บทที่2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าวและความสำคัญของข้าว

ข้าวเป็นอาหารหลักของชาวเอเชียแปซิฟิกและไทยรวม 17 ประเทศ (Liang, Han, Nout & Hamer, 2008) ประเทศในทวีปอเมริกาเหนือและใต้ 9 ประเทศ และประเทศในทวีปแอฟริกาอีก 8 ประเทศ (FAO, 2004) มาเป็นเวลานาน ข้าวมีส่วนประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ในการเป็นอาหารให้พลังงานของโลก โดยที่ข้าวสาลีและข้าวโพดมีส่วนประมาณ 19 และ 5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกเหนือจากการให้พลังงานแล้ว ข้าวยังเป็นแหล่งที่ดีของสารอาหารรอง ประเทศในเอเชียปลูกและบริโภคข้าวประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ของโลก (Khush,1997 Hossain & Narciso, 2004) ประชากรประเทศไทยประมาณ 64.24 ล้านคนบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก โดยข้าวที่ปลูกในประเทศไทยนั้นใช้บริโภคประมาณ 55 เปอร์เซ็นต์ และส่งออกประมาณ 45 เปอร์เซ็นต์ โดยประเทศไทยเป็นผู้ส่งออกข้าวอันดับของโลกเป็นเวลานานกว่า 1 ทศวรรษ ซึ่งสร้างรายได้ประมาณ 1,700 ถึง 1,900 ล้านเหรียญสหรัฐอเมริกาต่อปี (Vanichanont, 2004) ประเทศหลักที่นำเข้าข้าวจากประเทศไทยคือ อินโดนีเซีย ไนจีเรีย อิหร่าน สหรัฐอเมริกา และสิงคโปร์ (Asia BioBusiness,2006)

2.1.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวเรียกว่า คารีออพซีส (caryopsis) เมื่อนำข้าวไปผ่าตามความยาวและศึกษาภายใต้กล้องจุลทรรศน์จะพบว่าเมล็ดข้าวประกอบด้วยส่วนต่างๆ ดังนี้ (บุญหงส์, 2547)

1. แกลบ (hull หรือ husk) เป็นส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าวประกอบด้วยเปลือกใหญ่ (lemma) เปลือกเล็ก (palae) หาง (awn) ขั้วเมล็ด(rachilla) และกลีบรองเมล็ด (sterile lemma)

2. ข้าวกล้อง (brown rice) เป็นส่วนที่ใช้บริโภค ซึ่งประกอบด้วย

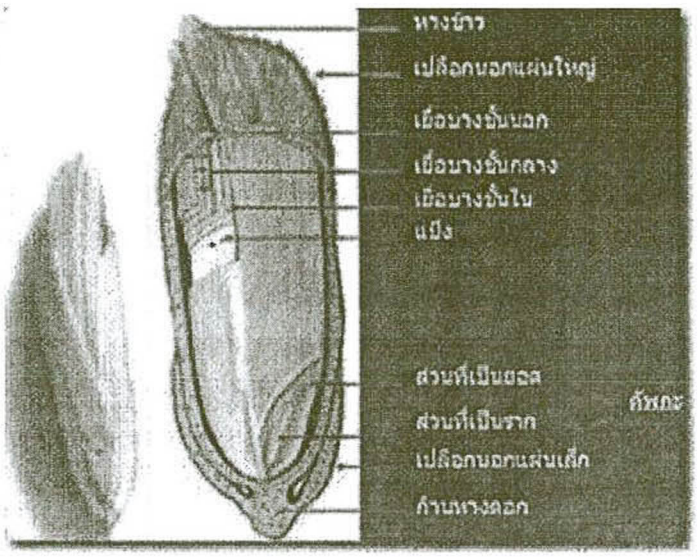
2.1 เยื่อข้าวกล้อง (caryopsis coat) ประกอบด้วยเนื้อเยื่อ 3 ชั้น ได้แก่ เยื่อชั้นนอก (pericarp) มีลักษณะเป็นเซลล์ที่มีผนังเส้นใย 6 ชั้น มีสารสีหรือรงควัตถุปนอยู่ทำให้ข้าวกล้องมีสีต่างๆ เช่น น้ำตาลอ่อน น้ำตาลแก่ น้ำตาลแดง น้ำตาลม่วง น้ำตาลจนเกือบดำ เป็นต้น นอกจากนี้ยังมีโปรตีน เฮมิเซลล์ลูโลสและเซลล์ลูโลสเป็นองค์ประกอบสำคัญ เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) อยู่ถัดจากเยื่อหุ้มผลเข้ามา ประกอบด้วยเซลล์ 2 ชั้น รูปยาวเรียวตามขวางประกอบด้วยไขมันและสารสีเช่นกัน และเยื่อ-คั่น (nucellus) เป็นเซลล์ที่ติดกับเยื่อหุ้มเมล็ดไม่ติดแน่นจึงแยกออกจากกันได้ง่าย

2.2 เยื่อหุ้มชั้นใน (aleurone layer) อยู่ด้านในต่อจากเยื่อคั่น เป็นเนื้อเยื่อชนิดเดียวกับเนื้อเมล็ด (endosperm) เซลล์ของเยื่อหุ้มเนื้อเมล็ดประกอบด้วยโปรตีนและไขมัน

2.3 ส่วนสะสมอาหาร (starchy endosperm) เรียกว่าเอนโดสเปิร์ม เป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่(ประมาณ 83 เปอร์เซ็นต์) ของข้าวกล้อง เอนโดสเปิร์มจะถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อหุ้มชั้นใน (aleurone layer) และตัวเอนโดสเปิร์มเองจะประกอบไปด้วยเซลล์พาเรนไคมา (pyrenchyma cell) ที่มีผนังบางซึ่งบรรจุเม็ดแป้ง (compound starch granules) ไว้เต็มโดยมีโปรตีนแทรกอยู่รอบนอกใกล้ๆกับชั้นของเยื่อหุ้มชั้นใน

2.4 คัพภะ (embryo) เป็นส่วนที่เจริญเป็นต้นอ่อนต่อไป ดังนั้นจึงประกอบด้วยส่วนของต้นอ่อน (plumule) รากแรกเกิด (radicle) โดยมีส่วนของลำต้นอ่อนสั้นๆ (mesocoyl) เชื่อมอยู่ตรงกลาง

ระหว่างส่วนของใบและราก ส่วนของใบจะถูกห่อหุ้มด้วยเปลือกหุ้มต้นอ่อน (coleoptile)และส่วนของรากก็จะถูกห่อหุ้มด้วยเยื่อหุ้มรากอ่อน (coleorhiza) ส่วนของปลอกหุ้มต้นอ่อนนั้นจะถูกล้อมรอบด้วยชั้นของเซลล์ท่อน้ำท่ออาหาร (epiblast) และใบเลี้ยง (scutellum) ซึ่งเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว คัภพะเป็นแห่งสะสมอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของต้นอ่อนจึงอุดมด้วยโปรตีนและไขมัน โครงสร้างของเมล็ดข้าวดังแสดงในรูปที่ 2.1



รูปที่ 2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

2.1.2 สัดส่วนโครงสร้างของเมล็ดข้าว

จากโครงสร้างของเมล็ดข้าวประกอบด้วย 2 ส่วนหลักคือ แกลบและข้าวกล้อง เมื่อเปรียบเทียบส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าวจากน้ำหนักเมล็ดข้าว (ข้าวเปลือก) 100 เปอร์เซ็นต์ มีสัดส่วนดังแสดงในตารางที่ 2.1 จะเห็นว่าสัดส่วนของน้ำหนักข้าวเปลือก 100 เปอร์เซ็นต์ เป็นสัดส่วนของแกลบประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ เป็นสัดส่วนของข้าวกล้องประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบน้ำหนักข้าวกล้องให้เป็น 100 เปอร์เซ็นต์ จะมีสัดส่วนของเยื่อหุ้มต่างๆรวมประมาณ 6.5 เปอร์เซ็นต์ ส่วนของคัภพะ 3 เปอร์เซ็นต์ และเนื้อเมล็ดประมาณ 90.5 เปอร์เซ็นต์ ในส่วนของคัภพะจะประกอบด้วยใบเลี้ยงมากที่สุด (1.18-1.4 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งสัดส่วนต่างๆในข้าวเปลือกนี้ จะมีผลต่อกระบวนการแปรรูปข้าวเปลือกเป็นข้าวกล้อง และข้าวสารในปริมาณผลผลิตที่ได้ (เครือวัลย์,สุนันทา,อนงค์ และ รุจี, 2535)

ตารางที่ 2.1 สัดส่วนโครงสร้างของเมล็ดข้าว (เครือวัลย์,สุนันทา,อนงค์ และ รุจี, 2535)

โครงสร้างของเมล็ดข้าว	สัดส่วน(เปอร์เซ็นต์)	
	ค่าเฉลี่ย	ช่วงสัดส่วน
ข้าวเปลือก	100	-
แกลบ	20	16-18
ข้าวกล้อง	80	72-84
ข้าวกล้อง	100	-
เยื่อหุ้มเมล็ด	5	4-6
เยื่อหุ้มผล	1.5	1-2
เนื้อเมล็ด	90.5	89-94
คัพภะ	3	2-3
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	-

2.1.3 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว

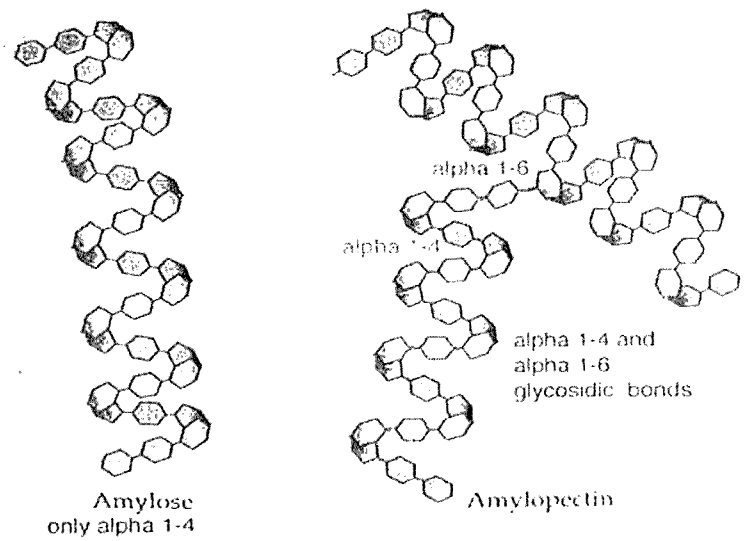
ข้าวที่บริโภคจะอยู่ในรูปของข้าวสารขาวและข้าวกล้อง ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้

