±1.42	89.08±2.09	94.82±1.21
	240	96.28±0.95	93.72±0.79	88.79±2.38	92.95±1.41

หมายเหตุ SGF– simulated gastric fluid; SIF – simulated intestinal fluid

ร้อยละการปลดปล่อย

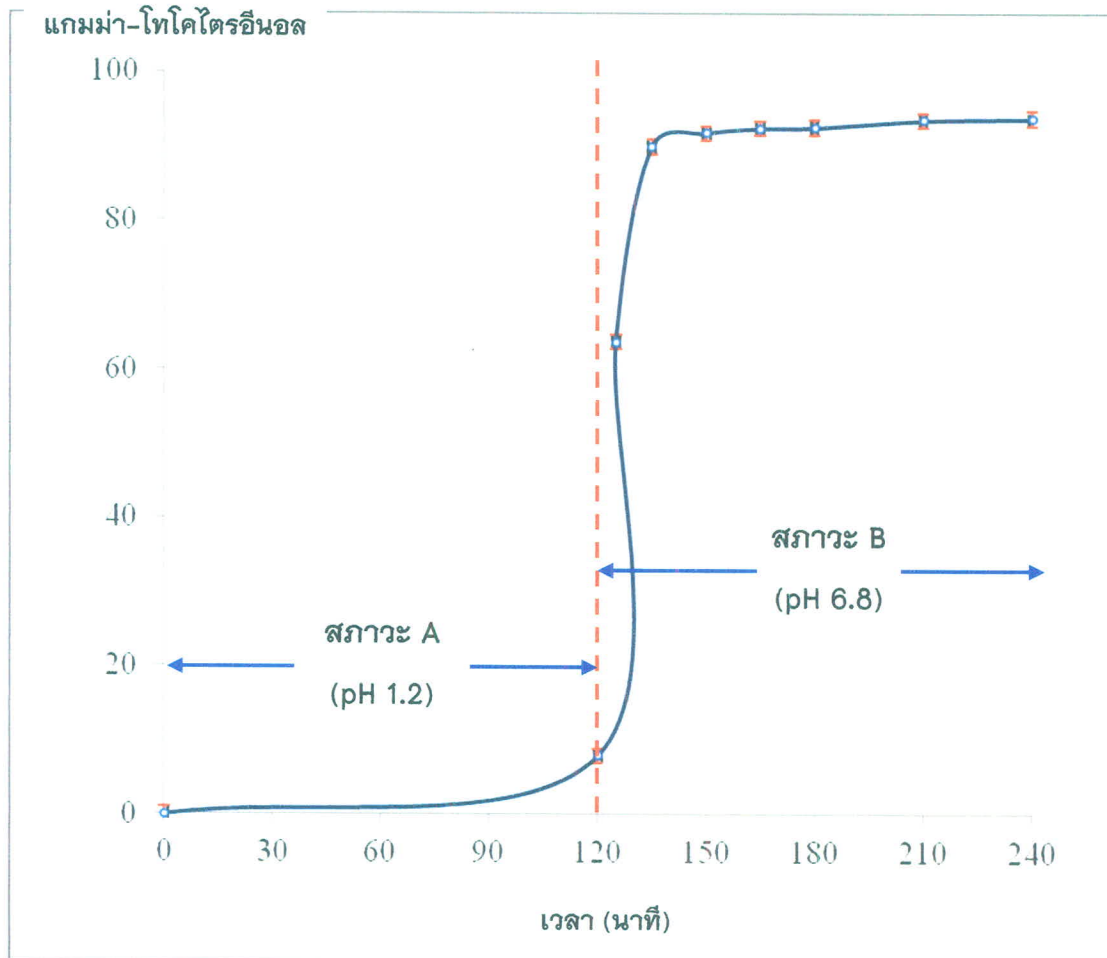


รูปที่ 4.47 ร้อยละ (ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) การปลดปล่อยแกมมา-โอโรซานอลจากแคปซูลน้ำมันรำข้าวชนิดเคลือบเอนเทอริกในตัวอย่างที่จำลองของสภาวะกระเพาะอาหาร (A) และสภาวะจำลองของลำไส้เล็ก (B) ที่เวลาต่างๆ

