

บทที่ 1

บทนำ

1. ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ตลาดผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพของโลกในช่วงปี 2000 มีมูลค่าประมาณ 20-86 พันล้านดอลลาร์ และคาดว่าจะสูงขึ้นเป็น 500 พันล้านดอลลาร์ ในปี 2010 จากอัตราการเติบโตของตลาดประมาณ 5-10% ต่อปี ตัวเลขนี้เป็นแนวทางพยากรณ์การเจริญเติบโตของตลาดผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพได้เป็นอย่างดี ผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ของประเทศไทยมีศักยภาพในการแข่งขันกับต่างประเทศสูง เพราะตลาดผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพของโลกมีขนาดใหญ่หลายล้านดอลลาร์ต่อปี ประกอบกับประเทศไทยมีวัตถุดิบที่สามารถพัฒนาเป็น ผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ ได้มากมาย โดยเฉพาะจากข้าว

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทย โดยใช้บริโภคทั้งในประเทศและส่งออกสู่ตลาดโลก พร้อมกันนี้ก็มีอีกหลายประเทศที่ผลิตข้าวส่งออกสู่ตลาดโลกเช่นกัน ทำให้การค้าข้าวในปัจจุบันเกิดการแข่งขันกันค่อนข้างสูง และประสบกับปัญหาความแปรปรวนในเรื่องราคา แนวทางหนึ่งในการแก้ปัญหาดังกล่าวคือ การสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับข้าว เช่น ใช้ประโยชน์จากทุกส่วนของข้าวให้มากที่สุด โดยเฉพาะในส่วนชั้นรำซึ่งเป็นผลพลอยได้จากการสีข้าวเปลือก ปัจจุบันมีรายงานถึงสารหลายชนิดที่พบมากในข้าว โดยเฉพาะในชั้นรำซึ่งนอกจากจะมีคุณค่าทางโภชนาการแล้ว ยังมีประโยชน์ต่อร่างกายในการลดอนุมูลอิสระและช่วยลดคอเลสเตอรอล ป้องกันโรคเรื้อรังที่อาจเกิดต่อระบบหลอดเลือดและหัวใจ และยังช่วยต้านมะเร็งได้ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น dietary fiber, inositols, ferulic acids, phytic acid, γ -oryzanol, tocopherols, และtocotrienols

การนำส่วนต่างๆของข้าว เช่น รำข้าว และ จมูกข้าว มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ น่าจะทำให้ประเทศไทย มีสินค้าที่มีศักยภาพและแข่งขันได้ ในปัจจุบันการนำสารต่างๆจากข้าว มาใช้ประโยชน์เป็นอาหารสุขภาพยังมีน้อย มีเพียงประเทศญี่ปุ่นที่เป็นผู้นำในเรื่องอาหารสุขภาพ และมีการวิจัยและผลิตอาหารสุขภาพจากข้าวค่อนข้างมาก ในขณะที่อเมริกาและประเทศอื่นกำลังอยู่ในช่วงแข่งขันกันพัฒนาอาหารสุขภาพ

นอกจากข้าวขาวแล้ว ประเทศไทยยังมีการปลูกข้าวชนิดอื่นๆอีก ข้าวที่มีสี เช่น ข้าวเหนียวดำ ข้าวแดง ข้าวนิล หรือข้าวที่ชั้นรำมีสีต่างๆ ซึ่งข้าวชนิดนี้นอกจากมีสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่เหมือนข้าวขาว แล้วยังมีสี anthocyanin และ proanthocyanin ซึ่งมีงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการนำมาใช้เป็นอาหารสุขภาพไม่มากนัก นอกจากนี้มีรงควัตถุแล้ว ยังมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่สำคัญหลายชนิด เช่น phenolic compounds, γ -oryzanol tocopherols, tocotrienols, phytosterols และกรดไฟติก เป็นต้น ดังนั้นปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและศักยภาพของการเป็นอาหารสุขภาพในข้าวที่มีสี เช่น การป้องกัน low density lipoprotein (LDL) ออกซิเดชัน และยับยั้งการเกิดอนุมูล

อิสระ ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคหลอดเลือดแดงแข็ง (atherosclerosis) และโรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน (coronary heart disease) จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ ในการพัฒนาข้าวมีสีให้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพต่อไป

อย่างไรก็ตามการผลิตผลิตภัณฑ์โภชนาเภสัช หรืออาหารสุขภาพ จำเป็นต้องมีการใช้เทคโนโลยีที่เหมาะสมในการผลิต สารออกฤทธิ์ชีวภาพที่มีในข้าวยังมีความเข้มข้นต่ำ สารสำคัญบางชนิดไม่คงตัวเมื่อนำไปประยุกต์ใช้ รวมถึงลักษณะทางกายภาพของข้าว และรำข้าวยังไม่เหมาะสมที่จะใช้ผสมอาหารต่างๆ ได้โดยตรง ดังนั้นจึงควรมีกรรมวิธีในการทำให้สารออกฤทธิ์ชีวภาพเข้มข้นขึ้น มีลักษณะที่นำไปผสมอาหารต่างได้ง่าย เช่น เป็นผงละเอียด หรือเป็นของเหลว และด้วยผลิตภัณฑ์โภชนาเภสัชมุ่งเน้นการเสริมสุขภาพ ดังนั้นการผลิตควรเป็นกรรมวิธีที่ปลอดภัย ไม่มีสารอันตรายต่อร่างกาย ไม่ทำลายสภาพแวดล้อม ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้มุ่งเน้นการใช้เทคโนโลยีที่เรียกว่า green technology คือ enzymatic extraction มาใช้ในการผลิตรำข้าวสกัด เพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเสริมสุขภาพ ผลิตภัณฑ์โภชนาเภสัชที่ได้สามารถใช้เป็นส่วนผสมอาหารสุขภาพ หรือบริโภคได้โดยตรง หรือ ประยุกต์ใช้ โดยเสริมเข้าไปในผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ นอกจากการได้ผลิตภัณฑ์แล้ว งานวิจัยนี้ยังได้วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี สารออกฤทธิ์ชีวภาพที่สำคัญ มีการประเมินการเป็นสารเสริมสุขภาพ ความคงตัวของผลิตภัณฑ์ในสภาวะต่างๆ และทดสอบความปลอดภัย

2. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

- 2.1 เพื่อผลิต ผลิตภัณฑ์โภชนาเภสัช จากส่วนต่างๆ ของข้าว ได้แก่ รำข้าวสกัด จมูกข้าว ข้าวเหนียวดำสกัด และ สารสารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาสบู่ จากรำข้าว เพื่อใช้เป็นส่วนผสมอาหารสุขภาพ
- 2.2 เพื่อการประเมินศักยภาพการเป็นอาหารสุขภาพของผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่ผลิตได้
- 2.3 เพื่อทดสอบความคงตัวในสภาวะต่าง ๆ ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในผลิตภัณฑ์
- 2.4 เพื่อทดสอบการประยุกต์ใช้เป็นส่วนผสม ในการผลิตอาหารสุขภาพ
- 2.5 เพื่อทดสอบความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์

3. รายละเอียดความเชื่อมโยงระหว่างหัวข้อการวิจัยย่อย

การพัฒนาผลิตภัณฑ์โภชนาเภสัช จากส่วนต่างๆ ของข้าว ทำการผลิตทั้งหมด 4 ผลิตภัณฑ์

3.1 รำข้าวสกัดโดยใช้เอนไซม์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ นำไปศึกษาสิ่งต่างๆ ดังนี้

- 3.1.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
- 3.1.2 ประเมินศักยภาพการเป็นอาหารสุขภาพ โดยประเมินกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

- 3.1.3 ทดสอบความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสภาวะต่างๆ
- 3.1.4 ทดลองการประยุกต์ใช้ผลิตอาหารสุขภาพ คือเครื่องดื่มผงสำเร็จรูป
- 3.1.5 วิเคราะห์การปนเปื้อนของสารพิษ

3.2 สารสารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาจากรำข้าว

- 3.2.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
- 3.2.2 ประเมินศักยภาพการเป็นอาหารสุขภาพ โดยประเมินกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ
- 3.2.3 ทดสอบความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสภาวะต่างๆ
- 3.2.4 ทดลองการประยุกต์ใช้ผลิตอาหารสุขภาพ คือ ครีมหลวยเทียม และน้ำสลัด
- 3.2.5 วิเคราะห์การปนเปื้อนของสารพิษ

3.3 จมูกข้าว

- 3.3.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
- 3.3.2 ประเมินศักยภาพการเป็นอาหารสุขภาพ โดยประเมินกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ
- 3.3.3 วิเคราะห์การปนเปื้อนของสารพิษ

3.4 ข้าวเหนียวดำสกัดเพื่อใช้เป็นสีผสมอาหารสุขภาพ

- 3.4.1 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ
- 3.4.2 ประเมินศักยภาพการเป็นอาหารสุขภาพ โดยประเมินกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ
- 3.4.3 ทดสอบความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในสภาวะต่างๆ
- 3.4.4 ทดลองการประยุกต์ใช้ผลิตอาหารสุขภาพ คือสีผสมโยเกิร์ต
- 3.4.5 วิเคราะห์การปนเปื้อนของสารพิษ

4. ประโยชน์ที่ได้รับ

- 4.1 ได้ผลิตภัณฑ์โภชนาเภสัช จากส่วนต่างๆ ของข้าว ได้แก่ รำข้าวสกัด จมูกข้าว ข้าวเหนียวดำสกัด และ สารสารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาจากรำข้าว
- 4.2 ทราบศักยภาพการเป็นอาหารสุขภาพของผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่ผลิตได้
- 4.3 ทราบความคงตัวในสภาวะต่าง ๆ ของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในผลิตภัณฑ์
- 4.4 ทราบความเป็นไปได้ ปัญหาและข้อคิดจากการประยุกต์ใช้ผลิตภัณฑ์โภชนาเภสัชในการผลิตอาหารสุขภาพ
- 4.5. ทราบถึงความปลอดภัยของผลิตภัณฑ์

5. หน่วยงานที่นำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์

มหาวิทยาลัยและหน่วยงานราชการ องค์กรเอกชน บริษัท ผู้ประกอบการ ที่เกี่ยวข้องกับผลิตภัณฑ์ นักวิจัย นิสิต นักศึกษา และผู้สนใจทั่วไป

บทที่ 2

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

Functional foods and nutraceuticals (อาหารสุขภาพ และ โภชนเภสัชภัณฑ์) ถูกบัญญัติขึ้นในปี 1989 หมายถึง สารใดๆที่อยู่ในรูปของอาหารหรือเป็นส่วนของอาหาร ซึ่งนอกเหนือจากให้คุณค่าทางโภชนาการแล้ว ยังมีผลดีกับสุขภาพ ช่วยป้องกัน บำบัด และรักษาโรคได้ โดยเฉพาะโรคที่เกี่ยวข้องกับการเสื่อมสภาพของร่างกาย (Any substance that may be considered a food or part of a food and provides medical or health benefits including the prevention and treatment of diseases (Andlaer and Furst, 2002) อาหารสุขภาพ และ โภชนเภสัชภัณฑ์ ต่างกันเล็กน้อยในเรื่องของปริมาณความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ โดยอาหารสุขภาพจะมีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์น้อยกว่า ผลิตภัณฑ์มีลักษณะที่เป็นอาหารมากกว่า ในขณะที่โภชนเภสัชภัณฑ์มักจะถูกผลิตให้มีความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ชีวภาพสูง และอาจจะอยู่ในรูปของอาหาร หรือเป็นสารชนิดเดี่ยว อยู่ในรูปเม็ด หรือ แคปซูล หรือรูปอื่นๆ ก็ได้

ข้าว (Rice)

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจอันดับหนึ่งของไทย นอกจากใช้บริโภคเป็นอาหารหลักแล้ว ยังมีการนำข้าวไปผลิตเป็นอาหารแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อสะดวกในการบริโภค เช่น แป้งสำเร็จรูป เส้นก๋วยเตี๋ยวและเครื่องดัด เป็นต้น

ข้าวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในตระกูล *Oryza* ในวงศ์ Gramineae Scientific name: *Oryza sativa* L. ซึ่งปัจจุบันข้าวในตระกูล *Oryza* ยังแบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามแหล่งที่เกิขึ้นและเป็นอยู่ คือ ข้าวป่า (wide rice) เกิขึ้นและเป็นอยู่โดยธรรมชาติ พบได้ทั่วไปในภูมิภาคเอเชียอาคเนย์ มี 21 species และข้าวปลูก (cultivated rice) เกิขึ้นและเป็นอยู่โดยการเพาะปลูกของมนุษย์มีเพียง 2 species ได้แก่ *Oryza sativa* และ *Oryza glaberrima*

โครงสร้างของเมล็ดข้าว

ในทางพฤกษศาสตร์ เมล็ดข้าวเป็นชนิดหนึ่งของเมล็ดพืช เรียกว่า คาริโอออปซิส (caryopsis) เนื่องจากเป็นเมล็ดเดี่ยว (single seed) ติดแน่นอยู่กับผนังของรังไข่หรือเยื่อหุ้มผล (pericarp) (รูปที่ 1) เมล็ดข้าวประกอบด้วย 2 ส่วนใหญ่ ๆ คือ

1. ส่วนประกอบภายนอก ส่วนที่ห่อหุ้มนอกสุดของเมล็ดโดยทั่วไป เรียกว่า แกลบ (hull) หรือเปลือกดอกอันใหญ่ (lemma) ซึ่งเป็นเปลือกที่มีร่องสาแหรก 5 ร่องหุ้มด้านหลังเมล็ด และเปลือกดอกอันเล็ก (palea) ซึ่งเป็นเปลือกดอกมี 3 ร่องสาแหรกหุ้มด้านท้องเมล็ด เปลือกทั้งสองหุ้มซ้อนกันอยู่อย่างหลวม ๆ และหลุดออกจากกันง่ายในระหว่างขบวนการกะเทาะ แกลบประกอบขึ้นด้วยเซลลูโลส (cellulose) เป็นลักษณะเส้นใย (fibrous) ส่วนผิวปกคลุมด้วยขนแหลมแข็งปราศ เรียกว่า ไตรโคม (trichomes) นอกจากนี้ยังมีขี้เม็ล (rachilla) และกลีบรองเมล็ด (sterile lemma) ซึ่งคือเปลือกเล็ก ๆ ที่ทำหน้าที่หุ้มทั้งขี้เม็ล เปลือกอันใหญ่และเปลือกอันเล็กไว้ตรงโคนเมล็ด

2. ส่วนประกอบภายใน เมื่อแกะเปลือกหรือแกลบออกจะเรียกส่วนภายในว่า ข้าวกล้องซึ่งประกอบด้วย

2.1 เยื่อหุ้มผล (pericarp) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชั้น คือ เนื้อเยื่อชั้นนอกหรือ เอพิคาร์พ (epicarp) เนื้อเยื่อชั้นกลางหรือมิโซคาร์พ (mesocarp) และเนื้อเยื่อชั้นในหรือเอ็นโดคาร์พ (endocarp) ส่วนของผนังเซลล์ประกอบด้วยโปรตีน (protein) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และเซลลูโลส (cellulose) เยื่อหุ้มผลมีลักษณะเป็นเส้นใย (fibrous) มีความอ่อนนุ่ม เป็นส่วนที่ป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน คาร์บอนไดออกไซด์หรือไอน้ำ ซึ่งขณะที่เยื่อหุ้มผลยังไม่ถูกทำลาย ช่วยป้องกันการเข้าทำลายของเชื้อรา การทำปฏิกิริยาองค์ประกอบในเอ็นโดสเปิร์มกับออกซิเจน หรือขบวนการเสื่อมสภาพจากปฏิกิริยาของเอนไซม์

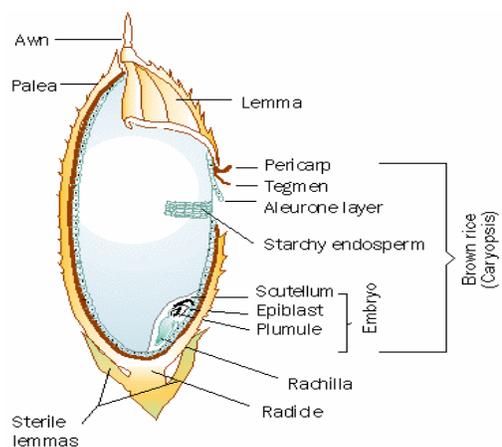
2.2 เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) อยู่ถัดจากเยื่อหุ้มผล ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 2 ชั้น เรียกว่าเป็นแฉก ประกอบด้วยไขมันและโปรตีน มีส่วนของแป้งอยู่เล็กน้อย

2.3 เยื่อออโรน (aleurone layer) เป็นส่วนที่ห่อหุ้มเอ็นโดสเปิร์มและคัพภะ ประกอบด้วยเซลล์จำนวน 1 – 7 ด้านหลังเมล็ดมีความหนามากกว่าด้านอื่น ความหนาของส่วนนี้แตกต่างกันตามพันธุ์ข้าว เยื่อออโรนมีโปรตีนที่หุ้มด้วยไขมันเป็นองค์ประกอบสำคัญ ส่วนผนังเซลล์ประกอบด้วยสารพวกโปรตีน (protein) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose)

2.4 คัพภะ (embryo) อยู่ติดกับส่วนเอ็นโดสเปิร์มทางด้านดอกอันใหญ่เป็นส่วนของเจริญเป็นต้นกล้าต่อไป ประกอบด้วยต้นอ่อน รากอ่อน เยื่อหุ้มผลอ่อน เยื่อหุ้มรากอ่อน ท่อน้ำ ท่ออาหาร และใบเลี้ยง มีโปรตีนและไขมันเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูง

2.5 ส่วนที่เป็นแป้งหรือเอ็นโดสเปิร์ม (starchy endosperm) มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลักประมาณร้อยละ 78 – 80 ความชื้นร้อยละ 14 โปรตีนร้อยละ 6 – 8 และมีไขมันในปริมาณเล็กน้อย เซลล์เม็ดแป้งเป็นรูปหกเหลี่ยม

จากโครงสร้างของเมล็ดข้าว ซึ่งประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือ แกลบ และข้าวกล้องเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าวจากน้ำหนักข้าว (ข้าวเปลือก) 100% จะมีสัดส่วนแสดงในตารางที่ 1



รูปที่ 1 ลักษณะโครงสร้างของเมล็ดข้าว

ตารางที่ 1 สัดส่วนโครงสร้างของเมล็ดข้าว

โครงสร้างเมล็ด	% สัดส่วน	
	ค่าเฉลี่ย	ช่วงของสัดส่วน
ข้าวเปลือก	100	-
แกลบ	20	16-28
ข้าวกล้อง	80	72-84
ข้าวกล้อง	100	-
เยื่อหุ้มผล	1.5	1-2
เยื่อหุ้มเมล็ด	5	4-6
คัพภะ	3	2-3
เนื้อเมล็ด	90.5	89-94
คัพภะ	3	
รากอ่อน	0.18	-
ต้นอ่อน	0.34	-
เยื่อหุ้มรากอ่อน	0.18	-
ใบเลี้ยง	1.29	1.18-1.40
ท่อน้ำ ท่ออาหาร	0.26	-
อื่นๆ	0.75	-

ที่มา : อรอนงค์ วินัยกุล (2547)

องค์ประกอบทางเคมีของข้าว

เมล็ดข้าวประกอบด้วยองค์ประกอบหลักคือ คาร์โบไฮเดรตที่อยู่ในรูปของแป้ง (starch) นอกจากนี้ยังมีโปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ (ในรูปของเถ้า) นอกจากนี้ยังมีวิตามินในข้าวด้วย เช่น วิตามินบี 1 องค์ประกอบในเมล็ดข้าวเหล่านี้มีส่วนเกี่ยวข้องกับคุณภาพของเมล็ด โดยเฉพาะอย่างยิ่ง “แป้ง” ซึ่งมีองค์ประกอบเป็นอะไมโลสและอะไมโลเพกตินในสัดส่วนต่าง ๆ กัน

จมูกข้าว หรือ คัพพะ (embryo)

เมล็ดข้าวทุกพันธุ์ ไม่ว่าจะเป็นข้าวเจ้า ข้าวเหนียว ข้าวฟ่าง ข้าวโอ๊ต ข้าวสาลี ส่วนของคัพพะ ซึ่งเป็นส่วนที่จะงอกออกไปเป็นต้นใหม่ จมูกข้าวเป็นส่วนเล็กๆ ที่ตรงปลายเมล็ดข้าว การขัดสีเพียงเบาๆ ก็ทำให้จมูกข้าวหลุดออกได้และสูญหายไปกับรำข้าวในระหว่างการขัดสี คุณค่าในเชิงโภชนาการ และการเป็นอาหารสุขภาพของจมูกข้าว มักจะถูกรายงานรวมไปกับส่วนของรำข้าว เช่น เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ มีสารช่วยลดโคเลสเตอรอล ป้องกันโรคเรื้อรังที่อาจเกิดต่อระบบหลอดเลือดและหัวใจ และยังมีสารช่วยต้านมะเร็งได้ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ เช่น dietary fiber, inositols, ferulic acids, phytic acid, tocopherols, tocotrienols, gamma-oryzanol, และ phenolic compounds เป็นต้น ดังนั้นรายละเอียดของเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับจมูกข้าว จะรวบรวมไว้ในส่วนของรำข้าว

รำข้าว

รำข้าว คือ ส่วนประกอบของเนื้อเยื่อสีน้ำตาลที่อยู่ถัดจากเปลือกหุ้มเมล็ด (hull) หรือ แกลบ (hulk) ประกอบด้วย เยื่อหุ้มผล (pericarp) เยื่อหุ้มเมล็ด (tegmen) และเยื่ออัลลูโรน (aleurone layer) และจมูกข้าว (germ หรือ embryo) (Rohrer and Siebenmorgen, 2004) ที่ถูกขัดออกในระหว่างกระบวนการขัดสีข้าว (milling) ในกระบวนการขัดสีที่รุนแรงอาจมีบางส่วนของจมูกข้าวเกิดการแตกหักและสตรัคเจอร์ส่วนนอกของเอนโดสเปิร์มหลุดปะปนออกมารวมกับรำข้าว

ในการขัดสีข้าวเพื่อการค้าจะได้รำข้าว 2 ชนิด คือรำหยาบ (coarse bran) หรือรำข้าวกล้อง และรำละเอียด (fine bran) หรือรำข้าวขาว ส่วนของรำหยาบเป็นรำข้าวที่ได้จากการขัดสีข้าวเปลือกให้เป็นข้าวกล้องมีส่วนผสมของแกลบละเอียดกับเนื้อเยื่อชั้นนอกของข้าวกล้อง ทำให้รำข้าวมีเยื่อใยสูง แต่มีปริมาณน้ำมันต่ำและส่วนรำละเอียดเป็นรำข้าวที่ได้จากการขัดสีข้าวกล้องเป็นข้าวสาร ส่วนใหญ่มีสีฟางและมีสีน้ำตาลอ่อน เป็นผลพลอยได้จากข้าวที่มีคุณค่าทางโภชนาการและมีปริมาณน้ำมันสูง จึงถูกนำมาเป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมันรำข้าว

องค์ประกอบทางเคมีในรำข้าว

รำข้าวมีองค์ประกอบหลายชนิด ได้แก่ โปรตีน ไขมัน เส้นใย และคาร์โบไฮเดรต แสดงดังตาราง 2 ซึ่งองค์ประกอบของรำข้าวจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของข้าวเปลือก ซึ่งข้าวชนิดเดียวกันก็อาจให้ปริมาณองค์ประกอบทางเคมีในรำข้าวแตกต่างกันตามกระบวนการสีข้าว

ตารางที่ 2 องค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์) ที่มีอยู่ในรำข้าวและส่วนต่างๆ ที่ได้จากการขัดสีข้าว ซึ่งมีความชื้นเท่ากับ 14 %

ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี	ข้าวเปลือก	ข้าวกล้อง	ข้าวสาร	รำข้าว	แกลบ
โปรตีน (กรัม)	5.8-7.7	7.1-8.3	6.3-7.1	11.3-14.9	2.0-2.8
ไขมัน (กรัม)	1.5-2.3	1.6-2.8	0.3-0.5	15.0-19.7	0.3-0.8
เส้นใย (กรัม)	7.2-10.4	0.6-1.0	0.2-0.5	7.0-11.4	34.5-45.9
เถ้า (กรัม)	2.9-5.2	1.0-1.5	0.3-0.8	6.6-9.9	13.2-21.0
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	64-73	73-87	77-89	34-62	22-34
พลังงาน (กิโลแคลอรี)	378	363-385	349-373	399-476	265-332

1. คาร์โบไฮเดรต

รำข้าวมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตสูงถึง 50 % โดยสะสมอยู่ในรูปแป้ง เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส (Da Silva et. al., 2006)

1.1 แป้ง

แป้งเป็นคาร์โบไฮเดรตที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน เป็นพอลิเมอร์ของกลูโคส ประกอบด้วยโมเลกุลของ anhydroglucose unit เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ glucosidic ของคาร์บอนตำแหน่งที่ 1 แป้งจะประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ อะไมโลสซึ่งเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้นและอะไมโลเพคตินซึ่งเป็นพอลิเมอร์กิ่งก้านวางตัวในแนวรัศมีแล้วสามารถแบ่งเป็นองค์ประกอบย่อยได้ 2 ส่วน คือ

1.1.1 อะไมโลเพคติน (amylopectin)

เป็นพอลิเมอร์ที่เกิดจากการรวมตัวกันของกลูโคสซึ่งเป็นโมเลกุลที่มีการจัดเรียงโครงสร้างมีลักษณะที่แยกเป็นกิ่งก้านเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ alpha-1,6-glucosidic ส่วนที่

เป็นเส้นตรงของกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4-glycosidic และส่วนที่เป็นกิ่งสาขาที่เป็นพอลิเมอร์กลูโคสสายสั้นมีระดับของการเชื่อมต่อเป็นสายยาว (degree of polymerization ; DP) อยู่ในช่วง 10-60 หน่วย

1.1.2 อะไมโลส (amylose)

เป็นพอลิเมอร์ที่ประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 2,000 หน่วย มีการจัดโครงสร้างเป็นลักษณะแนวยาว (linear fraction) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ α -1,4-glycosidic ตำแหน่งของอะไมโลสภายในเมล็ดข้าวขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแป้ง อะไมโลสพบมากส่วนที่เป็นผลึก (crystalline) อะไมโลสบางส่วนนั้นจะกระจายอยู่ในส่วนอสัณฐาน (amorphous) ทั้งอะไมโลสและอะไมโลเพคตินอยู่รวมกันเป็นเม็ดแป้ง (starch granule) รูปทรงหลายเหลี่ยม (polygonal) มีขนาด 2-10 ไมครอน อยู่รวมกันเป็นกลุ่มแป้ง (starch compound) และมีโปรตีน (protein body) ขนาด 1-14 ไมครอนแทรกอยู่รอบกลุ่มแป้งกลุ่มของโปรตีนนี้หนาแน่นตามบริเวณใกล้ผิวเมล็ดและค่อยๆ ลดน้อยลง เมื่อลึกเข้าไปในกึ่งกลางเมล็ด ในเมล็ดข้าวสารมีโปรตีนอยู่ประมาณร้อยละ 6-14 ของน้ำหนัก แป้งจากแหล่งที่ต่างกันมีอัตราส่วนของปริมาณอะไมโลสและอะไมโลเพคตินต่างกันซึ่งเป็นผลทำให้คุณสมบัติของแป้งแต่ละชนิดแตกต่างกันเช่น แป้งข้าวเหนียวมีอะไมโลเพคตินเป็นส่วนใหญ่ โดยมีปริมาณอะไมโลสต่ำกว่าร้อยละ 2 ซึ่งเมื่อเชื่อมสารไอโอดีนจะเป็นสีน้ำตาลแดง ในขณะที่ข้าวเจ้าประกอบด้วยอะไมโลสมากกว่าร้อยละ 5 เมื่อเชื่อมสีไอโอดีนจะติดสีน้ำเงิน

1.2 พอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้ง

พบในเปลือกหุ้มเมล็ดมากกว่าในเนื้อเมล็ดและคัพพะของเมล็ดซึ่งเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ที่สามารถวิเคราะห์ได้ในรูปเส้นใยอาหาร (dietary fiber) ประกอบไปด้วยเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลส สารประกอบเพคติน และลิกนินที่ยึดติดอยู่เป็นองค์ประกอบ

1.3 น้ำตาลอิสระ

น้ำตาลอิสระที่พบมากในส่วนคัพพะและเนื้อเมล็ดของเมล็ดข้าวคือ น้ำตาลซูโครส นอกจากนั้นเป็นแรฟไฟโนส กลูโคสและฟรุคโตส น้ำตาลทั้งหมดในคัพพะมีประมาณ 8-25 % ในรำมีประมาณ 6.5 % และในข้าวสารมีประมาณ 0.52 % น้ำตาลที่ไม่ใช่ น้ำตาลรีดิซซ์ (non reducing sugar) ที่สำคัญคือ ซูโครส ส่วนน้ำตาลรีดิซซ์ที่พบมาก คือ กลูโคส และฟรุคโตส นอกจากนั้นยังพบน้ำตาล เมลิโบส กลูโคไดฟรุคโตส มอลโตไทรโอส และน้ำตาลมอลโตโอลิโกแซ็กคาไรด์อื่นๆ อีกในเมล็ดข้าวที่กำลังงอก

2. โปรตีน (protein)

รำข้าวมีโปรตีนแตกต่างกันไป คอยส่วนใหญ่อยู่ในช่วงประมาณ 13-15 % (บังอร ศรีพานิชกุลชัย และคณะ 2548; Da Silva et. al. 2006; Imsanguan et. al. 2007)

3. ไขมัน (fat)

รำข้าวมีไขมันประมาณ 15-30 % (บังอร ศรีพานิชกุลชัย และคณะ, 2548 ; Rohrer and Siebenmorgen, 2004; Imsanguan et. al. 2007

4. ปริมาณเส้นใย (crude fiber)

รำข้าวมีปริมาณเส้นใย 6-20 % (บังอร ศรีพานิชกุลชัย และคณะ. 2548)

5. วิตามิน และแร่ธาตุ เมื่อวิเคราะห์ปริมาณวิตามิน ได้แก่ ไทอะมิน (วิตามินบี 1) ไรโบ ฟลาวิน (วิตามินบี 2) ไนอะซิน (กรดนิโคตินิก) แอลฟาโทโคเฟอรอล (วิตามินอี) และแร่ธาตุ ได้แก่ แคลเซียม ฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัสในไฟติน เหล็ก และสังกะสี ของรำข้าวและส่วนต่างๆ จากการแปรรูปข้าวที่มีความชื้น 14 % แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณวิตามินและเกลือแร่ของรำข้าวและส่วนที่ได้จากการขัดสีข้าวที่มีความชื้น 14 %

ปริมาณวิตามินและเกลือแร่	ข้าวเปลือก	ข้าวกล้อง	ข้าวสาร	รำข้าว	แกลบ
ไทอะมิน (มิลลิกรัม)	0.26-0.33	0.29-0.61	0.02-0.11	1.20-2.40	0.09-0.21
ไรโบฟลาวิน (มิลลิกรัม)	0.06-0.11	0.04-0.14	0.02-0.06	0.18-0.43	0.05-0.07
ไนอะซิน (มิลลิกรัม)	2.90-5.60	3.50-5.30	1.30-2.40	26.70-49.90	1.60-4.20
แอลฟาโทโคเฟอรอล (มิลลิกรัม)	0.90-2.00	0.90-2.50	0.75-0.30	2.60-13.30	0
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	10-80	10-50	10-30	30-120	60-130
ฟอสฟอรัส (กรัม)	0.17-0.39	0.17-0.43	0.08-0.15	1.10-2.50	0.03-0.07
ไฟตินฟอสเฟต (กรัม)	0.18-2.10	0.13-0.27	0.02-0.07	0.90-2.20	0
เหล็ก (มิลลิกรัม)	1.40-6.00	0.20-5.20	0.20-2.80	8.60-43.00	3.90-9.50
สังกะสี (มิลลิกรัม)	1.70-3.10	0.60-2.80	0.60-2.30	4.30-25.80	0.90-4.00

6. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรำข้าว

รำข้าวนอกจากเป็นแหล่งชีวโมเลกุลที่สำคัญดังกล่าวข้างต้นแล้วยังมีปริมาณของแกมมาออริซานอล (γ -oryzanols) สูงอีกทั้งยังมีสารในกลุ่มไฟโตสเตอรอล (phytosterols) กลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenols) และวิตามินอีทั้งชนิดโทโคเฟอรอล (tocopherols) และโทโคไตรเอนอล (tocotrienols) (ตารางที่ 4) สารเหล่านี้เป็นไขมันที่มีคุณค่าต่อสุขภาพจากการมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน สารต้านออกซิเดชันที่มีในรำข้าวของข้าวทุกชนิดช่วยลดอนุมูลอิสระในร่างกายได้จึงลดภาวะเครียดออกซิเดชัน (oxidative stress) ที่เป็นสาเหตุโรคเรื้อรังหลายชนิด เช่น โรคหลอดเลือด โรคเมเร็ง โรคเบาหวาน เป็นต้น จึงทำให้รำข้าวได้รับความสนใจศึกษาวิจัยมากขึ้น นอกจากนี้ในรำ

ข้าวยังมี สควาลีน (squalene) ซึ่งมีประโยชน์ต่อผิวหนัง เมื่อรวมกับสารอาหารและ nutraceuticals ต่างๆ ในรำข้าวทำให้เชื่อว่ารำข้าวช่วยบำรุงผิวหนังได้ ชนิดและปริมาณสารสำคัญในรำข้าวอาจกล่าวได้ว่ารำข้าวมีปริมาณสารในกลุ่มไฟโตสเตอรอลและแกมมาออริซานอลสูงกว่าสารอื่น (บังอร ศรีพานิชกุลชัย และคณะ 2548)

ตารางที่ 4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรำข้าว

Nutraceuticals	ปริมาณ
Phytosterols	2,230-4,400 ppm
γ -oryzanols	2,200-3,000 ppm
Tocopherols, Tocotrienols	210-440 ppm
polyphenols	305-309 ppm
Squalene	4,000 ppm

ที่มา : Qureshi และคณะ,2002

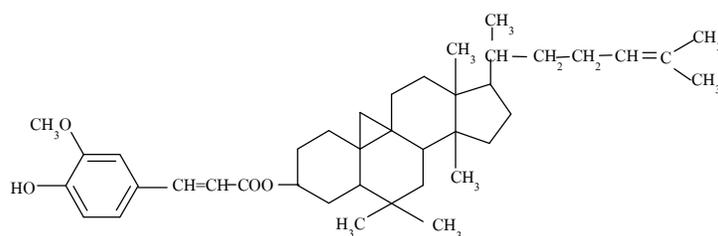
สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรำข้าว ที่สำคัญมีดังนี้

6.1. แกมมาออริซานอล (γ -oryzanols)

แกมมาออริซานอล เป็นสารที่พบได้ในรำข้าวทุกชนิด มีสูตรโมเลกุลเป็น $C_{40}H_{58}O_4$ มวลโมเลกุลเท่ากับ 602.9 (รูปที่ 2) มีลักษณะสีขาวหรือขาวเหลือง โปร่งใสคล้ายผงแป้ง ไม่มีกลิ่น ละลายได้ในน้ำมันและละลายได้บ้างในตัวทำละลายอินทรีย์ แต่ไม่ละลายน้ำ แกมมาออริซานอล เป็นสารที่ประกอบด้วยองค์ประกอบของ phytosteryl ferulates ที่มีอยู่ในข้าวได้แก่ 24-Methylene comcycloartanyl ferulate, cycloartanyl ferulate, campesteryl ferulate, beta-sitosteryl ferulate และ campestanyl ferulate (Imsanguan et. al. 2007) ซึ่งถือว่าเป็นองค์ประกอบที่พบโดยส่วนใหญ่ ในรำข้าวมีสูงกว่าวิตามินอีประมาณ 13 - 20 เท่า แกมมาออริซานอลมีความสำคัญในแง่ของการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและปัจจุบันเป็นที่สนใจในแง่ของการนำมาใช้ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ (บังอร ศรีพานิชกุลชัย และคณะ 2548)

บทบาทหน้าที่ ที่สำคัญคือ ช่วยลดโคเลสเตอรอลในพลาสมา ลดการดูดซึมโคเลสเตอรอล ลดการเกิดหลอดเลือดแดงตีตัน โดยยับยั้งการจับกันของเกล็ดเลือด ช่วยลดระดับ low density lipoproteins (LDL) และ very low density lipoproteins (VLDL) และเพิ่ม high density lipoprotein (HDL) (Bucci et. al., 2003) และช่วยในการปรับสมดุลของสภาพ menopause ของสตรีในวัยทอง (Boonsit et. al., 2006) จากการศึกษาของ Wilsona et. al., 2007 พบว่าน้ำมันรำข้าวสามารถลด VLDL และ LDL ได้ 64 % และ 70 % แกมมาออริซานอลลดได้ 70 % และ 77 % ส่วนกรดเฟอร์ูลิ

ลดได้ 22 % และ 24 % เมื่อเปรียบเทียบกับเฟอรูลิกพบว่ารำข้าวสามารถลด plasma total cholesterol และ non-HDL-cholesterol ได้ 53 % และ 61 % ส่วนแกมมาออริซานอลลดได้ 61 % และ 70 % ใน ด้านอุตสาหกรรม แกมมาออริซานอล ใช้เป็นสารให้ความคงตัวกับน้ำมันพืชและไขมันสำหรับการทอด โดยยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในน้ำมันรำข้าว (Miller et. al., 2003) และยังใช้เป็นสารในการป้องกันรังสียูวี โดยช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของลิปิดซึ่งมีสารตั้งต้นเป็นหลักและรังสียูวี (Rohrer and Siebenmorgen, 2004)



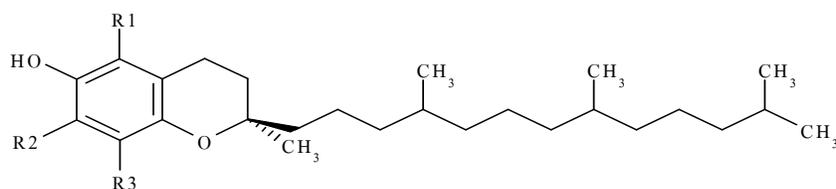
รูปที่ 2 โครงสร้างของแกมมาออริซานอล

6.2 วิตามินอี

รำข้าวประกอบด้วยสารที่มีประโยชน์ ได้แก่ วิตามินอี (โทโคเฟอรอลและโทโคไตรอีนอล) โดยวิตามินอีส่วนใหญ่ที่พบในรำข้าวคือแอลฟาโทโคเฟอรอล วิตามินอีในธรรมชาติเป็นน้ำมันสีเหลือง ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในตัวทำละลายไขมัน ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนหรืออากาศ จะทนต่อความร้อนและกรด สลายตัวได้ง่ายเมื่อถูกแสงอุลตราไวโอเลต ออกซิเจนและด่าง วิตามินอีประกอบด้วย 2 กลุ่มใหญ่ ๆ คือ

6.2.1 โทโคเฟอรอล (tocopherol)

โทโคเฟอรอลในธรรมชาติที่สำคัญมี 4 ชนิด คือ α -tocopherol (แอลฟา-โทโคเฟอรอล) β -tocopherol (เบต้า-โทโคเฟอรอล) γ -tocopherol (แกมมา-โทโคเฟอรอล) และ δ -tocopherol (เดลต้า-โทโคเฟอรอล) (Chun et. al., 2006) โครงสร้างประกอบด้วย 2 ส่วนคือส่วนวงแหวน chroman เป็นส่วนที่ชอบน้ำ (hydrophilic) ซึ่งมีหมู่ไฮดรอกซิลเกาะอยู่จะสามารถให้โปรตอนกับอนุมูลอิสระได้และส่วนของสายคาร์บอน (side-chain) เป็นส่วนที่ชอบไขมัน โทโคเฟอรอลมีลักษณะเป็นน้ำมันสีเหลืองและละลายได้ดีในไขมัน ที่พบในธรรมชาติมีชื่อเฉพาะว่าโทโคเฟอรอล (tocopherol) ซึ่งรูปโทโคเฟอรอลนี้มีโครงสร้างแตกต่างกัน แบ่งได้ 4 รูปแบบ ตามจำนวนและตำแหน่งการแทนที่ของ methyl group ในวงแหวน chromanol ที่อยู่ในโมเลกุล (รูปที่ 3) ส่วนที่ออกฤทธิ์ที่สุดคือ แอลฟาโทโคเฟอรอล (alpha-tocopherol)