1. คาร์โบไฮเดรต ที่พบมากในข้าวจะอยู่ในรูปของแป้ง (starch) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็คคาไรด์จะพบมากที่สุดประมาณ 99 เปอร์เซ็นต์ จึงมีผลต่อคุณภาพข้าวมากที่สุด โมเลกุลของแป้งประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ อะมิโลส และอะมิโลแพคติน ซึ่งโมเลกุลแป้งทั้ง 2 ชนิดรวมกันแน่นจนเป็นเม็ดแป้ง (อรอนงค์, จันทร์จรัส และวราภา, 2547)

1.1 อะมิโลส (amylose) ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสจัดเรียงตัวเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้น ด้วยพันธะ α-1,4 glucoside bond เมื่อย้อมด้วยสารละลายไอโอดีนจะมีสีน้ำเงิน และละลายน้ำได้ ในแป้งจะมีอะมิโลสเป็นส่วนรองโดยอยู่ปะปนกับอะมิโลแพคติน(งามชื่น, 2545)

1.2 อะมิโลแพคติน (amylopetin) ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสจัดเรียงตัวเป็นพอลิเมอร์ลักษณธเกลียวคู่โซ่กิ่งเป็นแขนงมากประมาณ 96 เปอร์เซ็นต์ โดยโมเลกุลของกลูโคสจะต่อกันด้วยพันธะ α-1,4 glucoside bond และ พันธะα-1,6 glucoside bond (อรอนงค์, จันทร์จรัส และวราภา,

2547) เมื่อย้อมด้วยสารละลายไอโอดีนจะมีสีน้ำตาลแดง และไม่สามารถละลายน้ำได้(งามชื่น, 2545) โครงสร้างของอะมิโลสและอะมิโลแพคติน ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 โครงสร้างของอะมิโลสและอะมิโลแพคติน

2. โปรตีน ในข้าวมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว โดยโปรตีนจะเกิดขึ้นตามส่วนต่างๆของเมล็ด มีมากในชั้นเปลือกหุ้มเมล็ด และเนื้อเมล็ดด้านนอกมีโปรตีนมากกว่าใจกลางเมล็ด ปริมาณกรดอะมิโนแต่ละชนิดในโปรตีนของข้าวเปลือกไม่ต่างจากข้าวกล้องและข้าวสารมากนักเพราะในส่วนเปลือกมีโปรตีนน้อยมาก (2-6 เปอร์เซ็นต์) จึงได้รับโปรตีนจากเนื้อเมล็ดมากเนื่องจากสัดส่วนของเนื้อเมล็ดมีมากกว่าส่วนอื่น และแหล่งที่มีโปรตีนมากอีกส่วนหนึ่งคือ ชั้นถัดจากแอลิวโรนและชั้นแอลิวโรนจะสะสมเป็นกลุ่มโปรตีน (protein bodies) (อรอนงค์, จันทร์จรัส และวราภา, 2547)

โมเลกุลของโปรตีนจะรวมตัวกันเป็นรูปร่างที่มีกลูแตลลินเป็นองค์ประกอบหลักอยู่ภายใน ซึ่งมี 3 รูปแบบ คือ แบบผลึก (crystalline) แบบรูปร่างกลมขนาดเล็ก และรูปร่างกลมขนาดใหญ่ โดยโปรตีนที่แทรกอยู่ในเมล็ดจะแทรกอยู่ระหว่างเม็ดแป้งที่เชื่อมโยงกับเม็ดแป้ง ซึ่งอาจมีผลต่อการเกิดเจลาทีไนซ์ทำให้การพองตัวของเม็ดแป้งเสียรูปร่างได้ง่าย และโมเลกุลของอะมิโลสไม่ซึมผ่านออกมามีผลต่อลักษณะความอ่อนหรือแข็งเมื่อเย็นลง ซึ่งส่งผลต่อข้าวสุกที่มีลักษณะนุ่ม เหนียวหรือร่วน โปรตีนในเมล็ดข้าวสามารถแบ่งเป็น 4 ชนิด ตามคุณสมบัติในการละลายได้แก่

2.1 อัลบูมิน (albumin) มีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำ (water soluble protein)

2.2 โกลบูมิน (globulin) มีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำเกลือ (salt soluble protein)

2.3 โปรลามิน (prolamin) มีคุณสมบัติละลายได้ในแอลกอฮอลล์ (alcohol soluble protein)

2.4 กลูเตลลิน (glutelin) มีคุณสมบัติละลายได้ในกรดหรือด่าง (acid or alkali soluble protein)

ในข้าวกล้องมีโปรตีนชนิดที่ละลายน้ำได้(albumin) และละลายได้ในน้ำเกลือ(globulin) มากกว่าในข้าวสาร ซึ่งโปรตีนทั้งสองชนิดนี้ส่วนใหญ่อยู่ในเนื้อเยื่อหุ้มเมล็ดและคัภพะ ส่วนโปรตีนชนิดที่ละลายได้ทั้ง

ในกรดหรือด่าง(glutelin) เป็นโปรตีนหลักที่พบในเมล็ดข้าวกล้องและข้าวสาร และในรำข้าวก็มีความแตกต่างกันของชนิดโปรตีนเช่นกัน

3. ไขมัน ข้าวมีปริมาณไขมันประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ของข้าวทั้งเมล็ด คล้ายธัญพืชอื่นและมีอยู่ในส่วนของรำข้าวมากกว่าเนื้อเมล็ด การสีข้าวให้ขาวทำให้ไขมันเหลืออยู่เพียง 0.3-0.5 เปอร์เซ็นต์ ประเภทไขมันในขาวส่วนใหญ่คือ ไตรกลีเซอร์ไรด์ รองลงมาคือ ฟอสฟอลิพิด (phospholipids) ไกลโคลิพิด (glycolipids) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid) (Henry and kettlewell.1996) องค์ประกอบของไขมันที่มีประโยชน์ต่อร่างกายประเภทกรดไขมันไม่อิ่มตัวและกรดไขมันอิ่มตัวซึ่งมีอยู่มาก คือ กรดโอเลอิก 4.25 เปอร์เซ็นต์ ลิโนเลอิก 39.1เปอร์เซ็นต์ ปาลมิติก 15 เปอร์เซ็นต์ ไมรีสติก 0.2 เปอร์เซ็นต์ และบีเฮนิก 0.2 เปอร์เซ็นต์

4. แร่ธาตุ ในเมล็ดข้าวที่สำคัญมี 9 ชนิด ได้แก่ แคลเซียม (calciam) แมกนีเซียม (magnesium) ฟอสฟอรัส(phosphorus) โพแทสเซียม (potassium) เหล็ก (iron) สังกะสี (zinc) แมงกานีส (manganese) ซีลีเนียม (selenium) และกาบา หรือ GABA (gamma-amino butyric acid) ซึ่งเป็นสารที่เกิดขึ้นในเมล็ดข้าวขณะที่ข้าวเริ่มงอก

5. วิตามิน (vitamin) ในเมล็ดข้าวมีวิตามินที่สำคัญได้แก่

5.1 กลุ่มวิตามินที่ละลายในน้ำ ประกอบด้วย วิตามินบี 1(thiamine) วิตามินบี 2(riboflavin) วิตามินบี 3(niacin) วิตามินบี 5(pathothenic acid) วิตามินบี 6 (pyridoxine) วิตามินบี 9(folic acid) วิตามินบี 12(cyanocobalamin) โคลีน (chlorine) และอีโนซิทอล(inosital) (ฉัตรชัย วงษ์รักษา. 2546)

5.2 กลุ่มวิตามินที่ละลายในไขมัน ประกอบด้วย วิตามิน 4 ชนิด คือ วิตามินเอ (retinol) วิตามินอี (α-tocopherol) วิตามินเอฟ หรือที่รู้จักกันในชื่อ กรดไลโนเลอิค (linoleic acid) และแคโรทีน (carotene)

2.1.4 ข้าวกล้องงอก

ข้าวกล้องมีคุณค่าทางสารอาหารสูงกว่าข้าวขาวขัดดังแสดงในตารางที่ 2.2 ข้าวกล้องคือข้าวที่กะเทาะเอาเปลือกหรือแกลบออก โดยผ่านการขัดสีเพียงครั้งเดียว ข้าวที่ได้จะมีสีขุ่น ละยังคงส่วนของจมูกข้าว เยื่อหุ้มข้าว และแอลิวโรน (aleurone) หรือรำข้าวที่หุ้มเมล็ดอยู่อุดมไปด้วยสารที่มีประโยชน์ แต่ถึงแม้ข้าวกล้องจะมีคุณค่าทางสารอาหารที่ดีแต่พื้นผิวที่ล้อมรอบเมล็ดชั้นนอกจะแข็งอุดมไปด้วยน้ำมันและเส้นใย ซึ่งเป็นส่วนที่ป้องกันการแทรกผ่านของความร้อนและการดูดซับน้ำ ทำให้การหุงข้าวภายใต้แรงดันบรรยากาศเกิดการเจลาติไนซ์ของเม็ดแป้ง และการอ่อนตัวหรือการสลายตัวของเนื้อเยื่อชั้นนอกได้ไม่ดีพอ จึงทำให้ข้าวกล้องที่หุงสุกภายตุความดันปกติมีความแข็งและร่วน คุณภาพในการรับประทานต่ำเมื่อเทียบกับข้าวขาว ฉะนั้นเพื่อให้ข้าวกล้องมีลักษณะนุ่ม อร่อย และสามารถหุงได้ง่ายเช่นเดียวกับข้าวขาว จึงได้มีการพัฒนาเป็นข้าวกล้องงอก (Ohtsubo,Suzuki,Yasui & Kasumi (2005)

ข้าวกล้องงอก (germinate brown rice : GBR) คือข้าวกล้องที่ผ่านกระบวนการงอกในระยะเวลาสั้นๆ โดยนำข้าวกล้องมาแช่น้ำในระดับอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมประมาณ 30-40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 22-24 ชั่วโมง จนส่วนของจมูกข้าวงอกมีความยาวประมาณ 0.5-1 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปลดความชื้น โดยเมล็ดธัญพืชงอก เช่น ข้าวบาเลย์ ข้าวสาลี และข้าว จะสร้างเอนไซม์ hydrolytic ย่อยสลายแป้ง โพลีแซคคาไรด์ที่ไม่ใช่แป้งและโปรตีน ทำให้มีโอลิโกแซคคาไรด์และกรดอะมิโนเพิ่มขึ้น ซึ่งช่วยให้ข้าว

กล้องงอกหุงง่ายขึ้น มีรสชาติดีขึ้น เนื้อสัมผัสนุ่มและมีสารอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายเพิ่มขึ้น (Ohtsubo, Suzuki,Yasui & Kasumi, 2005)

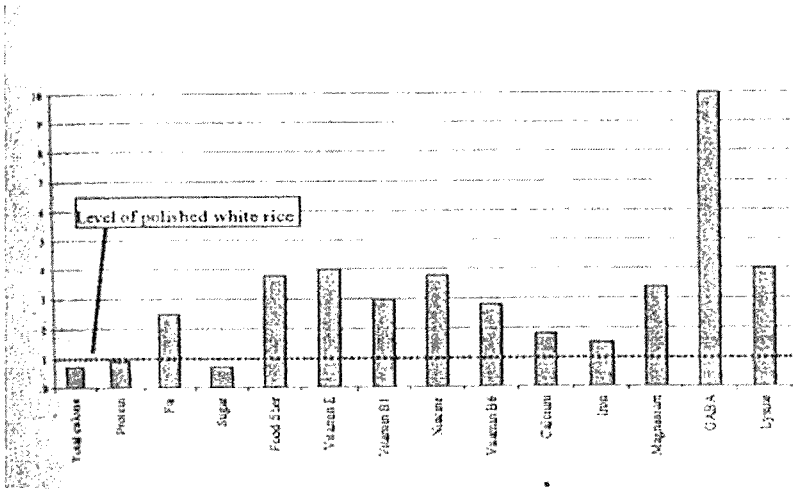
เมื่อเทียบกับข้าวขาวแล้วข้าวกล้องงอกจะมีปริมาณกรดแกมมาอะมิโนบิวทิริก(GABA) มากกว่า 10 เท่า มีไยอาหาร วิตามินอี ไนอะซิน และไลซีน มากกว่าประมาณ 4 เท่า และวิตามินบี1 บี6 และแมกนีเซียมมากกว่าข้าวขาวประมาณ 3 เท่า (Kayahara &Tsukahara, 2000) ดังแสดงในรูปที่ 2.3

ตารางที่2.2 การเปรียบเทียบคุณค่าสารอาหารของข้าวกล้องและข้าวขาว

สารอาหารและวิตามิน	ข้าวกล้อง (brown rice)	ข้าวขัดขาว (milled rice)
โปรตีน (protein)(เปอร์เซ็นต์)	7.1-8.3	6.3-7.1
ไขมัน(crude)(เปอร์เซ็นต์)	1.6-2.8	0.3-0.5
เส้นใย(crude fibers)(เปอร์เซ็นต์)	0.6-1.0	0.2-0.5
เถ้า(ash)(เปอร์เซ็นต์)	1.0-1.5	0.3-0.8
แป้ง(carbohydrate)(เปอร์เซ็นต์)	75.9	76.7-78.4
วิตามินเอ(retinol)(mg)	0.11	Tr
วิตามินบี 1(thiamine)(mg)	2.9-6.1	0.2-1.1
วิตามินบี 2 (riboflavin)(mg)	0.4-1.4	0.2-0.6
วิตามินบี 3 (niacin)(mg)	35-53	13-24
วิตามินบี 5(pathothenic acid)(mg)	9-15	3-7
วิตามินบี 6 (pyridoxine)(mg)	5-9	0.4-1.2
วิตามินบี 9 (folic acid)(mg)	0.1-0.5	0.03-0.14
วิตามินบี 12 (cyanocobalamin)(mg)	0-0.004	0-0.001
โคลีน (chlorine) (mg)	950	390-880
อีโนซิทอล (inositol) (mg)	1,000	90-110
วิตามินอี (α-tocopherol) (mg)	9.25	Tr-3

หมายเหตุ - Tr = น้อยมาก

- คุณค่าสารอาหารตามธรรมชาติของข้าวกล้องเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสาร คิดเป็นคุณค่าสารอาหารต่อน้ำหนักข้าวสาร 100 กรัม



รูปที่ 2.3 ปริมาณสารอาหารของข้าวกล้องงอกเมื่อเทียบกับข้าวขาว

แกน x คือ ชนิดของสารอาหารที่พบ แกน y คือ จำนวนเท่าของสารอาหารที่พบ

2.1.5 ประโยชน์ของสารอาหารในข้าวกล้องงอกที่มีต่อร่างกาย

ประโยชน์ของสารอาหารที่ได้รับจากข้าวกล้องงอก ดังแสดงในตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ประโยชน์ของสารอาหารในข้าวกล้องงอก

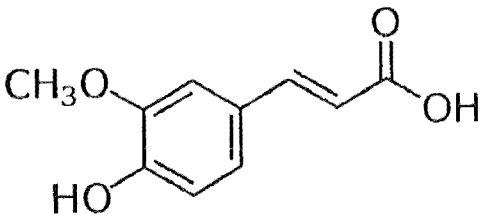
สารอาหาร	ประโยชน์ของสารอาหาร
สารกลุ่มวิตามินอี	- เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จากอนุมูลอิสระเป็นตัวการทำให้เซลล์เสียหายและแก่ก่อนวัย - มีคุณประโยชน์ต่อระบบภูมิคุ้มกัน - ป้องกันผิวจากรังสีอัลตราไวโอเลต
แกมมาโอรีซานอล (γ-oryzanol)	- เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเหี่ยวย่น - ปรับระดับคลอเลสเตอรอล
กรดแกมมาอะมิโนบิวทิวริก (γ-aminobutyric acid : GABA)	- เป็นสารสื่อประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง - เป็นสารสื่อประสาทประเภทสารยับยั้ง รักษาสมดุลในสมองที่ได้รับการกระตุ้น ช่วยให้สมองเกิดการผ่อนคลายและนอนหลับสบาย - ช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อ ผลิตฮอร์โมนที่ช่วยในการ - เจริญเติบโตทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อ กล้ามเนื้อเกิดความกระชับ - เกิดสาร lipotropic เป็นสารป้องกันการสะสมไขมัน
อินโนซิทอล (inositol)	- เร่งกระบวนการเผาผลาญไขมันป้องกันการสะสมไขมันที่ตับ - ป้องกันผนังหลอดเลือดแดงหนาและแข็งตัว
กรดเฟอร์รูริก (ferulic acid)	- ทำลายสาร oxides ที่ก่อให้เกิดสารอนุมูลอิสระได้ง่าย - ระงับการสร้างเม็ดเลือดสีของผิว
กรดไฟติก (phytic acid)	- เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ - ป้องกันโรคทางหัวใจและหลอดเลือด เช่น ความดัน - ป้องกันการเกาะกลุ่มของเกล็ดเลือด
แมกนีเซียม (magnesium) โพแทสเซียม (potassium)	- ป้องกันโรคหัวใจ - ลดระดับความดันเลือด
สังกะสี (zinc)	- กระตุ้นการทำงานของระบบสืบพันธุ์ - ป้องกันภาวะเส้นเลือดแดงหนาและแข็งตัวจากการที่ - คลอเลสเตอรอลไปเกาะที่ผนังเส้นเลือด

2.2 กรดเฟอร์รูลิก (Ferulic acid)

กรดเฟอร์รูลิก เป็นสารประกอบอินทรีย์ประเภทสารประกอบฟีนอล พบในผนังเซลล์โดยจะอยู่ร่วมกับสารประกอบลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ซึ่งช่วยให้ผนังเซลล์ของพืชมีความแข็งแรง แหล่งที่พบกรดเฟอร์รูลิกได้แก่ เมล็ด ใบของพืช ธัญพืชต่างๆเช่น ข้าวสาลี ข้าวโพด และข้าวโอ๊ด เมล็ดกาแฟ ถั่วลิสง ผลไม้เช่น สับปะรด แอปเปิ้ล และส้ม ชนิดต่างๆ

2.2.1สมบัติทางเคมีของกรดเฟอร์รูลิก

กรดเฟอร์รูลิก มีชื่อ IUPAC คือ E-3-(4-hydroxy-3-methoxy-phenyl)prop-2-enoic acid มีสูตรเคมีคือ $C_{10}H_{10}O_4$ มีมวลโมเลกุล 194.184 g/mol การละลายของกรดเฟอร์รูริกสามารถละลายได้ดีในเมทานอล เอทานอล และไดเอทิลพทาเลท แต่ไม่ละลายในเบนซีน มีจุดหลอมเหลวที่ 168-172 °C (Wikipedia, 2011)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของกรดเฟอร์รูลิก

2.2.2 คุณสมบัติที่มีประโยชน์ต่อร่างกายของกรดเฟอร์รูลิก

ทำให้ต่อมไร้ท่อทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ กระตุ้นฮอร์โมนในการเจริญเติบโต ส่งเสริมการหมุนเวียนโลหิต ลดพลาสมาโคเลสเตอรอล ลดการดูดซับโคเลสเตอรอลในร่างกาย กระตุ้นการขับน้ำดีออกสู่ลำไส้เพื่อสลายไขมันในลำไส้ได้ดียิ่งขึ้น กำจัดอนุมูลอิสระ (Superoxides) ระงับกระบวนการสร้างเม็ดสีผิว (Melanogenesis) (Kayahara & Tsukahara, 2000) ควบคุมระดับคาร์โบไฮเดรตในร่างกาย มีแนวโน้มควบคุมการผลิตฮอร์โมนเทสโตสเทอโรน (Testosterone) อยู่ในระดับสูงอยู่สม่ำเสมอให้สัมพันธ์กับฮอร์โมนการเจริญเติบโต สามารถชะลอความแก่ (Anti-Aging) เป็นตัวสมานผิวโดยธรรมชาติ (Natural Healer) กระตุ้นตับให้กำจัดสารพิษออกจากร่างกายและควบคุมน้ำตาล มีสาร ID6 ที่สามารถยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็ง ลดโอกาสการเป็นโรคไขข้ออักเสบชนิดเริ่มต้น (Early arthrosclerosis) ช่วยในการผลิตเอนโดฟิน ช่วยเสริมสร้างเนื้อเยื่อกล้ามเนื้อเรียบ ป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่ คุณสมบัติมากมายเหล่านี้จึงเหมาะกับผู้เข้าสู่วัยทอง ควบคุมน้ำหนัก ผู้ที่ท้องผูกประจำ

2.3 เทคนิค High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC เป็นเทคนิคการแยกสารประกอบ (Substances) โดยอาศัยหลักการความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของสารประกอบใน Stationary Phase ของคอลัมน์โดยมี Mobile Phase เป็นตัวพาไป เมื่อต่อเข้ากับ Detector จะสามารถตรวจวัดสารที่ออกมาจากคอลัมน์ (Analyses or Solutes) ได้อย่างต่อเนื่องสามารถตรวจวัดทั้งเชิงคุณภาพ (Qualitative Analysis) และเชิงปริมาณ (Quantitative

Analysis) ส่วนใหญ่นิยมใช้วิเคราะห์สารประกอบที่ระเหยยาก (Low Volatile Substation) หรือน้ำหนักโมเลกุลสูง (High Molecular Weight Compounds)

2.3.1ลักษณะตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์

HPLC สามารถวิเคราะห์สารได้หลายชนิด เช่น สารอินทรีย์ สารประกอบทางชีวภาพ โพลีเมอร์ คู่อิแนนทิโอเมอร์ สารประกอบที่เสียสภาพได้ง่าย สารประกอบที่ระเหยยาก ไอออนขนาดเล็ก ไมโครโมเลกุล ตัวอย่างที่นำมาวิเคราะห์ต้องเป็นของแข็งหรือของเหลว ต้องละลายได้ 100% (กรองด้วย) การแยกสารจะประสบความสำเร็จได้ก็ต่อเมื่อสารมีอัตราการเคลื่อนที่ที่แตกต่างกันภายในคอลัมน์ สารประกอบที่ถูกแยกนั้นจะเคลื่อนที่ไปตามความยาวทั้งหมดของคอลัมน์ โดยมี Mobile Phase เป็นตัวพาไป

การแยกสารที่เป็นของผสมด้วยวิธีโครมาโทกราฟี จะอาศัยอัตราการเคลื่อนที่ของสาร(หรือความสามารถในการกระจายตัวของสาร) ระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสนิ่ง(stationary phase) และเฟสเคลื่อนที่ (mobile phase) โดยเฟสเคลื่อนที่พาของผสมให้เคลื่อนไปบนเฟสนิ่ง การแยกของผสมอาศัยการดูดซับหรือการกระจายตัวของแต่ละองค์ประกอบในเฟสนิ่งได้แตกต่างกัน เฟสนิ่งอาจเลือกใช้ได้ทั้งของเหลวและของแข็ง และเฟสเคลื่อนที่อาจเป็นแก๊สหรือของเหลวก็ได้

หลักการพื้นฐานของเทคนิค ลิควิดโครมาโทกราฟี คือ การแยกสารละลายผสมออกจากกันภายในคอลัมน์ที่มีลักษะปิดซึ่งบรรจุด้วยอนุภาคของแข็งขนาดเล็กที่มีรูพรุนเส้นผ่านศูนย์กลางน้อยกว่า 150 ไมครอน สารประกอบแต่ละตัวจะถูกดูดซับและทำให้หลุดออกจากการดูดทรัพย์บนอนุภาคที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์ผลที่ตามมาคือสารประกอบจะเคลื่อนที่ไปตามคอลัมน์ได้ช้าลงและอัตราเร็วเคลื่อนที่จะขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพของสารกับอนุภาคที่บรรจุอยู่ในคอลัมน์

เทคนิค Liquid chromatography ที่ใช้ในการแยกสารนั้น สามมารถจำแนกได้อย่างกว้างๆ ตามกลไกของการแยกสารโดยอาศัยเฟสเป็นตัวกำหนด

1. Adsorption Chromatography
2. Liquid- Liquid Chromatography
3. Ion Exchange Chromatography
4. Size Exclusion Chromatography

1. Adsorption Chromatography หรือ Liquid-Sold Chromatography (LSC)

หลักการแยกสารนั้นอาศัยการเกิดอันตรกิริยา ที่ต่างกันระหว่างสารกับตำแหน่งซึ่ง active บนผิวของตัวดูดซับที่ใช้เป็นเฟสที่อยู่กับที่ ตัวดูดซับเป็นของแข็งมีขั้ว เช่น ซิลิกา อะลูมินา สามารถเกิดอันตรกิริยากับสารประกอบที่มีฟังก์ชันนัลกรุปที่มีขั้ว (polar functional group) ส่วนของ non-polar ที่อยู่ในโมเลกุลนั้นจะมีอิทธิพลต่อการแยกสารน้อยมาก องค์ประกอบที่สามารถยึดติดกับเฟสนิ่งที่ตำแหน่งว่องไว (active site) ได้น้อยกว่า แต่ละลายได้ดีในเฟสเคลื่อนที่ก็จะสามารถถูกแยกออกมาก่อนองค์ประกอบที่ยึดติดกับเฟสนิ่งได้ดี ดังนั้นองค์ประกอบที่มีขั้วสูงจะยึดติดกับเฟสนิ่งได้ดีกว่า องค์ประกอบที่มีขั้วน้อยกว่า ซึ่งมีผลต่อ retention time ของแต่ละองค์ประกอบ จึงมีความเหมาะสมมากสำหรับกาแยกสารประกอบที่มีขั้ว เช่น การแยกสารประกอบพวก alcohol ออกจาก aromatic hydrocarbon

2. Partition Chromatography หรือ Liquid-Liquid Chromatography(LLC)

มีเฟสนิ่งเป็นของเหลวที่เคลือบอยู่บนอนุภาคของแข็ง และไม่ละลายในเฟสเคลื่อนที่ที่เป็นของเหลว มีหลักการแยกโดยอาศัยการกระจายตัวหรือการละลายได้ขององค์ประกอบในของผสมระหว่างเฟสเคลื่อนที่และเฟสนิ่ง องค์ประกอบที่กระจายตัวได้ดีในเฟสนิ่งจะถูกยับยั้งได้ดีในเฟสนิ่งได้ดีกว่า ถ้าเฟสนิ่งมีขั้วสูงกว่าเฟสเคลื่อนที่เราเรียกว่า normal phase chromatography องค์ประกอบที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วน้อยจะ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ
ห้องสมุดงานวิจัย
วันที่ 9 ส.ค. 2555
243091

กระจายตัวได้ดีในเฟสเคลื่อนที่มากกว่า ดังนั้นจึงถูกพาออกจากคอลัมน์ได้เร็วกว่าตัวที่มีขั้วสูง แต่ถ้าเฟสนิ่งมีขั้วสูงกว่าเฟสเคลื่อนที่ เรียกว่า reverse phase chromatography เฟสเคลื่อนที่ได้แก่ น้ำ เมทานอล เป็นต้น

3. Ion exchange chromatography

โครมาโทกราฟีชนิดนี้ใช้แยกไอออน โดยอาศัยหลักการกระจายตัวของไอออนระหว่างเฟสเคลื่อนที่และเฟสนิ่งที่แลกเปลี่ยนไอออนได้ต่างกัน ขึ้นอยู่กับสัมพรรคภาพของไอออนในสารละลายกับไอออนที่มีประจุตรงกันข้ามซึ่งอยู่ที่ผิวของเฟสที่อยู่กับที่ โดยทั่วไปจะใช้ของแข็งที่มีรูพรุนเป็นเรซินที่ทำจากสไตรีนไดไวนิลเบนซีน ซึ่งเป็นโคพอลิเมอร์แบบโครงข่าย ที่มีหมู่สามารถแลกเปลี่ยนไอออนได้เกาะอยู่บนเรซิน ไอออนบวกจะถูกแยกด้วยเรซินที่ใช้แลกเปลี่ยนไอออนบวก และไอออนลบก็ถูกแยกด้วยเรซินที่แลกเปลี่ยนไอออนลบ เฟสเคลื่อนที่ปกติแล้วจะใช้สารละลายบัฟเฟอร์ซึ่งประกอบด้วย counter ion ที่มีประจุตรงข้ามกับ group ที่อยู่บนผิวของอนุภาคที่บรรจุอยู่คือ ไอออนในเฟสเคลื่อนที่จะมีประจุเหมือนกับไอออนที่ต้องการแยก ซึ่งทำให้ประจุทั้งหมดอยู่ในสภาวะสมดุล การแข่งขันกันระหว่างไอออนในสารละลายกับ counter ion เพื่อเข้าครอบครองตำแหน่งที่มีประจุบนผิวของเรซินจะมีผลทำให้เกิดการยึดเกาะขึ้น ion-exchange chromatography ไอออนที่มีขนาดและประจุที่ต่างกันจะถูกแยกออกจากคอลัมน์ในเวลาที่ต่างกัน

4. Size Exclusion Chromatography

แบ่งได้เป็น 2 แบบ คือ Gel Permeation Chromatography (GPC) และ Gel Filtration Chromatography (GFC) เฟสอยู่กับที่ควรมีความเฉื่อยทางเคมี กลไกการแยกสารโดย size exclusion chromatography นั้นจะเกี่ยวข้องกับการที่สารจะถูกเลือกให้แพร่ผ่านรูพรุนของ packings ที่มีลักษณะเป็น network 3 มิติ และpackings นี้อาจเป็น gel หรือของแข็งที่มีรูพรุนซึ่งเป็นสารประกอบอนินทรีย์ การที่สารจะถูกยึดเหนี่ยวให้อยู่ในคอลัมน์นานหรือไม่นั้นขึ้นอยู่กับขนาดของโมเลกุล เมื่อเทียบกับขนาดของรูของอนุภาคที่ถูกบรรจุอยู่ในคอลัมน์ โมเลกุลเล็กสามารถที่จะแพร่ผ่านเข้าไปในรูที่เล็ก โมเลกุลใหญ่ที่มีขนาดกึ่งกลางไม่ใหญ่มากนักจะแพร่ผ่านได้เฉพาะบางส่วนของรูที่อยู่ในอนุภาคเท่านั้น และจะถูกกีดกันจากรูที่เล็กมากๆ สำหรับโมเลกุลใหญ่มากจะถูกกีดกันออกไป และไม่สามารถแพร่เข้าไปในรูได้ ดังนั้นโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่จะเดินทางเร็วมาก และจะออกมาคอลัมน์เป็นพวกแรก ดังนั้น size exclusion chromatography จะมีประโยชน์มากสำหรับแยกสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง เช่น polymer และ biopolymer ออกจากโมเลกุลเล็กๆ

สำหรับ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) มีความแตกต่างจาก Liquid Chromatography (LC) เนื่องจากว่าเทคนิค (LC) นั้นอนุภาคที่ใช้นั้นจะมีรูพรุนขนาดใหญ่โดยทั่วไปแล้วค่า dp = 100-250 μm ซึ่งบรรจุในคอลัมน์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1-5 เซนติเมตร ความดันที่ต้องการทำให้ตัวทำละลายไหลผ่านระหว่างอนุภาคน้อยมาก โดยปกติภาชนะที่ใส่ตัวทำละลายที่ต่อเข้ากับคอลัมน์จะทำหน้าที่เป็นแหล่งที่ทำให้ความดันคงที่ โดยภาชนะที่ใส่ตัวทำละลายอยู่เหนือผิวของอนุภาคที่บรรจุในคอลัมน์เล็กน้อย ความดันจะลดลงอยู่ในช่วง 0.1-1 บรรยากาศ อัตราเร็วของเฟสเคลื่อนที่จะช้ามาก ซึ่งอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่จะช้ามาก อาจมีค่า 0.1 มิลลิลิตรต่อนาทีหรือน้อยกว่านี้ ทำให้ต้องมีการใช้ปั๊มในการช่วยทำให้ความดันนั้นเพิ่มมากขึ้นถือเป็นจุดเริ่มต้นของ (HPLC) เนื่องจากจะใช้ high pressure pump ที่ให้ pressure drop ประมาณ 300 บรรยากาศ ทำให้อัตราการไหลสูงประมาณ 0.5-5 มิลลิลิตรต่อนาที ทำให้การแยกของผสมด้วยเทคนิคนี้กระทำได้รวดเร็ว และยังมีการเพิ่มประสิทธิภาพของคอลัมน์จะทำได้โดยการลดขนาดของอนุภาคที่บรรจุในคอลัมน์ ซึ่งในระยะแรกๆของการพัฒนาคอลัมน์โคร

มาโทกราฟี วัสดุที่ใช้บรรจุในคอลัมน์มีขนาดของอนุภาคที่บรรจุในคอลัมน์มีขนาดของอนุภาคในช่วง 30-75 μm การบรรจุลงในคอลัมน์ที่แคบ ผลทำให้เกิด back pressure สูงมากกว่า classical LC column การใช้ high pressure pump จึงจำเป็นมาก การลดอนุภาคให้ต่ำกว่า 30 ไมโครเมตร ทำให้ประสิทธิภาพของคอลัมน์ในการแยกสารเพิ่มมากขึ้นด้วย ประสิทธิภาพจะเพิ่มขึ้นเป็น 10 -100 เท่า เมื่อเทียบกับ classical LC และเวลาที่ใช้ในการแยกจะสั้นลง นอกจากนี้เทคนิค HPLC ยังเป็นเทคนิคที่เกื้อกูลเทคนิค GC คือสารที่ไม่สามารถระเหยกลายเป็นไอได้ หรือสารที่เกิดการสลายตัวเมื่อได้รับความร้อนที่ไม่สามารถวิเคราะห์ได้ด้วยเทคนิค GC ก็สามารถนำมาวิเคราะห์ด้วยเทคนิค HPLC ได้

2.3.2 ทฤษฎีการแยก (Separation Theory)

2.3.2.1 Retention

ในการแยกสารจะประสบผลสำเร็จได้ก็ต่อเมื่ออัตราการเคลื่อนที่ภายในคอลัมน์ของสารที่ต้องการแยกแตกต่างกัน และใช้เวลาพอสมควร ค่า capacity factor (k') เป็นค่าที่นำมาใช้ และสามารถหาได้โดยตรวจจากโครมาโทแกรมดังนี้

$$k' = (t_r - t_o) / t_o$$

เมื่อ

t_r = peak retention time

t_o = เวลาที่โมเลกุลของตัวทำละลายที่ฉีดเข้าไปหรือเป็นสารที่ไม่ถูกยึดเกาะเดินทางผ่านไปในคอลัมน์

2.3.2.2 ประสิทธิภาพของคอลัมน์ (Column Efficiency)

ประสิทธิภาพของคอลัมน์พิจารณาจากอัตราการขยายตัวของแถบที่กว้างขึ้น โดยโมเลกุลทุกตัวจะเคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วต่างกัน k'- value คือ ค่าจุดกึ่งกลางของแถบของสารแต่ละชนิดซึ่งหมายถึงอัตราเร็วโดยเฉลี่ยของการเคลื่อนที่ของโมเลกุลนั้น ประสิทธิภาพของคอลัมน์คือจำนวน theoretical plate (N) หาได้จากโครมาโทรแกรมดังนี้

$$N = 16 (t_r / W)^2$$

$$= 5.54 (t_r / W_{1/2})^2$$

เมื่อ

W = ความกว้างของฐานพีก

$W_{1/2}$ = ความกว้างของพีกที่ครึ่งหนึ่งของความสูง

ค่า N ยิ่งมีค่ามากประสิทธิภาพในการแยกยิ่งสูง หรือจะใช้พารามิเตอร์อีกตัวคือ height equivalent to a theoretical plates (HETP) แทนด้วย H ดังนี้

$$H = L / N$$

เมื่อ

L = ความยาวของคอลัมน์

ค่า H ยิ่งต่ำประสิทธิภาพการแยกยิ่งสูง

2.3.2.3 การแยกและเวลาใช้แยก (Resolution and Separation Time)

ในการแยกสารละลายผสมได้นั้น ควรจะต้องสามารถวัดในเชิงปริมาณของการแยกให้ได้ หรือที่ว่าการแยก (resolution) จะต้องประสบผลสำเร็จนั่นเอง นิยามการแยก (Rs) แถบ 2 แถบที่อยู่ใกล้กัน คือ ระยะห่างกันของแถบทั้งสองหารด้วยความกว้างเฉลี่ยของแถบทั้งสอง

$$Rs = (t_2 - t_1) / (½)(W_1 + W_2)$$

เมื่อ

t_1 และ t_2 คือ tr ของแถบ 1 และ 2 ตามลำดับ

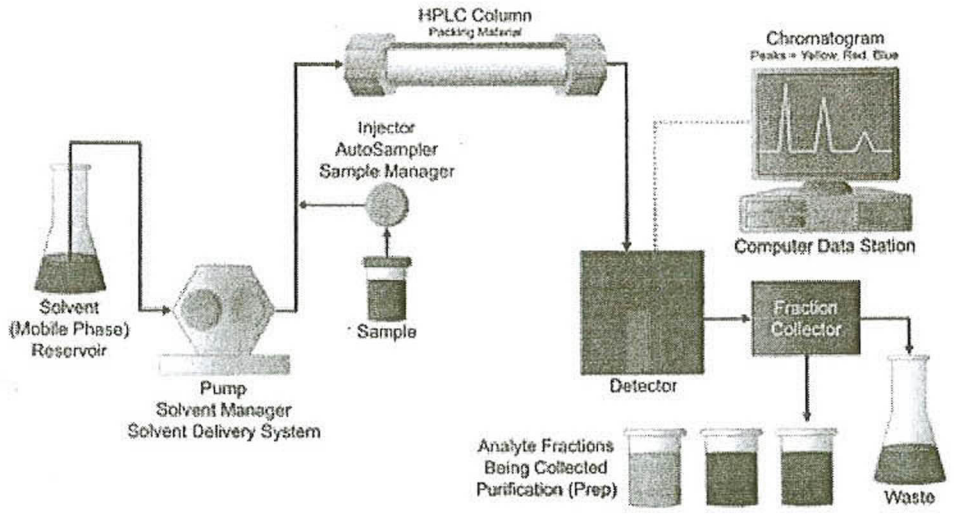
W_1 และ W_2 คือ ความกว้างของแถบ 1 และ 2 ตามลำดับ

ถ้า Rs = 1 หมายความว่าแถบทั้งสองแยกออกจากกันประมาณ 98% เหลืออีก 2% นั้นเป็นส่วนที่แถบทั้งสองทับกัน ค่า Rs ยิ่งมีค่ามากเท่าใด แสดงถึงการแยกยิ่งดีขึ้นเท่านั้น

2.3.2.4 ความจุสารของเฟสคงที่ (Sample Capacity)

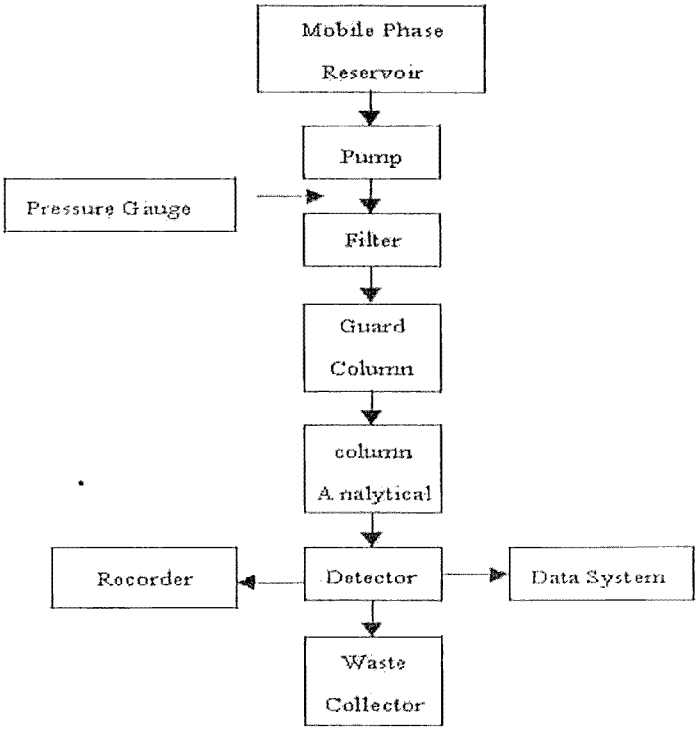
ความจุของสารตัวอย่างในเฟสคงที่มีความสำคัญ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณของสารตัวอย่างที่ถูกดูดซับไว้บนเฟสคงที่ก่อนที่จะเกิดการ overload การใช้ปริมาณสารมากเกินกว่าความจุสารจะทำให้เกิดรูปร่างพีกไม่สมมาตร เกิดการเปลี่ยนแปลง retention time และทำให้การแยกไม่ดี

2.3.3 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC (HPLC-System)



รูปที่ 2.5 แสดงแผนภาพส่วนประกอบต่าง ๆ ของเครื่อง HPLC

ส่วนประกอบที่สำคัญและหน้าที่



รูปที่ 2.6 ส่วนประกอบของเครื่อง HPLC

2.3.3.1 ภาชนะที่บรรจุเฟสเคลื่อนที่ (Mobile Phase Reservoir)

เป็นขวดสำหรับใส่ตัวทำละลายที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ ในทางวิเคราะห์ขวดนี้ควรมีความจุประมาณ 1 ลิตร แต่ใน preparative HPLC ความจุของขวดควรมากกว่านี้ ในปัจจุบันขวดที่ใช้เฟสเคลื่อนที่นี้จะมีอุปกรณ์ที่ใช้ในการไล่อากาศที่ละลายอยู่ เช่น ก๊าซออกซิเจน จุดประสงค์ของการไล่อากาศที่ละลายอยู่ในเฟสเคลื่อนที่คือต้องการกำจัดแก๊สออกซิเจนซึ่งอาจทำปฏิกิริยากับเฟสเคลื่อนที่บางชนิดได้ หรือแม้แต่กับเฟสคงที่ที่อยู่ในคอลัมน์ แล้วยังเป็นการลดโอกาสที่จะทำให้เกิดฟองอากาศในเครื่องตรวจหาขณะทำการทดลองอยู่ การไล่แก๊สที่ละลายอยู่นี้จะต้องทำเมื่อตัวทำละลายเป็นพวกสารมีขั้ว (polar solvents) แต่บางบริษัทที่ผลิตเครื่อง HPLC สามารถใช้ระบบที่ไม่ต้องไล่แก๊สก่อนได้ Mobile Phase แบ่งเป็น 2 ระบบ

- Isocratic elution เป็นระบบที่อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่คงที่ตลอด ใช้ในกรณีที่สารสามารถแยกออกจากกันได้ดีอยู่แล้ว

- Gradient elution เป็นระบบที่อัตราส่วนเฟสเคลื่อนที่ไม่คงที่ มีการปรับเปลี่ยนอัตราส่วนเพื่อให้สารที่ต้องการแยกออกจากกันได้ดีขึ้น

2.3.3.2 ระบบปั๊ม (Pumping System)

ระบบปั๊มในเครื่อง HPLC มีความต้านทานการไหลของเฟสเคลื่อนที่ ที่จะไหลผ่านคอลัมน์ซึ่งมีอนุภาคขนาดเล็กบรรจุอยู่ ความต้านทานการไหลจะมากเมื่อใช้อนุภาคเล็ก ๆ และคอลัมน์มีขนาดเล็กอีกด้วย จึงต้องมใช้ความดันสูงดันเฟสเคลื่อนที่ให้ไหลไป หลักการเลือก pumping system เพื่อใช้กับ HPLC ควรมีสมบัติต่อไปนี้

1. ปั๊มและส่วนประกอบควรจะต้องทำด้วยวัสดุที่ทนต่อการสึกกร่อนด้วยตัวทำละลายต่าง ๆ ที่ใช้เป็นเฟสเคลื่อนที่ รวมทั้งท่อ fittings และ flow cells ด้วย เช่น ทำด้วยเหล็กไร้สนิมคุณภาพสูง inert polymers เช่น polytetrafluoroethylene (PTFE)

2. ควรจะต้องสามารถปั๊มเฟสเคลื่อนที่ที่มีปริมาณมาก ๆ ได้อย่างต่อเนื่องโดยไม่มีการขัดข้อง

3. สามารถให้ความดันได้ถึง 4,000-6,000 psi เพื่อปั๊มให้เฟสเคลื่อนที่ไหลผ่านคอลัมน์ขนาดเล็กขนาดยาว 30 เซนติเมตร ซึ่งบรรจุด้วยอนุภาคขนาดเล็กได้

4. ให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ได้สูงถึง 3 มิลลิลิตร/นาที เป็นอย่างน้อยและคงที่

5. ความคลาดเคลื่อนของการควบคุมการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต้องไม่เกิน 1-2 %

6. ควรจะมีปริมาตรภายในต่ำเพื่อความสะดวกและรวดเร็วในการเปลี่ยนเฟสเคลื่อนที่

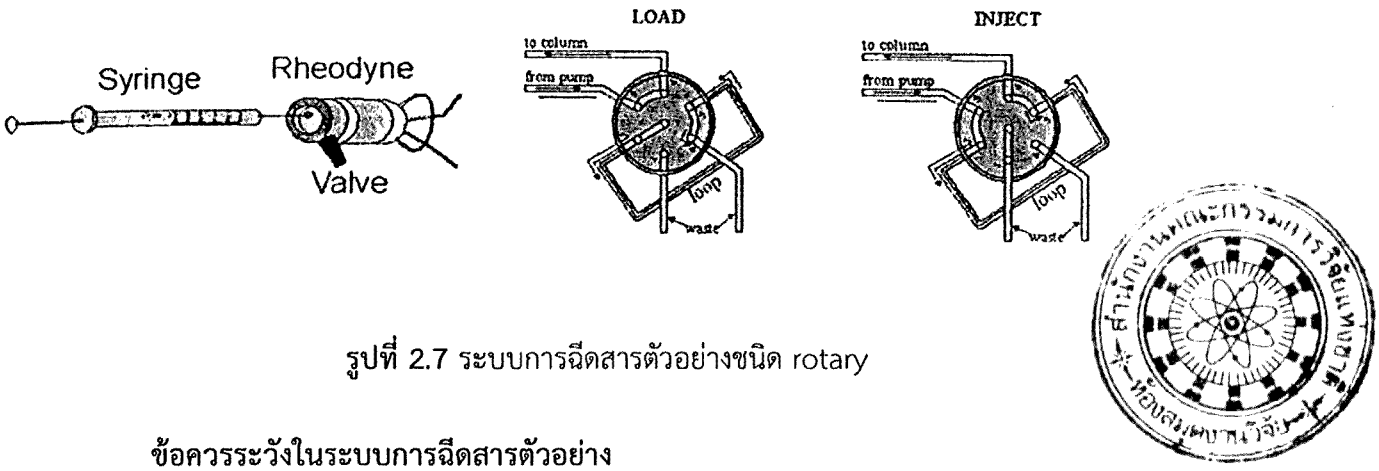
7. ต้องไม่มีพัลส์ (pulse) หรือมีตัวใช้ลด pulse หรือไม่ทำให้เกิด detector noise

2.3.3.3 ระบบการฉีดสารตัวอย่าง (injector)

เป็นอุปกรณ์ที่ใช้ควบคุมปริมาตรของสารตัวอย่างที่ไหลเข้าสู่คอลัมน์ ซึ่งส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 0.5-10 ไมโครลิตร สามารถแบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. ชนิดไซริงก์ เป็นชนิดที่ใช้ไซริงก์ขนาดเล็กดูดสารตัวอย่างตามปริมาตรที่ต้องการฉีด ผ่านเยื่อกั้น (septum) ซึ่งมักเป็นยางซิลิโคนอยู่บนคอลัมน์ ตัวฉีดชนิดนี้อาจมีการรั่วบริเวณรูที่ฉีดเพราะคอลัมน์มีความดันสูง

2. ชนิดโรตารี่ (rotary type) เป็นชนิดที่ใช้ลิ้นควบคุมการฉีดตัวอย่างเข้าสู่คอลัมน์โดยในขั้นตอนแรกจะใช้ ไซริงก์ฉีดสารตัวอย่างเข้าไปในท่อพักสารตัวอย่าง (sample loop) ซึ่งมีปริมาตรคงที่ (fixed loop injector) หลังจากนั้นจึงหมุนลิ้นให้เฟสเคลื่อนที่ไล่ของเหลวทั้งหมดเข้าสู่คอลัมน์ นอกจากนี้ยังสามารถดูดสารตัวอย่างเข้าไปในปริมาตรที่ต้องการฉีดเข้าไปพักสารตัวอย่างที่มีเฟสเคลื่อนที่อยู่ก่อนแล้วบางส่วน เมื่อหมุนลิ้นไปที่ตำแหน่งฉีดเฟสเคลื่อนที่จะพาสารตัวอย่างทั้งหมดเข้าไปในคอลัมน์ ดังแสดงในรูปที่ 2.7



รูปที่ 2.7 ระบบการฉีดสารตัวอย่างชนิด rotary

ข้อควรระวังในระบบการฉีดสารตัวอย่าง

1. ระบบการฉีดสารตัวอย่างมีทั้งแบบที่เป็น manual และแบบ automatic ซึ่งอาจเกิดปัญหาอุดตันได้ โดยหากเป็นแบบ manual จะต้องใช้เข็มให้ถูกต้องซึ่งเป็นเข็มที่ไม่มีปลายแหลม ส่วนแบบ automatic นั้นจะมีระบบล้างเข็มและฉีดสารตัวอย่างในตัว จึงต้องเลือกสารละลายสำหรับล้างเข็มให้เหมาะสมกับการใช้งาน หลังใช้งานต้องล้างเข็มด้วยน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เมทานอล ทุกครั้ง

2. ในการฉีดแบบ manual ต้องเลือกใช้ sample loop ให้เหมาะกับปริมาณที่ฉีด และควรฉีดสารให้เต็ม loop

3. ตัวอย่างที่จะฉีดต้องผ่านการกรองทุกครั้ง โดยกรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 หรือ 0.45 ไมครอน ซึ่งจะช่วยกำจัดอนุภาคปนเปื้อนและป้องกันการอุดตันเพื่อยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์

2.3.3.4 คอลัมน์ (column)

อาจทำจากแก้ว พลาสติก หรือเหล็กกล้าไร้สนิม มีความยาวการใช้งานตั้งแต่ 10-150 เซนติเมตร กรณีที่มีความยาวเกินอาจขดคอลัมน์เป็นวง แต่จะพบว่าประสิทธิภาพในการแยกสารลดลง คอลัมน์ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางตั้งแต่ 1 มิลลิเมตรจนถึงหลายมิลลิเมตร สามารถทนแรงดันได้ถึง 6,000 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ขึ้นอยู่กับชนิดของวัสดุที่ใช้ทำคอลัมน์และขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง

เฟสอยู่กับที่ (stationary phase) สารที่นำมาทำเป็นเฟสอยู่กับที่มักมีขนาด 5-10 ไมครอน แต่เนื่องจากเฟสอยู่กับที่ แต่ละชนิดมีพื้นที่ผิว ขนาดรูและสภาพขั้วที่ต่างกันจึงจำเป็นต้องเลือกให้เหมาะสมกับสารตัวอย่างแต่ละประเภท เฟสอยู่กับที่ ที่นิยมใช้ ได้แก่ silica gel, alumina และ celite (diatomaceous earth) แต่อาจพบเฟสอยู่กับที่ อีกชนิดหนึ่งคือ ซึ่งมีลักษณะเป็นเม็ดแก้วขนาดประมาณ 40 ไมครอนเคลือบด้วย pellicular partical หรือซิลิกาให้มีความหนาประมาณ 1-3 ไมครอน หรือเฟสอยู่กับที่และเฟสเคลื่อนที่ได้เร็วแต่มีความจุของเฟสอยู่กับที่ต่ำ

ข้อควรระวังในการใช้คอลัมน์

1.ต้องทราบคุณสมบัติของวัสดุที่บรรจุในคอลัมน์ และข้อห้ามในการใช้งานต่างๆ เช่นห้ามใช้กับเฟสเคลื่อนที่ใดบ้าง มีช่วง pH การใช้งานเท่าไหร่ มีการกำจัดความดันใช้งานเท่าใด ซึ่งทราบได้จากคู่มือการใช้งานของคอลัมน์แต่ละชนิด หรือจากบริษัทผู้ผลิต

2.ในการปรับอัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ต้องค่อยๆลดหรือเพิ่ม เพื่อยืดอายุการใช้งานของคอลัมน์ โดยทั่วไปจะลดหรือเพิ่มครั้งละ 0.1 มิลลิลิตรต่อนาที

3.เก็บรักษาคอลัมน์ในสภาวะที่ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิมาก ไม่ถูกแสงแดดโดยตรง และป้องกันไม่ให้กระทบกระเทือน

4.คอลัมน์แต่ละชนิดจะเก็บในเฟสเคลื่อนที่ที่เหมาะสมกับคอลัมน์ชนิดนั้น ตัวอย่างเช่น คอลัมน์ชนิด reverse phase เช่น คอลัมน์ ODS หรือ C_{18} เก็บในเมทานอลหรืออะซิโตไนไทล์

5.ในการฉีดสารต้องคำนึงถึงความสามารถในการรองรับสารของคอลัมน์ เพื่อป้องกันการเกิด column overloading

6.ในการใช้คอลัมน์เพื่อการแยกจะต้องใช้ guard column ทุกครั้งเพื่อใช้ป้องกันการเกิดการอุดตันและช่วยยืดอายุการใช้งานคอลัมน์

2.3.3.5 **เครื่องตรวจวัด (Detector)**

เครื่องตรวจวัดใน LC สมัยใหม่ ต้องมีความไวของเครื่องตรวจวัดซึ่งสามารถทำการตรวจวัดสิ่งที่ออกมาจากคอลัมน์ได้อย่างต่อเนื่อง ดังนั้น Detector แบบอุดมคติใน LC ควรมีสมบัติดังนี้

- มีความไวสูง และให้สัญญาณตอบรับ (response) ที่คาดคะเนได้
- ให้สัญญาณตอบรับ (response) ได้กับสารทุกชนิด
- ไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและอัตราเร็วการไหลของเฟสเคลื่อนที่
- เชื่อถือได้และง่ายต่อการใช้งาน
- ความสัมพันธ์ของความเข้มข้นและสัญญาณตอบรับของเครื่องตรวจวัด ควรมีสภาพเชิงเส้น (linearity) ในช่วงกว้าง
- ไม่ทำลายสารตัวอย่าง
- ให้ข้อมูลเกี่ยวกับคุณภาพวิเคราะห์สำหรับ peak ที่ต้องการตรวจสอบ

พารามิเตอร์ที่สำคัญของเครื่องที่จะนำมาใช้ในการพิจารณา

1. สัญญาณรบกวน (noise) ของเครื่องตรวจวัดซึ่งควรจะทราบ สัญญาณรบกวนนี้อาจจะมาจากอุปกรณ์ไฟฟ้า (instrument electronics) การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ การเพิ่มขึ้นลงของ line voltage การเปลี่ยนแปลงสัญญาณจากเครื่องตรวจวัด การเปลี่ยนแปลงของการไหล pulse จาก pump เป็นต้น

2. Detection Limit คือค่าความเข้มข้นต่ำสุดของตัวถูกละลายที่ควรจะตรวจวัดได้ แต่โดยทั่วไปทางโครมาโทรกราฟีนิยมใช้ปริมาณต่ำสุดที่สามารถตรวจสอบได้ (minimum detectable quantity , MDQ) ก็คือความเข้มข้นต่ำสุดของตัวถูกละลายที่ทำให้พีกมีความสูงเป็น 2 เท่าของ noise

3. การเบี่ยงเบนของเครื่องตรวจวัด (Detector drift) จะเป็นการเคลื่อนที่ของ base line ขึ้นหรือลง เนื่องจากสัญญาณรบกวนจากคลื่นความถี่สูง (high frequency noise) จะปรากฏเป็นฝอย (frizz) พบส่วนของ base line และ short term noise

4. Absolute Sensitivity ของเครื่องตรวจวัด คือการเปลี่ยนแปลงพารามิเตอร์ทางกายภาพเพื่อต้องการทำให้ปากกาของเครื่องบันทึกผลเกิดการหักเห (deflection) เต็มสเกลที่ความถี่สูงสุดโดยกำหนดให้ noise มีค่าค่าหนึ่ง

เครื่อง Detector ที่นิยมใช้ในเครื่อง HPLC ทั่วไปมีดังนี้

1. ยูวี-วิสิเบิล ดีเทคเตอร์ (UV-VIS Detectors)

หลักการทำงานอาศัยการดูดกลืนแสงยูวีของสารตัวอย่าง เป็นที่นิยมมากใน HPLC เพราะมีลักษณะพิเศษ คือไม่ไวต่อการเปลี่ยนแปลงการไหลของอุณหภูมิ แต่ค่อนข้างจะมีความไวสูงกับสารประกอบอินทรีย์เป็นส่วนใหญ่

2. เครื่องดิฟเฟอเรนเชียลรีแฟรกโตมิเตอร์ (Differential Refractometers)

เป็นที่ได้รับความนิยมรองลงจาก ยูวี ดีเทคเตอร์ เนื่องจากดีเทคเตอร์ชนิดนี้จัดอยู่ในแบบ bulk property หรือ general detector ดังนั้นมันจึงให้สัญญาณกับตัวทำละลายได้ทั้งหมดตราบที่ตัวถูกละลายมีค่าดรรชนีหักเหต่างจากเฟสเคลื่อนที่

2.3.3.5 เครื่องบันทึกผล (data system)

ใช้สำหรับแสดงตำแหน่งของสารที่ออกมาจากคอลัมน์เพื่อประโยชน์ในการจำแนกชนิดของสาร หรือคำนวณหาปริมาณสาร ซึ่งสามารถคำนวณได้จากความสูงของยอดพีก (peak high) หรือพื้นที่ใต้พีก (peak area) โดยกราฟที่มีลักษณะสมมาตรควรคำนวณค่าจากความสูง แต่ถ้ากราฟเบ้ ควรคำนวณจากพื้นที่ใต้พีก

2.3.4 เทคนิคการวิเคราะห์เชิงปริมาณ

สารละลายมาตรฐาน ใช้สำหรับเป็นตัวเปรียบเทียบหาปริมาณในสารตัวอย่าง สารละลายมาตรฐานอาจใช้งานใน 2 ลักษณะ คือ

1.สารมาตรฐานภายนอก (external standard)

นิยมใช้สารบริสุทธิ์ชนิดเดียวกับสารที่ต้องการวิเคราะห์ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน ซึ่งเมื่อฉีดเข้าไปในคอลัมน์จะทำให้สามารถหาปริมาณของสารตัวอย่างได้จากการอ่านกราฟมาตรฐาน หรือใช้วิธีคำนวณเปรียบเทียบหาปริมาณของสารจากความสูงของกราฟ หรือพื้นที่ใต้กราฟเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน ซึ่งอาจจะอ่านค่าได้คลาดเคลื่อนไปจากความจริง ถ้าสภาพของคอลัมน์ หรือเครื่องมือในขณะทำกราฟมาตรฐานและการวิเคราะห์สารตัวอย่างแตกต่างกันมาก

2.สารมาตรฐานภายใน (internal standard)

เป็นสารที่มีโครงสร้างทางเคมีคล้ายสารที่ต้องการวิเคราะห์ ใช้เติมลงในสารมาตรฐานภายนอกและสารตัวอย่างในปริมาณคงที่ ก่อนทำการวิเคราะห์ ซึ่งเมื่อฉีดเข้าไปในคอลัมน์ จะปรากฏเป็นกราฟอ้างอิงในตำแหน่งที่คงที่ในเครื่องบันทึกผล ดังนั้นจึงมีประโยชน์ในการตรวจสอบหาความผิดปกติของเครื่องมือ โดยดูการเปลี่ยนแปลงตำแหน่ง หรือเวลาหน่วง (retention time) ของสารมาตรฐานภายใน นอกจากนี้ยังสามารถคำนวณหาปริมาณของสารตัวอย่างได้โดยการสร้างกราฟมาตรฐาน โดยให้แกน Y เป็นสัดส่วนระหว่างความสูงของกราฟของสารมาตรฐานภายนอกและความสูงของกราฟของสารมาตรฐานภายใน ส่วนแกน X เป็นค่าความเข้มข้นของสารมาตรฐาน แล้วจึงนำอัตราส่วนระหว่างความสูงของกราฟของสารตัวอย่างและความสูงของสารมาตรฐานภายในมาอ่านค่าความเข้มข้นจากกราฟดังกล่าว วิธีนี้มีข้อดีตรงที่สามารถคำนวณหาปริมาณของสารตัวอย่างได้ถูกต้อง ถึงแม้ว่าเครื่องมือจะมีความผิดปกติในการวิเคราะห์บ้าง เพราะเป็นการหาค่าที่เทียบสัดส่วนกับสารมาตรฐานภายใน

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เรารู้จักสารประกอบฟีนอลิกซึ่งอยู่ในพืชและสมุนไพรหลายๆชนิดและทำให้นักวิทยาศาสตร์สนใจสารต้านอนุมูลอิสระจะส่งผลดีต่อสุขภาพ Proestos,Sereli & Komaitis (2006) ได้ทำการทดลองโดยนำพืช 5 ชนิด คือ Vitex agnus-castus (Verbenacaeae) Origanum dictammus (Lamiaceae) Teucrium polium (Lamiaceae) Lavandula vera (Lamiaceae) และ Lippia triphylla (Verbenacaeae) ซึ่งทำการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกที่ผสมกันโดยใช้ HPLC แบบ reverse phase เพื่อวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก และใช้ GC-MSวิเคราะห์ลักษณะเฉพาะของสารประกอบฟีนอลิก หลังจากทำปฏิกิริยา silylation เราใช้ GC-MS เพื่อทำการแปรสภาพสารให้สามารถระเหยได้และทนความร้อนได้โดยการทำอนุพันธ์ ในการทำอนุพันธ์จะทำให้สารทนต่อ reagent อุณหภูมิและเวลาในการทำปฏิกิริยา จะมีสาร N,O-bis (trimethysilyl)trifluoroacetamide จำนวนมากซึ่งประกอบด้วย trimethylchlorosilane เป็น reagent ที่ทำให้เป็นสารอนุพันธ์ของ trimethilsilyl ที่ระเหยได้ การตรวจสอบสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่เป็นกรดคาเฟอิก (มีปริมาณ 0.12-0.93 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 100 กรัม) กรดเฟอร์รูลิก (มีปริมาณ 0.34-1.52 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 100 กรัม) และ (+) – catechin (มีปริมาณ 0.22-0.43 มิลลิกรัมต่อตัวอย่าง 100 กรัม)

Kim, Tsao,Yang & Cui (2006) ศึกษาข้าวแต่ละประเภทเพื่อทำการวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลโดยใช้ HPLC โดยนำมาสกัดเพื่อหาสารประกอบฟีนอลในแบบต่างๆและเปรียบเทียบกับการทำไฮโดรไลซีสซึ่งในขั้นตอนนี้ในช่วงสุดท้ายได้ทำการสกัดด้วยเอธิลอีเทอร์ เมื่อนำแต่ละส่วนที่มีการเตรียมแต่ละวิธีมาเทียบผลเพื่อดูปริมาณสารประกอบฟีนอล พบว่าเมื่อนำชั้นล่างของวิธีการทำไฮโดรไลซีสที่สกัดด้วยเอธิลอีเทอร์ มีกรดเฟอร์รูลิกมากที่สุดทั้งในข้าวแดงและข้าวขาว

Romeu-Nadal, Morera-Pons,Castellote &Lopez-Sabater (2006) วิเคราะห์โดยวิธีตรงที่รวดเร็ว (วิธีที่1 การสกัดด้วยเฮกเซน) สำหรับตรวจวัดแกมม่า-โทโคฟีรอล และอัลฟา-โทโคฟีรอลในน้ำนมมนุษย์ได้รับการพัฒนาและทดสอบความถูกต้องของวิธีการวิเคราะห์โดยใช้ RP-HPLC ที่มีตัวตรวจวัดเป็นยูวี-วิสิเบิล ตัวอย่างน้ำนมมนุษย์จะถูกละลายด้วยเฮกเซนร่วมกับและอัลฟา-โทโคฟีรอลอะซิเตตเป็น internal standard ระบบโครมาโทกราฟีประกอบด้วย คอลัมน์ขนาดสั้น (50 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลาง 2.1มิลลิเมตร ขนาดอนุภาค 3ไมครอน) สามารถแยกแกมม่า-โทโคฟีรอล และอัลฟา-โทโคฟีรอลในเวลาต่ำกว่า 6 นาที การวิเคราะห์ด้วยวิธีที่1 นำมาเปรียบเทียบกับวิธีอื่นๆ วิธีที่ 2 (ปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชั่นร่วมกับการตรวจวัดด้วยยูวี-วิสิเบิล) มีค่าการวิเคราะห์คืนกลับของแกมม่า-โทโคฟีรอลและอัลฟา-โทโคฟีรอล ลดลง 24 % และ 22 % ตามลำดับ วิธีที่ 3 (ปฏิกิริยาสะปอนนิฟิเคชั่นร่วมกับการตรวจวัดปริมาณสารโดยวัดการกระเจิงแสงของสาร) มีค่าการวิเคราะห์คืนกลับของแกมม่า-โทโคฟีรอลและอัลฟา-โทโคฟีรอล ใกล้เคียงกับวิธีที่2 ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในวิธีที่3 สูงกว่าปริมาณตัวอย่างที่ใช้ในวิธีที่ 2 นอกจากนี้วิธีที่1 ใช้ปริมาณตัวทำละลายน้อยกว่าจึงวิเคราะห์ได้ง่ายและรวดเร็วกว่าวิธีที่ 2และ 3 ดังนั้นการใช้ตัวอย่างปริมาณเล็กน้อยมีความเหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์ทางชีววิทยา

Zigoneanu,Williams, Xu & Sabliov (2008) การวิเคราะห์สารประกอบโทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอลในน้ำมันรำข้าวที่ใช้ไมโครเวฟช่วยสกัด โดยใช้ไอโซโพรพานอลและเฮกเซนเป็นตัวสกัดใช้อัตราส่วนตัวทำละลายต่อรำข้าวเป็น 3 : 1 น้ำหนักต่อน้ำหนัก การทดลองทำ 3 ซ้ำ ที่อุณหภูมิ 40 60 80 100 และ 120 องศาเซลเซียส ร่วมกับการใช้เวลาสกัด 15 นาที ต่อตัวอย่างองค์ประกอบของสารถูกแยกด้วยเทคนิค normal phase HPLC ตัวตรวจวัดเป็น fluorescence การเพิ่มขึ้นของวิตามินอีที่อุณหภูมิ 40 ถึง 120 องศาเซลเซียส ในการใช้ไอโซโพรพานอลเป็น 39.63 % และเฮกเซนเป็น 342.01 % ซึ่งไอโซ

โพรพานอลเป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุดสำหรับการสกัด γ-tocopherol และ γ-tocotrienol เมื่อเปรียบเทียบกับเฮกเซนที่ใช้ไมโครเวฟช่วยสกัดและวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายไอโซโพรพานอลดีกว่าในเรื่องของการได้ oil yield ที่อุณหภูมิสูง

นฤมล (2004) ได้ทำการศึกษา รำข้าวเป็นแหล่งธรรมชาติที่สำคัญของสารแกมมา โอรีซานอล ซึ่งคือส่วนผสมทั้ง 10 ตัวอย่างของ ferulate ester of triterpeue alcohol สารประกอบ แกมมา โอรีซานอล น่าจะมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชั่นเพราะภายในโครงสร้างประกอบด้วยกรดเฟอร์รูลิก ซึ่งเป็นสารต้านออกซิเดชั่นที่รุนแรง เพราะฉะนั้นจึงน่าจะนำสารประกอบโอรีซานอลมาใช้เป็นสารต้านออกซิเดชั่นในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางได้ น้ำมันรำข้าวดิบนำมาสกัดโดยวิธีใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ที่ไม่เข้ากันทำการแยกสกัดแยกเอาเฉพาะส่วนที่ต้องการ โดยตัวทำละลายที่ใช้ได้แก่เมทานอลและเฮกเซนได้ปริมาณสารสกัดน้ำมันรำข้าวร้อยละ 10.9 เมื่อเทียบกับน้ำมันรำข้าวดิบ

ผดุงขวัญ, อรุณี, บุญมี, ชิดชนก และบังอร (2547) ได้ทำการศึกษา การพัฒนาเม็ดรำข้าวหอมดอกมะลิ 105 (RBT) เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการต้านออกซิเดชันและปริมาณแกมมา โอรีซานอล ในสภาวะที่เก็บรักษา RBT ที่มีน้ำหนักเฉลี่ยเม็ดละ 468.2 มิลลิกรัม มีการแตกตัวในเวลา 13.6 นาที และมีความร่อน 0.13 % เมื่อนำไปสกัดและทดสอบการต้านออกซิเดชันด้วย 2,2 –diphenyl-1+picryl hydrazyl (DPPH) ให้ค่า EC 50 เทียบเป็นรำข้าว 18.66 มิลลิกรัม ซึ่งเทียบเท่าวิตามินซี 0.01 มิลลิกรัมหรือวิตามินอี 0.03 มิลลิกรัม การวิเคราะห์เชิงปริมาณด้วย HPLC ทำให้การแยกสารหลักที่สำคัญในกลุ่มแกมมา โอรีซานอล คือ cycloartarnyl ferulate และ 2,4 –methylenecycloartarnyl ferulate ซึ่งมีค่าตั้งต้น 1.03 และ 2.14 มิลลิกรัมต่อกรัมของ RBT

กษมา และกัณฑิมา (2544) ได้ทำการศึกษา การพัฒนาตำรับผลิตภัณฑ์บำรุงผิวจากน้ำมันรำข้าว เริ่มจากการสกัดรำข้าวโดยใช้ Haxane และ Isopropanol ในอัตราส่วน 1 :1 สกัดได้ %yield เท่ากับ 27.2% เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับน้ำมันรำข้าว (F&C grade) ที่ได้จากบริษัท ซีพี และสารมาตรฐานแกมมา โอรีซานอล และวิตามินอี ด้วยวิธี TLC โดยใช้ตัวทำละลาย คือ Toluene : Ethyl acetate (9 :1) พบว่าน้ำมันรำข้าวที่ได้จากการสกัดเองลักษณะ Chromatogram คล้ายน้ำมันรำข้าว(F&C grade) ที่ได้จากบริษัท ซีพี แต่มีปริมาณแกมมา โอรีซานอลมากกว่าและเมื่อตรวจสอบโดยวิธี HPLC ก็ได้ผลยืนยันการตรวจสอบเช่นเดียวกับวิธี TLC

Buranov & Mazza (2009) ได้ทำการศึกษาเฟอร์รูลิก และvanillin จากป่าน เมล็ดธัญพืช แกลบ และซังข้าวโพด สำเร็จและนำไปใช้ในการสกัด ได้สองขั้นตอน โดยปราศจากแรงดัน โดยใช้ alkaline ด้วยการทำไฮโดรไลซิส (0.5 M NaOH) และความดันของสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ น้ำ เอทานอล และแอมโมเนีย ซึ่งปริมาณผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่มีความแตกต่าง การสกัดโดยปราศจากแรงดัน และใช้แรงดัน 0.5 เปอร์เซ็นต์ของสารละลาย ที่ได้ส่วนมากมีกรดเฟอร์รูลิก และจำนวนของvanillin เล็กน้อย