จากรูปที่ 4.47 แสดงให้เห็นว่าหลังจากเตรียมตัวอย่างสารละลายที่เก็บตัวอย่างจากการทดสอบการละลายและปลดปล่อยสารสำคัญให้มีความเข้มข้นมากขึ้นโดยการสกัดสารสำคัญด้วยสารละลายผสมระหว่างเฮกเซนและเอทิลอะซิเตต เนื่องจากสารสำคัญที่พบในน้ำมันรำข้าวเป็นสารกลุ่มที่มีขั้วจนถึงไม่มีขั้ว จึงสามารถทำการวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โอโรซานอลด้วยเทคนิค reversed-phased HPLC ได้อย่างถูกต้องมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในการวิเคราะห์มีค่าค่อนข้างต่ำ (ดังแสดงในตารางที่ 4.19) จากการวิเคราะห์การปลดปล่อยแกมมา-โอโรซานอลในสภาวะจำลองของกระเพาะอาหารพบว่าการปลดปล่อยแกมมา-โอโรซานอลออกมา ร้อยละ 5.89 ± 0.34 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าร้อยละ 10 โดยพบว่าการปลดปล่อยแกมมา-โอโรซานอลเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์คือ มากกว่าร้อยละ 90 ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ซึ่งมีการปลดปล่อยแกมมา-โอโรซานอลสูงที่สุดในเวลาประมาณ 35–45 นาทีในสภาวะจำลองลำไส้เล็กส่วนต้น

