

ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

1. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ข้าวที่ผ่านกระบวนการแปรรูป (ให้เป็นข้าวฮาง, ข้าวกล้องงอกและข้าวคั่ว โดยมีข้าวกล้องเป็นกลุ่มควบคุม) จะถูกนำมาสกัดทันทีหรือทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 30, 60, 90 และ 120 วัน แล้วนำมาสกัดด้วยตัวทำละลาย คือ EtOH100 (เอทิลแอลกอฮอล์แบบ absolute), EtOH80 (เอทิลแอลกอฮอล์ที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อแบบ deionized ให้มีความเข้มข้น 80%) และ DW (น้ำกลั่นปลอดเชื้อแบบ deionized) จากนั้นทำการระเหยเอาตัวทำละลายออกไปด้วยเครื่อง Rotary evaporator จากนั้นนำสารสกัดมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อแบบ deionized ที่ผสม Tween-20 เข้มข้น 2% เพื่อให้สารสกัดมีความเข้มข้นที่ 50,000 ppm (50 µg/ml) แล้วจึงนำสารสกัดเจือจางมาทดสอบหาสารสำคัญและกิจกรรมทางชีวภาพในขั้นต่อไป ดังนี้

การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่า ข้าวแปรรูปที่นำมาสกัดและวิเคราะห์ทันที นั้น มีสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดในข้าวเหนียวดำที่แปรรูปเป็นข้าวคั่วและสกัดด้วย EtOH80 ที่ระดับเทียบเท่า 276.60 ± 12.35 µg Gallic acid/g rice (ตารางที่ 1) แต่เมื่อนำข้าวแปรรูปไปผ่านการเก็บรักษาในถุงพลาสติกปิดสนิท (แต่ไม่ได้อยู่ในระบบสุญญากาศ) เป็นเวลา 30 วัน พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่าสูงขึ้นและสูงที่สุดในข้าวเหนียวดำที่แปรรูปเป็นข้าวกล้องงอกและสกัดด้วย DW ที่ระดับเทียบเท่า 1459.62 ± 74.33 µg Gallic acid/g rice (ตารางที่ 2) ซึ่งเป็นระดับที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับระยะเวลาการเก็บรักษาอื่นๆ อีกด้วย โดยการเก็บรักษาเป็นเวลา 60, 90 และ 120 วัน พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดในข้าวเหนียวดำที่แปรรูปเป็นข้าวคั่วและสกัดด้วย DW (160.60 ± 8.89 µg Gallic acid/g rice) (ตารางที่ 3), ข้าวหอมแดงในรูปของข้าวกล้อง (กลุ่มควบคุม) และสกัดด้วย EtOH80 (571.04 ± 37.32 µg Gallic acid/g rice) (ตารางที่ 4) และข้าวเหนียว กข6 ในรูปข้าวฮางและสกัดด้วย DW (482.83 ± 10.89 µg Gallic acid/g rice) (ตารางที่ 5) ตามลำดับ

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าข้าวที่มีสีเข้ม คือ ข้าวเหนียวดำ มีแนวโน้มที่จะมีสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าข้าวสีขาว สารประกอบฟีนอลิกหลักที่มักพบในข้าวโดยเฉพาะในส่วนของรำข้าว คือ ferulic, vanillic และ p-coumaric acids (Butsat and Siriamornpun, 2010; Vichapong et al., 2010; Lin and Lai, 2011; Massaretto et al., 2011; Zhou et al., 2004; Tian et al., 2004) มีรายงานว่าข้าวสีดำและแดงเข้มจะมีสาร anthocyanin, carotenoid และสารประกอบฟีนอลิกในระดับสูงซึ่งถูกพบว่ามีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วย (Chung and Shin, 2007; Htwe et al., 2010; Massaretto et al., 2011; Shen et al., 2009) นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยที่ระบุว่าธัญพืชที่มีสีเข้ม คือ ข้าว sorghum สีแดงและข้าวสีดำสายพันธุ์ Hukjinjubyeo มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงถึง 733 ± 48.4 และ 313 ± 31.5 mg Gallic acid/100 g rice ตามลำดับ (Choi et al., 2007) ข้าวที่มีเมล็ดสีแดงสายพันธุ์ Indica ก็ถูกพบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกแบบ

soluble form ในระดับสูงมาก เทียบเท่า 409.7 ± 62.9 mg ferulic acid/100 g rice (Massaretto et al., 2011) และในงานวิจัยของ Vichapong et al. (2010) พบว่าสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในรูป Free form และ Bound form ของข้าวหอมมะลิแดงในรูปข้าวกล้อง เท่ากับ 53.79 ± 0.63 และ 2.53 ± 0.25 mg Gallic acid/100 g rice ส่วนข้าวเหนียวดำในรูปข้าวกล้อง เท่ากับ 60.60 ± 0.85 และ 3.16 ± 0.656 mg Gallic acid/100 g rice ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับที่สูงกว่าที่พบในข้าวกล้องในงานวิจัยนี้ อาจเนื่องมาจากสาเหตุหลายประการ เช่น สถานที่ปลูกข้าว สายพันธุ์ของข้าว อายุของเมล็ดข้าว หรือขนาดของเมล็ดข้าว เป็นต้น โดยม้งานวิจัยที่ระบุว่าข้าวที่มีเมล็ดขนาดเล็ก (100-grain weight หรือน้อยกว่า) จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในระดับที่สูงกว่าข้าวที่มีเมล็ดขนาดใหญ่ (Shen et al., 2009; Yafang, and Jinsong, 2011) นอกจากนี้ การเลือกวิธีการสกัด ตัวทำละลาย และวิธีการวัดผล ก็ถือว่ามีความสำคัญในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกออกมาจากข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งในความเป็นจริงแล้ว methanol เป็นตัวทำละลายที่นิยมใช้ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและสารต้านอนุมูลอิสระจากธัญพืช แต่ตัวทำละลายที่ใช้ในงานวิจัยนี้ คือ DW, EtOH80 และ EtOH100 ซึ่งเป็นตัวทำละลายที่มีขั้วสูงใกล้เคียงกับ methanol และเป็นตัวทำละลายที่ได้รับความนิยมในงานวิจัยรองมาจาก methanol ดังนั้น ตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดจึงถูกเลือกมาใช้ ทั้งนี้เพราะมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและมีแนวโน้มที่จะสามารถนำสารสกัดที่มาจากการใช้ตัวทำละลายเหล่านี้เพื่อการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ต่อไปได้