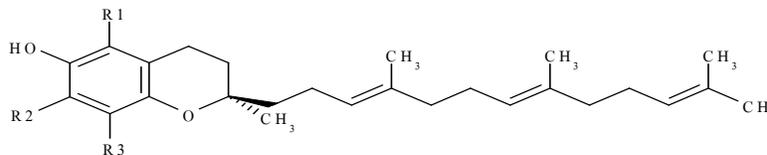
α -tocopherol มีหมู่ methyl จำนวน 3 หมู่ จับที่ตำแหน่ง 5 7 และ 8 ของวงแหวน chromanol
 β -tocopherol มีหมู่ methyl จำนวน 2 หมู่ จับที่ตำแหน่ง 5 และ 8 ของวงแหวน chromanol
 γ -tocopherol มีหมู่ methyl จำนวน 2 หมู่ จับที่ตำแหน่ง 7 และ 8 ของวงแหวน chromanol
 δ -tocopherol มีหมู่ methyl จำนวน 1 หมู่ จับที่ตำแหน่ง 8 ของวงแหวน chromanol
 โดย R_1, R_2, R_3 แทนหมู่ methyl ที่เกาะตำแหน่งที่ 5 7 และ 8 ของวงแหวน chromanol

รูปที่ 3 โครงสร้างของโทโคเฟอรอล

6.2.2 โทโคไตรอินอล (tocotrienols)

โทโคไตรอินอล (tocotrienols) เป็นวิตามินอีชนิดหนึ่งที่พบในธรรมชาติมี 4 รูปแบบ ประกอบด้วย α -tocotrienol (แอลฟา-โทโคไตรอินอล) β -tocotrienol (เบต้า-โทโคไตรอินอล) γ -tocotrienol (แกมมา-โทโคไตรอินอล) และ δ -tocotrienol (เดลต้า-โทโคไตรอินอล) (Chun et. al., 2003)

โครงสร้างของโทโคไตรอินอลจะคล้ายกับโทโคเฟอรอล ก็จะประกอบด้วยวงแหวน chromanol และโครงสร้างของโซ่ในตำแหน่งที่ 2 ที่เหมือนกันแต่จะต่างกันในส่วนของโซ่ (side chain) โดยโทโคเฟอรอลที่ต่ออยู่กับวง chromanol จะมีโซ่ที่มีความอึดตัว เรียกว่า phytyl side chain (รูปที่ 4) ในขณะที่โทโคไตรอินอล จะมีโซ่ที่ไม่อึดตัวเรียกว่า isoprenoid side chain ยึดเหนี่ยวกันด้วยพันธะคู่ที่ตำแหน่ง 3 7 และ 11 (Yoshida et. al., 2003) ซึ่งโครงสร้างในส่วน of side chain ที่แตกต่างกันนี้ทำให้โทโคไตรอินอลมีความเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าหรือสามารถให้ไฮโดรเจนในหมู่ไฮดรอกซิลได้ดีกว่าโทโคเฟอรอล (Chen et. al., 2005) โครงสร้างของโทโคไตรอินอล ยังแบ่งได้ 4 รูปแบบ ตามจำนวนและตำแหน่งการแทนที่ของ methyl group ในวงแหวน chromanol ที่อยู่ในโมเลกุล เช่นเดียวกับโทโคเฟอรอล



รูปที่ 4 โครงสร้างของโทโคไตรอีนอล

วิตามินอีมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง (Imsanguan et. al., 2007) หลอดเลือดแดงและหลอดเลือดเลี้ยงหัวใจตีบตัน (coronary heart disease) (Gimeno et. al., 2001) ลดการสังเคราะห์โคเลสเตอรอล ลดระดับ โคเลสเตอรอลในซีรัมใน สัตว์ทดลองและยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์ที่ทำให้เกิดเนื้องอก (Chen et. al., 2005) จาก การศึกษาโทโคไตรอีนอลจากน้ำมันรำข้าวต่อการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต่อภาวะไขมันใน เลือดสูง พบว่าการให้ TRF 8 mg TRF /kg/day ช่วยลดระดับของ triglycerides, cholesterol, LDL cholesterol ได้ 42 %, 48 % และ 60 % และใน TBARS สามารถลด lipid peroxides ได้ 60 % ส่วน conjugatedeines ลด lipid perออกซิเดชัน ได้ 39-62 % และ LDL ออกซิเดชัน ได้ 58 % ตามลำดับ (Minhajuddin et. al., 2005) มีรายงานว่า δ -โทโคเฟอรอล สามารถยับยั้งการแพร่กระจายของ เซลล์มะเร็งลำไส้ได้มากกว่า α - โทโคเฟอรอล โดยจะไปช่วยลดระดับของ cyclin D1 และ cyclin E ซึ่งสามารถช่วยลดการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งและวงจรเซลล์ได้ (Campbell et. al., 2003) จากการศึกษาผลของโทโคไตรอีนอลต่อการยับยั้งเนื้องอกในสัตว์ทดลองและหลอดทดลองพบว่า การให้ 0.05 % tocotrienols- mixture ให้ผลในการยับยั้งสารก่อมะเร็งของทั้งสองการทดลองอย่างมี นัยสำคัญ เนื่องจากวิตามินอีมีบทบาทในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระ มีคุณสมบัติในการป้องกัน แสงยูวี ที่เป็นอันตรายต่อผิวหนัง (Mavon et. al., 2004) จึงมีการนำไปผลิตเป็นเครื่องสำอาง โดย จะช่วยยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาเปอร์ออกซิเดชันของลิปิดได้ (Rohrer and Siebenmorgen 2004) และมี การนำไปผลิตเป็นอาหารเพื่อสุขภาพต่างๆ มากมาย

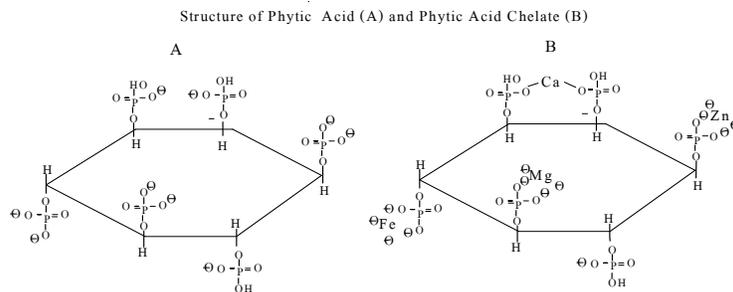
Qureshi et. al. (2002) ได้ศึกษาผลของโทโคไตรอีนอล (TRF₂₅) จากรำข้าวต่อ serum cholesterol ในคนที่มีความโคเลสเตอรอลในเลือดสูง พบว่าโทโคไตรอีนอล (100 มิลลิกรัม/วัน) สามารถลดระดับ serum total cholesterol, LDL-cholesterol, apo B และ triglycerides ได้มากที่สุด คือ 20 %, 25 %, 14 % และ 12 % HDL- cholesterol เพิ่มขึ้น 19 % Apo A1 เพิ่ม 14 % ตามลำดับ

Minhajuddin et. al. (2005) ได้ทำการศึกษาคูณสมบัติของโทโคไตรอีนอลจากน้ำมันรำ ข้าวต่อการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและต่อภาวะไขมันในเลือดสูง โดยทดลองในหนูที่มีภาวะ ไขมันในเลือดสูง พบว่าการให้ TRF 8 mg TRF /kg/day ช่วยลดระดับของ triglycerides, cholesterol ได้ 42 % และ 48 % ตามลำดับ LDL cholesterol ลดลง 60 % กิจกรรมของเอนไซม์

HMG Co-A reductase เพิ่มขึ้นจาก 1.97-5.74 nmol mevalonate/min/mg หลังจากหนึ่งสัปดาห์ที่ทำให้ atherosenic diet ในขณะที่เดียวกันจะลดลงเรื่อยๆ เมื่อได้รับ TRF ที่ปริมาณต่างๆ TRF สามารถลด lipid peroxides ได้ 52-67 % (TRF ที่ 8mg TRF/kg/day ลด Lipid perออกซิเดชัน ได้ 60 %) ใน TBARS ส่วน conjugatedeines ลด lipid perออกซิเดชัน ได้ 39-62 % และ LDL ออกซิเดชัน ได้ 58 % ตามลำดับ

6.3 กรดไฟติก/ไฟเตท

กรดไฟติก หรือ ไฟเตท หรือ myo-inositol hexakis dihydrogen phosphate เป็นอนุพันธ์ของอินโนซิทอล (inositol) ซึ่งเป็นอินโนซิทอลฟอสเฟต (inositol phosphate) ที่ถูกค้นพบครั้งแรกในปี ค.ศ. 1914 (Grases et. al., 2002) มีโครงสร้างของโมเลกุลที่ประกอบด้วยกลุ่มของฟอสเฟต (phosphate group) ซึ่งเกิดจากการยึดกันระหว่างอ็อกซิเจนของฟอสฟอรัส 1 อะตอม กับอ็อกซิเจนของออกซิเจน 4 อะตอม โดยมีออกซิเจน 1 อะตอม เป็นพันธะคู่กับฟอสฟอรัส และอ็อกซิเจนออกซิเจนที่อยู่ตรงข้ามจะจับกับอ็อกซิเจนของคาร์บอนซึ่งเป็นโมเลกุลของโครงสร้างวงแหวนอินโนซิทอล (inositol) ทำให้อ็อกซิเจนของออกซิเจนที่อยู่อีก 2 ด้าน จับกับฟอสฟอรัสเป็นพันธะเดี่ยว และอยู่ในสภาพที่จะรับอ็อกซิเจนจากธาตุอื่น (รูปที่ 5) กรดไฟติกมีฟอสฟอรัสคิดเป็น 28.2 % ของน้ำหนักโมเลกุล



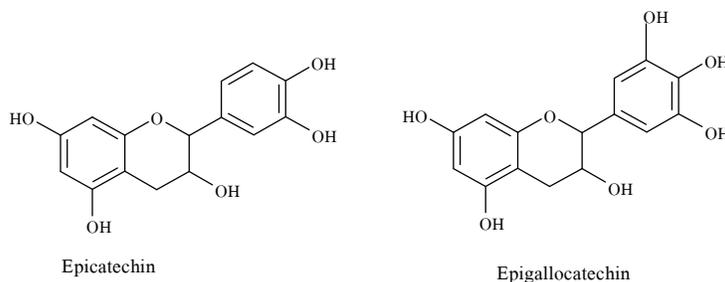
รูปที่ 5 โครงสร้างของกรดไฟติก

กรดไฟติกทำหน้าที่เป็นแหล่งสะสมของฟอสฟอรัสในเมล็ดพืช พืชตระกูลถั่วและเมล็ดพืชน้ำมัน โดยพบฟอสฟอรัสมากกว่า 70 % อยู่รูปของไฟติก (Garcia-Esteba et. al., 1999) กรดไฟติกพบปริมาณน้อยในพืชหัวใต้ดิน ในธัญพืชพบว่ามีความสูงถึง 1-2 % ของน้ำหนักเมล็ด และอาจสูงถึง 3-6 % ของน้ำหนักเมล็ด แหล่งของกรดไฟติกพบในจมูกข้าวโพด 90 % ในขณะที่ข้าวสาลีและข้าวจะกระจายอยู่ในส่วนของเพอริคาร์พและชั้นออลิวิโรน (Febles et. al., 2002) กรดไฟติกเป็นกรดอิสระ (free acid) ส่วนไฟเตท (phytate) เป็นรูปของเกลือไฟเตทจับอยู่กับกลุ่มแร่ธาตุที่มีประจุบวก เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม เหล็ก และสังกะสี (Centeno et. al., 2001) จึงมีผลต่อการ

นำไปใช้ประโยชน์ได้ของแร่ธาตุ ทำให้มนุษย์ไม่สามารถดูดซึมแร่ธาตุไปใช้ประโยชน์และมีลิมิตในการย่อยกรดไฟติก (Febles et. al., 2001) ซึ่งปัจจัยที่มีผลในการลดการดูดซึมแร่ธาตุไปใช้ ได้แก่ ไฟเตท องค์ประกอบเส้นใยอาหารและแทนนิน แต่อิทธิพลส่วนใหญ่ที่มีผลกับแร่ธาตุคือไฟเตท แต่ในทางบวกกรดไฟติกถูกพิจารณาว่ามีบทบาทเป็นสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันโรคได้ เช่น โรคหลอดเลือดเลี้ยงหัวใจตีบตัน โรคมะเร็งลำไส้ เป็นต้น (Febles et. al., 2001)

6.4 สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิกจัดว่าเป็นสารประกอบกลุ่มใหญ่ที่เป็น secondary metabolites ของพืช ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชส่วนใหญ่จะเป็นสารอนุพันธ์ของกรดเบนโซอิกและซินนามิก ส่วนใหญ่จะพบอยู่ในชั้นผนังเซลล์ของพืช ส่วนสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่ที่พบในพืชหรือในธัญพืชนั้นจะเป็นผลพลอยได้ที่ได้จากการไฮโดรไลซ์หรือเกิดจากการสลายเนื่องจากความร้อนของกรดเบนโซอิกและซินนามิก R_1, R_2, R_3, R_4 แทน หมู่ไฮดรอกซิล (OH) ที่เกาะตำแหน่งต่างๆ ของวงแหวน aromatic (รูปที่ 6)



รูปที่ 6 โครงสร้างสารประกอบฟีนอลิก

สารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่ใช้ในการเจริญเติบโตของพืชและช่วยป้องกันเชื้อโรคในการที่จะไปทำลายเซลล์ต่างๆ ของพืชได้ โดยจะทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต่อต้านเชื้อโรค และเป็นสารที่สำคัญเพราะว่ามีส่วนช่วยทำให้คุณภาพในด้านประสาทสัมผัสของผลไม้และธัญพืชดีขึ้น เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าว ข้าวโพด และข้าวฟ่างนั้น พบว่าข้าวฟ่างมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด ปริมาณรองลงมาคือข้าวโพด ส่วนในข้าวมีปริมาณน้อยที่สุด ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่พบในธัญพืชทั้ง 3 ชนิดนั้น ส่วนใหญ่จะพบกรดเฟอรูลิกและสารที่พบส่วนใหญ่อยู่ในรูป bound-form มากกว่ารูป free-form เมื่อได้รับสารประกอบฟีนอลิกเข้าไปในร่างกายจะช่วยทำหน้าที่ในการเป็นตัวบับักรักษาโรค คือเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในคนและป้องกันหลอดเลือดแดงตีบตันและช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคต่างๆ (Yu et. al., 2005) นอกจากนี้ยังได้มีการศึกษาการป้องกันปฏิกิริยา LDL ออกซิเดชัน ของสาร p-coumaric (CA)

ในหนู พบว่าสาร p-coumaric (CA) ซึ่งเป็นสารฟีนอลิกตัวหนึ่งสามารถลด LDL -cholesterol ในซีรัมของหนูได้ (Zang et. al., 2000)

ผลของรำข้าวต่อสุขภาพ

1. ผลต่อไขมันและโคเลสเตอรอล

Anna et. al. (2005) ได้ศึกษาผลของน้ำมันรำข้าวต่อภาวะโคเลสเตอรอลในเลือดสูงโดยทำการศึกษาการสังเคราะห์โคเลสเตอรอลและภาวะเส้นหลอดเลือดแดงแข็งของหนูสามสัปดาห์ที่มีภาวะโคเลสเตอรอลสูง ทดสอบเป็นเวลา 8 สัปดาห์ โดยให้หนูกินอาหารที่มีส่วนผสมของโคเลสเตอรอล 0.03 % และเติมน้ำมันรำข้าว 5 % พบว่าสามารถลดระดับโคเลสเตอรอลทั้งหมด (total cholesterol) และ low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) ได้ โดยลดการดูดซึมโคเลสเตอรอลได้ถึง 15-17 %

Qureshi et. al. (2002) ได้ศึกษาผลของ sterbilized rice bran (SRB), rice bran solubles (RBWS) และ rice bran fiber concentrate (RBFC) ต่อระดับน้ำตาลในเลือดและลิพิดในซีรัมในคนที่ เป็นโรคเบาหวานแบบที่ I และ II โดยใช้เอนไซม์ dextranase หรือ α -amylase หรือ maltose เพื่อเปลี่ยนแปลงใน SRB, RBWS และ RBFC ไปเป็น dextrin แล้วนำไปทดสอบผู้ป่วยที่เป็นเบาหวานที่ ขึ้นอยู่กับอินซูลิน (แบบที่ I) และไม่ขึ้นอยู่กับอินซูลิน (แบบที่ II) พบว่าในผู้ป่วยเบาหวานแบบที่ I ระดับ glycosylated hemoglobin ลดลง 1 %, 11 % และ 10 % ระดับน้ำตาลในเลือดลดลงเท่ากับ 9 %, 29 % และ 19 % ตามลำดับ สำหรับแบบที่ II พบว่า RBWS และ RBFC ระดับ glycosylated hemoglobin ลดลง 1% และ 11% ระดับน้ำตาลในเลือดลดลง 33 % และ 22 % ตามลำดับ ส่วนระดับอินซูลินในซีรัมเพิ่มขึ้น 4 % ในผู้ป่วยเบาหวานทั้งสองแบบ แสดงว่า rice bran solubles (RBWS), rice bran solubles (RBWS) สามารถลดระดับ glycosylated hemoglobin และควบคุมน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานได้

Ha et. al. (2005) ได้ศึกษาสารออกฤทธิ์ชีวภาพในน้ำมันรำข้าวต่อระดับลิพิดในหนูที่ได้รับอาหารที่มีโคเลสเตอรอลสูง พบว่าหนูที่ได้รับอาหารที่มีโคเลสเตอรอลสูงจะมีระดับของโคเลสเตอรอลในตับและมีไตรกลีเซอไรด์สูงกว่าที่ได้รับอาหารแบบธรรมดา ปฏิกริยา thiobabituric-acid ในเซลล์ตับสูงขึ้นเมื่อได้รับอาหารที่มีโคเลสเตอรอล ซึ่งการให้อาหารผสมกับองค์ประกอบกับสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากน้ำมันรำข้าวพบว่าสามารถช่วยลดระดับ โคเลสเตอรอลและลดระดับของไตรกลีเซอไรด์ได้ นอกจากนี้ยังช่วยให้ระดับโคเลสเตอรอลชนิด HDL (high density lipoprotein) มีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นด้วย ดังนั้นน้ำมันสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในน้ำมันรำข้าวจึงมีผลช่วยในการป้องกันภาวะโคเลสเตอรอลสูงในหนูได้

2. ผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด

โทโคไตรอินอล เป็นสารสำคัญอีกตัวหนึ่งในรำข้าวที่ได้รับความสนใจในการศึกษาเกี่ยวกับผลต่อระดับน้ำตาลในเลือด โดยในปี พ.ศ. 2542 ในสหรัฐอเมริกา มีสิทธิบัตรคุ้มครองความคิดเกี่ยวกับการใช้รำข้าวเป็นอาหารเป็นอาหารเลี้ยงไก่พบว่าสามารถลดระดับน้ำตาลในเลือดของไก่ได้ 18 % ซึ่งต่อมาเมื่อนำมาทดลองในคนก็พบว่าได้ผลดีโดยเชื่อว่าเป็นผลร่วมจากสารต่างๆ ที่พบในรำข้าว ได้แก่ วิตามินอีชนิดโทโคไตรอินอล โอโรซานอล โพลีฟีนอล ที่เป็นกรดชนิดต่างๆ (ferulic acids, α - lipoic acid, σ - sinapic acid) โดยมีผลต่อการดูดซึมและการใช้น้ำตาลในไขมัน ขึ้นทะเบียนการค้าในชื่อ Ricetrienol ระบุประกอบด้วยแอลฟาโทโคเฟอรอล โทโคไตรอินอลและไฟโตสเตอรอล ซึ่งผ่านการทดลองภาวะเครียดออกซิเดชันในหนูที่เป็นเบาหวาน

3. ผลต่อผิวหนัง

ปัจจุบันมีการผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในต่างประเทศจำนวนมากที่เลือกใช้น้ำมันรำข้าวเป็นส่วนประกอบเนื่องจากคุณค่าที่ผสมผสานทั้งจากส่วนประกอบที่มีสาระสำคัญหลายตัวซึ่งมีประโยชน์ต่อการบำรุงผิว เกมม่าออโรซานอลมีคุณสมบัติในการดูดแสง ซึ่งเป็นกลไกการต้านออกซิเดชันที่สำคัญของสารเหล่านี้ จึงทำให้มีการใช้สารเหล่านี้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางป้องกันแสงแดดชนิดต่างๆ ด้วย ในประเทศญี่ปุ่นและสหรัฐอเมริกามีการใช้สารเหล่านี้ผสมลงในสิ่งทอป้องกันแสง UV ด้วย

4. ผลต่อระบบทางเดินอาหาร

การบริโภคอาหารที่มีกากใยละลายน้ำได้มีส่วนช่วยลดการดูดซึมไขมันทำให้สามารถลดระดับโคเลสเตอรอลในร่างกายได้ รำข้าวมีปริมาณกากใยไม่เกิน 15 กรัมต่อ 100 กรัม ซึ่งถ้าเปรียบเทียบกับพืชอื่นพบว่ามีกากใยต่ำกว่า แต่มีไขมันที่มีสารต้านออกซิเดชันละลายอยู่หลายชนิด คุณค่าที่ผสมผสานกันเหล่านี้ ประกอบกับรำข้าวมีความหนืดในทางเดินอาหารพอเหมาะในลำไส้ ทำให้ไขมันถูกเปลี่ยนเป็นกรดไขมันชนิดสายสั้น ซึ่งลดการดูดซึมโคเลสเตอรอล นอกจากนี้ยังได้มีการพิสูจน์ว่าแบคทีเรียที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพในทางเดินอาหารกลุ่มแลคโตบาซิลัส สามารถเจริญเติบโตในภาวะดังกล่าวได้ดีกว่าจุลชีพที่มีโทษต่อสุขภาพ (บังอร ศรีพานิชกุลชัย และคณะ. 2548)

การใช้ประโยชน์จากรำข้าว

1. ใช้เป็นวัตถุดิบในการสกัดน้ำมันรำข้าวเพื่อใช้ในการบริโภค เนื่องจากประกอบด้วยกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty acid)
2. ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น เนยเทียม สบู่ และกลีเซอรินหรือใช้แยกเอาจี๊ฟี่เป็นต้น
3. ใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงกว่าข้าวสาร หรืออุดมไปด้วยโปรตีน ใยอาหาร วิตามิน และเกลือแร่

4. ใช้ในการผลิตวิตามินและเกลือแร่รวม (vitamin and mineral mixture) ใช้ในการผลิตวิตามินบีโดยสามารถผลิตได้จากรำสดและกากรำที่เหลือจากการสกัดน้ำมันรำข้าว ซึ่งกากที่เหลือจากการสกัดวิตามินสามารถนำไปใช้ในการผลิตอาหารสัตว์ได้อีกครั้ง เนื่องจากยังคงมีปริมาณวิตามินเหลืออยู่อีกประมาณ 1 ใน 3 ส่วน ของวิตามินทั้งหมด อีกทั้งยังมีปริมาณแร่ธาตุและสารอาหารต่าง ๆ เหลืออยู่ในปริมาณใกล้เคียงกับเดิมก่อนการสกัดวิตามิน

5. ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น ผลิตภัณฑ์เบเกอรี่จำพวก โดนัท แพนเค้ก ขนมปังมัฟฟิน วอฟเฟิล และคุกกี้ เพื่อช่วยเพิ่มลักษณะปรากฏกลิ่นรส เพิ่มปริมาณและปรับปรุงคุณภาพ อีกทั้งยังเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในส่วนของกรดอะมิโน วิตามิน เกลือแร่และใยอาหาร โดยสามารถใช้เป็นแหล่งใยอาหารเสริมในผลิตภัณฑ์ต่างๆ เช่น อาหารเข้าจากธัญพืชและใช้เป็นสารอิมัลชัน (emulsifier) ในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ เช่น ไส้กรอก

6. ใช้ในการผลิตโปรตีนรำข้าวเข้มข้น โดยสามารถเอาไปเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์ขนมอบ เครื่องดื่ม ฟิล์มที่รับประทานได้ (edible film) อาหารเสริมสำหรับเด็กและทารก (weaning food) ได้ เนื่องจากเป็นโปรตีนที่ไม่ก่อให้เกิดอาการแพ้

สารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาฟองสบู่ (unsaponifiable matters; USM)

สารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาฟองสบู่พบในน้ำมันพืชทั่วไปแต่จะพบในน้ำมันรำข้าวมากกว่าในน้ำมันพืชชนิดอื่นๆ เป็นส่วนที่ไม่เกิดปฏิกิริยาฟองสบู่เมื่อทำปฏิกิริยากับด่าง มีคุณค่าทางอาหารและออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้ประโยชน์ต่อร่างกาย ประกอบด้วยองค์ประกอบที่สำคัญคือ แกมมาออไรซานอล(γ -oryzanols), ฟิโตสเตอรอล(phytosterols)และวิตามินอีที่อยู่ในรูปของ โทโคฟีรอล (tocopherols)และ โทโคไตรอีนอล(tocotrienols)

ในน้ำมันรำข้าวดิบจะมีปริมาณของสารที่ไม่เกิดปฏิกิริยาฟองสบู่ประมาณ 4-5%และเมื่อผ่านกระบวนการแปรรูปและกลั่นกรองจะเหลืออยู่ 1.5-2.6% แต่ในน้ำมันพืชทั่วไปที่ผ่านกระบวนการแปรรูปและกลั่นกรองจะเหลืออยู่เพียง 0.3-0.9%เท่านั้น สารกลุ่มนี้มีประโยชน์ในเชิงสุขภาพอย่างมาก ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจ การลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด การลดระดับน้ำตาลในเลือดและการเป็นสาร antioxidant ป้องกันสารอนุมูลอิสระที่เป็นสาเหตุในการเกิดโรคมะเร็ง

การใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมอาหาร

เอนไซม์เป็นกลุ่มโปรตีนที่มีหน้าที่พิเศษแตกต่างจากโปรตีนอื่นๆ คือ มีความสามารถเร่งปฏิกิริยาในสิ่งมีชีวิตได้อย่างมีประสิทธิภาพสูงกว่าตัวเร่งสังเคราะห์เป็นหลายล้านเท่าเมื่อใช้เอนไซม์ปริมาณเพียงเล็กน้อยในระดับ ไมโครโมลาร์เท่านั้น ซึ่งแม้ในสภาพหลอดทดลอง (in vivo) เอนไซม์ก็สามารถทำงานได้ นอกจากนี้เอนไซม์สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ภายใต้สภาวะไม่รุนแรง

เหมาะสมอย่างยิ่งกับภายในเซลล์และเนื้อเยื่อของ สิ่งมีชีวิตทั่วไป เอนไซม์มีความจำเพาะต่อซับสเตรทสูงมากและสามารถเร่งปฏิกิริยาโดยไม่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อื่น ตลอดทั้งเอนไซม์ยังเพิ่มอัตราเร็วของปฏิกิริยาโดยการลดพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยา ทำให้ปฏิกิริยาดำเนินไปได้อย่างเร็วขึ้น

การทำงานของเอนไซม์ (enzyme activity)

เอนไซม์มีลักษณะเด่น 2 ประการ คือ ความจำเพาะต่อตัวซับสเตรทสูงและมีประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาให้เร็วขึ้นเป็น $10^8 - 10^{20}$ เท่าของปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์เร่ง สามารถอธิบายประสิทธิภาพและความจำเพาะของเอนไซม์ได้โดยใช้กฎเกณฑ์ทางเคมีทั่วไปดังนี้

1 ความจำเพาะของตัวเอนไซม์กับซับสเตรท จากการที่ซับสเตรทสามารถเร่งเข้าจับกับบริเวณเร่งของเอนไซม์ได้พอดี การจับกันของซับสเตรทกับเอนไซม์ไม่ได้อาศัยการเข้ากันได้รูปร่างอย่างเดียว แต่ต้องเข้ากันได้ทั้งคุณสมบัติทางเคมีด้วย

2 เอนไซม์มีประสิทธิภาพสูงในการเร่ง ด้วยสาเหตุต่าง ๆ ดังนี้

2.1 ความใกล้ชิด (proximity) เมื่อซับสเตรทจับที่บริเวณเร่งของเอนไซม์ ทำให้กลุ่มต่างๆ ของซับสเตรทและเอนไซม์มาอยู่ใกล้ชิดกันและหันในทิศทางที่ถูกต้องเพื่อให้เกิดปฏิกิริยา

2.2 การเร่งที่ทำให้เกิดพันธะโควาเลนต์ (covalent catalysis) พบในเอนไซม์บางตัว เช่น ไคโมทริปซิน เร่งปฏิกิริยาในลักษณะที่มีโควาเลนต์เกิดขึ้นระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรทซึ่งไม่อยู่ตัว และถูกสลายให้ผลผลิตสุดท้ายได้ง่าย

2.3 การเร่งแบบกรดหรือแบบเบสทั่วไป (acid-base catalysis) พบในเอนไซม์บางตัว คือ กรดอะมิโนที่บริเวณเร่งทำหน้าที่ให้หรือรับโปรตอน เช่น ไลโซไซม์ (lysozyme) เป็นเอนไซม์ที่ย่อยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic) ระหว่าง N-acetyl-glucosamine กับ N-acetylmuramic acid ของผนังแบคทีเรีย มีกรดกลูตามิกบริเวณเร่ง ทำหน้าที่เป็นกรดทั่วไปให้ไฮโดรเจนไอออนแก่ออกซิเจนของพันธะไกลโคซิดิก

2.4 สภาพแวดล้อม (environment) ของบริเวณเร่งมักจะมีลักษณะไม่โพลาร์ จึงทำให้แรงดึงดูดบางชนิด เช่น ปฏิกิริยาไอออนิกมีความแข็งแรงมากขึ้นและเพิ่มความสามารถของหมู่ต่างๆ ในการทำปฏิกิริยา

2.5 ความตึงเครียด เอนไซม์บางตัวอาจบิดเบนโมเลกุลของซับสเตรทให้อยู่ในสภาพที่ตึงเครียด สามารถแตกตัวต่อไปได้ เช่น เมื่อซับสเตรทที่เป็นโพลีแซคคาไรด์ของน้ำตาลตัวหนึ่งจะถูกบิดเบนให้เครียดพร้อมที่จะทำปฏิกิริยาต่อ

2.6 การชักนำให้เหมาะสม (Induced fit) เอนไซม์บางตัว เช่น carboxypeptidase A ซับสเตรทจับกับเอนไซม์ทำให้โครงรูปของเอนไซม์เปลี่ยนแปลงไปเป็นการชักนำให้หมู่ต่างๆ ในบริเวณเร่งเอนไซม์เคลื่อนเข้าสู่ตำแหน่งที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยา

3 เอนไซม์บางตัวต้องใช้โคแฟกเตอร์ (cofactor) ในการทำงานของเอนไซม์บางชนิด ต้องมีสารอื่นนอกเหนือไปจากสับสเตรท สารเหล่านี้เป็นสาร โมเลกุลขนาดเล็ก เรียกว่าโคแฟกเตอร์ของเอนไซม์ โคแฟกเตอร์บางตัวอาจจับแน่นมากกับเอนไซม์ เช่น จับด้วยพันธะโควาเลนต์ เรียกว่า prosthetic group ของเอนไซม์ ถ้าแยกโคแฟกเตอร์ออกจะทำให้เอนไซม์ขาดความสามารถในการทำงาน

3.1 ไอออนของโลหะ ยึดซับสเตรทหรือโครงสร้างของเอนไซม์ หรือมีส่วนเกี่ยวข้องกับการเร่งปฏิกิริยาโดยตรงก็ได้ ไอออนเหล่านี้จะไม่ถูกเปลี่ยนแปลงในปฏิกิริยา

3.2 โคเอนไซม์ (co-enzyme) โคเอนไซม์เป็นโมเลกุลอินทรีย์ โดยมากได้จากวิตามินละลายน้ำได้ โคเอนไซม์ทำหน้าที่ในปฏิกิริยาที่มีการโยกย้ายของหมู่เคมี อะตอมหรืออิเล็กตรอน โดยการทำปฏิกิริยากับซับสเตรทเอง ดังนั้นโครงสร้างของโคเอนไซม์อาจเปลี่ยนแปลงได้ระหว่างการเกิดปฏิกิริยา จึงมีลักษณะคล้ายกับซับสเตรทอีกชนิดหนึ่ง แต่โคเอนไซม์มักจะทำปฏิกิริยาต่อไปแล้วเปลี่ยนกลับสู่สภาพเดิมได้

การใช้เอนไซม์ในด้านอุตสาหกรรม

แนวทางการใช้เอนไซม์ในทางอุตสาหกรรมได้มีวิวัฒนาการเรื่อยมาจนถึงปัจจุบัน ทั้งนี้ในลักษณะการใช้งานจะเป็นไปตามลักษณะของเอนไซม์นั้นๆ โดยมีวัตถุประสงค์ต่าง ๆ กัน เพื่อการผลิตสารใหม่ เพื่อปรับปรุงคุณภาพผลิตภัณฑ์ เป็นต้น แนวทางการประยุกต์ใช้เอนไซม์

Parrado et. al. (2006) ได้ทำการศึกษาผลของรำข้าวสาคัดโดยใช้เอนไซม์ต่อการเป็นอาหารสุภาพ พบว่าองค์ประกอบหลักของรำข้าวสาคัดโดยใช้เอนไซม์ ประกอบด้วยโปรตีน 38.1% ซึ่งอยู่ในรูปของเปปไทด์และกรดอะมิโนอิสระ ส่วนอีก 6 % เป็น sulfur amino acid องค์ประกอบไขมันมีปริมาณ 30 % ซึ่งองค์ประกอบส่วนใหญ่เป็นกรดโอเลอิกและลิโนเลอิก ส่วนแกมมาออริซานอลมีปริมาณ 1.2 มิลลิกรัม / กรัม และประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต 14.2 % นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถช่วยป้องกันการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งเม็ดเลือดขาวได้ ดังนั้นรำข้าวสาคัดโดยใช้เอนไซม์ จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ในการเป็นอาหารเพื่อสุขภาพเนื่องจากสามารถช่วยป้องกันและรักษาอาการป่วยแบบเรื้อรัง เนื่องจากการแบ่งเซลล์ที่ผิดปกติซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคมะเร็งได้

การผลิตข้าวออก

มีขั้นตอนสำคัญดังนี้

1. การแช่ข้าว (steeping)

มีจุดประสงค์เพื่อให้เกิดการดูดน้ำเข้าสู่เมล็ดและเกิดการกระจายตัวเข้าไปในส่วนต่างๆ อย่างสม่ำเสมอเพื่อเป็นการกระตุ้นให้เกิดการงอกของเมล็ดและการเปลี่ยนแปลงที่เหมาะสมขององค์ประกอบทางเคมีในเนื้อเมล็ด โดยมีปัจจัยที่ต้องควบคุมคือ อุณหภูมิและการให้อากาศ ในระยะแรกของการแช่ข้าว กัปกะและเยื่อหุ้มเมล็ด (aleurone layer) ต้องการออกซิเจนเพื่อใช้ในกระบวนการเปลี่ยนแปลงภายในเพื่อกระตุ้นการงอกของเมล็ด ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่อยู่ภายในน้ำลดลงอย่างรวดเร็วและมีการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์และเอทานอลออกมา อาจเพิ่มอากาศลงไปใต้น้ำโดยตรงหรือใช้วิธีการเทน้ำออกแล้วนำข้าวไปสัมผัสกับอากาศ (air rest) สลับการแช่น้ำเป็นช่วงระยะเวลาก็ได้ ในขณะที่ผิวสัมผัสด้านนอกมีลักษณะแห้ง ลักษณะนี้ช่วยในการแพร่ของอากาศที่อยู่ในรูปอิสระเข้าไปอยู่ในรูปอากาศที่ละลายน้ำภายในเมล็ด ทำให้เมล็ดสามารถนำออกซิเจนในรูปที่ละลายน้ำนั้นไปใช้ในขบวนการงอกต่อไป

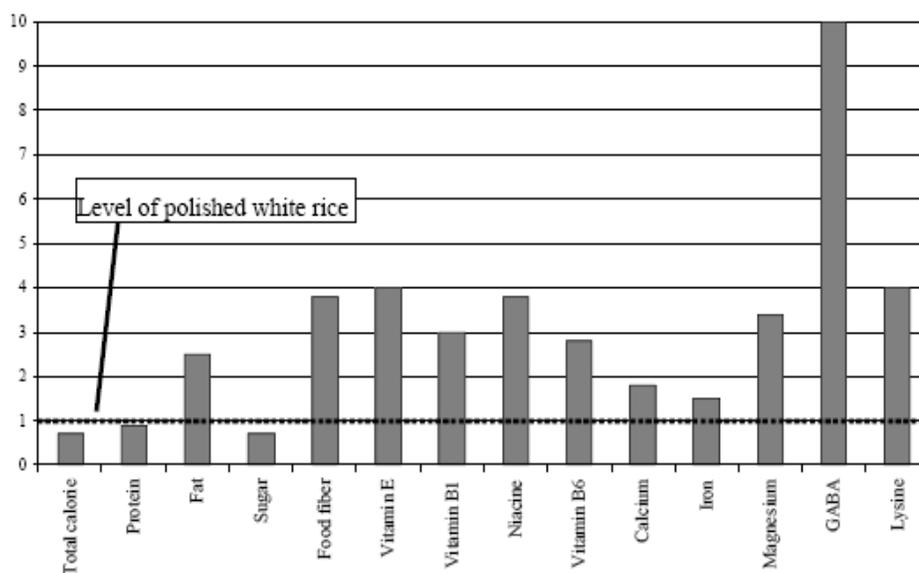
2. การงอก (germination)

มีจุดประสงค์เพื่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสารอาหารที่สะสมไว้ภายในส่วนเนื้อเมล็ดให้อยู่ในรูปโครงสร้างที่ย่อยสลายได้ง่ายโดยการทำงานของเอนไซม์ ในขั้นตอนการงอกเมล็ดจึงมีการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายในปริมาณที่สูง โดยทั่วไปในเมล็ดข้าวมีเอนไซม์เบตาอะไมเลส (β -amylase) สะสมอยู่แล้ว เอนไซม์ชนิดนี้ถูกสร้างขึ้นมาพร้อมกับการพัฒนาของเมล็ดจนกลายเป็นเมล็ดที่สมบูรณ์ ดังนั้นในขั้นตอนการงอกของเมล็ดจึงเป็นการผลิตเอนไซม์เบตาอะไมเลสเป็นหลัก การสร้างเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเกิดขึ้นในส่วนกัปกะ โดยการกระตุ้นของฮอร์โมนจิบเบอเรลลินที่ถูกสร้างในขณะที่เกิดการงอก นอกจากเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกรดจิบเบอเรลลินยังเป็นตัวกระตุ้นให้เยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดผลิตเอนไซม์ชนิดอื่นๆ เช่น limitdextrinase, β -glucanase, α -glucosidase, pentosanase, cellobiase, laminaribiase และ xylanase นอกจากนี้ยังช่วยกระตุ้นการหลั่งเอนไซม์อีกสามชนิดคือ β -1-3-glucanase, phytase และ phosphatase

หลังจากกัปกะและเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดมีการผลิตเอนไซม์ต่างๆ ขึ้นมาแล้ว เอนไซม์เหล่านี้จะถูกส่งเข้าไปทำการย่อยสลายสารอาหารต่างๆ ที่สะสมอยู่ในส่วนในเนื้อเมล็ด ปรากฏการณ์ที่เอนไซม์ต่างๆ กระจายตัวเข้าสู่ในเนื้อเมล็ด เกิดการย่อยสลายสตาร์ชและโปรตีนที่สะสมอยู่ในเนื้อเมล็ด เรียกว่า modification ผลผลิตที่เกิดจากปฏิกิริยาการย่อยสลายสตาร์ชประกอบด้วยน้ำตาลรีดิซชนิดต่างๆ เช่น กลูโคส มอลโตส มอลโตไตร ออสและฟรุคโตส เป็นต้น สิ่งที่ยังบอกว่าการงอกของเมล็ดคือการเกิดจุกขาวที่เรียกว่า white chit เป็นส่วนของรากเทียม (root sheat) งอกออกมาจากส่วน coleorhiza ทางทะลุส่วน pericarp และ testa ออกมาจากนั้นจึงเกิดการสร้างรากแท้ (acrospire) ตามออกมา การงอกที่สมบูรณ์จะใช้ระยะเวลาประมาณ 60-72 ชั่วโมง

การเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของข้าวหลังจากการงอก

ในระหว่างกระบวนการงอกของข้าวนั้น จะมีการเปลี่ยนแปลงสารอาหารและองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิดในเมล็ดข้าว องค์ประกอบส่วนใหญ่ภายในเมล็ดข้าวจะมีปริมาณเพิ่มขึ้น เช่น γ -aminobutyric acid (GABA), dietary fiber, inositols, ferulic acid, phytic acid, tocotrienols, magnesium, zinc, γ -oryzanol, and prolylendopeptidase inhibitor (Kayahara and Tukahara. 2000.) Kayahara และ Tukahara ซึ่งให้เห็นว่าสารอาหารที่มีอยู่ในข้าวงอกที่มีความสัมพันธ์กับระดับการสีของข้าว โดย GABA มีปริมาณเพิ่มขึ้นถึง 10 เท่า dietary fiber, vitamin E, niacine, lysine ปริมาณเพิ่มขึ้นเกือบ 4 เท่า และ vitamin B1, vitamin B6 และ magnesium มีปริมาณเพิ่มขึ้น 3 เท่า (รูปที่ 7)



รูปที่ 7 แสดงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีของข้าวงอก

ข้าวเหนียวดำ

ข้าวเหนียวดำ"ภาษาพื้นเมืองของทางเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า "ข้าวดำ" ตามลักษณะสีของเมล็ดที่มีสีแดงเข้ม หรือที่เรียกว่า แดงดำ ก็คือสีม่วง คุณค่าของข้าวดำนั้นมีมากทั้งในด้านนวัตกรรมเพาะปลูก การโภชนาการ และยารักษาโรค

หน่วยวิจัยข้าวดำมหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สามารถรวบรวมพันธุ์กรรมข้าวดำพื้นเมืองได้ 42 พันธุ์กรรม จากแหล่งปลูกข้าวทั่วไทย ทั้งในสภาพของข้าวนาดีและข้าวไร่ งานวิจัยทางด้านวิทยาศาสตร์และการแพทย์ปัจจุบัน ได้แสดงให้เห็นว่า องค์ประกอบหลายชนิดในข้าว มีคุณสมบัติ

เป็นสารต้านโรค โดยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวที่สำคัญ ได้แก่ γ -oryzanol, tocopherols, tocotrienols, phytosterols, anthocyanin กรดไฟติก dietary fiber (proteoglycan) และกรดอะมิโน เช่น gamma-aminobutyric acid, arginine และ glutamine เป็นต้น

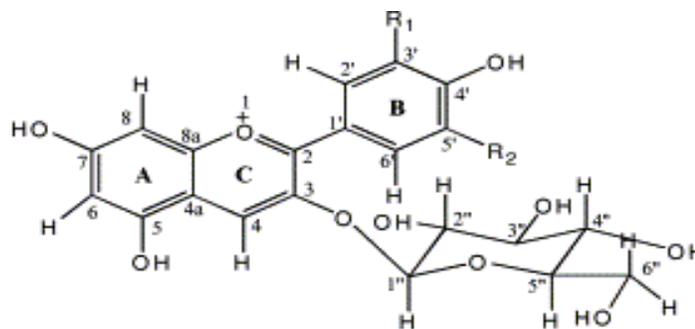
สารรงควัตถุในข้าวเหนียวดำ

ในเมล็ดข้าวมีสี ส่วนของรำข้าว (pericarp) ที่เห็นเป็นสีที่จริงแล้วเป็นการสะสมสารบงตัวที่ทำให้เกิดสีในข้าวกล้องมีสีหลักทั้งหมดสามสี คือ สีน้ำตาลอ่อน (สาร procyanidin), สีชมพูอ่อน (สาร peonidin), และสีม่วงเข้ม (สาร cyanidin) สีทั้งหมดของข้าวเป็นรงควัตถุ (pigments) ที่ได้จากระบวนการสังเคราะห์ ฟลาโวนอยด์ ในต้นข้าว ซึ่งแบ่งออกเป็นการสังเคราะห์สารกลุ่ม แอนโทไซยานิน ได้แก่ ไซยานินดิน และ พีโอนินดิน นอกจากนี้ยังมีการสังเคราะห์สารกลุ่ม proanthocyanidin ได้แก่ procyanidin

แอนโทไซยานิน เป็นสารประกอบในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ซึ่งเป็นสารอินทรีย์กลุ่มย่อยที่สำคัญของสารประกอบฟีนอล (phenols) แอนโทไซยานินเป็นเม็ดสี (pigment) ที่พบทั่วไปในผักผลไม้และธัญพืชหลายชนิด ให้สีหลายเฉดสี ได้แก่ สีฟ้า สีน้ำเงิน สีม่วง จนถึงสีแดงเข้ม โดยละลายอยู่ใน Vacuole sap ของพืช ปัจจุบันมีการค้นพบสารแอนโทไซยานินมากกว่า 250 ชนิด แต่มีเพียง 6 ชนิดที่พบได้ในอาหาร ปริมาณแอนโทไซยานิน ที่พบในพืชบางชนิด ดังตารางที่ 5

โครงสร้างของ แอนโทไซยานิน (Anthocyanins)

แอนโทไซยานินมีโครงสร้างของโซ่คาร์บอนเป็น $C_6C_3C_6$ จึงจัดให้อยู่ในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ ดังแสดงในรูปที่ 8 ซึ่งสารแต่ละชนิดจะมีสีที่แตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับหมู่ที่มาแทนที่ของวงแหวน A และ B น้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในโมเลกุลของแอนโทไซยานิน จะมี 1, 2 หรือ 3 โมเลกุลก็ได้ น้ำตาลส่วนใหญ่ที่พบได้แก่ กลูโคส กาแลคโตส อะราบิโนสไซโลส ซึ่งน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวเหล่านี้อาจเกาะกันได้ในลักษณะเป็นได้ทั้งใด และไตรแซคคาร์ไรด์ของน้ำตาลชนิดเดียวกัน (homogeneous) หรือน้ำตาลต่างชนิดกัน (heterogeneous)



Compound		R1	R2
Malvidine 3-glucoside	MAL	-OMe	-OMe
Cyanidine 3-glucoside	CYA	-OH	-H
Delphinidine 3-glucoside	DEL	-OH	-OH
Peonidine 3-glucoside	PEO	-H	-OMe
Petunidine 3-glucoside	PET	-OH	-OMe

รูปที่ 8 แสดงโครงสร้างแอนโทไซยานิน

ตารางที่ 5 แอนโทไซยานินในธัญพืชบางชนิด (Awika & Rooney, 2004)

commodity	Content (mg/g, fresh wt)	Major anthocyanin	Reference
Black sorghum bran	4.0-9.8	Apigeninidin ,Luteolinidin	Awika, 2003.
Brown sorghum bran	1.6-3.9	Apigeninidin ,Luteolinidin	Awika, 2003.
Red sorghum bran	3.3	Apigeninidin	Awika, 2003.
Blue wheat bran	0.5	Cyanidin	Abdel-Aal and Hucl, 2003.
Purple wheat bran	0.2	Cyanidin	Abdel-Aal and Hucl, 2003.
Black rice grain	0-4.9	Cyanidin ,Peonidin	Ryu et al, 1998.
Purple corn	1.6	Cyanidin	Cevallos and Zevallos, 2003.

บทบาทและหน้าที่ของแอนโทไซยานิน

1. เป็นสารให้สีในอุตสาหกรรมอาหาร

แอนโทไซยานินถูกนำมาใช้เป็นสารให้สี (Colorant) ในอาหารมากกว่า 120 ปี แล้ว โดยเริ่มแรกนำมาใช้ในไวน์ น้ำผักและผลไม้ต่างๆ ในประเทศสหรัฐอเมริกา มีส่วนผสมให้สี 26 ชนิดที่

ได้รับอนุญาตให้ใช้ได้ ในอาหารโดยไม่จำเป็นต้องออกใบรับรองการใช้ โดยในจำนวนนี้จะมี ส่วนผสมที่ให้แอนโทไซยานิน 4 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากผิวองุ่น (Grape skin extract) สารสกัดสี องุ่น (Grape color extract) น้ำผลไม้ (fruit juice) และน้ำผัก (Vegetable juice) โดยใช้ในผลิตภัณฑ์ น้ำผักและผลไม้ รวมถึงผลิตภัณฑ์ผักและผลไม้แห้งด้วย กลุ่มในประเทศยุโรปจัดสารให้สีที่เป็น อนุพันธ์ของแอนโทไซยานินเป็นสารให้สีธรรมชาติ (natural colorant) โดยแต่ในละประเทศจะมี การพิจารณาว่าแอนโทไซยานินจากแหล่งใดผ่านกระบวนการอะไรจึงจะได้รับอนุญาตให้ใช้ ซึ่ง ข้อกำหนดของแต่ละประเทศจะแตกต่างกันออกไป ประเทศนอร์เวย์ซึ่งเป็นสมาชิกของ EU ไม่ อนุญาตให้ใช้สารให้สีสังเคราะห์ในอาหารเลย ส่วนกลุ่มในประเทศเอเชีย กลุ่มประเทศใน อเมริกากลาง และอเมริกาใต้นั้นจัดให้สีที่เป็นอนุพันธ์ของแอนโทไซยานินเป็นสารที่เหมาะสม ที่สุดในการใช้กับอาหาร (Wrolstand, 1997)

2. เป็นอาหารเพื่อสุขภาพ (Nutraceutical) หรือ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

ปัจจุบันนักวิจัยได้ให้ความสนใจที่คุณประโยชน์ของแอนโทไซยานินที่มีต่อร่างกาย โดยเฉพาะคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ แอนโทไซยานิน เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ ทำงานได้ดีกว่าวิตามินอีถึง 5 เท่า เมื่อร่างกายได้รับสารนี้เพียงพอ สารจะทำหน้าที่จับกับอนุมูล อิสระ ที่ไปรบกวนระบบการทำงานของเซลล์ในร่างกาย ทำให้ร่างกายแข็งแรง สุขภาพดี

บทบาทการ เป็นอาหารสุขภาพของแอนโทไซยานิน ต่อระบบต่างๆของร่างกาย

ระบบเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissue) เมื่อเกิดการอักเสบของหลอดเลือดทำให้ capillaries และ blood-vessel wall เสียหาย สาร anthocyanin จะเข้าไปทำให้เอนไซม์ในเนื้อเยื่อเกี่ยวพันสามารถทำงาน ได้ดีขึ้น และเกิดการสะสมสารต้านอนุมูลอิสระ เพื่อป้องกันอนุมูลอิสระ ที่เกิดจากการที่ เนื้อเยื่อเกิดการอักเสบ และทำหน้าที่ซ่อมแซมโปรตีนที่ ให้ blood-vessel wall แข็งแรง

ระบบประสาท (nervous system) ในสมองซึ่งได้รับผลกระทบจากเกิดออกซิเดชัน ทำให้ ได้รับความเสียหาย การที่สาร peroxynitrite ทำปฏิกิริยา nitration กับกรดอะมิโน tyrosine ใน เอนไซม์ และ โปรตีน เชื่อว่าเป็นสาเหตุหลักของโรคเส้นประสาทในสมองเสื่อม ซึ่งกรดอะมิโน tyrosine ที่ถูก nitrated แล้วจะไปกีดขวาง nerve growth-factor receptor site สาร แอนโทไซยานิน สามารถป้องกันการเกิด tyrosine nitration ได้

เส้นเลือด (blood vessels) สาร แอนโทไซยานิน สามารถลดอนุมูล super oxide ที่เป็น สาเหตุหนึ่งของโรคความดันโลหิตสูง (atherosclerosis) โดยป้องกันการเกิด ออกซิเดชัน ของ low-density lipoprotein (LDL) และปกป้อง endothelial cell ของเส้นเลือด นอกจากนี้สาร แอนโทไซยานิน ยังช่วยผ่อนคลายเส้นเลือด และทำให้ micro capillary แข็งแรง

โรคเบาหวาน (diabetes) ความเสียหายของ micro vessel จากการที่ระดับน้ำตาลในเลือด สูงเป็นสาเหตุแทรกซ้อนของโรคเบาหวาน การที่โปรตีน collagen จับกับน้ำตาล เป็นผลทำให้เกิด

ความผิดปกติของ blood vessel collagen สาร แอนโธไซยานินสามารถลดความผิดปกติของ collagen ได้

สายตา (eyesight) สาร แอนโธไซยานิน ช่วยบำรุงสายตา

โรคมะเร็ง (cancer) ข้อมูลจากการวิจัย พบว่าสาร โธไซยานินดิน สามารถยับยั้ง epidermal growth factor receptor ในเซลล์มะเร็งในมนุษย์ได้

Ghiselli และคณะ (1981) พบว่า ในไวน์มีสารประกอบฟีนอลิกหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชัน และแอนโธไซยานินเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ให้ ประสิทธิภาพมากที่สุด เนื่องมาจากสาเหตุหลาย 2 ประการ คือ แอนโธไซยานินมีปริมาณมากในไวน์และประสิทธิภาพในการจับกับอนุมูลอิสระ รวมทั้งเป็นสารที่จับโลหะ (metal chelation) ที่ดี

Lapidot และคณะ (1999) ได้ทำการ ศึกษาคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของ แอนโธไซยานินในรูปแบบต่างๆ เมื่อ pH เปลี่ยนไป พบว่าแอนโธไซยานินในรูปแบบ quinodal-base ของ malvidin-3-glucoside มีผลอย่างมากในการยับยั้งการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของ linoleate ใน myoglobin ให้ผลในการยับยั้งได้ดีกว่า catechin ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ใช้กันมากในของ ส่วนการเกิดเปอร์ออกซิเดชันของไขมัน ในเยื่อหุ้มเซลล์นั้นพบว่าประสิทธิภาพการเป็นสารต้านออกซิเดชันขึ้นอยู่กับตัวเร่งในรับ เช่น เมื่อระบบมี H₂O₂-activated myoglobin เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา พบว่า malvidin-3-glucoside มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านออกซิเดชันดีกว่า catechin, malvidin และ Reveratrol ตามลำดับ

Heinonen และคณะ (1998 a) ทำการศึกษาคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันของ แอนโธไซยานินในผลไม้ประเภทเบอร์รี่ (berries) หลายชนิด ในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำ (low density lipoprotein , LDL) และไลโปโซม (liposome) พบว่าสารสกัดแอนโธไซยานินสามารถยับยั้งการเกิดสารประกอบเฮกซานาล (hexanal) ที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไลโปโปรตีนที่มีความหนาแน่นต่ำได้ดีกว่าสารสกัดแอนโธไซยานินจาก สตอเบอร์รี่ และยังสามารถยับยั้งการเกิดเฮกซานาลจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไลโปโปรตีนได้ดีกว่าสารสกัดแอนโธไซยานินจากราสเบอร์รี่แดง แบล็คเบอร์รี่ และสโตเบอร์รี่ นอกจากนี้ Heinonen และคณะ (1998) ยังพบว่าสารสกัดจากแอนโธไซยานินจากองุ่นสามารถยับยั้งการเกิดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (hydrogenperoxide) และเฮกซานาลได้เช่นกัน

Proanthocyanidin

สาร proanthocyanidin เป็นสาร สารต้านอนุมูลอิสระ ที่มีประสิทธิภาพการทำงานดีกว่า วิตามินซี วิตามินอี และเบต้าแคโรทีน สาร proanthocyanidin ยับยั้งการเกิดโรค atherosclerosis โดยไปยับยั้งการเกิด oxidized ใน low-density lipoproteins(LDL) ซึ่งทำความเสียหายให้เซลล์ที่ผนังเส้นเลือดมากมาย ก่อให้เกิดการอักเสบ เซลล์ smooth muscle เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว และเกิดกลไก

ลการจับตัว(clotting) ซึ่งเป็นสาเหตุนำไปสู่โรค atherosclerosis สาร proanthocyanidin ป้องกันการเกิดมะเร็ง โดยจะไปฆ่าเซลล์มะเร็ง ยับยั้งไม่เจริญเติบโตได้ทั้งใน โพรงจมูก ปอด กระเพาะอาหาร และเซลล์เม็ดเลือดขาว สาร proanthocyanidin นอกจากป้องกันโรค ยังมีรสหวานกว่าน้ำตาลถึง 35 เท่า เหมาะกับการควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้มีสุขภาพที่ดี จากรายงานการวิจัยของ Escribano-Bailon ในปี 2004 ซึ่งมีปริมาณแอนโธไซยานินในข้าวดำ (Black Rice) 0-4.9 mg/g และในข้าวฟ่างดำ(Black Sorghum) มีปริมาณแอนโธไซยานินเท่ากับ 4.0-9.8 mg/g

บทที่ 3

ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย

การศึกษากการพัฒนาผลิตภัณฑ์โภชนาเภสัชจากข้าวในครั้งนี้ ประกอบด้วย การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากส่วนต่างๆ ของข้าว ทั้งหมด 4 ผลิตภัณฑ์ โดยศึกษาการสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตจากผลิตภัณฑ์ที่ได้นำไปวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารเช่น ปริมาณโปรตีน ไขมัน เส้นใยอาหาร กรดอะมิโนรวม และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ทำการประเมินศักยภาพการผลิตผลิตภัณฑ์โภชนาเภสัช โดยวิเคราะห์ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก กรดไฟติก แกมมาออริซานอล และแอลฟาโทโคเฟอรอล วิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยวิธี DPPH radical scavenging, Linoleic acid emulsion system-thiocyanate, Total antioxidant capacity การทดสอบความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ แกมมาออริซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอล ที่สภาวะต่างๆ จากนั้นได้นำผลิตภัณฑ์ไปประยุกต์ใช้ในอาหารเพื่อผลิตเป็นอาหารสุขภาพ แล้วทำการประเมินศักยภาพในการประยุกต์ใช้ ซึ่งแต่ละส่วนมีเนื้อหา และรายละเอียดแตกต่างกันไป ดังนั้นระเบียบวิธีดำเนินการวิจัยได้แบ่งอธิบายเป็นหัวข้อย่อยดังนี้

3.1. ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย การผลิต รำข้าวสกัดโดยใช้เอนไซม์ และการประยุกต์ใช้

3.1.1. การเตรียมรำข้าว

1. นำข้าวเปลือกพันธุ์ กข 6 มาทำการขัดสีโดยแยกแกลบออก ส่วนข้าวกล้องที่ได้นำไปขัดสีอีกรอบจะได้ส่วนที่เป็นรำ รำที่ได้นำไปทำให้คงสภาพที่อุณหภูมิ 115°C ใช้เวลาตลอดกระบวนการ 30 นาที แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C รำที่ได้ใช้เป็นตัวอย่างควบคุมเพื่อนำไปใช้สกัดและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

2. การเตรียมรำข้าวงอก

ทำการเพาะข้าว โดยนำข้าวเปลือกพันธุ์ กข 6 มาแช่น้ำ 48 ชั่วโมง โดยเปลี่ยนน้ำทุก ๆ 6 ชั่วโมง ซึ่งจะได้ความชื้นประมาณ $40 \pm 2\%$ จากนั้นนำไปงอกในตู้เพาะที่อุณหภูมิ $28 \pm 2^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาเพาะนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ $40\text{--}45^\circ\text{C}$ จนได้ความชื้นประมาณ $10\text{--}12\%$ จากนั้นนำข้าวงอกที่ผ่านการอบแห้งทำการขัดสีเพื่อแยกแกลบออก หลังจากนั้นนำข้าวกล้องที่ได้ไปขัดสีอีกรอบเพื่อเอารำ รำที่ได้นำไปทำให้คงสภาพที่อุณหภูมิ 115°C ใช้เวลาตลอดกระบวนการ 30 นาที แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C ก่อนนำไปใช้สกัดด้วยเอนไซม์และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

3. การเตรียมรำข้าวสกัดโดยใช้เอนไซม์ ดัดแปลงจากวิธีของ Odibo และคณะ (2002)

จากการทดลองทำการวิจัยเบื้องต้น (preliminary experiment) สภาวะการสกัดที่เหมาะสม คือ ชั่งรามา 50 กรัม เติมน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร นำไปต้มเพื่อย่อยส่วนผสมแล้วเติมสารละลาย CaCl_2 ความเข้มข้น 0.15 จากนั้นค่อยๆ ปรับอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจนถึงที่ $37 \pm 2^\circ\text{C}$ ทำการเติมเอนไซม์โปรตีเอส (140 ยูนิต) pH 7.5 ทิ้งไว้ 30 นาที เมื่อครบเวลาปรับอุณหภูมิเป็น $65 \pm 2^\circ\text{C}$ เติมเอนไซม์อะไมเลส (4032.25 ยูนิต) pH 6.9 นาน 60 นาที จากนั้นกรองเอากากออก แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น $85 \pm 2^\circ\text{C}$ นาน 10 นาที เพื่อหยุดกิจกรรมเอนไซม์ ทิ้งให้อุณหภูมิอยู่ที่ $50 \pm 2^\circ\text{C}$ แล้วนำไปทำให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่อง homogenizer จากนั้นนำตัวอย่างที่สกัดได้ไปทำให้แห้งโดยใช้ freeze dryer แล้วบดให้ละเอียด ได้ลักษณะที่เป็นผง ส่วนการสกัดราโดยใช้น้ำก็ทำแบบเดียวกันยกเว้นไม่มีการเติมเอนไซม์

นำรำข้าวธรรมชาติและรำข้าวอกมาสกัดทั้งโดยเอนไซม์และน้ำ ตามวิธีดังกล่าวข้างต้น ดังนั้นตัวอย่างรำข้าวสกัดที่ได้มีทั้งหมดคือ 6 ตัวอย่าง คือ รำข้าวอกสกัดโดยเอนไซม์ (GRBE) และรำข้าวธรรมชาติสกัดโดยเอนไซม์ (RBE) รำข้าวอกสกัดโดยน้ำ (GRBW) รำข้าวธรรมชาติสกัดโดยน้ำ (RBW) และตัวอย่างควบคุม 2 ตัวอย่าง คือรำข้าวอก (GRB) และรำข้าวธรรมชาติ (RB) ผลิตภัณฑ์ที่ได้นำไปวิเคราะห์ สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อไป

3.1.2. การวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี

ทำการวิเคราะห์โปรตีน ไขมัน เส้นใยอาหาร เถ้า และคาร์โบไฮเดรต (AOAC, 2000) กรดอะมิโนรวม และน้ำตาลรีดิวซ์ (ภาคผนวก)

3.1.3. การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ภาคผนวก)

1. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก คัดแปลงจากวิธีของ (Iqbal, Bhager และ Anwar (2007)
2. การวิเคราะห์กรดไขมัน คัดแปลงจากวิธีของ Garcia-Estepta, Guerra และ Garcia-Villanova (1999) และวิธีของ Febles และคณะ (2001)
3. การวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาออริซานอล (γ -oryzanols) และ α -tocopherol โดยใช้เครื่อง HPLC-PDA คัดแปลงจากวิธีของ Ryyanen และคณะ (2004) และ Chen และ Bergman (2005)

3.1.4. การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ภาคผนวก)

การเตรียมตัวอย่าง คัดแปลงจากวิธีของ (Kim, Yang and Cui., 2006)

1. 2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity คัดแปลงจากวิธีของ (Dasgupta and De, 2004)
2. Linoleic acid emulsion system-thiocyanate method คัดแปลงจากวิธีของ (Suja, Jayalekshmy and Arumughan, 2005)
3. Total antioxidant capacity คัดแปลงจากวิธีของ (Dasgupta and De., 2004)

3.1.5. การศึกษาความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

1. การทดสอบความคงตัวต่อความร้อน (Thermal resistance test)

ซึ่งตัวอย่างรำข้าวออกสกัด GRBE 2 กรัม ใส่ในหลอด vial เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร และทำสัญลักษณ์ระดับน้ำใน vial ไว้ บ่มใน Hot air oven เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 25, 60 100, 140 และ 180 °C เมื่อครบเวลานำมาสกัดเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารแกมมา ออริซานอล และแอลฟาโทโคเฟอรอล

2. การทดสอบความคงตัวต่อ pH (pH resistance test)

ซึ่งตัวอย่างรำข้าวออกสกัด GRBE 2 กรัม ใส่ในหลอดทดสอบเติมสาร buffer ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่ pH 3 ระดับ คือ 4, 7 และ 10 และทำสัญลักษณ์ระดับน้ำในหลอดทดสอบไว้ โดยใช้เวลาบ่มที่อุณหภูมิห้อง 3 ระดับ คือ 0, 12 และ 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาสกัดเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารแกมมาออริซานอล และแอลฟาโทโคเฟอรอล

3.1.6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. การวิเคราะห์ผลของวิธีการสกัด และชนิดของรำข้าว ต่อคุณภาพของรำข้าวสกัด โดยเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ชีวภาพในรำข้าวสกัดกับรำข้าว ซึ่งออกแบบการทดลองแบบ Completely Random design (CRD)

2. ความคงตัวต่อความร้อน ออกแบบการทดลองแบบ Completely Random Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

3. ความคงตัวต่อ pH ออกแบบการทดลองแบบ Factorial experiment (3 x 3) in CRD

3. ในการวิจัยนี้ทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยโปรแกรมคอมพิวเตอร์สำเร็จรูป SPSS

4. ทำการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) จากนั้นจึงวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.1.7 ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัยการประยุกต์ใช้รำข้าวสกัดในการผลิตเครื่องดื่มผงสำเร็จรูป

1. ศึกษาสภาวะในการอบแห้งผลิตเป็นเครื่องดื่มผง โดยใช้เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง Drum dryer แปรอุณหภูมิ 3 ระดับ ที่ 120, 130 และ 140°C ระยะห่างลูกกลิ้ง 100 ไมโครเมตร ความเร็วรอบ 10 รอบต่อนาที โดยนำส่วนผสมพื้นฐาน ซึ่งประกอบไปด้วย นมผง 7 กรัม น้ำตาล 12 กรัม และครีมเทียม 5 กรัม ต่อน้ำร้อน 150 มิลลิลิตร แบ่งข้าวโพด 10.2 กรัม และ ข้าวกล้อง 6.84 กรัม โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาบอ้อนและวัดค่าคุณภาพ วัดค่าสี ค่าความหนืด กำลังการพองตัว ร้อยละการละลาย และค่าความชื้น

2. ศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมของปริมาณรำข้าวสกัดในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูป โดยนำส่วนผสมพื้นฐาน ซึ่งประกอบไปด้วย นมผง 7 กรัม น้ำตาล 12 กรัม และครีมเทียม 5 กรัม ต่อน้ำร้อน 150 มิลลิลิตร แบ่งข้าวโพด 10.2 กรัม และ ข้าวกล้อง 6.84 กรัม

อัตราส่วนของรำข้าวสาคัดทำการแปรระดับการเติม โดยปรับจากสูตรมาตรฐานโดยใช้รำข้าวสาคัดแทนข้าวกล้อง เป็น 30.14, 36.98 และ 43.84% โดยใช้สภาวะในการผลิตตามข้อ 1 ผลิตรัณฑ์ ที่ได้นำมาทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic scale (9- points) ด้าน สี กลิ่น รส ความหนืด เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมกับผู้ทดสอบชิม 20 คน ที่ไม่ผ่านการฝึกฝน คัดเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสมของข้าวโพดและข้าวกล้องที่มีคะแนนความชอบมากที่สุด นำไปทำเป็นผลิตรัณฑ์เครื่องคัมภ์ัญญาหารสำเร็จรูป

3 ทดสอบหองค์ประกอบทางเคมี โดยนำสูตรที่ได้ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 2 มาทำการวิเคราะห์หองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า ปริมาณเยื่อใย คาร์โบไฮเดรตและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ

4. การวิเคราะห์ทางสถิติ

4.1 การวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตออกแบบการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แล้วทำการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

4.2 การทดสอบทางประสาทสัมผัส ออกแบบการทดลองแบบ Randomized complete block design (RCBD) โดย block ได้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 20 คน วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แล้วทำการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.2 ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย การผลิตสารUSM จากรำข้าว และการประยุกต์ใช้

3.2.1 การผลิตสารUSMจากรำข้าว (USM)

1. การเตรียมวัตถุดิบ

จากการศึกษาเบื้องต้น เปรียบเทียบปริมาณน้ำมันและ USM ของข้าวพันธุ์ ข้าว กข 6 และ ข้าวดอกมะลิ 105 พบว่าให้ผลไม่แตกต่างกัน งานวิจัยครั้งนี้ จึงเลือก ข้าวพันธุ์ ข้าวดอกมะลิ 105 เพราะสามารถหาได้สะดวกจากแหล่งปลูก และจากโรงสี

2.การเตรียมรำข้าว

รำข้าวที่ใช้ได้จาก พันธุ์ ข้าวดอกมะลิ 105 ปลูกในเขตอำเภอบรบือ จังหวัดมหาสารคาม นำมาคงสภาพโดย steaming method โดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 °C นาน 15 นาที รำข้าวที่ผ่านการ stabilized นำไปสกัดน้ำมันรำข้าวต่อไป

3. การสกัดน้ำมันรำข้าว

นำรำข้าวที่ผ่านการ stabilized แล้ว มาสกัดน้ำมันโดยใช้วิธีการปั่นแช่ ใช้ hexane เป็นตัวทำละลาย โดยอัตราส่วนรำข้าว:hexane เป็น 1:3 ทำการสกัดโดยปั่นแช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วทำการกรอง จากนั้นจึงนำมาระเหย hexane ออก โดยใช้ rotary evaporator (40 °C ภายใต้สุญญากาศ) โดยน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้ จะนำไปสกัดสาร USM ต่อไป

4. การสกัด USM

ใช้น้ำมันรำข้าวดิบ 20 g เดิมเอทานอล 360 ml. และ ascorbic acid 4g จากนั้นนำไปปั่นผสมโดย sonicator นาน 0, 5 และ 10 นาที แล้วต้มที่อุณหภูมิ 60 °C, 80 °C และ 100 °C นาน 25 นาที ก่อนเติม 80% KOH ลงไป 18 ml จากนั้นทำให้เย็นลงที่ 20 °C แล้วเติมน้ำกลั่น 20 ml. และ n-hexane 160 ml. (1:8) จะเกิดการแยกชั้น ส่วนที่เป็นชั้นของ n-hexane จะประกอบไปด้วย กลุ่มสารที่เป็น USM กรองด้วย suction ล้างด้วยน้ำกลั่นอีก 2 ครั้ง เพื่อให้สารที่ละลายได้ในน้ำออกไป จากนั้นทำการระเหย hexane ออกไปโดยใช้ rotary vapor ที่อุณหภูมิประมาณ 40 °C จะได้กลุ่มของสารที่เป็น USM หา %yield ของ USM ที่สกัดได้จากน้ำมันรำข้าว ซึ่ง USM ที่สกัดได้จะเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อทำการวิเคราะห์ต่อไป

5. การศึกษาผลของ pH ต่อความคงตัวของสารออกฤทธิ์ชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาร USM

นำสาร USM ละลายด้วย n-hexane ให้มีความเข้มข้น 0.86 % w/v แล้วนำไปปรับ pH ที่ระดับต่างๆ ดังนี้ ตัวอย่างควบคุม คือ USM ที่ไม่ได้ปรับด้วย pH ทำการวิเคราะห์ทันทีหลังการสกัด ส่วนสาร USM อื่นๆ ทำการปรับ pH ด้วยบัฟเฟอร์ที่ pH 4, pH 7 และ pH 10 แต่ละ pH ทำการเก็บเป็นเวลา 0, 12, 24 และ 48 ชั่วโมง จากนั้นนำไปวิเคราะห์สารต่างๆ ดังนี้

1. วิเคราะห์ปริมาณ gamma oryzanol วิธีการวิเคราะห์โดย HPLC (ภาคผนวก)
2. วิเคราะห์ปริมาณ alpha tocopherol วิธีการวิเคราะห์โดย HPLC (ภาคผนวก)
3. วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Lipid perออกซิเดชัน, Total antioxidant capacity, DPPH radical scavenging (ภาคผนวก)

6. การศึกษาผลของความร้อนต่อ USM

นำตัวอย่างสาร USM ละลายด้วย n-hexane ให้ได้ความเข้มข้น 3.6 % w/v แล้วนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิต่างๆกัน ดังนี้ ตัวอย่างควบคุมทำการวิเคราะห์ทันทีหลังการสกัด ส่วนสาร USM ที่เหลือนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60°C, 100 °C ,140 °C และ 180 °C แต่ละอุณหภูมิทำการบ่มเป็นเวลา 30 และ 60 นาที ใน hot air oven จากนั้นนำสาร USM ที่ได้ไปวิเคราะห์สารต่างๆ ตามข้อ 5

7. การศึกษาความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชัน (Mohamed,1998)

โดยเก็บ USM ที่ อุณหภูมิ 60°C ซึ่งเป็นสภาวะกระตุ้นการเกิด ออกซิเดชันเป็นเวลา 12 วัน ทำการสุ่มตัวอย่างทุกๆ 4 วันจนครบ 12 วัน ตัวอย่างที่สุ่มมาได้นำมาวิเคราะห์สารต่างๆ ตามข้อ 5 และ ค่าการเหม็นหืนโดยวิเคราะห์ peroxide value และ TBARS

8. การวิเคราะห์ทางสถิติ

8.1 การเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ทำการออกแบบการทดลองแบบ CRD ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

การศึกษาความคงตัวของ สภาวะต่างๆ ออกแบบการทดลองแบบ Factorial experiment in CRD การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.2.2 ระเบียบวิธีวิจัยดำเนินการวิจัย การประยุกต์ใช้สาร USM ในการผลิตครีมเหลวเทียม

1. วัตถุประสงค์

ได้แก่ whey protein, corn syrup ,oil (น้ำมันทานตะวันผสมกับสาร USM ที่ความเข้มข้นต่างๆ(0.1%, 0.3% และ 0.5%), น้ำ , corn starch, กลีขนานิลลา ,HPMC

2. การเตรียมครีมเหลวเทียมสำหรับผสมเครื่องดื่มร้อน

ก่อนทำการเติม ได้ทำการพัฒนาครีมเหลวสูตรที่เหมาะสมก่อน โดยนำส่วนผสม ตามสูตรมาปั่นรวมกัน โดยใช้เครื่องปั่น เป็นเวลา 5 นาที แล้วพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63°C เป็นเวลา 30 นาที นำมา homogenized เป็นเวลา 25 นาที แล้วนำครีมไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 63°C เป็นเวลา 20 นาที แล้วทำให้เย็นทันที ด้วยน้ำเย็น ครีมเหลวที่ได้นำไปทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค การทดสอบเติมในกาแฟ และวัดคุณลักษณะพื้นฐานของครีมเหลว ดังนี้

2.1 การทดสอบความชอบและการยอมรับของผู้บริโภคต่อคุณภาพผลิตภัณฑ์ครีม ทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อลักษณะปรากฏของครีม ได้แก่ สี ความข้น

ความเนียนละเอียด ความเป็นเนื้อเดียวกัน ความชอบโดยรวมโดยใช้ผู้ทดสอบชิม จำนวน 30 คน

2.2 การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อครีมที่เติมลงในกาแฟ โดยทดสอบการยอมรับของผู้ทดสอบชิม จำนวน 30 คน

2.3 การวัดคุณลักษณะของครีม ได้แก่ การทดสอบการละลาย

ชั่งน้ำหนักครีมมา 1 กรัม เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ในอัตราส่วน 1:10 จากนั้นนำไปปั่นด้วย magnetic stirrer นาน 10 นาที ที่อุณหภูมิ 60°C นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 ที่ชั่งน้ำหนักเรียบร้อยแล้ว นำกระดาษกรองไปอบให้แห้งแล้วนำไปชั่งน้ำหนัก นำน้ำหนักของกระดาษกรอง หลังอบลดด้วยน้ำหนักกระดาษกรอง จะได้น้ำหนักของตะกอนที่เหลือจากการละลายของครีม

2.4 การทดสอบการวัดสี

โดยนำตัวอย่างครีมไปวัดค่าสีด้วยเครื่อง Chroma meter (R-300), Minolta

2.5 การวัดค่าความหนืด

โดยเครื่อง Brookfield ใช้ความรอบ 100 rpm โดยใช้หัววัดเบอร์ 6

3.การศึกษาผลของการเติม USM ต่อการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของครีมเหลว

นำสารสกัด USM ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.01, 0.02, 0.03, 0.04 และ 0.05% (100, 200, 300, 400 และ 500 ppm) เติมนลงในน้ำมันทานตะวันที่เป็นส่วนผสมในครีมเหลวครีมเหลวไปเก็บที่อุณหภูมิ ไม่เกิน 10°C เป็นเวลา 10 วัน แล้วนำมาวิเคราะห์กิจกรรมการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และ Lipid perออกซิเดชัน ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ และเก็บครีมมาวิเคราะห์ทุกวันที่ 0,3,5,7 เปรียบเทียบกับ control

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Lipid peroxidation (Nabasree และ Bratati, 2004) ดังภาคผนวก

3.2 การวัดค่าการเหม็นหืน โดยวัดค่า Thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) (ดัดแปลง Mielnik and other.2005) (ภาคผนวก)

3.3 การวัดค่าการเหม็นหืน โดยวัดค่า Peroxide Value (IUPAC,1979) สารเคมี (ภาคผนวก)

การวิเคราะห์ทางสถิติ การเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงทางเคมี ทำการออกแบบการทดลองแบบ Completely Random design (CRD) การทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบชิม ออกแบบการทดลองแบบ RCRD การทดลองทั้งหมดทำ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.2.3 ระเบียบวิธีระเบียบวิธีดำเนินการวิจัย การประยุกต์ใช้ สาร USM เพื่อเป็นสารต้านการหืนในน้ำสลัด

ทำการเตรียมน้ำสลัด ซึ่งผสม Unsaponifiable matter จำนวน 2 ระดับ คือ 1.0 และ 2 % ของส่วนผสม ทำการปั่นที่ความเร็วรอบของเครื่อง homogenizer 2 ระดับ คือ 5000 และ 7000 rpm ทำการเปรียบเทียบอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำสลัด โดยเปรียบเทียบกับน้ำสลัดสูตรที่เติม วิตามิน อี และ ไม่เติมสารกันหืน เก็บน้ำสลัดแต่ละทริทเมนต์ ในขวดสีชา ที่ปิดสนิท เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C แล้วทำการสุ่มตัวอย่างมาตรวจทุก ๆ 0, 7, 14, และ 21 วัน การวิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยวัดค่า peroxide value, thiobarbituric acid reactive species (TBARS)

3.2.4 การวิเคราะห์ทางสถิติ การเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ทำการออกแบบการทดลองแบบ Completely Random design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์

ความแปรปรวน (ANOVA) และทำการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.3 ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัยการการผลิตผลิตภัณฑ์โภชนเภสัชจากจมูกข้าว

3.3.1. การคัดเลือกและเตรียมวัตถุดิบ

1. การเตรียมรำข้าวทั่วไป

นำข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 และข้าวหอมมะลิ 105 มาทำการขัดสีโดยแยกแกลบออก ส่วนข้าวกล้องที่ได้นำไปขัดสีอีกครั้งจะได้ส่วนที่เป็นรำข้าวทั่วไปที่มีส่วนประกอบของจมูกอยู่ด้วย นำรำที่ได้นำไปทำให้แห้งสภาพ โดยใช้วิธี Steaming method ที่อุณหภูมิ 115 °C ระยะเวลา 5 นาที แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C รำที่ได้ใช้เป็นตัวอย่างเพื่อนำไปใช้สกัดและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

2. การเตรียมจมูกข้าว

นำข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 และข้าวหอมมะลิ 105 มาทำการขัดสีโดยแยกแกลบออก นำข้าวกล้องเต็มเมล็ดที่ได้ไปแยกเอาส่วนที่เป็นจมูกข้าวออกด้วยมือ จากนั้นนำไปทำให้แห้งสภาพ โดยใช้วิธี Steaming method ที่อุณหภูมิ 115 °C ระยะเวลา 5 นาที แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C จมูกข้าวที่ได้ใช้เป็นตัวอย่างเพื่อนำไปใช้สกัดและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

3. การเตรียมรำข้าวที่แยกจมูกข้าว

ข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 และข้าวหอมมะลิ 105 ที่แยกเอาส่วนที่เป็นจมูกข้าวออกแล้วนำไปขัดรำออก จากนั้นนำรำที่แยกจมูกข้าวไปทำให้แห้งสภาพ โดยใช้วิธี Steaming method ที่อุณหภูมิ 115 °C ระยะเวลา 5 นาที แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 °C รำข้าวที่แยกจมูกข้าวที่ได้ใช้เป็นตัวอย่างเพื่อนำไปใช้สกัดและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีต่อไป

3.3.2. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี (ภาคผนวก)

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและของแข็งรวม (AOAC. 2000)
2. การหาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนหรือโปรตีนวิธีเจลดาลท์ (AOAC. 2000)
3. การหาปริมาณไขมันด้วยวิธีซอกท์เลท (Soxhlet method) (AOAC 2000)
4. การวิเคราะห์หาเส้นใยอาหาร (Crude fibre) (AOAC 2000)
5. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Dry ashing) (AOAC 2000)
6. การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยวิธีการลบออก (AOAC 2000)