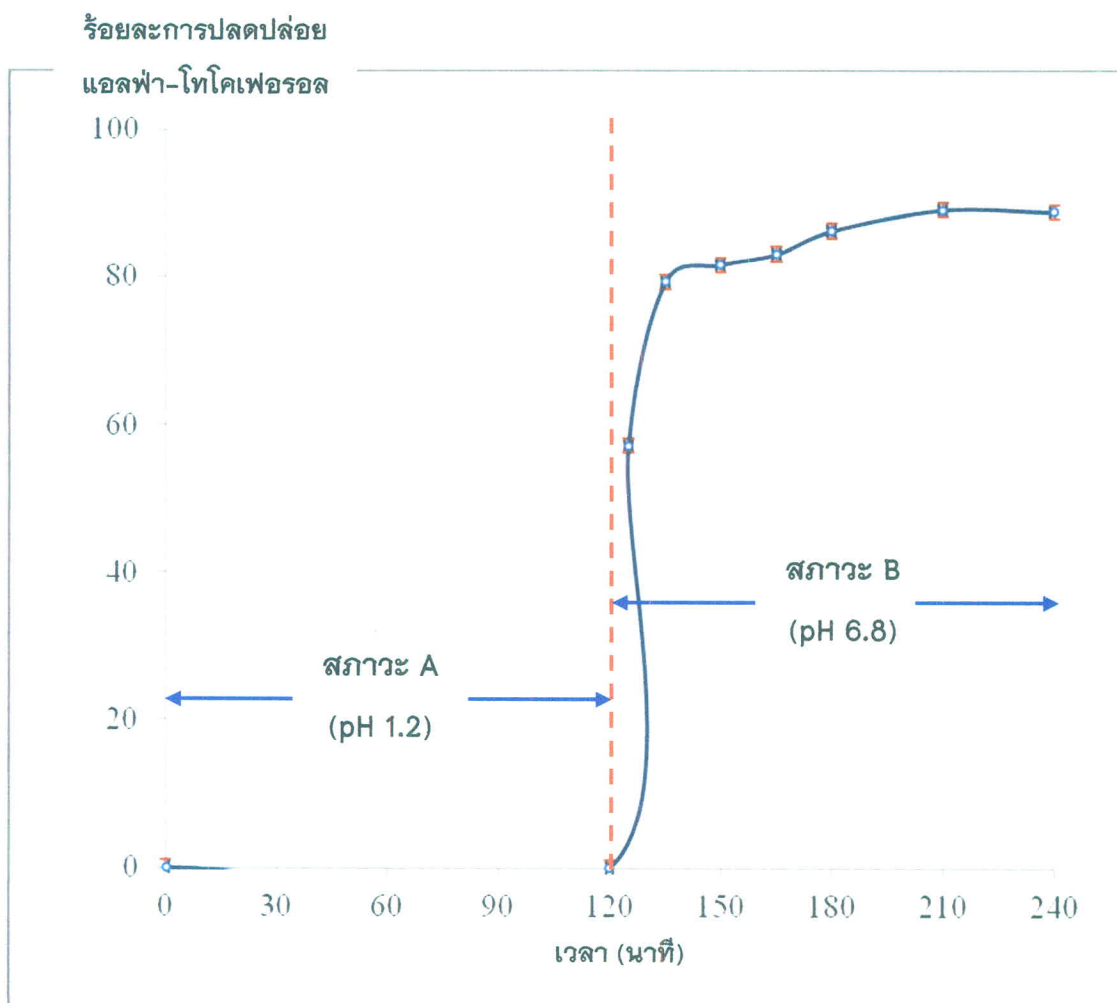
ร้อยละการปลดปล่อย

แกมมา-โทโคไตรอีนอล



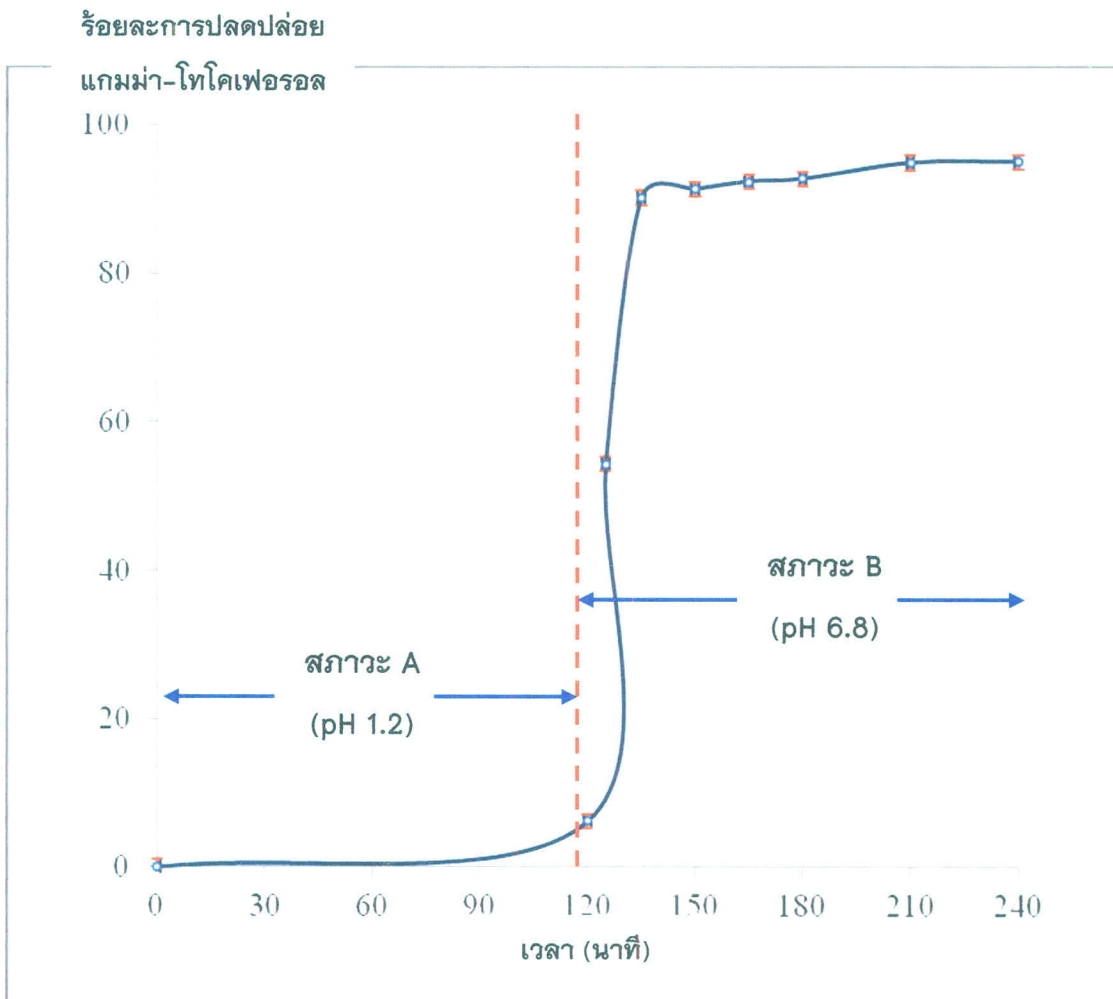
รูปที่ 4.48 ร้อยละ (ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) การปลดปล่อยแกมมา-โทโคไตรอีนอลจากแคปซูลน้ำมันรำข้าวถั่วชนิดเคลือบเอนเทอริกในตัวอย่างที่จำลองของสภาวะกระเพาะอาหาร (A) และสภาวะจำลองของลำไส้เล็ก (B) ที่เวลาต่างๆ