ในงานวิจัยนี้เมื่อนำข้าวเหนียวดำมาผ่านการแปรรูปโดยการงอก พบว่าทำให้มีสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่า ธัญพืช (barley, sorghum และ rye) ที่ผ่านการงอกถูกพบว่ามี การเพิ่มขึ้นทั้งระดับของสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระเมื่อเทียบกับธัญพืชที่ไม่ผ่านการงอก (Donkor et al., 2012) การงอกข้าวกล้องจากข้าวหอมมะลิ กข105 สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจาก 1.0 ไปเป็น 1.3 mg Gallic acid/g rice และการงอกข้าวกล้องจากข้าวหอมแดง สามารถเพิ่ม ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจาก 12.0 ไปเป็น 19.1 (นันทรัตน์ มหาสวัสดิ์ และคณะ, 2552) นอกจากนี้ ใน งานวิจัยของ Tian et al. (2004) ก็พบว่า การงอกข้าวกล้องจะส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญคือ ferulic acid ในข้าวกล้องเพิ่มขึ้นจาก 0.32 mg/100 g rice ไปเป็น 0.48 mg/100 g rice ในข้าวกล้องงอก

สารสำคัญที่ถูกผลิตขึ้นมาในช่วงของการงอก อาจเกิดจากการทำงานของเอนไซม์หลายชนิดที่เปลี่ยน สารโมเลกุลใหญ่ในเมล็ดให้เป็นสารที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของพืช (Veluppillai et al., 2009) นอกจากนี้ การงอกข้าวทั้งเปลือกและการงอกข้าวกล้องที่กะเทาะเปลือกออกแล้วก็ให้ผลที่แตกต่างกัน การแปรรูปให้เป็นข้าวฮาง (เป็นการนำข้าวเปลือกมาทำให้งอก) ถูกพบว่าให้ปริมาณสารสำคัญสูงกว่าการแปรรูป เป็นข้าวกล้องงอก (เป็นการนำข้าวกล้องที่กะเทาะเปลือกออกแล้วมาทำให้งอก) โดย Moongngarm and Saetung (2010) ได้ทำการศึกษาข้าวเหนียว กข6 และรายงานว่ข้าวฮาง (98.6 ± 7.43 mg Gallic acid/100 g rice) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงกว่าข้าวกล้องงอก (84.3 ± 6.35 mg Gallic acid/100 g rice) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (Moongngarm and Saetung, 2010)

ในงานวิจัยนี้ นอกจากข้าวเหนียวดำที่ผ่านการงอกจะมีสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้นแล้ว ข้าวเหนียวดำที่ผ่านการคั่วก็ถูกพบว่ามีการประกอบฟีนอลิกสูงขึ้นเช่นเดียวกัน ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยแบบจำลองการคั่ว wheat germ ที่ 180°C เป็นเวลา 7 นาทีบนภาชนะในเตาอบ ตามด้วยการสกัดที่เหมาะสม จะทำให้ได้สารสกัดที่มีทั้งสารประกอบฟีนอลิก, สาร tocopherol และสารต้านอนุมูลอิสระในระดับสูง (Gelmez et al., 2009) อย่างไรก็ตาม มีงานวิจัยที่ระบุผลการทดลองที่ไม่สอดคล้อง คือ การคั่ว wheat germ สามารถส่งผลให้มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น แต่ไม่ทำให้มีการประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น โดยการคั่วที่ 160°C ในเตาอบเป็นเวลา 20 นาที ทำให้เกิดปฏิกิริยา Maillard ของสารใน wheat germ และเกิดเป็นที่มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระดังกล่าวเป็นสารที่ไม่อยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอลิก (Krings et al., 2000; Krings and Berger, 2001; Krings et al., 2006) ซึ่งคล้ายกับงานวิจัยของ Sharma และ Gujral (2011) ที่พบว่า การคั่วข้าว barley ในทราย (280±5 °C เป็นเวลา 20 วินาที) และในเตาไมโครเวฟ (120 วินาที ที่ 900 W) ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดลดลงไป 8.5 ถึง 49.6% แต่สามารถเพิ่มกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในข้าว barley ได้ 16.8 ถึง 108.2%

เมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วันจะทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าวสูงที่สุด โดยเฉพาะข้าวเหนียวดำ อาจเป็นเพราะการเก็บรักษาจะทำให้ความชื้นในข้าวต่ำลง และอาจทำให้โครงสร้างทางกายภาพบางส่วนของข้าวสลายตัวลงจึงทำให้เกิดการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกออกมา จึงทำให้ %yield ของการสกัดสูงขึ้น ซึ่งเมื่อนำมาใช้คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกต่อน้ำหนักข้าว (g) ทำให้พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น แต่เมื่อเก็บรักษาข้าวนาน 60 วัน จะพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลง (กราฟสรุปในหน้าที่ 37) เมื่อทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง ด้วยข้าวที่เก็บเกี่ยวชุดใหม่และทำการแปรรูปด้วยวิธีเดียวกับชุดการทดลองนี้ พบว่าให้ผลใกล้เคียงกัน คือ สารประกอบฟีนอลิกจะมีระดับสูงที่สุดเมื่อทำการเก็บรักษาข้าวเป็นเวลา 30 วัน (ไม่แสดงผลการทดลอง) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Htwe et al. (2010) ที่พบว่า ข้าวกล้องของข้าวหอมนิล (ข้าวสีดำ) และข้าวหอมมะลิแดงที่ถูกเก็บรักษาเป็นเวลา 30 วัน มีระดับของสารประกอบฟีนอลิกแบบ free form เพิ่มขึ้น แต่เมื่อเก็บรักษาเป็นเวลา 60 วัน พบว่า สารประกอบฟีนอลิกทั้งแบบ free form และ bound form ลดลงอย่างเห็นได้ชัดและลดลงอย่างต่อเนื่องในช่วงของการเก็บรักษานาน 4 เดือน อาจเป็นเพราะการเกิด oxidation ของ ferulate esters ของ hemicellulose ทำให้สารประกอบฟีนอลิกแบบ bound form ลดลง โดยอุณหภูมิของการเก็บรักษา (20-40°C) ไม่มีผลกระทบใดๆ ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าว (Htwe et al., 2010) อย่างไรก็ตาม การเก็บรักษาในตู้เย็นที่ 4°C สามารถรักษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้ดีกว่าที่ 37°C (Zhou et al., 2004)

ในงานวิจัยนี้ ระดับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าวแปรรูปมีแนวโน้มลดลงในการเก็บรักษาตั้งแต่ 60 วันขึ้นไป ซึ่งข้าวแปรรูปที่เก็บรักษาถึงวันที่ 90 และ 120 พบว่าข้าวมีลักษณะทางกายภาพเปลี่ยนไปอย่างเห็นได้ชัดคือ มีสีที่เข้มขึ้นและมีกลิ่นเหม็นหืน ซึ่งอาจเป็นผลมาจากการเกิด autoxidation ของน้ำมันรำข้าวหรือสารประกอบอื่นๆ ในข้าว ดังนั้น จึงมีข้อเสนอแนะว่าข้าวที่ผ่านการแปรรูปแล้วแต่ไม่ได้เก็บอยู่ในระบบสุญญากาศนั้นควรรับประทานให้หมดภายใน 30 วัน เพราะจะได้รับประโยชน์สูงสุดทั้งในด้านปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิกและกลิ่นหอมมารับประทาน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Pascual et al. (2013) ที่ศึกษาสาร tocols (อนุพันธ์ของวิตามิน E) ในข้าวกล้องสายพันธ์ indica ที่เก็บมาเป็นเวลา 6 เดือน ซึ่งการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (25 ± 5 °C) ส่งผลให้ปริมาณสาร tocols ลดลงถึง 70%

2. กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH

ระดับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของข้าวที่ผ่านการแปรรูปที่นำมาสกัดและวิเคราะห์ทันทีนั้น พบว่าสูงสุดในข้าวเหนียวดำที่แปรรูปเป็นข้าวกล้องงอกและสกัดด้วย DW โดยมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH เทียบเท่า 799.50 ± 21.77 $\mu\text{g Ascorbic acid /g rice}$ (ตารางที่ 6) และเมื่อนำไปเก็บรักษาในถุงพลาสติกเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ระดับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH นั้นมีค่าสูงขึ้น ซึ่งพบว่าสูงสุดในข้าวเหนียวดำที่แปรรูปเป็นข้าวกล้องงอกและสกัดด้วย DW คือ เทียบเท่า 1415.77 ± 20.77 $\mu\text{g Ascorbic acid /g rice}$ (ตารางที่ 7) ซึ่งเป็นระดับที่สูงที่สุดและสูงกว่าข้าวแปรรูปที่ผ่านการเก็บรักษาในระยะเวลาอื่นๆ โดยข้าวแปรรูปที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 60, 90 และ 120 วัน พบว่ามีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในข้าวเหนียวดำในรูปข้าวฮางและสกัดด้วย DW (180.47 ± 28.45 $\mu\text{g Ascorbic acid /g rice}$) (ตารางที่ 8), ข้าวเหนียว กข6 ในรูปข้าวกล้อง (กลุ่มควบคุม) และสกัดด้วย DW (906.35 ± 45.15 $\mu\text{g Ascorbic acid /g rice}$) (ตารางที่ 9) และข้าวเหนียว กข6 ในรูปข้าวฮางและสกัดด้วย DW (246.62 ± 197.85 $\mu\text{g Ascorbic acid /g rice}$) (ตารางที่ 10) ตามลำดับ

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าข้าวที่มีสีเข้ม คือ ข้าวเหนียวดำ มีแนวโน้มที่จะมีระดับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าข้าวชนิดอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ระบุว่าข้าว sorghum สีแดงและข้าวสีดำสายพันธ์ Hukjinjubyeo มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 92% และ 87% ตามลำดับ (Choi et al., 2007) อาจเป็นเพราะข้าวเหนียวดำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในระดับสูง ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกนี้มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ (Chung and Shin, 2007) นอกจากนี้ ยังมีรายงานที่พบสารต้านอนุมูลอิสระแบบ Free form และ Bound form ระดับสูงในข้าวกล้องของข้าวหอมมะลิแดง เท่ากับ 8.25 ± 0.55 และ 3.02 ± 0.08 mg Ascorbic acid/100 g ตามลำดับ และข้าวกล้องของข้าวเหนียวดำ เท่ากับ 9.95 ± 0.70 และ 3.85 ± 0.08 mg Ascorbic acid/100 g ตามลำดับ (Vichapong et al., 2010) การศึกษาข้าวหอมมะลิแดงและข้าวเหนียวดำของไทย ก็พบว่า มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่ระดับเทียบเท่า 0.85 ± 0.04 และ 0.65 ± 0.03 mg BHA /g rice ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าข้าวหอมมะลิ กข105 และข้าวเหนียว กข6 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (0.20 ± 0.04 0.11 ± 0.01 mg BHA /g rice ตามลำดับ) (ปวีณา รัตนเสนา และ ประภัศสร บุขหมั่น, 2556)

เมื่อนำข้าวเหนียวดำมาผ่านการแปรรูปโดยการงอก ก็เป็นการเพิ่มมีระดับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH ให้สูงขึ้นอีก ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่าธัญพืชหลายชนิด (barley, sorghum และ rye) ที่ผ่านการงอกจะมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในระดับสูง (Donkor et al., 2012; Sharma and Gujral, 2010) งานวิจัยที่ศึกษาการงอกของข้าว พบว่า การงอกในรูปแบบข้าวฮางโดยการงอกข้าวเปลือกของข้าวหอมมะลิ

กข105 และข้าวเหนียว กข6 ส่งผลให้เมล็ดข้าวมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าการงอกในรูปแบบข้าวกล้องงอก โดยข้าวฮางของข้าวหอมมะลิ กข105 และข้าวเหนียว กข6 มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH เทียบเท่ากับ 1.66 ± 0.30 และ 1.16 ± 0.21 mg BHA /g rice ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าข้าวกล้องงอกของข้าวสายพันธุ์ดังกล่าว (0.18 ± 0.13 และ 0.23 ± 0.03 mg BHA /g rice ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ปวีณา รัตนเสนา และ ประภัสสร บุขหมั่น, 2556) ซึ่งงานวิจัยที่ศึกษาข้าวกล้องงอกได้พบว่าข้าวกล้องงอกมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและวิตามิน E ในระดับสูง และยังสามารถปกป้องไม่ให้เกิด lipid peroxidation ในตับของกระต่ายที่มีภาวะคลอเรสเตอรอลสูงได้อีกด้วย (Esa et al., 2013) นอกจากนี้ จะเห็นได้ว่าระดับของกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH จะแปรผันไปในทิศทางเดียวกันกับระดับของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด เพราะสารประกอบฟีนอลิกมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ สอดคล้องกับงานวิจัยของ Chung and Shin (2007) และ Donkor et al. (2012)

การคั่วในงานวิจัยนี้ส่งผลต่อการเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวได้ปานกลาง ซึ่งแตกต่างจากงานวิจัยของ Sharma และ Gujral (2011) ที่พบว่าการคั่วในทราย (280 ± 5 °C เป็นเวลา 20 วินาที) และในเตาไมโครเวฟ (120 วินาที ที่ 900 W) สามารถเพิ่มกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในข้าว barley ได้ 16.8 ถึง 108.2% ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Krings et al. (2000), Krings and Berger (2001) และ Krings et al. (2006) ที่พบว่าการคั่วจะช่วยเพิ่มกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระใน wheat germ ได้

ในงานวิจัยนี้ เมื่อทำการเก็บรักษาข้าวเป็นเวลา 30 วัน พบว่า ระดับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH นั้นมีค่าสูงขึ้น โดยเฉพาะข้าวเหนียวดำ แต่ระดับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระลดลงเมื่อทำการเก็บรักษานาน 60 วัน และลดลงอย่างต่อเนื่อง (กราฟสรุปในหน้าที่ 38) เมื่อทำการทดลองซ้ำอีก 2 ครั้ง ด้วยข้าวที่เก็บเกี่ยวชุดใหม่และทำการแปรรูปด้วยวิธีเดียวกับชุดการทดลองนี้ พบว่าให้ผลในทิศทางเดียวกัน (ไม่แสดงผลการทดลอง) ซึ่งใกล้เคียงกับงานวิจัยอื่นๆ ที่รายงานถึงการลดลงของระดับสารสำคัญและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในช่วงระยะเวลาของการเก็บรักษาของธัญพืชและผลิตภัณฑ์ของธัญพืชแบบต่างๆ (Pascual et al., 2013; Jensen et al., 2011) อย่างไรก็ตาม งานวิจัยนี้ให้ผลแตกต่างกับงานวิจัยของ Htwe et al. (2010) ที่พบว่าข้าวกล้องของข้าวหอมนิล (ข้าวสีดำ) และข้าวหอมมะลิแดง มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH ลดลงเล็กน้อยในช่วง 30 วันของการเก็บรักษา แต่ค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องในช่วง 4 เดือนของการเก็บรักษา โดยมีระดับสูงสุดของข้าวกล้องของข้าวหอมนิล (ข้าวสีดำ) ที่เก็บที่ 40°C เท่ากับ $85.17 \pm 0.35\%$ และข้าวกล้องของข้าวหอมมะลิแดง ที่เก็บที่ 20°C เท่ากับ $90.25 \pm 0.38\%$ เมื่อเก็บรักษานาน 4 เดือน ซึ่งอาจเป็นเพราะการเพิ่มขึ้นของระดับของสาร carotenoid และความคงตัวของระดับสาร anthocyanin ในข้าว หรืออาจเป็นผลจากการเพิ่มขึ้นของสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มที่ไม่ใช่สารประกอบฟีนอลิก

มีความพยายามมากมายในการยืดอายุการเก็บรักษาธัญพืชและธัญพืชที่ถูกแปรรูปให้เป็นผลิตภัณฑ์แบบต่างๆ โดยให้ยังสามารถคงระดับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ เช่น การเติมสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น สารสกัดจากต้น rosemary (Jensen et al., 2011), สาร oryzanol (Kumar et al., 2014), ส่วนผสม tocopherols จากธรรมชาติ (Paradiso et al., 2008), ferulic acid และ benzoin (Viscidi et al., 2004)

3. กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่วัดโดยวิธี FRAP

การวิเคราะห์ระดับกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่วัดโดยวิธี FRAP เป็นอีกวิธีที่นิยมใช้ในอาหารกลุ่มธัญพืช ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าข้าวที่ผ่านการแปรรูปที่นำมาสกัดและวิเคราะห์ทันทีนั้น ข้าวเหนียวดำในรูปข้าวกล้อง (กลุ่มควบคุม) ที่สกัดด้วย DW มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่วัดโดยวิธี FRAP สูงที่สุด เทียบเท่า $1274.70 \pm 3.73 \mu\text{g FeSO}_4 / \text{g rice}$ (ตารางที่ 11) และเมื่อทำการเก็บรักษาในถุงพลาสติกเป็นเวลา 30 วัน พบว่า กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่วัดโดยวิธี FRAP สูงที่สุดพบในข้าวเหนียวดำในรูปข้าวกล้องอกที่สกัดด้วย DW ที่ระดับเทียบเท่า $1549.85 \pm 111.80 \mu\text{g FeSO}_4 / \text{g rice}$ (ตารางที่ 12) ซึ่งเป็นระดับที่สูงกว่าข้าวแปรรูปที่ผ่านการเก็บรักษาในระยะเวลาอื่นๆ ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าข้าวแปรรูปที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 60, 90 และ 120 วัน มีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในข้าวเหนียว กข6 ในรูปข้าวกล้อง (กลุ่มควบคุม) ที่สกัดด้วย DW ($543.40 \pm 27.75 \mu\text{g FeSO}_4 / \text{g rice}$) (ตารางที่ 13), ข้าวหอมแดงในรูปข้าวกล้อง (กลุ่มควบคุม) ที่สกัดด้วย DW ($548.03 \pm 86.98 \mu\text{g FeSO}_4 / \text{g rice}$) (ตารางที่ 14) และข้าวหอมมะลิ กข105 ในรูปข้าวกล้องที่สกัดด้วย EtOH80 ($1433.15 \pm 41.69 \mu\text{g FeSO}_4 / \text{g rice}$) (ตารางที่ 15) ตามลำดับ

ผลการวิเคราะห์หากิจกรรมต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อาจให้ผลแตกต่างกับวิธี DPPH อาจเนื่องมาจากกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่วัดเป็นคนละกลุ่ม (Apak et al., 2013) อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองของวิธี FRAP และ DPPH ก็สอดคล้องกัน โดยแสดงให้เห็นว่าข้าวที่มีเมล็ดสีมีแนวโน้มที่จะมีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวที่ไม่มีเมล็ดสี และถ้ายิ่งเพิ่มเวลาในการเก็บรักษานานขึ้นก็จะทำให้กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระลดน้อยลงไป (เรียบเรียงจาก Htwe et al. (2010)) (กราฟสรุปในหน้าที่ 39)

4. ปริมาณสาร GABA

การวิเคราะห์ปริมาณสาร GABA ด้วยวิธี HPLC แสดงให้เห็นว่าในข้าวที่ผ่านการแปรรูปและทำการสกัดทันที จะพบปริมาณสาร GABA สูงที่สุดในข้าวกล้องอกเมื่อเทียบกับข้าวที่ผ่านการแปรรูปโดยวิธีอื่นๆ โดยสามารถเรียงลำดับสูงไปต่ำ เริ่มจากข้าวกล้องอกที่ทำมาจากข้าวหอมแดง ($391.21 \pm 0.80 \mu\text{g GABA} / \text{g rice}$), ข้าวเหนียว กข6 ($378.36 \pm 0.39 \mu\text{g GABA} / \text{g rice}$), ข้าวเหนียวดำ ($368.60 \pm 0.26 \mu\text{g GABA} / \text{g rice}$) และข้าวหอมมะลิ กข105 ($351.73 \pm 0.17 \mu\text{g GABA} / \text{g rice}$) (ตารางที่ 16) เมื่อทำการเก็บรักษาข้าวแปรรูปเป็นเวลา 30 วัน พบว่ามีปริมาณสาร GABA ลดลง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบข้าวที่ผ่านการแปรรูปทั้งหมด พบว่าข้าวกล้องอกก็ยังคงมีระดับสาร GABA สูงกว่าข้าวแปรรูปอื่นๆ โดยสามารถเรียงลำดับเริ่มจากข้าวกล้องอกที่ทำมาจากข้าวหอมแดง ($243.65 \pm 0.24 \mu\text{g GABA} / \text{g rice}$), ข้าวเหนียว กข6 ($233.03 \pm 0.37 \mu\text{g GABA} / \text{g rice}$), ข้าวหอมมะลิ กข105 ($198.90 \pm 0.46 \mu\text{g GABA} / \text{g rice}$) และข้าวเหนียวดำ ($191.49 \pm 0.24 \mu\text{g GABA} / \text{g rice}$) (ตารางที่ 17) อย่างไรก็ตาม เมื่อทำการเก็บรักษาข้าวจนถึงวันที่ 60 และ 90 (ตารางที่ 18 และตารางที่ 19) พบว่าปริมาณสาร GABA ลดลงเป็นอย่างมาก ซึ่งต่ำกว่าระดับค่าต่ำที่สุดที่สามารถวิเคราะห์ด้วย HPLC (30

$\mu\text{g GABA /g rice}$) จึงไม่ทำการวิเคราะห์สาร GABA ในตัวอย่างข้าวที่ผ่านการเก็บรักษาเป็นเวลา 120 วัน (กราฟสรุปในหน้าที่ 40)

จากผลการทดลอง พบว่า ข้าวหอมแดงในรูปข้าวกล้องงอกมีปริมาณสาร GABA สูงที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยที่ระบุไว้ว่า ข้าวที่มีเมล็ดสีและข้าวที่ผ่านการแปรรูปโดยการงอกในรูปแบบของข้าวกล้องงอก จะมีปริมาณสาร GABA ในระดับสูง โดยปกติแล้ว การงอกจะส่งผลให้เมล็ดข้าวมีการผลิตสารสำคัญมากขึ้น งานวิจัยข้าวของญี่ปุ่น พบว่าการงอกข้าวกล้องจะช่วยเพิ่มปริมาณสาร GABA จาก 2.0 mg/100 rice ในข้าวกล้องไปเป็น 7.0 mg/100 rice ในข้าวกล้องงอก ในขณะที่ข้าวขาวที่ขัดสีแล้วจะไม่พบสาร GABA เลย (Miura et al., 2006)

มีงานวิจัยมากมายที่พยายามปรับปรุงวิธีและสภาวะการงอกข้าวกล้องเพื่อให้ได้ปริมาณสาร GABA สูงขึ้น เช่น งานวิจัยในข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุงที่ผ่านการงอกในรูปแบบข้าวกล้องงอก โดยเป็นการแช่ข้าวกล้องใน citrate buffer ที่ pH 3 และปล่อยให้ข้าวกล้องงอกเป็นเวลา 36 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณสาร GABA สูงถึง 44.53 mg/100 g rice ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการงอกถึง 16.74 เท่า (2.66 mg/100 rice) (Banchuen et al., 2009) การแช่ข้าวกล้องของข้าวหอมมะลิแดงเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่ 35°C ภายใต้สภาวะไร้ออกซิเจน จะทำให้เมล็ดข้าวกล้องมีสารผลิตสาร GABA สูงถึง 81.19±1.90 mg/100 rice ซึ่งสูงมากเมื่อเทียบกับสาร GABA ในข้าวกล้องที่ยังไม่ผ่านการงอก (6.05 mg/100 g rice) (Wichamanee and Teerarat, 2012)

การงอกข้าวกล้องสายพันธุ์เกาหลีในน้ำที่มีสภาพเป็นกรด (pH 3.27±0.02) เป็นเวลา 4 วัน ก็ให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยดังกล่าว โดยสามารถเพิ่มการสร้างสาร GABA ในข้าวกล้องงอกได้ถึง 39.76% เมื่อเทียบกับข้าวกล้อง (Liu et al., 2013) ในงานวิจัยของไทยก็พบว่าการนำข้าวกล้องของข้าวหอมมะลิ กข105 ไปแช่น้ำที่อุณหภูมิ 25°C และ pH 5.5 นาน 48 ชั่วโมง จะทำให้มีปริมาณสาร GABA เท่ากับ 39.30 mg/100 g rice ซึ่งสูงกว่าการงอกที่ pH 6.6 (27.80 mg/100 g rice) (อิงฟ้า คำแพง และคณะ, 2552) แต่ก็มีงานวิจัยที่ให้ผลตรงกันข้าม คือ การงอกข้าวกล้องของข้าวหอมมะลิ กข105 ที่ pH 6 และ 35°C พบว่า เมล็ดข้าวมีสาร GABA เท่ากับ 20.966 mg/100 g rice แต่การงอกในสภาวะที่เป็นกรด (pH 4) กลับให้ปริมาณสาร GABA ต่ำกว่า 14.666 mg/100 g rice (อรทัย ขำคำ และคณะ, 2552) นอกจากนี้ ระยะเวลาที่ใช้ในการงอกก็ถือว่า มีบทบาทสำคัญ โดยงานวิจัยที่ใช้เวลาในการงอกข้าวกล้องของข้าวหอมมะลิ กข105 และข้าวชัยนาท 1 นาน 72 ชั่วโมง ส่งผลให้เกิดการสะสมสาร GABA สูงถึง 73.05 และ 92.42 mg/100 g rice ตามลำดับ ซึ่งเป็นระดับที่สูงกว่าข้าวกล้องถึง 13 เท่า (Kaosa-ard and Songsermpong, 2012) ซึ่งการงอกที่ระยะเวลาเพิ่มขึ้นจะทำให้เมล็ดข้าวผลิตสาร GABA สูงขึ้น โดยงานวิจัยของ Ohtsubo et al. (2005) ซึ่งศึกษาข้าว Koshihikari ของญี่ปุ่นได้แสดงให้เห็นว่าข้าวกล้องงอกผลิตสาร GABA สูงขึ้น ซึ่งในข้าวกล้องที่มีสาร GABA 6.04±0.20 mg/100 g rice เมื่อปล่อยให้งอกเป็นเวลา 24, 48, 72 และ 96 ชั่วโมง 11.02±0.25, 27.73±0.46, 69.21±0.14 และ 149.03±5.16 mg/100 g rice ตามลำดับ แต่ก็มีงานวิจัยที่พบว่า การงอกข้าวกล้องของข้าวหอมมะลิ กข105 และข้าวสีดำสายพันธุ์ Kum Doi Saket ที่ให้ระดับสาร GABA สูงที่สุดคือ

ที่ 24 ชั่วโมง (17.87 mg/100 g rice) จากนั้นระดับของสาร GABA จะลดลงอย่างรวดเร็ว (Karladeea and Suriyong, 2012)

การงอกข้าว นอกจากจะทำในรูปข้าวกล้องงอกแล้ว ยังสามารถทำในรูปข้าวเปลือกงอกที่เรียกว่า ข้าวฮาง ได้อีกด้วย โดย Moongngarm และ Saetung (2010) ได้ทำการศึกษาข้าวเหนียว กข6 และเปรียบเทียบผลของการงอก 2 รูปแบบดังกล่าว และรายงานว่ามีปริมาณสาร GABA เท่ากับ 115 ± 9.12 mg/100 g rice ซึ่งสูงกว่าข้าวกล้องงอก (68.4 ± 4.43 mg/100 g rice) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ งานวิจัยในข้าวเหนียว กข6, ข้าวหอมมะลิ กข105 และข้าวเหนียวดำ พบว่า การงอกข้าวในรูปแบบข้าวฮางสามารถเพิ่มปริมาณสาร GABA ได้เท่ากับ 58.04 ± 0.21 , 28.79 ± 0.65 และ 26.81 ± 0.21 $\mu\text{g/g}$ rice ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าข้าวกล้องงอกของข้าวสายพันธุ์ดังกล่าว (48.31 ± 0.19 , 4.38 ± 0.11 , 7.19 ± 0.01 $\mu\text{g/g}$ rice ตามลำดับ) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (ปวีณา รัตนเสนา และ ประภัสสร บุขหมั่น, 2556) การศึกษาในข้าว Ilpumbyeo ของเกาหลีก็ให้ผลสอดคล้องกัน คือ การงอกข้าวเปลือกจะช่วยให้สาร GABA ในเมล็ดข้าวเปลือกเพิ่มขึ้นจาก 15.34 mg/100 g rice ไปเป็น 31.79 mg/100 g rice หลังจากการงอกเป็นเวลา 3 วัน (Kim et al., 2012) ซึ่งมีรายงานว่าเมล็ดข้าวเปลือกจะสร้างสาร GABA อย่างรวดเร็วใน 1 ชั่วโมงแรกของการแช่ โดยการศึกษากการแช่ข้าวเปลือกของข้าวหอมมะลิ กข105, ข้าวปทุมธานี 1 และข้าวชัยนาท 1 พบว่าสาร GABA จะถูกสร้างขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1 ชั่วโมงแรกของการแช่ และค่อยๆ เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง และมีปริมาณสาร GABA สูงสุดที่ 186.2, 154.6 และ 144.5 mg/kg germ ตามลำดับ (Varanyanond et al., 2005)

นอกจากนี้ ยังมีงานวิจัยที่พยายามปรับปรุงสภาวะในการงอกข้าวเปลือกเพื่อเพิ่มปริมาณการสร้างสาร GABA ในเมล็ดข้าว โดยการงอกข้าวเปลือกสายพันธุ์ Haiminori ของญี่ปุ่นในสภาวะที่ไม่มีอากาศถ่ายเท ที่ 35°C เป็นเวลา 21 ชั่วโมงจะช่วยให้ข้าวกล้องงอกมีปริมาณสาร GABA เท่ากับ 24.9 mg/100 g rice ซึ่งสูงกว่าการงอกตามวิธีปกติ (10.1 mg/100 g rice) (Komatsuzaki et al., 2007) การนำข้าวเปลือกของข้าวหอมมะลิ กข105 มาแช่ในน้ำที่มีการเพิ่มสารเร่งน้ำหมักชีวภาพ (อัตราส่วนสารเร่งต่อน้ำเป็น 1:100) ที่ 40°C นาน 24 ชั่วโมง และทำการงอกต่อไปที่ 40°C เช่นเดิม นาน 24 ชั่วโมง จะส่งผลให้มีปริมาณสาร GABA ในเมล็ดข้าวสูงที่สุดที่ 448.79 mg/100 g rice (อภิชาติ อัจฉริยะ, 2553)

ผลการทดลองที่น่าสนใจก็คือ ข้าวที่ผ่านการคั่วนั้นมีปริมาณสาร GABA ใกล้เคียงกับข้าวกล้องงอก ซึ่งเป็นการทดลองที่ยังไม่มีกลุ่มผู้วิจัยใดทำมาก่อนหน้านี้ โดยเมื่อเทียบกันแล้ว การคั่วเป็นวิธีการแปรรูปที่ง่ายกว่าการทำข้าวกล้องงอก และข้าวคั่วก็สามารถนำมาใช้เป็นทั้งเครื่องดื่มและส่วนประกอบของอาหารไทย การตรวจพบสาร GABA ในข้าวคั่วนี้สามารถใช้เป็นแนวทางในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวคั่วที่มีสาร GABA สูงได้ต่อไปในอนาคต

5. ปริมาณสาร Glutathione

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าข้าวที่ผ่านการแปรรูปที่นำมาสกัดและวิเคราะห์ทันทีนั้นมีปริมาณสาร Glutathione สูงที่สุดในข้าวเหนียวดำในรูปข้าวฮางที่สกัดด้วย DW เท่ากับ 2157.50 ± 238.62 เทียบเท่า μg Reduced glutathione /g rice (ตารางที่ 20) ซึ่งเป็นระดับที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับข้าวแปรรูปที่ผ่านการเก็บรักษา โดยเมื่อทำการเก็บรักษาเป็นเวลา 30, 60, 90 และ 120 วัน พบว่า ปริมาณสาร Glutathione สูงที่สุดในข้าวเหนียวดำในรูปข้าวฮางที่สกัดด้วย EtOH100 (81.03 ± 0.07 μg Reduced glutathione /g rice) (ตารางที่ 21), ข้าวเหนียวดำในรูปข้าวฮางที่สกัดด้วย EtOH80 (92.29 ± 8.12 μg Reduced glutathione /g rice) (ตารางที่ 22), ข้าวเหนียวดำในรูปข้าวกล้องอกที่สกัดด้วย EtOH100 (269.32 ± 11.76 μg Reduced glutathione /g rice) (ตารางที่ 23) และข้าวหอมมะลิ กข105 ในรูปข้าวกล้อง (กลุ่มควบคุม) ที่สกัดด้วย EtOH80 (720.51 ± 54.23 μg Reduced glutathione /g rice) (ตารางที่ 24) ตามลำดับ

การที่สาร Glutathione เป็นสารที่มีความไวสูงต่อการสลายตัวและการ oxidation จึงทำให้พบในระดับสูงในข้าวที่ผ่านการแปรรูปและนำมาสกัดทันที การเก็บรักษาเป็นเวลานานจะทำให้ปริมาณสาร Glutathione ลดลงอย่างเห็นได้ชัด (กราฟสรุปในหน้าที่ 41) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยใน rye ginger cakes ที่เก็บรักษาในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 5 ปี ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยา Maillard ขั้นสุดท้าย และทำให้เกิดลดลงของสาร Glutathione ทั้งในรูป reduced และ oxidized forms (Zielinski et al., 2012)

โดยสรุปแล้ว การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด, กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระที่วัดโดยวิธี FRAP ให้ผลการทดลองที่สอดคล้องกัน คือ ข้าวเหนียวดำที่แปรรูปเป็นข้าวกล้องอกและสกัดด้วย DW จะพบปริมาณสารและกิจกรรมดังกล่าวได้สูงที่สุด ในขณะที่การวิเคราะห์หาปริมาณสาร Glutathione ก็พบในปริมาณสูงที่สุดในข้าวเหนียวดำเช่นเดียวกัน แต่เป็นในรูปของข้าวฮางที่สกัดด้วย DW ส่วนการวิเคราะห์ปริมาณสาร GABA กลับพบปริมาณสูงในข้าวกล้องอกที่ทำมาจากข้าวหอมแดง จากข้อสรุปนี้ สามารถใช้เป็นแนวทางการพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวที่มีสารสำคัญและกิจกรรมทางชีวภาพสูงได้ โดยควรเป็นข้าวที่มีเมล็ดสีเข้ม โดยเฉพาะข้าวเหนียวดำ และนำมาผ่านการงอกด้วยกระบวนการทำข้าวกล้องอก ซึ่งจะให้ผลดีกว่าการทำข้าวฮาง (การทำข้าวฮางในงานวิจัยนี้ อาจจะไม่ตรงกับภูมิปัญญาไทยเท่าใดนัก เนื่องจากในงานวิจัยนี้ใช้ข้าวเปลือกที่แก่แล้วมาทำการงอกทั้งเปลือก แต่การทำข้าวฮางในภูมิปัญญาไทยนั้นใช้ข้าวเปลือกที่ยังไม่แก่และยังมีเปลือกที่มีสีเขียวหุ้มอยู่บางส่วนมาทำการงอก ซึ่งจะทำให้ข้าวมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉพาะเชื้อราได้สูงมาก) แล้วทำการสกัดด้วย DW ซึ่งมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและราคาถูกกว่าตัวทำละลายอื่นๆ อีกด้วย

6. กิจกรรมด้านแบคทีเรีย

การทดสอบกิจกรรมการต้านจุลินทรีย์ของสารสกัดจากข้าวแปรรูป ทำได้ด้วยวิธี Agar well diffusion assay และวิธี Broth dilution assay โดยใช้สารสกัดจากข้าว (ที่สกัดจากข้าวที่ผ่านการแปรรูปทันที หรือสกัดจากข้าวที่ผ่านการแปรรูปและเก็บรักษาเป็นเวลา 30, 60, 90 และ 120 วัน) ที่ระดับความเข้มข้น 50,000 ppm (50 µg/ml) เพื่อทำการทดสอบกับแบคทีเรีย 10 ชนิด ได้แก่ *B. subtilis*, *E. coli*, *Enterobacter sp.*, *K. pneumoniae*, *P. acnes*, *P. vulgagris*, *Ps. fluorescens*, *S. aureus*, *S. faecalis*, *S. pyogenes* พบว่าสารสกัดจากข้าวส่วนใหญ่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียค่อนข้างต่ำ

การทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion assay (ขนาดของ cork borer คือ 0.8 cm) (ตารางที่ 25 ถึงตารางที่ 74) แสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากข้าวที่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียในระดับที่ค่อนข้างสูง คือ สารสกัดจากข้าวหอมแดงในรูปข้าวกล้องที่สกัดด้วย EtOH100 สามารถยับยั้ง *B. subtilis* เกิดเป็นวงใสของ Inhibition zone ขนาด 1.27 ± 0.03 cm (ตารางที่ 25), สารสกัดจากข้าวหอมแดงในรูปข้าวฮางที่สกัดด้วย EtOH80 สามารถยับยั้ง *K. pneumoniae* เกิดเป็นวงใสของ Inhibition zone ขนาด 1.27 ± 0.03 cm (ตารางที่ 40), สารสกัดจากข้าวหอมมะลิ กข105 ในรูปข้าวคั่วที่สกัดด้วย DW สามารถยับยั้ง *P. vulgagris* เกิดเป็นวงใสของ Inhibition zone ขนาด 1.37 ± 0.17 cm (ตารางที่ 50) และสารสกัดจากข้าวเหนียวดำในรูปข้าวฮางที่สกัดด้วย DW สามารถยับยั้ง *P. vulgagris* เกิดเป็นวงใสของ Inhibition zone ขนาด 1.27 ± 0.03 cm (ตารางที่ 50) ซึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่า สารสกัดจากข้าวที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียในระดับที่ค่อนข้างสูงดังที่กล่าวมานี้ เป็นสารสกัดที่มาจากข้าวที่ผ่านการแปรรูปแล้วนำมาสกัดทันที (ข้าวแปรรูปที่ไม่ผ่านการเก็บรักษา) จึงมีความเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากข้าวจะมาจากข้าวที่เพิ่งได้รับการแปรรูป มากกว่าจะมาจากข้าวแปรรูปที่ผ่านการเก็บรักษามาแล้ว

การทดสอบด้วยวิธี Broth dilution assay (ตารางที่ 75 ถึงตารางที่ 124) แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากข้าวที่มีฤทธิ์ในการต้านแบคทีเรียในระดับที่ค่อนข้างสูง คือ สารสกัดจากข้าวเหนียว กข6 ในรูปข้าวคั่วที่สกัดด้วย EtOH80 สามารถยับยั้ง *E. coli* โดยให้ %inhibition ที่ $84.26 \pm 0.71\%$ (ตารางที่ 81), สารสกัดจากข้าวหอมมะลิ กข105 ในรูปข้าวกล้องที่สกัดด้วย EtOH80 สามารถยับยั้ง *E. coli* โดยให้ %inhibition ที่ $76.31 \pm 1.81\%$ (ตารางที่ 81), สารสกัดจากข้าวหอมมะลิ กข105 ในรูปข้าวคั่วที่สกัดด้วย EtOH100 และ EtOH80 สามารถยับยั้ง *K. pneumoniae* โดยให้ %inhibition ที่ $80.45 \pm 0.44\%$ และ $77.63 \pm 1.10\%$ ตามลำดับ (ตารางที่ 90), สารสกัดจากข้าวหอมมะลิ กข105 ในรูปข้าวกล้องอกที่สกัดด้วย EtOH100 สามารถยับยั้ง *S. faecalis* โดยให้ %inhibition ที่ $67.83 \pm 2.86\%$ (ตารางที่ 116) ส่วนฤทธิ์ในการยับยั้งที่รองลงมา คือ สารสกัดจากข้าวเหนียวดำในรูปข้าวกล้องอกและข้าวฮางที่สกัดด้วย EtOH80 สามารถยับยั้ง *E. coli* โดยให้ %inhibition ที่ $69.52 \pm 5.12\%$ และ $66.98 \pm 4.35\%$ ตามลำดับ, สารสกัดจากข้าวเหนียว กข6 ในรูปข้าวกล้องที่สกัดด้วย EtOH80 สามารถยับยั้ง *E. coli* โดยให้ %inhibition ที่ $69.21 \pm 5.08\%$, สารสกัดจากข้าวหอมแดงในรูปข้าวคั่วและข้าวกล้องที่สกัดด้วย EtOH100 สามารถยับยั้ง *E. coli* โดยให้ %inhibition ที่ $69.06 \pm 1.17\%$ และ $68.67 \pm 2.22\%$ ตามลำดับ (ตารางที่ 81) ซึ่งการทดสอบด้วยวิธี Broth dilution

assay นี้มีข้อสังเกตที่ใกล้เคียงกับการทดสอบด้วยวิธี Agar well diffusion assay คือ สารสกัดจากข้าวที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียในระดับที่ค่อนข้างสูงเป็นสารสกัดที่มาจากข้าวที่ผ่านการแปรรูปแล้วนำมาสกัดทันที (ข้าวแปรรูปที่ไม่ผ่านการเก็บรักษา) หรือสารสกัดจากข้าวที่ผ่านการแปรรูปและเก็บรักษานาน 30 วันแล้วจึงนำมาสกัด จึงมีความเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของสารสกัดจากข้าวจะมาจากข้าวที่เพิ่งได้รับการแปรรูปหรือเก็บรักษามาไม่นาน มากกว่าจะมาจากข้าวแปรรูปที่ผ่านการเก็บรักษามาแล้วเช่นเดียวกันกับการทดสอบข้างต้น

จากการทดสอบทั้งสองวิธีแสดงให้เห็นว่าสารสกัดจากข้าวหอมแดงและข้าวหอมมะลิ กข105 มีแนวโน้มในการยับยั้งแบคทีเรียมากกว่าสารสกัดจากข้าวชนิดอื่น และฤทธิ์ของการยับยั้งแบคทีเรียจะพบในสารสกัดจากข้าวที่ผ่านการแปรรูปแล้วสกัดทันที หรือข้าวที่ผ่านการแปรรูปและเก็บรักษานาน 30 วันแล้วจึงทำการสกัด ความรู้ดังกล่าวสามารถนำไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ต่อไปได้ในอนาคต อย่างไรก็ตาม ยังไม่มีผลการวิจัยที่ตีพิมพ์เผยแพร่เกี่ยวกับกลไกในการยับยั้งแบคทีเรียโดยใช้สารสกัดจากข้าว ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีความเป็นไปได้ว่าฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียส่วนหนึ่งอาจมาจากกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระในข้าว จึงทำให้พบฤทธิ์การต้านแบคทีเรียค่อนข้างสูงในข้าวที่เพิ่งผ่านการแปรรูปหรือข้าวแปรรูปที่เก็บรักษาได้ไม่นาน นอกจากนี้มีรายงานวิจัยที่ใช้ Japanese-Rice-Fluid (JRF) เพื่อการยับยั้งแบคทีเรีย *Helicobacter pylori* ทั้ง in vitro และ in vivo ในแบบจำลอง Mongolian gerbils ซึ่งลดการติดเชื้อได้ 59% ซึ่งกลไกในการยับยั้งแบคทีเรียอาจมาจากการที่ JRF มีส่วนในการยับยั้งการอักเสบที่เกิดจากการติดเชื้อแบคทีเรีย (Ishizone et al., 2007)