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต = 100 - (% ความชื้น + % โปรตีน + % ไขมัน + % เถ้า + % เส้นใย

อาหาร)

7. การวิเคราะห์หา Reducing sugar คัดแปลงจากวิธีของ Somogyi และ Nelson (1952); อ้างอิงมาจาก สุพัตรา เลิศวณิชย์วัฒนา (2546)

3.3.3 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ภาคผนวก)

1. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก คัดแปลงจากวิธีของ (Iqbal, Bhager และ Anwar (2007) และวิธีของ Hee Kim และคณะ (2006)

การเตรียมตัวอย่างคัดแปลงจากวิธีของ Hee Kim และคณะ (2006)

2. การวิเคราะห์กรดไฟติก คัดแปลงจากวิธีของ Garcia-Estepta, Guerra และ Garcia-Villanova (1999) และวิธีของ Febles และคณะ (2001)

3. การวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาออริซานอล (γ -oryzanols)

การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง คัดแปลงจากวิธีของ Azrina และคณะ (2008) ขั้นตอนและวิธีการวิเคราะห์ (คัดแปลงจากวิธีของ Chen และ Bergman (2005)

4. การวิเคราะห์หาปริมาณ α -tocopherol

ปฏิบัติเหมือนวิธีการวิเคราะห์ γ -oryzanols วัดค่าการดูดกลืนแสงโดย photodiode-array detection ที่ความยาวคลื่น 292 นาโนเมตร แปลผลข้อมูลของตัวอย่างโดยนำสารละลายมาตรฐานของ α -tocopherol ที่ความเข้มข้นตามที่เตรียมไว้ โดยใช้ peak area และความเข้มข้นของสารละลายทำ standard curve

3.3.4. การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (ภาคผนวก)

1. DPPH radical scavenging activity คัดแปลงจากวิธีของ Dasgupta และ De (2004)

2. Linoleic acid emulsion system-thiocyanate method คัดแปลงจากวิธีของ Suja, Jayalekshmy และ Arumughan (2005)

3. Total antioxidant capacity คัดแปลงจากวิธีของ Dasgupta และ De (2004)

การวิเคราะห์ทางสถิติ การเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ทำการออกแบบการทดลองแบบ Completely Random design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แล้วทำการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.4. ระเบียบวิธีดำเนินการวิจัยการผลิต สีส้มอาหารจากรำข้าวข้าวเหนียวดำสกัด และการประยุกต์ใช้

3.4.1 การการผลิตรำข้าวข้าวเหนียวดำ สกัดโดยใช้เอนไซม์

1. การเตรียมตัวอย่างรำข้าวเหนียวดำ

ข้าวเปลือกข้าวเหนียวค้ำพันธุ์พื้นเมืองจากอำเภอบรบือ จังหวัดมหาสารคาม นำมา กระเทาะเปลือกและแยกแกลบออก จากนั้นนำข้าวกล้องที่ได้ไปขัดสีเพื่อแยกส่วนที่เป็นรำข้าวเหนียวค้ำ นำไปคงสภาพโดยนึ่งภายใต้ความดันไอน้ำอุณหภูมิ 121°C นาน 15 นาที รำข้าวที่ผ่านการ stabilized แล้วนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20°C เพื่อใช้เป็นตัวอย่าง ในการสกัดและวิเคราะห์ต่อไป

2. การเตรียมรำข้าวเหนียวค้ำสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (ดัดแปลงจาก Duangmal, Saichitra and Sueprasas, 2008)

รำข้าวเหนียวค้ำที่ได้จากการขัดสีนำมาสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย โดยใช้เอทานอล ความเข้มข้น 50% ปรับ pH เป็น 2.5 ด้วย กรดไฮโดรคลอริก 0.1 โมลาร์ โดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวเหนียวค้ำต่อตัวทำละลายเป็น 1:10 ทำการสกัด 3 ชั่วโมง กรองหยาบและกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปเติมสารให้ความคงตัวชนิดมอลโตเดกซ์ทรินที่ระดับ 0, 2%, 3% และ 4% (w/v) แล้วทำแห้งแบบเยือกแข็งและบดละเอียดให้เป็นผง

3. การเตรียมรำข้าวเหนียวค้ำสกัดโดยใช้เอนไซม์ (ดัดแปลงจาก Duangmal, Saichitra and Sueprasas, 2008)

การสกัดรำข้าวเหนียวค้ำโดยใช้เอนไซม์ โดยแปรระดับปริมาณรำข้าวเป็น 40, 50 และ 60 กรัม เติมน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร นำไปต้มเพื่อย่อยส่วนผสมแล้วเติมสารละลาย CaCl_2 ความเข้มข้น 0.15% ก่อนเติมเอนไซม์โปรตีเอส 140 ยูนิต pH 7.5 อุณหภูมิ $37 \pm 2^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 30 นาที แล้วปรับอุณหภูมิเป็น $65 \pm 2^\circ\text{C}$ pH 6.9 เติมเอนไซม์อะไมเลส 16,129 ยูนิต นาน 60 นาที จากนั้นปรับ pH เป็น 2.5 เพื่อหยุดกิจกรรมของเอนไซม์ ทำการกรองหยาบและกรองละเอียดด้วยกระดาษกรองเบอร์ 4 จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปเติมสารให้ความคงตัวชนิดมอลโตเดกซ์ทรินที่ระดับ 0, 2%, 3% และ 4% (w/v) แล้วทำแห้งแบบเยือกแข็งเพื่อบดละเอียดให้เป็นผง สารสกัดที่ได้นำไปวิเคราะห์คุณสมบัติด้านต่างๆ ต่อไป

4. การวิเคราะห์ข้าวเหนียวค้ำสกัด

4.1. การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารหลักในรำข้าวเหนียวค้ำ ได้แก่ ความชื้นและของแข็งรวม เถ้า เส้นใยดิบ ไขมัน โปรตีน และคาร์โบไฮเดรต (ภาคผนวก)

4.2. การศึกษา สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัด ได้แก่ การวิเคราะห์หาปริมาณ γ -oryzanol, tocopherols, total phenolic compounds และ anthocyanin

4.3. การวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (ภาคผนวก)

4.4. การศึกษาคุณสมบัติของสารสกัดรำข้าวเหนียวค้ำ

4.4.1. การศึกษาความสามารถในการละลาย โดยชั่งน้ำหนักตัวอย่างสารสกัดผง 5 กรัม เติมน้ำกลั่น 35 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที แล้วนำไปเซนติฟิวส์ 15 นาที ที่

2120 g นำส่วนที่เป็นของเหลว 10 มิลลิลิตร ไปอบให้แห้งที่ 120°C 4 ชั่วโมงจนน้ำหนักคงที่แล้วชั่งน้ำหนัก

4.4.2. การวัดค่าสีของสารสกัด ด้วยด้วยเครื่อง Minolta Croma Meter CR-300 ในระบบ CIE L*a*b*

4.4.3. การศึกษาปริมาณสารสกัดผงหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (%yield)

4.4. การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน โดยใช้วิธี pH differential method

3.4.2 การประยุกต์ใช้รำข้าวข้าวเหนียวดำในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

วิธีการ

1. นำน้ำนมสดมาเติมสีจากสารสกัดรำข้าวเหนียวดำ โดยแปรปริมาณการเติมสีเป็น 4 ระดับ (เทียบเคียงสีให้อยู่ในระหว่างสีของโยเกิร์ตทางการค้ากลิ่นบลูเบอร์รี่) คือเติม 0.2%, 0.4, 0.6% โดยน้ำหนัก และตัวอย่างควบคุมที่ไม่เติมสีที่สกัดจากรำข้าว

2. ทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธีพาสเจอร์ไรซ์เซชัน ที่อุณหภูมิประมาณ 63°C นาน 30 นาที

3. ทำให้อุณหภูมิลดลงเหลือประมาณ 45°C

4. ทำการเติมเชื้อแบคทีเรียโปรไบโอติก (The commercial probiotic dairy starter ABT-5, Chr. Hansens) โดยใช้ในอัตราส่วนของเชื้อ 1 กรัม ต่อน้ำนม 5 ลิตร หรือ 0.02% (wt/wt) แล้วบ่มที่ 40-42°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จน pH ลดลงถึง 4.5- 4.6 แล้วหยุดกระบวนการหมักโดยเก็บที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 21 วัน

5. โยเกิร์ตที่ได้นำมาวิเคราะห์ดังนี้

5.1 วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้ pH meter เปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากรำข้าวเหนียวดำ ที่ระดับต่างๆ ทุกๆ 3 วันจนครบ 21 วัน

5.2 วิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดของโยเกิร์ต (Fabro et. al., 2006) โดยวิธีการไตเตรต ทุกๆ 3 วันจนครบ 21 วัน โดยนำตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตรเติมฟีนอล์ฟทาไลน์อินดิเคเตอร์ 3 หยด ไตเตรตกับ 0.111N NaOH จนสีเปลี่ยนเป็นชมพู

การคำนวณ

$$\text{Lactic acid (mg)/100 mL of milk} = (\text{Vg} \times \text{N} \times 90 \times 100) / \text{Vm}$$

เมื่อ Vg = ปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ไป

N = ความเข้มข้นของ NaOH

Vm = ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้

5.3 การประเมินค่าสีในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต ด้วยเครื่อง Minolta Croma Meter CR-300 โดยวัดค่าความสว่าง (L*) ค่าความเข้มสี (C*) และค่ามุมของสี (h) เปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างโยเกิร์ตที่เติมสารสกัดจากรำข้าวเหนียวดำที่ระดับต่างๆ ทุกๆ 3 วันจนครบ 21 วัน

การวิเคราะห์ทางสถิติ การเปรียบเทียบปริมาณผลผลิต องค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ทำการออกแบบการทดลองแบบ Completely Random design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) แล้วทำการวิเคราะห์ความแตกต่างโดยใช้ Duncan multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.5 การทดสอบความปลอดภัย (สารตกค้าง และสารพิษ)

การทดสอบการเป็นพิษในการศึกษาครั้งนี้ เลือกทดสอบสารที่มีโอกาสปนเปื้อนเข้าไปในผลิตภัณฑ์ เท่านั้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ทั้งหมด มาจากข้าวที่เป็นเกรดรับประทานเป็นอาหารได้ และผลิตภัณฑ์ ที่ได้ที่มีความชื้นต่ำ (ต่ำกว่า 10%) จึงค่อนข้างปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ สารที่วิเคราะห์ครั้งนี้ได้แก่ สารหนู (arsenic) สารปรอท (mercuric) เฮกเซน และ เอทานอล ซึ่งสารสองชนิดแรกเป็นสารโลหะหนัก ที่อาจปนเปื้อนมากับข้าวเปลือก ส่วน เฮกเซน และ เอทานอล อาจเหลือตกค้างจากการสกัดสาร การทดสอบสารหนู (arsenic) และสารปรอท ครั้ง นี้โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป (Osumex's Heavy Metals Test kits) (ตารางที่ 44) เพื่อการตรวจสอบเบื้องต้นก่อน (screening test) หากการตรวจสอบพบโดยชุดตรวจสอบ จึงจะทำการวิเคราะห์ หาปริมาณ โดย Gas chromatography ต่อไป ส่วน เฮกเซน และ เอทานอล วิเคราะห์โดย GC-FID method

บทที่ 4

ผลการวิจัย และวิจารณ์ผล

4.1 การผลิตรำข้าวสาคัดโดยใช้เอนไซม์ และการประยุกต์ใช้

4.1.1 การวิเคราะห์ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี

ปริมาณผลผลิตที่ได้จากการสกัดรำข้าวครั้งนี้อยู่ที่ 70 % ของรำข้าว จากการศึกษาผลของวิธีการสกัดและชนิดของรำข้าว พบว่ามีผลต่อสารที่สกัดได้อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยรำข้าวสกัดด้วยเอนไซม์มีปริมาณ โปรตีน เถ้า น้ำตาลรีดิวซ์ และกรดอะมิโนรวมสูงสุด คือมีค่าเท่ากับ 13.85, 13.66, 10.52 และ 17.86 % ตามลำดับ โดยการสกัดด้วยเอนไซม์มีผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารมากที่สุด (ตารางที่ 6) ในขณะที่การสกัดและชนิดของรำข้าวไม่มีผลต่อปริมาณไขมัน คาร์โบไฮเดรต และเส้นใยอาหาร

ตารางที่ 6 เปรียบเทียบปริมาณสารอาหารของรำข้าวสาคัดที่สภาวะต่างๆ

องค์ประกอบทางเคมี (%)	RB	RBW	RBE	GRB	GRBW	GRBE
ความชื้น	8.58 ± 0.70 ^c	7.33 ± 0.52 ^d	9.55 ± 0.56 ^b	12.28 ± 0.44 ^a	8.93 ± 0.69 ^{bc}	11.71 ± 0.44 ^a
โปรตีน	11.17 ± 0.79 ^b	13.95 ± 0.54 ^a	14.63 ± 1.14 ^a	10.78 ± 0.65 ^b	11.94 ± 0.71 ^b	13.85 ± 0.51 ^a
ไขมัน	13.04 ± 2.06	13.47 ± 1.05	12.48 ± 1.82	13.01 ± 3.38	13.91 ± 1.11	10.70 ± 0.96
คาร์โบไฮเดรต	45.99 ± 2.14	40.32 ± 1.46	36.63 ± 2.89	44.96 ± 4.32	40.21 ± 5.48	36.80 ± 1.40
เส้นใยอาหาร	10.18 ± 0.99	12.86 ± 0.67	14.21 ± 2.01	10.62 ± 0.86	12.77 ± 1.48	13.29 ± 0.84
เถ้า	11.72 ± 0.35 ^b	12.07 ± 0.70 ^b	12.48 ± 0.49 ^b	9.69 ± 0.97 ^c	12.23 ± 0.80 ^b	13.66 ± 0.59 ^a
น้ำตาลรีดิวซ์	1.38 ± 0.22 ^c	2.99 ± 0.17 ^d	8.95 ± 0.17 ^b	3.64 ± 0.15 ^d	6.10 ± 0.35 ^c	10.52 ± 1.54 ^a
กรดอะมิโนรวม	10.62 ± 1.11 ^c	11.28 ± 0.72 ^c	13.50 ± 0.73 ^b	11.29 ± 0.81 ^c	11.51 ± 1.98 ^c	17.86 ± 0.42 ^a

^{a, b, c, ...} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ ($P < 0.05$)

สัญลักษณ์ของสารสกัด RB = รำข้าว, RBW = รำข้าวสาคัดน้ำ, RBE = รำข้าวสกัดด้วยเอนไซม์, GRB = รำข้าวออก, GRBW = รำข้าวสกัดน้ำ, GRBE = รำข้าวสกัดด้วยเอนไซม์

4.1.2 การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

พบว่าทั้งชนิดของรำข้าวและวิธีการสกัด มีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยรำข้าวและรำข้าวสกัดด้วยเอนไซม์มีปริมาณเพิ่มขึ้นสูงสุด เมื่อเปรียบเทียบกับไม่ผ่านการสกัดและสกัดด้วยน้ำ คือมีค่าเท่ากับ 8.36 มิลลิกรัม/กรัม และ 7.43

มิลลิกรัม/กรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณกรดไฟติก พบว่ามีค่าอยู่ระหว่าง 61.29-67.03 มิลลิกรัม/กรัม โดยการสกัดและชนิดของรำข้าวไม่มีผลต่อการลดลงของกรดไฟติกสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ (ตารางที่ 7)

ตารางที่ 7 เปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพให้แก่สารประกอบฟีนอลิกและกรดไฟติกในรำข้าวสกัดที่สภาวะต่าง ๆ

ตัวอย่าง	ฟีนอลิก (มิลลิกรัม/กรัม)	% การ เปลี่ยนแปลง*	กรดไฟติก (มิลลิกรัม/กรัม)	% การ เปลี่ยนแปลง*
รำข้าว	2.23 ± 1.66 ^d	0	67.03 ± 1.79	0
รำข้าววงอก	2.16 ± 0.13 ^d	-3.14	66.61 ± 1.87	-3.90
รำข้าวสกัดด้วยน้ำ	2.81 ± 0.12 ^c	26.01	62.57 ± 4.18	-6.06
รำข้าววงอกสกัดด้วยน้ำ	2.90 ± 0.15 ^c	30.04	63.34 ± 3.55	-6.57
รำข้าวสกัดด้วยเอนไซม์	8.36 ± 0.19 ^a	476.21	61.37 ± 4.25	-10.10
รำข้าววงอกสกัดด้วยเอนไซม์	7.43 ± 0.74 ^b	566.37	61.29 ± 3.62	-12.35

^{a, b, c, ...} ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ ($P < 0.05$)

* % การเปลี่ยนแปลงโดยเปรียบเทียบกับปริมาณในรำข้าว

จากการวิเคราะห์สารแกมมาออริซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอล พบว่าชนิดของรำข้าวและวิธีการสกัดมีผลต่อปริมาณสารทั้ง 2 ชนิดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยรำข้าวและรำข้าววงอกที่สกัดด้วยน้ำและเอนไซม์มีปริมาณสารมากกว่ารำข้าวที่ไม่ผ่านการสกัด โดยสารแกมมาออริซานอล มีปริมาณเท่ากับ 452.21 มิลลิกรัม/100 กรัม ในรำข้าววงอกสกัดด้วยเอนไซม์ ส่วนแอลฟาโทโคเฟอรอล เท่ากับ 37.77 มิลลิกรัม/100 กรัม ในรำข้าวสกัดด้วยเอนไซม์ (ตารางที่ 8)

ตารางที่ 8 เปรียบเทียบปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ แกรมม่าออริซานอลและ แอลฟาโทโคเฟอรอลในรำข้าวสาคัดที่สภาวะต่างๆ

ตัวอย่าง	แกรมม่าออริซานอล (มิลลิกรัม/100 กรัม)	% การ เปลี่ยนแปลง *	แอลฟาโทโคเฟอรอล (มิลลิกรัม/100 กรัม)	% การ เปลี่ยนแปลง*
รำข้าว	207.16 ± 2.41 ^c	0	6.24 ± 0.22 ^f	0
รำข้าวงอก	267.88 ± 0.11 ^c	29.31	14.06 ± 0.16 ^e	125.32
รำข้าวสาคัดด้วยน้ำ	231.76 ± 0.35 ^d	11.87	15.05 ± 0.35 ^d	141.03
รำข้าวงอกสาคัดด้วยน้ำ	301.63 ± 6.68 ^b	45.60	29.57 ± 0.24 ^b	373.88
รำข้าวสาคัดด้วยเอนไซม์	253.99 ± 5.23 ^c	22.61	37.77 ± 0.71 ^a	505.13
รำข้าวงอกสาคัดด้วยเอนไซม์	452.21 ± 8.80 ^a	118.29	26.14 ± 0.05 ^c	318.91

a, b, c ... ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ ($P < 0.05$)

* % การเปลี่ยนแปลงโดยเปรียบเทียบกับปริมาณที่มีในรำข้าว

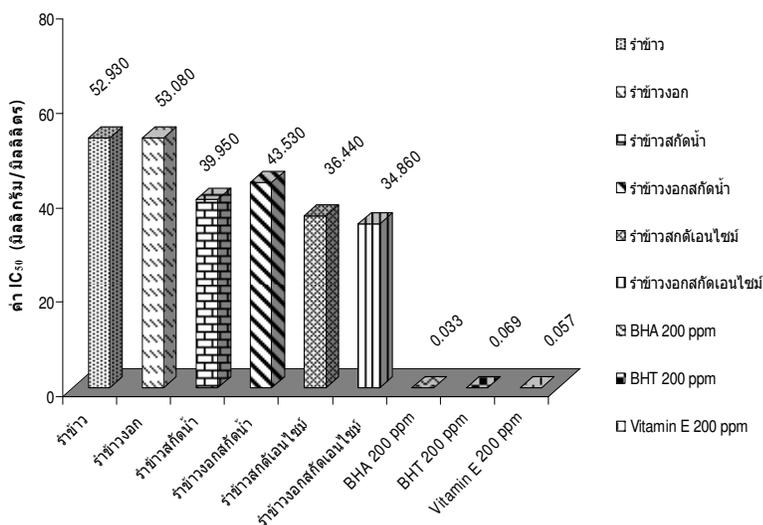
จากการศึกษาปริมาณ แกรมม่า ออริซานอล และแอลฟาโทโคเฟอรอลในรำข้าวที่ยังไม่ผ่านการสกัดพบว่ามีปริมาณใกล้เคียงกันกับงานวิจัยที่ผ่านมา ทั้งนี้ปริมาณของสารออกฤทธิ์ชีวภาพขึ้นกับหลายปัจจัย ทั้งพันธุ์ สถานที่เพาะปลูก การเก็บเกี่ยว รวมถึงการเก็บรักษา เมื่อนำเมล็ดข้าวมาผ่านกระบวนการงอกจะทำให้สาร โมเลกุลใหญ่ถูกเปลี่ยนสภาพเป็นสาร โมเลกุลเล็กลงโดยกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดต่างๆ ในระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ด และการใช้เอนไซม์ช่วยสกัดทำให้สารบางส่วนถูกเอนไซม์ย่อยไปอยู่ในรูปใหม่เกิดสารใหม่ สารบางชนิดถูกปล่อยให้อิสระมากขึ้น องค์ประกอบบางส่วนที่ย่อยไม่ได้จะถูกกรองแยกออกไป ดังนั้นการนำข้าวงอกมาสกัดด้วยเอนไซม์ถือว่าเป็นวิธีที่น่าสนใจเนื่องจากส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณสารต่างๆ มากขึ้น Iqbal และคณะ (2005) ได้ทำการศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวสาคัดชนิดต่างๆ ในปากีสถาน พบว่ารำข้าวพันธุ์ที่มีปริมาณสารแกรมม่าออริซานอล โทโคเฟอรอล และ โทโคไตรอีนอลสูงสุดคือมีค่าเท่ากับ 80.2, 51.2, 47.8 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ Iqbal และคณะ (2007) ได้ศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของรำสาคัดจากข้าวสาลีชนิดต่างๆ ในปากีสถาน พบว่ามีปริมาณ โทโคเฟอรอลและ โทโคไตรอีนอลอยู่ระหว่าง 22-26 ppm (2.2-2.6 มิลลิกรัม/100 กรัม) และ 59-74 ppm (5.9-7.4 มิลลิกรัม/100 กรัม) Garcia และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาโทโคเฟอรอล โทโคไตรอีนอล แกรมม่าออริซานอล และสารประกอบฟีนอลรวมในรำข้าวชนิด Cimarron, Zeta 15 และ FONAIAP-1 พบว่ามีปริมาณแกรมม่าออริซานอลอยู่ระหว่าง 1.55- 2.72 มิลลิกรัม/กรัม (155-272 มิลลิกรัม/100 กรัม) สาร โทคอล 196-210 ไมโครกรัม/กรัม

(19.6-21.0 มิลลิกรัม/100 กรัม) Qureshi และคณะ (2002) ได้ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของ sterbilized rice bran (SRB), rice bran solubles (RBWS) และ rice bran fiber concentrate (RBFC) พบว่ามีปริมาณแกมมาออริซานอลเท่ากับ 300, 260 และ 240 มิลลิกรัม/100 กรัม และสารโทคอลเท่ากับ 35, 27 และ 3 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ

4.1.3 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

1. วิธี DPPH radical scavenging

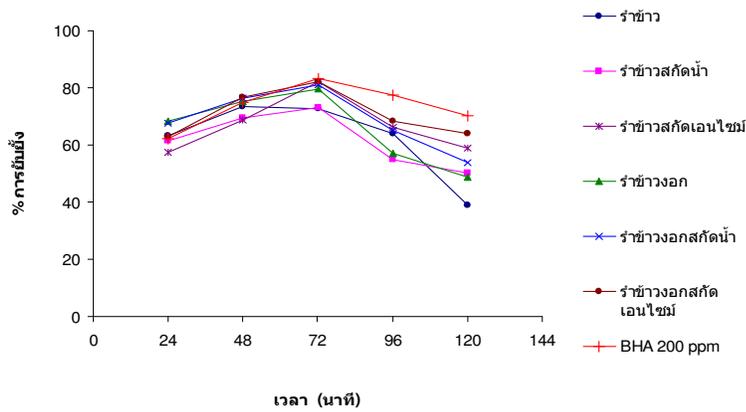
จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging พบว่าชนิดของรำข้าวและวิธีการสกัด มีผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยมีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด เท่ากับ 36.44 และ 34.86 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ในรำข้าวและรำข้าววงอกที่สกัดด้วยเอนไซม์ตามลำดับ (รูปที่ 9)



รูปที่ 9 เปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging

2. วิธี Linoleic acid emulsion system-thiocyanate

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Linoleic acid emulsion system-thiocyanate ตัวอย่างต่างชนิดกันแต่บ่มที่เวลาเดียวกัน พบว่าที่ 72, 96 และ 120 ชั่วโมง มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยที่ 72 ชั่วโมง รำข้าวและรำข้าววงอกที่สกัดด้วยเอนไซม์มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระสูงสุด คือเท่ากับ 82.11 % และ 82.36 % ตามลำดับ (รูปที่ 10)



รูปที่ 10 เปอร์เซนต์ยับยั้งอนุมูลอิสระด้วยวิธี Linoleic acid emulsion system thiocyanate method

3. วิธี Total antioxidant capacity

การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Total antioxidant capacity โดยวิเคราะห์ผลเทียบกับสารละลายมาตรฐานชนิดต่างๆ พบว่าชนิดของรำข้าวและวิธีการสกัด มีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยรำข้าวและรำข้าวสกัดที่สกัดด้วยเอนไซม์มีปริมาณสารเทียบกับสารละลายมาตรฐานหรือสารต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ สูงสุด คือมีค่าเท่ากับ 86.66 ไมโครกรัม BHT/มิลลิกรัมตัวอย่าง 125.66 ไมโครกรัม BHA/มิลลิกรัมตัวอย่าง 250.15 ไมโครกรัมวิตามินซี/มิลลิกรัมตัวอย่าง และ 7.51 ไมโครกรัม gallic acid/มิลลิกรัมตัวอย่าง ในรำข้าวสกัดด้วยเอนไซม์ และ 104.23 ไมโครกรัม BHT/มิลลิกรัมตัวอย่าง 154.44 ไมโครกรัม BHA/มิลลิกรัมตัวอย่าง 313.31 ไมโครกรัมวิตามินซี/มิลลิกรัมตัวอย่าง และ 8.65 ไมโครกรัม gallic acid/มิลลิกรัมตัวอย่าง ในรำข้าวสกัดด้วยเอนไซม์ ตามลำดับ (ตารางที่ 9)

ตารางที่ 9 ตารางข้อมูลเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวสาคัดที่สภาวะต่าง ๆ ด้วยวิธี total antioxidant capacity (ความเข้มข้น 0.2 กรัมตัวอย่าง/มิลลิลิตร)

ตัวอย่าง	Total antioxidant capacity (μg standard eq./mg)			
	BHT	BHA	Vitamin C	Gallic acid
รำข้าว	2.18 \pm 0.33 ^{c,1}	2.17 \pm 0.36 ^{c,1}	3.10 \pm 0.56 ^{c,1}	0.40 \pm 0.48 ^{c,2}
รำข้าววงอก	7.19 \pm 0.12 ^{d,3}	8.06 \pm 0.15 ^{d,2}	12.82 \pm 0.25 ^{d,1}	1.03 \pm 0.01 ^{d,4}
รำข้าวสาคัดน้ำ	3.19 \pm 0.34 ^{c,2}	3.31 \pm 0.39 ^{c,2}	4.91 \pm 0.62 ^{de,1}	0.54 \pm 0.46 ^{c,3}
รำข้าววงอกสาคัดน้ำ	22.42 \pm 1.33 ^{c,2}	28.34 \pm 1.85 ^{c,2}	50.06 \pm 3.54 ^{c,1}	2.54 \pm 0.12 ^{c,3}
รำข้าวสาคัดด้วยเอนไซม์	86.66 \pm 0.44 ^{b,3}	125.66 \pm 0.72 ^{b,2}	250.15 \pm 1.56 ^{b,1}	7.51 \pm 0.03 ^{b,4}
รำข้าววงอกสาคัดด้วยเอนไซม์	104.23 \pm 1.73 ^{a,3}	154.44 \pm 2.82 ^{a,2}	313.31 \pm 6.19 ^{a,1}	8.65 \pm 0.12 ^{a,4}

a, b, c... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ ($P < 0.05$)

1, 2, 3... ตัวเลขที่มีตัวเลขกำกับที่แตกต่างกันในแนวนอน มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ ($P < 0.05$)

4.1.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติการลด Cholesterol ออกซิเดชัน

โดยวิเคราะห์ความสามารถในการลด LDL (Low-Density lipoprotein) ออกซิเดชัน ของรำข้าวสาคัด โดยวัดการเกิดลิปิดออกซิเดชัน (lipid ออกซิเดชัน) ของ LDL ที่ทำให้เกิดผลิตภัณฑ์อันดับสองคือ สารจำพวกอัลดีไฮด์ คือมาโลนิลดีไฮด์ (malonyldehyde) ซึ่งจะสามารถทำปฏิกิริยากับสารละลาย Thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) พบว่าค่า TBARS ของรำข้าวและรำข้าววงอกที่สกัดด้วยเอนไซม์มีค่าที่ต่ำที่สุด เท่ากับ 8.97 และ 8.52 ไมโครกรัม TBARS/กรัมของรำข้าว/100 ไมโครกรัม ของโปรตีน ตามลำดับ (ตารางที่ 10)

ผลการศึกษากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระนี้สอดคล้องงานวิจัยของ (Iqbal *et al.*, 2007) ได้ศึกษาองค์ประกอบและคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของรำสาคัดจากข้าวสาลีชนิดต่างๆ ในปากีสถาน พบว่ารำข้าวมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระอยู่ระหว่าง 51-79 % Yu *et al.*, (2005) ได้ศึกษาผลของรำข้าวสาลีสกัดต่อการยับยั้งการเกิด LDL ออกซิเดชัน และ อนุมูลอิสระในมนุษย์ พบว่ารำสาคัดมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระ 49-72 % แสดงให้เห็นว่ารำข้าวสาคัดมีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีเนื่องมาจากในรำข้าวมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมากมาย เช่น สารประกอบฟีนอลิก แกมมาออริซานอล โทโคเฟอรอล โทโคไตรอีนอล (Imsanguan *et al.*, 2007) และกรดไฟติก เป็นต้น (Febles *et al.*, 2002) ซึ่งนอกจากจะมีคุณค่าทางโภชนาการแล้ว ยัง

ช่วยเสริมสร้างสุขภาพ รวมทั้งป้องกันการเกิดโรคได้ เช่น ช่วยลดโคเลสเตอรอล (Chen *et al.*, 2005) ช่วยลดอนุมูลอิสระ ต้านโรคมะเร็งได้

ตารางที่ 10 แสดงค่า TBARS ของรำข้าวที่สภาวะการสกัดต่างกัน

ตัวอย่าง	ไมโครกรัม TBARS/กรัมตัวอย่าง/100 ไมโครกรัมโปรตีน
รำข้าว	22.45 ± 0.28 ^f
รำข้าวงอก	18.65 ± 0.80 ^e
รำข้าวสกัดน้ำ	17.60 ± 0.55 ^d
รำข้าวงอกสกัดน้ำ	11.19 ± 0.21 ^c
รำข้าวสกัดด้วยเอนไซม์	8.97 ± 0.12 ^b
รำข้าวงอกสกัดด้วยเอนไซม์	8.52 ± 0.37 ^b
BHA	0.0053 ± 0.00 ^a

^{a, b, c} ... ตัวเลขที่มีตัวอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ ($P < 0.05$)

4.1.5 ความคงตัวในสภาวะต่างๆ ของสารออกฤทธิ์ชีวภาพในรำข้าวงอกสกัดด้วยเอนไซม์

1. ผลของระดับอุณหภูมิต่างๆ ต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

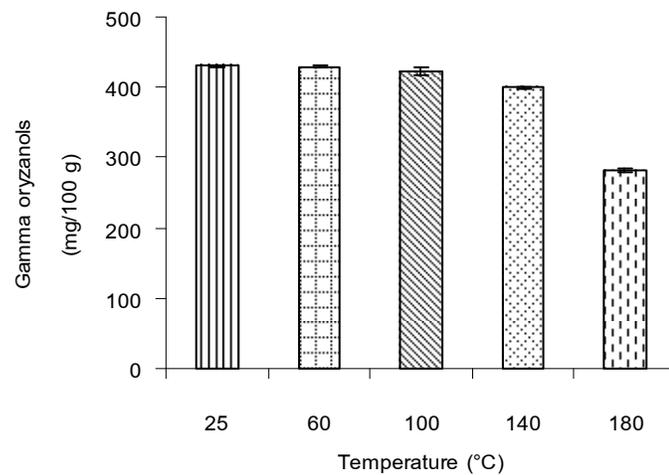
จากการนำรำข้าวงอกสกัดด้วยเอนไซม์มาทดสอบความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญ คือแกมมาออร์นิทีนและแอลฟาโทโคเฟอรอล ที่ระดับอุณหภูมิต่างๆ พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการสูญเสียปริมาณสารแกมมาออร์นิทีนและแอลฟาโทโคเฟอรอล อย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) โดยสูญเสียมากที่สุดที่อุณหภูมิ 180 °C เวลาบ่ม 60 นาที มีค่าเท่ากับ 281.46 มิลลิกรัม/100 กรัม และ 4.40 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ (ตารางที่ 11, รูปที่ 11 และ รูปที่ 12)

ตารางที่ 11 แสดงผลของความร้อนต่อความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในรำข้าวสากสกัดด้วยเอนไซม์

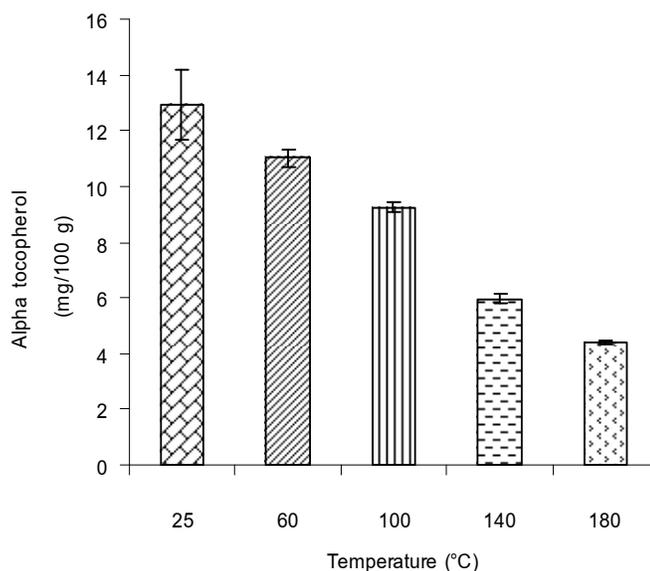
สภาวะการทดสอบ (บ่ม 60 นาที)	แกมมาออริซานอล (มิลลิกรัม/100 กรัม)	% การ เปลี่ยนแปลง*	แอลฟาโทโคเฟอรอล (มิลลิกรัม/100 กรัม)	% การ เปลี่ยนแปลง*
25 °C	429.63 ± 0.41 ^a	0	12.93 ± 1.28 ^a	0
60 °C	429.36 ± 1.73 ^a	0.06	11.03 ± 0.31 ^{ab}	14.84
100 °C	422.87 ± 4.78 ^a	1.57	9.25 ± 0.20 ^b	28.52
140 °C	399.33 ± 1.37 ^b	7.05	5.95 ± 0.17 ^c	54.02
180 °C	281.46 ± 3.22 ^c	34.49	4.40 ± 0.05 ^c	66.00

^{a, b, c, ...} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

* คือ % การเปลี่ยนแปลงเปรียบเทียบกับค่าสกัดที่ 25 °



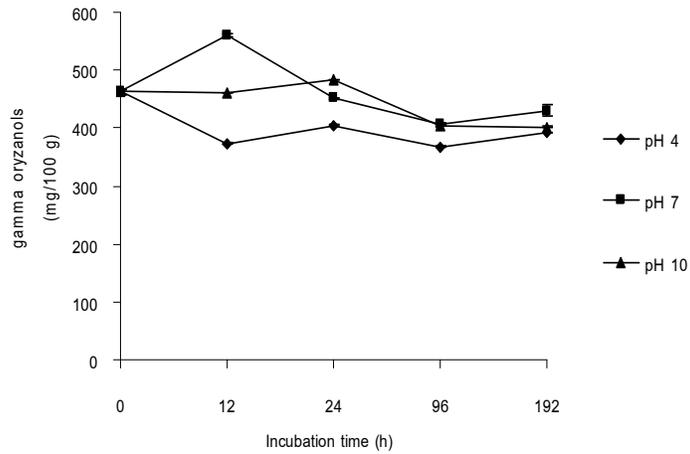
รูปที่ 11. ผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของ γ -oryzanol ในรำข้าวสากสกัด



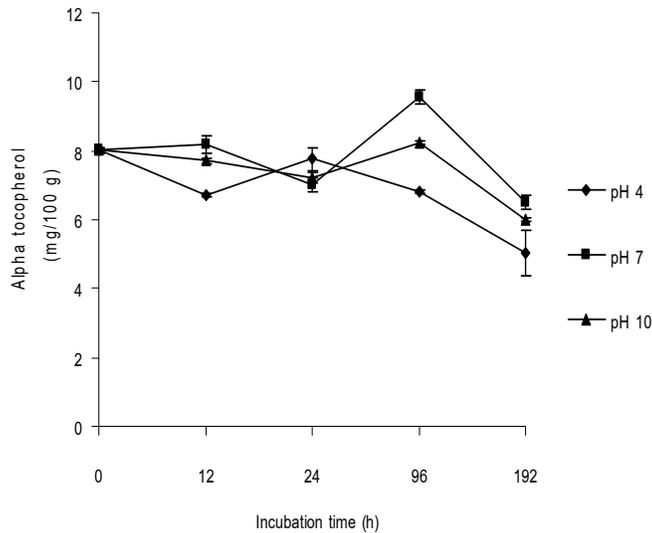
รูปที่ 12 ผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของ α - tocopherol ในรำข้าวสาคัด

2. ผลของ pH และระยะเวลาบ่ม

จากการทดสอบความคงตัวของสารแกมมาอริซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอลที่ระดับ pH 3 ระดับ คือ pH 4, 7 และ 10 และระยะเวลาบ่มที่เวลาต่างๆ พบว่า pH และระยะเวลาบ่ม มีอิทธิพลร่วมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดย pH ต่ำหรือสภาพความเป็นกรดสูงมีแนวโน้มทำให้ปริมาณสารแกมมาอริซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอลลดลงมากที่สุดและที่ pH เดียวกัน พบว่าเมื่อเวลาบ่มเพิ่มขึ้นมีแนวโน้มทำให้สารทั้งสองชนิดลดลงเมื่อเทียบกับไม่ผ่านการบ่ม ซึ่งปริมาณสารแกมมาอริซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอลมีความคงตัวมากที่สุดคือ pH 7 ที่ระยะเวลาบ่ม 12 ชั่วโมง มีปริมาณสารเท่ากับ 560.53 มิลลิกรัม/100 กรัม และ 8.20 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วน pH 4 มีปริมาณสารลดลงสูงสุด เท่ากับ 292.28 มิลลิกรัม/100 กรัม และ 3.82 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ (รูปที่ 13, 14)



รูปที่ 13 ผลของ pH ต่อความคงตัวของ γ -oryzanol ในรำข้าวสาคัด



รูปที่ 14. ผลของ pH ต่อความคงตัวของ α - tocopherol ในรำข้าวสาคัด

การทดสอบความคงตัวของสารแกมมาออร์ซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอล ที่ระดับอุณหภูมิและ pH ต่างๆ เนื่องจากสารแกมมาออร์ซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอลเป็นสารองค์ประกอบที่ละลายในไขมัน ที่มีฤทธิ์ต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน แต่ไขมันเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ง่ายเมื่อสัมผัสกับอากาศ แสง ความร้อน และ pH ไม่เหมาะสม สภาวะดังกล่าวอาจมีผลต่อความคงตัวของสารสองชนิดนี้ในไขมันได้ จากการศึกษาความคงตัวของสารทั้งสองชนิด พบว่าที่อุณหภูมิสูงขึ้นทำให้ปริมาณสารทั้งสองชนิดลดลง โดยลดลงมากที่สุด ที่อุณหภูมิ 180 องศาเซลเซียส ระยะเวลาบ่ม 60 นาที ($p < 0.05$) แกมมาออร์ซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอลมีปริมาณเท่ากับ 281.46 มิลลิกรัม/100 กรัม และ 4.40 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วนความ