เช่นเดียวกับการวิเคราะห์การปลดปล่อยแกมมา-โอโรซานอลจากแคปซูลน้ำมันรำข้าวถั่วชนิดเอนเทอริก จากรูปที่ 4.48 แสดงให้เห็นว่าหลังจากเตรียมตัวอย่างสารละลายที่เก็บตัวอย่างจากการทดสอบการละลายและปลดปล่อยสารสำคัญให้มีความเข้มข้นมากขึ้น จึงสามารถทำการวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โทโคไตรอีนอลด้วยเทคนิค reversed-phase HPLC โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ได้อย่างถูกต้องมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในการวิเคราะห์ที่มีค่าค่อนข้างต่ำ (ดังแสดงในตารางที่ 4.19) จากการวิเคราะห์การปลดปล่อยแกมมา-โทโคไตรอีนอลในสภาวะจำลองของกระเพาะอาหารพบว่าการปลดปล่อยแกมมา-โทโคไตรอีนอลออกมาร้อยละ 7.90 ± 1.12 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าร้อยละ 10 โดยพบว่าการปลดปล่อยแกมมา-โทโคไตรอีนอลเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์คือ มากกว่าร้อยละ 90 ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ซึ่งมีการปลดปล่อยแกมมา-โทโคไตรอีนอลสูงสุดภายในเวลาประมาณ 60-90 นาทีในสภาวะจำลองลำไส้เล็กส่วนต้น



รูปที่ 4.49 ร้อยละ (ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) การปลดปล่อยแอลฟา-โทโคเฟอรอลจากแคปซูลน้ำมันรำข้าวกำจัดคลือบเอนเทอริกในตัวอย่างของสภาวะกระเพาะอาหาร (A) และสภาวะจำลองของลำไส้เล็ก (B) ที่เวลาต่างๆ

เช่นเดียวกับการวิเคราะห์การปลดปล่อยแกมมา-โอโรซานอลจากแคปซูลน้ำมันรำข้าวกำจัดเอนเทอริก จากรูปที่ 4.49 แสดงให้เห็นว่าหลังจากเตรียมตัวอย่างสารละลายที่เก็บตัวอย่างจากการทดสอบการละลายและปลดปล่อยสารสำคัญให้มีความเข้มข้นมากขึ้น จึงสามารถทำการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟา-โทโคไตรอินอลด้วยเทคนิค reversed-phase HPLC โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ได้อย่างถูกต้องมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในการวิเคราะห์มีค่าค่อนข้างต่ำ (ดังแสดงในตารางที่ 4.19) จากการวิเคราะห์การปลดปล่อยแอลฟา-โทโคเฟอรอลในสภาวะจำลองของกระเพาะอาหารพบว่าตรวจไม่พบการปลดปล่อยแอลฟา-โทโคเฟอรอลออกมาซึ่งมีค่าต่ำกว่าร้อยละ 10 โดยพบว่าการปลดปล่อยแอลฟา-โทโคเฟอรอลเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์คือ มากกว่าร้อยละ 90 ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ซึ่งมีการปลดปล่อยแอลฟา-โทโคไตรอินอลสูงสุดภายในเวลาประมาณ 90 นาทีในสภาวะจำลองลำไส้เล็กส่วนต้น



รูปที่ 4.50 ร้อยละ (ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) การปลดปล่อยแกมมา-โทโคเฟอรอลจากแคปซูลน้ำมันรำข้าวเก่าชนิดเคลือบเอนเทอริกในตัวอย่างที่จำลองของสภาวะกระเพาะอาหาร (A) และสภาวะจำลองของลำไส้เล็ก (B) ที่เวลาต่างๆ

เช่นเดียวกับการวิเคราะห์การปลดปล่อยแกมมา-โอโรซานอลจากแคปซูลน้ำมันรำข้าวเก่าชนิดเอนเทอริก จากรูปที่ 4.50 แสดงให้เห็นว่าหลังจากเตรียมตัวอย่างสารละลายที่เก็บตัวอย่างจากการทดสอบการละลายและปลดปล่อยสารสำคัญให้มีความเข้มข้นมากขึ้น จึงสามารถทำการวิเคราะห์ปริมาณแกมมา-โทโคเฟอรอลด้วยเทคนิค reversed-phase HPLC โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิดฟลูออเรสเซนซ์ได้อย่างถูกต้องมากขึ้น ดังจะเห็นได้จากค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานในการวิเคราะห์มีค่าค่อนข้างต่ำ (ดังแสดงในตารางที่ 4.19) จากการวิเคราะห์การปลดปล่อยแกมมา-โทโคเฟอรอลในสภาวะจำลองของกระเพาะอาหารพบว่าการปลดปล่อยแกมมา-โทโคเฟอรอลออกมาร้อยละ 6.19 ± 0.89 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าร้อยละ 10 โดยพบว่าการปลดปล่อยแกมมา-โทโคเฟอรอลเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์คือ มากกว่าร้อยละ 90 ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) ซึ่งมีการปลดปล่อยแกมมา-โทโคเฟอรอลสูงสุดภายในเวลาประมาณ 60-90 นาทีในสภาวะจำลองลำไส้เล็กส่วนต้น

จากตารางที่ 4.19 และรูปที่ 4.47-4.50 แสดงการปลดปล่อยสารสำคัญทั้ง 4 ชนิดจาก แคปซูลน้ำมันรำข้าวถั่วชนิดเคลือบเอนเทอริกในสภาวะจำลองกระเพาะอาหารและสภาวะจำลอง ลำไส้เล็กส่วนต้น คือ แกมมา-โอโรซานอล แกมมา-โทโคไตรอีนอล แอลฟา-โทโคเฟอรอลและ แกมมา-โทโคเฟอรอล ตามลำดับ พบว่าในสภาวะจำลองกระเพาะอาหารมีการปลดปล่อย สารสำคัญทั้ง 4 ชนิดน้อยกว่าร้อยละ 10 ซึ่งอยู่ในช่วงที่ยอมรับได้ และการปลดปล่อยสารสำคัญ เกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ คือ มากกว่าร้อยละ 90 ที่บริเวณลำไส้เล็กส่วนต้น (duodenum) โดยการ ปลดปล่อยถึงจุดสูงสุดภายใน 60-90 นาที ในสภาวะจำลองลำไส้เล็กส่วนต้น

4.12 การจัดทำมาตรฐานของผลิตภัณฑ์น้ำมันรำข้าวถั่วชนิดแคปซูล

การจัดทำมาตรฐานของผลิตภัณฑ์นั้นส่งตรวจตัวอย่างตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์เสริม อาหาร ณ ศูนย์วิทยาศาสตร์การแพทย์ที่ 1 เชียงใหม่ กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์ ผลการตรวจ วิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.20 และเอกสารการทดสอบดังแสดงในภาคผนวก

ตารางที่ 4.20 ผลการตรวจวิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำมันรำข้าวถั่วชนิดแคปซูล

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	เกณฑ์กำหนด
ตะกั่ว, มก./กก.	0.07	ไม่เกิน 1
สารหนู, มก./กก.	ไม่พบ	ไม่เกิน 2
แคดเมียม, มก./กก.	ไม่พบ	-
<i>Escherichia coli</i> , MPN/ก.	น้อยกว่า 3	น้อยกว่า 3
<i>Clostridium</i> spp./ 0.1 ก.	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>Staphylococcus aureus</i> / 0.1 ก.	ไม่พบ	ไม่พบ
<i>Salmonella</i> spp./ 25 ก.	ไม่พบ	ไม่พบ

จากผลการตรวจวิเคราะห์ดังแสดงในตารางที่ 4.20 แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์น้ำมันรำข้าว ถั่วแคปซูลชนิดเคลือบเอนเทอริกที่ได้ทำการผลิตขึ้นเป็นไปตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์เสริม อาหาร ตามประกาศสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา เรื่อง ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร