ข้าวกล้องงอกจากข้าวพื้นเมืองภาคใต้ของไทย : สภาวะในการงอก และสมบัติการต้านออกซิเดชัน

Germinated Brown Rice of Indigenous Southern Thai Rice Cultivars : Germination Condition and Antioxidant Properties

ฤทัยรัตน์ สวัสดิวงศ์

Rutairat Sawaddiwong

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the Degree of Master of Science in Food Science and Technology
Prince of Songkla University
2552

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ ข้าวกล้องงอกจากข้าวพื้นเมืองภาคใต้ของไทย : สภาวะในการงอกและสมบัติการต้านออกซิเดชัน

ผู้เขียน นางสาวฤทัยรัตน์ สวัสดิวงศ์

สาขาวิชา วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

……..... (ดร.เอกสิทธิ์ จงเจริญรักษ์)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

..... (ศาสตราจารย์ ดร.สุทธวัฒน์ เบญจกุล)

คณะกรรมการสอบ

.....ประธานกรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพิชญา จันทะชุม)

.....กรรมการ (ดร.เอกสิทธิ์ จงเจริญรักษ์)

.....กรรมการ (ศาสตราจารย์ ดร.สุทธวัฒน์ เบญจกุล)

.....กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร

……

(รองศาสตราจารย์ ดร.เกริกชัย ทองหนู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ชื่อวิทยานิพนธ์	ข้าวกล้องงอกจากข้าวพื้นเมืองภาคใต้ของไทย : สภาวะในการงอกและสมบัติการต้านออกซิเดชัน
ผู้เขียน	นางสาวฤทัยรัตน์ สวัสดิวงศ์
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร
ปีการศึกษา	2551

บทคัดย่อ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการงอกที่ทำให้ข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุด ของข้าวกล้องพื้นเมืองภาคใต้ของไทยทั้งสามสายพันธุ์ ซึ่งประกอบด้วย ข้าวเฉี้ยงพัทลุง ข้าวเล็บนกปัตตานี และข้าวสังข์หยดพัทลุง พบว่าสารสกัดของข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ซึ่งเตรียมโดยการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ABTS radical scavenging activity และ ferric reducing antioxidant power (FRAP) สูงกว่าการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส (P<0.05) ตามลำดับ และมีค่าสูงกว่าข้าวกล้อง (P<0.05) และระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมข้าวกล้องงอกสำหรับ ข้าวเฉี้ยงพัทลุง ข้าวเล็บนกปัตตานี และข้าวสังข์หยดพัทลุง โดยการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส คือ 12 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ โดยพบว่า ข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงและข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุด (P<0.05) การเตรียมสารสกัดจากข้าวกล้องงอกโดยการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าการสกัดด้วย น้ำ และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 (P<0.05) ตามลำดับ อีกทั้งการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของกรดฟีนอลิกหลักที่เป็นองค์ประกอบด้วยเทคนิค HPLC ของข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ พบว่ามี *p*-coumaric acid ferulic acid และ protocatechuic acid เป็นองค์ประกอบโดยมีปริมาณที่พบจากมากไปน้อยตามลำดับ (P<0.05) ซึ่งข้าวกล้องงอกมีปริมาณกรดฟีนอลิกหลักทุกชนิดมากกว่าข้าวกล้อง (P<0.05) เมื่อนำข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกไปหุงสุกด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้า พบว่าปริมาณกรดฟีนอลิกหลัก ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ลดลง (P<0.05) นอกจากนี้ข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์เมื่อหุงสุกมีค่า hardness ต่ำกว่า และมีค่า stickiness สูงกว่าข้าวกล้อง ดังนั้นข้าวเฉี้ยงพัทลุง ข้าวเล็บนกปัตตานี และข้าวสังข์หยดพัทลุงงอกจึงอาจเป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติที่ดีอีกแหล่งหนึ่งสำหรับผู้บริโภค อีกทั้งข้าวกล้องงอกหุงสุกมีความนุ่มและเหนียวกว่าข้าวกล้องจึงอาจเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากขึ้น

Thesis Title	Germinated Brown Rice of Indigenous Southern Thai Rice Cultivars : Germination Condition and Antioxidant Properties
Author	Miss Rutairat Sawaddiwong
Major Program	Food Science and Technology
Year	2008

ABSTRACT

Optimal germination conditions rendering the germinated brown rice with highest total phenolic content and antioxidant activities of three cultivars of indigenous Southern Thai brown rice including Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung were investigated. The highest total phenolic content and antioxidant activities including DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity and ferric reducing antioxidant power (FRAP) of the extracts from all three germinated brown rice were observed after germination by soaking in water at 25 ^{o}C, which was higher than those soaked at 30, 35 and 40 ^{o}C and brown rice without soaking (P<0.05). The optimum germination times of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani, and Sangyod Phatthalung brown rice soaked in water (25 ^{o}C) were found at 12, 24 and 48 h, respectively. It was noticeable that Chiang Phatthalung brown rice and Chiang Phatthalung germinated brown rice had the highest total phenolic content and antioxidant activities among all three brown rice and germinated brown rice (P<0.05). Total phenolic content and antioxidant activities of 50% ethanolic extracts of brown rice and germinated brown rice were higher than those of water extracts and 95% ethanolic extracts (P<0.05), respectively. The major phenolic acids of all three germinated brown rice as determined by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) technique in the descending order were *p*-coumaric acid, ferulic acid and protocatechuic acid, respectively. In addition, germinated brown rice contained a greater amount of major phenolic acids than brown rice (P<0.05). After all three brown rice and germinated brown rice were cooked by conventional electric rice cooker, the amount of major phenolic acids, total phenolic content and antioxidant activities were decreased (P<0.05). Additionally, the lower hardness but higher stickiness were obtained in all three germinated brown rice, compared with those of brown rice. Therefore, Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani, and Sangyod Phatthalung germinated brown rice could be the good sources of natural

antioxidants for consumers. Furthermore, all three germinated brown rice, were softer and stickier than brown rice, thereby meeting the acceptability of consumers.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุลวงได้ด้วยดีผู้เขียนขอกราบขอบพระคุณประธานที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ดร.เอกสิทธิ์ จงเจริญรักษ์ กรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ศาสตราจารย์ ดร. สุทธวัฒน์ เบญจกุล ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำในการค้นคว้าตลอดระยะเวลาการทำวิจัยและเขียนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุพิชญา จันทะชุม ประธานกรรมการผู้แทนคณะอุตสาหกรรมเกษตร รองศาสตราจารย์ ดร.รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต กรรมการผู้แทนบัณฑิตวิทยาลัย ที่กรุณาสละเวลาในการสอบ ให้คำแนะนำ เสนอแนะและแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เพื่อให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์และถูกต้องยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพที่ให้ความอนุเคราะห์ทุนการศึกษาและเงินสนับสนุนการวิจัย และมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ความอนุเคราะห์สนับสนุนเงินทุนในการทำวิจัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่และบุคลากรคณะอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในการศึกษาทำการวิจัย

ขอขอบคุณศูนย์วิจัยพันธุ์ข้าวจังหวัดพัทลุงที่ให้ความอนุเคราะห์วัตถุดิบตลอดการทำวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณพี่ๆทุกท่าน จากสถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ และเพื่อนๆ ทุกคนที่ให้กำลังใจและความช่วยเหลือในการทำการทดลองตลอดมา

และขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณอา คุณปู่ คุณย่า และครอบครัวสวัสดิวงศ์ ที่สนับสนุนการศึกษาและให้ความช่วยเหลือในทุกๆ ด้านรวมทั้งกำลังใจที่สำคัญทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้ดี สุดท้ายนี้ผู้เขียนขอขอบพระคุณทุกท่านที่ไม่สามารถกล่าวนามได้ทั้งหมดในที่นี้ ไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

ฤทัยรัตน์ สวัสดิวงศ์

สารบัญ

หน้า

สารบัญ..... (7)

LIST OF TABLES..... (8)

LIST OF FIGURES..... (9)

บทที่

1. บทนำ..... 1

บทนำต้นเรื่อง..... 1

การตรวจเอกสาร..... 2

วัตถุประสงค์..... 30

2. วิธีการวิจัย..... 31

วัสดุและอุปกรณ์..... 31

วิธีดำเนินการ..... 33

3. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง..... 39

4. บทสรุปและข้อเสนอแนะ..... 63

เอกสารอ้างอิง..... 65

ภาคผนวก..... 75

ประวัติผู้เขียน..... 112

LIST OF TABLES

Table		Page
1.	Nutritive value of polished rice and brown rice…….....	6
2.	Optimal germination temperature of some grains……	8
3.	Proximate compositions of the brown rice and germinated brown rice……..	40
4.	Phenolic acid compositions of Chiang Phatthalung brown rice and germinated brown rice…….	53
5.	Phenolic acid compositions of Lepnok Pattani brown rice and germinated brown rice……	53
6.	Phenolic acid compositions of Sangyod Phatthalung brown rice and germinated brown rice…….	54
7.	Phenolic acid compositions of Chiang Phatthalung brown rice and germinated brown rice as affected by cooking……	58
8.	Phenolic acid compositions of Lepnok Pattani brown rice and germinated brown rice as affected by cooking……...	59
9.	Phenolic acid compositions of Sangyod Patthalung brown rice and germinated brown rice as affected by cooking……	59
10.	Hardness and stickiness of cooked brown rice and germinated brown rice…….	61

LIST OF FIGURES

Figure		Page
1.	Three recommended rice cultivating in Southern Thailand : Chiang Phatthalung, Sangyod Phatthalung and Lepnok Pattani……	4
2.	Structure of grain……..	5
3.	Germinated brown rice…….	7
4.	Biochemical and nutritional change in rice through stages of growth…….	10
5.	Lipid oxidation mechanism……..	12
6.	Type of food antioxidants…….....	14
7.	Synthetic antioxidants……...	19
8.	Antioxidant reagents and mechanism……...	20
9.	Hydroperoxide stabilizers…….	20
10.	Sample of tocophenol and tocotrienol……..	21
11.	Phenol compound with different substituted group……..	22
12.	Trapping of peroxyl radical by carotenoids……..	22
13.	Structure of active antioxidants in flavonoid compounds……	23
14.	Structure of isoflavone compounds……..	23
15.	Structure of phytosterol……	24
16.	Effect of various solvents on total phenolic content of brown rice extracts and germinated brown rice extracts…….	42
17.	Effect of various solvents on DPPH radical scavenging activity of brown rice extracts and germinated brown rice extracts…….....	43
18.	Appearance of germinated brown rice and brown rice…….	44
19.	Total phenolic content, DPPH radical scavenging activity, ABTS radical scavenging activity and FRAP of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung after germination by soaking in water at various temperature…….	47

LIST OF FIGURES (Cont.)

Figure		Page
20.	Total phenolic content of brown rice including Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung after germination by soaking in water (25°C) at various times……..	48
21.	DPPH radical scavenging activity of brown rice including Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung after germination by soaking in water (25°C) at various times…….	48
22.	ABTS radical scavenging activity of brown rice including Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung after germination by soaking in water (25°C) at various times…….	49
23.	FRAP of brown rice including Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung after germination by soaking in water (25°C) at various times……	49
24.	Total phenolic content of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung brown rice and germinated brown rice as affected by cooking……	55
25.	DPPH radical scavenging activity of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung brown rice and germinated brown rice as affected by cooking	56
26.	ABTS radical scavenging activity of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung brown rice and germinated brown rice as affected by cooking	56
27.	FRAP of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung brown rice and germinated brown rice as affected by cooking……..	57
28.	Appearance of Chiang Patthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Patthalung brown rice and germinated brown rice after cooking……..	62

บทที่ 1

บทนำ

บทนำต้นเรื่อง

ข้าว (*Oryza sativa L.*) เป็นธัญพืชชนิดหนึ่งที่เป็นอาหารหลักของประชากรในหลายประเทศในทวีปเอเชีย (Tian *et al.,* 2005) โดยเฉพาะประเทศไทยซึ่งประชากรบริโภคข้าวเป็นอาหารหลักในทุกมื้อและยังเป็นสินค้าส่งออกที่มีปริมาณมากที่สุดในกลุ่มสินค้าเกษตร แต่อย่างไรก็ตามข้าวขัดสีซึ่งเป็นสินค้าส่งออกหลักยังคงมีมูลค่าต่ำ จากรายงานวิจัยพบว่าธัญพืชมีองค์ประกอบสำคัญที่เป็นสารประกอบฟีนอลิกชนิดพิเศษหลายชนิดเช่น กรดเฟอรูลิก และไดเฟรูเรท (Tian *et al.,* 2005) โดยสารประกอบฟีนอลิกเหล่านี้มีสมบัติต้านการเกิดออกซิเดชัน รวมทั้งป้องกันการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรม โรคมะเร็ง เบาหวาน หลอดเลือดหัวใจ และมีผลช่วยรักษาสุขภาพให้ทำงานปกติ (Lee *et al.,* 2000) โดยสารประกอบฟีนอลิกดังกล่าวในธัญพืชอาจมีปริมาณเปลี่ยนแปลงระหว่างการงอก (germination) นอกจากนี้พบว่าระหว่างการงอกของข้าวมีผลเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการอีกด้วยโดยเฉพาะอย่างยิ่งปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก โทโคฟีรอล และสารต้านออกซิเดชันอื่นๆ (Moldenhauer *et al.,*1998; Kayahara , 2000; Xu *et al.,* 2001; Yang *et al.,* 2001; Aoto *et al.,* 2003; Shoichi , 2004) แต่กระบวนการงอกของเมล็ดข้าวสามารถเกิดขึ้นได้ต้องมีปัจจัยต่างๆ ที่เพียงพอ โดยปัจจัยที่สำคัญที่สุดคือ ต้องมีปริมาณออกซิเจนที่เพียงพอให้เกิดกระบวนการหายใจแบบใช้ออกซิเจนมีอุณหภูมิเหมาะสมที่ทำให้เกิดกระบวนการเมตาบอลิซึมในอัตราที่เหมาะสมอย่างต่อเนื่องและต้องมีปริมาณความชื้นเพียงพอต่อกระบวนการเจริญเติบโตและพัฒนาต่อไป (Lorenz, 1980) การสร้างสารต่างๆ ขึ้นในระหว่างกระบวนการงอกนั้นขึ้นกับหลายปัจจัย นอกจากปัจจัยที่กล่าวมาข้างต้นแล้ว คุณภาพของเมล็ดข้าว ลักษณะโดยธรรมชาติของเมล็ดข้าว กระบวนการแช่ข้าว และสารเคมีต่างๆ ที่ใช้ยังมีผลด้วยเช่นกัน (Capanzana and Buckle, 1997) Ohtsubo และคณะ (2005) พบว่าปริมาณของกรดเฟอรูลิกทั้งหมดและปริมาณโอไรซานอลเพิ่มขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$) ในข้าวกล้องงอกและเมื่อให้ระยะเวลาในกระบวนการงอกเพิ่มขึ้นจาก 72 ชั่วโมงเป็น 96 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณกรดเฟอรูลิกทั้งหมดสูงขึ้นด้วย ดังนั้นการทำให้ข้าวกล้องงอกนอกจากเป็นการช่วยปรับปรุงคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของข้าวเมื่อนำไปหุงสุกแล้วยังอาจเป็นแหล่งของสารต้านออกซิเดชันชนิดต่างๆ แต่อย่างไรก็ตามเนื่องจากข้อมูลการศึกษาเกี่ยวกับกระบวนการงอกของข้าวต่อการสร้างสารต้านออกซิเดชันมีเพียงเล็กน้อยเท่านั้น อีกทั้งสายพันธุ์และสถานที่ปลูกข้าวที่แตกต่างกันอาจมีผลต่อชนิดและปริมาณของสารต้าน

ออกซิเดชันในข้าว นอกจากนี้อาจทำให้สามารถค้นพบสารต้านออกซิเดชันชนิดใหม่ๆ ที่มีประโยชน์ต่อไปอีกด้วย รวมถึงยังไม่มีการศึกษาในข้าวซึ่งเป็นสายพันธุ์ท้องถิ่นที่มีการส่งเสริมให้เพาะปลูกในภาคใต้ของประเทศไทย

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการงอกของข้าวกล้องซึ่งเป็นข้าวสายพันธุ์ท้องถิ่นภาคใต้ที่ได้รับความนิยมในการบริโภคและส่งเสริมให้เพาะปลูกในภาคใต้ของประเทศไทยต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

การตรวจเอกสาร

1. ข้าว

1.1 ลักษณะทั่วไปของข้าว

ข้าวเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในตระกูล Oryza วงศ์ Graminease (พจนานุกรมบัณฑิตยสถาน พ.ศ. 2525) พืชในตระกูล Oryza แบ่งออกเป็น 2 ประเภทตามลักษณะข้าวที่ได้จากการเพาะปลูกคือ ข้าวปลูก (Cultivated Rice) ที่เกิดขึ้นโดยการเพาะปลูกของมนุษย์ และข้าวป่า (Wild Rice) เกิดขึ้นเองโดยธรรมชาติและพบได้ทั่วไปในภูมิภาคเอเชียอาคเนย์ โดยข้าวปลูกแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ตามเขตพื้นที่เพาะปลูก คือ Oryza Graberrima นิยมปลูกในทวีปแอฟริกาฝั่งตะวันตก กับ Oryza Sativa นิยมปลูกในทวีปต่างๆ ทั่วโลก ข้าว Oryza Sativa แบ่งย่อยเป็น 3 ชนิด ได้แก่

ข้าวเมล็ดป้อม (Japonica) นิยมปลูกในเขตหนาว เช่น ประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี สหรัฐอเมริกา

ข้าวเมล็ดยาว (Indica) นิยมปลูกในเขตร้อน เช่น ประเทศไทย มาเลเซีย อินโดนีเซีย อินเดีย ลาว เวียดนาม

ข้าวชวา (Javadica) นิยมปลูกเฉพาะในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น

ส่วนใหญ่ในทวีปเอเชียนิยมปลูกและบริโภคข้าวตระกูล Oryza Sativa โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวเมล็ดยาว (Indica) ซึ่งแบ่งเป็น 2 ชนิดได้แก่ ข้าวเหนียวและข้าวเจ้า นอกจากเป็นพืชอาหารหลักแล้ว ยังเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญที่สุดของคนไทย (สงกรานต์ จิตรากร, 2531)

1.2 ประเภทของข้าวแบ่งตามความไวต่อช่วงแสง

1.2.1 พันธุ์ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง

พันธุ์ข้าวประเภทนี้มีการวิวัฒนาการในการเจริญเติบโตจนครบวงจรถึงเก็บเกี่ยวได้นั้นไม่เกี่ยวข้องกับความยาว – สั้นของช่วงแสงในแต่ละวัน จะสร้างช่อดอกได้เมื่อครบอายุของมันเอง โดยใช้เวลาตั้งแต่เมล็ดงอกจนถึงเวลาการสร้างช่อดอกหรือจนถึงเวลาเก็บเกี่ยวเป็นระยะเวลาที่แน่นอนคงที่จะใช้เวลายาวหรือสั้นขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว

1.2.2 พันธุ์ข้าวที่ไวต่อช่วงแสง

พันธุ์ข้าวประเภทนี้สร้างจุดกำเนิดช่อดอกเฉพาะในเวลาที่ความยาวของช่วงแสงในเวลากลางวันสั้นกว่าความยาวของกลางคืนคือ สร้างจุดกำเนิดช่อดอกเมื่อเริ่มฤดูหนาว ถือว่าข้าวประเภทนี้เป็นพืช “วันสั้น” (short-day plant) ข้าวพื้นเมืองส่วนใหญ่ของไทยเป็นข้าวประเภทนี้

ในปัจจุบันมีข้าวที่นิยมปลูกและนิยมบริโภคในประเทศไทยหลายสายพันธุ์โดยข้าวที่นิยมบริโภคทั่วไปในประเทศและส่งออกเป็นจำนวนมากได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ข้าวดอกมะลิ กข.15 ข้าวนาปี และข้าวนาปรัง แต่อย่างไรก็ตามความนิยมบริโภคข้าวแต่ละชนิดก็แตกต่างกันไปในแต่ละภูมิภาคด้วย โดยสายพันธุ์ข้าวที่มีการส่งเสริมให้เพาะปลูกมากในภาคใต้ของประเทศไทยและได้รับความนิยมในการบริโภคได้แก่ ข้าวเล็บนกปัตตานี ข้าวเฉี้ยงพัทลุง ข้าวสังข์หยดพัทลุง ซึ่งนิยมปลูกในจังหวัดนครศรีธรรมราช พัทลุง สงขลา และสุราษฎร์ธานี โดยมีลักษณะทั่วไปดังนี้ (กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550)

ข้าวเล็บนกปัตตานี เป็นข้าวเจ้าไวต่อช่วงแสง ข้าวเปลือกมีลักษณะเล็กเรียวสีฟาง ส่วนข้าวกล้องลักษณะสีขาวมีท้องไข่ปานกลาง โดยเมล็ดข้าวกล้องกว้าง 2.1 มิลลิเมตร ยาว 6.0 มิลลิเมตร และหนา 1.7 มิลลิเมตร ซึ่งเก็บเกี่ยวช่วงเดือนกุมภาพันธ์และมีปริมาณอะมิโลสร้อยละ 26 เมื่อนำไปหุงสุกจะมีลักษณะร่วนและนุ่ม

ข้าวสังข์หยดพัทลุง เป็นข้าวเจ้าไวต่อช่วงแสง เมล็ดข้าวกล้องลักษณะเรียวเล็กมีสีแดงยาว 6.7 มิลลิเมตร ซึ่งเก็บเกี่ยวเดือนกุมภาพันธ์มีปริมาณอะมิโลสต่ำร้อยละ 15.28 เมื่อนำไปหุงสุกมีความนุ่มมากและยังคงนุ่มอยู่เมื่อเย็นตัวลง ค่อนข้างเหนียว นอกจากนี้ข้าวสังข์หยดกล้องมีโปรตีนและวิตามินสูงโดยเฉพาะไนอะซีนมีมากถึง 3.97 มิลลิกรัม ซึ่งมีน้อยในข้าวสายพันธุ์อื่นๆ

ข้าวเฉี้ยงพัทลุงเป็นข้าวเจ้าไวต่อช่วงแสง เมล็ดข้าวกล้องเรียวยาว เปลือกสีฟาง โดยเมล็ดข้าวกล้องกว้าง 2.1 มิลลิเมตร ยาว 6.7 มิลลิเมตร และหนา 1.6 มิลลิเมตร ซึ่งเก็บเกี่ยวเดือนมกราคมและมีปริมาณอะมิโลสร้อยละ 28.36 เมื่อนำไปหุงสุกมีลักษณะร่วนแข็ง

Chiang Phatthalung Rice

Sangyod Phatthalung Rice

Lepnok Pattani Rice

Figure 1. Three recommended rice cultivating in Southern Thailand : Chiang Phatthalung, Sangyod Phatthalung and Lepnok Pattani

1.3 องค์ประกอบและโครงสร้างของเมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวประกอบไปด้วยส่วนที่สำคัญหลักๆ 2 ส่วนคือ ส่วนของคัพภะ (embryo) คือส่วนที่เรียกว่าจมูกข้าว เป็นตำแหน่งรวมของส่วนที่งอกเป็นต้นข้าวต้นใหม่ และอีกส่วนคือ เอ็นโดสเปิร์ม (endosperm) ซึ่งเป็นอาหารสำหรับเลี้ยงต้นอ่อนในขณะที่เมล็ดข้าวเริ่มงอกหรือส่วนที่เรานำมาบริโภคนั่นเอง ประกอบด้วย ชั้นอะลูโรน (aleurone layer) เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดของส่วนที่เป็นแป้ง จำนวนชั้นของเนื้อเยื่ออะลูโรนขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวและสิ่งแวดล้อม อาจมีถึง 3 ชั้น ชั้นของอะลูโลนมีธาตุฟอสฟอรัส แมกนีเซียมและโปแตสเซียมอยู่มาก อีกส่วนคือส่วนที่เป็นเนื้อแป้ง (starchy endosperm) ซึ่งเป็นส่วนที่เราบริโภคเป็นอาหาร โดยเนื้อแป้งนี้ประกอบด้วยเซลล์เม็ดแป้งและโปรตีน โดยโปรตีนในเมล็ดข้าวอยู่บริเวณรอบนอกใกล้ๆ กับชั้นในของชั้นอะลูโรน ส่วนเซลล์เม็ดแป้งอยู่บริเวณชั้นในเข้าไป ฉะนั้นในการสีข้าวจึงขัดเอาชั้นอะลูโรนออกไปมาก ซึ่งทำให้สีน้ำตาลหรือสีแดงของข้าวกล้องถูกขัดออกไปหมด ทำให้แร่ธาตุดังกล่าวข้างต้นและโปรตีนถูกขัดออกไปด้วย โดยทั่วไปข้าวกล้องมีโปรตีนประมาณร้อยละ 8 เมื่อขัดให้ขาวจนเป็นข้าวสารแล้วมีโปรตีนเหลืออยู่เพียงร้อยละ 6-7 เท่านั้น (สงกรานต์ จิตรากร, 2531)

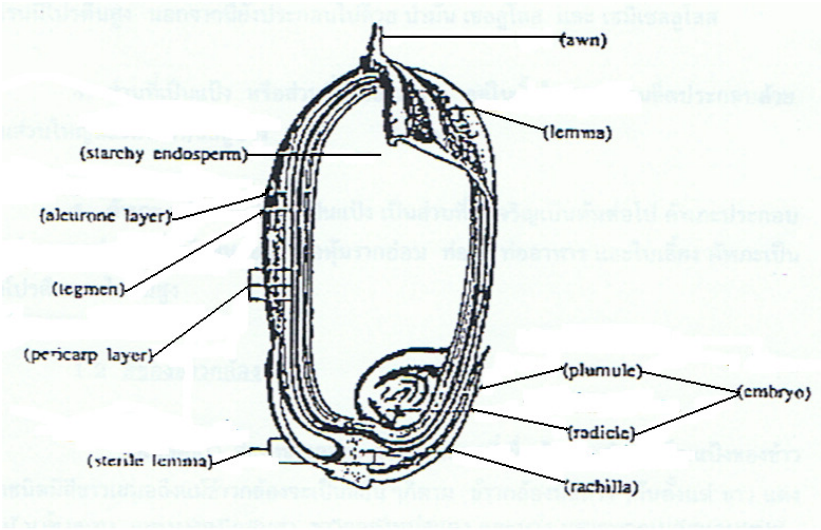


Figure 2. Structure of grain
ที่มา : สงกรานต์ จิตรากร (2531)

ข้าวกล้อง คือ ข้าวที่ผ่านการขัดสีเพียงครั้งเดียว เพื่อให้เปลือกที่หุ้มเมล็ดข้าวหลุดออกไปประกอบด้วยเยื่อหุ้มเมล็ด จมูกข้าวและเนื้อข้าว หากนำข้าวกล้องนี้มาผ่านกรรมวิธีขัดสีต่อไปจนเหลือแต่ส่วนเนื้อข้าวสีขาว เมื่อนำมาหุงจะมีสีขาวน่ารับประทาน แต่เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวกล้องแล้วคุณค่าทางอาหารที่ได้รับมีเพียงคาร์โบไฮเดรตเท่านั้น ซึ่งสารอาหารอื่นๆ สูญเสีย

ไปในระหว่างการขัดสีข้าวกล้องเป็นข้าวขาว โดยเยื่อหุ้มเมล็ดซึ่งมีเส้นใยอาหารสูง มีวิตามินและเกลือแร่อยู่บ้าง และจมูกข้าวซึ่งอุดมไปด้วยโปรตีน ไขมัน วิตามินและแร่ธาตุต่างๆ เนื่องจากจมูกข้าวเป็นส่วนสำคัญของเมล็ดในการสืบพันธุ์ ซึ่งพัฒนาเป็นรากและต้นอ่อนต่อไป ดังนั้นคุณค่าทางอาหารโดยเฉพาะแร่ธาตุต่างๆ ในข้าวขาวจึงน้อยกว่าข้าวกล้อง ดังแสดง Table 1

Table 1. Nutritive value of polished rice and brown rice (based on 100 g wet weight)

Composition	rice	brown rice
Water	68.44	73.09
Energy (Kcal)	130	111
Energy (KJ)	544	464
Protein (g)	2.69	2.58
Lipid (g)	0.28	0.90
Ash (g)	0.41	0.46
Carbohydrate (g)	28.17	22.96
Dietary Fiber (g)	0.4	1.8
Total sugar (g)	0.05	0.35
Calcium (mg)	10	10
Iron (mg)	1.2	0.42
Magnesium (mg)	12	43
Phosphorus (mg)	43	83
Potassium (mg)	35	43
Sodium (mg)	1	5
Zinc (mg)	0.49	0.63
Copper (mg)	0.069	0.100
Manganese (mg)	0.472	0.905
Selenium (mg)	7.5	9.8

ที่มา : Juliano และ Villareal (1993)

ข้าวกล้องงอก คือ ข้าวที่ผ่านการแช่น้ำหรือให้ความชื้นที่อุณหภูมิต่างๆ อย่างเหมาะสมจนจมูกข้าวหรือปมรากงอกยาวออกมาประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร ซึ่งข้าวที่ได้มีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มขึ้น ข้าวมีความนุ่ม ทำให้หุงและรับประทานได้ง่ายขึ้น แต่หากกระบวนการงอกไม่หยุดมีผลให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการได้ (Komatsuzaki *et al*., 2007) ซึ่งการงอกของเมล็ดข้าวแสดง Figure 3

"paddy" คือ ข้าวเปลือก ประกอบด้วยส่วนที่เป็นเปลือกข้าว (hull)
"rice bran" คือ ส่วนเนื้อเยื่อสีน้ำตาลอ่อนที่หุ้มด้านในติดเมล็ดข้าว
"brown rice" คือ ข้าวกล้องที่ถูกกะเทาะเปลือกออกซึ่งเมื่อหุงแล้วจะมีความแข็งและรับประทานยากแต่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง
"rice germ" คือ จมูกข้าวหรือคัพภะ
"white rice" คือ ข้าวที่ผ่านการขัดสีไม่มีส่วนของจมูกข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว

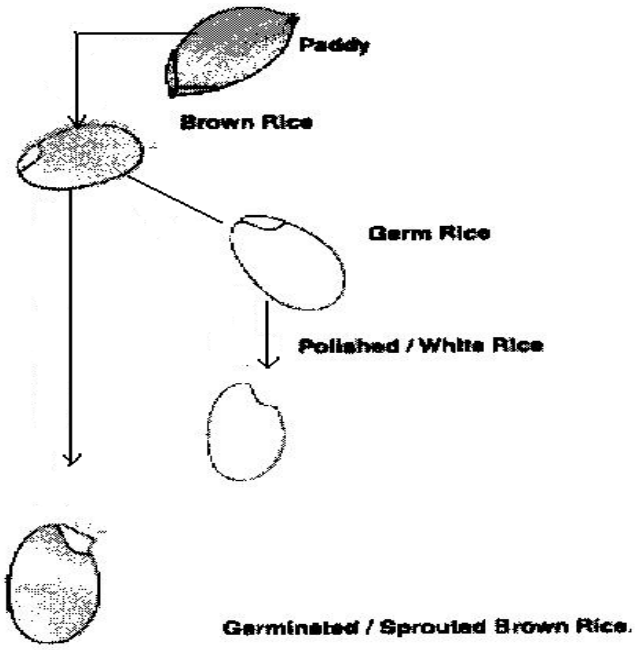


Figure 3. Germinated brown rice
ที่มา : Komatsuzaki และคณะ (2007)

1.4 ปัจจัยในการงอกของเมล็ด

เมล็ดข้าวที่งอกได้ต้องมีปัจจัยการงอกที่เหมาะสมทั้งตัวเมล็ดเองและสภาพแวดล้อมภายนอก (ชาญ มงคล, 2536) ดังนี้

1. เมล็ดที่งอกได้ต้องมีชีวิตอยู่ (viable) นับว่าเป็นปัจจัยสำคัญในการเพาะเมล็ด

2. เมล็ดต้องพ้นระยะการฟักตัว

3. เมล็ดต้องอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในขณะที่ทำการเพาะ ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวกับสภาพแวดล้อม ได้แก่

น้ำ เป็นตัวกระตุ้น (trigger) กระบวนการงอก โดยเป็นตัวทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดอ่อนนุ่ม และเป็นตัวกระตุ้นปฏิกิริยาชีวเคมีในเมล็ด โดยทั่วไปเมื่อเมล็ดแก่มักมีปริมาณน้ำหรือความชื้นในเมล็ดต่ำ ความสำคัญของความชื้นในเมล็ดมีส่วนเกี่ยวข้องกับความมีชีวิต (viability) ของเมล็ดด้วย

อุณหภูมิ มีความสำคัญต่อการควบคุมและอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมี ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชตามมา ด้วยความแตกต่างของชนิดและถิ่นกำเนิดของพืช ทำให้พืชมีความต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอกที่แตกต่างกัน โดยเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดมีระดับอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดที่เมล็ดสามารถงอกได้แตกต่างกัน (Table 2) อุณหภูมิที่เหมาะสมช่วยให้เมล็ดดูดน้ำ และกระบวนการงอกของเมล็ดเกิดเร็วขึ้น ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับพืชแต่ละชนิดไม่เท่ากัน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมของพืชเมืองร้อนย่อมสูงกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของพืชเมืองหนาว อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด คืออุณหภูมิที่สามารถงอกเร็วละมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด

Table 2. Optimal germination temperature of some grains

plant	Temperature (^{o}C)		
	lowest	optimum	highest
rice	10-20	20-30	40-42
corn	3-5	15-20	30-40
barley	8-10	25	40-44
wheat	3-5	15-20	30-43
soybean	8	20-35	40
tomato	20	20-30	35-40

ที่มา : จวงจันทร์ ดวงพัตรา (2529)

แสง เมล็ดเมื่อเริ่มงอกมีทั้งต้องการแสง และไม่ต้องการแสง ส่วนใหญ่เมล็ดเมื่อเริ่มงอกมักไม่ต้องการแสง นอกจากนี้แสงมีความจำเป็นหลังจากที่เมล็ดงอกแล้วขณะที่เป็นต้นกล้า โดยแสงที่พอเหมาะทำให้ต้นกล้าแข็งแรง และเจริญเติบโตได้ดี

ออกซิเจน เมื่อเริ่มงอกเมล็ดเริ่มหายใจมากขึ้น ซึ่งต้องใช้ออกซิเจนในกระบวนการทางชีวเคมีเพื่อเปลี่ยนแปลงสารอาหารที่สะสมไว้เป็นสารต่างๆ ที่เป็นพลังงานและสารที่เป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการงอก

1.5 กระบวนการงอกของเมล็ดข้าว มี 3 ขั้นตอน (ชาญ มงคล, 2536) ดังนี้

1. ขั้นตอนการตื่นตัว การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและสรีรวิทยา ขั้นตอนนี้อาจเกิดขึ้นได้และสิ้นสุดในระยะเวลาเพียงสั้นๆ เป็นนาทีหรือชั่วโมง ขั้นตอนนี้เริ่มตั้งแต่เมล็ดมีการดูดน้ำทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดอ่อนตัวลง และโปรโตพลาสซึมมีการดูดน้ำเข้าเซลล์เป็นผลให้กระบวนการสังเคราะห์ต่างๆ ภายในเซลล์เริ่มทำงาน เอ็นไซม์ซึ่งถูกสร้างขึ้นขณะเมล็ดกำลังเติบโตจะถูกเร่งให้อยู่ในสภาพกระตุ้นทำให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์ โปรตีนต่างๆ DNA และRNA พลังงานที่จะต้องใช้ในการสังเคราะห์เอนไซม์หรือโปรตีนต่างๆ จะได้มาจากไมโตรคอนเดีย ซึ่งมีหน้าที่ผลิต ATP ทำให้มีการเพิ่มอัตราการหายใจของเมล็ดอย่างรวดเร็ว

2. ขั้นตอนการย่อยและการลำเลียง เกิดการย่อยสลายสารอาหารที่สะสมไว้ในเมล็ด เช่น ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ในเนื้อเยื่อสะสมคือ เอนโดสเปิร์มและเฟอริสเปิร์ม โดยสารอาหารที่ถูกย่อยเกิดเป็นสารประกอบง่ายๆ เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน และถูกลำเลียงไปยังส่วนที่กำลังเจริญเติบโต ได้แก่ส่วนคัพภะ เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของโครงสร้างเซลล์และโครงสร้างอวัยวะใหม่

3. **ขั้นตอนการเติบโตของคัพภะ** คือเมื่อคัพภะได้รับสารอาหารที่ย่อยแล้วจะเกิดกระบวนการแบ่งเซลล์ และเกิดการยืดตัวของเซลล์เกิดขึ้นที่รากแรกเกิด ทำให้รากแรกเกิดยืดตัวและแทงออกจากเปลือกหุ้มเมล็ด ส่วนจุดการเจริญเติบโตของลำต้นในคัพภะคือ plumule มีการยืดตัวและการเติบโตเกิดใบแรก และแกนของคัพภะส่วนใต้ใบเลี้ยงเติบโตเป็นไฮโปโคทีล (hypocotyls) ส่วนเหนือใบเลี้ยงเจริญเป็นอีพิโคทีล (epicotyls)

1.6 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการงอกของข้าว

เมล็ดข้าวนั้นประกอบด้วย ส่วนของข้าวขาว รำข้าว (เยื่อหุ้มเมล็ด) และเปลือกข้าว สารอาหารในเมล็ดข้าวประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรต เป็นส่วนประกอบหลัก โปรตีน ไขมัน วิตามินบี วิตามินอี และแร่ธาตุ เป็นต้น ซึ่งกระจายไปอยู่ในส่วนต่างๆ ของเมล็ดข้าว ไขมันส่วนใหญ่อยู่ในรำข้าว ในระหว่างที่ข้าวมีการเจริญเติบโตมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในเมล็ดข้าว และการ

เปลี่ยนแปลงของสารอาหารที่อยู่ภายในเมล็ดข้าว การเปลี่ยนแปลงจะเริ่มขึ้นเมื่อเมล็ดข้าวเริ่มดูดซับน้ำ โดยกระตุ้นให้เอนไซม์ในข้าวมีการทำงาน ดังนั้นเมื่อเวลาผ่านไปเมล็ดข้าวเริ่มงอก (germination) สารอาหารที่ถูกเก็บไว้ในเมล็ดข้าวจะถูกย่อยสลายไปตามกระบวนการชีวเคมี ให้เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเล็กลง (oligosaccharide) และ reducing sugar จากการกระตุ้นเมตาบอลิซึมของแป้งและน้ำตาลด้วยเอนไซม์จำพวกย่อยแป้ง เช่น amylase และ invertase เป็นต้น นอกจากนี้โปรตีนถูกย่อยให้เป็นกรดอะมิโน และเปปไทด์ และมีการสะสมสารเช่น gamma aminobutyric acid (GABA) tocopherol tocotrienol และgamma-oryzanol เป็นต้น และเมื่อต้นข้าวเจริญเติบโตต่อไปในระยะที่มีการแทงยอดอ่อนจะมีการสร้างสารที่เรียกว่าสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ได้แก่ คลอโรฟิลล์ oryzadione 7-oxostigmasterol ergosterol peroxide เป็นต้น ซึ่งสารเหล่านี้มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของต้นข้าว โดยเป็นกลไกการป้องกันตนเองโดยธรรมชาติเมื่อถูกรบกวน (defense mechanism) (จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล, 2550) การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและสารอาหารในระยะต่างๆ ของข้าวแสดง Figure 4

สารต่างๆ ที่ถูกสร้างขึ้นมาในช่วงอายุของข้าวที่ต่างกันมีรูปแบบการสะสมสารทุติยภูมิที่ต่างกันเช่น สาร oryzadione ที่มีฤทธิ์ต้านเชื้อแบคทีเรียเช่นเดียวกับสาร oryzalide B oryzalic acid oryzalic acid B เป็นต้น (Kono *et al.*, 2004) สารต้านอนุมูลอิสระได้แก่ gamma-oryzanol (Juliano *et al.*, 2005) feruloyl arabinoxylans (Rao and Muralikrishma, 2006) สารที่มีฤทธิ์ลดระดับคลอเลสเตอรอลในเลือด (Miura *et al.*, 2006) และสารที่มีคุณสมบัติช่วยคลายความวิตกกังวล(antianxiety) เช่น gamma-aminobutyric acid (GABA) (Kamatsuzaki *et al.*, 2005) เป็นต้น

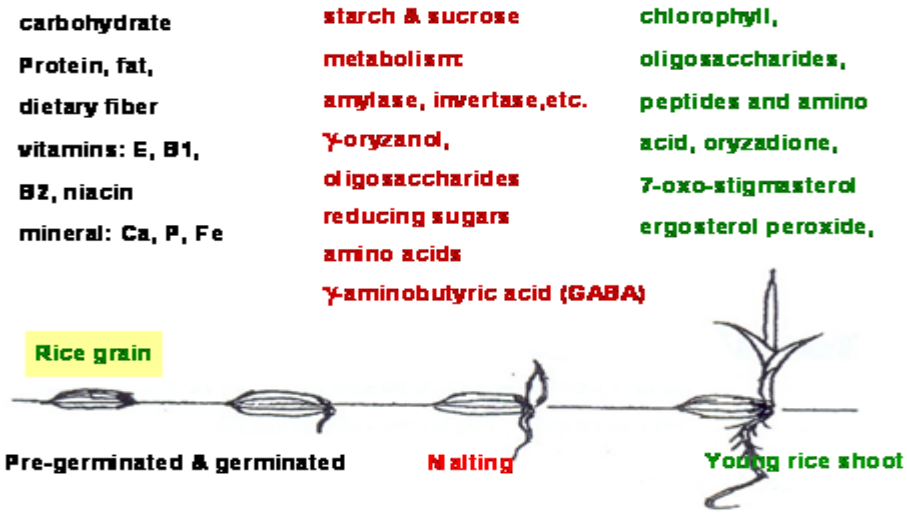


Figure 4. Biochemical and nutritional change in rice through stages of growth

ที่มา : http://pcog.pharmacy.psu.ac.th

2. กลไกการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน

ปฏิกิริยาออกซิเดชันเป็นกระบวนการสำคัญที่สุดที่ทำให้อาหารเสื่อมคุณภาพลง เนื่องจากมีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงสี, กลิ่นรส และลักษณะเนื้อสัมผัส (Kinsella *et al*., 1993; Noguchi *et al*., 1994) โดยปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ได้แก่ ชนิดและปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัว สารโปรออกซิแดนซ์ กรดไขมันอิสระที่เป็นองค์ประกอบ ออกซิเจน อุณหภูมิ พื้นที่ผิวหน้า แสง ความชื้น และตัวเร่งธรรมชาติ เช่น เอนไซม์ไลพอกซีเดส

ปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน (Auto-oxidation)

เป็นการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ ซึ่งมีกลไลการเกิด 3 ขั้นตอน คือ Initiation, Propagation และ Termination (Shahidi and Wanasundara, 1992)

1. Initiation เป็นขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระ (Free radical) โดยที่ไฮโดรเจนที่จับกับคาร์บอนที่อยู่ถัดไปจากคาร์บอนอะตอมซึ่งมีพันธะคู่หลุดออกไป เนื่องจากได้รับความร้อนหรือแสงสว่าง (Angelo, 1996) ออกซิเจนจะเข้าไปรวมกับไฮโดรคาร์บอนตรงพันธะคู่ได้เป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (peroxy radical) อนุมูลเปอร์ออกซีเหล่านี้ ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งหรือตัวตั้งต้นของปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไป โดยดึงไฮโดรเจนอะตอมจากโมเลกุลอื่นๆ ซึ่งจะทำให้เข้าสู่ปฏิกิริยาในขั้นต่อไป (Frankel, 1984)

$$RH + \text{initiator} \longrightarrow R^{\circ} + H^{\circ}$$

$$ROOH \longrightarrow RO^{\circ} + HO^{\circ}$$

$$2ROOH \longrightarrow RO^{\circ} + ROO^{\circ} + H_2O$$

2. Propagation เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระ โดยอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากับออกซิเจนได้เป็นอนุมูลเปอร์ออกซี (ROO°) ซึ่งสามารถดึงไฮโดรเจนจากกรดไขมันไม่อิ่มตัวตัวอื่นได้เป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (ROOH) ที่สามารถแตกตัวต่อเป็นอนุมูลอิสระได้อีก ถ้ามีตัวเร่งปฏิกิริยา อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นและอนุมูลเปอร์ออกซิลที่เกิดจากกรดไขมันที่ถูกดึงไฮโดรเจนทำปฏิกิริยากับออกซิเจนจากนั้นจะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวตัวอื่นทำให้เกิดเป็นอนุมูลอิสระได้อีกซึ่งจะเกิดเป็นลูกโซ่ปฏิกิริยาต่อเนื่องเรื่อยไป (Gordon, 2001)

$$R^{\circ} + {}^{3}O_2 \longrightarrow ROO^{\circ}$$

$$ROO^{\circ} + RH \longrightarrow ROOH + R^{\circ}$$

3. Termination เป็นระยะสุดท้ายของการเกิดปฏิกิริยา เมื่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวถูกออกซิไดซ์จนหมด อนุมูลอิสระที่เหลือจะเกิดการรวมกันเกิดเป็นสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนครบ จึงมีความเสถียรไม่เกิดการเหนี่ยวนำปฏิกิริยาต่อไป (Gordon, 2001)

$$R^{\circ} + R^{\circ} \longrightarrow R\text{-}R$$

$$R^{\circ} + ROO^{\circ} \longrightarrow ROOR$$

$$ROO^{\circ} + ROO^{\circ} \longrightarrow ROOR + O_2$$

ลักษณะการเกิดออโตออกซิเดชันของไขมันแสดงไว้ดัง Figure 5

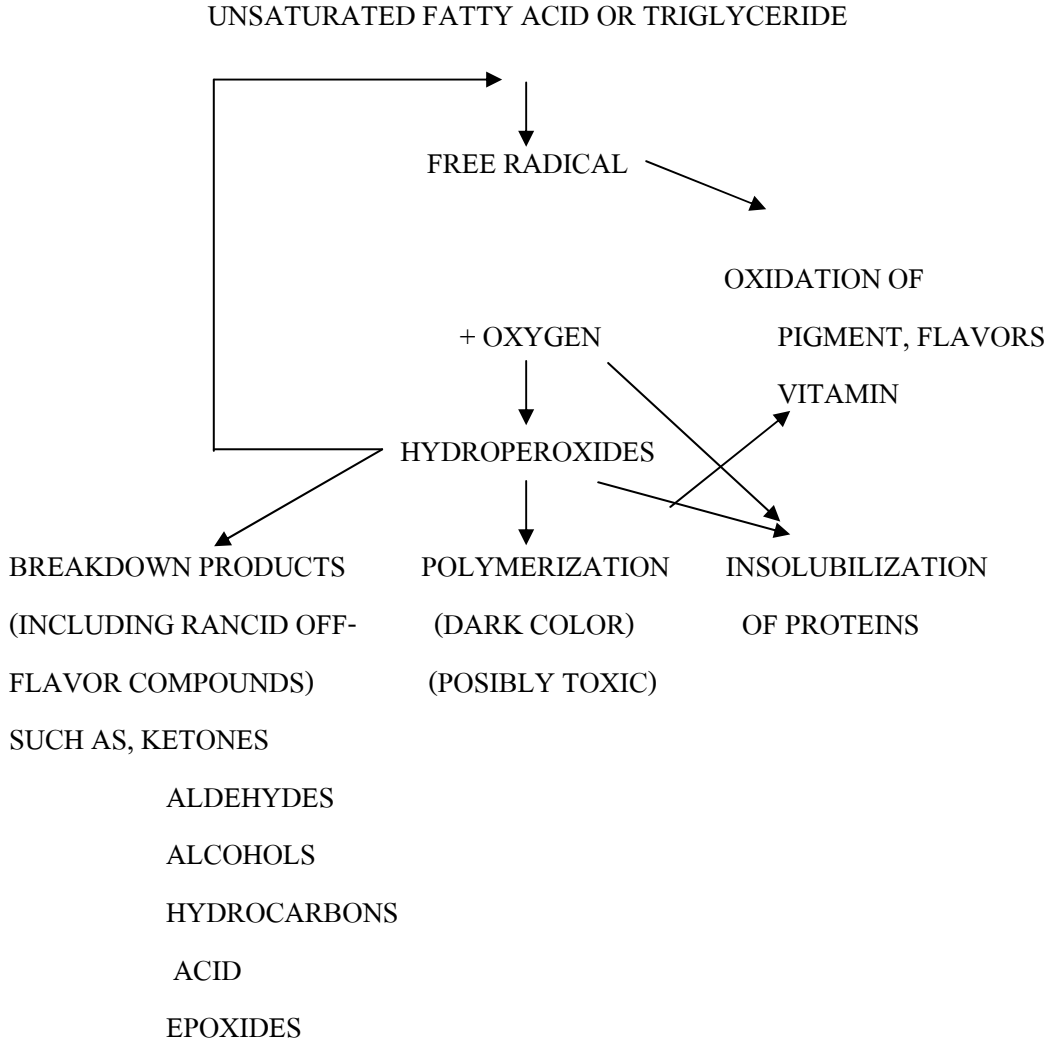


Figure 5. Lipid oxidation mechanism

ที่มา : Jadhav และคณะ (1995)

3. อนุมูลอิสระ และสารแอนติออกซิแดนท์

3.1 อนุมูลอิสระ

อนุมูลอิสระ คือ กลุ่มของสารที่มีอิเล็กตรอนวงนอกที่ยังไม่ได้จับคู่มากกว่าหรือเท่ากับหนึ่งอิเล็กตรอน ดังนั้นจึงมีความว่องไวสูงในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย โดยทั่วไปภายในเซลล์อนุมูลอิสระส่วนใหญ่เกิดขึ้นระหว่างการถ่ายเทอิเล็กตรอนจากโมเลกุลของออกซิเจนไปยังของน้ำ เรียกอีกอย่างหนึ่งว่า reactive oxygen species (ROS) ซึ่งสารกลุ่มนี้ได้แก่ hydroxyl radical ($OH^{\cdot}$) superoxide anion ($O_2^{\cdot-}$) อนุพันธ์ของออกซิเจนบางตัว ได้แก่ hydrogen peroxide (H_2O_2) hypochlorous (HOCl) นอกจากนั้นยังมีกลุ่มของสารที่เรียกว่า reactive nitrogen species (RNS) ที่สำคัญได้แก่ nitric oxide ($NO^{\cdot}$) และ peroxynitrite ($ONOO^-$) ทั้งกลุ่มของ ROS และ RNS จัดเป็นแหล่งของอนุมูลอิสระที่สำคัญของร่างกาย (Halliwell, 1994)

สภาวะ oxidative stress คือสภาวะที่ร่างกายไม่สามารถควบคุมและป้องกันปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ระดับปกติที่ไม่เป็นอันตรายต่อร่างกายได้ โดยอนุมูลอิสระที่มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ภายในร่างกาย เช่น การเกิดออกซิเดชันของไขมัน คาร์โบไฮเดรต โปรตีน และกรดนิวคลีอิก การสร้างพันธะโควาเลนต์กับโปรตีน เป็นผลทำให้เกิด inactivation ของโปรตีน เป็นต้น และพบว่าอนุมูลอิสระก่อให้เกิดโรคสำคัญบางโรคได้แก่ มะเร็ง โรคหัวใจ ไขมันอุดตันในเส้นเลือด ไขข้ออักเสบ และต้อกระจกเป็นต้น (Uddin and Ahmad, 1994)

3.2 สารต้านอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระหรือสารแอนติออกซิแดนท์ หมายถึง สารปริมาณน้อยที่สามารถป้องกันหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ได้ (Halliwell, 1995) สารเหล่านี้มีกลไกการทำงานต่ออนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระโดยตรง ยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับกับเหล็ก และป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ เป็นต้น ปกติร่างกายคนเรามีสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติหลากหลายชนิดทั้งที่เป็นเอนไซม์เช่น superoxide dismutase catalase และ glutathione peroxidase เป็นต้น และสารต้านอนุมูลอิสระที่ไม่ใช่เอนไซม์ เช่น urate bilirubin และ transferrin เป็นต้น เนื่องจากสารเหล่านี้มีจำนวนจำกัด ดังนั้นเมื่อมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นเกินกว่ากำจัดได้หมด อาจก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายได้ จากที่กล่าวมานอกจากนี้วิตามินบางชนิด เช่น บีตาแคโรทีน (ß-carotene) วิตามินซี (vitamin C) และวิตามินอี (vitamin E) รวมทั้งสารประกอบกลุ่ม polyphenols ต่างๆ ซึ่งพบมากในพืช ผัก ผลไม้ทั่วไป (Sies, 1991)

นอกจากนี้ USDA ได้ให้คำนิยามของสารต้านออกซิเดชันว่า เป็นสารที่ใช้สำหรับยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร โดยชะลอการเสื่อมเสีย การเกิดกลิ่นหืน หรือการเปลี่ยนแปลงสี อันเป็นผลมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Shahidi and Wanasundara, 1996)

3.2.1 ชนิดของสารต้านออกซิเดชัน

สามารถแบ่งชนิดของสารต้านออกซิเดชันได้เป็นประเภทต่างๆ คือ สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ (Primary or chain-breaking antioxidants) สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ (Secondary antioxidants) หรือสารต้านอนุมูลอิสระที่เสริมฤทธิ์กัน (Synergist antioxidants) (Figure 6) (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

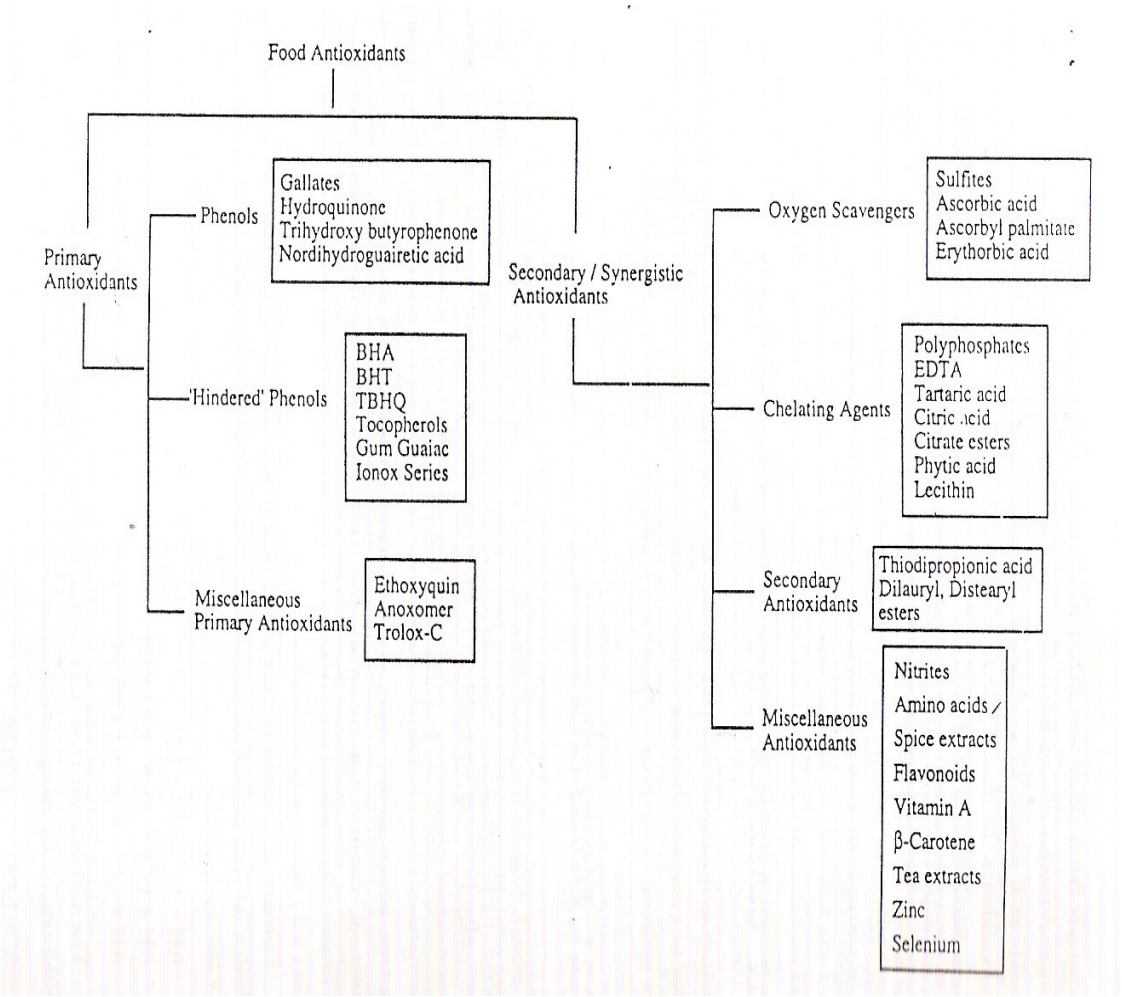


Figure 6. Type of food antioxidants

ที่มา : Madhavi และ Salunkhe (1994)

3.2.1.1 สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ (Primary antioxidant)

สารต้านออกซิเดชันประเภทนี้สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาต่อเนื่องของอนุมูลอิสระโดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระและทำให้ผลิตภัณฑ์เกิดความคงตัว (Rajalakshmi and Narasgimhon, 1995) สารต้านออกซิเดชันที่อยู่ในกลุ่มนี้ได้แก่ สารประกอบที่มีหมู่ฟีนอลในโมเลกุลเช่น บีเอชเอ (butylated hydroxyanisole) บีเอชที (butylated hydroxytoluene) ทีบีเอชคิว (*tert*-butylhydroquinone) โทโคฟีรอลและโพลีไฮดรอกซิลฟีนอลิก (polyhydroxyphenolic) เช่น แกลเลท (gallates) โดยจะให้ผลเป็นสารต้านออกซิเดชันที่ระดับความเข้มข้นต่ำและกลายเป็นโปรออกซิแดนซ์ที่ระดับความเข้มข้นสูง (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

3.2.1.2 สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ (secondary antioxidants) และสารต้านออกซิเดชันที่เสริมฤทธิ์กัน (synergist antioxidants)

สารต้านออกซิเดชันทุติยภูมิ (Secondary หรือ preventive antioxidants) เช่น กรด thiodipropionic และ dilauryl thiodipropionate มีหน้าที่สลายลิพิดเปอร์ออกไซด์ (lipid peroxide decomposition) ได้เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายมีความคงตัว (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

การเสริมฤทธิ์กัน คือ สารนั้นจะไปเพิ่มหรือเสริมกิจกรรมของการต้านอนุมูลอิสระนอกเหนือจากกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของตัวมันเอง (Shahidi and Wanasundara, 1992) สามารถแบ่งออกได้เป็นกลุ่มใหญ่ๆ คือ ตัวจับออกซิเจน (oxygen scavengers) หรือสารรีดิวซ์ (reducing agents) เช่น กรดแอสคอร์บิก แอสคอร์บิลปาลมิเตท ซัลไฟต์ และอีริทรอเบท และตัวจับโลหะ (Chelator) เช่น กรดซิตริก โพลีฟอสเฟต และกรดเอธิลีนไดเอมีนเตตระอะซิตริก (อีดีทีเอ) สารที่เสริมฤทธิ์กันมีกลไกการทำงานหลายอย่าง เช่น ให้ไฮโดรเจนกับอนุมูลฟีนอกซิล โดยการเปลี่ยนรูปสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ ดังนั้นสามารถใช้สารฟีนอลิกได้ที่ระดับความเข้มข้นต่ำๆ เมื่อมีการเติมสารเสริมฤทธิ์เข้าไปในผลิตภัณฑ์ด้วย โดยสารที่เสริมฤทธิ์ที่มีสภาพเป็นกรดปานกลางนั้นจะช่วยให้สารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิมีความคงตัวมากขึ้น (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

นอกจากนี้ยังมีสารประกอบที่จัดเป็นสารต้านออกซิเดชันอื่นๆ (miscellaneous antioxidants) ตัวอย่างเช่น ฟลาโวนอยด์ สารประกอบของฟลาโวนอยด์และกรดอะมิโน มีหน้าที่เช่นเดียวกับสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิและสารต้านออกซิเดชันที่เสริมฤทธิ์กัน ส่วนใหญ่จะใช้ในการถนอมรักษาเนื้อ โดยมีหน้าที่เปลี่ยนฮีมโปรตีนให้อยู่ในรูปของไนตริกออกไซด์ที่ไม่เกิดปฏิกิริยาและจับไอออนของโลหะโดยเฉพาะไอออนของเหล็กที่ไม่ใช่ฮีม ทองแดง และโคบอลท์ นอกจากนี้เบต้าแคโรทีนและแคโรทีนอยด์มีผลในการจับ singlet oxygen ป้องกันการ

สร้างไฮโดรเปอร์ออกไซด์อีกด้วย (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995) ส่วนสังกะสีสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ได้โดยการป้องกันไม่ให้เหล็กสามารถเข้าไปเร่งปฏิกิริยาได้ และซิลิเนียมมีความจำเป็นในการสังเคราะห์และกิจกรรมของกลูตาไธโอนเปอร์ออกซิเดส ซึ่งเป็นเอนไซม์ต้านออกซิเดชันภายในเซลล์ นอกจากนี้เอนไซม์กลูโคสออกซิเดสและคาตาเลสมีหน้าที่ในการกำจัดออกซิเจนและป้องกันการสะสมของไฮโดรเปอร์ออกไซด์หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ตามลำดับ (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

3.2.2 กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน

1. การกำจัดอนุมูลอิสระ (Radical scavenger)

โดยการให้อะตอมไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งอัตราการเข้าทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระจะเร็วกว่าของสารตั้งต้นชนิดอื่นไม่ว่าจะเป็นไขมันหรือโปรตีน ทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่ดำเนินต่อไป (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

การให้ไฮโดรเจน (Hydrogen donor)

$$ROO^{\circ} + AH_2 \longrightarrow ROOH + AH^{\circ}$$

$$RO^{\circ} + AH_2 \longrightarrow ROH + AH^{\circ}$$

$$AH^{\circ} + AH^{\circ} \longrightarrow A + AH_2$$

การให้อิเล็กตรอน (Electron donor)

$$ROO^{\circ} + AH_2 \longrightarrow (AH_2 - ROO)^{\circ}$$

$$(AH_2 - ROO)^{\circ} + ROO^{\circ} \longrightarrow \text{ผลิตภัณฑ์ที่มีความคงตัว}$$

2. การสลายสารเปอร์ออกไซด์ (Peroxide decomposer)

สารประกอบฟีนอลิกบางชนิด เอมีน ไดไธโอโพรพิโอนิก และ กรดไธโอโพรพิโอนิก ทำหน้าที่โดยการสลายลิพิดเปอร์ออกไซด์ให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่มีความคงตัว เช่น แอลกอฮอล์ คีโตน และแอลดีไฮด์ (Namiki, 1990)

3. การจับออกซิเจน (Singlet oxygen quencher)

Gordon (2001) กล่าวว่า Photo-oxidation เป็นการเกิดออกซิเดชันของไขมันโดยมีแสงและมี sensitizer เป็นตัวเร่ง เนื่องจากในสภาวะปกติกรดไขมันและออกซิเจนจะอยู่ต่างระดับชั้นพลังงานกัน โดยกรดไขมันจะอยู่ที่ singlet state ในขณะที่ออกซิเจนจะอยู่ที่ triplet state โดยปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นได้ 2 แบบ คือ

แบบที่ 1 เกิดจากการที่ sensitizer (^{1}Sens) ที่อยู่ในชั้น singlet state ได้รับการกระตุ้นจากแสงให้เปลี่ยนไปอยู่ในรูป exited state (^{1}Sens*) และเปลี่ยนไปอยู่ในชั้นพลังงาน triplet state (^{3}Sens*) ซึ่งจะเหนี่ยวนำให้กรดไขมันไม่อิ่มตัวเกิดเป็นอนุมูลอิสระโดยการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนซึ่งอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นสามารถทำปฏิกิริยากับออกซิเจนในชั้นพลังงาน triplet state ($^3O_2$) ได้โดยตรงกลายเป็นสารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์

$$^1\text{Sens} + h\nu \longrightarrow {}^1\text{Sens}^* \longrightarrow {}^3\text{Sens}^*$$

$$^3\text{Sens}^* + \text{LH} \longrightarrow \text{intermediate}$$

$$\text{Intermediate} + {}^3O_2 \longrightarrow {}^1\text{Sens} + \text{LOOH}$$

แบบที่ 2 เกิดจากการที่ sensitizer ที่ได้รับการกระตุ้นจากแสงให้อยู่ในรูป excited state ในชั้นพลังงาน triplet state (^{3}Sens*) แล้วถ่ายทอดพลังงานให้แก่ ออกซิเจนในชั้นพลังงาน triplet state ($^3O_2$) ทำให้ออกซิเจนเปลี่ยนไปอยู่ในชั้นพลังงาน singlet ($^1O_2$) ซึ่งสามารถทำปฏิกิริยากับกรดไขมันไม่อิ่มตัวที่อยู่ในชั้นนี้ได้โดยตรง

$$^1\text{Sens} \xrightarrow{h\nu} {}^1\text{Sens}^* \longrightarrow {}^3\text{Sens}^* \xrightarrow{^3O_2} {}^1O_2 + {}^1\text{Sens}$$

$$^1O_2 \xrightarrow{\text{LH}} \text{LOOH}$$

แคโรทีน แคโรทีนอยด์ และแอลฟาโทโคฟีรอล สามารถยับยั้งการเกิด singlet oxygen ได้ (Jadhav *et al*., 1995) เบต้า-แคโรทีนสามารถยับยั้งการเกิดลิพิดออกซิเดชันโดยเอมไซม์แซนทีนออกซิเดส ได้โดยจะเข้าไปยับยั้งไม่ให้เกิด singlet oxygen (Rajalakshmi and Narasimhon, 1996)

4. การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibitor)

เอนไซม์ไลพอกซีจีเนสเป็นเอนไซม์ที่พบในเครื่องเทศ, แป้งสาลี และพืชผัก ซึ่งสามารถกระตุ้นการเกิดออกซิเดชันของไขมันไม่อิ่มตัวจนถึงไฮโดรเปอร์ออกไซด์ (Jadhav *et al*., 1995) ในโมเลกุลของเอนไซม์ประกอบด้วยเหล็ก 1 อะตอมที่อยู่ในรูปของ Fe(II) ซึ่งจะถูกออกซิไดซ์ให้อยู่ในรูปของ Fe (III) ได้โดยกรดไขมันไฮโดรเปอร์ออกไซด์หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เกิดเป็น LOX-Fe^{3+} จากนั้นสารตั้งต้นที่เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวจะเข้ามาจับ โดยไฮโดรเจนจากหมู่ methylene จะถูกดึงออกไปและ Fe(III) ของเอนไซม์จะถูกรีดิวซ์กลับมาอยู่ที่ Fe(II) เกิดเป็น

enzyme-alkyl radical complex (LOX-Fe^{2+} - L˚) ที่สามารถถูกออกซิไดซ์ได้โดยออกซิเจนให้อยู่ในรูปของ LOX-Fe^{2+} - LOO˚ เกิดเป็นวัฏจักรต่อไป (Gordon, 2001)

สารต้านออกซิเดชันบางชนิดสามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลปอกซีจีเนสแบบแข่งขันในการทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น คือ กรดไขมันไฮโดรเปอร์ออกไซด์หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (Li and Xie, 2000) เช่น บีเอชเอ บีเอชที ทีบีเอชคิว โทโคฟีรอล โพรพิลแกลเลท และฟลาโวนอยด์ (Chen *et al*., 1992)

5. การเสริมฤทธิ์กัน (Synergistic)

การจับออกซิเจน และการรีดิวซ์ โดยสารกลุ่มนี้จะทำหน้าที่ให้ไฮโดรเจนกับอนุมูลฟีนอกซิล โดยการเปลี่ยนรูปสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิหรือเข้าไปจับออกซิเจนอิสระโดย กรดแอสคอร์บิกและแอสคอร์บิลปาลมิเตทสามารถใช้เสริมฤทธิ์ร่วมกับสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิ โดยเฉพาะกับโทโคฟีรอล (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

การจับโลหะ ตัวจับโลหะจะอยู่ในรูปของ คอมเพล็กซ์ที่คงตัว ทำหน้าที่จับกับโลหะโปรออกซิแดนซ์ เช่น เหล็ก และทองแดง ซึ่งจะให้ผลสูงเมื่อใช้ร่วมกับสารต้านออกซิเดชันปฐมภูมิและตัวจับออกซิเจน ทำให้อาหารมีความคงตัว (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995)

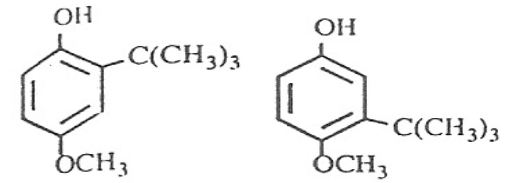
3.2.3 แหล่งของสารต้านออกซิเดชัน

สามารถแบ่งแหล่งของสารต้านออกซิเดชันที่ใช้ในปัจจุบันได้เป็น 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

3.2.3.1 สารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ (synthetic antioxidant) ส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม อนุพันธุ์ของฟีนอลประกอบด้วย บีเอชที บีเอชเอ ทีบีเอชคิว โพรพิล ออกทิล และ โดเดซิลแกลเลท เป็นต้น (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995) (Figure 7) ซึ่งสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์ได้แบ่งเป็น 2 ชนิด ดังนี้

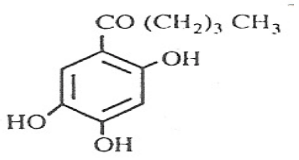
ก. Proper antioxidants คือสารที่มีสมบัติเป็นตัวยับยั้งที่มีกลไกการป้องกันการเกิดออกซิเดชันด้วยตัวของมันเอง เป็นสารที่เติมลงไปเพื่อรับเอาอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นหลังจากสารอินทรีย์เสียไฮโดรเจนไปแล้ว เพื่อให้เกิดเป็นสารใหม่ที่เสถียรกว่า จึงสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ได้ ตัวอย่างสารประกอบของฟีนอล เช่น บีเอชเอ และ บีเอชที ที่สามารถยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระและป้องกันการเกิดออกซิเดชันได้ดัง Figure 8 (Sykes, 1995) ซึ่งเปอร์ออกซีแรดิคัลที่เกิดขึ้นจากปฏิกิริยาออกซิเดชันรับอะตอมไฮโดรเจนจาก บีเอชเอ หรือ บีเอชที กลายเป็นไฮโดรเปอร์ออกไซด์และอนุมูลอิสระของอนุพันธ์ของฟีนอลที่มีเสถียรภาพสูง เนื่องจากผลของเรโซแนนซ์และสามารถคงอยู่อย่างอิสระได้ จึงยับยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดออกซิเดชันได้

ข. Hydroperoxide stabilizers เป็นสารที่ช่วยป้องกันไม่ให้สารประกอบไฮโดรเปอร์ออกไซด์สลายตัวเป็นอนุมูลอิสระเช่น สารประกอบอนุพันธ์ของฟีนอล สารประกอบแอลลิลิกหรือสารประกอบเบนซิลิก (คาร์บอนที่ต่อกับวงแหวนเบนซีน) ที่มีไฮโดรเจนชนิดตติยภูมิ ซึ่งเปอร์ออกซีแรดิคัลที่เกิดจากการออกซิเดชันไม่ว่องไวต่อปฏิกิริยามากนัก แต่มีความจำเพาะเจาะจง (selectivity) ในการเลือกเข้าทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนของพันธะ C-H สูงมากจะเลือกทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจนที่ตำแหน่งตติยภูมิของสารประกอบแอลลิลิกและเบนซิลิกเท่านั้น เนื่องจากพันธะ C-H ที่ตำแหน่งดังกล่าวไม่แข็งแรงมากนัก เมื่อเสียไฮโดรเจนไปแล้วสามารถเกิดเป็นอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรสูงเพราะสามารถเกิดเป็นสารไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เสถียร (Figure 9)

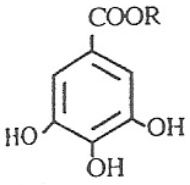


(a) **(b)**

Butylated hydroxyanisole (a) 3-BHA (b) 2-BHA



Trihydroxy butyrophenone

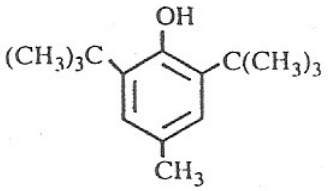


R : C_3H_7 Propyl gallate

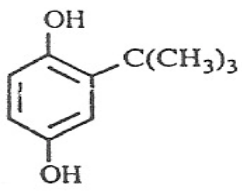
C_8H_{17} Octyl gallate

$C_{12}H_{25}$ Dodecyl gallate

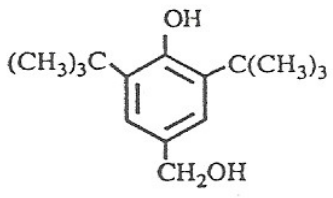
Gallates



Butylated hydroxytoluene



***Tertiary* Butyl hydroquinone**



Ionox-100

Figure **7** Synthetic antioxidants

ที่มา **:** Rajalakshmi และ Narasimhon (1995)

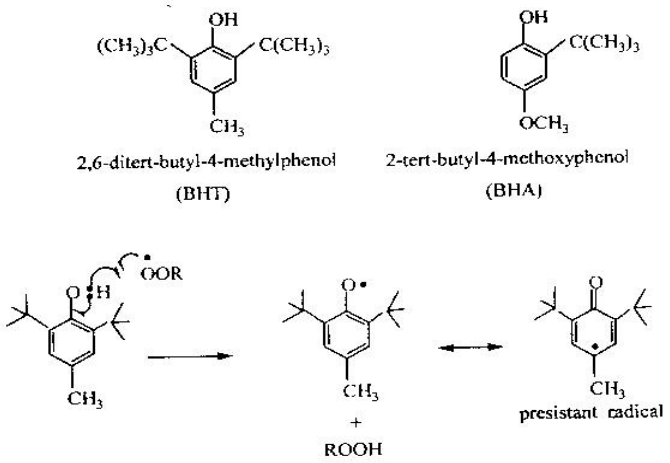


Figure 8. Antioxidant reagents and mechanism

ที่มา : Sykes (1995)

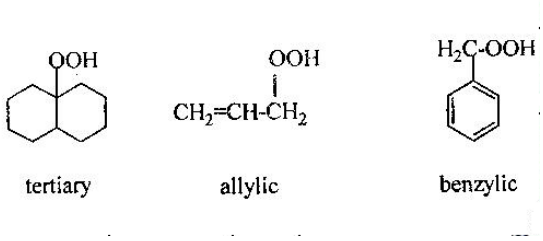
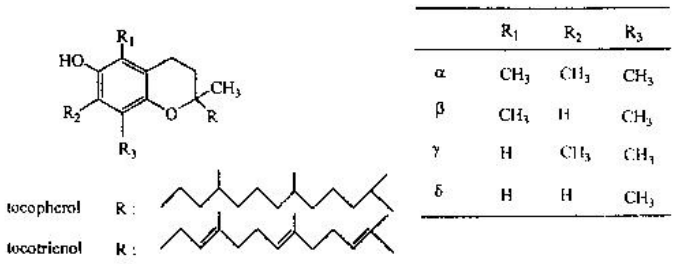


Figure 9. Hydroperoxide stabilizers

ที่มา : Sykes (1995)

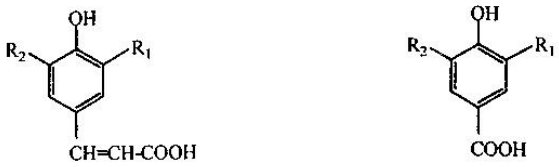
3.2.3.2 สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติ (natural antioxidant) ปัจจุบันสารต้านออกซิเดชันในกลุ่มนี้ได้รับความนิยมมากกว่าสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์เนื่องจากสารต้านออกซิเดชันสังเคราะห์มีพิษต่อร่างกายโดยมีรายงานการศึกษาพบว่าสารพวกนี้ก่อให้เกิดมะเร็งกับสิ่งมีชีวิต (Karpinska *et al*., 2000) ตัวอย่างสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติ เช่น โทโคฟีรอล กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก กรดไฟติก กรดทาร์ทาริก และฟอสฟาทิดิลโคลีน เป็นต้น (Rajalakshmi and Narasimhon, 1995) นอกจากนี้สารต้านออกซิเดชันธรรมชาติที่พบส่วนใหญ่นั้นเป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชเช่น สารประกอบฟลาโวนอยด์ กรดซินามิก และคูมาริน เป็นต้น (Shahidi and Wanasndara, 1992)โดยสารในธรรมชาติที่มีสมบัติเป็นสารต้านออกซิเดชันส่วนใหญ่มีความสามารถในการให้ไฮโดรเจนของหมู่ OH ในสารประกอบฟีนอลิกความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสารขึ้นอยู่กับตำแหน่งและจำนวนของหมู่ไฮดรอกซิลรวมทั้งโครงสร้างอื่นๆ ของโมเลกุล (Hall, 2001) ดังนี้

ก. สารกลุ่ม โมโนฟีนอล (monophenol) และ กรดฟีนอลิก (phenolic acid) พบมากในพืชตระกูลถั่วมีสมบัติเป็นสารแอนติออกซแดนท์ได้ เช่น โทโคฟีรอลและ โทโคไตรอินอล (tocotrienols) ซึ่งมีโครงสร้างดัง Figure 10 โดยสารประกอบฟีนอลิกที่มีหมู่แทนที่เป็นหมู่ให้อิเล็กตรอน เช่น หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) หมู่เมทอกซิล ($-OCH_3$) หมู่เมทิล ($-CH_3$) หมู่เอทิล ($-C_2H_5$) หรือหมู่ t-butyl ($-C(CH_3)_3$) อยู่ที่ตำแหน่งออร์โท (ortho) หรือ พารา (para) จะเพิ่มค่าความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชัน โดยมีรายงานว่าความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม อนุพันธ์ของกรดซินามิก ลดลงดังนี้ กรดแคเฟอิก >กรดเฟอรูลิก > กรดพาราคูมาริก เนื่องจาก กรดแคเฟอิกมีหมู่ OH เป็นหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งออร์โทของฟีนอลิกจาก Figure 11 คือตำแหน่ง R_1 หรือ R_2 ทำให้เกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลได้ ส่วนกรดเฟอรูลิกมีหมู่แทนที่เป็น OCH_3 ซึ่งให้อิเล็กตรอนได้น้อยกว่า OH จึงมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้น้อยกว่า ส่วนกรดพาราคูมาริกไม่มีหมู่ให้อิเล็กตรอนเป็นหมู่แทนที่ที่ตำแหน่งออร์โทของฟีนอลิกจึงมีความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันได้น้อยที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่า กลุ่มอนุพันธ์ของกรดซินามิก มีค่าความสามารถในการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันมากกว่ากลุ่มอนุพันธ์กรดเบนโซอิก เนื่องจาก กรดซินามิกมีหมู่แอลลิล (C=C-C) ในโครงสร้างดัง Figure 11



	R_1	R_2	R_3
α	CH_3	CH_3	CH_3
β	CH_3	H	CH_3
γ	H	CH_3	CH_3
δ	H	H	CH_3

Figure 10. Sample of tocophenol and tocotrienol
ที่มา : Hall (2001)



cinnamic acid derivertives

compound	R_1	R_2
p-cinnamic acid	H	H
feruic acid	H	OCH_3
sinapic acid	OCH_3	OCH_3
caffeic acid	OH	H

benzoic acid derivertives

compound	R_1	R_2
p-hydroxy benzoic acid	H	H
vanillic acid	H	OCH_3
syringic acid	OCH_3	OCH_3
gallic acid	OH	OH

Figure 11. Phenol compound with different substituted group
ที่มา : Hall (2001)

ข. สารกลุ่มแคโรทีนอยด์ (carotenoids) ซึ่งมีพันธะคู่สลับกับพันธะเดี่ยวหรือระบบคอนจูเกตในโครงสร้าง เป็นสารที่สามารถยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันได้ดีโดยจับกับเปอร์ออกซิแรดิคัลของกรดไขมัน ($LOO^{\cdot}$) ทำให้ไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาต่อไปได้อีก (Figure 12)

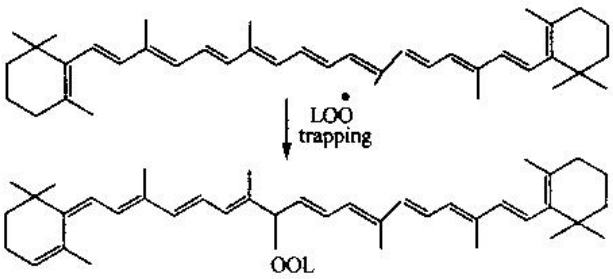


Figure 12. Trapping of peroxyl radical by carotenoids
ที่มา : Hall (2001)

ค. สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoids) เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ ซึ่งพบแทบทุกส่วนของพืชตั้งแต่ราก ลำต้น ใบ ดอกและผล เป็นสารให้สี ในพืชฟลาโวนอยด์เป็นสารอินทรีย์ประเภทโพลิฟีนอล (polyphenol) มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นไดฟีนิลโพรเพน (diphenylpropane) มีการจัดเรียงตัวแบบ C6-C3-C6 ฟลาโวนอยด์เป็นสารที่มีสมบัติในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ดีมากในอาหารประเภทไขมันและไขมันผสมน้ำ โครงสร้างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นอยู่กับหมู่ OH ที่บริเวณวง

แหวน B (Figure 13a) พันธะคู่ที่ C2 และ C3 ที่คอนจูเกตอยู่กับหมู่คาร์บอนิล (C=O) ที่ตำแหน่ง C4 ของวงแหวน C (Figure 13b) และการเกิดพันธะไฮโดรเจนของหมู่คาร์บอนิลที่ C4 ของวงแหวน C กับหมู่ OH ที่ตำแหน่ง C3 หรือ C5 (Figure 13c)

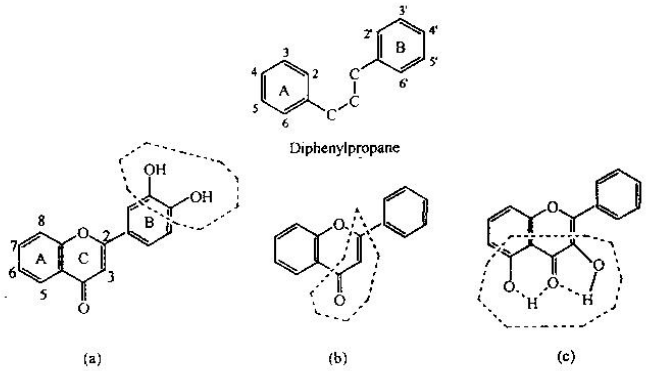


Figure 13. Structure of active antioxidants in flavonoid compounds
ที่มา : Shi และคณะ (2001)

ง. สารกลุ่มไอโซฟลาโวน (Isoflavones) มีโครงสร้างคล้ายกับกลุ่มฟลาโวนอยด์ สมบัติในการยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารกลุ่มนี้ขึ้นอยู่กับหมู่ OH ที่ตำแหน่ง C4 และเพิ่มมากขึ้นหากมีหมู่ OH ที่ตำแหน่ง C5 ด้วย ส่วนหมู่ OH ที่ตำแหน่ง C7 มีผลต่อการเป็นแอนติออกซิแดนท์น้อยมาก (Figure 14)

	4'	5	7
genistein	OH	OH	OH
genistin	OH	OH	O-glucose
daidzein	OH	H	OH
daidzin	OH	H	O-glucose
biochanin A	OCH_3	OH	OH
formononetin	OCH_3	H	OH

Figure 14. Structure of isoflavone compounds
ที่มา : Hall (2001)

จ. สารกลุ่มสเตอรอลจากพืชกลุ่มเมล็ดพืชใช้น้ำมัน (oilseeds) เช่น ถั่วลิสง เมล็ดทานตะวัน เมล็ดฝ้าย เมล็ดป่าน เป็นต้น มีสารแอนติออกซิแดนท์ในกลุ่มสเตอรอลพืช (phytosterol) ตัวอย่างเช่น sitosterol และ stigmasterol โครงสร้างดัง Figure 15

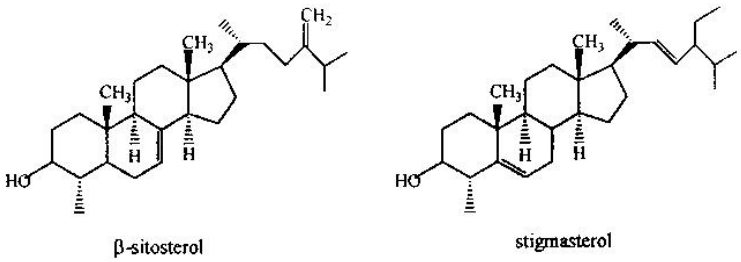


Figure 15. Structure of phytosterol
ที่มา : Hall (2001)

3.2.4 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนลอลิก คือสารที่สูตรโครงสร้างมี OH group บน aromatic ring ตั้งแต่ 1 กลุ่มขึ้นไป สารในกลุ่มนี้จึงมีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ดีพบได้ในพืช ผักและผลไม้ทั่วไป (Margarita *et al*., 2001) อาจแบ่งออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

1. Simple phenols หรือ phenolic acid และอนุพันธ์เช่น gallic acid ellagic acid tannic acid vanillin catechol resorcinol และ salicylic acid เป็นต้น สารกลุ่มนี้พบได้ในผลไม้หลายชนิด เช่น raspberry blackberry (Margarita *et al.,* 2001)

2. Phenylpropanoids ได้แก่ phenolic compound ที่ aromatic ring มี three-carbon side chain เกาะอยู่แยกย่อยออกได้หลายกลุ่มได้แก่ hydroxycinnamic acids (ferulic acid caffeic acid หรือ coumaric acid) coumarins (umbelliferone scopoletin aesculetin หรือ psoralen) lignans (pinoresinol eugenol หรือ myristicin) พบได้ใน แอปเปิล แพร์ และ กาแฟ (Meyer *et al.,* 1998)

3. Flavonoids เป็นกลุ่มสำคัญของ phenolic compounds ได้แก่สารที่มีสูตรโครงสร้างเป็น C6-C3-C6 แยกย่อยออกได้เป็นหลายกลุ่มได้แก่ catechins proanthocyanins anthocyanidins flavones flavonols flavonones และ isoflavones flavonoids สามารถได้อย่างกว้างขวางทั้งพืช ผัก ผลไม้รวมทั้งเครื่องดื่มที่เตรียมมาจากพืช เช่น ชา ซึ่งพบสาระสำคัญในการออกฤทธิ์เป็น antioxidant และ chemoprevention โดย anthocyanins เป็นสารที่มีสีในพืช ส่วน flavones flavonols และ isoflavones ก็จะพบได้ทั่วไป (Pietta., 2000)

3.2.5 สารต้านออกซิเดชันจากข้าวและผลิตภัณฑ์ข้าว

3.2.5.1 สารต้านออกซิเดชันจากเมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวเป็นแหล่งของพลังงาน โปรตีน กากใยอาหาร แร่ธาตุ วิตามิน กรดฟีนอลิก กรดไฟติก ลิกนินและไฟโตเอสโตรเจน โดยกรดฟีนอลิกที่พบส่วนใหญ่ได้แก่ กรดเฟอรูลิก กรดคูมาริกและกรดวานิลิก พบมากในชั้นรำข้าวของเมล็ดข้าว (Choi *et al*., 2007) Chen และ Bergman (2005) พบว่า รำข้าวมีพฤกษเคมีที่สำคัญในปริมาณสูงได้แก่ วิตามินอี แอลฟาโทโคฟีรอล เบต้าโทโคฟีรอล แกมมาโทโคฟีรอล เดลต้าโทโคเฟอรอล และโทโคไตรอินอลเป็นต้น ซึ่ง Tian และคณะ (2004) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าวขาว ข้าวกล้อง และข้าวกล้องงอก พบว่าในข้าวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่ละลายน้ำสูงกว่าสารประกอบฟีนอลิกที่ละลายได้ในน้ำ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่พบในข้าวกล้องงอกและข้าวกล้องมากกว่าของข้าวขาว โดยสารประกอบฟีนอลิกที่ละลายได้ในน้ำส่วนใหญ่พบในข้าวกล้อง นอกจากนี้ในระหว่างการงอกพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มมากขึ้นโดยปริมาณกรดเฟอรูลิกเพิ่มขึ้นจาก 0.32 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง เป็น 0.48 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่ละลายน้ำเพิ่มขึ้นจาก 18.47 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง เป็น 24.78 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง

Zhang และคณะ (2006) ได้ศึกษาการแยกการทำให้บริสุทธิ์ และการระบุส่วนประกอบสารต้านออกซิเดชันในข้าวดำ (black rice) พบว่ามีปริมาณแอนโธไซยานินสูง ซึ่งสารต้านออกซิเดชันที่พบในข้าวดำได้แก่ malvidin pelargonidin-3,5-diglucoside cyanidin-3-glucoside และcyanidin-3,5-diglucoside นอกจากนี้ Choi และคณะ (2007) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดในเมทานอลจากเมล็ดธัญพืชบางชนิดในประเทศเกาหลีได้แก่ ข้าวขาว ข้าวดำ ข้าวฟ่างแดง ข้าวกล้อง ถั่วเขียว และข้าวบาร์เลย์ พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าวขาว ข้าวดำ ข้าวฟ่างแดง ข้าวไม่ขัดสี ถั่วเขียว และข้าวบาร์เลย์ เท่ากับ 18 313 733 54 45 และ 50 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ปริมาณแคโรทีนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 1 77 22 14 102 และ 15 ไมโครกรัม/100 กรัม ตามลำดับ และปริมาณแอลฟาโทโคฟีรอลเท่ากับ 0.07 1.24 0.14 0.42 0.05 และ 0.23 มิลลิกรัม/100 กรัม ตามลำดับ ส่วน Zhou และคณะ (2004) ได้ทำการทดลองจำแนกประเภทของสารประกอบฟีนอลิกในข้าวจำนวน 3 สายพันธุ์ได้แก่ Koshihikari Kyeema และ Doongara เปรียบเทียบทั้งข้าวเก่าและใหม่ พบว่ามีปริมาณกรดเฟอรูลิกสูงในข้าวไม่ขัดสีทั้ง 3 สายพันธุ์ คือมีปริมาณในช่วง 255-362 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเมล็ดข้าว และพบกรดคูมาริกในปริมาณ 70-152 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเมล็ดข้าว ซึ่งมากกว่าในข้าวขัดสีที่มีปริมาณกรดเฟอรูริกเพียง 61-84 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัมเมล็ดข้าว และพบว่าข้าวกล้องมีปริมาณกรดฟีนอลิกชนิดที่อยู่ภายในโครงสร้างผนังเซลล์ (Bound phenolic acids) ทั้งหมดร้อยละ 80-90 ของกรดฟีนอลิกทั้งหมด ส่วนข้าวขาวมีปริมาณกรดฟีนอลิกร้อยละ 53-74

ของกรดฟีนอลิกทั้งหมด แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บเพิ่มขึ้น พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าวลดลง และเมื่อเก็บที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าวจะลดลงเร็วกว่าการเก็บที่ 4 องศาเซลเซียส Goupy และคณะ (1999) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันและส่วนประกอบสารต้านออกซิเดชันของข้าวบาร์เลย์และข้าวมอลต์ พบว่าสารประกอบฟีนอลิกที่พบในข้าวมอลต์และข้าวบาร์เลย์ได้แก่ ฟลาโวไตรอินอล ฟลาโวนอล และกรดฟีนอลิก ส่วนแคโรทีนอยด์ที่พบได้แก่ lutein และ zeaxanthin และยังพบแอลฟาโทโคฟีรอล เดลตาโทโคฟีรอล และแกมมาโทโคฟีรอล โดยฟลาโวไตรอินอลมีคุณสมบัติการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลพอกซีเดสดีที่สุด นอกจากนี้ Adom และคณะ (2003) พบว่าในข้าวสาลีอ่อนมีแอลฟาโทโคฟีรอล 3.4-10.1 ไมโครกรัมต่อกรัมเมล็ด และ lutein 0.82-1.14 ไมโครกรัมต่อกรัมเมล็ด ส่วนกรดวานิลิก กรดคูมาริก และกรดเฟอรูริกสามารถสกัดได้จากเมล็ดข้าวสาลี (Moore *et al*., 2005) นอกจากนี้ยังพบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดเท่ากับ 105.8-141.8 ไมโครโมลสมมูลของ catechin/100 กรัมเมล็ดข้าวสาลี และพบแคโรทีนอยด์ด้วย

Adom และ Liu (2002) ได้ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของเมล็ดข้าวโพด ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต และเมล็ดข้าว พบว่าเมล็ดข้าวโพดมีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดและเมล็ดข้าวมีปริมาณน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับเมล็ดตัวอย่างอื่นๆ ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกที่พบส่วนใหญ่เป็นกรดเฟอรูลิก และเมื่อทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันพบว่า เมล็ดข้าวโพดมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุด 181.42 ± 0.86 ไมโครกรัมโมลสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเมล็ด ข้าวสาลี 76.70± 1.38 ไมโครกรัมโมลสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเมล็ด ข้าวโอ๊ต 74.67± 1.49 ไมโครกรัมโมลสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเมล็ด และเมล็ดข้าว 55.77±1.62 ไมโครกรัมโมลสมมูลของกรดแอสคอร์บิกต่อกรัมเมล็ด และข้าวสาลีมีพฤกษเคมีชนิดที่อยู่ภายในโครงสร้างผนังเซลล์ (Bound phytochemicals) ร้อยละ 90 ของสารต้านออกซิเดชันทั้งหมด เมล็ดข้าวร้อยละ 71 ของสารต้านออกซิเดชันทั้งหมด ข้าวโอ๊ตร้อยละ 58 ของสารต้านออกซิเดชันทั้งหมด และเมล็ดข้าวโพดร้อยละ 87 ของสารต้านออกซิเดชันทั้งหมด

3.2.4.2 สารต้านออกซิเดชันจากผลิตภัณฑ์จากข้าว

Lloyd และคณะ (2004) ศึกษาการใช้ HPLC ในการศึกษาผลของสารต้านออกซิเดชันในรำข้าวที่ได้จากการขัดสีข้าวหลายขั้นตอน สารต้านออกซิเดชันที่ทำการศึกษาได้แก่ โทโคฟีรอล, โทโคไตรอินอล และ โอไรซานอล โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงสารต้านออกซิเดชันในรำข้าว 2 ชนิด ตามความยาวของเมล็ด คือ รำข้าวจากข้าวเมล็ดยาวและรำข้าวจากข้าวเมล็ดปานกลาง พบว่ามีปริมาณของโทโคฟีรอลและโทโคไตรอินอลสูงที่สุดในรำข้าวที่ผ่านการสีขั้นตอนที่ 2 จากทั้งหมด 3 ขั้นตอน ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ผลที่ได้ยังพบว่ารำของข้าวเมล็ดยาวมี

ปริมาณสารต้านออกซิเดชันประมาณ 15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีมากกว่ารำของข้าวเมล็ดยาวปานกลาง Shoichi (2004) ศึกษาปริมาณสารอาหารในข้าวกล้องงอกเปรียบเทียบกับข้าวขาว พบว่าสารอาหารและกรดอะมิในข้าวกล้องงอกมีปริมาณเพิ่มมากขึ้น โดยกรดอะมิโนที่พบคือ กรดแกมมาอะมิโน-บิวทีริก และพบกรดเฟอรูลิก กรดไฟติก แมกนีเซียม และแกมมาโอไรซานอล นอกจากนี้ Tian และคณะ (2004) ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ละลายน้ำและสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่ละลายน้ำในข้าวขาว ข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก พบว่าในข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่ละลายน้ำสูงกว่าสารประกอบฟีนอลิกที่ละลายน้ำได้และมีปริมาณกรดฟีนอลิกสูงกว่าข้าวขาว โดยมีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 0.32 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง เป็น 0.48 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่ไม่ละลายน้ำมีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 18.47 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง เป็น 24.78 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง Mahasawat และคณะ (2008) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการของข้าวกล้องงอกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมแดง พบว่าข้าวกล้องพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (ร้อยละ 7.16) มีปริมาณโปรตีนสูงกว่าข้าวหอมแดง (ร้อยละ 6.87) แต่ปริมาณไขมันและอะไมโลสของทั้งสองพันธุ์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนข้าวกล้องพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 1.0 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง และข้าวหอมแดงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 12.0 มิลลิกรัม/กรัมน้ำหนักแห้ง Kim และคณะ (2007) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของโคจิแดง (red koji) โคจิแดงผสมข้าว และข้าวเพียงอย่างเดียวที่ใช้เป็นส่วนประกอบในการหมักเพื่อผลิตผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มข้าว พบว่าหลังการหมักเป็นเวลา 6 ชั่วโมง ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มข้าวที่มีโคจิแดง โคจิแดงผสมข้าว และข้าวเพียงอย่างเดียวเท่ากับ 113.9 92.9 และ 69.7 ไมโครกรัมต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ และยังพบว่าจากการเตรียมผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มข้าวจากโคจิแดงมีประสิทธิภาพเป็นสารต้านออกซิเดชันในระบบร่างกาย

4. ปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของข้าว

4.1 อุณหภูมิในระหว่างการแช่ข้าว

Tian และคณะ (2005) ศึกษาการงอกของข้าวกล้องพันธุ์ Koshihikari โดยนำข้าวแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าปริมาณกรดเฟอรูลิก กรดซินาบินิก และกรดไดเฟอรูเรท เพิ่มขึ้นแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.01$) และเมื่อแช่ข้าวกล้องพันธุ์ Koshihikari ในน้ำอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณ GABA เพิ่มขึ้นหลังจากเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง และไอโรซานอลเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นจาก 72 ชั่วโมง เป็น 96 ชั่วโมง (Ohtsubo *et al.,* 2005) นอกจากนี้เมื่อแช่ข้าวกล้องพันธุ์ Haiminori ในน้ำที่อุณหภูมิ 35 องศา

เซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นเอาน้ำที่แช่ข้าวออกและล้างแล้วแช่ในน้ำอุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อีกครั้งเป็นเวลา 3 ชั่วโมง และบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 ชั่วโมง พบว่ามีกรดอะมิโนชนิด กลูตามีน และกลูตามิกเพิ่มขึ้น อีกทั้งพบว่า GABA มีปริมาณ เพิ่มขึ้นด้วย (Komatsuzaki *et al.*, 2007) นอกจากนี้การนำข้าวไรย์มาทำให้งอกที่อุณหภูมิ 18 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 วัน ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 46 แล้วนำมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นเชื้อหมักของยีสต์พบว่า การหมักที่เติมข้าวไรย์ที่ผ่านการงอกลงไปทำให้ปริมาณโฟเลต กรดฟีนอลิก สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และลิกแนนเพิ่มขึ้นมากกว่าการเติมแป้งข้าวไรย์แต่ให้ค่าพีเอชต่ำกว่าการเติมแป้งข้าวไรย์ปกติ (Katina *et al.,* 2007)

4.2 ระยะเวลาการแช่ข้าว

Ohtsubo และคณะ (2005) ทำการศึกษาปริมาณ GABA ในข้าวพันธุ์ Koshihikari พบว่าข้าวขาวพันธุ์ Koshihikari มีปริมาณ GABA 1.7 มิลลิกรัม/100 กรัม และข้าวกล้องพันธุ์ Koshihikari มีปริมาณ GABA 6.0 มิลลิกรัม/100 กรัม และเมื่อนำข้าวพันธุ์ Koshihikari ไปทำให้งอก โดยนำข้าวกล้องแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง พบว่าในระหว่างการงอกปริมาณ GABA เพิ่มขึ้น โดยภายหลังการบ่มเป็นเวลา 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง มีปริมาณ GABA เท่ากับ 6.0 27.7 69.2 และ 149.0 มิลลิกรัม ตามลำดับ นอกจากนี้ข้าวกล้องปริมาณกรดเฟอรูลิกทั้งหมดและปริมาณโอไรซานอลเพิ่มขึ้นเมื่อให้ระยะเวลาในการงอกเพิ่มขึ้นจาก 72 ชั่วโมง เป็นเวลา 96 ชั่วโมง นอกจากนี้ Komatsuzaki และคณะ (2007) พบว่าเมื่อนำข้าวพันธุ์ Haiminori ไปทำการแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 0.5 1 2 3 4 และ 5 ชั่วโมง เทน้ำทิ้งแล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 21 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณ GABA ที่พบในเมล็ดข้าวมีปริมาณเพิ่มขึ้น โดยพบว่าที่ระยะเวลาการแช่น้ำเป็นระยะเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส มีปริมาณ GABA สูงขึ้นมากที่สุด (25.5 มิลลิกรัม/100 กรัมข้าว) มากกว่าข้าวที่ไม่งอก (7.3 มิลลิกรัม/100 กรัมข้าว) อย่างไรก็ตามเมื่อทำการแช่ข้าวเป็นระยะเวลานานขึ้นทำให้ปริมาณ GABA ลดลงเล็กน้อย Tian และคณะ (2005) ทำการศึกษาโดยนำข้าว Koshihikari ที่ไม่ขัดสีแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 6 12 และ 24 ชั่วโมง พบว่าเมื่อแช่ข้าวเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง ทำให้มีปริมาณกรดเฟอรูลิก กรดซินาบินิก และกรดไดเฟอรูเรทเพิ่มขึ้นแต่อย่างไรก็ตาม Elmaki และคณะ (1999) พบว่าเมื่อนำข้าวฟ่างพันธุ์ Gadamelhaman และ Cross 35:18 แช่ในน้ำเป็นเวลา 10 20 และ 30 ชั่วโมง และนำไปบ่มให้งอกที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 48 และ 72 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณแทนนินในข้าวฟ่างทั้ง 2 สายพันธุ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อระยะเวลาในการงอกเพิ่มขึ้น นอกจากนี้พบว่าการแช่ข้าวฟ่างในน้ำเป็นระยะเวลา 30 ชั่วโมง ทำให้ปริมาณแทนนินในข้าวฟ่างงอกมีปริมาณลดลง

มากกว่าการแช่เป็นระยะเวลา 10 และ 20 ชั่วโมง ตามลำดับ ส่วน Yang และคณะ (2001) พบว่าเมื่อนำข้าวสาลี แช่น้ำเป็นเวลา 24 หรือ 48 ชั่วโมง แล้วบ่มในที่มืดนาน 9 วัน ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 98 ที่อุณหภูมิ 16.5 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณวิตามินซี วิตามินอี เบต้าแคโรทีน กรดเฟอรูลิก และกรดวานิลิกเพิ่มขึ้น โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและวิตามินเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องตามระยะเวลาการงอก โดยเมื่อบ่มเป็นเวลา 7 วัน พบว่ามีปริมาณวิตามินซี 550 ไมโครกรัมต่อกรัม แอลฟาโทโคฟีรอล 10.92 ไมโครกรัมต่อกรัม เบต้าแคโรทีน 3.1 ไมโครกรัมต่อกรัม กรดเฟอรูลิก 932.4 ไมโครกรัมต่อกรัม และกรดวานิลลิก 12.9 ไมโครกรัมต่อกรัม

4.3 ชนิดของตัวทำละลายสกัด

Liu และ Yao (2007) ได้ศึกษาผลของชนิดตัวทำละลายสกัดต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันจากข้าวบาร์เลย์ โดยตรวจสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันดังต่อไปนี้ รีดิวซิ่งพาวเวอร์ โดยวิธี FRAP assay DPPH radical scavenging activity และการยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมันเปรียบเทียบกับบีเอชทีและกรดแอสคอร์บิกพบว่า สารสกัดแต่ละชนิดมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด โปรแอนโธไซยานิดินและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันแตกต่างกัน โดยข้าวบาร์เลย์ที่สกัดด้วยสารละลาย acetone เข้มข้นร้อยละ70 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและโปรแอนโธไซยานิดินสูงสุด โดยประสิทธิภาพในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดแต่ละชนิดจากมากไปน้อยมีลำดับดังนี้สารละลาย acetone เข้มข้นร้อยละ 70 > สารละลาย ethanol เข้มข้นร้อยละ 70 ≥ สารละลาย methanol เข้มข้นร้อยละ 70 นอกจากนี้พบว่าสารสกัดจากข้าวบาร์เลย์ที่สกัดด้วยสารละลาย acetone เข้มข้นร้อยละ 70 มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันในระบบไลโนเลอิกสูงที่สุดและสูงกว่าบีเอชที ส่วน Zhang Ming-wei และคณะ (2006) ศึกษาสกัดสารต้านออกซิเดชันจากข้าวดำด้วย ตัวทำละลายดังนี้ petroleum ether chloroform ethyl acetate normal butyl alcohol และน้ำ พบว่าความสามารถในการต้านออกซิเดชันทั้งหมด (TAC: Total antioxidant capacity) ของสารสกัดในชั้น normal butyl alcohol และน้ำสูงสุด ส่วนสารสกัดในชั้น ethyl acetate petroleum ether และ chloroform มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันน้อยลงตามลำดับ นอกจากนี้ Chung และ Shin (2007) ศึกษากิจกรรมการต้านออกซิเดชันในชั้นอะลูโรนของข้าว 5 ชนิดได้แก่ *Oryza sativa cv. Juanbyeo Oryza sativa cv. Heugjinjubyeo Oryza sativa cv. Ilpumbyeo Oryza sativa cv. Jukjinjubyeo และ Oryza sativa cv. Obongbyeo* โดยใช้สารละลายของ ethanol เข้มข้นร้อยละ 80 ในการสกัดพบว่า กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากข้าวทั้ง 5 สายพันธุ์ ที่ระดับความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity คิดเป็นร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระมีค่าเท่ากับ 68.2 85.6 58.8 79.1 และ 63.5 ตามลำดับ นอกจากนี้เมื่อนำข้าว *Oryza sativa cv. Heugjinjubyeo* มาสกัดแยกส่วนโดยใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ ตามลำดับ

ดังนี้คือ n-hexane chloroform ethylacetate n-butanol และ น้ำ พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของสารสกัดในแต่ละชั้นที่ทำการแยกส่วนเมื่อทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity และรายงานค่าเป็นไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรมีค่าเท่ากับ 39.7 51.6 18.5 38.3 และ 45.1 ตามลำดับ Wang และคณะ (2008) ศึกษาหาชนิดของตัวทำละลายสกัดในรำข้าวสาลี โดยทำการสกัดด้วย methanol ร้อยละ 70 ethanol ร้อยละ 70 และ acetone ร้อยละ 70 ตามลำดับ พบว่า รำข้าวสาลีที่สกัดด้วย ethanol ร้อยละ 70 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุดรองลงมาคือ methanol ร้อยละ 70 และ acetone ร้อยละ 70 ตามลำดับ หลังจากนั้นนำรำข้าวสาลีมาสกัดด้วย ethanol ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ethanol เข้มข้นร้อยละ 95 80 60 40 และ 20 พบว่ารำข้าวสาลีที่สกัดด้วย ethanol ร้อยละ 20-60 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มขึ้นจาก 1.67 เป็น 2.81 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมของรำข้าวสาลี แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ ethanol ในการสกัดเป็นร้อยละ 95 ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าน้อยที่สุด (1.48 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิก/กรัมของรำข้าวสาลี)

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาและติดตามการเปลี่ยนแปลงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องระหว่างการงอกจำนวนสามสายพันธุ์ได้แก่ ข้าวเฉี้ยงพัทลุง เล็บนกปัตตานี และสังข์หยดพัทลุง
2. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการงอกของข้าวกล้องที่ให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด
3. เพื่อศึกษาชนิดของตัวทำละลายสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันรวมถึงกลไกการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากข้าวกล้องงอก
4. เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณกรดฟีนอลิกหลักที่เป็นองค์ประกอบในข้าวกล้องงอก
5. เพื่อศึกษาผลของการหุงสุกต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอลิกและลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวกล้องงอก

บทที่ 2

วิธีการวิจัย

วัตถุดิบ

ข้าวกล้องซึ่งเป็นข้าวสายพันธุ์ที่มีการส่งเสริมให้เพาะปลูกและนิยมบริโภคมากในภาคใต้จำนวน 3 สายพันธุ์ (*Oryza sativa* L. spp. *Indica*) โดยมีแหล่งเพาะปลูกจากศูนย์วิจัยข้าวจังหวัดพัทลุงได้แก่ ข้าวเล็บนกปัตตานี, ข้าวเฉี้ยงพัทลุง และข้าวสังข์หยดพัทลุง ซึ่งเก็บเกี่ยวช่วงเดือนกุมภาพันธ์ พ.ศ. 2551 โดยนำข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์บรรจุถุงโพลีเอทิลีนปิดผนึกถุงภายใต้สภาวะสุญญากาศแล้วเก็บไว้ในกล่องทึบแสงที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกระทั่งนำมาสกัดภายในระยะเวลา 3 เดือน

ข้าวกล้อง คือ ข้าวที่ผ่านการขัดสีเพียงครั้งเดียวเพื่อให้เปลือกที่หุ้มเมล็ดข้าวหลุดออกไปซึ่งเมล็ดข้าวยังคงประกอบด้วยเยื่อหุ้มเมล็ด จมูกข้าวและเนื้อข้าว

ข้าวกล้องงอก คือ ข้าวกล้องที่ผ่านการแช่น้ำที่อุณหภูมิและระยะเวลาต่างๆ จนกระทั่งมีปมรากแรกงอกยาวออกมาประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร

อุปกรณ์และสารเคมี

1. สารเคมี

- Methanol ยี่ห้อ J.T**.** Beker (NJ., USA.)
- Hydrochloric Acid ยี่ห้อ J.T**.** Beker (NJ., USA.)
- Hexane (analytical grade)
- Ferulic Acid ยี่ห้อ Wako (Tokyo, Japan)
- Folin-Cioculteu Reagent ยี่ห้อ Merck (Darmstadt, Germany)
- Sodium Carbonate Anhydrous ยี่ห้อAjax Finechem (Auckland, New Zealand)
- 2, 2'-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ยี่ห้อ Sigma Chemical Co. (MO., USA.)
- Ethanol (analytical grade)
- 2, 4, 6-tri (2-pyridyl)-tri-azine (TPTZ) ยี่ห้อ Sigma Chemical Co. (MO., USA.)
- Iron (III) Chloride Hexahydrate ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$) ยี่ห้อ Fluka (Steinheim, Germany)
- Sodium Acetate ยี่ห้อ Merck (Darmstadt, Germany)

- Iron (II) sulfate heptahydrate ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) ยี่ห้อ Merck (Darmstadt, Germany)
- Phosphate buffer
- ABTS radical cation ($ABTS^{+}$) ยี่ห้อ Sigma Chemical Co. (MO., USA.)
- Potassium persulphate ยี่ห้อ Merck (Darmstadt, Germany)
- Protocatechuic Acid ยี่ห้อ Wako (Tokyo, Japan)
- *p*-Coumaric ยี่ห้อ Wako (Tokyo, Japan)
- Acetronitrile (HPLC grade)
- Trifluoroacetic acid (TFA) ยี่ห้อ Fluka (Steinheim, Germany)

2. อุปกรณ์

- เวอร์เนียคาลิปเปอร์
- เครื่องอบลมร้อน ยี่ห้อ Memmert รุ่น D-91126 ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องบด ยี่ห้อ PHILIPS
- ตะแกรงกรองแยกขนาด 42 mesh (355 ไมโครเมตร)
- เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Sorvall รุ่น RC-5B Plus ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี
- เครื่องระเหยแบบลดความดัน (vacuum rotary evaporator) ยี่ห้อ BUCHI ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ ยี่ห้อ Memmert ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่องวัดพีเอช ยี่ห้อ SCHOTT ประเทศอังกฤษ
- เครื่อง Microplate Reader ยี่ห้อ Biotek รุ่น Power Wave X ประเทศสหรัฐอเมริกา
- เครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent Technologies รุ่น 1200 ประเทศเยอรมนี
- เครื่องวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส ยี่ห้อ Stable Micro System, Surrey รุ่น TA-XT2 ประเทศอังกฤษ
- หม้อหุงข้าวยี่ห้อ SHARP รุ่น KS-11E ประเทศไทย

1. วิธีการทดลอง

1.1 ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องงอก

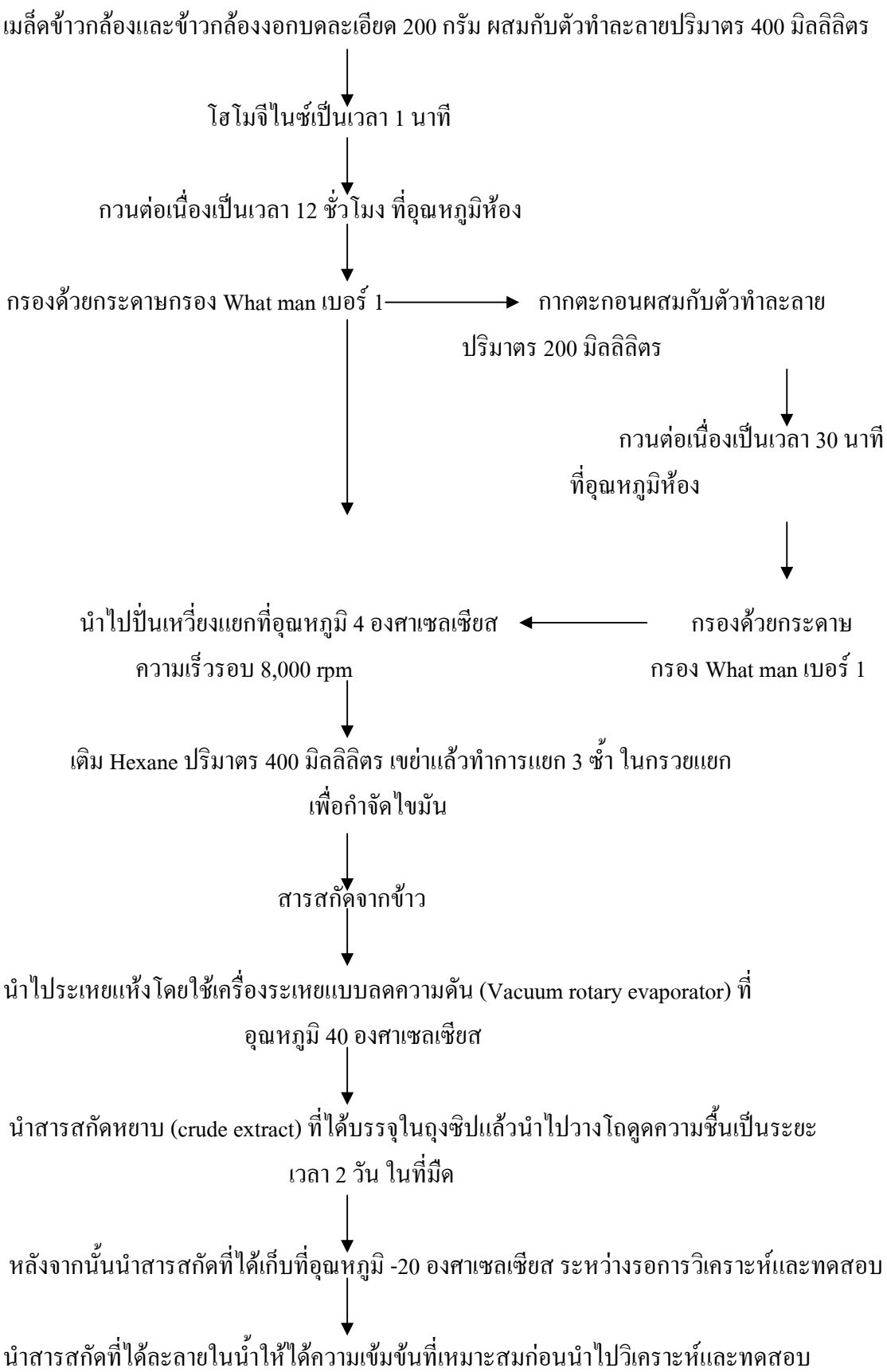
1.1.1 การเตรียมตัวอย่างข้าวสำหรับการวิเคราะห์ตามขั้นตอนดังต่อไปนี้

1.1.1.1 การเตรียมตัวอย่างเมล็ดข้าวกล้อง เตรียมข้าวกล้องตามวิธีการของ Nirmala และคณะ (2000); Tian และคณะ (2005) โดยนำข้าวเปลือก 3 สายพันธุ์มาสีเปลือกออกโดยยังคงจมูกข้าวและรำข้าวไว้และคัดเลือกเมล็ดข้าวที่สมบูรณ์โดยแยกเมล็ดข้าวหักออกด้วยวิธีการสังเกตด้วยตาเปล่าทีละเม็ด

1.1.1.2 การเตรียมตัวอย่างข้าวกล้องงอก นำเมล็ดข้าวกล้องทั้ง 3 สายพันธุ์ที่สมบูรณ์ที่คัดเลือกในข้อ 1.1.1.1 ปริมาณ 250 กรัม ล้างทำความสะอาด แล้วแช่ในน้ำกลั่น 1,000 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (28 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเปลี่ยนน้ำทุก 6 ชั่วโมง เพื่อทำให้ข้าวกล้องงอก จากนั้นเทน้ำทิ้งแล้วนำข้าวกล้องมาคัดเลือกเมล็ดที่มีรากแรกงอกประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร โดยการวัดด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์และทำแห้งโดยใช้เครื่องอบลมร้อนอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง บดให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 42 mesh (355 ไมโครเมตร) บรรจุในถุงโพลีเอทธิลีนปิดผนึกถุงภายใต้สภาวะสุญญากาศนำไปเก็บในภาชนะทึบแสงที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปวิเคราะห์

1.1.1.3 วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของเมล็ดข้าวกล้องงอกทั้ง 3 สายพันธุ์จากข้อ 1.1.1.2 เบื้องต้นได้แก่ ปริมาณความชื้น โปรตีน เถ้า ไขมัน และกากใย ตามวิธี A.O.A.C. (2000)

1.1.1.4 การเตรียมสารสกัดจากข้าวกล้องงอก นำตัวอย่างข้าวกล้องงอกทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่เตรียมได้จากข้อ 1.1.1.2 ไปสกัดตามวิธีของ Del Pozo-Insfran และคณะ (2006) โดยใช้ตัวทำละลายที่สกัดได้แก่ น้ำกลั่น หรือ สารละลายของเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 และ 95 โดยใช้อัตราส่วนของตัวอย่างต่อตัวทำละลายเท่ากับ 1:2 (w/v) โดยสกัดตามวิธีการดังนี้


เมล็ดข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกบดละเอียด 200 กรัม ผสมกับตัวทำละลายปริมาตร 400 มิลลิลิตร
โฮโมจีไนซ์เป็นเวลา 1 นาที
กวนต่อเนื่องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง
กรองด้วยกระดาษกรอง What man เบอร์ 1
กากตะกอนผสมกับตัวทำละลาย ปริมาตร 200 มิลลิลิตร
กวนต่อเนื่องเป็นเวลา 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง
กรองด้วยกระดาษ กรอง What man เบอร์ 1
นำไปปั่นเหวี่ยงแยกที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบ 8,000 rpm
เติม Hexane ปริมาตร 400 มิลลิลิตร เขย่าแล้วทำการแยก 3 ซ้ำ ในกรวยแยก เพื่อกำจัดไขมัน
สารสกัดจากข้าว
นำไประเหยแห้งโดยใช้เครื่องระเหยแบบลดความดัน (Vacuum rotary evaporator) ที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส
นำสารสกัดหยาบ (crude extract) ที่ได้บรรจุในถุงซิปแล้วนำไปวางโถดูดความชื้นเป็นระยะ เวลา 2 วัน ในที่มืด
หลังจากนั้นนำสารสกัดที่ได้เก็บที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส ระหว่างรอการวิเคราะห์และทดสอบ
นำสารสกัดที่ได้ละลายในน้ำให้ได้ความเข้มข้นที่เหมาะสมก่อนนำไปวิเคราะห์และทดสอบ

1.1.1.5 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธีของ Slinkard และ Singleton (1977)

เติมตัวอย่างหรือสารมาตรฐาน 12.5 ไมโครลิตรน้ำกลั่น 50 ไมโครลิตรและสาร Folin-Ciocalteu reagent 12.5 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่มืด 6 นาที หลังจากนั้นเติม Na_2CO_3 เข้มข้นร้อยละ 7 ปริมาตร 125 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่มืด 90 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร ด้วย microplate reader โดยใช้ Ferulic acid เป็นสารมาตรฐานในการเปรียบเทียบแล้วรายงานผลในรูป mmol สมมูลของ ferulic acid (mmol FAE/100g sample) (ภาคผนวก ก-2)

1.1.1.6 กิจกรรมการต้านออกซิเดชันดังวิธีต่อไปนี้ (ภาคผนวก ก-2)

- DPPH radical scavenging activity ตาวิธี Brand-Williams และคณะ (1995)

เตรียมสารละลาย DPPH เข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ในเอทานอล หลังจากนั้นเติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 100 ไมโครลิตร และตัวอย่างหรือสารมาตรฐานปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ด้วย microplate reader โดยใช้ ferulic acid เป็นสารมาตรฐานแล้วรายงานผลในรูป mmol สมมูลของ ferulic acid (mmol FAE/100g sample)

- ABTS radical scavenging activity ตามวิธี Binsan และคณะ (2008)

เตรียมสารละลาย $ABTS^+$ เข้มข้น 7.4 มิลลิโมลาร์ และสารละลาย potassium persulphate เข้มข้น 2.6 มิลลิโมลาร์ หลังจากนั้นผสมให้เข้ากันด้วยอัตราส่วน 1:1 (v/v) บ่มทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 ชั่วโมง เมื่อครบเวลาบ่มนำสารละลาย ABTS มาเจือจางด้วย methanol อัตราส่วน 1:50 (v/v) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ให้ได้ค่าการดูดกลืนแสง 1.1 ± 0.02 โดยเมื่อได้สารละลาย ABTS ตามต้องการแล้วจึงเติมสารละลาย ABTS ปริมาตร 190 ไมโครลิตร และตัวอย่างหรือสารมาตรฐานปริมาตร 10 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 120 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 734 นาโนเมตร ด้วย microplate reader โดยใช้ ferulic acid เป็นสารมาตรฐาน แล้วรายงานผลในรูป mmol สมมูลของ ferulic acid (mmol FAE/100g sample)

- รีดิวซิ่งพาวเวอร์ โดยวิเคราะห์ Ferric reducing/antioxidant power (FRAP) ตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996)

เตรียมสารละลาย FRAP reagent ประกอบด้วย acetate buffer (pH 3.6) เข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร สารละลาย TPTZ (2,4,6-tripyridyl-s-triazine) เข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ใน HCl เข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย $FeCl_3 \cdot 6H2O$ เข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 30

นาที เมื่อครบเวลาเติมตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐานปริมาตร 30 ไมโครลิตร และสารละลาย FRAP reagent ปริมาตร 270 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 595 นาโนเมตร ด้วย microplate reader โดยใช้ $FeSO_4$ เป็นสารมาตรฐาน แล้วรายงานผลในรูป mmol สมมูลของ $FeSO_4$ (mmol FE/100g sample)

1.2 ศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของข้าวในระหว่างการงอก

1.2.1 ผลของอุณหภูมิระหว่างการแช่ของข้าวกล้อง

นำข้าวกล้องทั้ง 3 สายพันธุ์ สายพันธุ์ละ 250 กรัม มาทำให้งอกโดยใช้อุณหภูมิระหว่างการแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเปลี่ยนน้ำทุก 6 ชั่วโมง และหาร้อยละของการงอกโดยนำตัวอย่างข้าวชนิดละ 1,000 เมล็ด คัดเลือกเมล็ดที่มีรากแรกงอกประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร โดยวัดด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ นับจำนวนที่ได้แล้วคิดเทียบเป็นร้อยละของการงอก จากนั้นนำตัวอย่างข้าวกล้องที่มีรากแรกงอกชนิดละ 200 กรัม ทำให้แห้งด้วยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง บดให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 42 mesh (355 ไมโครเมตร) แล้ววิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นตามวิธีในข้อ 1.1.1.3 และนำข้าวกล้องงอกทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ได้ไปสกัดตามวิธีในข้อ 1.1.1.4 และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธีในข้อ 1.1.1.5 และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 1.1.1.6 เปรียบเทียบผลและคัดเลือกอุณหภูมิที่ให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity สูงที่สุดรวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันอื่นๆ (ABTS radical scavenging activity และ FRAP) ประกอบการคัดเลือกด้วย

1.2.2 ผลของระยะเวลาระหว่างการแช่ของข้าวกล้อง

นำข้าวกล้องทั้ง 3 ชนิด ทำให้งอกโดยใช้อุณหภูมิที่คัดเลือกในข้อ 1.2.1 และแช่เป็นระยะเวลาต่างๆ ดังนี้ 1 2 4 6 12 24 36 และ 48 ชั่วโมง โดยเปลี่ยนน้ำทุก 6 ชั่วโมง และหาร้อยละของการงอกโดยนำตัวอย่างข้าวชนิดละ 1,000 เมล็ด คัดเลือกเมล็ดที่มีรากแรกงอกประมาณ 0.5-1 มิลลิเมตร โดยวัดด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ นับจำนวนที่ได้แล้วคิดเทียบเป็นร้อยละของการงอก จากนั้นนำตัวอย่างข้าวกล้องที่มีรากแรกงอกชนิดละ 200 กรัม ทำให้แห้งด้วยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง บดให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 42 mesh (355 ไมโครเมตร) แล้ววิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นตามวิธีในข้อ 1.1.1.3 และนำข้าวกล้องงอกทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ได้ไปสกัดตามวิธีในข้อ 1.1.1.4 และวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธีในข้อ 1.1.1.5 และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันตามวิธีในข้อ 1.1.1.6 เปรียบเทียบผลและ

คัดเลือกระยะเวลาการแช่ที่ให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity สูงที่สุด รวมทั้งปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันอื่นๆ (ABTS radical scavenging activity และ FRAP) ประกอบการคัดเลือกด้วย

1.3 ศึกษาผลของการหุงสุกต่อการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

นำข้าวกล้องทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ทำให้งอกด้วยสภาวะที่คัดเลือกในข้อ 1.2.1 และ 1.2.2 มาหุงสุกโดยใช้ข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกอย่างละ 300 กรัม และใช้น้ำ 1.75 เท่า (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ด้วยการให้ความร้อนโดยหม้อหุงข้าว จากนั้นนำข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกที่หุงสุกไปทำแห้งอีกครั้งด้วยการอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง บดให้ละเอียดแล้วร่อนผ่านตะแกรงขนาด 42 mesh แล้วนำข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกที่ได้ไปสกัดตามวิธีในข้อ 1.1.1.4 แล้วนำไปวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดตามวิธีในข้อ 1.1.1.5 และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเช่นเดียวกับข้อ 1.1.1.6 และนำข้าวหุงสุกส่วนหนึ่งมาวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสด้วยเครื่องวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture analyzer, TA-XT2, Stable Micro System, Surrey, England) ตามวิธีของ Leelayuthsoontorn และ Thipayarat (2005) โดยนำข้าวกล้องงอกและไม่งอกทั้ง 3 สายพันธุ์ที่หุงสุก 3 เมล็ด วางบนภาชนะและทำการทดสอบโดยใช้หัวทดสอบทรงกระบอก (cylinder probe) ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 35 มิลลิเมตร ใช้ความเร็วของหัวทดสอบก่อนวัดค่า ขณะวัดค่า และหลังวัดค่าเท่ากับ 0.5 0.5 และ 10 มิลลิเมตรต่อวินาที ตามลำดับ โดยใช้ load cell 5 กิโลกรัม และค่า distance ร้อยละ 90 แล้วรายงานค่าที่ได้เป็น hardness (นิวตัน (N)) และ stickiness (นิวตันวินาที (Ns))

1.4 ศึกษาปริมาณของกรดฟีนอลิกหลักที่เป็นองค์ประกอบในข้าว

นำข้าวกล้องงอกทั้ง 3 สายพันธุ์ ที่ได้จากสภาวะที่เหมาะสมต่อการงอกที่คัดเลือกได้จากข้อ 1.2 และข้าวกล้องไม่งอกทั้งที่หุงสุกและไม่หุงสุกมาวิเคราะห์องค์ประกอบในกลุ่มกรดฟีนอลิกหลักโดยใช้ HPLC มีขั้นตอนดังต่อไปนี้

การสกัดตัวอย่าง

การสกัดตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์กรดฟีนอลิกหลักด้วย HPLC ตามวิธีการของ Tian และคณะ (2005) ทำโดยนำตัวอย่างข้าวทั้งสามสายพันธุ์ที่สกัดตามวิธีในข้อ 1.1.1.4 มา 0.1 กรัม ละลายในน้ำ 10 มิลลิลิตร แล้วกรองผ่านเมมเบรนขนาด 0.2 ไมโครเมตร นำสารละลายที่ได้ปริมาตร 20 ไมโครลิตร ฉีดเข้าสู่เครื่อง HPLC โดยใช้ตัวตรวจวัดคือ Diode array Detector (DAD) ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร สำหรับวิเคราะห์สารกลุ่ม hydroxybenzoic acid และ 325

นาโนเมตร สำหรับสารกลุ่ม hydroxycinnamic acid โดยสภาวะการทำงานของเครื่อง HPLC มีรายละเอียดดังนี้

1. คอลัมน์ที่ใช้คือ C_{18} ขนาด 250 x 4.6 มิลลิเมตร และการชะตัวอย่างด้วย mobile phase แบบเกรเดียนท์อัตราการไหล 0.8 มิลลิลิตรต่อนาที
2. HPLC ใช้ Low Pressure Gradient อุณหภูมิของคอลัมน์เท่ากับ 38 องศาเซลเซียส
3. Mobile phase เริ่มต้นคือ acetronitrile : TFA (trifluoroacetic acid) เข้มข้นร้อยละ 0.025 ในอัตราส่วน 5 : 95 และที่เวลา 5-15 นาที ใช้อัตราส่วน 9 : 91 จนถึงที่เวลา 20 นาทีใช้อัตราส่วน 11 : 89 แล้วล้างคอลัมน์ด้วยอัตราส่วน 80 : 20 เป็นเวลา 10 นาที ปรับสมดุลของคอลัมน์เป็นเวลา 15 นาที ด้วยอัตราส่วน 5 : 95 รวมใช้เวลาทั้งหมดในแต่ละรอบของการวิเคราะห์ 35 นาที
4. เตรียมความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานได้แก่ ferulic acid *p*-coumaric aicd และ protocatechuic acid ที่ความเข้มข้น 2 10 20 50 100 และ 200 พีพีเอ็ม
5. การหาปริมาณกรดฟีนอลิกหลักทำได้โดยเปรียบเทียบพื้นที่ใต้กราฟ (chromatogram) ของสารสกัดที่ได้กับโครมาโตแกรมของกราฟของสารมาตรฐาน (standard) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ

1.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการวิเคราะห์ผลข้อมูลที่ได้จากการทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มอย่างสมบรูณ์ (Completely randomized design, CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูลโดยใช้ ANOVA และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป SPSS สำหรับ Windows version 15.0 (SPSS Inc.)

บทที่ 3

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องก่อนและภายหลังการทำให้งอก

ผลการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกสายพันธุ์เฉี้ยงพัทลุง เล็บนกปัตตานี และสังข์หยดพัทลุงแสดงดัง Table 3 โดยพบว่าข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอกและข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอกมีปริมาณโปรตีนและไขมันไม่แตกต่างจากข้าวกล้อง (P>0.05) ส่วนข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกมีปริมาณโปรตีนและไขมันมากกว่าข้าวกล้อง (P<0.05) แต่ข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงและข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีมีปริมาณเถ้าและเยื่อใยมากกว่าข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอกและข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอก ส่วนข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกมีปริมาณเถ้าไม่แตกต่างกันกับข้าวกล้อง (P>0.05) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Shoichi (2004) โดยรายงานว่าปริมาณไขมันและโปรตีนเพิ่มขึ้นเมื่อทำให้ข้าวงอก ทั้งนี้เนื่องจากระหว่างการงอกเมล็ดข้าวดูดซับน้ำและทำให้เอนไซม์หลายชนิดถูกกระตุ้นและเอนไซม์ไปทำหน้าที่เร่งให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารชีวโมเลกุลต่างๆ ภายในเซลล์ โดยมีทั้งการย่อยสลายสารโมเลกุลใหญ่ๆ เช่น คาร์โบไฮเดรต เยื่อใย และโปรตีนให้มีโมเลกุลที่เล็กลงอีกทั้งมีการสังเคราะห์หรือสร้างสารต่างๆ ที่จำเป็นสำหรับการเจริญของต้นอ่อน (embryo) เพิ่มมากขึ้น (Rai และ Singaravadival, 1979) ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณโปรตีนและไขมันในข้าวเริ่มงอกอาจมีปริมาณเพิ่มขึ้นได้ (จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล, 2550) นอกจากนี้ Mahasawat และคณะ (2008) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางโภชนาการของข้าวกล้องงอกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมแดงพบว่าข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์เมื่อทำให้งอกมีปริมาณโปรตีน และไขมันเพิ่มขึ้น แต่ปริมาณเยื่อใยลดลง นอกจากนี้การลดลงของปริมาณเถ้าอาจเนื่องมาจากระหว่างการทำให้งอกด้วยการแช่ในน้ำแร่ธาตุบางชนิดอาจสูญเสียไปจากการละลายน้ำ

2. ผลของชนิดสารสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก

ผลของตัวทำละลายสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกสายพันธุ์เฉี้ยงพัทลุง เล็บนกปัตตานี และสังข์หยดพัทลุงที่สกัดด้วย น้ำ, เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 และ 50 แสดงดัง Figure 16 และ 17 ตามลำดับ

Table 3. Proximate compositions of brown rice and germinated brown rice (% dry basis)

	Chiang Phatthalung		Lepnok Pattani		Sangyod Phatthalung	
	BR	GBR	BR	GBR	BR	GBR
Moisture	13.55±0.005[a]	10.56±0.002[b]	11.52±0.001[a]	10.68±0.003[b]	12.10±0.004[a]	10.84±0.001[b]
Protein	6.87±0.002[a]	7.00±0.004[a]	7.50±0.011[a]	7.64±0.008[a]	9.44±0.011[b]	9.99±0.001[a]
Lipid	2.76±0.001[a]	2.90±0.001[a]	2.70±0.009[b]	3.02±0.005[a]	2.79±0.009[b]	3.25±0.005[a]
Ash	1.50±0.001[a]	1.20±0.001[b]	1.36±0.001[a]	1.21±0.006[b]	1.52±0.020[a]	1.36±0.004[a]
Fiber	21.60±0.006[a]	20.34±0.008[b]	21.33±0.002[a]	19.66±0.001[b]	21.22±0.003[a]	19.52±0.002[b]

Value are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

BR = brown rice

GBR = germinated brown rice

จากผลการทดลองพบว่า ข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ ซึ่งสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายสกัดชนิดอื่น รองลงมาคือ น้ำ และ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05) โดยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุง, ข้าวกล้องเล็บนกปัตตานี และข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีค่าเท่ากับ 120.84 66.66 และ 125.40 mmol FAE/100g sample ตามลำดับ และกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity มีค่าเท่ากับ 12.29 2.95 และ 20.64 mmol FAE/100g sample ตามลำดับ ส่วนข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 133.79 86.70 และ 272.58 mmol FAE/100g sample ตามลำดับ และมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity มีค่าเท่ากับ 16.28 9.05 และ 29.45 mmol FAE/100g sample ตามลำดับ แต่เมื่อนำข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกซึ่งสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 พบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันน้อยที่สุด โดยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีความเป็นขั้วสูงกว่าน้ำและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ตามลำดับ เมื่อความเป็นขั้วของตัวทำละลายสกัดลดลงมีผลต่อการละลายได้ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้ทั้งหมดลดลงและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันโดยรวมของสารสกัดจึงลดลงด้วย (Wang *et al,*. 2003) จากผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับผลการสกัดเปลือกถั่วลิสงด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้นต่างๆ (Neptoe *et al.,* 2005)

และรำข้าวสาลี (Wang *et al,.* 2003) โดยพบว่าเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้มากที่สุดเนื่องจากเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีความเป็นขั้วค่อนข้างสูง ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่เป็นสารประกอบมีขั้ว (Choi *et al.,* 2007) ทำให้สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ดี (Siddhuraju and Becker, 2003; Zhou and Yu, 2004) ซึ่งเอทานอลและเอทานอลผสมน้ำมักถูกใช้สกัดสารประกอบฟีนอลิกจากพืช (Durling *et al.,* 2007) เนื่องจากเอทานอลผสมน้ำสามารถละลายสารประกอบฟีนอลิกออกมาได้และปลอดภัยและเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

จากผลการศึกษาพบว่าข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าข้าวกล้อง ซึ่งจากผลการศึกษาของ Tian และคณะ (2004); Yang และคณะ (2001) รายงานว่ากระบวนการงอกกระตุ้นให้เกิดการเปลี่ยนแปลงคุณค่าทางอาหารและสารประกอบฟีนอลิกในระหว่างกระบวนการงอก โดยระหว่างการงอกผนังเซลล์ของพืชถูกย่อยทำให้ได้สารประกอบฟีนอลิกรูปอิสระเพิ่มขึ้น (Lee YR *et al.,* 2007) ส่งผลให้สารประกอบฟีนอลิกและกรดฟีนอลิกเพิ่มขึ้นได้ในระหว่างการงอกเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวกล้อง โดยพบว่าระหว่างข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ที่ทำการศึกษาข้าวสังข์หยดพัทลุงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมากกว่าข้าวเฉี้ยงพัทลุงและเล็บนกปัตตานี ตามลำดับ ดังนั้นจึงเลือกเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ในการสกัดสารสกัดหยาบจากข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ตลอดการศึกษา