คงตัวต่อ pH พบว่าสารคงตัวมากที่สุดที่ pH 7 ที่ระยะเวลาบ่ม 12 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 560.53 มิลลิกรัม/100 กรัม และ 8.20 มิลลิกรัม/100 กรัม ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Khuwijijaru ซึ่งได้ทำการศึกษาศูญเสียปริมาณแกมมาออริซานอลในน้ำมันรำข้าวระหว่างการให้ความร้อน พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการสกัดตัวอย่างเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณสารแกมมาออริซานอลมีปริมาณลดลง ดังนั้นอุณหภูมิและ pH จึงมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อผลิตภัณฑ์รำข้าวสกัดที่นำมาประยุกต์ใช้ในเชิงอุตสาหกรรมอาหาร เครื่องดื่ม และเครื่องสำอาง เป็นต้น

จากการศึกษาของ Arabshahi และคณะ (2007) ได้ศึกษาผลของความร้อน pH และการเก็บรักษาต่อความคงตัวของสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากพืช โดยทดลองในพืช ครัมสตัก ไบมีนัต และแครอท ทำการศึกษาที่ pH 4 และ 9 และสกัดที่อุณหภูมิ 100° C เป็นเวลา 15 นาที พบว่าที่ pH 9 ไบมีนัตและแครอทมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าที่ pH 4 ส่วนครัมสตักมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระไม่เปลี่ยนแปลง และจากการให้ความร้อนพบว่าแครอทมีความคงตัวต่อความร้อนสูงสุด Arabshahi และ Orooj (2007) ได้ทำการศึกษาคูสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากใบหม่อนและศึกษาผลของอุณหภูมิ 50°C และ 100°C แต่ละอุณหภูมิเก็บเป็นเวลา 60 นาที และ 20 นาที pH 3, 5, 7, 9 และ 11 และเก็บรักษาที่ 5°C เป็นเวลา 30 และ 90 วัน ต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด พบว่ากิจกรรมการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดไม่เปลี่ยนแปลง โดยกิจกรรมการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีความคงตัวที่ดี ที่อุณหภูมิ 50°C (pH 7) สำหรับการเก็บสารสกัดที่ 5°C เป็นเวลา 30 วัน ไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของสารต้านอนุมูลอิสระแต่หลังจากใช้เวลาเก็บมากขึ้นจะทำให้กิจกรรมการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระลดลง Imsanguan และคณะ (2007) ได้ทำการศึกษาศักดิ์สารแอลฟาโทโคเฟอรอลและแกมมาออริซานอล โดยใช้วิธีการสกัดด้วย supercritical carbon dioxide (SC-CO₂) ที่อุณหภูมิในการสกัด 45-65°C ใช้ความดันคงที่คือ 48 Mpa ปรับการไหลของคาร์บอนไดออกไซด์ 0.45 มิลลิลิตร/นาที พบว่าการเพิ่มอุณหภูมิในการสกัดจะช่วยเพิ่มอัตราการสกัดสารเพิ่มขึ้น คือเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้นทำให้ความหนืดของสารลดลงทำให้เกิดการแพร่กระจายทำให้อัตราการสกัดสูงขึ้น โดยปริมาณแอลฟาโทโคเฟอรอลสกัดที่อุณหภูมิ 55°C และแกมมาออริซานอลสกัดที่อุณหภูมิ 65°C ให้ปริมาณสารสูงสุดเท่ากับ 127.33 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (12.733 มิลลิกรัม/100 กรัม) และ 11,371.79 มิลลิกรัม / กิโลกรัม (1137.179 มิลลิกรัม/100 กรัม) ตามลำดับ

สรุปและข้อเสนอแนะ

การศึกษาศารออกฤทธิ์ชีวภาพของรำข้าวสกัดโดยใช้เอนไซม์พร้อมทั้งศึกษาความคงตัวของสารออกฤทธิ์ชีวภาพ เปรียบเทียบกับรำข้าวไม่สกัด พบว่ารำข้าวสกัดด้วยเอนไซม์มีปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนกรดไขมันมีปริมาณลดลง การศึกษาผลของความร้อนและ pH ต่อความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญในรำข้าวสกัดได้แก่ แกมมาออริซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอล

พบว่าความร้อนที่อุณหภูมิ 180°C บ่ม 60 นาทีและ pH 4 มีผลต่อการลดลงของปริมาณสารแกมมาออริซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอล อย่างมีนัยสำคัญ

4.1.6 ผลการวิจัย อภิปรายและวิจารณ์ การประยุกต์ใช้รำข้าวสาคัดในการผลิตเครื่องดื่มผงสำเร็จรูป

1. ผลการศึกษารวมวิธีในการอบแห้ง อัตราส่วนที่เหมาะสมของปริมาณข้าวโพดและรำข้าวสาคัด ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงสำเร็จรูป

การทดลองนำส่วนผสมพื้นฐานไปผ่านการทำแห้งแบบ drum dryer เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต พบว่าการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 130-150°C ความเร็วรอบ 10 รอบต่อนาที ระยะห่างลูกกลิ้ง 100 ไมโครเมตร ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความชื้นหนืด และกำลังการพองตัวดี เหมาะแก่การทำเครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูป เนื่องจากผลิตภัณฑ์นี้ไม่ต้องการให้มีความมีความหนืดมาก เพราะจะทำให้การละลายได้ลดลง ดังแสดงใน ตารางที่ 12

จากการทดสอบโดยผู้ชิมจำนวน 20 คนเพื่อปรับปรุงสูตรเครื่องดื่ม จากสูตรเครื่องดื่มธัญพืชพื้นฐานให้เหมาะสมก่อนผสมกับรำสาคัดพบว่า สูตรที่มีส่วนผสมของ แป้งข้าวโพดและข้าวกลี้ง เท่ากับ 10.20 และ 6.84 กรัม ได้รับคะแนนความชอบด้าน กลิ่น รสชาติ ความหนืด และความชอบโดยรวม ด้วยคะแนนเฉลี่ยมากที่สุด จากนั้นนำไปผสมที่ได้มาประยุกต์ใช้กับรำสาคัดโดยใช้รำสาคัดแทนที่ข้าวกลี้ง แล้วให้ผู้ชิมทำการทดสอบ โดยออกแบบการทดลองเป็น randomized complete block design (RCBD) โดยให้ผู้ทดสอบชิมเป็นบล็อก แล้วทำการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้วยวิธี Hedonic scale (9-point) ด้านสี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมกับผู้ทดสอบชิม 20 คน ที่ไม่ผ่านการฝึกฝน (ตารางที่ 13) พบว่าผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับสูตรที่ 1 และ 2 ที่มีการเติมรำข้าวสาคัด 1g (30.14%) และ 2g (36.98%) สูงที่สุดในด้านสี (คะแนน 7.55 และ 7.90 ตามลำดับ) กลิ่น (คะแนน 7.90 และ 7.50) เนื้อสัมผัส (7.95 และ 7.75) และ ความชอบรวม (7.95 และ 7.75) ในขณะที่ด้านรสชาติ ผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับสูตรที่ 2 (7.75 คะแนน) มากที่สุด ด้าน ผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับสูงสุด

ตารางที่ 12 ผลของสภาวะการทำแห้งต่อลักษณะทางกายภาพของเครื่องดื่มผง

อุณหภูมิ (°C)	a_w	สี			ความหนืด	การพองตัว	การละลาย	ความชื้น
		L*	a*	b*				
120	0.39±0.00 ^a	87.76 ±0.02 ^c	6.08 ±0.08 ^c	64.92 ±0.04 ^c	14.17 ±0.12 ^b	8.73 ±1.17 ^a	30.13 ±7.31 ^a	11.20 ±0.20 ^a
130	0.32±0.00 ^b	82.91 ±0.10 ^b	9.34 ±0.04 ^b	59.17 ±0.07 ^b	20.97 ±3.13 ^a	7.94 ±0.05 ^a	27.77 ±1.19 ^a	4.80 ±0.20 ^b
140	0.28±0.01 ^c	78.77 ±0.07 ^a	12.94 ±0.07 ^a	55.64 ±0.12 ^a	13.90 ±0.92 ^b	7.69 ±0.55 ^a	29.61 ±2.61 ^a	3.33 ±0.31 ^c

หมายเหตุ อักษร a-c ในแนวดิ่งที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ตารางที่ 13 คะแนนความชอบทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่มธัญญาหารสำเร็จรูป

สูตร ที่	รำข้าว สกัด (g)	ข้าวโพด (g)	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบรวม
1	4.4 (30.14%)	10.2	7.55 ± 0.56 ^a	7.90 ± 0.39 ^a	7.10 ± 0.35 ^b	7.95 ± 0.25 ^a	7.95 ± 0.39 ^a
2	5.4 (36.98%)	10.2	7.90 ± 0.33 ^a	7.50 ± 0.55 ^a	7.75 ± 0.26 ^a	7.75 ± 0.16 ^a	7.75 ± 0.16 ^a
3	6.4 (43.84%)	10.2	5.90 ± 0.35 ^b	5.85 ± 0.45 ^b	5.45 ± 0.26 ^c	5.95 ± 0.41 ^b	5.70 ± 0.11 ^b

หมายเหตุ อักษร a-d ในแนวดิ่งที่ต่างกัน หมายถึง มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

คะแนนความชอบอธิบายดังนี้

- | | | |
|---------------------|---------------|-------------------|
| 1 = ไม่ชอบมากที่สุด | 2 = ไม่ชอบมาก | 3 = ไม่ชอบปานกลาง |
| 4 = ไม่ชอบเล็กน้อย | 5 = เฉย ๆ | 6 = ชอบเล็กน้อย |
| 7 = ชอบปานกลาง | 8 = ชอบมาก | 9 = ชอบมากที่สุด |

2. องค์ประกอบทางเคมีของเครื่องดื่มผงสำเร็จรูป

โดยนำสูตรที่ได้ผ่านการคัดเลือกจากข้อ 2 มาทำการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมี ได้แก่ โปรตีน ไขมัน ความชื้น เถ้า ปริมาณเยื่อใย และ คาร์โบไฮเดรต พบว่า ผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณโปรตีน เถ้า ไขมัน เส้นใย ความชื้น และคาร์โบไฮเดรต ร้อยละ 8.21, 4.39, 2.36, 6.00, 3.96 และ 75.08 ตามลำดับ ส่วนสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่สำคัญ พบว่าในเครื่องดื่มผงสำเร็จรูปผสมรำข้าวสาคัดด้วยเอนไซม์มีสาร α -tocopherol ปริมาณ 44.69 ± 7.40 มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และมีสาร γ -oryzanol 252.44 ± 5.5 มิลลิกรัม/ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง

สรุป และข้อเสนอแนะ

รำข้าวสาคัดโดยเอนไซม์ สามารถผสมในเครื่องดื่มผงได้ประมาณ 30-37% โดยน้ำหนักของส่วนผสมทั้งหมด ทั้งนี้เนื่องจากมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภค อย่างไรก็ตาม ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีองค์ประกอบที่มีสารออกฤทธิ์ชีวภาพสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ

ข้อเสนอแนะ นอกจากใช้รำข้าวสาคัดเป็นส่วนผสมเครื่องดื่มรำข้าวสาคัด สำเร็จรูป ตามงานวิจัยนี้แล้ว ยังน่าจะสามารถผสมกับอาหารอื่นๆ ได้อีก มากมาย โดยเฉพาะอาหารที่มีแป้งหรือธัญพืช เป็นส่วนผสมหลัก

4.1.7 ผลการวิจัย อภิปราย และวิจารณ์ผล

การผลิตสาร USM จากรำข้าว

1. การวิเคราะห์หาปริมาณผลผลิตของ USM

หลังจากการสกัดน้ำมันจากรำ พบว่า รำข้าวให้ปริมาณน้ำมันเท่ากับ 8% เมื่อนำน้ำมันรำข้าวมาสกัดเอาสาร USM โดยวิธีต่างๆ ได้ผลดังตารางที่ 14 ซึ่งพบว่า ปริมาณของ USM มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อใช้อุณหภูมิสูงขึ้น แสดงว่าอุณหภูมิในการสกัด USM มีผลต่อปริมาณของ USM จากการศึกษ ปริมาณสาร USM ที่สกัดได้มีค่าอยู่ประมาณ 2.89 ถึง 3.93 %

ตารางที่ 14 ปริมาณ (%yield) ของ USM ที่ระดับอุณหภูมิ 60°C 80 °C และ 100 °C

Temperature (°C)	USM (%yield)
60	2.89 ± 0.34 ^b
80	3.47 ± 0.23 ^a
100	3.73 ± 0.16 ^a

2. องค์ประกอบทางเคมีของ USM

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ของสาร USM พบว่ามีองค์ประกอบดังตารางที่ 15 คือ มี α -Tocopherol และ Gamma oryzanol เท่ากับ 13.82 และ 16.17% ที่เหลืออีก 70% งานวิจัยนี้ ไม่ได้ทำการวิเคราะห์แยกแยะ แต่จากเอกสารทั่วไป สารที่เหลือจะเป็น สาร phytosterols

ตารางที่ 15 องค์ประกอบทางเคมี ของสาร USM

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ (%)
α -Tocopherol	13.82±1.26
Gamma oryzanol	16.17±0.85
Phytosterol และ อื่นๆ	70.01

3. ผลของ pH ต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ γ -oryzanols และ α - tocopherol ของสาร USM

จากการนำสาร USM มาศึกษาความคงตัวของ pH ต่างๆ โดยคู่อิทธิพลร่วมระหว่าง pH กับระยะเวลาในการเก็บรักษา เปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่ได้ปรับ pH (control) พบว่า ที่ pH 4 เท่านั้นที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ γ -oryzanols และ α - tocopherol ดังนั้นจึงแสดงผลเฉพาะที่ pH 4 ดังตารางที่ 16 โดยเมื่อเวลาการเก็บที่ pH นี้เพิ่มขึ้นเป็น 24-48 ชม. จะทำให้ปริมาณสารทั้งสองชนิดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ 16 อิทธิพลของ pH 4 และระยะเวลาต่อปริมาณ γ -oryzanols และ α - tocopherol

ระยะเวลา (ชั่วโมง)	ปริมาณ γ -oryzanols (g/100g)	การสูญเสีย (%)	ปริมาณ α -tocopherol (g/100g)	การสูญเสีย (%)
control	15.88 \pm 0.91 ^a	0	11.29 \pm 0.89 ^a	0
0	14.80 \pm 0.49 ^b	0.79	10.79 \pm 1.14 ^{ab}	4.46
12	14.23 \pm 0.32 ^b	8.94	9.85 \pm 1.14 ^{bc}	12.80
24	14.45 \pm 0.93 ^{bc}	10.38	8.74 \pm 0.93 ^{cd}	22.64
48	13.46 \pm 0.99 ^c	15.23	8.31 \pm 0.86 ^d	26.39

controlUSM ที่ไม่ได้ปรับ pH

^{a,b,c}มีความแตกต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

4. การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของสาร USM โดยวิธี Lipid perออกซิเดชัน

จากการวิเคราะห์หากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี lipid perออกซิเดชัน ได้ผลดังตารางที่ 17 พบว่า สาร USM ที่ยังไม่ผ่านการปรับ pH มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีที่สุดโดยมีค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 8.12 \pm 0.24 mg/ml รองลงมาคือ สาร USM ที่เก็บที่ pH 7 และ pH 10 ส่วนที่สาร USM ที่เก็บที่ pH 4 มีค่าการต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด ทั้งนี้ระยะเวลาในการเก็บไม่มีผลต่อการลดลงของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 17 อิทธิพลของ pH ต่อ Lipid perออกซิเดชัน (ชั่วโมงที่ 48)

pH	IC ₅₀ (mg/ml)	% การเกิด Lipid per ออกซิเดชัน
Control	8.12 ± 0.24 ^a	9.14
pH4	9.18 ± 0.80 ^b	22.58
pH7	8.84 ± 0.04 ^{ab}	18.82
pH10	8.85 ± 0.49 ^{ab}	18.95
BHA	7.44 ± 0.01	0

^{a,b,c,d}มีความแตกต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p < 0.05$)

5. การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Total antioxidant capacity

กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระแสดงเป็นประสิทธิภาพการยับยั้งเทียบกับสารสังเคราะห์ BHA (ตารางที่ 18) สาร USM ที่ไม่ผ่านการปรับ pH มีค่าการยับยั้งได้ดีที่สุด ($3.32 \pm 0.14 \mu\text{gBHA/mg}$) และพบว่าทุก pH และเวลาการบ่มจนถึง 24 ชั่วโมง ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ จนถึงชั่วโมงที่ 48 พบว่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในลดลงอย่างมีนัยสำคัญในทุก pH

ตารางที่ 18 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Total antioxidant capacity ของ USM ที่ pH ระดับต่างๆ

Time (hr)	BHA(ug/mg)			
	pH4	pH7	pH10	control
0	3.36 ± 0.37 ^a	3.30 ± 0.35 ^a	2.70 ± 0.17 ^a	3.32 ± 0.14
12	3.22 ± 0.10 ^a	3.31 ± 0.36 ^a	2.48 ± 0.12 ^{ab}	
24	3.09 ± 0.44 ^a	3.22 ± 0.82 ^a	2.48 ± 0.12 ^{ab}	
48	2.98 ± 0.30 ^b	2.46 ± 0.11 ^b	2.38 ± 0.09 ^b	

^{a,b,c,d}มีความแตกต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p < 0.05$)

6. ผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงสารออกฤทธิ์ชีวภาพของสาร USM

6.1 ผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ γ -oryzanols

การวิเคราะห์ความคงตัวต่อความร้อนของ γ -oryzanols ในสาร USM โดยคู่อิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิกับเวลาในการให้ความร้อน โดยนำตัวอย่างสาร USM ไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 60°C, 100°C, 140°C และ 180°C เป็นเวลา 30 และ 60 นาที แล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณ γ -oryzanols เปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม คือตัวอย่างที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน พบว่าอุณหภูมิและเวลาไม่มีอิทธิพลร่วมที่ทำให้ปริมาณ γ -oryzanols ลดลง มีเฉพาะอุณหภูมิเท่านั้นที่เป็นปัจจัยทำให้ปริมาณ γ -oryzanols แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 19 γ -oryzanols ของ USM มีความคงตัวมากที่สุดที่อุณหภูมิ 60°C ถึง 100°C และเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นที่ 140°C จะทำให้ปริมาณ γ -oryzanols สูญเสียมากขึ้นและสูญเสียมากที่สุดที่อุณหภูมิ 180°C โดยเมื่อเทียบ%การสูญเสียกับ USM ที่ไม่ผ่านการให้ความร้อน พบว่าที่อุณหภูมิ 60°C, 100°C, 140°C และ 180°C มีการสูญเสียเป็น 5.88, 6.25, 32.59 และ 90.41% ตามลำดับ ในทำนองเดียวกับงานวิจัยของ Pramote และคณะ(2004) ที่ได้ศึกษาการสูญเสียปริมาณ γ -oryzanols ในน้ำมันรำข้าวระหว่างการให้ความร้อน ซึ่งพบว่าปริมาณ γ -oryzanols จะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้น คืออุณหภูมิมีผลต่ออัตราการสลายตัวของ γ -oryzanols เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 120°C ถึง 200°C จะเพิ่มอัตราการสูญเสีย γ -oryzanols มากขึ้น และลด half-life ของ γ -oryzanols ลงประมาณ 10 เท่า ในการผลิตน้ำมันรำข้าวในอุตสาหกรรมทั่วไป ซึ่งใช้อุณหภูมิสูงในการสกัดน้ำมัน ยังมีรายงานการวิจัยว่ามีปริมาณ gamma oryzanol อยู่ค่อนข้างมาก เช่น ในปี 1997 Shin ได้ศึกษาผลของความร้อนต่อ ปริมาณของ gamma oryzanol พบว่าที่ 110 °C มีผลต่อการลดลงน้อยมาก

ตารางที่ 19 อิทธิพลของอุณหภูมิในการให้ความร้อนต่อปริมาณแกมมาโอริซานอล

อุณหภูมิ (°C)	ปริมาณ γ -oryzanols (g/100g)	การสูญเสีย (%)
control	16.17 ± 0.84 ^a	0
60	15.22 ± 0.56 ^a	5.88
100	15.16 ± 0.44 ^a	6.25
140	10.90 ± 0.31 ^b	32.59
180	1.55 ± 0.38 ^c	90.41

a,b,cมีความแตกต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ($p < 0.05$)

6.2 ผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ α - tocopherol

เมื่อนำสาร USM ที่ผ่านการทดสอบความคงตัวต่อความร้อนแบบเดียวกับ γ -oryzanols มาวิเคราะห์หาปริมาณ α - tocopherol พบว่าอุณหภูมิและเวลาที่มีผลทำให้ปริมาณ α - tocopherol ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 20 จากตาราง ปริมาณการสูญเสีย α - tocopherol ที่อุณหภูมิ 60°C, 100°C และ 140°C เวลา 30 และ 60 นาทีไม่มีความแตกต่างกัน ($p < 0.05$) แต่เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นถึง 180°C จะมีการสูญเสียเพิ่มขึ้นและยิ่งเพิ่มเวลาในการให้ความร้อนต่อไปก็ยิ่งมีการสูญเสียมากยิ่งขึ้น อย่างไรก็ตามมีรายงานว่า วิตามินอีคงทนต่อความร้อนสูงถึง 200°C ทนต่อกรด แต่ถูกทำลายได้ง่ายเมื่ออยู่ในสภาวะที่เป็นด่างและแสงอุลตราไวโอเลต

ตารางที่ 20 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาต่อปริมาณ α - tocopherol

อุณหภูมิ (°C)	เวลา	ปริมาณ α -tocopherol (g/100g)	การสูญเสีย (%)
60	30	12.08 ± 1.21 ^b	12.53
	60	11.94 ± 0.50 ^b	13.54
100	30	11.52 ± 0.41 ^b	16.58
	60	11.60 ± 0.29 ^b	16.00
140	30	11.15 ± 0.49 ^b	19.26
	60	11.20 ± 0.14 ^b	18.90
180	30	8.02 ± 0.23 ^c	41.93
	60	5.77 ± 0.23 ^d	58.23
control		13.81 ± 1.26 ^a	0

a,b,cมีความแตกต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

7. ผลของปฏิกิริยาออกซิเดชัน (ออกซิเดชัน) ต่อการเปลี่ยนแปลงสารออกฤทธิ์ชีวภาพใน สาร USM

7.1 ผลของปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ α -tocopherol และ gamma oryzanol

จากการวิเคราะห์หาปริมาณ α -tocopherol ใน USM ในสภาวะกระตุ้นการเกิด ออกซิเดชัน เป็นเวลา 12 วัน โดยสุ่มตัวอย่างมาวิเคราะห์ทุกๆ 4 วัน ได้ผลตามตารางที่ 21 พบว่า USM ที่ยังไม่ผ่านการเก็บนั้นมี α -tocopherol มากที่สุดเท่ากับ 13.82 ± 1.26 g/100g เมื่อเก็บในสภาวะกระตุ้นการเกิด ออกซิเดชัน เป็นเวลา 8 และ 12 วันพบว่า มีผลทำให้ปริมาณของ α -tocopherol ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยมีปริมาณลดลงถึง 39.36

และ 40.52 % ตามลำดับ การที่ tocopherols มีปริมาณลดลงอาจเกิดขึ้นเนื่องจาก tocopherols ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระถูกใช้ไปในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้สูญเสียสภาพ ซึ่งปรากฏว่าการลดลงชัดเจนเมื่อเวลาการเก็บผ่านไปจนถึงวันที่ 8

ผลของการเก็บ USM ในสภาวะกระตุ้นปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณ gamma oryzanol ให้ผลดังตารางที่ 21 พบว่าใน USM ที่ยังไม่ผ่านการเก็บมี gamma oryzanol มากที่สุดคือ 16.17 ± 0.85 g/100g และเมื่อเก็บไว้นานถึง 8 วันปริมาณ gamma oryzanol ลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ เมื่อเทียบกับปริมาณ gamma oryzanol เริ่มต้น จนกระทั่งถึงวันที่ 12 จึงพบว่า gamma oryzanol ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (13.82 g/100g) สาร gamma oryzanol ค่อนข้างมีความคงตัวต่อการเกิดออกซิเดชัน และถึงแม้จะมีการกระตุ้นให้เกิดออกซิเดชัน ก็ตาม ดังนั้นการลดลงของปริมาณ gamma oryzanol นั้นส่วนใหญ่น่าจะมีผลมาจากระยะเวลาการเก็บเป็นส่วนใหญ่ เมื่อเปรียบเทียบอัตราการลดลงของปริมาณ α -tocopherol และ gamma oryzanol พบว่า α -tocopherol ค่อนข้างสูญเสียได้ง่ายกว่าโดยเมื่อเก็บไว้ 12 วัน α -tocopherol ลดลงถึง 40 % ขณะที่ gamma oryzanol ลดลงเพียง 14 %

ตารางที่ 21 ผลของปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสาร α -tocopherol และ gamma oryzanol

วันที่เก็บ	ปริมาณ (g/100g)			
	α -Tocopherol	% loss	Oryzanol	%loss
control	13.82 ± 1.26^a	0	16.17 ± 0.85^a	0
4	11.66 ± 3.19^a	15.62	15.97 ± 0.22^a	1.24
8	8.38 ± 0.54^b	39.36	15.49 ± 0.68^a	4.20
12	8.22 ± 0.20^b	40.52	13.82 ± 0.25^b	14.53

^{a, b, ...} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

7.2 ผลของความร้อนและปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาร USM

7.2.1 ผลของความร้อนต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของ USM โดยวิธี DPPH radical scavenging

การวิเคราะห์แสดงผลเป็นค่า IC_{50} เปรียบเทียบกับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน คือ BHA และ γ -oryzanols ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 22 พบว่าอุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อน ไม่มีอิทธิพลร่วมต่อค่า IC_{50} โดยมีเฉพาะอุณหภูมิเท่านั้นเป็นปัจจัยที่มีผลทำให้ค่า IC_{50} เพิ่มขึ้น ($p < 0.05$) ที่อุณหภูมิ 60°C สาร USM มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด โดยแสดงเป็นค่า IC_{50} ต่ำที่สุด (13.20mg/ml) เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 100°C ขึ้นไป ค่า IC_{50} จะเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 22 อิทธิพลของอุณหภูมิในการให้ความร้อนต่อค่า IC_{50} DPPH radical scavenging

อุณหภูมิ (°C)	ค่า IC_{50} (mg/ml)
control	11.71 ± 0.69 ^a
60	13.19 ± 0.70 ^a
100	16.17 ± 0.83 ^b
140	22.03 ± 1.27 ^c
180	39.67 ± 2.36 ^d
BHA	0.054 ± 0.00
γ -oryzanols	0.789 ± 0.01

^{a-d}มีความแตกต่างกันในแถวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

7.2.2 ผลของความร้อนต่อ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ของ USM โดยวิธี Total antioxidant capacity

จากการนำสาร USM มาวิเคราะห์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Total antioxidant capacity โดยวิเคราะห์อิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิและเวลา ทำการเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดกับสารละลายมาตรฐาน BHA, γ -oryzanols แปรผลเป็น mg equivalent standard (BHA, γ -oryzanols)/kg ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่าฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ผลปรากฏว่าอุณหภูมิเท่านั้นเป็นปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของ USM ดังตารางที่ 23 โดยพบว่าประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระจะลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเทียบกับ USM ที่ไม่ผ่านความร้อน (16.17 meq BHA/kg , 91.54 meq γ -oryzanols /kg) เป็น 16, 15.13, 13.90, 9.13 17 meq BHA/kg และ 90.22, 83.46, 74.19, 44.64 meq γ -oryzanols /kg ที่อุณหภูมิ 60°C, 100°C, 140°C และ 180°C ตามลำดับ

ตารางที่ 23 ผลของอุณหภูมิต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสาร USM โดยวิธี Total antioxidant capacity

อุณหภูมิ (°C)	ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (meqSTD ^x /kg)	
	BHA	γ-oryzanol
control	16.17 ± 0.39 ^a	91.54 ± 3.04 ^a
60	16.00 ± 0.33 ^a	90.22 ± 2.54 ^a
100	15.12 ± 0.36 ^b	83.46 ± 2.73 ^b
140	13.90 ± 0.32 ^c	74.19 ± 2.36 ^c
180	9.63 ± 0.38 ^d	44.64 ± 2.46 ^d

^xสารมาตรฐาน (BHA; Butylated hydroxyanisole และ γ-oryzanols

^{a-d}มีความแตกต่างกันในแถวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

7.2.3 ผลของความร้อนต่อ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ของ USM โดยวิธี Lipid peroxidation

จากการวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี lipid peroxidation แปลผลออกมาเป็นค่า IC₅₀ เปรียบเทียบกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระกับสาร antioxidant มาตรฐานคือ BHA และ γ-oryzanols พบว่า อุณหภูมิและเวลาที่มีผลทำให้ค่า IC₅₀ แตกต่างกัน ($p < 0.05$) ดังในตารางที่ 24 ซึ่งกลุ่มที่ให้ความร้อน 60°C เป็นเวลา 30 และ 60 นาทีให้ค่า IC₅₀ ที่ดีที่สุด เทียบเท่ากับ USM ที่ยังไม่ผ่านการให้ความร้อน คือมีค่าเท่ากับ 14.69, 14.85 และ 13.92 mg/ml ตามลำดับและจะมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิและเวลามากขึ้น

ตารางที่ 24 ผลของอุณหภูมิและเวลาต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ของ สาร USM โดยวิธี Lipid peroxidation

อุณหภูมิ	เวลา	ค่า IC ₅₀ (mg/ml)
60	30	14.69 ± 0.75 ^a
	60	14.85 ± 1.19 ^a
100	30	16.19 ± 0.77 ^b
	60	16.19 ± 0.21 ^b
140	30	18.88 ± 0.45 ^c
	60	20.06 ± 0.56 ^c
180	30	31.97 ± 0.89 ^d
	60	37.88 ± 0.56 ^c
control		13.92 ± 0.34 ^a
BHA		0.042 ± 0.00
γ-oryzanol		0.57 ± 0.04

^{a-c}มีความแตกต่างกันในแถวแนวตั้งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

7.3 ผลของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ต่อการเหม็นหืน

7.3.1 ผลของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ต่อการเหม็นหืน โดยวัดค่า peroxide value (PV)

จากการวิเคราะห์ค่าการเหม็นหืน โดยการวัดค่า PV ซึ่งเป็นการวัดผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาอันดับหนึ่ง ของ ปฏิกิริยา ออกซิเดชัน ถ้า PV มีค่ามากแสดงว่ามีการเกิดออกซิเดชันมาก จากตารางที่ 25 พบว่า ค่า PV ของสาร USM ที่ยังไม่ผ่านการเกิดออกซิเดชันมีค่าน้อยที่สุด คือ 0.09 ± 0.06 mg/kg ($p < 0.05$) และมีมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อเก็บ 4, 8 และ 12 วัน โดยมีค่าเป็น 0.25 ± 0.05 , 0.32 ± 0.03 และ 0.37 ± 0.06 mg/kg ตามลำดับ จากค่า PV ที่ได้จากการทดลองนี้ ถือว่ามีค่าต่ำเนื่องจากโดยปกติค่า PV ของน้ำมันบริโภคอยู่ระหว่าง 0-3 และไม่ควรเกิน 5 - 10 mg สมมูลย์เปอร์ออกไซด์ ต่อน้ำมัน 1 kg (สถาบันอาหาร) ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ USM มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระและในส่วนของประกอบของสาร USM มีน้ำมันที่เป็นสารตั้งต้นในการที่จะเกิดออกซิเดชันน้อย

7.3.2 การวิเคราะห์ค่าการเหม็นหืน โดยวิธี TBARS (malonaldehyde)

จากการวิเคราะห์ค่าการเหม็นหืน โดยวิธี TBARS ดังตารางที่ 25 สาร USM ที่ยังไม่ผ่านการเกิดออกซิเดชัน มีค่า TBARS ต่ำมาก ทั้งนี้เนื่องมาจาก USM มีคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ และเนื่องจากว่าวิธีการทดสอบนี้เป็นการวัดปฏิกิริยาอันดับสอง สารที่ยังไม่ผ่านการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาจึงไม่มีผลิตภัณฑ์ของปฏิกิริยาให้วัด ในตัวอย่างที่กระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยา 12 วัน พบว่า มีค่า TBARS มากที่สุดคือ 0.06 ± 0.00 mg ($p < 0.05$) ซึ่งถือว่ามีค่าต่ำ เมื่อเปรียบเทียบกับค่า TBARS ในผลิตภัณฑ์ที่แนะนำว่าไม่ควรจะเกิน 1.6 mg/Kg

ตารางที่ 25 เปรียบเทียบ ค่า PV และ TBARS value ของสาร USM

วันที่เก็บ	TBARS mg สมมูลย์ malonaldehyde	ค่า peroxide value (mg สมมูลย์/kg USM)
control	trace	0.09 ± 0.06^a
4	0.02 ± 0.00^a	0.25 ± 0.05^b
8	0.02 ± 0.00^a	0.32 ± 0.03^{bc}
12	0.06 ± 0.00^b	0.37 ± 0.06^c

a, b, c, d ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

7.4 ผลของปฏิกิริยา ออกซิเดชัน ต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

7.4.1 ผลของปฏิกิริยาออกซิเดชัน ต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging activity

จากการวิเคราะห์ปริมาณกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging ในสาร USM ซึ่งผ่านการเก็บรักษาในสภาวะกระตุ้นการเกิดออกซิเดชัน (ตารางที่ 26) พบว่า USM ที่ยังไม่ผ่านการเก็บรักษานั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 11.71 ± 0.70 mg/ml รองลงมาคือ สาร USM ที่เก็บในสภาวะกระตุ้นการเกิดออกซิเดชัน 4 วัน (ค่า IC_{50} เท่ากับ 23.29 ± 2.34 mg/ml) และค่า IC_{50} ของสาร USM ที่ผ่านการเก็บในสภาวะกระตุ้นการเกิดออกซิเดชัน 12 วันมีค่ามากที่สุด (30.89 ± 4.13 mg/ml)

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระระหว่าง USM ในวันที่ 0 กับสารต้านอนุมูลอิสระมาตรฐาน BHA และ gamma oryzanol พบว่าสาร USM มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสาร antioxidant มาตรฐานทั้ง 2 ชนิด จากตารางที่ 27 พบว่าการเกิดออกซิเดชัน ทำให้ประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระของ USM ลดลง เห็นได้จากมีค่า IC_{50} ที่มากขึ้นเมื่อเวลาการเก็บมากขึ้น ซึ่งมีผลที่สอดคล้องกับปริมาณสาร gamma oryzanol และ tocopherol ที่ลดลงโดยเฉพาะอย่างยิ่งในวันเก็บที่ 12 ซึ่งมีค่าประสิทธิภาพต่ำที่สุด

ตารางที่ 26 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของ USM ด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และ โดยวิธี lipid per ออกซิเดชัน

วันที่เก็บ	DPPH radical scavenging activity	Lipid per ออกซิเดชัน
	IC 50 (mg/ml)	ค่า IC50 mg/ml
control	13.91 ± 0.34^a	11.71 ± 0.70^a
4	26.95 ± 0.87^b	23.29 ± 2.34^b
8	31.13 ± 0.93^c	26.18 ± 2.95^{bc}
12	34.29 ± 0.64^d	30.89 ± 4.13^c
BHA	0.04 ± 0.4	0.054 ± 0.00
gamma oryzanol	0.57 ± 0.03	0.79 ± 0.01

^{a, b, c, d} ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

7.4.2 ผลของปฏิกิริยา ออกซิเดชัน ต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี total antioxidant capacity

จากการวิเคราะห์หาปริมาณกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี total antioxidant ของสาร USM ที่ผ่านการเก็บในสภาวะกระตุ้นการเกิดออกซิเดชัน โดยแสดงเป็น ประสิทธิภาพการยับยั้งเทียบกับสารสังเคราะห์ BHA (ตารางที่ 27) พบว่า กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของ USM ที่ไม่ผ่านการเก็บรักษามีค่าดีที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ $16.17 \pm 0.39 \mu\text{g BHA/mg}$ ของ USM รองลงมาคือเมื่อเก็บรักษาไว้ 4, 8 และ 12 วันตามลำดับ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบค่าประสิทธิภาพของ USM ที่ผ่านการเก็บแต่ละวันพบว่าค่าที่ได้นั้นลดลง ในทุกวันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพกับ gamma oryzanol พบว่า สาร USM ที่ยังไม่ผ่านการเก็บเพื่อกระตุ้นการเกิดออกซิเดชัน มีประสิทธิภาพมากที่สุด คือมีค่าเป็น $91.7 \pm 3.05 \mu\text{g gamma oryzanol /mg}$ ($p < 0.05$) และรองลงมาคือเมื่อเก็บได้ 4 และ 8 วัน และเมื่อเก็บ USM ไว้ 12 วัน พบว่าค่า total antioxidant มีค่าเป็น $10.50 \pm 0.17 \mu\text{g gamma oryzanol /mg}$ ซึ่งน้อยที่สุด ($p < 0.05$)

ตารางที่ 27 การเปรียบเทียบประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี total antioxidant โดยเทียบกับ BHA และ gamma oryzanol

วันที่เก็บ	ประสิทธิภาพ (microgram std equivalent/milligram sample)	
	BHA	gamma oryzanol
control	16.17 ± 0.39^a	91.7 ± 3.05^a
4	10.88 ± 0.12^b	52.88 ± 0.84^b
8	10.47 ± 0.12^c	50.15 ± 0.83^b
12	3.39 ± 0.04^d	10.50 ± 0.17^c

a, b, c, d ... ตัวเลขที่มีอักษรกำกับที่แตกต่างกันในแนวตั้ง มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

สรุป และ ข้อเสนอแนะการผลิตสาร USM จากรำข้าวและการประยุกต์ใช้

จากการศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพของสาร USM จากน้ำมันรำข้าวพบว่าปริมาณน้ำมันและ USM ที่สกัดได้มีค่าเท่ากับ 8% และ 2.89-3.73% ตามลำดับ โดยการสกัดที่อุณหภูมิ 80-100°C ให้ผลดีที่สุด มีผลทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลงมากที่สุด

การศึกษาผลของ pH และความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่สำคัญใน USM คือ γ -oryzanols พบว่าที่ pH 4 และ อุณหภูมิสูงกว่า 140°C มีผลทำให้ γ -oryzanols ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในกรณีที่มีการเปลี่ยนแปลงของ α -tocopherol พบว่าทั้ง pH 4, อุณหภูมิและเวลาในการให้ความร้อนมีผลต่อการลดลงของ α -tocopherol ผลของอุณหภูมิต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระพบว่า ที่ pH4 และการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 180°C เป็นเวลา 60 นาที มีผลต่อการลดลงของกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด

การเปรียบเทียบปริมาณ tocopherol และ gamma oryzanol ของ USM ที่ผ่านการเก็บในสภาวะการเกิด ออกซิเดชัน พบว่าทั้งปริมาณของ tocopherol และ gamma oryzanol ลดลง จากปริมาณเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญ และสภาวะดังกล่าวมีผลทำให้ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระลดลง จากการวิเคราะห์ค่าการเหม็นหืนของ USM โดยวัดค่า peroxide และ TBARS พบว่า ค่า peroxide และ TBARS มีค่าเพิ่มขึ้น

ข้อเสนอแนะ

สาร USM ที่ได้มีลักษณะ เป็นผลึกของน้ำมัน สีน้ำตาลอ่อน สามารถละลายได้ดีในน้ำมัน ดังนั้น การเก็บรักษา ต้องระมัดระวังการเกิดออกซิเดชัน ควรเก็บในภาชนะที่เป็นขวดแก้ว ป้องกันแสง ออกซิเจน และ เก็บที่อุณหภูมิต่ำ การประยุกต์ใช้สามารถทำได้ในอาหารที่มีน้ำมันเป็นส่วนผสม เช่น น้ำสลัด ผลิตภัณฑ์เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม หรือแม้แต่ในเครื่องสำอาง เป็นต้น หรืออาจจะใช้บริโภคได้โดยตรง แต่การผลิตจะต้องตรวจสอบความปลอดภัยอย่างเข้มงวด เพราะในกระบวนการผลิต มีการใช้เฮกเซน และ เอทานอล จึงจำเป็นต้องตรวจปริมาณตกค้างของสารนี้ รวมถึงโลหะหนักที่อาจจะปนเปื้อนมากับสารเคมี หรือรำข้าวด้วย

4.1.8 ผลการวิจัย อภิปราย และวิจารณ์ผล

การประยุกต์ใช้ USM ในการผลิตครีมเหลวเทียม และน้ำสลัด

1. การประยุกต์ใช้ USM ในการผลิตครีมเหลวเทียม

1.1 ผลของการศึกษาการยอมรับของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์ครีมเหลวเทียม

การผลิตครีมเหลวตามสูตรทั่วไปที่ยังไม่มีการปรับปรุง พบว่าลักษณะของเนื้อครีมที่ได้มีการจับตัวกันเป็นก้อนแข็งคล้ายเต้าหู้และมีการแยกชั้นของน้ำและเนื้อครีมหลังจากนำไปเก็บในตู้เย็น และเมื่อนำไปขงในเครื่องคั้ร้อนพบว่าครีมไม่ละลาย และตกตะกอน ดังนั้นจึงได้มีการพัฒนาสูตรครีมขึ้นมาทั้งหมด 5 สูตร ดังแสดงในตารางที่ 28 ในสูตรเดิมมีการเติมแป้งข้าวโพดลงไป 3% ซึ่งอาจเป็นปัจจัยที่ทำให้เนื้อครีมจับตัวกันเป็นก้อน จึงได้มีการลดปริมาณของแป้งข้าวโพดที่เติมลงไปเหลือ 0.5% ,1%,1.5% และมีการเติม Hydroxypropyl methylcellulose (HPMC) ลงไปเพื่อลดการแยกตัวของน้ำและครีม ครีมที่ได้นำไปทดสอบ

กับผู้ทดสอบชิม จำนวน 30 คน โดยให้ประเมินเปรียบเทียบความชอบและการยอมรับต่อผลิตภัณฑ์ครีมทั้ง 5 สูตร เพื่อที่จะได้นำสูตรครีมที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดจากผู้บริโภคไปเติมสารสกัด unsaponifiable เพื่อศึกษาการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นในครีม ซึ่งได้มีการทดสอบดังตารางที่ 30

ตารางที่ 28 แสดงส่วนผสมในการทำครีมทั้ง 5 สูตร

ส่วนผสม (%)	สูตรครีม				
	แป้งข้าวโพด 0.5 %	แป้งข้าวโพด 1.0%	แป้งข้าวโพด 1.5%	ไม่เติมแป้งข้าวโพด	สูตรเดิม
น้ำ	79	79	79	79	79
เวย์โปรตีน	4.5	4.5	4.5	4.5	4.5
น้ำมันรำข้าว	3.5	3.5	3.5	3.5	3.5
แบะแซ	5	5	5	5	5
แป้งข้าวโพด	0.5	1.0	1.5	-	3.0
กลีเซอรีน	4.9	4.9	4.9	5	5
HPMC	0.1	0.1	0.1	-	-

1.2 ผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อครีมเหลวเทียม

การทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อลักษณะของผลิตภัณฑ์ครีมที่ผลิตโดยใช้สูตรดังตารางที่ 29 โดยผู้ทดสอบชิมในการประเมิน จำนวน 30 คน (วางแผนการทดลองแบบ RCBD) ทำการประเมินคุณภาพของครีมจากลักษณะที่ปรากฏ สี ความข้นหนืด ความเนียนละเอียด ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวมโดยการให้คะแนนจาก 1-5 ตามระดับความชอบใช้แบบ Hedonic- 5 Scale test ปรากฏผลดัง ตารางที่ 30 พบว่าการยอมรับของผู้บริโภคต่อลักษณะปรากฏของครีม ในด้านสี ความข้นหนืด ความเนียนละเอียด ความเป็นเนื้อเดียวกัน และความชอบโดยรวมของครีมสูตรที่เติมแป้ง 1.5 % และ 1.0 % ไม่แตกต่างกัน และการยอมรับของผู้บริโภคต่อลักษณะปรากฏของครีมสูตรเดิมน้อยที่สุดที่ระดับนัยสำคัญ ($P < 0.05$)

ตารางที่ 29 ผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อครีมเทียม

สูตร			ความเนียน	ความเป็นเนื้อ	ความชอบ	
แป้ง	HPMC	สี	ความข้น หนืด	ละเอียด	เดียวกัน	โดยรวม
0.5	0.1	3.76±0.89 ^{ab}	2.90±0.8 ^{4b}	3.86±0.81 ^a	3.76±0.72 ^{ab}	3.23±0.72 ^b
1.0	0.1	4.00±0.90 ^a	3.53±1.33 ^a	3.90±1.02 ^a	4.00±1.00 ^a	3.96±1.06 ^a
1.5	0.1	4.06±0.08 ^a	4.03±0.92 ^a	3.80±1.06 ^a	3.90±0.99 ^{ab}	4.03±0.85 ^a
0	0	3.90±1.02 ^a	1.96±0.99 ^c	3.33±1.24 ^a	3.40±1.24 ^b	2.76±1.04 ^b
สูตรเดิม		3.46±0.97 ^b	1.76±1.10 ^c	1.80±1.18 ^b	1.66±1.06 ^c	1.83±1.05 ^c

^{ab,c,d} ตัวเลขในแนวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันจะมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$),

n = 30

1.2 ผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อครีมเหลวเทียมเมื่อเติมลงในกาแฟ

การทดสอบด้านประสาทสัมผัสเพื่อทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์ครีมที่ผลิตเมื่อเติมลงไปในการผสมกาแฟโดยใช้สูตรตามตารางที่ 28 โดยผู้ทดสอบชิมในการประเมินจำนวน 30 คน ประเมินคุณภาพของครีมจากการละลายง่ายต่อการกลืน กลิ่นรสโดยรวม ความข้นของครีม และความชอบโดยรวมโดยการให้คะแนนจาก 1-5 ตามระดับความชอบใช้แบบ Hedonic- 5 Scale test พบว่า ผู้ทดสอบให้การยอมรับในด้านการละลายง่ายต่อการกลืน กลิ่นรสโดยรวม ความข้นของครีม และความชอบโดยรวมแตกต่างกัน ($P < 0.05$) พบว่าปริมาณแป้งที่เติมลงในครีมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ มีผลต่อการยอมรับของผู้ทดสอบ โดยผู้ทดสอบส่วนใหญ่ให้การยอมรับกาแฟที่เติมคอฟฟี่เมตมากที่สุด รองลงคือครีมสูตรที่ผสมแป้ง 1.5%, 1.0%, 0.5% และไม่เติมแป้งและ HPMC ตามลำดับ ในด้านความข้นของครีมที่เติมลงในกาแฟผู้บริโภคริโกลให้การยอมรับคอฟฟี่เมตและครีมสูตรที่เติมแป้ง 1.5% สูงที่สุด ($P < 0.05$) (ตารางที่ 30)

ตารางที่ 30 แสดงผลการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคต่อครีมที่เติมลงในกาแฟ

treatment		การละลาย	ง่ายต่อการกลืน	กลิ่นรสโดยรวม	ความขึ้นของกาแฟ	ความชอบโดยรวม
แป้ง	HPMC					
0.5	0.1	3.76±1.00 ^{ab}	3.23±1.13 ^b	3.20±1.18 ^a	3.30±0.70 ^b	3.43±0.72 ^b
1.0	0.1	3.43±1.10 ^{bc}	3.06±1.11 ^b	3.23±1.04 ^a	3.16±0.79 ^b	3.16±1.01 ^b
1.5	0.1	3.16±0.94 ^c	3.20±1.06 ^b	3.40±1.00 ^a	3.76±0.62 ^a	3.30±1.02 ^b
0	0	4.06±1.20 ^a	3.26±1.14 ^b	3.20±0.92 ^a	3.00±1.17 ^b	3.26±0.82 ^b
สูตรเดิม		1.23±0.62 ^d	2.03±1.18 ^c	2.53±1.10 ^b	2.06±1.08 ^c	1.66±0.71 ^c
คอฟฟี่เมต		4.13±1.00 ^a	4.03±1.12 ^a	3.40±1.24 ^a	3.90±0.88 ^a	4.06±0.94 ^a

^{a,b,c,d} ตัวเลขในแนวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันจะมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$), $n = 30$

1.3 การวิเคราะห์คุณลักษณะของครีมเหลวเทียม

1.3.1 การวัดสี

การวัดค่าสีของครีมเหลวเทียมทั้ง 5 สูตร (ตารางที่ 31) พบว่าค่า L หรือค่าความสว่างของครีมไม่มีความแตกต่างกันที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ส่วนค่า a ลบ บ่งบอกถึงสีเขียว และค่า b บวก บ่งบอกถึงสีเหลือง ซึ่งสีของครีมที่ได้จะลักษณะของเนื้อครีมเป็นสีเหลืองอ่อน ดังผลตารางที่ 32 และพบว่าสูตรครีมที่ไม่เติมแป้งมีค่า b ที่บ่งบอกถึงสีเหลืองน้อยที่สุด ($P < 0.05$)

ตารางที่ 31 แสดงค่าสีของครีมเหลวเทียม

treatment		L	a	b
แป้ง	HPMC			
0.5	0.1	86.70±0.63 ^a	-2.29±0.04 ^a	+9.42±0.21 ^a
1.0	0.1	87.20±1.03 ^a	-2.47±0.05 ^a	+9.54±0.34 ^a
1.5	0.1	84.54±0.24 ^a	-2.47±0.10 ^a	+9.79±0.04 ^a
0	0	84.54±5.93 ^a	-2.27±0.29 ^a	+7.17±0.68 ^b
สูตรเดิม		86.67±3.03 ^a	-2.30±0.10 ^a	+9.06±0.53 ^a

^{a,b,c,d} ตัวเลขในแนวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันจะมีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$)

1.3.2 การวัดความหนืดของครีมเหลวเทียม

จากการการวัดค่าความหนืดของตัวอย่างครีมทั้ง 5 สูตร ได้ผลดังตารางที่ 32 พบว่า ครีมสูตรเดิมมีค่าความหนืดมากที่สุดคือ 33.60 % รองลงมาคือครีมสูตรเติมแป้งข้าวโพด 1.5 คือ 25.96 % ซึ่งจะเห็นได้ว่าครีมที่มีการเติมแป้งข้าวโพดลงในปริมาณที่มากจะมีความหนืดสูงเมื่อเทียบกับครีมที่ไม่เติม

ตารางที่ 32 แสดงค่าความหนืดของครีม

Treatment		ความหนืด (Cp)	% Torque
แป้งข้าวโพด	HPMC		
0.5	0.1	776.60±15.20 ^d	7.760±1.50 ^d
1.0	0.1	1383.30±20.81 ^c	13.70±0.20 ^c
1.5	0.1	1996.60±5.70 ^b	25.96±0.50 ^b
0	0	13.30±5.70 ^c	0.13±0.05 ^d
สูตรเดิม		3360±20.00 ^a	33.60±0.20 ^a

^{a-c} ตัวเลขในแนวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันจะมีความแตกต่างกันทางสถิติ (P<0.05)

1.3.3 การวัดการละลาย

จากการทดสอบการละลายของครีมทั้ง 5 สูตร (ตารางที่ 33) พบว่าครีมสูตรที่ไม่เติมแป้งข้าวโพดและ HPMC มีประสิทธิภาพในการละลายได้ดีที่สุดเพราะมีตะกอนเหลือจากการละลายของครีมน้อยที่สุดเท่ากับ 0.02 กรัม และครีมสูตรของปรารณามีตะกอนเหลือเท่ากับ 0.21 กรัม ซึ่งละลายได้ไม่ดีที่สุดจากสูตรครีมทั้งหมด (p<0.05)

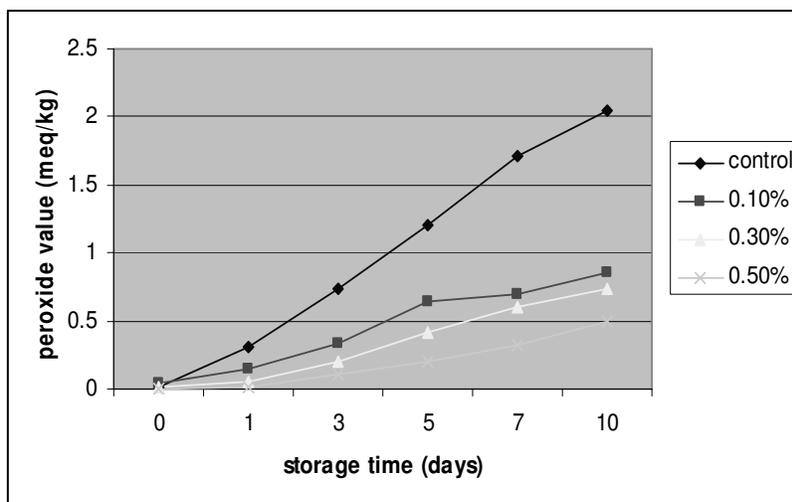
ตารางที่ 33 ปริมาณตะกอนที่เหลือจากการละลายของครีม

treatment		ปริมาณตะกอนที่เหลือของครีม(g)
แป้ง	HPMC	
0.5	0.1	0.07±0.15 ^b
1.0	0.1	0.11±0.15 ^b
1.5	0.1	0.11±0.23 ^b
0	0	0.02±0.15 ^a
สูตรเดิม		0.21±0.40 ^c

^{a,b,c,d} ตัวเลขในแนวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันจะมีความแตกต่างกันทางสถิติ (p<0.05)

3.1.4 การวัดค่าการหมิ่นหืนโดยวัดค่า P-value (Peroxide value)

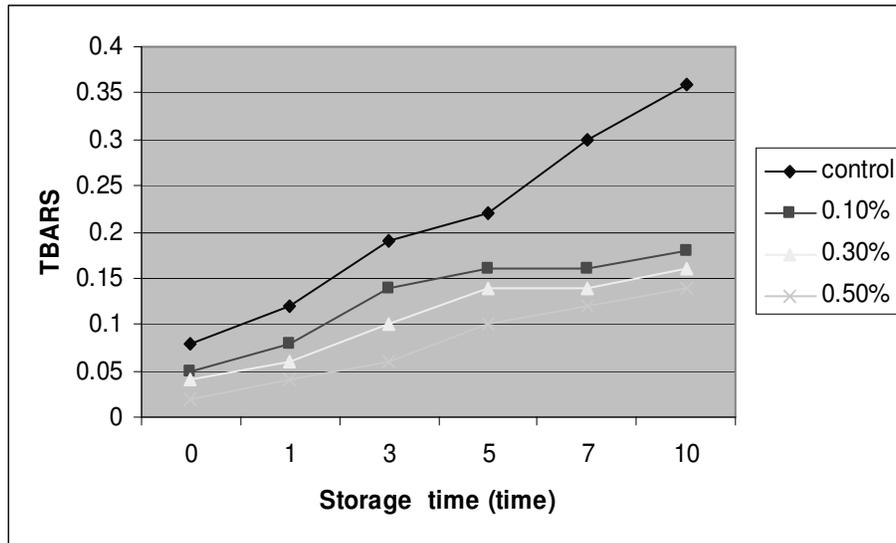
จากการหาค่าการเหม็นหืนโดยวัดค่า P-value พบว่าเวลาและความเข้มข้นของ USM ที่เติมมีผลต่อการเกิด ออกซิเดชัน ในครีม ซึ่งที่ระยะเวลาในการเก็บเพิ่มมากขึ้นพบว่าเกิดการเกิด ออกซิเดชัน เพิ่มมากขึ้นทำให้ค่า P-value ที่วัดได้สูงขึ้นเรื่อยๆ โดยในครีมที่ไม่มีการเติม USM จะพบค่า P-value สูงที่สุด ในขณะที่ ครีมที่เติม USM 1.5% มีค่า P-value น้อยที่สุดที่ระยะเวลาในการเก็บเท่ากัน (รูปที่ 15)



รูปที่ 15 แสดงค่า peroxide ของครีมที่เติมสาร USM ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ระยะเวลาการเก็บ 10 วัน (Control ครีมที่ไม่มีการเติมสาร USM)

3.1.5 การวัดค่าการเหม็นหืนโดยวัดค่า Thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS)

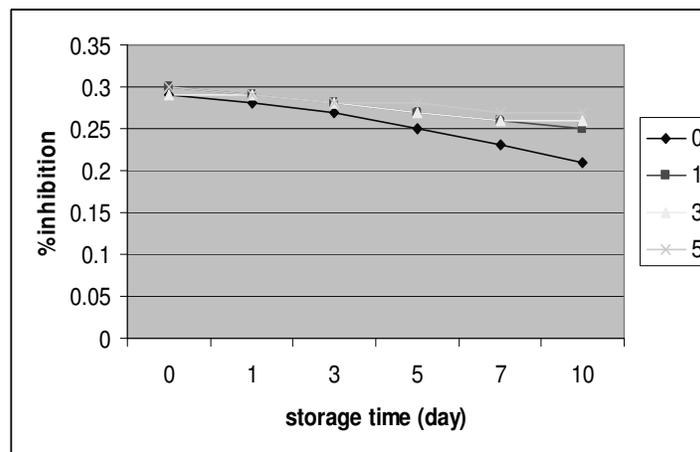
จากการวิเคราะห์หาค่าการเหม็นหืนด้วยวิธี Thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS) (รูปที่ 16) พบว่า ความเข้มข้นของ USM และเวลา มีผลต่อการเกิดการเหม็นหืน เมื่อเก็บไว้เป็นเวลานานก็ทำให้เกิดการเหม็นหืนมากที่สุดในครีมที่ไม่มีการเติม USM โดยในครีมที่เติม 1.5% ของ USM มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันและทำให้เกิดกลิ่นหืนน้อยลง



รูปที่ 16 แสดงค่า TBARS ของครีมที่เติมสารสกัด USM ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ที่ระยะเวลาการเก็บ 10 วัน (control = ครีมที่ไม่มีการเติมสารสกัด USM)

3.1.6 การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี Lipid perออกซิเดชัน

จากการวิเคราะห์ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี Lipid perออกซิเดชัน โดยแปรผลออกมาเป็นค่า IC_{50} พบว่าความเข้มข้นของ USM และเวลาที่มีผลการเกิด lipid oxidation ดังแสดงในรูปที่ 17 ซึ่งพบว่าครีมที่ไม่เติม USM มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (peroxyl radical) ได้น้อยที่สุด เมื่อเทียบกับครีมที่เติม USM และครีมที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระได้ดีที่สุดคือ ครีมที่เติม USM 0.5%



รูปที่ 17 แสดงค่า lipid peroxide ของครีมที่เติมสารสกัด USM ที่ระดับความเข้มข้น 0.1% ,0.3% และ 0.5% ที่ระยะเวลาการเก็บ 10 วัน

สรุป

ครีมเหลวเทียมที่เติมแป้ง 1.5% เป็นสูตรที่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด เมื่อนำมาเติมสารสกัด USM ที่ระดับความเข้มข้น 0.1%, 0.3% และ 0.5% และเก็บไว้เป็นเวลา 10 วัน เพื่อศึกษาการเกิดออกซิเดชัน พบว่า ครีมที่เติม 0.5% มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันในครีมได้ดีที่สุด

2. ประยุกต์ใช้ สาร USM เพื่อเป็นสารต้านการหืนในน้ำสลัด

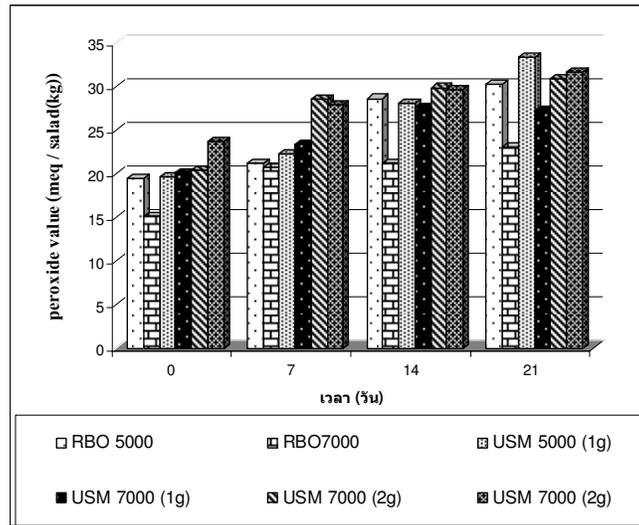
ทำการเตรียมน้ำสลัด ซึ่งผสม USM จำนวน 2 ระดับ คือ 1.0 และ 2.0 % ของส่วนผสม ทำการปั่นที่ความเร็วรอบของเครื่อง homogenizer 2 ระดับ คือ 5000 และ 7000 rpm ทำการเปรียบเทียบอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของน้ำสลัด โดยเปรียบเทียบกับน้ำสลัดสูตรที่เติม วิตามิน อี และ ไม่เติมสารกันหืน เก็บน้ำสลัดแต่ละทริทเมนต์ ในขวดสีชา ที่ปิดสนิท เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4°C แล้วทำการสุ่มตัวอย่างมาตรวจทุก ๆ 0, 7, 14, และ 21 วัน การวิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยวัดค่า peroxide value, thiobarbituric acid reactive species (TBARS) ให้ผลดังตารางที่ 34 พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้น ค่า TBARS, PV, และ FFA มีปริมาณเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ตั้งแต่วันที่ 7 ของการเก็บรักษา ยกเว้นน้ำสลัดที่เติม วิตามิน อี เป็นสารป้องกันการเกิดออกซิเดชัน (ตารางที่ 34 รูปที่ 18 และ รูปที่ 19)

ตารางที่ 34 ค่า TBA ของน้ำสลัด

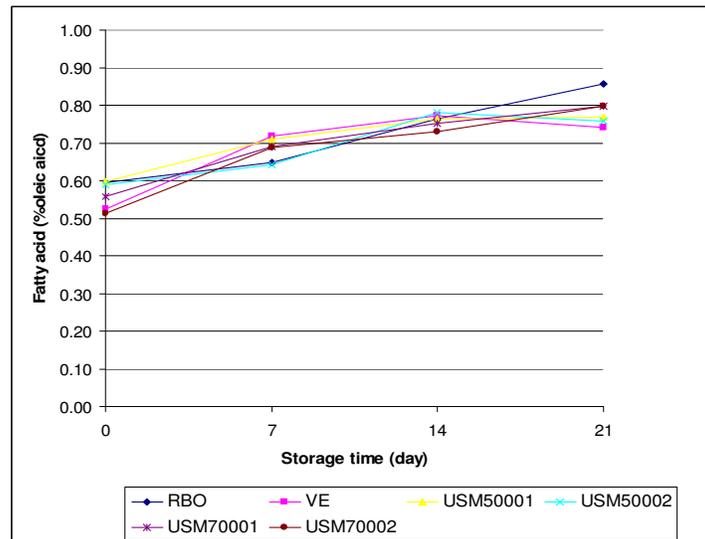
วิธีเตรียมน้ำสลัด	Storage time (days)			
	0	7	14	21
RBO 5000	0.33± 0.032 ¹	0.519 ± 0.008 ^{a,3}	0.581 ± 0.009 ^{b3}	0.625 ± 0.002 ^{a,2}
VE 200 ppm	0.32± 0.032 ¹	0.37± 0.032 ^{b1}	0.36± 0.032 ^{a1}	0.42± 0.032 ^{d1}
5000 rpm/1*	0.35 ± 0.007 ¹	0.492 ± 0.004 ^{a,2}	0.523 ± 0.003 ^{b3}	0.493 ± 0.002 ^{c,2}
5000 rpm/2	0.32 ± 0.005 ¹	0.517 ± 0.003 ^{a,2}	0.507 ± 0.001 ^{b2}	0.469 ± 0.004 ^{d,2}
7000 rpm/1	0.33 ± 0.007 ¹	0.621 ± 0.001 ^{c,1}	0.515 ± 0.044 ^{b2}	0.508 ± 0.001 ^{b,2}
7000 rpm/2	0.32 ± 0.005 ¹	0.565 ± 0.028 ²	0.525 ± 0.009 ^{b2}	0.483 ± 0.003 ^{c,2}

a,b,c..... ในแนวตั้งเดียวกันอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

1,2,3..... ในแนวนอนเดียวกันตัวเลขกำกับเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p \leq 0.05$); TBA คือ Thiobarbituric acid RBO คือ Rice Bran Oil, VE = α -tocopherol; * 5000/1, 5000/2, 7000/1, 7000/2 คือความเร็วรอบในการกวน 5000 และ 7000 rpm แล้วเติม USM เท่ากับ 1 และ 2 %



รูปที่ 18 ผลการการผสม USM ระดับต่างๆ ต่อ การเปลี่ยนแปลงปริมาณ peroxide value



รูปที่ 19 ผลของการใช้ USM ต่อ อายุการเก็บรักษา และ ค่า Free fatty acid ของน้ำสลัด

4.3 ผลการทดลอง อภิปราย และวิจารณ์ผล การการผลิต ผลิตภัณฑ์โภชนเภสัชจากจมูกข้าว

1. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี

จากการศึกษาปริมาณผลผลิตจมูกข้าว ที่แยกได้จากเมล็ดข้าวมีค่าเท่ากับ 2.9 % ซึ่งใกล้เคียงกับองค์ประกอบของเมล็ดข้าว ทั้งนี้เนื่องจากการแยกครั้งนี้ทำด้วยมือ ทำให้ปริมาณที่ค่อนข้างแม่นยำ มีส่วนอื่นๆ ของข้าวปนมาน้อย การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของ จมูกข้าว รำข้าวทั่วไป และรำข้าวที่แยกจมูกข้าว ผลปรากฏดังตารางที่ 35 พบว่าจมูกข้าวมีปริมาณความชื้นมากที่สุด รองลงมาคือรำข้าวที่แยกจมูกข้าวและรำข้าวทั่วไปตามลำดับ วิเคราะห์ปริมาณไขมันด้วยวิธีซอกซ์เฮลท์ (Soxhlet method) ผลปรากฏว่าจมูกข้าวหอมมะลิ 105 มีปริมาณไขมันสูงที่สุด ถึง 21.58% รองลงมาคือรำข้าวทั่วไป และรำข้าวที่แยกจมูกข้าวตามลำดับ ซึ่งผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาทั่วไป คือ ส่วนของคัพพะ(embryo) เป็นแหล่งสะสมอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของต้นอ่อนจึงอุดมไปด้วยไขมัน และพบว่าปริมาณไขมันของข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ที่ทำการศึกษาไม่มีไม่มีความแตกต่างกัน

วิเคราะห์ปริมาณเส้นใยอาหาร (crude fibre) ผลปรากฏว่าจมูกข้าวมีปริมาณเส้นใยอาหารมากที่สุด ในขณะที่ปริมาณเส้นใยอาหารของรำข้าวที่แยกจมูกข้าวและรำข้าวทั่วไปนั้นไม่แตกต่างกันทางสถิติ ซึ่งเส้นใยอาหารในองค์ประกอบของรำรวมถึงจมูกข้าว นั้น เป็นกลุ่มของเฮมิเซลลูโลส เซลลูโลสและลิกนิน นอกจากนี้พบว่าสายพันธุ์ของข้าวไม่มีผลต่อปริมาณเส้นใยอาหาร

วิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (ash) พบว่ารำข้าวที่แยกจมูกข้าวมีปริมาณเถ้ามากที่สุด รองลงมาคือรำข้าวทั่วไป และจมูกข้าวตามลำดับ ปริมาณเถ้าใช้ในการบ่งชี้ถึงปริมาณแร่ธาตุในตัวอย่าง พบว่าจมูกข้าวไม่ได้เป็นแหล่งของสารอนินทรีย์หรือแร่ธาตุ และพบว่าสายพันธุ์ของข้าวไม่มีผลต่อปริมาณเถ้า

วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (crude protein) พบว่า จมูกข้าวมีปริมาณโปรตีนมากที่สุด รองลงมาคือ รำข้าวทั่วไปและรำข้าวที่แยกจมูกข้าวตามลำดับ ซึ่งคัพพะเป็นแหล่งสะสมอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของต้นอ่อน จึงอุดมด้วยโปรตีนและไขมันมากกว่าองค์ประกอบส่วนอื่น

วิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) โดยวิธีลอบอก พบว่ารำข้าวที่แยกจมูกข้าวมีปริมาณคาร์โบไฮเดรตมากที่สุด รองลงมาคือรำข้าวทั่วไปและจมูกข้าวตามลำดับ กล่าวได้ว่าองค์ประกอบของรำข้าวเป็นปัจจัยที่ทำให้ปริมาณคาร์โบไฮเดรตแตกต่างกัน แต่สายพันธุ์ของข้าวไม่มีผลต่อปริมาณคาร์โบไฮเดรต

จากการวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่ารำข้าวทั่วไป พันธุ์หอมมะลิ 105 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เท่ากับ 0.832 mg/g ส่วนจมูกข้าว พันธุ์ข้าวเหนียว กข6 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 0.013 mg/g

2. วิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (ตารางที่ 35)

เมื่อนำสารสกัดของรำข้าวที่แยกจมูกข้าว รำข้าวทั่วไป และจมูกข้าว มาวิเคราะห์หาปริมาณของ phenolic compound ซึ่งผลปรากฏว่ารำข้าวที่แยกจมูกข้าวของข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุด รองลงมาคือรำข้าวทั่วไปและจมูกข้าวตามลำดับ สารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่พบในชั้นผนังเซลล์ของพืช ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระและสารต้านเชื้อโรค จึงเป็นไปได้ว่าส่วนของรำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าจมูกข้าว

จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดไฟติก พบว่ารำข้าวที่แยกจมูกข้าวของข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีปริมาณกรดไฟติกสูงที่สุด ส่วนจมูกข้าวของข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีปริมาณกรดไฟติกน้อยที่สุด ซึ่งองค์ประกอบของรำข้าวเป็นปัจจัยที่ทำให้ปริมาณกรดไฟติกแตกต่างกัน แต่สายพันธุ์ของข้าวไม่มีผลต่อปริมาณกรดไฟติก กรดไฟติกมีบทบาทในการเป็นแหล่งฟอสฟอรัสที่สำคัญของพืชและเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ มักพบในส่วนของเพอริคาร์พและชั้นแอริวโลน ดังนั้นจึงเป็นไปได้ที่ส่วนประกอบของรำข้าวมีปริมาณกรดไฟติกมากกว่าจมูกข้าว

จากการวิเคราะห์ปริมาณแกมมาออริซานอล พบว่ารำข้าวที่แยกจมูกข้าว พันธุ์ กข 6 มีปริมาณแกมมาออริซานอล เท่ากับ 15.07 g/100g รองลงมาคือรำข้าวที่แยกจมูกข้าว พันธุ์หอมมะลิ 105 เท่ากับ 13.55 g/100g ตัวอย่าง ส่วนจมูกข้าว พันธุ์ กข 6 มีปริมาณแกมมาออริซานอลน้อยที่สุด เท่ากับ 3.60 g/100g

จากการวิเคราะห์ปริมาณแอลฟาโทโคเฟอรอล พบว่าจมูกข้าว พันธุ์หอมมะลิ 105 มีปริมาณแอลฟาโทโคเฟอรอลมากที่สุด เท่ากับ 625.90 mg/100g ตัวอย่าง รองลงมาคือจมูกข้าว พันธุ์ กข 6 เท่ากับ 602.12 mg/100g ส่วนรำข้าวที่แยกจมูกข้าว พันธุ์หอมมะลิ 105 มีปริมาณแอลฟาโทโคเฟอรอลน้อยที่สุด เท่ากับ 315.22 mg/100g ซึ่งองค์ประกอบของรำข้าวเป็นปัจจัยที่ทำให้ปริมาณแอลฟาโทโคเฟอรอล แตกต่างกัน

ตารางที่ 35 เปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีของจมูกข้าว รำข้าวทั่วไป และรำข้าวที่แยกจมูกข้าว
ของข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณองค์ประกอบทางเคมี (เปอร์เซ็นต์)		
	รำข้าวที่แยกจมูกข้าว	รำข้าวทั่วไป	จมูกข้าว
ความชื้น	4.95 ^b	4.78 ^c	5.73 ^a
ไขมัน	12.45 ^c	18.80 ^b	21.58 ^a
โปรตีน	10.90 ^c	12.66 ^b	15.27 ^a
คาร์โบไฮเดรต	45.31 ^a	40.63 ^b	30.96 ^c
เส้นใยอาหาร	13.51 ^b	12.48 ^b	19.52 ^a
เถ้า	12.88 ^a	10.65 ^b	6.94 ^c
Reducing sugar(mg/g)	0.500 ^b	0.832 ^a	0.106 ^c
ฟีนอลิก (mg/100g)	36.95 ^a	35.00 ^b	20.10 ^c
กรดไฟติก (mg/g)	63.88 ^a	50.68 ^b	37.92 ^c
γ -oryzanols (g/100g)	13.55 ^a	11.35 ^b	3.75 ^c
α – tocopherol(mg/100g)	315.22 ^c	455.94 ^b	625.90 ^a
ข้าวเหนียว กข6			
ความชื้น	6.27 ^b	5.88 ^c	6.91 ^a
ไขมัน	11.62 ^c	16.96 ^b	20.16 ^a
โปรตีน	10.73 ^c	12.07 ^b	17.40 ^a
คาร์โบไฮเดรต	47.56 ^a	42.54 ^b	26.29 ^c
เส้นใยอาหาร	10.95 ^b	11.77 ^b	21.67 ^a
เถ้า	12.87 ^a	10.78 ^b	7.57 ^c
Reducing sugar(mg/g)	0.45	0.48	0.013
ฟีนอลิก (mg/g)	48.15 ^a	39.05 ^b	18.95 ^c
กรดไฟติก (mg/g)	61.76 ^a	48.12 ^b	35.01 ^c
γ -oryzanols (g/100g)	15.07 ^a	11.52 ^b	3.60 ^c
α – tocopherol(mg/100g)	320.26 ^c	416.59 ^b	602.12 ^a

^{a,b,c} ตัวอักษรต่างกัน ในแถวแนวนอนเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
($p < 0.05$)

3 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ

3.1 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging activity

จากการวิเคราะห์หาปริมาณกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH radical scavenging ของรำข้าวทั่วไป รำข้าวที่แยกจมูก และจมูกข้าว เปรียบเทียบกับตัวอย่างมาตรฐาน ได้แก่ α tocopherol และ BHT พบว่าจมูกข้าวมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือรำข้าวทั่วไป และรำข้าวที่แยกจมูกข้าวตามลำดับ (ตารางที่ 36)

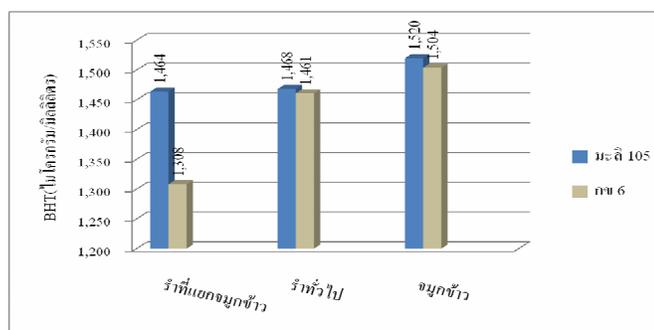
ตารางที่ 36 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระของจมูกข้าว และรำข้าว โดยวิธี DPPH radical scavenging

Sample	ค่าการยับยั้ง DPPH (IC50) mg/ml	
	ข้าวหอมมะลิ 105	ข้าวเหนียว กข 6
รำข้าวที่แยกจมูกข้าว	1.494 ^a	1.314 ^a
รำข้าวทั่วไป	0.202 ^b	0.234 ^b
จมูกข้าว	0.137 ^c	0.161 ^c
α tocopherol	0.151	
BHT	0.115	

^{a,b,c} มีความแตกต่างกันในแถวแนวดิ่งเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

3.2 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี total antioxidant capacity

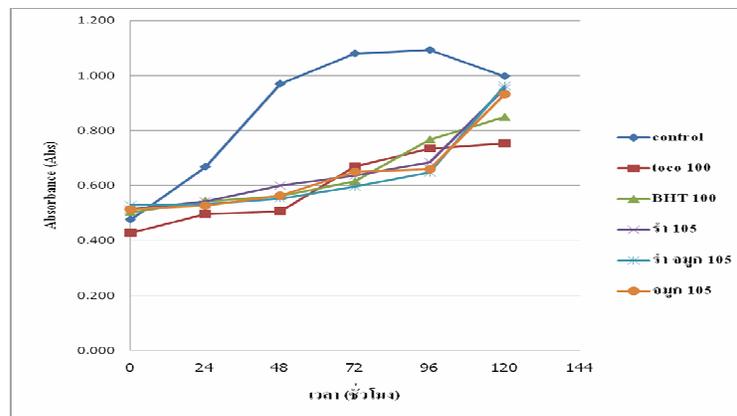
จากการวิเคราะห์หาปริมาณการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี total antioxidant ในรำข้าวทั่วไป รำข้าวที่แยกจมูกข้าว และจมูกข้าว โดยรายงานผลการต้านอนุมูลอิสระเทียบกับการต้านอนุมูลอิสระของสารสังเคราะห์ BHT พบว่าจมูกข้าวมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด เท่ากับ 1,520 ไมโครกรัม BHT/มิลลิกรัมตัวอย่าง ซึ่งมีค่าแตกต่างจากรำข้าวทั่วไปและรำข้าวที่แยกจมูกข้าวอย่างมีนัยสำคัญ รูปที่ 20



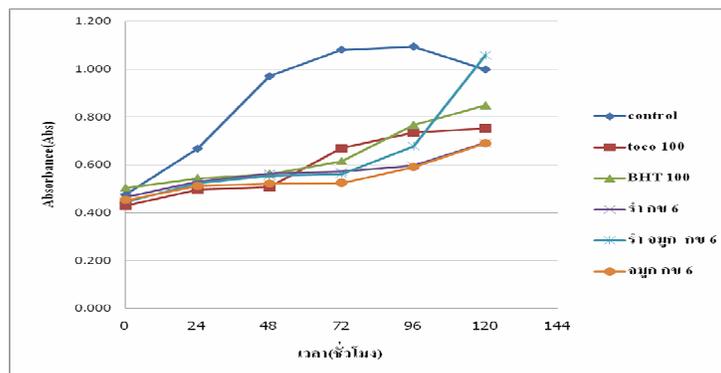
รูปที่ 20 กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Total antioxidant capacity ($\mu\text{g BHT/mg sample}$) ของรำข้าวและจมูกข้าว

3.3 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระโดย Linoleic acid emulsion system

จากการศึกษานี้เป็นการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ของกรดลิโนเลอิก พบว่า ทั้งข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105 และข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 ส่วนของจมูกข้าว มีประสิทธิภาพในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด แต่มีประสิทธิภาพในการต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์น้อยกว่า α -tocopherol 100 ppm และ BHT 100 ppm ในขณะที่ตัวอย่างควบคุม (control) มีปริมาณไฮโดรเปอร์ออกไซด์เพิ่มสูงขึ้นเรื่อยๆ จนถึง 100 ชั่วโมง เริ่มมีปริมาณลดลง เนื่องจากว่าวิธีนี้เป็นการวัดปฏิกิริยาออกซิเดชันขั้นต้นแรก เมื่อเวลาผ่านไปสารดังกล่าวเปลี่ยนเป็นสารอื่น เช่น แอลดีไฮด์ หรือคีโตน ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ลดลง (รูปที่ 21 และ 22)



รูปที่ 21 ทฤษฎีการต้านอนุมูลอิสระของข้าวหอมมะลิ โดยวิธี Linoleic acid emulsion system



รูปที่ 22 ทฤษฎีการต้านอนุมูลอิสระของข้าว กข6 โดยวิธี Linoleic acid emulsion system

สรุปและข้อเสนอแนะ

จมูกข้าวที่แยกได้มีผลผลิตค่อนข้างสูง คือ 2.9% อย่างไรก็ตามการผลิตครั้งนี้ทำโดยใช้มือในการแยก ซึ่งอาจเป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสมในการผลิตระดับอุตสาหกรรม การใช้วิธีการขัดสีโดยเครื่องสีข้าวขนาดเล็ก พบว่าสามารถทำได้ แต่ความบริสุทธิ์ของจมูกข้าวอาจมีน้อยลง คือมีรำและแกลบปนมากค่อนข้างสูงและแยกออกยาก ที่ปฏิบัติโดยการร่อนผ่านตะแกรง รำละเอียดและส่วนของแป้งจะผ่านตะแกรง ส่วนบนคือจมูกข้าว เคี้ยวข้าวแบบที่สามารถแยกจมูกข้าวได้มีจำหน่ายแล้วแต่งานวิจัยนี้ไม่สามารถจัดซื้อได้ เนื่องจากต้องสั่งออกแบบพิเศษ และใช้เวลา ดังนั้น จึงใช้การแยกโดยเครื่องสีธรรมดาและใช้ตะแกรงร่อนช่วยแยก

4.4 ผลการทดลอง อภิปราย และวิจารณ์ผล

การการผลิตสีผสมอาหารจากรำข้าวเหนียวดำสกัดโดยใช้เอนไซม์ และการประยุกต์ใช้

4.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวเหนียวดำ (BRB) และรำข้าวเหนียวดำสกัดโดยใช้เอนไซม์ (BBE)

องค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ชีวภาพของรำข้าวเหนียวดำ และรำข้าวเหนียวดำสกัด ดังตารางที่ 37 พบว่า สารสกัดที่ได้มีปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากการสกัดมีขั้นตอนการแยกส่วนของแกลบและส่วนอื่นๆของรำข้าวที่ไม่ถูกย่อยออกไป ทำให้ส่วนที่ได้มีความเข้มข้นของสารบางชนิดมากขึ้น นอกจากนี้อาจเป็นเพราะว่าในการสกัดนั้น มีการย่อยสารต่างๆออกมาอยู่ในรูปที่อิสระมากขึ้น ทำให้วิเคราะห์ได้ง่ายและมากขึ้น ในกรณีของคาร์โบไฮเดรต พบว่ามีปริมาณลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ ทั้งนี้อาจเกิดจากแป้งบางส่วนถูกย่อยและสูญเสียในกระบวนการผลิต เช่นติดไปกับกากที่แยกออก

4.4.2 ผลการศึกษาความสามารถในการละลายน้ำของสารสกัด

พบว่าวิธีการสกัดทั้ง 4 วิธีคือสกัดโดยตัวทำละลายเอทานอลและสกัดด้วยเอนไซม์โดยใช้รำข้าวเหนียวดำ 40, 50 และ 60 กรัม มีอิทธิพลต่อความสามารถในการละลายได้ของสารสกัดข้าวเหนียวดำคือการสกัดด้วยเอนไซม์ใช้รำข้าวเหนียวดำ 40-50 กรัมมีค่าการละลายน้ำสูงที่สุดคือ 94.65 - 96.32% ส่วนการสกัดโดยใช้เอทานอลมีเปอร์เซ็นต์การละลายน้ำต่ำที่สุด คือ 91.81% ดังตารางที่ 38 แต่เมื่อมีการศึกษาผลของวิธีการสกัดร่วมกับปริมาณมอลโตเด็กตรินพบว่าผลต่อค่าการละลายได้ในน้ำ โดยการสกัดด้วยเอนไซม์ร่วมกับมอลโตเด็กตรินช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายน้ำของสารสกัดได้ดีกว่าการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลร่วมกับมอลโตเด็กตรินอย่างมีนัยสำคัญ ปริมาณมอลโตเด็กตรินมีผลทำให้การละลายน้ำของสารสกัดเพิ่มขึ้น ดังตาราง 39 การเติมมอลโตเด็กตรินที่ความเข้มข้น 4% (w/v) ทำให้เปอร์เซ็นต์การละลายน้ำของสารสกัดสูงที่สุดอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติ โดยทำให้สารสกัดละลายน้ำได้ 96.92% รองลงมาคือการเติมมอลโตเดกซ์ตริน 3% และ 2% ส่วนสารสกัดผงที่สกัดด้วยเอทานอลและไม่เติมมอลโตเดกซ์ตรินมีเปอร์เซ็นต์การละลายน้ำต่ำที่สุดเท่ากับ 91.32%

ตารางที่ 37 องค์ประกอบทางเคมี และสารออกฤทธิ์ชีวภาพของรำข้าวเหนียวดำ และรำข้าวเหนียวดำสกัดโดยใช้เอ็นไซม์

องค์ประกอบทางเคมี (%)	รำข้าวเหนียวดำ	รำข้าวเหนียวดำสกัด
ความชื้น	10.68 ± 0.40	7.60± 0.49
โปรตีน	9.27 ± 0.19	15.60±0.95
ไขมัน	10.04± 0.36	13.84±0.83
คาร์โบไฮเดรต	45.09 ± 1.14	41.03±3.58
เส้นใยอาหาร	12.88 ± 0.79	15.74±0.42
เถ้า	9.72 ± 0.45	11.24±0.70
น้ำตาลรีดิวซ์	2.08 ± 0.22	10.79±0.85
กรดอะมิโนรวม	7.62 ± 0.11	12.21±0.72
สารฟีนอลิก (mg/100g)	1765.19±24.36	2459.25±93.11
แอนโทไซยานิน (mg/100g)	255±7.66	320.18 ± 39.1
Alpha-tocopherol (µg/g)	17.03±0.85	16.66±1.17
Gamma tocopherol (µg/g)	32.90±0.91	14.33±0.72
Gamma oryzanol (µg /g)	6,910.36±80.79	5,394.84±102.00

ตารางที่ 38 ความสามารถในการละลายได้สารสกัดข้าวเหนียวดำ (ไม่เติมมอลโตเดกซ์ตริน)

การสกัด	Solubility (%)
Ethanol	91.81±2.88 ^c
40BBE**	94.65±2.09 ^{ab}
50BBE	96.32±1.40 ^a
60BBE	93.44±3.42 ^{bc}

** 40BBE, 50BBE, 60BBE = รำข้าวเหนียวดำ 40, 50, 60 g สกัดโดยใช้เอ็นไซม์

ตารางที่ 39 การละลายได้ (solubility) ของรำข้าวเหนียวดำสกัด หลังจกเติม maltodextrin

Maltodextrin (%)	Solubility (%)
0	91.32±3.00 ^c
2	94.01±2.58 ^b
3	93.97±2.03 ^b
4	96.92±1.14 ^a

4.4.3 ผลการศึกษาคุณสมบัติทางด้านสีของสารสกัด

พบว่า การเติมมอลโตเดกซ์ตรินในปริมาณที่มากขึ้นจะทำให้สารสกัดมีค่าความสว่าง (L) เพิ่มขึ้น และวิธีการสกัดด้วยเอทานอลทำให้สารสกัดมีความเป็นสีแดงเข้ม (a) มากกว่าสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอทานอล โดยพบว่า การสกัดโดยใช้รำข้าวเหนียวดำในปริมาณ 50 และ 60 กรัม เติมมอลโตเดกซ์ตริน 4% มีค่าความสว่างมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยมีค่าเท่ากับ 49.40% และ 49.03% ตามลำดับ (ตารางที่ 40)

ตารางที่ 40 ผลของวิธีการสกัด และมอลโตเดกซ์ตริน ต่อสีของรำข้าวเหนียวดำสกัด

การสกัด	Maltodextrin (%)	L	a	B
Ethanol	0	38.95±1.17 ^g	4.77±0.06 ^k	0.46±0.02 ^h
	2	41.09±0.75 ^f	8.82±0.09 ⁱ	-0.01±0.05 ^h
	3	40.55±0.92 ^{fg}	7.49±0.20 ^j	-0.20±0.06 ^g
	4	39.09±1.92 ^g	7.56±0.12 ^j	-0.24±0.05 ^f
40 BBE**	0	45.82±1.25 ^d	18.11±0.50 ^{de}	2.85±0.18 ^c
	2	44.04±0.44 ^e	18.24±.37 ^{de}	3.65±0.09 ^d
	3	46.14±0.21 ^d	18.60±0.41 ^d	3.54±0.15 ^{cd}
	4	45.94±1.25 ^d	19.68±0.06 ^c	4.02±0.02 ^b
50 BBE	0	41.24±1.05 ^f	12.66±0.40 ^h	2.52±0.22 ^f
	2	46.61±0.66 ^{cd}	17.77±0.19 ^c	3.32±0.12 ^c
	3	48.04±0.48 ^{abc}	18.44±0.32 ^d	3.54±0.22 ^b
	4	49.40±0.46 ^a	20.25±0.03 ^b	4.05±0.08 ^b
60 BBE	0	41.46±0.62 ^f	14.73±0.20 ^g	3.37±0.07 ^c
	2	44.11±1.29 ^e	16.73±0.33 ^f	3.62±0.11 ^b
	3	47.51±0.47 ^{bcd}	20.99±0.49 ^a	4.32±0.12 ^b
	4	49.03±0.90 ^{ab}	21.08±0.30 ^a	4.33±0.29 ^a

4.4.4 ผลการวัดปริมาณสารสกัดหลังการทำแห้งแบบเยือกแข็ง (% yield)

สารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยเอโนไซม์เมื่อเพิ่มปริมาณรำที่ใช้สกัดมากขึ้นจะทำให้ปริมาณผลผลิตที่ได้จากการสกัดสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และการเติมมอลโตเดกซ์ตรินมีผลทำให้ได้ปริมาณสารสกัดสูงขึ้น โดยรำข้าวเหนียวดำปริมาณ 50-60 กรัมสกัดด้วยเอโนไซม์เติมมอลโตเดกซ์ตริน 2, 3 และ 4% มีเปอร์เซ็นต์ผลผลิตของสารสกัดสูงที่สุด ดังตารางที่ 41

4.4.5 ผลจากการศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัด

สารสกัดผงที่เติมมอลโตเดกซ์ตรินในปริมาณมากขึ้นจะมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าสารสกัดที่ไม่เติมมอลโตเดกซ์ตริน และวิธีการสกัดโดยใช้เอโนไซม์ที่ใช้รำในปริมาณสูงขึ้นไปจะทำให้สารสกัดที่ได้มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงขึ้น โดยพบว่าปริมาณรำ 60 กรัมสกัดด้วยเอโนไซม์แล้วเติมมอลโตเดกซ์ตริน 4% มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ (ตารางที่ 41)

ตารางที่ 41 ผลของการสกัดและมอลโตเดกซ์ตริน ต่อปริมาณสิ่งสกัดที่ได้ (% yield) และปริมาณแอนโทไซยานิน

การสกัด	Maltodextrin (%)	Yield (%)	Anthocyanin (mg/100g)
Ethanol	0	16.12±1.28 ^g	33.86±4.08 ^h
	2	25.24±2.53 ^f	40.35±1.76 ^h
	3	32.36±2.35 ^{de}	81.32±8.26 ^g
	4	35.61±1.18 ^{bcd}	158.32±1.98 ^f
40 BBE**	0	31.87±2.56 ^c	182.14±4.56 ^c
	2	34.19±1.04 ^{bcd}	254.74±13.12 ^d
	3	35.99±1.49 ^{bc}	257.68±10.67 ^{cd}
	4	37.49±0.87 ^{ab}	301.50±11.16 ^b
50 BBE	0	33.11±1.57 ^{cde}	143.14±9.76 ^f
	2	36.68±0.47 ^{ab}	271.71±13.27 ^c
	3	37.24±1.35 ^{ab}	303.78±12.47 ^b
	4	39.47±1.51 ^a	299.41±12.95 ^b
60 BBE	0	35.56±1.48 ^{bcd}	178.86±6.58 ^e
	2	39.66±1.50 ^a	291.77±8.96 ^b
	3	39.66±3.24 ^a	304.32±9.73 ^b
	4	38.78±1.84 ^a	332.18±8.31 ^a

**40BBE, 50BBE, 60BBE = black rice bran 40, 50, 60 gram extracted using enzyme

4.4.6 ผลการประยุกต์ใช้สีจากข้าวเหนียวดำสกัดในโยเกิร์ต

เมื่อนำสีจากรำข้าวเหนียวดำสกัดที่ผลิตได้จากวิธีการผลิตที่เหมาะสมที่สุด (รำข้าวเหนียว 60g สกัดด้วยเอ็นไซม์และเติมมอลโตเดกซ์ตริน 4% ไปเป็นสีผสมโยเกิร์ตหลัง แล้วทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงต่างๆ ได้ผลดังนี้

การเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

จากการวัดการเปลี่ยนแปลง pH ของโยเกิร์ตหลังการเก็บรักษาทุก 3 วันเป็นเวลา 21 วัน พบว่า ปริมาณสีของสารสกัด ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลง pH ของโยเกิร์ต แต่โยเกิร์ตหลังทุกตัวอย่างเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นจะมี pH ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางเนื่องจากกรดที่เกิดจากการทำงานของจุลินทรีย์ในโยเกิร์ต โดยเมื่อการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นถึง 21 วันพบว่า pH ของโยเกิร์ตลดลงเป็น 4.37 (ตารางที่ 42)

การวัดการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดของโยเกิร์ต

จากการวัดการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด ของโยเกิร์ตหลังกระบวนการผลิตและการเก็บรักษาทุก 3 วันเป็นเวลา 21 วันพบว่า ระดับสีของสารสกัด ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด ของโยเกิร์ต แต่พบว่าเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นจะทำให้ปริมาณกรดของโยเกิร์ตเพิ่มขึ้น อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 โดยเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้นถึง 21 วันพบว่า pH ของโยเกิร์ตเพิ่มขึ้นเป็น 0.85% ดังตารางที่ 42

ตาราง 42 ผลการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างและค่าความเป็นกรดของโยเกิร์ตระหว่างการเก็บรักษา

เวลา (วัน)	pH	ปริมาณกรด (%)
0	4.60 ± 0.17 ^a	0.47±0.02 ^a
3	4.57 ± 0.13 ^a	0.50±0.02 ^b
6	4.54 ± 0.19 ^b	0.53±0.02 ^b
9	4.51 ± 0.16 ^{bc}	0.58±0.02 ^c
12	4.49 ± 0.16 ^{cd}	0.63±0.02 ^d
15	4.48 ± 0.19 ^d	0.74±0.02 ^e
18	4.43 ± 0.13 ^c	0.80±0.02 ^f
21	4.37 ± 0.19 ^f	0.85±0.01 ^g

^{a-f} ... ตัวอักษรในแนวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

การประเมินค่าสีในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ต

จากการทดลองพบว่าที่ระดับการเติมสีต่างกันทำให้ได้ค่าความสว่าง (L^*) ค่าความเข้มของสี (C^*) และค่าของสีมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ลักษณะของโยเกิร์ตที่ได้จากการเติมสีจะมีสีม่วงอมชมพูขึ้นกับระดับของสีที่เติม โดยที่ระดับการเติมสี 0.6% มีค่าความสว่างน้อยที่สุดคือ 68.42 และมีค่าความเข้มของสีมากที่สุดคือ 15.59 ส่วนค่าของสีมีค่าน้อยที่สุดแสดงให้เห็นว่าการเติมสีที่ระดับนี้จะทำให้ได้โยเกิร์ตที่มีเข้มมากที่สุดและลักษณะของสีตามค่ามุมของสีจะเป็นสีแดงแกมม่วง นอกจากนี้พบว่าเมื่อทำการเก็บรักษาโยเกิร์ตเป็นเวลา 21 วันไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าสีอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 ดังตารางที่ 43

สรุป

จากการศึกษาพบว่าวิธีการสกัดและการเติมสารให้ความคงตัวคือมอลโตเดกซ์ตรินในสารสกัดข้าวเหนียวดำก่อนการทำแห้งแบบเยือกแข็งสามารถปรับปรุงคุณสมบัติของสารสกัดข้าวเหนียวดำผงได้ โดยสารให้ความคงตัวชนิดมอลโตเด็คตรินสามารถช่วยรักษาปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดได้ สำหรับการใส่เอนไซม์ในการสกัดข้าวเหนียวดำสามารถช่วยปรับปรุงความสามารถในการละลายน้ำของสารสกัดได้มากขึ้นและปริมาณราที่เพิ่มขึ้นมีผลต่อการเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินได้มากขึ้น ราข้าวเหนียวดำสกัดสามารถประยุกต์ใช้ เป็นสีผสมโยเกิร์ตได้ โดยสียังมีความคงตัว เมื่อเก็บโยเกิร์ตไว้ 21 วัน

ตารางที่ 43 การเปลี่ยนแปลงค่าสีของโยเกิร์ต

เวลา (วัน)	ปริมาณสารสกัด ผง (%)	Lightness (L)	Chroma (c)	Hue angle (h)
0	0	94.23±0.27 ^d	9.51±0.12 ^{cd}	108.83±0.77
	0.2	80.20±0.26 ^c	9.67±0.06 ^{cd}	18.34±0.52
	0.4	73.53±0.21 ^b	12.95±0.02 ^b	12.64±0.20
	0.6	68.42±0.27 ^a	15.23±0.15 ^a	8.73±0.31
3	0	94.35±0.18 ^d	9.59±0.03 ^{cd}	108.40±0.70
	0.2	80.23±0.25 ^c	9.81±0.04 ^{cd}	19.58±0.16
	0.4	73.72±0.23 ^b	12.92±0.04 ^b	13.14±0.22
	0.6	68.43±0.19 ^a	15.28±0.05 ^a	9.28±0.38
6	0	94.52±0.12 ^d	9.48±0.04 ^{cd}	108.22±0.49
	0.2	80.20±0.26 ^c	9.83±0.13 ^{cd}	19.99±0.56
	0.4	73.76±0.44 ^b	12.96±0.03 ^b	13.08±0.41
	0.6	68.45±0.11 ^a	15.55±0.06 ^a	9.67±0.13
9	0	94.52±0.17 ^d	9.54±0.05 ^{cd}	108.08±0.95
	0.2	80.20±0.13 ^c	9.64±0.29 ^{cd}	20.88±0.66
	0.4	73.75±0.18 ^b	12.97±0.05 ^b	13.92±0.10
	0.6	68.45±0.11 ^a	15.22±0.10 ^a	10.51±0.11
12	0	94.55±0.36 ^d	9.44±0.04 ^{cd}	107.66±0.52
	0.2	80.23±0.35 ^c	9.93±0.10 ^{cd}	19.74±0.39
	0.4	73.73±0.20 ^b	12.99±0.04 ^b	12.92±0.20
	0.6	68.47±0.14 ^a	15.59±0.01 ^a	9.14±0.20
15	0	94.54±0.64 ^d	9.41±0.10 ^d	107.83±0.41
	0.2	80.22±0.31 ^c	9.82±0.10 ^{cd}	20.35±0.33
	0.4	73.68±0.18 ^b	13.16±0.09 ^b	13.61±0.07
	0.6	68.91±0.12 ^a	15.41±0.08 ^a	9.49±0.52
18	0	98.56±0.13 ^d	9.58±0.06	106.97±0.38
	0.2	80.25±0.21 ^c	9.97±0.07 ^c	21.25±0.17
	0.4	73.75±0.12 ^b	13.23±0.04 ^b	14.62±0.46
	0.6	69.39±0.28 ^a	15.57±0.02 ^a	10.53±0.20
21	0	94.55±0.41 ^d	9.52±0.11 ^{cd}	107.75±0.22
	0.2	80.26±0.09 ^c	9.78±0.04 ^{cd}	21.80±0.30
	0.4	73.80±0.05 ^b	13.03±0.03 ^b	14.37±0.18
	0.6	69.46±0.37 ^a	15.51±0.16 ^a	10.61±0.24

^{a-d}... ตัวอักษรในแนวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกัน ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($p < 0.05$)

4.5 การทดสอบความปลอดภัย (สารตกค้าง และสารพิษ) ของผลิตภัณฑ์

การทดสอบการเป็นพิษในการศึกษาครั้งนี้ เลือکتดสอบสารที่มีโอกาสปนเปื้อนเข้าไปในผลิตภัณฑ์เท่านั้น เนื่องจากผลิตภัณฑ์ที่ผลิตได้ทั้งหมด มาจากข้าวที่เป็นเกรดรับประทานเป็นอาหารได้ และผลิตภัณฑ์ที่ได้ที่มีความชื้นต่ำ (ต่ำกว่า 10%) จึงค่อนข้างปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ สารที่วิเคราะห์ครั้งนี้ได้แก่ สารหนู (arsenic) สารปรอท (mercuric) เฮกเซน และ เอทานอล ซึ่งสารสองชนิดแรกเป็นสารโลหะหนัก ที่อาจปนเปื้อนมากับข้าวเปลือก ส่วน เฮกเซน และ เอทานอล อาจเหลือตกค้างจากการสกัดสาร การทดสอบสารหนู (arsenic) และสารปรอท ครั้งนี้ โดยใช้ชุดทดสอบสำเร็จรูป (Osumex's Heavy Metals Test kits) (ตารางที่ 44) เพื่อการตรวจสอบเบื้องต้นก่อน (screening test) หากการตรวจสอบพบโดยชุดตรวจสอบ จึงจะทำการวิเคราะห์ หาปริมาณโดย Gas chromatography ต่อไป ส่วน เฮกเซน และ เอทานอล วิเคราะห์โดย GC-FID method จากการทำการทดสอบเบื้องต้น พบว่าผลิตภัณฑ์ ทั้งหมดไม่มีสารที่มีโอกาสปนเปื้อนทั้ง 4 ชนิดนี้เจือปน

ในกรณีของอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ นั้นงานวิจัยครั้งนี้ไม่ได้ทำการศึกษาเนื่องจากผลิตภัณฑ์ทุกชนิดที่ผลิตได้ ผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งแห้ง (freeze drying) จึงมีปริมาณความชื้นต่ำ คือต่ำกว่า 10% ในทุกผลิตภัณฑ์ นั่นคือสามารถเก็บรักษาได้นาน

ตารางที่ 44 การทดสอบความปลอดภัย (สารตกค้าง และสารพิษ)

ผลิตภัณฑ์	รายการวิเคราะห์			
	Arsenic (As)	Mercury (Hg)	Hexane	Ethanol
รำข้าวสกัด	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
USM	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
จมูกข้าว	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ
สีจากข้าวเหนียวดำ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ	ไม่พบ

บทที่ 5

สรุปและข้อเสนอแนะ

การผลิต การนำไปใช้ประโยชน์ และข้อเสนอแนะ สามารถสรุป และเรียบเรียงตาม ชนิดของผลิตภัณฑ์ได้ ดังนี้

(1) **รำข้าวสกัด** รำข้าวสกัดที่ได้ มีปริมาณผลผลิตสูง (71-73 % ของรำข้าว) จุดเด่น รำข้าวสกัดด้วย เอนไซม์ทั้งรำข้าวธรรมดาและรำข้าวงอกมีปริมาณสารอาหารและสารออกฤทธิ์ชีวภาพ คือ สารประกอบฟีนอลิก แกมมาออริซานอลและแอลฟาโทโคเฟอรอลเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ กรดไฟติกมีปริมาณลดลง ผลิตภัณฑ์มีลักษณะเป็นผงละเอียด ความชื้นต่ำ (40 mesh) มีสีขาวนวล สามารถผสมกับผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ ได้ง่าย ผลิตภัณฑ์มีความชื้นต่ำ (8-11%) สามารถเก็บรักษา ได้นาน ข้อเสนอแนะ ในเชิง นโยบาย รำข้าวสกัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีศักยภาพสูงสุด ทั้งในเชิง ปริมาณการผลิต กรรมวิธีการผลิต และความเป็นไปได้ อย่างไรก็ตาม ควรต้องมีการปรับกรรมวิธี ในการผลิต เมื่อผลิตในเชิงอุตสาหกรรม และอาจใช้รำธรรมดาเพราะมีปริมาณมากและผลิตได้ง่าย ในการสกัดหากมีการใช้ปริมาณของเอนไซม์ที่มากขึ้นและย่นนานขึ้นผลิตภัณฑ์ ที่ได้ อาจจะมีลักษณะ เป็นของเหลว ซึ่งเป็นอาหารสุขภาพได้เช่นกัน แต่ผลิตภัณฑ์ ดังกล่าวไม่ใช่จุดประสงค์ของงานวิจัย ครั้งนี้ การประยุกต์ใช้ ในงานวิจัยนี้ใช้ส่วนผสมเครื่องคัมรำข้าวสกัด สำเร็จรูป ซึ่งได้ผลดี แต่ ผลิตภัณฑ์ยังสามารถผสมกับอาหารอื่นๆ ได้อีก มากมาย โดยเฉพาะอาหารที่มีแป้งหรือธัญพืช เป็น ส่วนผสมหลัก

(2) **สารกลุ่มไม่เกิดปฏิกิริยาสบู่จากรำข้าว (unsaponifiable matters: USM)** จากการศึกษาการสกัด สารออกฤทธิ์ชีวภาพของสารกลุ่มUSMจากน้ำมันรำข้าวพบว่าปริมาณน้ำมันและ USM ที่สกัดได้มี ค่าเท่ากับ 8% และ 2.89-3.73 % ตามลำดับ โดยการสกัดที่อุณหภูมิ 80-100°C ให้ผลดีที่สุดผลิตภัณฑ์ ที่ได้มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสูง เหมาะกับการเป็นผลิตภัณฑ์โภชนาเภสัช สาร USM ที่ได้มี ลักษณะ เป็นผลึกของน้ำมัน สีน้ำตาลอ่อน สามารถละลายได้ดีในน้ำมัน ดังนั้นการเก็บรักษา ต้อง ระมัดระวังการเกิดออกซิเดชัน ควรเก็บในภาชนะที่เป็นขวดแก้ว ป้องกันแสง ออกซิเจน และ เก็บที่ อุณหภูมิต่ำ การประยุกต์ใช้สามารถทำได้ในอาหารที่มีน้ำมันเป็นส่วนผสม เช่น น้ำสลัด ผลิตภัณฑ์ เนื้อ ผลิตภัณฑ์นม หรือแม่แต่ในเครื่องสำอาง เป็นต้น หรืออาจจะใช้บริโภคได้โดยตรง แต่การผลิต จะต้องตรวจสอบความปลอดภัยอย่างเข้มงวด เพราะในกระบวนการผลิต มีการใช้เฮกเซน และ เอทานอล จึงจำเป็นต้องตรวจปริมาณตกค้างของสารนี้ รวมถึงโลหะหนักที่อาจจะปนเปื้อนมากับ สารเคมี หรือรำข้าวด้วย

(3) **จมูกข้าว** จากการประเมินศักยภาพการเป็นอาหารสุขภาพพบว่าจมูกข้าวมีศักยภาพสูง อาจจะไม่จำเป็นในการสกัด เหมาะกับการใช้เป็นอาหารสุขภาพได้โดยตรง แต่ปริมาณผลผลิตค่อนข้างต่ำ และเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณน้ำมันค่อนข้างสูง จำเป็นต้อง คงสภาพจมูกข้าวทันทีหลังการผลิตและเก็บในสภาพคล้ายกับ สาร USM

ข้อเสนอแนะ ปริมาณของจมูกข้าวที่แยกได้ในครั้งนี้แยกโดยใช้มือ ซึ่งเป็นวิธีการที่ไม่เหมาะสมในการผลิตระดับอุตสาหกรรม การใช้วิธีการขั้วสีโดยเครื่องสีข้าวขนาดเล็ก พบว่าสามารถทำได้ แต่ความบริสุทธิ์ของจมูกข้าวมีน้อย เนื่องจากมีรำและแกลบ ปนมากค่อนข้างมาก สารแกลบออกจากจมูกข้าวโดยการร่อนผ่านตะแกรง รำละเอียดและส่วนของแป้งผ่านตะแกรง ส่วนบนคือจมูกข้าว ในการผลิตระดับอุตสาหกรรมอาจต้องใช้เครื่องสีข้าวแบบที่สามารถแยกจมูกข้าวได้ซึ่งมีจำหน่ายในต่างประเทศ เพื่อเพิ่มกำลังการผลิต

(4) **รำข้าวเหนียวดำสกัด** เป็นผลิตภัณฑ์ที่มีศักยภาพสูงในการพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ เนื่องจากมีปริมาณการผลิตสูง กรรมวิธีการผลิตไม่ซับซ้อน และผลิตภัณฑ์ที่ได้เป็นได้ทั้ง โภชนาเภสัชภัณฑ์ และสผสมอาหาร มีสารออกฤทธิ์ชีวภาพในปริมาณที่ใกล้เคียงกับรำข้าวธรรมดาสกัด และมีสารแอนโทไซยานินในปริมาณสูง ซึ่งสารนี้เป็นสารแอนติออกซิแดนซ์และให้สีม่วงเข้มกับผลิตภัณฑ์อาหาร สามารถเก็บรักษาได้ง่ายและนานเนื่องจากมีความชื้นต่ำ แต่เพื่อให้สีมีความคงตัวนานขึ้น อาจจะต้องเก็บรักษาในสถานะเดียวกับสาร USM การนำไปประยุกต์ใช้จะต้องพิจารณาค่าความเป็นกรดและด่างของอาหาร เนื่องจากแอนโทไซยานิน เป็นสารที่ให้สีสดใสและคงตัวในสถานะที่มีค่าความเป็นกรดสูง (pH ต่ำ) เช่น โยเกิร์ต และน้ำผลไม้ เป็นต้น

บรรณานุกรม

- บังอร ศรีพานิชกุลชัย, ผดุงขวัญ จิตโรภาส และ อรุณศรี ปรีเปรม. 2548. รำข้าวที่มีคุณภาพ : คุณค่าต่อสุขภาพ (Rice bran : Its value for Health). ศูนย์วิจัยและพัฒนาผลิตภัณฑ์สมุนไพร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น : ขอนแก่น.
- ปราณี อานเป็รื่อง. 2535. เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 1. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเทคโนโลยี การอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สุพัตรา เลิศวณิชวัฒนา. 2546. การพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากข้าววงอก. วิทยานิพนธ์. วท.ม. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. ข้าว : วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Andlauer, W. and Furst, P. 2002. Nutraceuticals: a piece of history present status and outlook. Food Res. Int. 35, 171-176.
- Anna Bakowska, Alicja Z. Kucharka, Jan Oszianski. 2003. The effect of heating, UV irradiation, and storage on stability of the anthocyanin-polyphenol copigment complex. , Food Chemistry. 81: 349-355.
- Anna, L., Rong, N., and Nicolosic, R. 2005. Hypocholesterolemic effect of physically refined rice bran oil: studies of cholesterol metabolism and early atherosclerosis in hypercholesterolemic hamsters. J. Nutritional Biochemistry . 16 :521-529.
- Arabshahi, S., V. Devi. and A. Urooj. 2007 Evaluation ofฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ of Some Plant Extracts and their Heat, pH and Storage Stability, Food Chemistry. 100 : 1100-1105.
- Arabshahi, S. and A. Urooj. 2007. Antioxidant properties of various solvent extracts of mulberry (*Morus indica* L.) leaves, Food chemistry. 102 : 1233-1240.
- AOAC. 2000. Official Method of Analysis. 17th Edition. Association of Official Agriculture Chemists. Washington D.C.
- Awika, J.M., Rooney, L.W., and Waniska, R.D. 2004. Anthocyanin from black sorghum and their antioxidant properties. Food Chem. In press.
- Boonsit, P. D. Karladee and P. Pongpiachan. 2006. Gamma oryzanol Content in Purple Rice Thailand Local Genotypes, Agricultural Sci. 191-194.
- Bucci, R. et al. 2003. Comparison of three spectrophotometric methods for the determination of γ -oryzanol in rice bran oil, Anal Bioanal Chem. 375 :1254-1259.

- Campbell, S. et. al. 2003. Development of gamma (g)-tocopherol as a colorectal cancer chemopreventive agent. *Critical Reviews in Oncology/Hematology*. 47 :249-259.
- Centino, C., et. al. 2001. Effect of several germination conditions on total P, phytate P, phytase, and acid phosphatase activities and inositol phosphate ester in rye and barley. *Agric. Food Chem.* 49: 3208-3215.
- Chen, M., and Bergman, C. 2005. A rapid procedure for analysing rice bran tocopherol, tocotrienol and oryzanol contents. *J. Food composition and analysis*. 18 : 319-331.
- Chotimarkorn .C., Benjaku .S., Silalai.N.2008. Antioxidant components and properties of five long grained rice bran extracts from commercial available cultivars in Thailand .*J. Food Chemistry*,111,636-641.
- Chun Hu, Jerzy Zawistowski, Wenhua Ling, And David D.Kitts. Black rice (*oryza sativa* L.indica) Pigmented Fraction Suppresses both Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide in Chemical and Biological Model Systems. *J.Agric Food Chem.* 2003,51,5271-5277.
- Da Silva, M. A., C. Sanches and E. R. Amante, 2006. Prevention of hydrolytic rancidity in rice bran. *Journal of Food Engineering.*, 75(4): 487-491.
- Dasgupta, N., and De, B. 2004.ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ of *Piper betle* L. leaf extract in vitro. *J. Food chemistry*. 88 : 219-224.
- Febles, C. et. al. 2002. Phytic acid level in Wheat Flours. *J. Cereal science*. 36 : 19-23.
- Garcia-Esteva, R., Guerra-Hernandez ,E., and Garcia-Villanova, B. 1999. Phytic acid content in milled cereal products and breads. *J. Food Research International*. 32 : 217-221.
- Grases, F. et. al. 2002. Effect of exogenous inositol hexakisphosphate (Ins Po) on the levels of Ins Po and of inositol triphosphate (Ins P₃) in malignant cells, tissues and biological fluids. *Life Sciences*. 71 : 1535 : 1546.
- Ha, T. et. al. 2005. Bioactive components in rice bran oil improve lipid profiles in rats fed a high-cholesterol diet. *J. Nutritional Research*. 25 : 597-606
- Heinonen, I. Marina Meyer , Arne S and Frankel, Edwin N. 1998.ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ of Berry Phenolic on Human Low-density Lipoprotein and Liposome ออกซิเดชัน. *J.Agric. Food Chem.* 46 :4107-4112.
- Imsanguana .P., Roaysubtawee . A., Boriraka. R., Pongamphaia.s., Douglasa.s., Douglas L.2008. Extraction of a-tocopherol and g-oryzanol from rice bran. 1417–1424.

- Iqbal, S., Bhangar, M., and Anwar, F. 2005. Antioxidant properties and components of bran extract from selected wheat varieties commercially available in Pakistan. *J. LWT.* 93:265-272.
- Julino, BO. 1993. Rice in Human Nutrition. FAO food and Nutrition series, No.26. The International Rice Research Institute (IRRI), Laguna, and Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO), Rome.
- Kayahara, H., K. Tsukahara and T. Tantai, 2000. Flavor, health and nutritional quality of pre-germinated brown rice. In: Spanier, A.M., F. Shahidi, T.H. Parliment, C. Mussinan, C.T. Ho, E.T. Contis (Eds.), 10th International Flavor Conference, 4-7 July 2000. Paros, Greece., pp: 546-551.
- Khuwijtjaru, P. N. Taengtieng and S.Changprasit. Degradation of Gamma-oryzanol in Rice Oil during Heating:An Analysis Using Derivative UV-spectrophotometry, unpagged : n.d.
- Kim, K. , R. Yang and S. Cui. 2006. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions.*Food Chemistry.* 95:466-473,
- Lapidot Tair, Harel Stela, Akiri Bezable, Granit Rina and Kanne Josaph. 1999.PH- Dependent Forms of Red Wine Anthocyanins as Antioxidant. *J.Agric. Food Chem.* 47 : 67-70.
- Mavon, A., V. Raufasta, and D. Redoules. "Skin absorption and metabolism of a new vitamin E prodrug, γ -tocopherol-glucoside: in vitro evaluation in human skin models," *Controlled Release.* 100 : 221-231, 2004.
- Miller, A. et. al. 2003. Coupled liquid chromatography–gas chromatography for the rapid analysis of γ -oryzanol in rice lipids. *J. Chromatography A.*
- Minhajuddin, M., Beg, Z., and Iqbal, J. 2005. Hypolipidemic and antioxidant properties of tocotrienol rich fraction isolated from rice bran oil in experimentally induced hyperlipidemic rats. *J. Food and chemical Toxicology.* 43 : 747-753.
- Odibo, F.J.C., L.N. Nwankwo and R.C. Agu. "Production of malt extract and beer from Nigerian sorghum varieties," *Process Biochemistry.* 37 : 851-855, 2002.
- Parrado, J., Miramontes, E., Jover, M., Guierrez, J.F., Collantes de Terán, R.,and Bautista, J., 2006. Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use as functional food. *Food Chemistry.* 98 : 742-748.
- Qureshi, A., Sami, S., and Khan, F. 2002. Effects of sterbilized rice bran,its soluble and fiber fractions on blood glucose levels and serum lipid parameters in humans with diabetes mellitus Types I and II. *J. Nutritional Biochemistry.* 13 : 175-187.

- Rohrer, C.A. and T.J. Siebenmorgen. "Nutraceutical Concentrations within the Bran of Various Rice Kernel Thickness Fractions," *Biosystems Engineering*. 88 : 453-460, 2004.
- Ryynanen, M. et. al. "A small-scalesample preparation method with HPLC analysis for determination of tocopherols and tocotrinols in cepeals," *Food composition and Analysis*. Unpaged, 2003.
- Ryynanen, M. et. al. 2003. A small-scalesample preparation method with HPLC analysis for determination of tocopherols and tocotrinols in cepeals. *Food composition and Analysis*
- Ryu, S.N., Park, S.Z., Ho, C.T., Ruy, S.N., Park, S.Z., and Ho, C.T. 1998. High performance liquid chromatography determination oof anthocyanin pigment in some varieties of black rice. *Food and drug anal.* 6: 729.
- Setiadi, D. et. al.. 2003. Vitamin E models. Shortened sidechain models of a, b, g and dtocopherol and tocotrienol—a density functional study. *J. Molecular Structure (Theochem)*. 637 : 11–26.
- Schwarz, E.1998. Pigment Analysis. *In Food Analysis Second Edition*. 2nd ed. Nielsen, S.S. ed. Marryland : Aspen Publishers, Inc
- Suja, K., Jayalekshmy, A., and Arumugan, C. 2005. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ of sesame cake extract. *J. Food chemistry*. 91 : 213-219.
- Wrolstad Ronald E.1997 Anthocyanins. *In Natural Food Colorant*.1st ed. Lauro, Gabriel J. and Francis,F Jack Ed. New York : Marcel Dekker, Inc.
- Yoshida, Y., E. Niki. and N. Noguchi, 2003. Comparative Study on the Action of Tocopherols and Tocotrienols as Antioxidant : Chemical and Physical Effects. *J. Chemistry and Physics of Lipids.*, 123 : 63-75.
- Yu L., Zhou, K., and Parry, J. 2005. Inhibitory effects of wheat bran extracts on human LDL ออกซิเดชัน and free radicals. *J. LWT*. 38 : 463-470.
- Zang, L. et. al. 2000. Effect of antioxidant protection by p-coumaric acid on low-density lipoprotein cholesterol ออกซิเดชัน. *J. AJP-cell physiology*. 279 : 95-111.

ภาคผนวก

1. เครื่องมือและอุปกรณ์

เครื่องแก้วต่างๆ ถ้วยใส่ตัวอย่างวิเคราะห์ความชื้น (moisture can) Crucible (VELP scientific) โถดูดความชื้น (desicator) extraction thimble (VELP scientific) ตู้เพาะข้าว เครื่องขัง Rotary evaporator (Buchi) ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) เครื่องวิเคราะห์โปรตีน (Gerhardt) เครื่องวิเคราะห์เส้นใยดิบ (VELP scientific) เครื่องวิเคราะห์ไขมัน (VELP scientific) เครื่องวิเคราะห์เถ้า (muffle furnace) (Carbolite) เครื่อง UV- spectrophotometer (Spectronic Genesys 5) เครื่องเซนตริฟิวซ์ (Rotina 48 R) และเครื่อง High-performance liquid chromatography (HPLC) (Shimazu, Japan) Filter membrane (0.45 μm cellulose acetate, Whatman) Hot-plate Vortex Magnetic stirrer Water bath, Sonicator, Homogenizer, pH meter, เครื่องทำแห้งแบบลูกกลิ้ง, เครื่องแช่เยือกแข็งแห้ง (free dryer)

2. สารเคมี

2.1 เอนไซม์ในการสกัดรำข้าว

เอนไซม์ Alpha amylase (E.C. 3.2.1.1) type XII-A from *Bacillus Licheniformis* (500 KU) (Sigma) เอนไซม์ Protease type II: fungal, crude from *Aspergillus Oryzae* (0.140 units/mg) (Sigma)

2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

Sodium sulphate anhydrous (Carlo erba) Sodium hydroxide (BHD) Boric acid (Caro erba) Hydrochloric (Caro erba) Dipotassium sulphate (BDH) Copper sulphate (BHD) Petroleum ether (BDH) Acetone (lab scan) N-octanol (Caro erba) Potassium hydroxide (BHD) Acetone (BDH) di-Sodium hydrogen phosphate 12-hydrate Glycine Sodium potassium tartate Cupric sulphate pentahydrate (Fluka) Ammonium molybdate (Caro erba) Sodium arsenate Methanol (BDH) Hexane (BDH) Ethyl acetate (BDH) Ascorbic acid (Fluka) Ethanol (BHD) Folin-ciocalteu Reagent (Caro erba) Sodium carbonate (Fluka) Gallic acid (Fluka) Sulphosalicylic acid

2.3 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ)

2,2-diphenyl-2-picrylhydrazyl หรือ DPPH (Sigma) Butylatedhydroxyanisole หรือ BHA (Fluka) Butylatedhydroxytoluene หรือ BHT (Fluka) Gallic acid (Fluka) vitamin E (Sigma)

Feric sulphate (Carlo erba) Thiobarbituric acid (PA Panreac) Sodium sulphate (Fluka)
 Ethylenediaminetetra acetic acid หรือ EDTA (Fluka) Hydrogen peroxide (Carlo erba)
 Ferrous chloride (BHA) Linoleic acid (Fluka) Etanol (BDH) Ammonium thiocyanate (Carlo
 erba)

3. การวิเคราะห์สารอาหารหลัก

3.1 การวิเคราะห์ปริมาณความชื้นและของแข็งรวม (Moisture and total solids)

(AOAC. 2000)

โดยทำการอบ moisture can พร้อมฝาในตู้อบอุณหภูมิ 100-102 C เป็นเวลา 15 นาที นำมาใส่ desiccator ให้เย็นลง ชั่งงานและฝาโดยใช้เครื่องชั่งชนิดละเอียดถึงหน่วยมิลลิกรัม นำตัวอย่างอาหารใส่ moisture can ประมาณ 3-5 กรัม แล้วปิดฝา นำไปชั่งน้ำหนักอย่างรวดเร็วพร้อมฝา ให้ทราบน้ำหนักที่แน่นอน หลังจากนั้นนำ moisture can ไปใส่ในตู้อบ (เปิดฝา) อบที่อุณหภูมิ 102±1 C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หรือจนน้ำหนักคงที่ เอา moisture can ออกจากตู้อบ (ปิดฝา) และวางให้เย็นใน desiccator เมื่อเย็นแล้วนำไปชั่งน้ำหนักและคำนวณหาปริมาณความชื้นและของแข็งรวม

3.2 การหาวิเคราะห์หาปริมาณไนโตรเจนหรือโปรตีนวิธีเจลดาล์ (Total nitrogen and crude protein : Kjeldahl method) (AOAC. 2000)

ใส่วัสดุควบคุมการเดือด 2-3 ชิ้น ในหลอดเจลดาล์ ใส่ K_2SO_4 3.0 กรัม แล้วชั่งตัวอย่าง 0.3-0.4 กรัม ใส่ในหลอดเจลดาล์ เติม $CuSO_4$ 0.13 กรัม แล้วเติม H_2SO_4 เข้มข้น 6.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดเขย่าเบา ๆ เพื่อผสม จากนั้นใส่หลอดเจลดาล์ในช่องเครื่องย่อยซึ่งมีเตาไฟฟ้าต้มนาน 20 นาที แล้วทำการย่อยต่อ 90 นาที จากนั้นตั้งทิ้งไว้ให้เย็น นำหลอดเจลดาล์ ที่ย่อยแล้วไปเติมน้ำกลั่น 18 มิลลิลิตร (ปริมาตรประมาณ 3 เท่า ของกรดที่ย่อยเพื่อทำการเจือจางกรด) แล้วนำไปใส่ในช่องกลั่นของเครื่องกลั่นอัตโนมัติ กดปุ่มสารละลาย NaOH เข้มข้น 35 % w/v ให้ไหลลงผสมกับสารในหลอดเจลดาล์ ในปริมาตรต่าง 5 เท่า (30 มิลลิลิตร) ของ H_2SO_4 ที่ใช้ย่อย ดวงสาร H_2BO_3 อิมตัวปริมาตร 10 มิลลิลิตรใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เติม mix indicator 3 หยด นำไปวางตำแหน่งสิ่งที่กลั่นได้ จากนั้นนำสารที่กลั่นได้ไตเตรทกับสารละลาย HCL เข้มข้น 0.2 N จนถึงจุดสมมูลแล้วบันทึกผล

3.3 การหาปริมาณไขมันด้วยวิธีซอกซ์เลท (Extractable lipid : Soxhlet method)

(AOAC. 2000)

ชั่งตัวอย่างประมาณ 3 กรัม วางบนกระดาษกรองและห่อลงใส่ใน extraction thimble และทำการสวม adapter นำเข้าเครื่องวิเคราะห์ไขมัน ชั่งบีกเกอร์ประจำเครื่องให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนละเอียดถึงหน่วยมิลลิกรัม แล้วใส่ตัวทำละลายคือ petroleum ether ใส่ลงในบีกเกอร์ 100 มิลลิลิตรใส่ thimble บรรจุตัวอย่างลงในหลอดซอกซ์เลทปรับอัตราการไหลของน้ำผ่านเครื่องสกัด

ให้เหมาะสม กลั่นระบบ reflex ด้วยระบบ steam bath เป็นเวลา 90 นาที หลังจากนั้นนำไปอบที่ อุณหภูมิ

100 C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง หลังจากนั้นทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนักไขมันที่ได้

3.4 การวิเคราะห์หาเส้นใยอาหาร (Crude fibre) (AOAC. 2000)

ชั่งน้ำหนักด้วยกรอง (crucible) ที่ผ่านการอบไล่ความชื้นแล้วชั่งน้ำหนักไว้ จากนั้นชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 1 กรัม ใส่ในถ้วยกรอง (crucible) นำถ้วยกรองใส่ในแท่นของ ชุดหาปริมาณเส้นใยอาหารเดิมสารละลาย H_2SO_4 เข้มข้น 1.25 % ที่ร้อนโดยการให้ความร้อนก่อน บนแผ่นให้ความร้อน แล้วเติมในช่องย่อยจนถึงระดับ 150 มิลลิลิตร หลังจากนั้นทำให้ร้อนด้วย แผ่นให้ความร้อนเพื่อลดเวลาในการต้มให้เดือดหยดสารป้องกันการเกิดฟอง (N-octanol) ประมาณ 3 หยด หลังจากมีการเดือดแล้วต้มต่อไปอีก 30 นาที เปิดลิ้นไปที่ vacuum เพื่อระบายกรด H_2SO_4 ออกแล้วล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน 3 ครั้ง ครั้งละประมาณ 30 มิลลิลิตร ให้การล้างแต่ละครั้งเปิดลิ้นไปที่ Pressure เพื่อดันให้อากาศผ่านฐานของถ้วยกรอง ทำให้อากาศผ่านในถ้วยแก้วคลุกเคล้ากัน โดยตลอด หลังจากปล่อยน้ำล้างครั้งสุดท้ายออกจนหมดแล้วเติมสารละลาย KOH เข้มข้น 1.25 % ที่ทำให้ร้อน ไว้ก่อนแล้วลงไป 150 มิลลิลิตร พร้อมกับหยด N-octanol ประมาณ 3 หยด แล้วต้มให้เดือดนาน 30 นาทีล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน 3 ครั้ง แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นเย็นอีก 1 ครั้ง แล้วล้างอีก 3 ครั้งด้วย acetone ปริมาตร 25 มิลลิลิตร เปิดให้ความร้อนเข้าทุกครั้งที่ทำการล้างทำให้ตัวอย่างในถ้วยกรองแห้งโดย อบที่อุณหภูมิ

105 C นาน 1 ชั่วโมง หรือจนกว่าจะได้น้ำหนักคงที่ ซึ่งค่าที่ได้นี้เป็นน้ำหนักของ เส้นใยดิบ

3.5 การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (Dry ashing) (AOAC. 2000)

เผาถ้วย crucible เปล่าในเตา muffle furnace ที่ 550 C เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำ ถ้วย crucible ออกมาทำให้เย็นใน desiccator ประมาณ 1 ชั่วโมง จนเย็นถึงอุณหภูมิห้อง ชั่งถ้วย crucible ให้ละเอียดถึงหน่วยมิลลิกรัม ชั่งตัวอย่างอาหารประมาณ 5 กรัมลงในถ้วย crucible ถ้า ตัวอย่างอาหารเป็นของเหลวให้ระเหยของเหลวบน steam bath เพื่อป้องกันการประทุออกใน ขั้นตอนเผาให้เป็นถ่านสีดำวางถ้วย crucible บนเตาไฟฟ้าในตู้ควัน เพิ่มอุณหภูมิทีละน้อยจนควัน หมดไป ตัวอย่างอาหารเปลี่ยนเป็นถ่านสีดำ ใส่ถ้วย crucible ในเตา muffle furnace โดยพยายามวาง ตรงกลางเตาแล้วปรับอุณหภูมิที่ 420-550 C ใช้เวลาตลอดคืน (หรืออย่างน้อย 16 ชั่วโมง) เอาถ้วย crucible ออกจากเตา muffle furnace ถ้าได้เถ้าเป็นสีขาวให้นำไปทำให้เย็นใน desiccator แต่ถ้ายังมี ส่วนสีดำปนอยู่ในเถ้าให้นำไปทำให้เย็นใน desiccator แล้วเติมน้ำกลั่น 1.0-2.0 มิลลิกรัม ใช้แท่ง แก้วคนหรือช้อนให้เถ้ากระจายตัวออก ล้างเถ้าในแท่งแก้วให้หมด แล้วนำไปอบไล่ความชื้นน้ำแห้ง ให้ นำไปเข้าเตา muffle furnace อีก 24 ชั่วโมง ทำให้เย็นใน desiccator ที่อุณหภูมิห้อง แล้วชั่งหา น้ำหนักละเอียดถึงหน่วยมิลลิกรัม เพื่อหาน้ำหนักเถ้า

3.6 การวิเคราะห์ปริมาณคาร์โบไฮเดรตโดยวิธีการลบออก (Total carbohydrate)

(AOAC. 2000)

ปริมาณคาร์โบไฮเดรต = $100 - (\% \text{ ความชื้น} + \% \text{ โปรตีน} + \% \text{ ไขมัน} + \% \text{ เถ้า} + \% \text{ เส้นใยอาหาร})$

3.7 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโน คัดแปลงจากวิธีของ Sumantha และคณะ (2006 :

843-851)

นำตัวอย่าง 0.1 กรัม เติม petroleum ether ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปั่นด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้มาปั่นเหวี่ยง ที่ 11,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาส่วนใสทิ้ง เติม petroleum ether ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อสกัดไขมันทิ้งอีกครั้ง ปั่นด้วย magnetic stirrer ประมาณ 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร เพื่อทำการสกัดกรดอะมิโนออกมาปั่นด้วย magnetic stirrer ประมาณ 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาส่วนใสปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม 10 % ของ trichloroacetic acid ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วเติม 0.4 โมล/ลิตรของ Na_2CO_3 ปริมาตร 5 มิลลิลิตรและเติมสาร Ciocalteau's phenol reagent เจือจาง (3 เท่า) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จะได้สีน้ำเงินนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer

3.8 วิเคราะห์ปริมาณกรดอะมิโนอิสระทั้งหมด ด้วยวิธีการ Ninhydrin คัดแปลงจาก

(AOAC. 2002)

นำตัวอย่าง 0.1 กรัม เติม petroleum ether ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ปั่นด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำตัวอย่างที่ได้มาปั่นเหวี่ยง ที่ 11,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาส่วนใสทิ้ง เติม petroleum ether ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เพื่อสกัดไขมันทิ้ง อีกครั้ง ปั่นด้วย magnetic stirrer ประมาณ 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาส่วนใสทิ้ง จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร เพื่อทำการสกัดกรดอะมิโนออกมา ปั่นด้วย magnetic stirrer ประมาณ 30 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 11,000 rpm เป็นเวลา 10 นาที ดูดเอาส่วนใสเก็บไว้เป็นตัวอย่างนำสารละลายตัวอย่างมา 2 มิลลิลิตร เติมสารละลายนินไฮดริน 1 มิลลิลิตรนำไปต้มในน้ำเดือด 16 นาที แล้วนำไปทำให้เย็นในน้ำที่อุณหภูมิ 20 C เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเติม dilution solution ลงไป 5 มิลลิลิตร ผสมด้วย vortex นำไปวัดค่าดูดกลืนแสง ด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปหาความเข้มข้นที่กราฟมาตรฐาน

3.9 การวิเคราะห์หา Reducing sugar คัดแปลงจากวิธีของ Somogyi และ Nelson

(1952 : ไม่มีเลขหน้า) ; อ้างอิงมาจาก สุพัตรา เลิศวณิชย์วัฒนา (2546 : 93-94)

ซึ่งตัวอย่างมา 1 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าด้วย vortex และนำไป centrifuge ที่ 6000 rpm เป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิ 25 C กรองด้วยกระดาษเบอร์ 4 จากนั้นดูดสารตัวอย่างเข้าขวดที่ได้มา 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย alkaline copper reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกัน นำไปต้มในอ่างน้ำเดือดนาน 15 นาที แล้วทำให้เย็นทันทีโดยแช่ในน้ำเย็นจัด จากนั้นเติมสารละลาย nelson reagent ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ผสมกันทันที ที่อุณหภูมิตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 15 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

4. การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

4.1 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก คัดแปลงจากวิธีของ (Iqbal, Bhager และ Anwar (2007 : 261-267) และวิธีของ Hee Kim และคณะ (2006 : 466-473)

4.1.1 การเตรียมตัวอย่าง คัดแปลงจากวิธีของ Hee Kim และคณะ (2006 : 466-473)

ซึ่งตัวอย่าง 5 กรัม เติม 80 % ของ methanol ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วย magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำการที่เหลือเติม 0.15 % ของ HCl ใน 80 % ของ methanol ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วย magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำส่วนที่กรองได้ไป evaporation ที่อุณหภูมิ 45-60 C จากนั้นชะล้างด้วย 80 % ของ methanol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

4.1.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก คัดแปลงจากวิธีของ (Iqbal, Bhager และ Anwar (2007 : 261-267)

เมื่อเตรียมตัวอย่างได้แล้วดูดมา 0.2 มิลลิลิตร เติมสาร folin-ciocalteu ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร และเติม 7 % ของ sodium carbonate ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เติมน้ำ deionized ปริมาตร 7 มิลลิลิตร แล้วผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมง แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer

4.2 การวิเคราะห์กรดฟอสฟอริก คัดแปลงจากวิธีของ Garcia-Estepta, Guerra และ Garcia-Villanova (1999 : 317-221) และวิธีของ Febles และคณะ (2001 : 19-23)

ซึ่งตัวอย่าง 2 กรัม สกัดโดยปั่นผสมกับสารละลาย (10 % ของ Na_2SO_4 ใน 0.4 โมลของ HCl) ปริมาตร 40 มิลลิลิตร นำไปเขย่าในโดยใช้ automatic shaker ที่ 120 rpm เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง แล้วกรองส่วนใสด้วยกระดาษเบอร์ 1 และ เบอร์ 4 นำส่วนใสมา 10 มิลลิลิตร ใสในขวดชมพูขนาด 250 มิลลิลิตร เติม 0.4 โมล/ลิตร ของ HCl ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติม

0.02 โมล/ลิตร ของ FeCl_3 ปริมาตร 10 มิลลิลิตร และ 20 % ของ sulphosalicylic acid ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ปิดจุกด้วยสำลี เขย่าเบา ๆ จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปแช่น้ำ จากนั้นดูดส่วนใส ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ปรับ pH ให้ได้ 2.5 ± 0.05 ด้วย glycine แล้วปรับปริมาตร ให้ได้ 200 มิลลิลิตร นำไปให้ความร้อนที่ 70-80 C ทำการไตเตรทด้วย 50 มิลลิโมล/ลิตร ของ สารละลาย EDTA จนเปลี่ยนจากสีเหลืองเป็นสีชมพู บันทึกค่าที่ได้จากการไตเตรท

4.3 การวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาออริซานอล (γ -oryzanols) คัดแปลงจากวิธีของ Ryyanen และคณะ (2004 : 749-765) และวิธีของ Chen และ Bergman (2005 : 319-331)

4.3.1 การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง คัดแปลงจากวิธีของ Ryyanen และคณะ (2004 : 749-765)

4.3.1.1 ขั้นตอน saponification

ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ใส่ในหลอดฝาเกลียว (screw cap) ขนาด 30 มิลลิลิตร เติม ascorbic acid 0.1 กรัม เติม ethanol ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปั่นผสมด้วยเครื่อง vortex แล้วเติม KOH เข้มข้น 50 % ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิประมาณ 80 C เป็นเวลา 25 นาที โดยในระหว่างการต้มให้นำออกมาปั่นผสมด้วยเครื่อง vortex ทุกๆ 5 นาที เมื่อครบเวลาให้นำออกมาทำให้เย็นด้วยน้ำเย็นจัด

4.3.1.2 ขั้นตอนการสกัด

ใส่น้ำกลั่นปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ ethanol ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดที่ทำให้เย็นแล้วจากขั้นตอน saponification หลังจากนั้นเทสารในหลอดลงใน flask ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมของ n-hexane และ ethyl acetate ในอัตราส่วน 8 : 2 ตามลำดับ ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 10 นาที นำมาดูดเอาส่วนใสที่ต้องการที่อยู่ด้านบนไว้ในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้น เติม n-hexane : ethyl acetate (8 : 2) ลงใน flask เติม แล้วนำไปปั่นด้วย magnetic stirrer ทำเช่นเดิมจนครบ 3 ครั้ง นำสารที่สกัดมาใส่ใน funnel ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเป็นรูปเลข 8 ประมาณ 10 รอบ เพื่อล้างกำจัดสารที่ละลายได้ในน้ำออก โดยการปล่อยน้ำที่แยกชั้นอยู่ด้านล่างทิ้งไป ทำเช่นเดิมจนครบ 3 ครั้ง แล้วปล่อยสารสกัดลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วนำสารสกัดที่ได้ไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แล้วละลายสารสกัดแห้งที่ได้จากการมาละลายด้วย methanol (HPLC grade) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้สารสกัดสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ต่อไป

4.3.2 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ชั่งสาร γ -oryzanols บริสุทธิ์ 0.1 กรัม ละลายด้วย n-hexane (HPLC grade) ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะให้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หรือ 1000 ไมโครกรัม/

มิลลิลิตร (ppm) ทำการเจือจางความเข้มข้นเป็น 500 250 125 62.5 31.25 15.625 ไมโครกรัม/
มิลลิลิตร

4.3.3 ขั้นตอนและวิธีการวิเคราะห์ คัดแปลงจากวิธีของ Chen และ Bergman
(2005 : 319-331)

นำสารสกัดที่ได้มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC detector ชนิด
photodiode-array detection ใช้คอลัมน์ C18 ขนาด 4.60 x 150 nm, synergi 4 μ m ใช้ Mobile phase
ชนิด A คือ methanol ชนิด B คือ น้ำกลั่น ชนิด C คือ buthanol โดยควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์
เป็น 45 C ความดันไม่เกิน 9-13 MPa ฉีดสารปริมาตร 20 ไมโครลิตร ให้ mobile phase ไหลแบบ
gradient คือเริ่มต้นที่นาที่ที่ 0-12 อัตราส่วนของสารละลาย A : B : C เท่ากับ 92 : 4 : 4 อัตราการ
ไหล 1 มิลลิลิตร/นาที่ จากนั้นให้ อัตราส่วนของสารละลาย A : B : C เท่ากับ 92 : 3 : 5 อัตราการ
ไหล

1.5 มิลลิลิตร/นาที่ จนถึงนาที่ที่ 25 วัดค่าการดูดกลืนแสงโดย UV detector ที่ความยาวคลื่น 325
นาโนเมตร แปลผลข้อมูลของตัวอย่างโดยนำสารละลายมาตรฐานของ γ -oryzanols ที่ความเข้มข้น
ตามที่เตรียมไว้ โดยใช้ peak area และความเข้มข้นของสารละลายทำ standard curve

4.4 การวิเคราะห์หาปริมาณ α -tocopherol คัดแปลงจากวิธีของ Ryynanen และคณะ
(2004 : 749-765) และวิธีของ Chen และ Bergman (2005 : 319-331)

4.4.1 การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง คัดแปลงจากวิธีของ Ryynanen และคณะ (2004
: 749-765)

4.4.1.1 ขั้นตอน saponification

ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ใส่ในหลอดฝาเกลียว (screw cap) ขนาด 30 มิลลิลิตร
เติม ascorbic acid 0.1 กรัม เติม ethanol ปริมาตร 5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 2 มิลลิลิตร ปั่น
ผสมด้วยเครื่อง vortex แล้วเติม KOH ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำไปต้มใน water bath ที่อุณหภูมิ
ประมาณ 80 C เป็นเวลา 25 นาที โดยในระหว่างการต้มให้นำออกมาปั่นผสมด้วยเครื่อง vortex
ทุกๆ 5 นาที เมื่อครบเวลาให้นำออกมาทำให้เย็นด้วยน้ำเย็นจัด

4.4.1.2 ขั้นตอนการสกัด

ใส่น้ำกลั่นปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และ ethanol ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ลงใน
หลอดที่ทำให้เย็นแล้วจากขั้นตอน saponification หลังจากนั้นเทสารในหลอดลงใน flask ขนาด
125 มิลลิลิตร เติมสารละลายผสมของ n-hexane และ Ethyl acetate ในอัตราส่วน 8 : 2 ตามลำดับ
ปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วนำไปปั่นด้วย magnetic stirrer เป็นเวลา 10 นาที นำมาดูดเอาส่วนใสที่
ต้องการที่อยู่ด้านบนใส่ในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร หลังจากนั้น เติม n-hexane : ethyl
acetate (8 : 2) ลงใน flask เติม แล้วนำไปปั่นด้วย magnetic stirrer ทำเช่นเดิมจนครบ 3 ครั้ง นำสาร

ที่สกัดมาใส่ใน funnel ขนาด 125 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร แล้วเขย่าเป็นรูปเลข 8 ประมาณ

10 รอบ เพื่อล้างกำจัดสารที่ละลายได้ในน้ำออก โดยการปล่อยน้ำที่แยกชั้นอยู่ด้านล่างทิ้งไป ทำเช่นเดิมจนครบ 3 ครั้ง แล้วปล่อยสารสกัดลงในหลอดทดลองขนาด 50 มิลลิลิตร แล้วนำสารสกัดที่ได้ ไประเหยให้แห้งด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ แล้วละลายสารสกัดแห้งที่ได้จากการมาละลายด้วย methanol (HPLC grade) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จะได้สารสกัดสำหรับการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ต่อไป

4.4.2 ขั้นตอนการเตรียมสารละลายมาตรฐาน

ชั่งสาร α -tocopherol บริสุทธิ์ 0.1 กรัม ละลายด้วย n-hexane (HPLC grade) ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร หรือ 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร (ppm) ทำการเจือจางความเข้มข้นเป็น 500 250 125 62.5 31.25 15.625 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

4.4.3 ขั้นตอนและวิธีการวิเคราะห์ คัดแปลงจากวิธีของ Chen และ Bergman (2005 : 319-331)

นำสารสกัดที่ได้มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC detector ชนิด photodiode-array detection ใช้คอลัมน์ C18 ขนาด 4.60 x 150 nm, synergi 4 μ m ใช้ mobile phase ชนิด A คือ methanol ชนิด B คือ น้ำกลั่น ชนิด C คือ buthanol โดยควบคุมอุณหภูมิของคอลัมน์เป็น 45 C ความดันไม่เกิน 9-13 MPa โดยฉีดสารปริมาตร 20 ไมโครลิตร ให้ mobile phase ไหลแบบ gradient คือเริ่มต้นที่นาที่ที่ 0-12 อัตราส่วนของสารละลาย A : B : C เท่ากับ 92 : 4 : 4 อัตราการไหล 1 มิลลิลิตร/นาที่ จากนั้นให้ อัตราส่วนของสารละลาย A : B : C เท่ากับ 92 : 3 : 5 อัตราการไหล

1.5 มิลลิลิตร/นาที่ จนถึงนาที่ที่ 25 วัดค่าการดูดกลืนแสงโดย UV detector ที่ความยาวคลื่น 292 นาโนเมตร แปลผลข้อมูลของตัวอย่างโดยนำสารละลายมาตรฐานของ α -tocopherol ที่ความเข้มข้นตามที่เตรียมไว้ โดยใช้ peak area และความเข้มข้นของสารละลายทำ standard curve

5. การศึกษาศักยภาพการเป็นอาหารสุขภาพ

5.1 การเตรียมตัวอย่าง คัดแปลงจากวิธีของ Hee Kim และคณะ (2006)

ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม เติมน้ำ 80 % ของ methanol ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วย magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 นำกากที่เหลือเติมน้ำ 0.15 % ของ HCl ใน 80 % ของ methanol ปริมาตร 20 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วย magnetic stirrer ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นทำการกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

นำส่วนที่กรองได้ไป evaporation ที่อุณหภูมิ 45-60 C จากนั้นชะล้างด้วย 80 % ของ methanol ปริมาตร 10 มิลลิลิตร

5.1.1 DPPH radical scavenging activity ดัดแปลงจากวิธีของ Dasgupta และ De (2004 : 219-224)

การทดลองด้วยวิธี DPPH เป็นการทดสอบความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระซึ่งสาร 2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyl หรือ DPPH ซึ่งจัดเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรทำการทดลองครั้งนี้ นำสารสกัดตัวอย่างมาเจือจางที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ จากนั้นดูคมา 0.1 มิลลิลิตร เติม 3 มิลลิลิตร ของ DPPH ละลายใน methanol (0.004 %) เตรียมโดยชั่งสาร DPPH มา 0.004 กรัม แล้วละลาย methanol ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ระวังอย่าให้ถูกแสง เนื่องจากเป็นสารที่ไวต่อแสง เขย่าให้เข้ากันแล้วไปตั้งไว้ในที่มืดให้เกิดปฏิกิริยา 30 นาที ยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเครื่อง spectrophotometer คำนวณกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระจากสมการ

$$\% \text{ inhibition activity} = \frac{[(A_o - A_e)]}{A_o} \times 100$$

Ao = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีตัวอย่าง

Ae = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

5.1.2 Linoleic acid emulsion system-thiocyanate method ดัดแปลงจากวิธีของ Suja, Jayalekshmy และ Arumugan (2005 : 213-219)

ซึ่งกรดไขมัน Linoleic acid และ Tween 20 ที่ทำหน้าที่เป็นอิมัลซิไฟเออร์ มาอย่างละ 0.28 กรัม ผสม 50 มิลลิลิตร ของ phosphate buffer (0.2 โมล, pH 7.0) นำมาทำการโฮโมจีไนซ์ให้เป็นอิมัลชัน นำส่วนบนของสารละลายที่ได้มา 2.5 มิลลิลิตร เติมตัวอย่างลงไป 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย phosphate buffer (0.2 โมล, pH 7.0) นำมาบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารสกัด 0.1 มิลลิลิตร เติม ethanol ความเข้มข้น 75 % ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เติมสารละลายที่เป็นตัววัดผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเช่นอัลดีไฮด์และทำให้เกิดสีคือ ammonium thiocyanate ความเข้มข้น 30 % ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร และเติม ferrous chloride ใน 3.5 % ของ HCl ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ทำหน้าที่เป็นตัวกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาตั้งทิ้งไว้ 3 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 500 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer

5.1.3 Total antioxidant capacity ดัดแปลงจากวิธีของ Dasgupta และ De (2004 : 219-224)

นำสารสกัดตัวอย่าง 0.3 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 0.6 โมล ของ sulfuric acid ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เติม 28 มิลลิโมล ของ sodium phosphate ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเติม

4 มิลลิโมล ของ ammonium molybdate ปริมาตร 3 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 95°C เป็นเวลา 90 นาที หลังจากนั้นผสมให้เข้ากันแล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 695 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer

5.1.4 การวิเคราะห์หาคุณสมบัติการลด cholesterol ออกซิเดชัน โดยวิเคราะห์ความสามารถในการลด LDL ออกซิเดชัน ของรำข้าวสาคัด คัดแปลงจากวิธีของ Yu et. al. (2005 : 463-470.)

Human LDL ได้จาก commercial EDTA containing solution of human LDL โดยนำ LDL ปริมาตร 1 มิลลิลิตร (5.76 มิลลิกรัมโปรตีน/มิลลิลิตร) ใส่ในถุงไดอะไลซิส จากนั้นทำไดอะไลซิสใน phosphate buffer pH 7.4 เข้มข้น 0.01 โมล/ลิตร ที่มี NaCl 0.16 โมล/ลิตร โดยเติม 100 เท่าของ LDL นำไปบ่มเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ใส่ในขวดสีชาหรือมีฟอยด์ปิด) โดยทำการเปลี่ยน phosphate buffer ทุกๆ 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำโปรตีน LDL ที่อยู่ในถุงไดอะไลซิสมาทำสตีค โดยทำการเจือจางโปรตีน LDL ให้มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัมโปรตีน/มิลลิลิตร ใน phosphate buffer pH 7.4 เข้มข้น 0.01 โมล/ลิตร ที่มีส่วนผสมของ NaCl 0.16 โมล/ลิตร สารละลาย SDS (sodium dodesyl sulphate) 10 กรัม/ลิตร และ CuCl₂ (copper chloride) ที่มีปริมาตรสุดท้าย 15 ไมโครโมล/ลิตร นำสตีคโปรตีน LDL ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร มาทำการทดลองการเหนี่ยวนำให้เกิด LDL ออกซิเดชัน โดยเติมสารสกัดจากรำข้าว 0.02 มิลลิลิตร เติมน้ำปริมาตร 0.48 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้นสุดท้ายของโปรตีน LDL เท่ากับ 100 ไมโครกรัมโปรตีน/มิลลิลิตร และ CuCl₂ เข้มข้น 15 ไมโครโมล/ลิตร ส่วนตัวอย่างควบคุมเติมเมทานอลแทน ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาที่ 20 C เป็นเวลา 60 นาที การเกิดปฏิกิริยาควัด โดย นำสารมาทำปฏิกิริยากับ thiobarbituric acid reactive substance (TBARS) 0.02 โมล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือด 30 นาที ทำให้เย็นแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร โดยใช้ 1,1,3,3- tetraethoxypropane เป็นสารละลายมาตรฐาน

6. การศึกษาความคงตัวของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

6.1 การทดสอบความคงตัวต่อความร้อน (Thermal resistance test)

6.1.1 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ในหลอด vial เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร และทำสัญลักษณ์ระดับน้ำใน vial ไว้ บ่มใน Hot air oven เป็นเวลา 60 นาที ที่อุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 25, 60, 100, 140 และ 180 °C เมื่อครบเวลานำมาสกัดเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารแกมมาออริซานอล และแอลฟาโทโคเฟอรอล

6.2 การทดสอบความคงตัวต่อ pH (pH resistance test)

6.2.1 การเตรียมตัวอย่าง

ชั่งตัวอย่าง 2 กรัม ใส่ในหลอด vial เติมสาร buffer ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่ pH

3 ระดับ คือ 4, 7 และ 10 และทำสัญลักษณ์ระดับน้ำใน vial ไว้ โดยใช้เวลาบ่มที่อุณหภูมิห้อง 3 ระดับ คือ 0, 12 และ 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาย่นนำมาสกัดเพื่อวิเคราะห์ปริมาณสารแกมมาออริซานอล และแอลฟาโทโคเฟอรอล

6.3 การวิเคราะห์หาปริมาณ γ -oryzanols ดัดแปลงจากวิธีของ Ryyanen และคณะ (2004 : 749-765) และวิธีของ Chen และ Bergman (2005 : 319-331) วิธีการแสดงในข้อ 5.3

6.4 การวิเคราะห์หาปริมาณ α -tocopherol ดัดแปลงจากวิธีของ Ryyanen และคณะ (2004 : 749-765) และวิธีของ Chen และ Bergman (2005 : 319-331) วิธีการแสดงในข้อ 5.4

7. การวัดค่าการเหม็นหืน

7.1 การวัดค่าการเหม็นหืนโดยวัดค่า Peroxide Value (IUPAC, 1979)

1. ชั่งตัวอย่างน้ำมันให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนใส่ในขวดขนาด 250 มล.
2. เติมสารละลายไอโอดีค - คลอโรฟอร์ม 25 มล. เขย่าให้ตัวอย่างละลาย
3. เติมสารละลายอิมัลชันโพแตสเซียมไอโอไดด์ 1 มล. ปิดจุกพร้อมเขย่านาน 1 นาที แล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืด
4. เติมน้ำกลั่น 75 มล.
5. ไตเตรทกับสารละลายโซเดียมไทโอซัลเฟตเพนตาไฮเดรตความเข้มข้น 0.01 นอร์มัล (N) พร้อมทั้งเขย่าอย่างแรงจนได้สารละลายสีเหลืองอ่อน เติมน้ำเป้ง 0.5 มล. แล้วไตเตรทต่อไปจนสีน้ำเงินหมดไป

6. เตรียมและไตเตรท blank เช่นเดียวกับตัวอย่าง

7. คำนวณค่าเปอร์ออกไซด์จากสมการต่อไปนี้

$$\text{ค่าเปอร์ออกไซด์} = (a-b) \cdot N \cdot 100/w \quad \text{mg สมมูล/kg น้ำมัน}$$

โดย

a = ปริมาตรของโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่าง (cm³)

b = ปริมาตรของโซเดียมไทโอซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทกับ blank (cm³)

N = ความเข้มข้นของโซเดียมไทโอซัลเฟต (นอร์มัล)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

7.2 การวัดค่าการเหม็นหืนโดยวัดค่า Thiobarbituric acid-reactive substance (TBARS)

(ดัดแปลง Mielnik and other.2005)

นำ USM 2 มิลลิลิตรแล้วเติม 0.02M thiobarbituric acid (TBA) 2 ml. จากนั้นต้มให้เดือดใน water bath นาน 30 นาทีแล้วทำให้เย็น 5 นาทีแล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง

spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 532 nm เทียบกับสารมาตรฐาน 1,1,3,3, tetraethoxypropane (TEP) (ทุกๆ 4 วัน)

อนุชิตา ชาวเหนือ 2545. การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์ของน้ำนมดิบ และนมพาสเจอร์ไรส์ ว. แก่นเกษตร . 30(2): 122-128.

อนุชิตา ชาวเหนือ 2545. การใช้ประโยชน์จากเยื่อโปรตีน. ว.มหามหาวิทยาลัยมหาสารคาม 22(2): 79-86.

Anuchita Chawnua, Kittiporn Supanpew, and Piyada Yamyindee. 2003. Antioxidant capacity of acid casein and whey protein. The Australian Journal of dairy Technology. 58 (2):17

การเสนอผลงานวิจัยในการประชุมสัมมนาวิชาการ ระดับนานาชาติ

Anuchita Moongngarm, N. Saetang, A. Kompipatkul, N. Thongdaeng, W. Thiboonbun, W.

Chaimontree Changes in chemical compositions, enzyme activities, physick properties, and ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ during germination of rough rice. 56 TH Australian Cereal Chemistry Conference 10-14 September 2006. Perth, Wa, Ausralia.

Anuchita Moongngarm, K. Supanpew, M. Chaikaew, U. Srisawai, N. Toonthum, and S.

Thongrueng 2006. Preparation of germinated rice extract using endo-enzymes and potential use as a source of antioxidants. 56 TH Australian Cereal Chemistry Conference 10-14 September 2006. Perth, Wa, Ausralia.

Anuchita Moong-ngarm and Vipavadee Phunnongwa. 2005. Bioactive Compounds in colored rice. 50th ICC, Vienna, Austria.

Anuchita Moong-ngarm Nopharat Bootprom, Jiraporn Khunarak. 2004. 2004 NZIFST Conference. Comparison of β -Carotene, Total Phenolic , and ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ of Jute Mellow (*Corchorius olitorius L.*) Leaf Tea with Green Teas. Hamilton, NZ.

Anuchita Moong-ngarm , Kittiporn Supunpew, Nattawat saetang, Naowarat khuwajanakul, Pariya Artwichai, Mitree Sutthijit, Nathanon Trachoo. 2004. Bioactive Compounds in Paddy Germinated Rice. 5th World nutra, Sanfrancisco, USA.

Nattawat Saetang and Anuchita Moong-ngarm. 2005. Effect of germination on bioactive compounds in paddy rice. International symposium on functional foods and nutraceuticals. 11-13 June, Mahasarakham ,Thailand.

Vipavadee Phannongwa and Anuchita Moong-ngarm. 2005. Bioactive compounds and ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ in Jute Mallow leaf. International symposium on functional foods and nutraceuticals. 11-13 June, Mahasarakham ,Thailand.

Anuchita CHAWNUA, Randy L. Wehling, and Lloyd B.Bullerman. 2000 .Annual Meeting of Association of American Chemists. The Evaluation of 6-Aminoquinolyl-N-

Hydroxysuccinimidyl Carbamate (AQC) as a Derivatizing Reagent for Fumonisin B1 Analysis, Kansas City, Kansas, USA.

Anuchita CHAWNUA, Randy L. Wehling, C. Munimbazi, S.H. Chung, and Lloyd B. Bullerman.

2000. Annual Meeting of Association of American Chemists. Application of Enzyme Extraction for Fumonisin B1 in Extruded Corn Grits. Kansas City, Kansas USA.

Anuchita CHAWNUA, R. L. Wehling, 2000. Annual Meeting of Association of American Chemists. Discrimination of Dried Corn Using Near-Infrared Spectroscopy, Kansas City, Kansas USA.

2. นางสาวกิตติพร สุพรรณผิว

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นาย นาง นางสาว ยศ

นางสาวกิตติพร สุพรรณผิว

ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr, Mrs, Miss, Rank

Miss Kittiporn Spanaphiew

2. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานวิชาการ

3. หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏ อุบลราชธานี

4. ประวัติการศึกษา

1. คุนวุฒิปริญญาโท วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต เทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

2. วิทยานิพนธ์ เรื่อง การศึกษาผลของข้าวงอกสกัดต่อการเจริญเติบโตการเปลี่ยนแปลงของชีวเคมีในเลือดและพยาธิสภาพในหนู

6. ผลงานวิจัย

Anuchita Chawnua, Kittiporn Supanphew, and Piyada Yamyindee. 2003. Antioxidant capacity of acid casein and whey protein. The Australian Journal of dairy Technology. 58 (2):17.

Anuchita Moongngarm, K. Supanphew, M. Chaikaew, U. Srisawai, N. Toonthum, and S.

Thongrueng 2006. Preparation of germinated rice extract using endo-enzymes and potential use as a source of antioxidants. 56 TH Australian Cereal Chemistry Conference 10-14 September 2006. Perth, Wa, Australia.

Anuchita Moong-ngarm , Kittiporn Supunphew, Nattawat saetang, Naowarat khuwajanakul, Pariya Artwichai, Mitree Sutthijit, Nathanon Trachoo. 2004. Bioactive Compounds in Paddy Germinated Rice. 5th World nutra, Sanfrancisco, USA.

3. นางสาววิภาวดี พันธุ์หนองหว้า

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นาย นาง นางสาว ยศ

นางสาววิภาวดี พันธุ์หนองหว้า

ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr, Mrs, Miss, Rank

Miss Vipawadee Phannongwa

2. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานวิชาการ

3. หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี วิทยาเขตสุรินทร์

4. ประวัติการศึกษา

1. คุณวุฒิปริญญาโท วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต เทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

2. วิทยานิพนธ์ เรื่อง การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของใบ ปอกระเจาฝักยาว

6. งานวิจัย

1. วิภาวดี พันธุ์หนองหว้า อนุชิตา มุ่งงาม ศศิชา โพธิ์อุดม สุชาดา อนันทอง และ สมศักดิ์ นวลแก้ว 2549 การศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของใบปอกระเจาฝักยาว. การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยมหาสารคามครั้งที่ 2 6-8 กันยายน 2549. มหาสารคาม.

2. Vipavadee Phannongwa and Anuchita Moong-ngarm. 2005. Bioactive compounds andฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ in Jute Mallow leaf. International symposium on functional foods and nutraceuticals. 11-13 June, Mahasarakham ,Thailand.

3. Anuchita Moong-ngarm and Vipavadee Phannongwa. 2005. Bioactive Compounds in colored rice. 50th ICC, Vienna, Austria.

4. นางสาวจินตนา สังกโสภ

ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr, Mrs, Miss

Miss Jintana Sangsopa

ตำแหน่งปัจจุบัน

นิสิตปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีการอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชน
ศาสตร์ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ผลงานวิจัย

Jintana Sangsopha and Anuchita Moongngarm. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ of enzymatic
rice bran extract. 12th The Biological Sciences Graduate Congress 2007. University of
Malaya, Kuala Lumpur, Malaysia.

5. นางสาวสุภาพ นนทสันต์

ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Mr, Mrs, Miss,

Miss Supap Nontasont

ตำแหน่งปัจจุบัน

นิสิตปริญญาโท สาขา เทคโนโลยีการอาหาร เริ่มเรียน เทอม 1/2551

หน่วยงานต้นสังกัด ภาควิชาเทคโนโลยีการอาหารและโภชนศาสตร์ คณะเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยมหาสารคาม