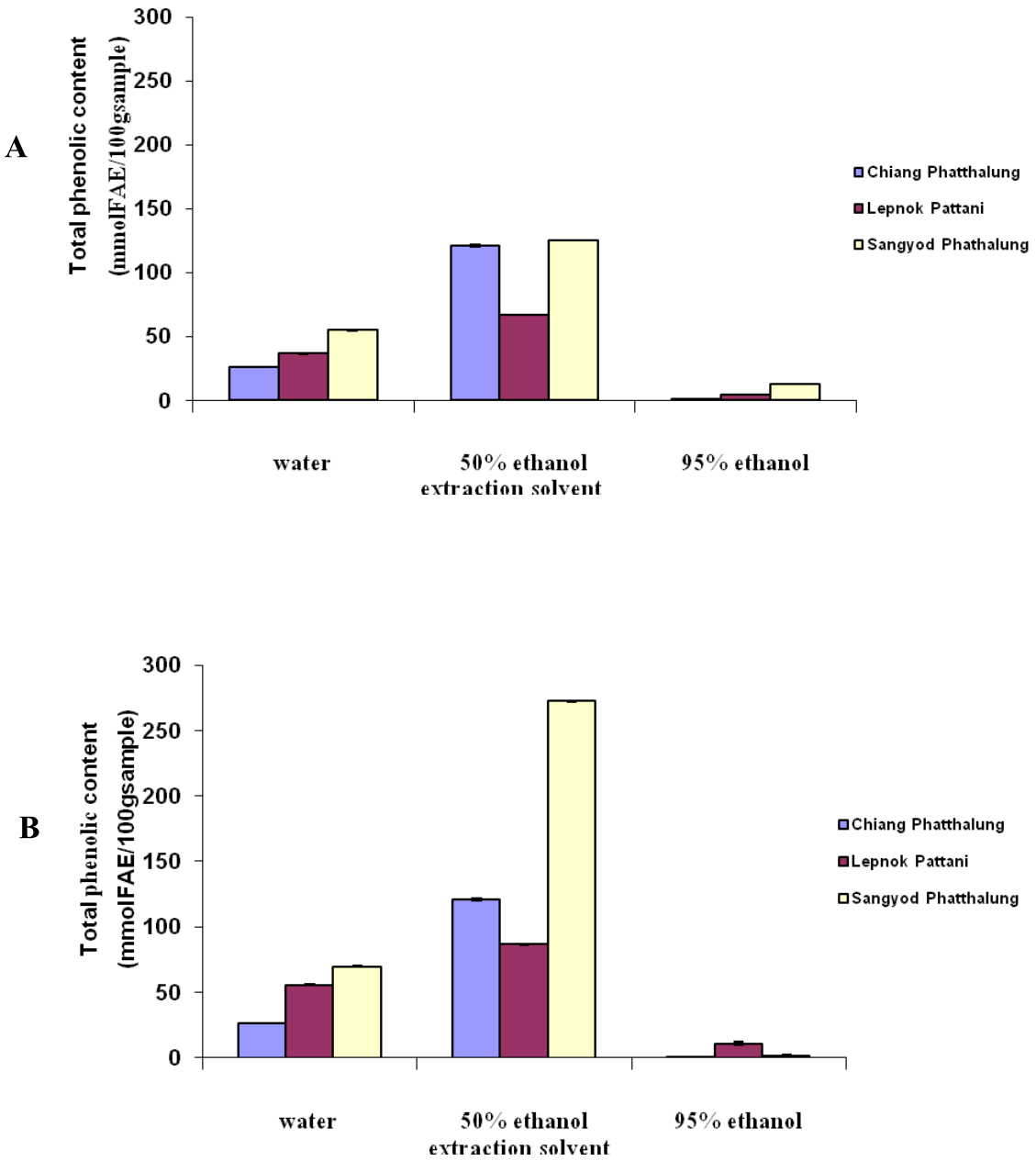
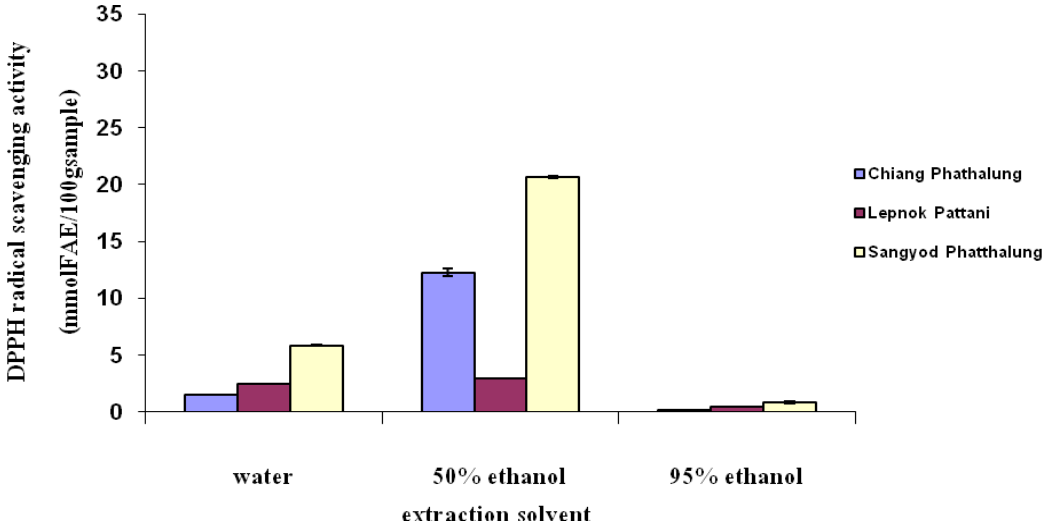


Figure 16. Effect of various extraction solvents on total phenolic content of brown rice extracts (A) and germinated brown rice extracts (B)

A



B

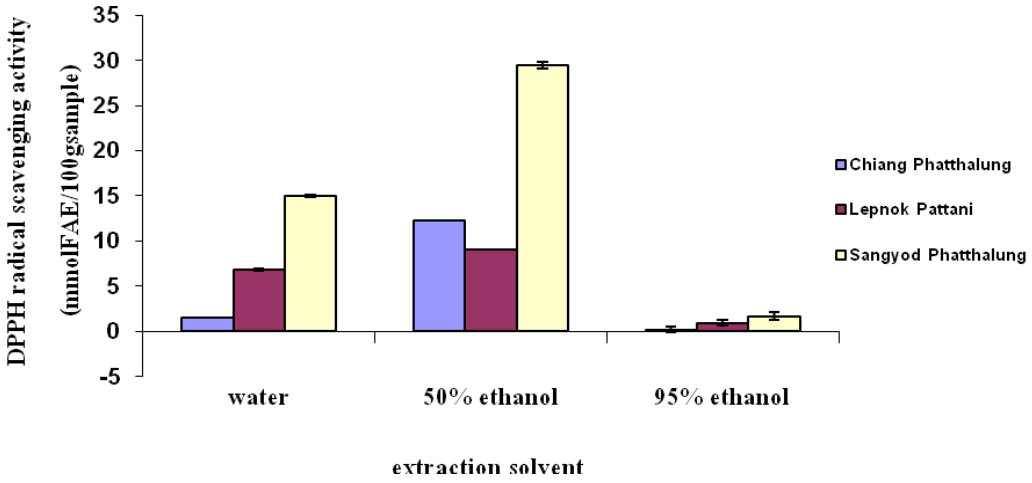


Figure 17. Effect of various solvents on DPPH radical scavenging activity of brown rice extracts (A) and germinated brown rice extracts (B)

3. ผลของอุณหภูมิในการแช่ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องงอก

จากการศึกษาเมื่อนำข้าวกล้องทำให้งอกด้วยการแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้บริเวณปลายเมล็ดของข้าวกล้องซึ่งเป็นส่วนของจมูกข้าวมีปมรากงอกยาวออกมาแสดงดัง Figure 18 เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวกล้อง ซึ่งปมรากนี้มีความยาวตั้งแต่ 0.5 ถึง 1.0 มิลลิเมตร ซึ่งจากผลการศึกษาร้อยละของการงอกที่อุณหภูมิ 25 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส อยู่ในช่วงร้อยละ 97-99 (ดังภาคผนวกที่ ช-1)

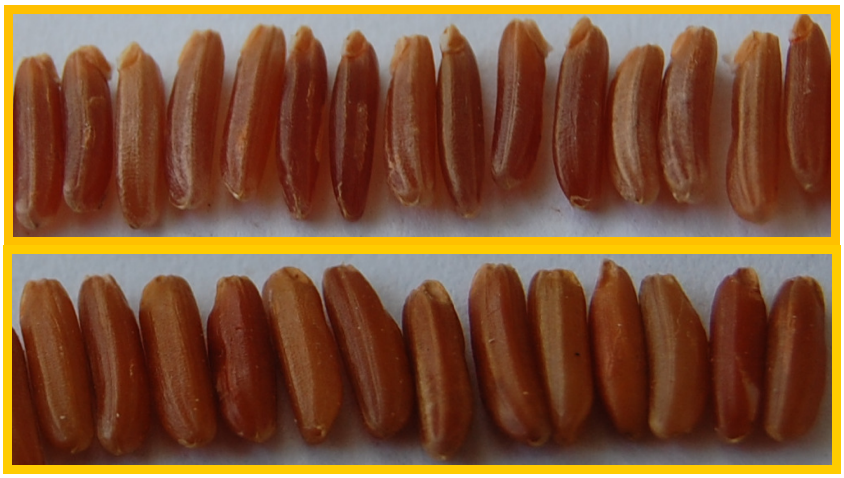


Figure 18. Appearance of germinated brown rice (A) and brown rice (B)

ผลของอุณหภูมิระหว่างการทำให้งอกด้วยการแช่น้ำต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ABTS radical scavenging activity และ FRAP แสดงดัง Figure 19 ซึ่งพบว่าข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมากกว่าข้าวกล้อง จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุง ข้าวกล้องเล็บปัตตานี และข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุง ซึ่งผ่านการแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีค่าเท่ากับ 72.02 90.53 และ 86.22 mmol FAE/100g sample ตามลำดับ โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิในการแช่ข้าวกล้องในน้ำเพิ่มขึ้นเป็น 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นตามลำดับ ส่วนกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ซึ่งทำให้งอกด้วยการแช่ในน้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีค่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 8.86 9.99 และ 7.42 mmol FAE/100g sample ตามลำดับ (Figure 19B) และเมื่ออุณหภูมิในการแช่เพิ่มขึ้นกิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลง

นอกจากนี้เมื่อนำข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ทำให้งอกด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิต่างๆ มาทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน ABTS radical scavenging activity และ FRAP แสดงดัง Figure 19C และ 19D พบว่าข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุง ข้าวกล้องเล็บนกปัตตานี และข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงซึ่งผ่านการแช่ในน้ำอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมากที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 15.30 21.41 และ 18.23 mmol FAE/100g sample และ 8.34 11.82 และ 10.11 mmol FAE/100g sample ตามลำดับ และเมื่ออุณหภูมิในการแช่เพิ่มขึ้นกลับมีค่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลง เนื่องจากธัญพืชส่วนใหญ่มีอัตราการหายใจเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิของสภาพแวดล้อมระหว่างการงอกเพิ่มขึ้นจนถึงอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และอัตราการหายใจลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งการหายใจของพืชมีผลต่อการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกโดยที่ phosphoenol pyruvate และ erythrose-4-phosphate ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการไกลโคไลซีสระหว่างการหายใจระดับเซลล์ของพืชและ pentose phosphate pathway เมื่อเข้าสู่วิถี shikimate จึงถูกเปลี่ยนไปเป็น phenylalanine ซึ่งเมื่อมีการกำจัดหมู่อะมิโนจึงเกิดเป็น hydroxycinnamic acid ขึ้นจึงทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากขึ้น (Granito และคณะ, 2008) ดังนั้นอัตราการหายใจที่ลดลงมีผลต่ออัตราการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกด้วย จวงจันทร์ ดวงพัตรา, (2529) รายงานว่าอุณหภูมิมีความสำคัญต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยาชีวเคมี ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืช อีกทั้งความแตกต่างของชนิดและถิ่นกำเนิดของพืชทำให้พืชมีความต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอกที่แตกต่างกัน โดยเมื่อได้รับอุณหภูมิที่เหมาะสมช่วยให้เมล็ดพืชดูดน้ำและกระบวนการงอกของเมล็ดเกิดเร็วขึ้น อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับพืชแต่ละชนิดอาจไม่เท่ากันโดยอุณหภูมิที่เหมาะสมของข้าวอยู่ในช่วง 20-30 องศาเซลเซียส ซึ่งในการทดลองใช้อุณหภูมิในการทำให้งอกช่วง 25-40 องศาเซลเซียส เนื่องจากข้าวกล้องที่นำมาศึกษาเป็นข้าวเขตร้อนจึงมีอุณหภูมิในการงอกสูงกว่าข้าวจากเขตหนาว และโดยทั่วไปชาวนาจะเพาะข้าวให้งอกเพื่อเป็นต้นกล้าที่อุณหภูมิห้อง (กรมการข้าวกระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2550) Sattar และคณะ (1989) พบว่าผลของอุณหภูมิระหว่างการทำให้ถั่วเขียวงอกด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณกรดแอสคอร์บิกเพิ่มขึ้นมากกว่าการแช่ถั่วเขียวในน้ำที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ Sangronis และ Machado (2005) ศึกษากระบวนการงอกของพืชตระกูลถั่วสองชนิดคือ ถั่วเขียวและถั่วดำ พบว่าเมื่อแช่พืชตระกูลถั่วในน้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทำให้ปริมาณกรดไฟติกเพิ่มขึ้นมากกว่าร้อยละ 40 ในการงอกของพืชทั้งสองชนิด ส่วนถั่วดำมีปริมาณแทนนินเพิ่มขึ้นร้อยละ 19 ถั่วขาวเพิ่มขึ้นร้อยละ 36.2 นอกจากนี้ในกระบวนการงอกดังกล่าวทำให้ถั่วดำมีปริมาณกรดแอสคอร์บิกเพิ่มขึ้นร้อยละ 33 ถั่วขาวเพิ่มขึ้นร้อยละ 300

ดังนั้นจึงเลือกอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิสำหรับการเตรียมข้าวกล้องงอกโดยการแช่น้ำในการศึกษาต่อไปเนื่องจากเป็นอุณหภูมิที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด

4. ผลของระยะเวลาระหว่างการงอกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้อง

ผลของระยะเวลาระหว่างการงอกของข้าวกล้องซึ่งทำให้งอกโดยการแช่น้ำด้วยอุณหภูมิที่คัดเลือก (25 องศาเซลเซียส) ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์แสดงดัง Figure 20 21 22 และ 23

จาก Figure 20 พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุง ข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีและข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงที่ทำให้งอกด้วยการแช่น้ำที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาต่างๆ มีค่าที่แตกต่างกันไป ($P<0.05$) และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าวกล้องงอกที่แช่น้ำเป็นเวลา 1 2 และ 4 ชั่วโมง ไม่แตกต่างจากข้าวกล้อง ($P>0.05$) จากผลการทดลองเมื่อทำให้ข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอกด้วยการแช่ในน้ำเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่าสูงที่สุดเมื่อเทียบกับที่ระยะเวลาอื่นๆ โดยมีค่าเท่ากับ 101.80 mmol FAE/100g sample ส่วนข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดเมื่อแช่น้ำเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีค่าเท่ากับ 146.84 mmol FAE/100g sample และข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดเมื่อแช่น้ำเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง โดยมีค่าเท่ากับ 165.94 mmol FAE/100g sample ซึ่งจากผลการศึกษาของ Tian และคณะ (2004) รายงานว่าข้าวกล้องพันธุ์ Koshihikari มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 18.47 มิลลิกรัม/100 กรัมแป้งข้าว และเมื่อนำไปทำให้งอกพบว่ามีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นเป็น 24.78 มิลลิกรัม/100 กรัมแป้งข้าว ส่วน Tian และคณะ (2005) พบว่าเมื่อทำให้ข้าวกล้องงอกด้วยการแช่ในน้ำเป็นระยะเวลา 12 และ 24 ชั่วโมง ทำให้มีปริมาณกรดเฟอรูลิก กรดซินามินิก และกรดไดเฟอรูเรทเพิ่มขึ้น นอกจากนี้จากผลการทดลองพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของข้าวสังข์หยดพัทลุงซึ่งเป็นข้าวที่มีสีแดงมีค่าสูงที่สุดระหว่างข้าวทั้งสามสายพันธุ์ที่นำมาศึกษา

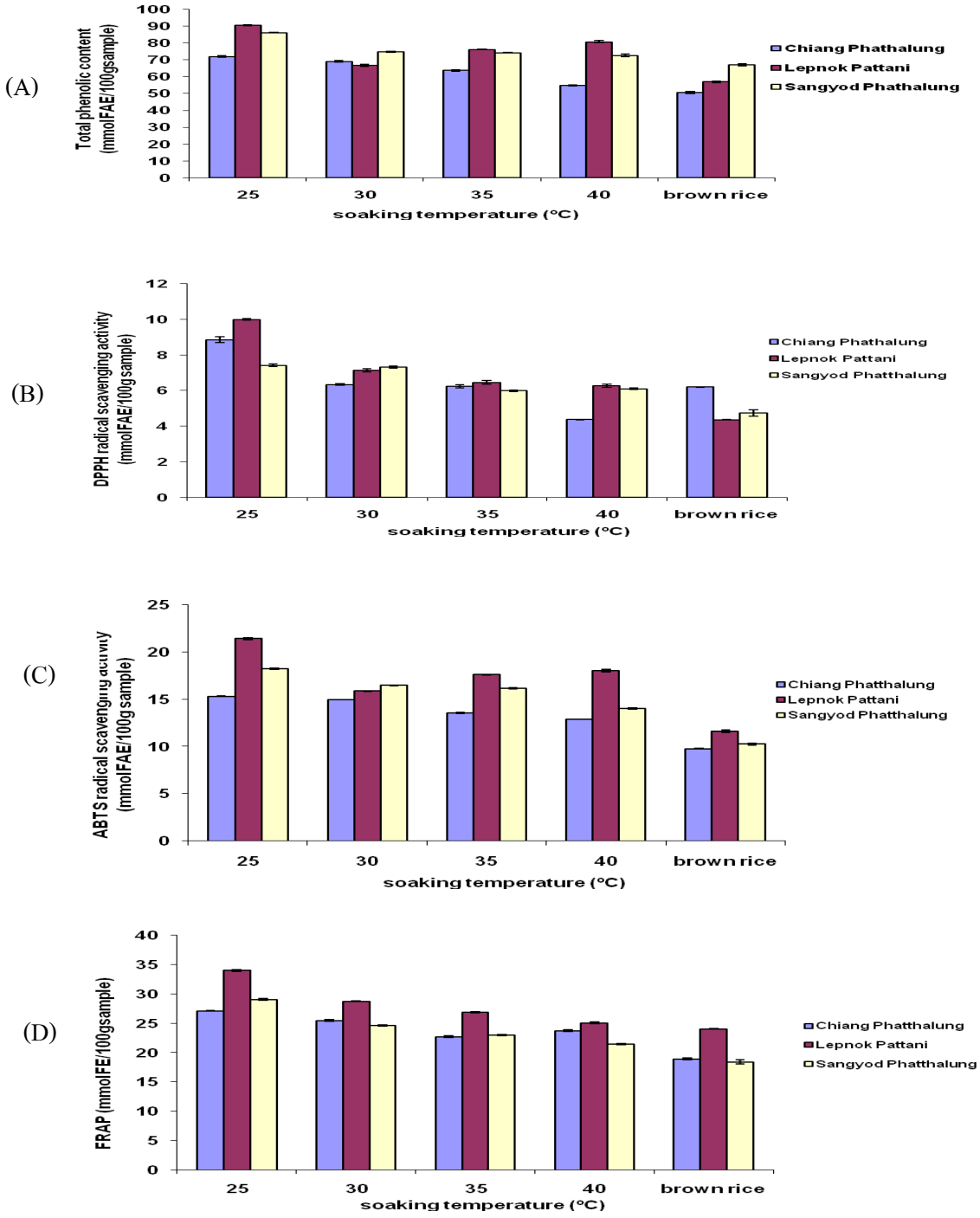


Figure 19. Total phenolic content (A), DPPH radical scavenging activity (B), ABTS radical scavenging activity (C) and FRAP assay (D) of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung after germination by soaking in water at various temperature for 24 h

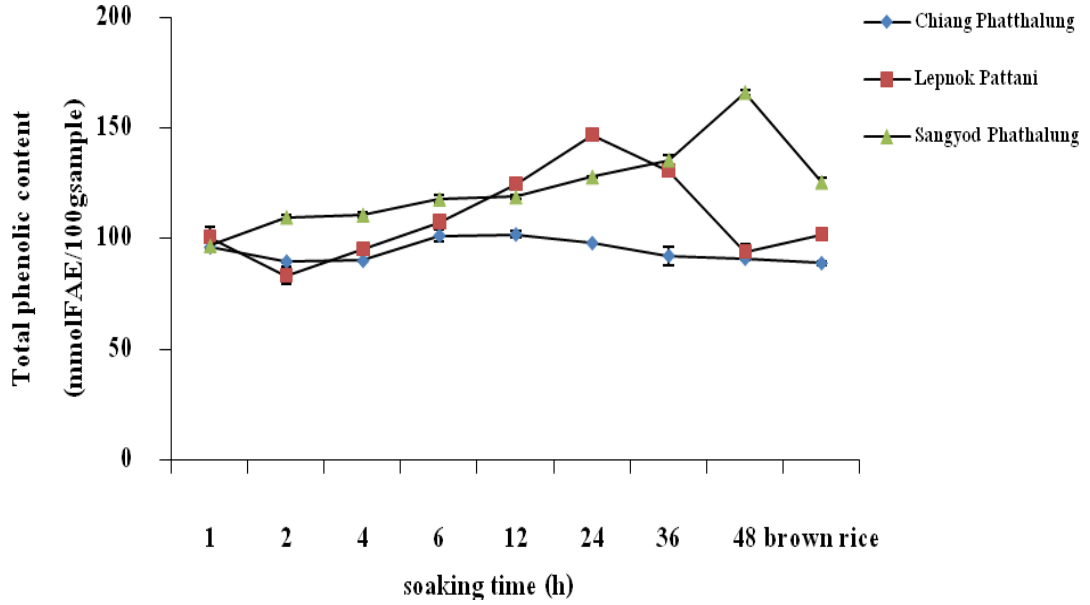


Figure 20. Total phenolic content of brown rice including Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung after germination by soaking in water (25°C) at various times

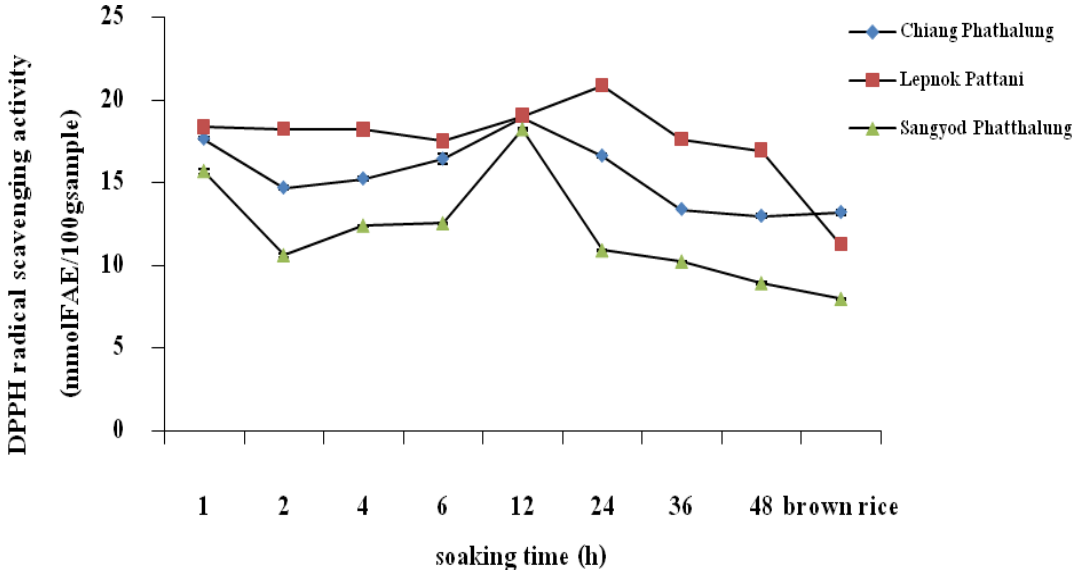
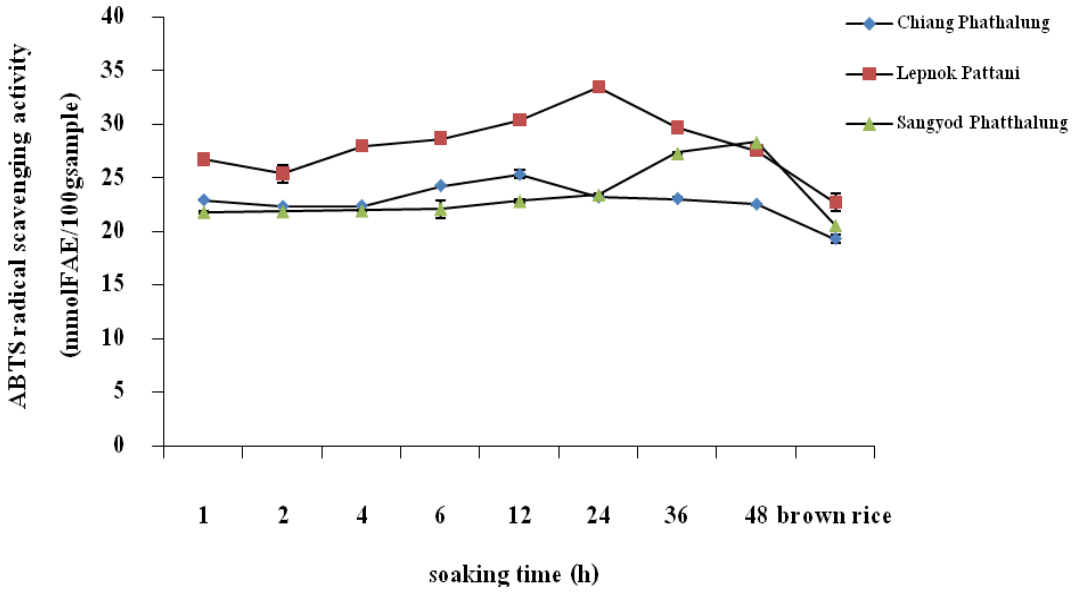


Figure 21. DPPH radical scavenging activity of brown rice including Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung after germination by soaking in water (25°C) at various times



Figurec 22. ABTS radical scavenging activity of brown rice including Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung after germination by soaking in water (25°C) at various times

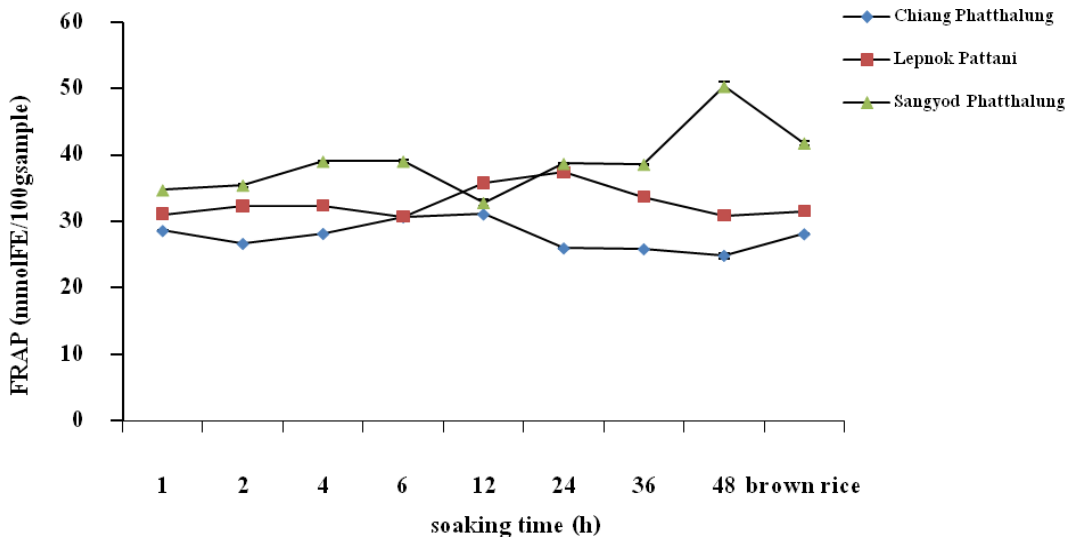


Figure 23. FRAP of brown rice including Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung after germination by soaking in water (25°C) at various times

สำหรับกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH-, ABTS radical scavenging activities และ FRAP ของข้าวกล้องเมื่อทำให้งอกด้วยการแช่น้ำที่ระยะเวลาต่างๆ แสดงดัง Figure 22 23 และ 24 พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวเฉี้ยงพัทลุงซึ่งทำให้งอกด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดเมื่อเทียบกับที่เวลาต่างๆ โดยกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH- และ ABTS radical scavenging activities ของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอกมีค่าเท่ากับ 18.95 และ 25.34 mmol FAE/100g sample ตามลำดับ ส่วน FRAP มีค่าเท่ากับ 31.12 mmol FE/100g sample ซึ่งจากกราฟเห็นได้ว่าเมื่อระยะเวลาในการแช่เพิ่มขึ้นมากกว่า 12 ชั่วโมง กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวเฉี้ยงพัทลุงมีค่าลดลง ซึ่งผลที่ได้สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่มีค่าสูงที่สุดที่ระยะเวลาในการแช่ 12 ชั่วโมง และหลังจากนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีค่าลดลง ส่วนข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH- ABTS radical scavenging activities และ FRAP สูงที่สุดเมื่อแช่ข้าวเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง โดยมีค่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันเท่ากับ 20.86 และ 33.44 mmol FAE/100g sample และ 37.40 mmol FE/100g sample ตามลำดับ และเมื่อเวลาในการแช่เพิ่มขึ้นมากกว่า 24 ชั่วโมง กิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีมีค่าลดลง สำหรับกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงซึ่งทดสอบด้วยวิธี ABTS radical scavenging activities และ FRAP มีค่าสูงสุดเมื่อทำให้งอกด้วยการแช่น้ำเป็นเวลา 48 ชั่วโมง โดยมีค่าเท่ากับ 28.35 mmol FAE/100g sample และ 50.33 FE/100g sample ตามลำดับ แต่กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity มีค่าสูงสุดเมื่อแช่ข้าวเป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง โดยมีค่าเท่ากับ 18.21 mmol FAE/100g sample ซึ่งจากผลการศึกษาอาจกล่าวได้ว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมีค่าเพิ่มขึ้นในระหว่างช่วงแรกของการทำให้งอกด้วยการแช่ในน้ำ โดยระยะเวลาที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดแตกต่างกันไประหว่างสายพันธุ์ของข้าวที่ศึกษาซึ่งพบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH- และ ABTS radical scavenging activity ของข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอกมีค่าสูงสุด ส่วน FRAP ของข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกมีค่าสูงสุด ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชนิดของกรดฟีนอลิกหรือสารประกอบฟีนอลิกที่เป็นองค์ประกอบในข้าวแต่ละชนิดแตกต่างกัน ซึ่งอาจแสดงกลไกในการต้านออกซิเดชันที่แตกต่างกันไปได้โดยสอดคล้องกับ ปาริชาต หิรัญพงษ์ และ วรรณา ตั้งเจริญชัย (2008) ซึ่งศึกษา

การเตรียมข้าวกล้องงอกสามสายพันธุ์ได้แก่ ข้าวดอกมะลิ 105 ข้าว กข 23 และข้าวชัยนาท โดยพบว่าเมื่อทำให้งอกด้วยการแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity มีค่าเท่ากับ 24.16 28.70 และ 47.99 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมแป้งข้าว ตามลำดับ ซึ่งเพิ่มขึ้นจาก 16.50 18.24 และ 24.56 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมแป้งข้าว ตามลำดับ

จากผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุง ข้าวกล้องเล็บนกปัตตานี และข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุง ระหว่างการงอกด้วยการแช่น้ำ สรุปได้ว่าอุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมข้าวกล้องงอกที่มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดของข้าวทั้งสามสายพันธุ์คือ

- ข้าวเฉี้ยงพัทลุงแช่เป็นระยะเวลา 12 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
- ข้าวเล็บนกปัตตานีแช่เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส
- ข้าวสังข์หยดพัทลุงแช่เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

โดยใช้สภาวะที่เหมาะสมในการงอกที่ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุดที่เลือกนี้เพื่อเตรียมข้าวกล้องงอกสำหรับการศึกษาในขั้นต่อไปในข้อ 3.5

5. ชนิดและปริมาณของกรดฟีนอลิกหลักที่เป็นองค์ประกอบในข้าวกล้อง

เมื่อทราบสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมข้าวกล้องงอกที่มีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดจากข้อ 3.4 แล้วจึงเตรียมข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ สำหรับวิเคราะห์ปริมาณกรดฟีนอลิกหลักที่เป็นองค์ประกอบ โดยใช้สารมาตรฐานเปรียบเทียบได้แก่ ferulic acid protocatechuic acid และ *p*-coumaric acid ด้วยวิธี HPLC เปรียบเทียบกับข้าวกล้องซึ่งแสดงผล Table 4 ถึง 6 โดยทั่วไปพบว่าข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกหลักมากกว่าข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ โดยข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์มีปริมาณ *p*-coumaric acid มากที่สุด รองลงมาคือ ferulic acid และ protocatechuic acid ตามลำดับ จากผลการศึกษาพบว่าข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอกซึ่งเตรียมด้วยสภาวะเหมาะสมที่คัดเลือก (Table 4) มีปริมาณ *p*-coumaric acid ferulic acid และ protocatechuic acid เท่ากับ 0.293 0.249 และ 0.181 mg/100g sample ตามลำดับ ส่วนข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงมีปริมาณ *p*-coumaric และ protocatechuic acid เท่ากับ 0.270 และ 0.145 mg/100g sample ตามลำดับ แต่ไม่พบ ferulic acid โดยข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอก (Table 5) มีปริมาณ *p*-coumaric acid ferulic acid และ protocatechuic acid เท่ากับ 0.153 0.139 และ 0.092 mg/100g sample ตามลำดับ ส่วนข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีมีปริมาณ *p*-coumaric acid และ protocatechuic acid เท่ากับ 0.138 และ 0.088 mg/100g sample ตามลำดับ แต่ไม่พบ ferulic acid

เช่นเดียวกันกับข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุง นอกจากนี้ข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอก (Table 6) มีปริมาณ *p*-coumaric acid ferulic acid และ protocatechuic acid เท่ากับ 0.216 0.166 และ 0.134mg/100g sample ตามลำดับ ส่วนข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงมีปริมาณ *p*-coumaric acid ferulic acid และ protocatechuic acid เท่ากับ 0.189 0.159 และ 0.110 mg/100g sample ตามลำดับ จากผลการศึกษาข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงและข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีไม่พบ ferulic acid เป็นองค์ประกอบแต่เมื่อนำไปทำให้งอกด้วยสภาวะที่คัดเลือกพบว่ามีการสร้าง ferulic acid ขึ้นส่วนข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงพบว่ามี ferulic acid เป็นองค์ประกอบและเมื่อทำให้งอกพบว่ามีการสร้างสาร ferulic acid เพิ่มมากขึ้น โดยพบว่าสารประกอบ ferulic acid มีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชันสำคัญซึ่งพบได้ในข้าวและธัญพืชเป็นหลักและพบน้อยในพืชอื่นๆ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ช่วยในการบำบัดรักษาโรคมะเร็งหลายชนิดด้วย (Marian และคณะ, 2007) อีกทั้งประเทศญี่ปุ่นอนุญาตให้มีการใช้ ferulic acid เป็นสารต้านออกซิเดชันในอาหารได้อีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Tian และคณะ (2004) ได้นำข้าวสายพันธุ์ Koshihikari ทำให้งอกพบว่า ferulic acid มีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 15.19 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง เป็น 20.04 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง ส่วน *p*-coumaric acid มีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 2.10 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง เป็น 3.05 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง และprotocatechuic acid มีปริมาณเพิ่มขึ้นจาก 0.17 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง เป็น 0.19 มิลลิกรัม/100 กรัมของแป้ง ส่วน Zhou และคณะ (2004) ศึกษาจำแนกประเภทของสารประกอบฟีนอลิกในข้าวกล้องงอกจำนวน 3 สายพันธุ์ได้แก่ Koshihikari Kyeema และ Doongara พบว่าข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์มีปริมาณ ferulic acid สูง คือมีปริมาณในช่วง 255-362 มิลลิกรัม/กิโลกรัมเมล็ดข้าว และ *p*-coumaric acid ปริมาณ 70-152 มิลลิกรัม/กิโลกรัมเมล็ดข้าว ซึ่งมากกว่าในข้าวขาวที่มีปริมาณ ferulic acid เพียง 61-84 มิลลิกรัม/กิโลกรัมเมล็ดข้าว โดยเมื่อทำให้งอกพบว่ากระบวนการงอกกระตุ้นให้เอนไซม์ต่างๆ ในข้าวมีกิจกรรมเพิ่มขึ้น ดังนั้นเมื่อเวลาผ่านไปเมล็ดข้าวเริ่มงอก (Germination) สารอาหารที่ถูกเก็บไว้ในเมล็ดข้าวถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์ตามกระบวนการชีวเคมี โดยคาร์โบไฮเดรตถูกย่อยเป็นโมเลกุลเล็กลงได้แก่ โอลิโกแซคคาร์ไรด์ น้ำตาลโมเลกุลคู่และเดี่ยว นอกจากนี้โปรตีนถูกย่อยให้เป็นเปปไทด์และกรดอะมิโน อีกทั้งมีการสังเคราะห์และสะสมสารสำคัญต่างๆ เช่น gamma aminobutyric acid tocopherol tocotrienol gamma-oryzanol ferulic acid และสารประกอบฟีนอลิกเป็นต้น (จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล, 2550)

นอกจากนี้พบว่าเอนไซม์ phenylalanine ammonium lyase และ tyrosine ammonium lyase ซึ่งพบในพืชสามารถเปลี่ยนกรดอะมิโนชนิด L-phenylalanine และ L-tyrosine ให้เป็น hydroxycinnamic acid ได้แก่ *p*-coumaric acid caffeic acid และ ferulic acid เป็นต้น โดย

การแทรกหมู่เอทธิลีนระหว่างวงฟีนิลและหมู่คาร์บอกซิลิก ทำให้คุณสมบัติในการให้อิเล็กตรอนเพิ่มมากขึ้น (Granito และคณะ, 2008)

Table 4. Phenolic acid compositions of Chiang Phatthalung brown rice and germinated brown rice (mg/100g sample)

Phenolic acid	**Brown rice**	**Germinated brown rice**
protocatechuic acid	0.145±0.005[b]	0.181±0.001[a]
p-coumaric acid	0.270±0.002[b]	0.293±0.003[a]
ferulic acid	N/D	0.249±0.007[a]
total	0.415[b]	0.723[a]

Value are given as mean ± SD from triplicate, N/D = Non detectable

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

Table 5. Phenolic acid compositions of Lepnok Pattani brown rice and germinated brown rice (mg/100g sample)

Phenolic acid	**Brown rice**	**Germinated brown rice**
protocatechuic acid	0.088±0.003[a]	0.092±0.002[a]
p-coumaric acid	0.138±0.002[b]	0.153±0.001[a]
ferulic acid	N/D	0.139±0.001[a]
total	0.226[b]	0.384[a]

Value are given as mean ± SD from triplicate, N/D = Non detectable

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

Table 6. Phenolic acid compositions of Sangyod Phatthalung brown rice and germinated brown rice (mg/100g sample)

Phenolic acid	Brown rice	Germinated brown rice
protocatechuic acid	0.110±0.004[b]	0.134±0.001[a]
p-coumaric acid	0.189±0.001[b]	0.216±0.002[a]
ferulic acid	0.159±0.003[a]	0.166±0.004[a]
total	0.458[b]	0.516[a]

Value are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same row indicate significant difference ($P<0.05$)

6. ผลของการหุงสุกต่อการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องงอก

ผลของความร้อนในการหุงสุกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกสายพันธุ์เฉี้ยงพัทลุง เล็บนกปัตตานี และสังข์หยดพัทลุง แสดงผลดัง Figure 24 ถึง 27 ซึ่งพบว่าข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันน้อยกว่าข้าวกล้องงอกและเมื่อนำข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกไปหุงสุกพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันมีค่าลดลง ($P<0.05$) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันระหว่างข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ พบว่าข้าวสังข์หยดพัทลุงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าข้าวเล็บนกปัตตานีและข้าวเฉี้ยงพัทลุง ตามลำดับ โดยข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอก ข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอกและข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเท่ากับ 75.89 43.11 และ 97.15 mmol FAE /100g sample (Figure 24) เมื่อนำข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์หุงสุกทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงเหลือ 75.36 42.89 และ 90.06 mmol FAE /100g sample ทั้งนี้พบว่าข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์เมื่อหุงสุกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกลดลงเช่นกัน

เมื่อนำข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ทั้งก่อนและหลังหุงสุกทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีต่างๆ (Figure 25 26 และ 27) พบว่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH-, ABTS radical scavenging activities และ FRAP ของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอกมีค่าเท่ากับ 9.67 9.07 mmol FAE/100g sample และ 13.80 mmol FE/100g sample ตามลำดับ และกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอกหลังหุงสุกมีค่าเท่ากับ 8.46 8.19 mmol FAE/100g sample

และ 11.97 mmol FE/100g sample ตามลำดับ ส่วนข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอกมีค่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันเท่ากับ 4.94 17.26 mmol FAE/100g sample และ 8.78 mmol FE/100g sample ตามลำดับ และข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอกหุงสุกมีค่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันเท่ากับ 4.03 4.56 mmol FAE/100g sample และ 5.30 mmol FE/100g sample ตามลำดับ โดยข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกมีค่ากิจกรรมการต้านออกซิเดชันเท่ากับ 10.53 11.35 mmol FAE/100g sample และ 17.44 mmol FE/100g sample ตามลำดับ และหลังหุงสุกมีค่าลดลงเหลือ 9.38 10.10 mmol FAE /100g sample และ 14.40 mmol FE/100g sample ตามลำดับ ซึ่งจากผลการศึกษากล่าวได้ว่าสารประกอบฟีนอลิกซึ่งสามารถแสดงกิจกรรมการต้านออกซิเดชันด้วยวิธีที่ใช้ทดสอบอาจถูกทำลายไปบางส่วนเมื่อผ่านการให้ความร้อนด้วยการหุงสุกจึงทำให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันมีค่าลดลงแต่อย่างไรก็ตามข้าวกล้องงอกหุงสุกยังคงมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันที่สูงกว่าข้าวกล้อง

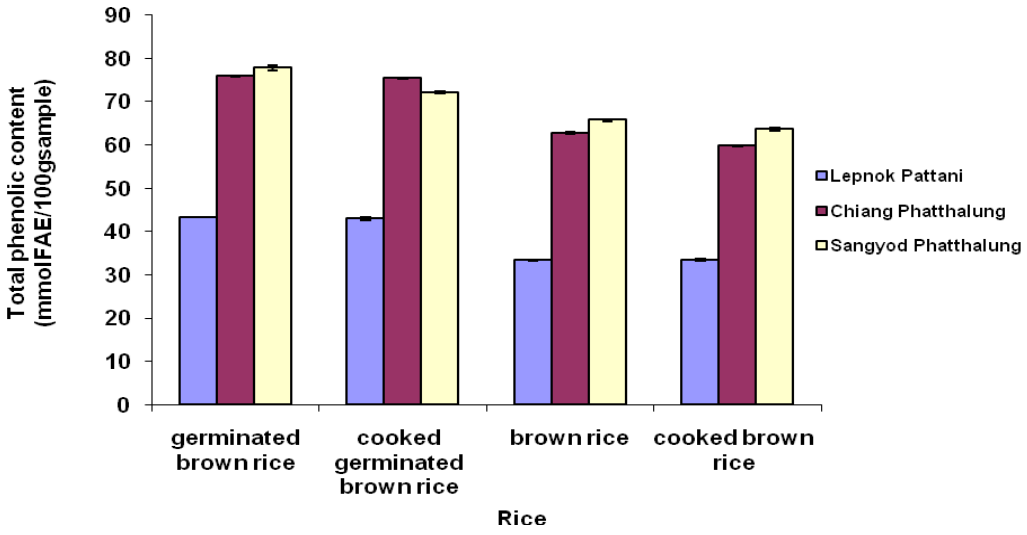


Figure 24. Total phenolic content of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung brown rice and germinated brown rice as affected by cooking

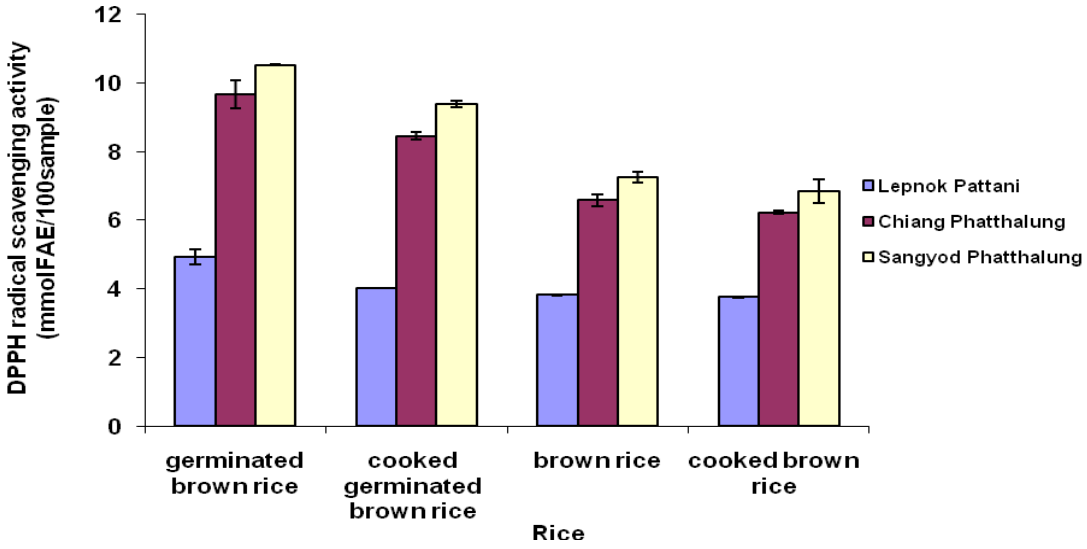


Figure 25. DPPH radical scavenging activity of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung brown rice and germinated brown rice as affected by cooking

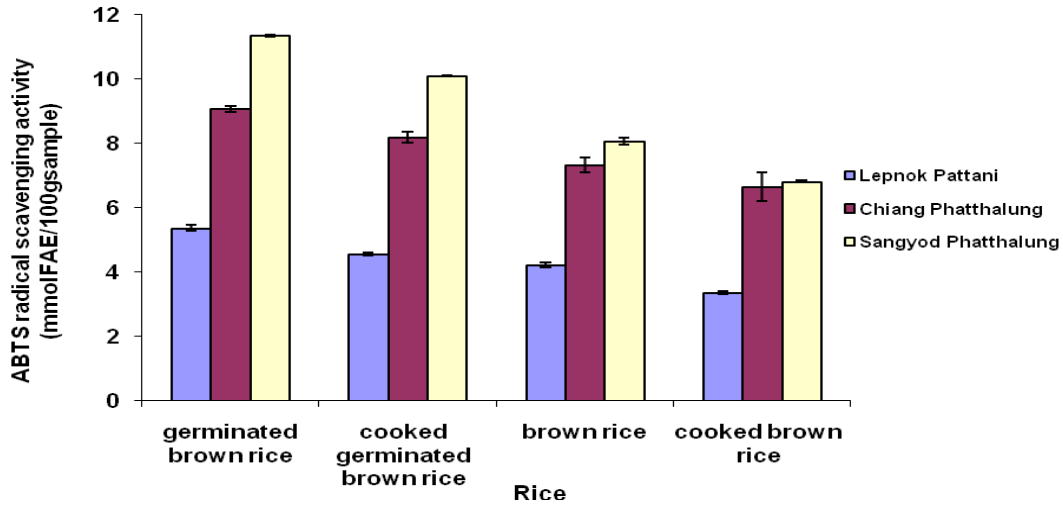


Figure 26. ABTS radical scavenging activity of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung brown rice and germinated brown rice as affected by cooking

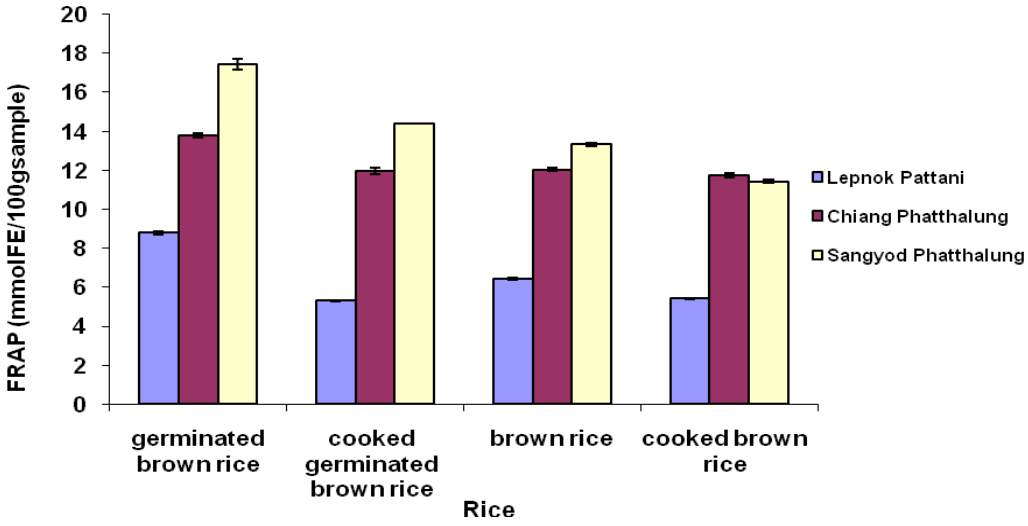


Figure 27. FRAP of Chiang Phatthalung, Lepnok Pattani and Sangyod Phatthalung brown rice and germinated brown rice as affected by cooking

นอกจากนี้เมื่อนำข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์หุงสุกมาวิเคราะห์กรดฟีนอลิกหลักที่เป็นองค์ประกอบด้วยวิธี HPLC พบว่า โดยทั่วไปข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์มีปริมาณกรดฟีนอลิกหลักมากกว่าข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ และเมื่อนำข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ไปหุงสุกทำให้กรดฟีนอลิกหลักที่เป็นองค์ประกอบมีปริมาณลดลง โดยข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอกมีปริมาณ *p*-coumaric acid ferulic acid และ protocatechuic acid เท่ากับ 0.293 0.229 และ 0.181 mg/100g sample ตามลำดับ (Table 7) และหลังหุงสุกมีค่าเท่ากับ 0.285 0.189 และ 0.173 mg/100g sample ตามลำดับ ส่วนข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอกมีปริมาณ *p*-coumaric acid ferulic acid และ protocatechuic acid เท่ากับ 0.153 0.139 และ 0.092 mg/100g sample ตามลำดับ (Table 8) และหลังหุงสุกมีค่าเท่ากับ 0.128 0.110 และ 0.066 mg/100g sample ตามลำดับ และข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกมีปริมาณ *p*-coumaric acid ferulic acid และ protocatechuic acid เท่ากับ 0.247 0.185 และ 0.134 mg/100g sample ตามลำดับ (Table 9) และหลังหุงสุกมีค่าเท่ากับ 0.216 0.166 และ 0.118 mg/100g sample ตามลำดับ ซึ่งการศึกษาโดย Bressani และ Elias (1980) พบว่าร้อยละ 30 ถึง 40 ของปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในพืชตระกูลถั่วสูญเสียไปในระหว่างการทำให้สุก นอกจากนี้ Franke และคณะ (1994) รายงานว่าร้อยละ 61.2 ของฟลาโวนอยด์ในผักสูญเสียไปภายหลังผ่านกระบวนการทำให้สุก ดังนั้นความร้อนจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งกิจกรรมการต้านออกซิเดชันในผักลดลง (Ismail *et al*., 2004) เนื่องจากความร้อนเข้าไปทำลายพันธะเอสเทอร์หรือพันธะไกลโคไซด์ทำให้สารประกอบฟีนอลิกอยู่ในรูป

อิสระหลุดออกมาในน้ำระหว่างการหุงสุกทำให้สารประกอบฟีนอลิกถูกทำลายได้ง่ายมากขึ้น (Xu and Chang, 2008) ซึ่งการหุงสุกของข้าวต้องใช้อุณหภูมิสูงจึงทำให้สามารถทำลายโครงสร้างที่เป็นวงแหวนของสารประกอบฟีนอลิกได้และมีผลให้กิจกรรมการต้านออกซิเดชันลดลง (Granito *et al*., 2008)

Table 7. Phenolic acid compositions of Chiang Phatthalung brown rice and germinated brown rice (mg/100g sample) as affected by cooking

Phenolic compounds	Rice sample			
	BR	Cooked-BR	GBR	Cooked-GBR
protocatechuic acid	0.145±0.002^{c}	0.138±0.004^{d}	0.181±0.002^{a}	0.173±0.003^{b}
p-coumaric acid	0.270±0.001^{c}	0.247±0.004^{d}	0.293±0.002^{a}	0.285±0.002^{b}
ferulic acid	N/D	N/D	0.249±0.01^{a}	0.189±0.002^{b}
total	0.415^{c}	0.385^{d}	0.723^{a}	0.647^{b}

Value are given as mean ± SD from triplicate, N/D = Non detectable

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

BR = brown rice, GBR = germinated brown rice

Table 8. Phenolic acid compositions of Lepnok Pattani brown rice and germinated brown rice (mg/100g sample) as affected by cooking

Phenolic compounds	Rice sample			
	BR	Cooked-BR	GBR	Cooked-GBR
protocatechuic acid	0.088±0.002^{b}	0.080±0.002^{b}	0.092±0.002^{a}	0.066±0.004^{c}
p-coumaric acid	0.138±0.002^{b}	0.132±0.003^{b}	0.153±0.001^{a}	0.128±0.001^{b}
ferulic acid	N/D	N/D	0.139±0.001^{a}	0.110±0.002^{b}
total	0.226^{c}	0.212^{d}	0.384^{a}	0.304^{b}

Value are given as mean ± SD from triplicate, N/D = Non detectable

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

BR = brown rice, GBR = germinated brown rice

Table 9. Phenolic acid compositions of Sangyod Patthalung brown rice and germinated brown rice (mg/100g sample) as affected by cooking

Phenolic compounds	Rice sample			
	BR	Cooked-BR	GBR	Cooked-GBR
protocatechuic acid	0.110±0.001^{b}	0.110±0.002^{b}	0.134±0.001^{a}	0.118±0.003^{b}
p-coumaric acid	0.189±0.001^{c}	0.186±0.001^{c}	0.247±0.004^{a}	0.216±0.002^{b}
ferulic acid	0.159±0.003^{b}	0.143±0.004^{c}	0.185±0.002^{a}	0.166±0.002^{b}
total	0.458^{c}	0.439^{d}	0.566^{a}	0.500^{b}

Value are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

BR = brown rice, GBR = germinated brown rice

7. ผลของการหุงสุกต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก

ผลการหุงสุกต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ ซึ่งรายงานผลในรูปค่าความแข็ง (Hardness) และค่าความเหนียว (Stickiness) แสดงผลดัง Table 10 จากผลการทดลองพบว่าข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอก, ข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอก และข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกเมื่อหุงสุกมีค่า Hardness ต่ำกว่าข้าวกล้อง โดยข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอก (39.076 N) มีค่า Hardness สูงกว่าข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอก (29.852 N) และข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอก (27.751 N) ตามลำดับ สำหรับค่า Stickiness พบว่าข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์มีค่า Stickiness สูงกว่าข้าวกล้อง โดยข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอกมีค่า Stickiness สูงที่สุด (1.733 N/s) รองลงมาคือ ข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอก (0.881 N/s) และข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอก (0.420 N/s) ซึ่ง Tian และคณะ (2005) รายงานว่าการย่อยสลายของสารชีวโมเลกุลที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงด้วยเอนไซม์ในระหว่างการงอกทำให้เกิดสารชีวโมเลกุลที่มีขนาดเล็กลงและช่วยปรับปรุงลักษณะเนื้อสัมผัสให้นุ่มและเพิ่มกลิ่นรสในข้าวบาร์เลย์ (Beal and Mottram, 1993) และข้าวโอ๊ต (Heinio *et al*., 2001) เป็นต้น อีกทั้งสายพันธุ์มีผลโดยตรงต่อลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าว (Bello *et al*., 2006) นอกจากนี้ Sareepuang และคณะ (2008) พบว่าการทำให้ข้าวกล้องงอกด้วยการแช่น้ำช่วยปรับปรุงคุณภาพของข้าวกล้องงอกเมื่อนำไปหุงสุกอีกทั้งช่วยลดเวลาการหุงสุก จากการศึกษาพบว่าเมื่อนำข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ไปหุงสุกพบว่ามีผลให้เมล็ดข้าวมีลักษณะที่แตกออกจากเยื่อหุ้มเมล็ดมากขึ้น (Figure 28) และเมล็ดข้าวมีลักษณะการเกาะกันเป็นกลุ่มมากกว่าข้าวกล้อง ซึ่งการแตกของเยื่อหุ้มเมล็ดอาจเป็นสาเหตุให้ข้าวมีค่า Hardness ลดลงและมีค่า Stickiness เพิ่มขึ้นแต่อย่างไรก็ตาม พบว่าข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกมีลักษณะการแตกออกของเยื่อหุ้มเมล็ดน้อยที่สุด

Table 10. Hardness and stickiness of cooked brown rice and germinated brown rice

Rice sample	Hardness (N)	Stickiness (N/s)
Cooked CP-BR	46.646±2.844[a]	0.264±0.124[d]
Cooked CP-GBR	39.076±1.026[b]	0.420±0.281[c]
Cooked LP-BR	35.497±2.168[c]	0.947±0.493[b]
Cooked LP-GBR	29.852±0.781[d]	1.733±0.279[a]
Cooked SP-BR	30.938±1.111[d]	0.501±0.387[c]
Cooked SP-GBR	27.751±1.336[e]	0.881±0.754[b]

Value are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference (P<0.05)

CP = Chiang Phatthalung, LP = Lepnok Pattani, SP = Sangyod Phatthalung

BR = brown rice, GBR = germinated brown rice

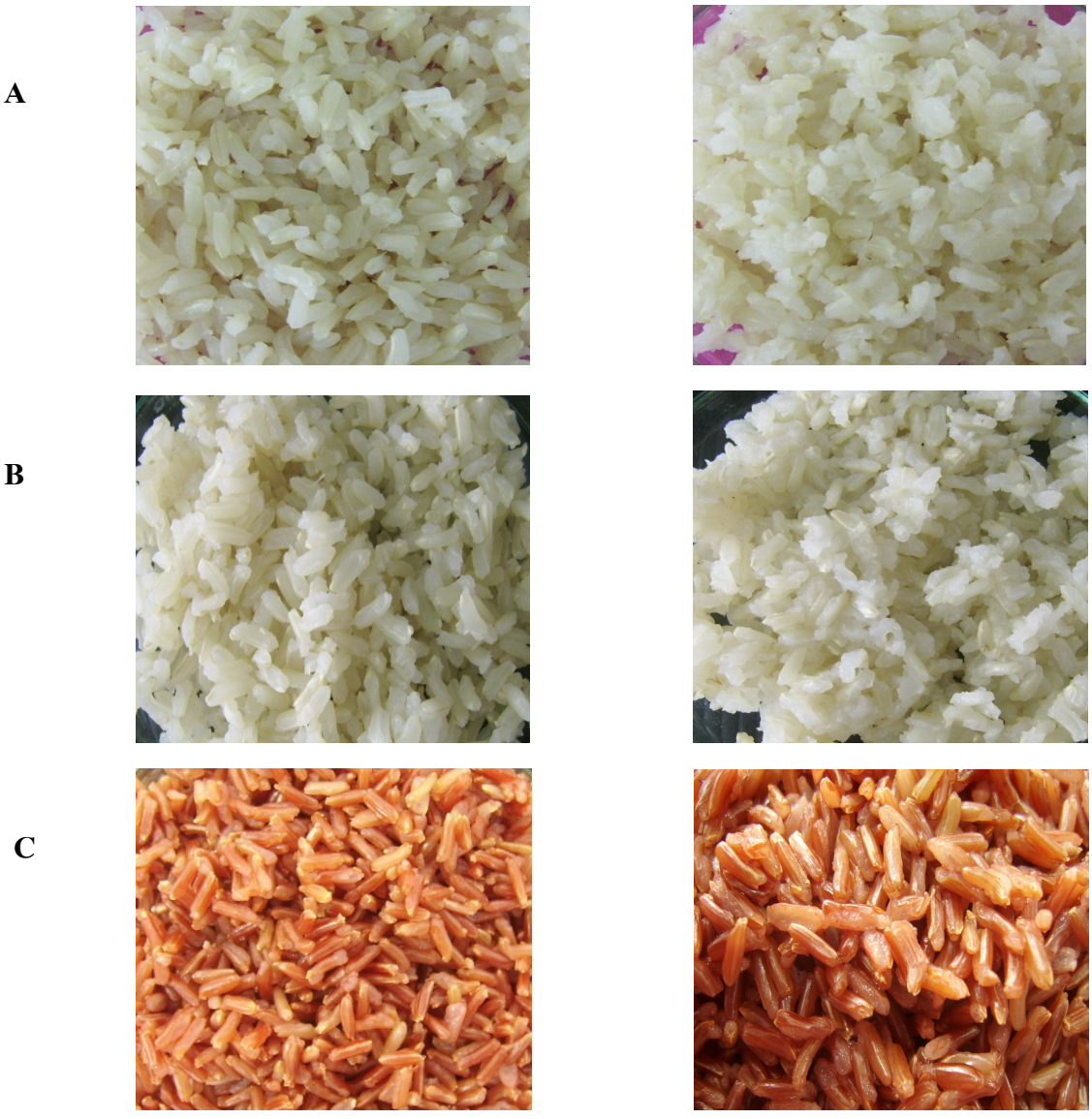


Figure 28. Appearance of Chiang Patthalung (A), Lepnok Pattani (B) and Sangyod Patthalung (C) brown rice and germinated brown rice after cooking

บทที่ 4

บทสรุปและข้อเสนอแนะ

บทสรุป

1. องค์ประกอบทางเคมีเบื้องต้นของข้าวกล้องงอกได้แก่ โปรตีนและไขมันมีปริมาณมากกว่าข้าวกล้องแต่ปริมาณเถ้าและเยื่อใยมีปริมาณน้อยกว่าข้าวกล้อง แต่ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องงอกมีค่าสูงกว่าข้าวกล้อง

2. ข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95

3. ข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ที่ทำให้งอกโดยการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงกว่าการแช่ที่อุณหภูมิ 30 35 และ 40 องศาเซลเซียส โดยระยะเวลาที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุดด้วยการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สำหรับข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอกคือ 12 ชั่วโมง ข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอกคือ 24 ชั่วโมง และข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอกคือ 48 ชั่วโมง

4. กรดฟีนอลิกหลักที่พบในข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกได้แก่ *p*-coumaric acid ferulic acid และ protocatechuic acid โดยกรดฟีนอลิกหลักในข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อทำให้งอกแต่อย่างไรก็ตามเมื่อหุงสุกปริมาณกรดฟีนอลิกหลักปริมาณลดลงและเมื่อหุงสุกข้าวกล้องงอกมีค่าความแข็ง (Hardness) น้อยกว่าข้าวกล้องแต่มีค่า Stickiness สูงกว่าแสดงว่าข้าวกล้องงอกหุงสุกมีความนุ่มและเหนียวมากกว่าข้าวกล้องหุงสุก

5. ข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ประกอบด้วยกรดฟีนอลิกที่สามารถแสดงกิจกรรมในการต้านออกซิเดชันได้ โดยมีกลไกในการต้านออกซิเดชันเป็นสารต้านออกซิเดชันแบบ ปฐมภูมิ (primary antioxidant) โดยการให้ไฮโดรเจนหรืออิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระ ดังนั้นข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์จึงเป็นอีกแหล่งหนึ่งของสารต้านออกซิเดชันธรรมชาติ

ที่ดีสำหรับคนไทย ซึ่งบริโภคข้าวเป็นอาหารหลักและอาจส่งผลดีต่อสุขภาพโดยรวมของผู้บริโภค อันเนื่องมาจากสารต้านออกซิเดชันที่พบในข้าวกล้องงอก

ข้อเสนอแนะ

สภาวะที่เหมาะสมในการงอกของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์นอกจากอุณหภูมิและระยะเวลาในการแช่น้ำแล้วยังมีปัจจัยอื่นๆ อีก ได้แก่ พีเอชของน้ำที่ใช้แช่ข้าว ปริมาณออกซิเจนและแสง เป็นต้น ซึ่งปัจจัยเหล่านี้อาจทำให้เมล็ดข้าวมีอัตราการสร้างสารต้านออกซิเดชันมากขึ้นได้ ดังนั้นจึงอาจมีการศึกษาปัจจัยเหล่านี้เพิ่มเติมเพื่อให้ข้าวกล้องงอกมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชันเพิ่มขึ้น

เอกสารอ้างอิง

กรมการข้าว กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 2550. การอนุรักษ์พันธุกรรมข้าว (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.ricethailand.go.th/rkb/ xx2-03_ricebreed_pantukum.html (23 กันยายน 2550)

กรมวิชาการเกษตร. 2543. ฐานความรู้ด้านพืช-ข้าว (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://www.doa.go.th/pl_data/rice/1stat/st01-html (23 กันยายน 2550)

จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล. 2550. มหัศจรรย์ของความเป็นข้าว (ออนไลน์). สืบค้นจาก : http://pcog.pharmacy.psu.ac.th (20 ตุลาคม 2550)

จวงจันทร์ ดวงพัตรา. 2529. เทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์. ภาควิชาพืชไร่นา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ชาญ มงคล. 2536. ข้าว. หน้า 12-30. โรงพิมพ์การศาสนา กรมการศาสนา. กรุงเทพฯ

ปาริชาต หิรัญพงษ์ และวรรณา ตั้งเจริญชัย. 2008. ผลของการงอกต่อปริมาณสารชีวกิจกรรมในข้าวกล้องงอกสามสายพันธุ์. 34th Congress on Science and Technology of Thailand. กรุงเทพฯ. 1-5.

พจนานุกรม ฉบับราชบัณฑิตยสถาน. 2525. บริษัท อักษรเจริญทัศน์ อจท.จำกัด: กรุงเทพฯ

สงกรานต์ จิตรากร. 2531. ความสำคัญและวิวัฒนาการ. *ใน* ข้าวไพร่ข้าวเจ้าของชาวสยาม. ศิลปวัฒนธรรม ฉบับพิเศษ. หน้า 26-36. สำนักพิมพ์ศิลปวัฒนธรรม. กรุงเทพฯ

Adom, K. K. and Liu, R. H. 2002. Antioxidant activity of grains. J. Agric. Food Chem. 50 : 6182-6187.

Adom, K. K., Sorrells, M. E. and Liu, R. H. 2003. Phytochemical profiles and antioxidant activity of wheat varieties. J. Agric. Food Chem. 51 : 7825-34.

AOAC. 2000. Official method of analysis, 16th ed. Association of official analytical chemists. Washington, DC.

Angelo, A. J. S. 1996. Lipid oxidation in food. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 36 : 175-224.

Aoto, H., Suginao, T., Shinmura, H., Muzukuchi, A., Kise, M., Teramoto, S., Tsuchiya, K. and Ishiwata, K. 2003. Germinated brown rice. US Patent No. 6,630,196, October 7, 2003.

Aruoma, O. I. 1994. Deoxyribrose assay for detecting hydroxyl radicals. Methods Enzymol. 233 : 57-66.

Bello, M., Baeza, R. and Tolaba, M. P. 2006. Quality characteristics of milled and cooked rice affected by hydrothermal treatment. J. Food Eng. 72 : 124-133.

Benzie, I. F. F. and Strain, J. J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. Anal. Biochem. 239 : 70-76.

Binsan, W., Benjakul, S., Visessanguan, W., Roytrakul, S., Tanaka, M. and Kishimura, H. 2008. Antioxidative activity of Mungoong, an extract paste from the cephalothorax of white shrimp (*Litopenaeus vannamei*). Food Chem. 106 : 185-193.

Brand-Williams, W., Cuvelier, M. E. and Berset, C. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensm. Wiss. Technol. 28 : 25-30.

Bressani, A. and Elias, L. G. 1980. The nutritional role of polyphenols in beans. *In* Poloyphenols in cereal and lequmes. (Hulse, J. H., ed). p. 61-68. International Development Research Center. Ottawa, Canada.

Chen, Q., Shi, H and Ho, C. T. 1992. Effect of rosemary extracts and major constituents on lipid oxidation and soy bean lipoxygenase activity. J. Am. Oil Chem. Soc. 69 : 999-1002.

Cheng, G. W. and Breen, P. J. 1991. Activity of phenylalanine ammonia-lyase (PAL) and concentration of anthocyanins and phenolics in developing strawberry fruit. J. Am. Horticultural Sci. Soc. 116 : 865-869.

Choi, Y., Jeong, H. S. and Lee, J. 2007. Antioxidant activity of methanolic extracts from some grains consumed in Korea. Food Chem. 103: 130-138.

Chung, H. S. and Chin, J. C. 2007. Characterization of antioxidant alkaloids and phenolic acids from anthocyanin-pigmented rice (*Oryza sativa cv. Heugjinjubyeo*). Food Chem. 104 : 1670-1677.

Clifford, M. N. 1999. Review: Chlorogenic acids and other cinnamates-nature, occurrence and dietary burden. J. Agric. Food Sci. 79 : 362-372.

Del Pozo-Insfran, D., Brenes, C. H., Serna Saldivar, S. O. and Talcott, S. T. 2006. Polyphenolic and antioxidant content of white and blue corn (*Zea mays* L.) products. Food Res. Int. 39 : 696-703.

Durling, N. E., Catchpole, O. J., Grey, J. B., Webby, R. F., Mitchell, K. A. and Foo, L. Y. 2007. Extraction of phenolics and essential oil from dried sage (*Salvia officinatis*) using ethanol-water mixture. Food Chem. 101 : 1417-1424.

Elmaki, H. B., Babiker, E. E. and Tinay, A. H. 1999. Changes in chemical composition, grain malting, starch and tannin contents and protein digestibility during germination of sorghum cultivars. Food Chem. 64 : 331-336.

Franke, A. A., Custer, L. J., Cerna, C. M. and Narala, K. K. 1994. Quantitation of phytoestrogens in legume by HPLC. J. Agri. Food Chem. 42 : 1905-1913.

Frankel, E.N. 1984. Lipid oxidation: mechanisms, products and biological sinnificance. J. Am. Oil Chem. Soc. 61 : 1908-1917.

Gordon, M. H. 2001. The development of oxidative rancidity in food. *In* Antioxidants in food. (Porkorny, J., Yanishlieva, N. and Gordon, M., ed.). p. 7-20. CRC Press. New York.

Goupy, P., Hugues, M. and Amiot, M. J. 1999. Antioxidant composition and activity of barley (*Hordeum vulgare*) and malt extracts and of isolated phenolic compounds. J. Agric. Food Sci. 79: 1625-1634.

Gramito, N., Paolini, M. and Perez, S. 2008. Polyphenol and antioxidant capacity of *Phaseolus vulgaris* stored under extreme conditions and processed. Lebensm. Wiss. Technol. 41 : 994-999.

Halliwell, B. 1994. Antioxidant: sense or speculation. Nutrition Today. 29 : 15-19.

Hall lll, C. 2001. Sources natural antioxidants. *In* Antioxidants in Food. (Pokony, J., Nedyalka, N. and Gordon, M., ed.). p. 159-209. Cambridge : Woodhead publishing Ltd. New York.

Heinio, R. L., Oksman-Caldentey, K. M., Latva-Kala, K., Lehtinen, P. and Poutanen, K. 2001. Effects of drying treatment conditions on sensory profile of germinated oat. Cereal Chem. 78 : 707-714.

Ismail, A., Marjan, Z. M. and Foong, C. W. 2004. Total antioxidant activity and phenolic content in selected vegetables. Food Chem. 87 : 581-586.

Jadhav, S. J., Nimbalkar, S. S., Kulkarni, A. D. and Madhavi, D. L. 1995. Lipid oxidation in biological and food systems. *In* Food Antioxidant: technological, toxicology and health perspectives. (Kozlowski, T. T., ed.). p. 145-295. USA.

Juliano, C., Cossu, M., Alamanni, M. C. and Piu, L. 2005. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. Int. J. Pharm. 299 : 146-154.

Karpinska, M., Borowski, J. and Danowska-Oziewicz, M. 2000. The use of natural antioxidants in ready-to-serve food. Food Chem. 72 : 5-9.

Katina, K., Liukkonen, K. H., Norja, A. K., Adlercreutz, H., Hinonen, S. M., Lampi, L. M., Pihlava, J. M. and Poutanen, K. 2007. Fermentation-induced changes in the nutritional value of native or germinated rye. Cereal Sci. 46 : 348-355.

Kayahara, H. and Tukuhara, M. 2000. Surprising live germinated brown rice (In Japanese). Shougakukan-Square Co., Tokyo.

Kim, S. Y., Kim, Y. S., Kim, Y. S., Kim, J. M. and Suh, H. J. 2007. The application of monascus rice and rice beverage preparation. Food Sci. Technol. 60 : 135-142.

Kinsella, J. E., Frankel, E., German, B. and Kanner, J. 1993. Possible mechanisms for the protective role of antioxidants in wine and plant foods. Food Technol. 47 : 85-89.

Komatsuzaki, N., Tsukahara, K., Toyoshima, H., Suzuki, T., Shimizu, N. and Kimura, T. 2007. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. J. Food Eng. 78 : 1-5.

Kono, Y., Kojima, A., Nagai, R., Watanabe, M., Kawashima, T., Onizawa, T., Teraoka, T., Watanabe, M., Koshino, H., Uzawa, J., Suzuki, Y. and Sakurai, A. 2004. Antibacterial diterpenes and their fatty acid conjugate from rice leaves. Phytochem. 65 : 1291-1298.

Lee, K. G., Mitchell, A. E. and Shibamoto, T. 2000. Determination of antioxidant properties of aroma extracts from various beans. J. Agric. Food Chem. 48 : 4817-4820.

Lee, Y. R., Woo, K. S., Kim, K. J., Son, J-R. and Jeong, H-S. 2007. Antioxidant activities of ethanol extracts from germinated specialty rough rice. Food Sci. Biotechnol. 5 : 765-770.

Leelayuthsoontorn, P. and Thipayarat, A. 2006. Texture and morphological change of Jasmine rice under various clevated cooking conditions. J. Agric. Food Chem. 96 : 606-613.

Li, C. and Xie, B. 2000. Evaluation of the antioxidant and pro-oxidant effects of tea catechin oxypolymers. J. Agric. Food Chem. 48 : 6362-6366.

Liu, Q. and Yao, H. 2007. Antioxidant activities of barley seeds extracts. Food Chem. 102 : 732-737.

Lloyd, J. B., Seibenmorgen, J. T. and Beers, W. K. 2004. Effects of commercial processing on antioxidants in rice bran. Cereal Chem. 77 : 551-555.

Lorenz, K. 1980. Cereal sprouts: composition, nutritive value, food application. CRC Crit. Rev. Food Sci. Nutr. Bull. 13 : 353-385.

Madhavi D. L. and Salunkhe D. K. 1994. Brown rice. *In* Food Additive Toxicology. p. 89. Marcel Dekker Inc. New York.

Mahasawat, N., Photchanachai, S., Laohakunjit, N. and Kerdchoechuen, O. 2008. Nutritive Changes of Germinated brown rice cv. Khao Dok Mali 105 and Red Hawn rice. King Mongkut's University of Technology Thonburi, Thailand.

Manna, K. M., Naing, K. M. and Pe, H. 1995. Amylase activity of some roots and sprouted cereals and beans. Food Sci. Nutr. Bull. 16 : 1-4.

Margarita, L. L. 2002. Identification and quantification of impact odorants of aged red wines from rioja. GC-olfactometry, quantitative GC-MS, and odor evaluation of HPLC fractions. J. Agric. Food. Chem. 49 : 2924-2929.

Marian, V., Dieter, L., Jan, M., Mark, T. D. C, Milan, M., Joshua, T. 2007. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. Int. J. Biochem. Cell Biol. 39 : 44-84

Michael, H. Gordon. 2001. The development of oxidative rancidity in food. *In* Antioxidants in food. p. 7-20. New York.

Mikola, M., Brinck, O. and Jones, B. L. 2001. Characterization of oat endoproteinases that hydrolyze oat avenins. Cereal Chem. 78 : 55-58.

Moldenhauer, K. A., Champagne, E. T., McCaskill, D. R. and Guraya, H. 1998. Functional products from rice. *In* Functional Foods: Biochemical & Processing Aspects. (Mazza, G., ed.). p. 71-89. Technomic Publishing Co., Inc. New York.

Moore, J., Hao, Z., Luther, M., Costa, J. and Yu, L. L. 2005. Carotenoid, tocopherol, phenolic acid and antioxidant properties of Maryland-grown soft wheat. J. Agric. Food Chem. 53 : 6649-6657.

Namiki, M. 1990. Antioxidant/Antimutagens in food. Crit. Rev. Food Sci. Nutr. 29 : 273-300.

Neptoe, V., Grosso, N. R. and Guzman, C. A. 2005. Optimization of extraction of phenolic antioxidants from peanut skins. J. Agri. Food Sci. 85 : 33-38.

Nirmala, N., Subba, M. V. S. S. T., Rao, S. and Muralikrishna, G. 2000. Carbohydrates and their degrading enzymes from native and malted finger millet (*Ragi, Eleusine coracana, Indaf-15*). Food Chem. 69 : 175-180.

Noguchi, N., Komuro, E., Niki, E. and Wilson, R. L. 1994. Action of curcumin as an antioxidant against lipid peroxidation. Jpn. J. Oil Chem. Soc. 43 : 1045-1051.

Ohtsubo, K., Suzuki, K., Yasui, Y. and Kasumi, T. 2005. Bio-function components in the processed pre-germinated brown rice by a twin-screw extruder. J. Food Comp. Anal. 18: 303-316.

Parrodo, J., Miramontes, E., Jover, M., Gutierrez, J. F., Teran, L-C. and Bautista, J. 2006. Preparation of a rice bran enzymatic extract with potential use as functional food. Food Chem. 98 : 742-748.

Pietta, P. 2000. Flavonoids as antioxidants. J. Nat. Prod. 63 : 1035-1042.

Pratt, D. and Huson, B. J. F. 1990. Natural antioxidants not exploited commercially. *In* Food Antioxidants. (Huson, B. J. F., ed.). p. 171-191. Elsevier Science Publishers. London.

Preet, K. and Punia, D. 2000. Antinutrients and digestibility (in vitro) of soaked, dehulled and germinated cowpeas. Nutr Health. 14 : 109-117.

Raj, S. A. and Singaravadival, R. 1979. Influence of soaking and steaming on the loss of simple constituents in paddy. Food Sci and Techol. 17 : 141-143.

Rajalakshmi D. and Narasimhan. 1995. Food antioxidants: Source and method of evaluation. *In* Food Antioxidants. (Madhavi, D. L., Despande, S. S. and Salunkhe, D. K., eds.). p. 5-64. Marcel Dekker, Inc. New York.

Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. Free Radi. Biol. Medic. 26 : 1231-1237.

Sangronis, E. and Machado, C. J. 2007. Influence of germination on the nutritional quality of *Phaseolus valgaris* and *Cajanus cajan*. Lebensm. Wiss. Technol. 40 : 116-120.

Sareepuang, K., Siriamornpun, S., Wiset, L. and Meeso, N. 2008. Effect of soaking temperature on physical, chemical and cooking properties of Parboiled Fragrant Rice. J. Agric. Sci. 4 : 409-415.

Sattar, A., Durrani, S. K., Mahmood, F., Ahmad, A. and Khan, I. 1989. Effect of soaking and germination temperatures on selected nutrients and antinutrients of mungbean. Food Chem. 2 : 111-120.

Shahidi, F. and Wannasundara, P. K. J. P. D. 1992. Phenolic antioxidants. Crit. Rev. Food Sci. Nutr . 32 : 67-103.

Shi, H., Noguchi, N. and Niki, E. 2001. Introducing natural antioxidants. *In* Antioxidants in Food. (Pokony, J., Nedyalka and Gordon, M., eds.). p. 147-157. Woodhead publishing Ltd. Cambridge.

Shibuya, N. 1984. Phenolic acids and their carbohydrate esters in rice endosperm cell walls. Phytochem. 23 : 2233-2237.

Shoichi, I. 2004. Marketing of value-added rice products in Japan: germinated brown rice and rice bread. Presented at FAO rice Conference. Italy. 12-13 February 2004.

Shyama Prasad Rao, R. and Muralikrishna, G. 2006. Water soluble feruloyl arabinoxylans from rice and ragi: changes upon malting and their consequence on antioxidant activity. Phytochem. 67 : 91-99.

Siddhuraju, P. and Becker, K. 2003. Antioxidant properties of various extracts of total phenolic constituents from three different agroclimatic origins of drumstick tree (Moringa oleifera lam.) leaves. J. Agric. Food Chem. 51 : 2144-2155.

Slinkard, K. and Singleton, V. L. 1977. Total phenol analysis: automation and comparison with manual methods. Am. J. Enol. Viticult. 28 : 49-55.

Subba Rao, M. V. S. S. T. and Maralikrishna, G. 2000. Evaluation of antioxidant properties of free and bound phenolic acids from native and malted finger millet. J. Agric. Food Chem. 50 : 889-892.

Tian, S., Nakamura, K. and Kayahara, H. 2004. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice and germinated brown rice. J. Agric. Food Chem. 52 : 4808-4813.

Tian, S., Nakamura, K., Cui, T. and Kayahara, H. 2005. High-performance liquid chromatographic determination of phenolic compounds in rice. J. Chromatogr. A. 1063 : 121-128.

Uddin, S. and Ahmad, S. 1994. Dietary antioxidants protection against oxidative stress. *In* Antioxidant in Food. (Biochem, ed.). p. 2-7. Canada.

Wang, J., Sun, B., Cao, Y., Tian, Y. and Li, X. 2008. Optimisation of ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from wheat bran. J. Agric. Food Chem. 106 : 804-810.

Xu, B. and Chang, K. C. 2008. Effect of soaking, boiling and steaming on total phenolic content and antioxidant activities of cool season food lequmes. Food Chem. 110 : 1-13.

Xu, Z., Hua, N. and Godbar, J. S. 2001. Antioxidant activity of tocopherols, tocotrienols, and gamma- oryzanol components from rice bran against cholesterol oxidation accelerated by 2, 2′azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride. J. Agric. Food Chem. 49 : 2077-2081.

Yang, F., Basu, T. K. and Ooraikul, B. 2001. Studies on germination conditions and antioxidants contents of wheat grain. Food Sci. Nutr. 52 : 319-330.

Zhang, M. W., Guo, B. J., Zhang, R. -F., Chi, J. W., Wei, Z. C., Xu, Z. H., Zhang, Y. and Tang, X. J. 2006. Separation, purification and identification of antioxidant compositions in black rice. J. Agric. Food Sci. 5 : 431-440.

Zhou, Z., Robard, K., Helliwell, S. and Blanchard, C. 2004. The distribution of phenolic acids in rice. Food Chem. 87 : 401-406.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

ภาคผนวก ก-1 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. เครื่องบดผสมตัวอย่าง (Blender)
2. ตู้อบไฟฟ้า ยี่ห้อ Memmert รุ่น D-91126 ประเทศสหรัฐอเมริกา
3. ภาชนะหาความชื้น (ถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝา)
4. โถดูดความชื้น
5. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี

วิธีการ

1. อบถ้วยอะลูมิเนียมพร้อมฝาในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสนาน 3 ชั่วโมง วางให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักแล้วนำไปอบซ้ำเป็นเวลา 30 นาที จนทราบน้ำหนักที่แน่นอน
2. ชั่งตัวอย่างให้ได้น้ำหนักที่แน่นอนประมาณ 1-2 กรัม ใส่ลงในถ้วยอะลูมิเนียมเกลี่ยตัวอย่างให้กระจายทั่ว
3. นำไปอบในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซียลเซียส 3 ชั่วโมง นำออกมาวางให้เย็นในโถดูดความชื้นนาน 30 นาที แล้วชั่งน้ำหนักนำไปอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนได้น้ำหนักที่แน่นอนชั่งทั้งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม แล้วนำค่าที่ได้ไปคำนวณปริมาณความชื้นจากสูตร

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)} = \frac{(W_1-W_2) \times 100}{W_1}$$

W_1 = น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ (กรัม)

W_2 = น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ (กรัม)

2. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนโดยวิธี Kjeldahl (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. หลอดย่อยโปรตีน (Kjeldahl tube)
2. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี
3. อุปกรณ์ย่อยและกลั่นโปรตีน ยี่ห้อ FOSS TECATOR รุ่น 2006 และ 2200 ตามลำดับ ประเทศสวีเดน
4. ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 และ 500 มิลลิลิตร
5. ขวดปรับปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร
6. ปิเปต ขนาด 5 และ 10 มิลลิลิตร
7. บิวเรต ขนาด 25 มิลลิลิตร
8. กระดาษกรอง
9. กระบอกตวงขนาด 20 และ 50 มิลลิลิตร

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริกเข้มข้น
2. สารเร่งปฏิกิริยาใช้คอปเปอร์ซัลเฟต 1 ส่วนผสมกับโพแทสเซียมซัลเฟต 9 ส่วน
3. โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 40 และร้อยละ 20
4. กรดบอริกเข้มข้นร้อยละ 4
5. กรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้นมาตรฐาน 1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมเทตราบอเรต (Borax) ให้ได้น้ำหนักแน่นอน (4 ตำแหน่ง) 4 กรัม ใส่ลงในขวดรูปชมพู่ขนด 250 มิลลิลิตร ละลายด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 50 มิลลิลิตร ทำซ้ำ 3 ขวด แต่ละขวดเติม 2-3 หยด ของเมทิลเรด (อินดิเคเตอร์) แล้วไตเตรตกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่เตรียมไว้สีของสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพูที่จุดยุติสามารถคำนวณความเข้มข้นที่แน่นอนของกรดไฮโดรคลอริกจากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นของสารละลายไฮโดรคลอริก} = \frac{W_1}{W_2 \times 0.1907}$$

W_1 = น้ำหนักของโซเดียมเทตราบอเรต (กรัม)

W_2 = ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตรเตรท (มิลลิลิตร)

กรัมสมมูลของโซเดียเทตราบอเรต = 190.72

6. อินดิเคเตอร์เตรียมโดย ก. ชั่ง 0.125 กรัม เมทธิลเรดและ 0.2 กรัม เมทิลีนบลู (Methylene blue) ละลายในเอทานอล 100 มิลลิลิตร ข. ชั่ง 0.1 กรัมโบรโมครีซอลกรีน (Bromocresol green) ละลายในน้ำกลั่นและปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร นำมาผสมกันในอัตราส่วน ก : ข เท่ากับ 5:1

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างบนกระดาษกรองให้ได้น้ำหนักแน่นอน (4 ตำแหน่ง) ประมาณ 1-2 กรัม ห่อให้มิดชิดลงในขวดย่อยโปรตีน
2. เติมสารเร่งปฏิกิริยา 5 กรัม และกรดซัลฟูริกเข้มข้น 20 มิลลิลิตร
3. นำไปย่อยที่อุณหภูมิ 300 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และย่อยที่อุณหภูมิ 400 องศาเซลเซียส จนได้สารละลายใสแล้วตั้งทิ้งให้เย็น
4. เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตรในหลอดย่อยโปรตีน
5. ต่อหลอดย่อยโปรตีนในส่วนของเครื่องกลั่นโปรตีนและวางขวดรูปชมพู่ที่เติมกรดบอริกปริมาตร 40 มิลลิตรแล้ววางที่ตำแหน่งรับสารละลายของเครื่องกลั่นโดยให้ปลายจุ่มในสารละลายกรดบอริก เติมอินดิเคเตอร์ 2 หยด ทำการกลั่นโปรตีนตามโปรแกรมที่ตั้งไว้ปริมาตรสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 40 ปริมาณ 50 มิลลิลิตร และกลั่นเป็นเวลา 4 นาที
6. ไตเตรทของเหลวที่กลั่นได้ด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐานจนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีเขียวอมฟ้าเป็นสีชมพูที่จุดยุติ นำข้อมูลที่ได้ไปคำนวณปริมาณไนโตรเจนหรือปริมาณโปรตีน
7. ทำ blank โดยใช้กระดาษกรองไม่ใส่ตัวอย่างแล้วทำตามข้อ 2-6

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{1.4007 \times N \times (Vs-Vb)}{W}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (ร้อยละ)} = \frac{1.4007 \times N \times (Vs-Vb) \times F}{W}$$

N = ความเข้มข้นของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกมาตรฐาน (นอร์มอล)

Vs = ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

Vb = ปริมาตรของสารละลายกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ไตเตรทแบลงค์ (มิลลิลิตร)

W = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

F = แฟกเตอร์ (เท่ากับ 5.95)

3. การวิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยวิธี Soxhlet Extraction Method (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดสกัดไขมัน (Soxhlet apparatus) ยี่ห้อ Selecta รุ่น 6003286 ประเทศสเปน
2. หลอดใส่ตัวอย่าง (Extraction thimble)
3. เครื่องบดผสมตัวอย่าง (Blender)
4. ตู้อบไฟฟ้า ยี่ห้อ Memmert รุ่น D-91126 ประเทศสหรัฐอเมริกา
5. โถดูดความชื้น
6. เครื่องเครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี
7. เครื่องระเหยสุญญากาศ ยี่ห้อ EYELA รุ่น SB-1000 ประเทศญี่ปุ่น

สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีการ

1. อบขวดก้อนกลมในตู้อบไฟฟ้าที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง วางให้เย็นในโถดูดความชื้นชั่งน้ำหนักแล้วนำไปอบซ้ำเป็นเวลา 30 นาที จนทราบน้ำหนักที่แน่นอน (4 ตำแหน่ง)
2. นำตัวอย่างที่ผ่านการหาความชื้นแล้วมาชั่งให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (4 ตำแหน่ง) ประมาณ 2-3 กรัม ในกระดาษกรองห่อให้มิดชิดแล้วใส่ลงในหลอดสำหรับใส่ตัวอย่าง คลุมด้วยสำลีเพื่อให้สารทำละลายมีการกระจายอย่างสม่ำเสมอ
3. นำหลอดตัวอย่างใส่ลงในซอคแลต
4. เทปิโตรเลียมอีเทอร์ในขวดก้อนกลม ปริมาตร 250 มิลลิลิตร
5. ประกอบหลอดใส่ตัวอย่างและขวดก้อนกลมเข้ากับเครื่องสกัดไขมันแล้วทำการสกัดไขมัน 14 ชั่วโมง โดยปรับความร้อนให้หยดของสารทำละลายกลั่นตัวจากอุปกรณ์ควบแน่นด้วยอัตรา 150 หยดต่อนาที
6. เมื่อครบ 14 ชั่วโมง นำหลอดใส่ตัวอย่างออกจากซอคแลตแล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบสุญญากาศ
7. นำขวดหาไขมันไปอบที่อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส จนแห้งทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
8. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งผลต่างของน้ำหนัก 2 ครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณไขมัน (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักไขมันหลังอบ} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้นก่อนอบ}}$$

4. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. เตาเผา (muffle furnace) ยี่ห้อ Ney รุ่น Vulcan3-1750 ประเทศสหรัฐอเมริกา
2. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible)
3. โถดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี

วิธีการ

1. เผาถ้วยกระเบื้องเคลือบในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลาประมาณ 3 ชั่วโมง ปิดสวิตซ์เตาเผาแล้วรอประมาณ 30-45 นาที เพื่อให้อุณหภูมิภายในเตาเผาลดลงก่อนแล้วนำออกจากเตาเผาใส่ในโถดูดความชื้นปล่อยให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วชั่งน้ำหนัก
2. เผาซ้ำอีกครั้งครั้งละประมาณ 1 ชั่วโมงและกระทำเช่นข้อ 1 จนได้ผลต่างของน้ำหนักทั้ง 2 ครั้ง ติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างให้ได้น้ำหนักแน่นอน (4 ตำแหน่ง) ประมาณ 1 กรัม ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ทราบน้ำหนักแน่นอนแล้วนำไปเผาในตู้ควันจนหมดควัน แล้วจึงนำเข้าเตาเผาอุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส และกระทำซ้ำเช่นเดียวกับข้อ 1-2

การคำนวณ

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา} \times 100}{\text{น้ำหนักตัวอย่างเริ่มต้น}}$$

5. การวิเคราะห์ปริมาณเยื่อใย (AOAC, 2000)

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์ชุดหาปริมาณสารเยื่อใย (Labconco) ซึ่งประกอบด้วยบีกเกอร์ขนาด 600 มิลลิลิตร อุปกรณ์ควบแน่นและอุปกรณ์ให้ความร้อน
2. กระดาษกรอง whatman เบอร์ 54
3. ขวดกรองแบบสุญญากาศ (suction flask)
4. กรวยกรอง (Buchner funnel)
5. ถ้วยกระเบื้องเคลือบ
6. ตู้อบไฟฟ้า
7. เตาเผา
8. โถดูดความชื้น
9. เครื่องเครื่องชั่งไฟฟ้า 4 ตำแหน่ง ยี่ห้อ Sartorius รุ่น BS/BT ประเทศเยอรมนี

สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก เข้มข้นร้อยละ 1.25
2. โซเดียมไฮดรอกไซด์ เข้มข้นร้อยละ 1.25
3. เอทิลแอลกอฮอล์เข้มข้นร้อยละ 95

วิธีการ

1. นำกระดาษกรองวางบนกระจกนาฬิกาอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำออกมาใส่ในโถดูดความชื้นและชั่งน้ำหนัก เก็บไว้ใช้กรองในขั้นตอนต่อไป
2. ชั่งตัวอย่างซึ่งผ่านการสกัดไขมันออกแล้วลงในบีกเกอร์ทรงสูงสำหรับวิเคราะห์สารเยื่อใยขนาด 600 มิลลิลิตร
3. เติมกรดซัลฟูริกที่มีความเข้มข้น ร้อยละ 1.25 ปริมาณ 200 มิลลิลิตร
4. วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งต่อเข้ากับอุปกรณ์ควบแน่นแล้วเปิดน้ำหล่ออุปกรณ์ควบแน่น พร้อมเปิดสวิทซ์ไฟ ต้มให้เดือดนาน 30 นาที
5. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองที่ชั่งน้ำหนักแล้วล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งหมดความเป็นกรด
6. ถ่ายกากที่ได้ลงในบีกเกอร์ใบเดิมแล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 1.25 ปริมาณ 200 มิลลิลิตร
7. วางบีกเกอร์บนอุปกรณ์ให้ความร้อนซึ่งต่อเข้ากับอุปกรณ์ควบแน่นเช่นเดิม และต้มต่ออีก 30 นาที
8. กรองขณะร้อนผ่านกระดาษกรองแผ่นเดิมแล้วล้างด้วยน้ำร้อนจนล้างหมดความเป็นด่าง
9. ล้างด้วยด้วยเอทิลแอลกอฮอล์ (ร้อยละ 95) ปริมาณ 10 มิลลิลิตร
10. นำกระดาษกรองพร้อมกากใส่ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบอบแห้งในตู้อบไฟฟ้าอุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ประมาณ 3 ชั่วโมง แล้วทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น
11. ชั่งน้ำหนักแล้วอบซ้ำอีกครั้งละ 30 นาที จนกระทั่งได้ผลต่างของน้ำหนักที่ชั่งสองครั้งติดต่อกันไม่เกิน 1-3 มิลลิกรัม
12. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบพร้อมกากที่อบแห้งแล้วไปเผา เช่นเดียวกับวิธีการวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า

การคำนวณ

ปริมารสารเยื่อใย (ร้อยละ) = ผลต่างของนน.ตัวอย่างอบและหลังเผา x 100
นน. ตัวอย่างเริ่มต้น

ภาคผนวก ก-2 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

1. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ดัดแปลงจาก Slinkard และ Singleton (1977))

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-200 ไมโครลิตร
2. Microplate ขนาด 96 หลุม
3. เครื่อง Microplate Reader

สารเคมี

1. Folin-Ciocalteu phenol reagent
2. Ferulic acid
3. Sodium carbonate anhydrous (Na_2CO_3) : เตรียมโดยละลาย Na_2CO_3 7.0 กรัม ในน้ำกลั่นซึ่งปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
4. Absolute ethanol

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของ Ferulic acid

เตรียมโดยให้มีความเข้มข้น 0 500 1000 1500 2000 μM ความเข้มข้นละ 2 มิลลิลิตร โดยใช้ absolute ethanol เป็นตัวทำละลาย

2. การเตรียมสารละลายตัวอย่าง

เตรียมให้มีความเข้มข้น 5000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

3. วิธีการทดสอบ

3.1 เติมสารสกัดตัวอย่างหรือ ferulic acid ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่น ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และสารละลาย Folin-Cioculteu ปริมาตร 12.5 ไมโครลิตร ลงใน microplate

3.2 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที ที่อุณหภูมิห้อง

3.3 เติมสารละลาย Na_2CO_3 เข้มข้นร้อยละ 7 ปริมาตร 125 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 100 ไมโครลิตร (blank เติมน้ำแทนสารละลาย Na_2CO_3)

3.4 ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที ที่อุณหภูมิห้องวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร

4. การคำนวณ

4.1 นำค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน ferulic acid มาสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับความเข้มข้นที่ระดับต่างๆ และหาความสัมพันธ์ของสมการในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากกราฟเส้นตรงที่ได้ดังนี้

$$y = mx + c$$

$$x = (y-c)/m$$

โดย x คือ ความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่าง

y คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่าง โดยค่า y = OD sample-OD blank

m คือ ค่าความชันของกราฟ

c คือ ค่าจุดตัดแกน y

4.2 นำค่าต่างๆ แทนในสมการแล้วคำนวณหาค่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของตัวอย่างแล้วรายงานค่าที่ได้ในรูป mmol สมมูลของ ferulic acid (mmolFAE/100g sample)

2. การทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity (ดัดแปลงจาก Brand-Williams *et al.*, 1995)

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. Microplate ขนาด 96 หลุม
3. เครื่อง Microplate Reader

สารเคมี

1. Absolute ethanol
2. DPPH (1,1-diphenyl-2-picryhydrazyl)
3. Ferulic acid

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายของ DPPH ใน absolute ethanol

เตรียม DPPH ให้มีความเข้มข้น 200 ไมโครโมลาร์ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร โดยชั่งน้ำหนัก DPPH 0.0039 กรัม ละลายด้วยเอทานอลโดยกวนต่อเนื่องอย่างน้อย 3 ชั่วโมง แล้วปรับปริมาตรเป็น 50 มิลลิลิตร

2. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ferulic acid

สารละลายมาตรฐาน ferulic acid เตรียมให้มีความเข้มข้น 0 25 50 75 100 150 และ 200 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นละ 2 มิลลิลิตร โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

3. การเตรียมสารตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

4. วิธีการทดสอบ

เติมสารตัวอย่าง/สารละลายมาตรฐาน 100 ไมโครลิตร ใส่ในหลุม microplate แล้วเติมสารละลายของ DPPH 100 ไมโครลิตร แต่ blank เติมเอทานอลลงไปแทนสารละลาย DPPH ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ในที่มืด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

5. **การคำนวณ**

วิธีการคำนวณทำเช่นเดียวกันกับการปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแต่สร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นต่างๆ ของสารละลายมาตรฐานกับ log ความเข้มข้นต่างๆ ของสาระลายมาตรฐานแล้วรายงานค่าที่ได้ในรูป mmol สมมูลของ ferulic acid (mmolFAE/100g sample)

3. การทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน ABTS radical scavenging activity (ดัดแปลงจาก Binsan *et al.*, 2008)

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. Microplate ขนาด 96 หลุม
3. เครื่อง Microplate Reader

สารเคมี

1. ABTS radical cation ($ABTS^{+}$)
2. Potassium persulphate
3. Ferulic acid
5. Methanol

วิธีการ

1. **การเตรียมสารละลายมาตรฐาน ferulic acid**

สารละลายมาตรฐาน ferulic acid เตรียมให้มีความเข้มข้น 0 25 50 75 100 150 และ 200 ไมโครโมลาร์ โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

2. การเตรียมสารตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 3000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

3. การเตรียมสารละลาย $ABTS^{+}$

3.1 เตรียม $ABTS^{+}$ ให้มีความเข้มข้น 7.4 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง $ABTS^{+}$ 0.0203 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 5 มิลลิลิตร

3.2 เตรียม Potassium persulphate ให้ความเข้มข้น 2.6 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง Potassium persulphate 0.0035 กรัม ละลายและปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 5 มิลลิลิตร

3.3 นำสารละลายในข้อ 3.1 และ 3.2 ผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง

3.4 หลังจากนั้นปิเปตสาระลาย $ABTS^{+}$ 1 มิลลิลิตร ลงในเมทานอลปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร จนกว่าจะได้ค่าการดูดกลืนแสง 1.1 ± 0.02

4. วิธีการทดสอบ

4.1 เติมสารตัวอย่างหรือสารละลายมาตรฐาน 10 ไมโครลิตร ใส่ใน microplate แล้วเติมสารละลายของ ABTS ที่เตรียมไว้ 190 ไมโครลิตร แต่ blank เติมเมทานอลลงไปแทนสารละลาย ABTS

4.2 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 นาที ในที่มืด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

5. การคำนวณ

วิธีการคำนวณทำเช่นเดียวกันกับการปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแล้วรายงานค่าที่ได้ในรูป mmol สมมูลของ ferulic acid (mmolFAE/100g sample)

4. การทดสอบกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน Ferric reducing antioxidant power (FRAP) (ดัดแปลงจาก Benzie และ Strain (1996))

อุปกรณ์

1. ไมโครปิเปตขนาด 10-200 และ 20-1000 ไมโครลิตร
2. Microplate ขนาด 96 หลุม
3. เครื่อง Microplate Reader
4. water bath

สารเคมี

1. Iron (III) Chloride Hexahydrate ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)
2. Acetic Acid
3. Sodium Acetate

4. Iron (II) sulfate heptahydrate ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)
5. Hydrochloric Acid
6. 2, 4, 6-tri (2-pyridyl)-tri-azine (TPTZ)

วิธีการ

1. การเตรียมสารละลายมาตรฐาน $FeSO_4 . 7H_2O$

สารละลายมาตรฐาน $FeSO_4 . 7H_2O$ เตรียมให้มีความเข้มข้น 0 100 200 400 และ 500 ไมโครโมลาร์ ความเข้มข้นละ 2 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลาย

2. การเตรียมสารตัวอย่าง

เตรียมตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 1500 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

3. การเตรียมสารละลาย FRAP reagent

3.1 การเตรียม $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ ให้มีความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ 0.0270 กรัม แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร

3.2 การเตรียม Acetate buffer ให้มีความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ pH 3.6 โดยชั่ง Sodium Acetate 2.4609 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปปรับ pH ด้วย Acetic Acid จนได้ pH 3.6 จึงปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3.3 การเตรียม Hydrochloric Acid ให้มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ โดยปิเปต Hydrochloric Acid ที่ผ่านการผสมด้วยน้ำในอัตราส่วน 1:1 มา 0.66 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

3.4 การเตรียม TPTZ ให้มีความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ โดยชั่ง TPTZ 0.0156 กรัม ละลายใน Hydrochloric Acid ที่มีความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 5 มิลลิลิตร

3.5 นำสารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย $FeCl_3.6H_2O$ ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร และสารละลาย Acetate buffer ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มใน water bath ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที

4. วิธีการทดสอบ

4.1 เติมสารตัวอย่าง/สารละลายมาตรฐาน 30 ไมโครลิตร ใส่ในหลุม microplate แล้วเติมสาระลาย FRAP reagent ที่เตรียมไว้ 270 ไมโครลิตร แต่ blank เติม Acetate buffer ลงไปแทนสารละลาย FRAP reagent

4.2 ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที ในที่มืด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร

5. การคำนวณ

วิธีการคำนวณทำเช่นเดียวกันกับการปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแล้วรายงานค่าที่ได้ในรูป mmol สมมูลของ $FeSO_4$ (mmolFE/100g sample)

ภาคผนวก ข ภาพอุปกรณ์ การจัดเรียงตัวอย่างสำหรับการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสและกราฟลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวหุงสุก

ภาคผนวก ข-1 เครื่องวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส

Figure 29. แสดงลักษณะเครื่องวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวหุงสุก (Texture analyzer)

ภาคผนวก ข-2 การจัดเรียงเมล็ดข้าวในการทดสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวหุงสุก

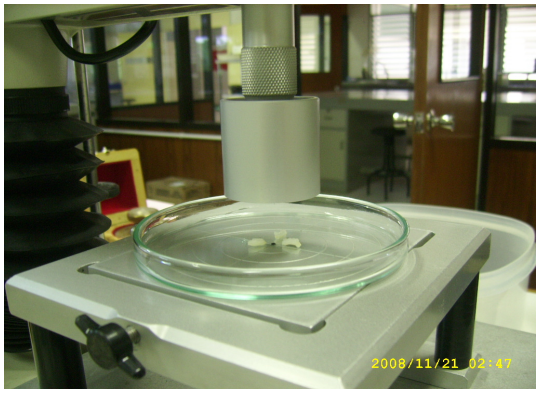


Figure 30. แสดงลักษณะการจัดเรียงเมล็ดข้าวหุงสุกในการทดสอบด้วยเครื่องวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัส

ภาคผนวก ข-3 ลักษณะกราฟของการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวกล้องหุงสุก

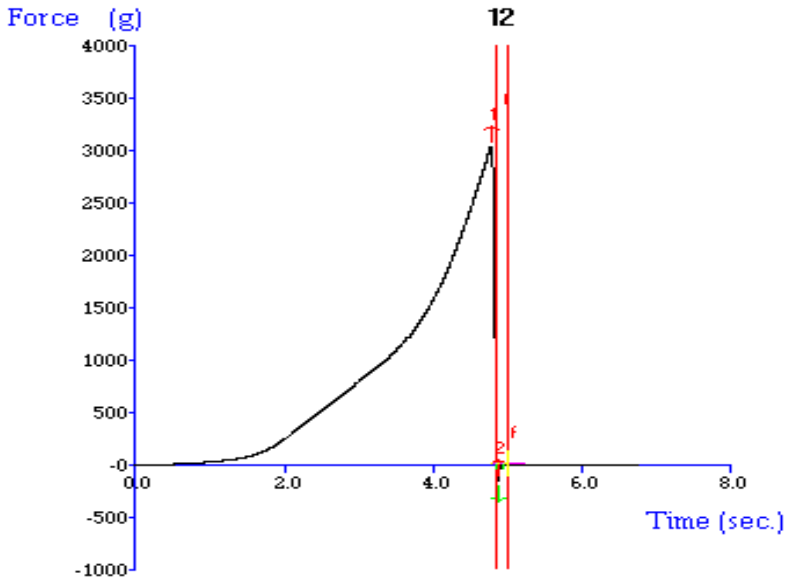


Figure 31. แสดงลักษณะกราฟของการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวกล้องงอกหุงสุก

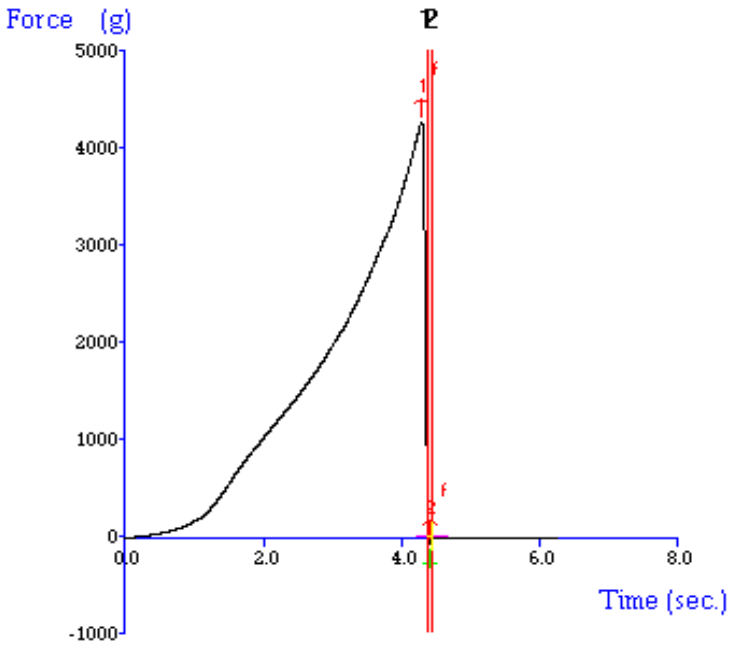


Figure 32. แสดงลักษณะกราฟของการวิเคราะห์ลักษณะเนื้อสัมผัสของข้าวกล้องหุงสุก

ภาคผนวก ค ผลการศึกษาชนิดของตัวทำละลายสกัดที่เหมาะสมในการสกัดข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

ตารางภาคผนวกที่ ค-1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ด้วยตัวทำละลายสกัดชนิดต่างๆ

สารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mmol FAE /100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
0% Ethanol	26.051 ± 0.073^{bC}	36.663 ± 0.151^{bB}	54.911 ± 0.074^{bA}
50% Ethanol	120.837 ± 0.844^{aB}	66.660 ± 0.104^{aC}	125.400 ± 0.165^{aA}
95% Ethanol	0.890 ± 0.009^{cC}	$4.718\pm.042^{cB}$	12.760 ± 0.095^{cA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference (P<0.05)

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ ค-2 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ด้วยตัวทำละลายสกัดชนิดต่างๆ

สารสกัด	DPPH radical scavenging activity (mmol FAE /100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
0% Ethanol	1.493 ± 0.013^{bC}	2.458 ± 0.023^{bB}	5.859 ± 0.048^{bA}
50% Ethanol	12.286 ± 0.314^{aB}	2.946 ± 0.024^{aC}	20.645 ± 0.097^{aA}
95% Ethanol	0.170 ± 0.004^{cC}	0.489 ± 0.005^{cB}	0.872 ± 0.092^{cA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference (P<0.05)

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ ค-3 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ด้วยตัวทำละลายสกัดชนิดต่างๆ

สารสกัด	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mmol FAE /100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
0% Ethanol	50.923 ± 0.366^{bC}	55.673 ± 0.453^{bB}	69.574 ± 0.453^{bA}
50% Ethanol	133.788 ± 0.151^{aB}	86.700 ± 0.208^{aC}	272.580 ± 0.919^{aA}
95% Ethanol	3.156 ± 0.009^{cC}	10.838 ± 0.128^{cB}	17.985±0.330cA

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference (P<0.05)

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ ค-4 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ของข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ด้วยตัวทำละลายสกัดชนิดต่างๆ

สารสกัด	DPPH radical scavenging activity (mmol FAE /100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
0% Ethanol	0.880 ± 0.041^{bC}	6.850 ± 0.310^{bB}	15.034 ± 0.123^{bA}
50% Ethanol	16.281 ± 0.400^{aB}	9.054 ± 0.129^{aC}	29.447 ± 0.419^{aA}
95% Ethanol	0.243 ± 0.001^{cC}	0.962 ± 0.031^{cB}	1.681 ± 0.443^{cA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference (P<0.05)

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ภาคผนวก ง ผลของอุณหภูมิระหว่างการแช่ต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

ตารางภาคผนวกที่ ง-1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทำให้งอกโดยแช่ในน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

อุณหภูมิระหว่างการแช่ (องศาเซลเซียส)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mmol FAE/100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
25	72.025 ± 0.547^{aC}	90.535 ± 0.380^{aA}	86.224 ± 0.258^{aB}
30	69.115 ± 0.562^{bB}	66.747 ± 0.544^{dC}	74.786 ± 0.197^{bA}
35	63.711 ± 0.547^{cC}	76.202 ± 0.230^{cA}	74.270 ± 0.269^{bB}
40	54.774 ± 0.270^{dC}	80.778 ± 0.603^{bA}	72.679 ± 0.903^{cB}
ข้าวกล้อง	56.603 ± 0.603^{eC}	56.991 ± 0.530^{eB}	67.149 ± 0.680^{eA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference ($P<0.05$)

Different superscripts in the same row indicate significant difference ($P<0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ง-2 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทำให้งอกโดยแช่ในน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

อุณหภูมิระหว่างการแช่(องศาเซลเซียส)	DPPH radical scavenging activity (mmol FAE/100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
25	8.858 ± 0.168^{aB}	9.997 ± 0.036^{aA}	5.989 ± 0.076^{bC}
30	6.338 ± 0.040^{bB}	7.139 ± 0.090^{bA}	6.091 ± 0.059^{bB}
35	6.233 ± 0.099^{bB}	6.453 ± 0.108^{cB}	7.330 ± 0.046^{aA}
40	4.376 ± 0.016^{cC}	4.376 ± 0.016^{cC}	7.423 ± 0.047^{aA}
ข้าวกล้อง	6.200 ± 0.023^{bA}	4.363 ± 0.028^{cC}	4.738 ± 0.184^{cB}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference (P<0.05)

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ ง-3 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน ABTS radical scavenging activity ของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทำให้งอกโดยแช่ในน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

อุณหภูมิระหว่างการแช่(องศาเซลเซียส)	ABTS radical scavenging activity (mmol FAE/100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
25	15.300 ± 0.048^{aC}	21.407 ± 0.092^{aA}	18.226 ± 0.054^{aB}
30	14.957 ± 0.018^{bC}	15.845 ± 0.060^{dB}	16.437 ± 0.052^{bA}
35	13.564 ± 0.054^{cC}	17.585 ± 0.017^{cA}	16.136 ± 0.065^{cB}
40	12.878 ± 0.031^{dC}	18.028 ± 0.136^{bA}	14.012 ± 0.077^{dB}
ข้าวกล้อง	9.761 ± 0.031^{eC}	11.611 ± 0.109^{eA}	10.260 ± 0.094^{eB}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference (P<0.05)

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ ง-4 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน FRAP ของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทำให้งอกโดยแช่ในน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

อุณหภูมิระหว่างการแช่(องศาเซลเซียส)	FRAP (mmol FE /100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
25	27.109 ± 0.028^{aC}	34.023 ± 0.067^{aA}	29.090 ± 0.137^{aB}
30	25.495 ± 0.121^{bB}	28.793 ± 0.071^{bA}	24.618 ± 0.061^{bC}
35	22.713 ± 0.121^{dC}	26.905 ± 0.117^{cA}	23.004 ± 0.100^{cB}
40	23.736 ± 0.127^{cB}	25.110 ± 0.139^{dA}	21.470 ± 0.119^{dC}
ข้าวกล้อง	18.940 ± 0.127^{eB}	24.072 ± 0.048^{eA}	18.412 ± 0.336^{eC}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference ($P<0.05$)

Different superscripts in the same row indicate significant difference ($P<0.05$)

ภาคผนวก ฆ ผลของเวลาระหว่างการแช่ข้าวกล้องต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

ตารางภาคผนวกที่ ฆ-1 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทำให้งอกโดยแช่ในน้ำที่เวลาต่างๆ

เวลาระหว่างการแช่ (ชั่วโมง)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mmol FAE/100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
0	88.768±1.021^{cC}	101.844±0.120^{eB}	125.321±2.389^{cA}
1	95.935±0.107^{bA}	100.526±4.784^{eA}	96.535±1.793^{fA}
2	89.510±0.283^{cB}	83.124±3.848^{gC}	109.449±1.195^{dA}
4	89.880±0.466^{cC}	94.980±0.120^{fB}	127.539±1.365^{cA}
6	101.248±2.780^{aB}	107.460±2.185^{dA}	100.574±1.877^{eB}
12	101.804±1.297^{aB}	124.585±1.561^{cA}	79.923±0.341^{gB}
24	97.912±0.185^{bC}	146.841±0.120^{aA}	127.710±0.171^{cB}
36	92.104±4.170^{cB}	130.617±0.523^{bA}	135.390±2.048^{bA}
48	90.807±0.651^{cB}	93.940±3.433^{fB}	165.939±1.024^{aA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference (P<0.05)

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ ฆ-2 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทำให้งอกโดยแช่ในน้ำที่เวลาต่างๆ

เวลาระหว่างการแช่ (ชั่วโมง)	DPPH radical scavenging activity (mmol FAE/100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
0	13.210 ± 0.160^{fA}	11.276 ± 0.100^{fB}	7.984 ± 0.046^{iC}
1	17.673 ± 0.059^{bA}	18.353 ± 0.107^{cA}	15.686 ± 0.158^{bB}
2	14.698 ± 0.131^{eB}	18.247 ± 0.212^{cA}	10.619 ± 0.124^{eC}
4	15.250 ± 0.089^{dB}	18.211 ± 0.061^{cA}	12.403 ± 0.042^{dC}
6	16.450 ± 0.287^{cA}	17.519 ± 0.204^{dA}	12.548 ± 0.042^{cB}
12	18.953 ± 0.229^{aA}	19.043 ± 0.170^{bA}	18.213 ± 0.061^{aA}
24	16.641 ± 0.097^{cB}	20.862 ± 0.243^{aA}	10.912 ± 0.037^{fC}
36	13.390 ± 0.045^{fB}	17.620 ± 0.103^{dA}	10.235 ± 0.034^{gC}
48	12.981 ± 0.116^{gB}	16.949 ± 0.057^{eA}	8.935 ± 0.060^{hC}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference ($P<0.05$)

Different superscripts in the same row indicate significant difference ($P<0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ฆ-3 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน ABTS radical scavenging activity ของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทำให้งอกโดยแช่ในน้ำที่เวลาต่างๆ

เวลาระหว่างการแช่ (ชั่วโมง)	ABTS radical scavenging activity (mmol FAE /100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
0	19.314 ± 0.382^{eC}	22.703 ± 0.839^{gA}	20.570 ± 0.032^{fB}
1	22.940 ± 0.087^{cB}	26.707 ± 0.039^{eA}	21.818 ± 0.096^{eC}
2	22.337 ± 0.035^{dB}	25.394 ± 0.839^{fA}	21.882 ± 0.032^{eC}
4	22.407 ± 0.035^{dB}	27.994 ± 0.156^{cdA}	21.956 ± 0.037^{eC}
6	24.283 ± 0.035^{bB}	28.657 ± 0.195^{cA}	22.095 ± 0.848^{eC}
12	25.337 ± 0.400^{aB}	30.386 ± 0.215^{bA}	22.852 ± 0.144^{dC}
24	23.206 ± 0.104^{cB}	33.441 ± 0.254^{aA}	23.439 ± 0.081^{cB}
36	23.067 ± 0.104^{cC}	29.684 ± 0.023^{bA}	27.322 ± 0.096^{bB}
48	22.546 ± 0.069^{dC}	27.526 ± 0.156^{dB}	28.356 ± 0.018^{aA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference ($P<0.05$)

Different superscripts in the same row indicate significant difference ($P<0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ ฆ-4 การวิเคราะห์กิจกรรมการต้านออกซิเดชัน FRAP ของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์เมื่อทำให้งอกโดยแช่ในน้ำที่เวลาต่างๆ

เวลาระหว่างการแช่ (ชั่วโมง)	FRAP (mmol FE /100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
0	28.126 ± 0.040^{dC}	31.551 ± 0.424^{efB}	41.784 ± 0.384^{bA}
1	28.615 ± 0.023^{cC}	31.149 ± 0.112^{fB}	34.689 ± 0.021^{eA}
2	26.669 ± 0.023^{eC}	32.293 ± 1.137^{deB}	35.408 ± 0.183^{dA}
4	28.179 ± 0.023^{dC}	32.412 ± 0.134^{dB}	39.017 ± 0.201^{cA}
6	30.694 ± 0.023^{bB}	30.748 ± 0.201^{fB}	39.029 ± 0.293^{cA}
12	31.117 ± 0.023^{aC}	35.859 ± 0.157^{bA}	32.773 ± 0.512^{fB}
24	25.981 ± 0.079^{fC}	37.404 ± 0.045^{aB}	38.688 ± 0.056^{cA}
36	25.862 ± 0.079^{fC}	33.705 ± 0.446^{cB}	38.554 ± 0.146^{cA}
48	24.869 ± 0.596^{gC}	30.927 ± 0.201^{fB}	50.330 ± 0.695^{aA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference ($P<0.05$)

Different superscripts in the same row indicate significant difference ($P<0.05$)

ภาคผนวก จ ผลของการหุงสุกข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน

ตารางภาคผนวกที่ จ-1 ผลของการหุงสุกข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ข้าว	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (mmol FAE /100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
ข้าวกล้อง	62.672 ± 0.268^{cB}	33.362 ± 0.083^{bC}	82.082 ± 0.401^{cA}
ข้าวกล้องงอก	75.893 ± 0.077^{aB}	43.106 ± 0.072^{aC}	97.152 ± 0.737^{aA}
ข้าวกล้องหุงสุก	59.813 ± 0.077^{dB}	33.458 ± 0.144^{bC}	79.497 ± 0.470^{dA}
ข้าวกล้องงอกหุงสุก	75.357 ± 0.077^{bB}	42.890 ± 0.360^{aC}	90.063 ± 0.337^{bA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference ($P<0.05$)

Different superscripts in the same row indicate significant difference ($P<0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ จ-2 ผลของการหุงสุกข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity

ข้าว	DPPH radical scavenging activity (mmol FAE /100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
ข้าวกล้อง	6.587 ± 0.169^{cA}	3.824 ± 0.015^{cC}	7.244 ± 0.157^{cA}
ข้าวกล้องงอก	9.666 ± 0.399^{aB}	4.941 ± 0.214^{aC}	10.528 ± 0.024^{aA}
ข้าวกล้องหุงสุก	6.233 ± 0.038^{cB}	3.764 ± 0.015^{cC}	6.851 ± 0.337^{dA}
ข้าวกล้องงอกหุงสุก	8.462 ± 0.100^{bB}	4.030 ± 0.009^{bC}	9.380 ± 0.093^{bA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference ($P<0.05$)

Different superscripts in the same row indicate significant difference ($P<0.05$)

ตารางภาคผนวกที่ จ-3 ผลของการหุงสุกข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน ABTS radical scavenging activity

ข้าว	ABTS radical scavenging activity (mmol FAE /100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
ข้าวกล้อง	7.332 ± 0.239^{cB}	4.224 ± 0.082^{cC}	8.071 ± 0.115^{cA}
ข้าวกล้องงอก	9.068 ± 0.096^{aB}	5.366 ± 0.093^{aC}	11.348 ± 0.023^{aA}
ข้าวกล้องหุงสุก	6.643 ± 0.450^{dA}	3.364 ± 0.046^{dB}	6.813 ± 0.031^{dA}
ข้าวกล้องงอกหุงสุก	8.194 ± 0.182^{bB}	4.560 ± 0.036^{bC}	10.099 ± 0.015^{bA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference (P<0.05)

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ตารางภาคผนวกที่ จ-4 ผลของการหุงสุกข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกต่อกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน FRAP

ข้าว	FRAP (mmol FE/100g sample)		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
ข้าวกล้อง	11.386 ± 0.134^{cB}	6.426 ± 0.054^{bC}	13.336 ± 0.089^{cA}
ข้าวกล้องงอก	13.798 ± 0.112^{aB}	8.782 ± 0.084^{aC}	17.443 ± 0.294^{aA}
ข้าวกล้องหุงสุก	11.892 ± 0.013^{bB}	5.422 ± 0.012^{cC}	11.428 ± 0.089^{dA}
ข้าวกล้องงอกหุงสุก	11.974 ± 0.168^{bB}	5.298 ± 0.042^{dC}	14.394 ± 0.010^{bA}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same column indicate significant difference (P<0.05)

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ภาคผนวก ฉ แสดงโครมาโตแกรมการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดฟีนอลิกหลักที่เป็นองค์ประกอบของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์

ภาคผนวก ฉ-1 ลักษณะโครมาโตแกรมของสารมาตรฐานที่ใช้วิเคราะห์ชนิดและปริมาณกรดฟีนอลิกหลักที่เป็นองค์ประกอบในข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกด้วยวิธี HPLC

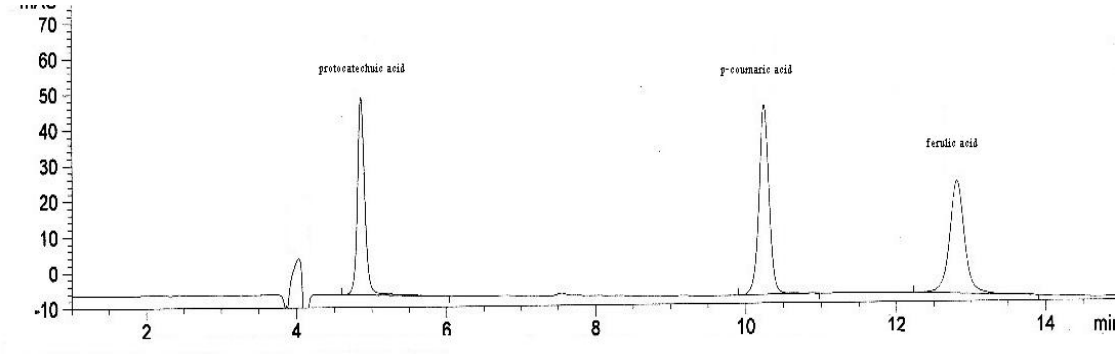


Figure 33. แสดงลักษณะโครมาโตแกรมของสารมาตรฐาน 3 ชนิด ที่ศึกษาหากรดฟีนอลิกหลักในข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก

ภาคผนวก ฉ-2 ลักษณะโครมาโตแกรมกรดฟีนอลิกหลักของข้าวกล้องและข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอก

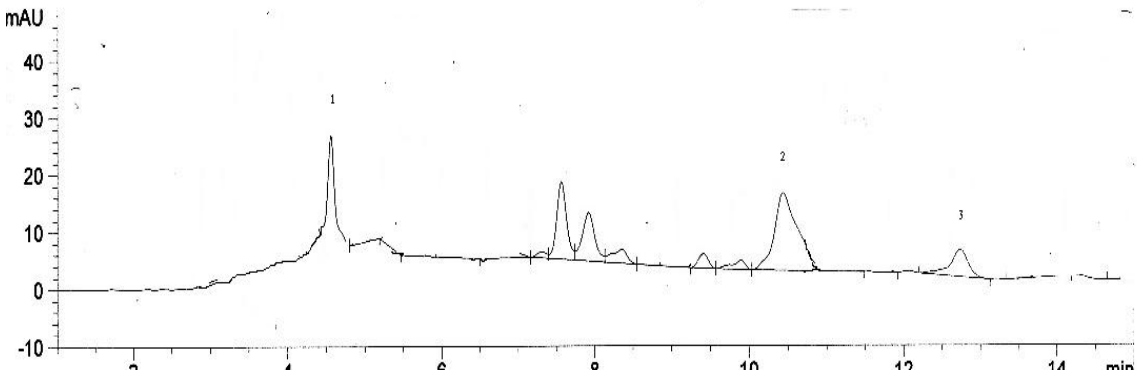


Figure 34. แสดงลักษณะโครมาโตแกรมกรดฟีนอลิกของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงงอก โดย 1 = protocatechuic acid, 2 = *p*-coumaric acid และ 3 = ferulic acid

Figure 35. แสดงลักษณะโครมาโตแกรมกรดฟีนอลิกหลักของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุง โดย 1 = protocatechuic acid, 2 = *p*-coumaric acid

ภาคผนวก ฉ-3 ลักษณะโครมาโตแกรมกรดฟีนอลิกหลักของข้าวกล้องและข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอก

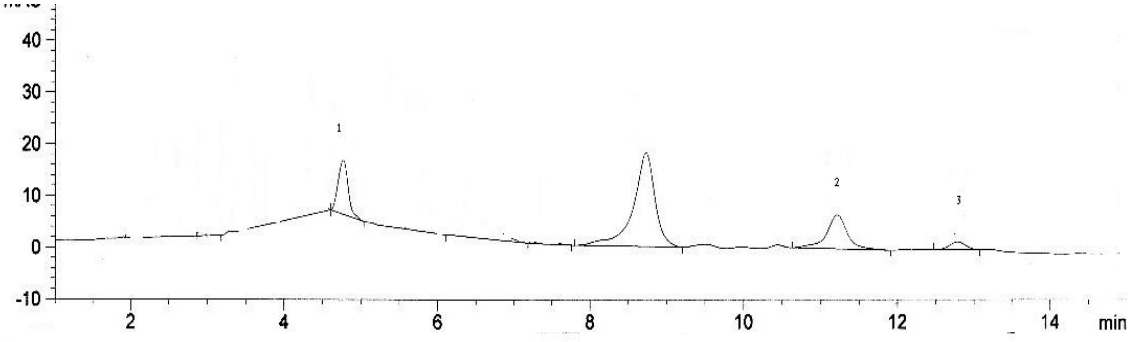


Figure 36. แสดงลักษณะโครมาโตแกรมกรดฟีนอลิกหลักของข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีงอกโดย 1 = protocatechuic acid, 2 = *p*-coumaric acid และ 3 = ferulic acid

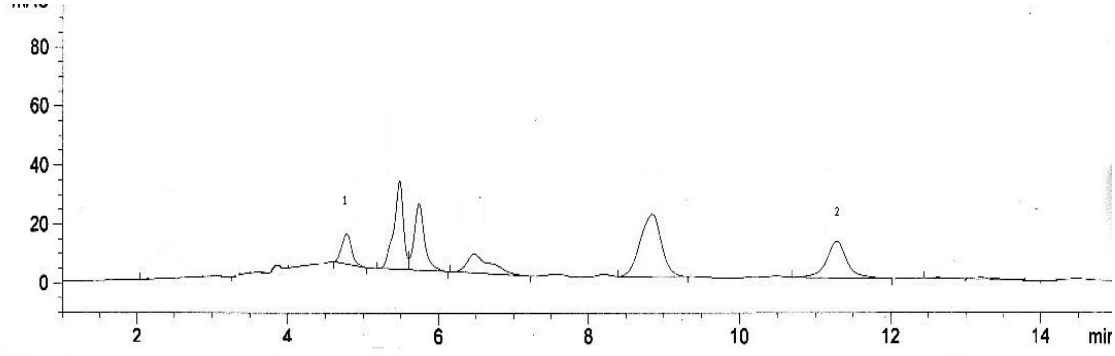


Figure 37. แสดงลักษณะโครมาโตแกรมกรดฟีนอลิกหลักของข้าวกล้องเล็บนกปัตตานี โดย 1 = protocatechuic acid, 2 = *p*-coumaric acid

ภาคผนวก ฉ-4 ลักษณะโครมาโตแกรมกรดฟีนอลิกหลักของข้าวกล้องและข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอก

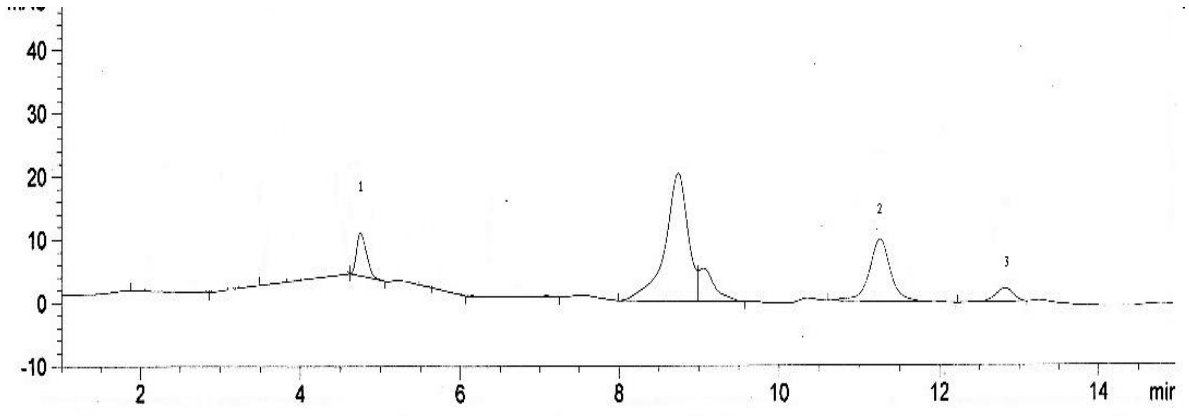


Figure 38. แสดงลักษณะโครมาโตแกรมกรดฟีนอลิกหลักของข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงงอก โดย 1 = protocatechuic acid, 2 = *p*-coumaric acid และ 3 = ferulic acid

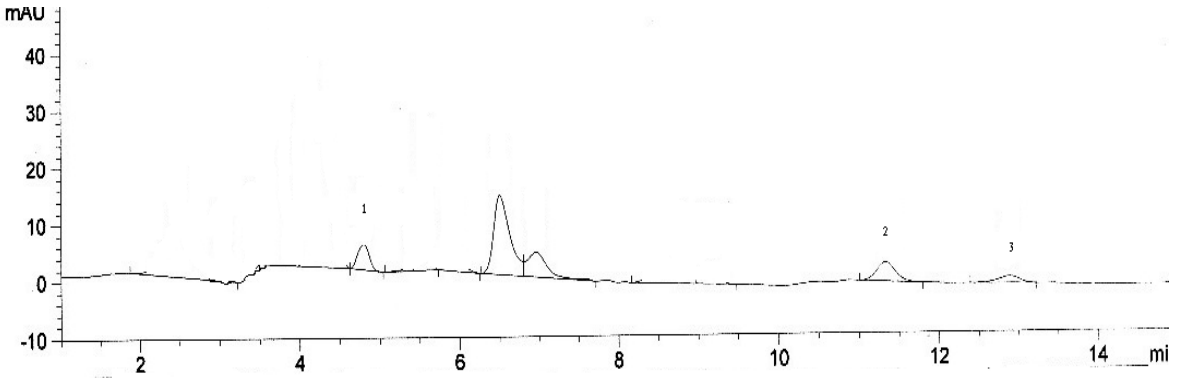


Figure 39. แสดงลักษณะโครมาโตแกรมกรดฟีนอลิกหลักของข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุง โดย 1 = protocatechuic acid, 2 = *p*-coumaric acid และ 3 = ferulic acid

ภาคผนวก ช แสดงร้อยละการงอกของข้าวกล้องเมื่อทำให้งอกด้วยสภาวะต่างๆ

ตารางภาคผนวกที่ ช-1 แสดงร้อยละการงอกของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ที่อุณหภูมิระหว่างการแช่ต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ร้อยละของการงอก		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
25	98	98	99
30	98	98	98
35	99	98	99
40	98	98	99

ตารางภาคผนวกที่ ช-2 แสดงร้อยละการงอกของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์ที่ระยะเวลาระหว่างการแช่ต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	ร้อยละของการงอก		
	ข้าวเฉี้ยงพัทลุง	ข้าวเล็บนกปัตตานี	ข้าวสังข์หยดพัทลุง
1	100	98	99
2	99	98	100
4	99	98	98
6	98	99	98
12	99	99	99
24	98	98	99
36	98	98	100
48	99	98	98

ภาคผนวก ซ องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์

ภาคผนวกตารางที่ ซ-1 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงเมื่อแช่ในน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (% dry basis)

Proximate compositions	Soaking temperature (°C)			
	25	30	35	40
Moisture	11.142±0.002[a]	11.313±0.001[a]	10.459±0.003[b]	9.949±0.010[b]
Protein	9.471±0.005[a]	9.523±0.001[a]	9.440±0.005[a]	9.495±0.002[a]
Lipid	3.133±0.001[a]	3.209±0.003[a]	3.151±0.007[a]	3.155±0.040[a]
Ash	1.541±0.003[a]	1.460±0.008[a]	1.327±0.010[b]	1.331±0.027[b]
Fiber	20.089±0.017[c]	20.466±0.009[a]	20.270±0.020[b]	20.485±0.035[a]

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ภาคผนวกตารางที่ ซ-2 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงเมื่อแช่ในน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (% dry basis)

Proximate compositions	Soaking temperature (°C)			
	25	30	35	40
Moisture	11.478±0.011[a]	11.282±0.012[a]	11.092±0.020[a]	10.336±0.005[b]
Protein	6.635±0.001[a]	6.621±0.010[a]	6.757±0.040[a]	6.843±0.003[a]
Lipid	3.164±0.005[a]	3.157±0.001[a]	3.182±0.006[a]	3.175±0.010[a]
Ash	1.205±0.010[a]	1.136±0.007[a]	0.881±0.030[b]	0.922±0.011[b]
Fiber	20.253±0.050[b]	20.542±0.009[a]	20.665±0.010[a]	20.394±0.021[b]

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ภาคผนวกตารางที่ ซ-3 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีเมื่อแช่ในน้ำที่อุณหภูมิต่างๆ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (% dry basis)

Proximate compositions	Soaking temperature (^{o}C)			
	25	30	35	40
Moisture	11.848±0.020^{a}	11.322±0.009^{a}	11.101±0.022^{a}	10.068±0.005^{b}
Protein	7.369±0.005^{b}	7.334±0.010^{b}	7.490±0.009^{a}	7.561±0.006^{a}
Lipid	3.273±0.007^{a}	3.238±0.014^{a}	3.214±0.007^{a}	3.203±0.002^{a}
Ash	1.389±0.010^{a}	1.335±0.019^{a}	1.379±0.010^{a}	1.351±0.015^{a}
Fiber	20.621±0.030^{b}	20.651±0.006^{b}	20.891±0.001^{a}	20.358±0.030^{c}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ภาคผนวกตารางที่ ซ-4 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงเมื่อแช่ในน้ำที่ระยะเวลาต่างๆ (% dry basis)

Proximate compositions	Soaking time (h)							
	1	2	4	6	12	24	36	48
Moisture	9.295±0.002^{c}	9.478±0.010^{c}	9.937±0.008^{b}	9.408±0.005^{c}	10.036±0.011^{b}	10.431±0.020^{a}	10.540±0.002^{a}	10.835±0.009^{a}
Protein	9.217±0.010^{b}	9.220±0.001^{b}	9.210±0.003^{b}	9.458±0.002^{b}	9.427±0.006^{b}	9.653±0.001^{a}	9.865±0.002^{a}	9.987±0.001^{a}
Lipid	2.876±0.008^{b}	2.966±0.007^{b}	2.942±0.004^{b}	2.987±0.002^{b}	3.035±0.007^{b}	3.045±0.001^{b}	3.222±0.003^{a}	3.246±0.005^{a}
Ash	1.644±0.001^{a}	1.590±0.001^{a}	1.593±0.001^{a}	1.526±0.001^{a}	1.525±0.005^{a}	1.462±0.002^{a}	1.406±0.003^{b}	1.357±0.004^{b}
Fiber	20.705±0.005^{a}	20.265±0.005^{b}	20.263±0.001^{b}	20.290±0.001^{b}	20.179±0.006^{b}	20.059±0.003^{c}	20.083±0.001^{c}	19.517±0.002^{c}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ภาคผนวกตารางที่ ซ-5 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องเฉี้ยงพัทลุงเมื่อแช่ในน้ำที่ระยะเวลาต่างๆ (% dry basis)

Proximate compositions	Soaking time (h)							
	1	2	4	6	12	24	36	48
Moisture	9.282±0.002^{b}	10.043±0.010^{b}	10.439±0.009^{b}	10.652±0.005^{a}	10.557±0.011^{a}	10.783±0.002^{a}	10.988±0.020^{a}	11.050±0.004^{a}
Protein	6.711±0.001^{b}	6.799±0.002^{b}	6.802±0.005^{b}	6.801±0.002^{b}	6.997±0.004^{a}	6.971±0.011^{a}	6.985±0.008^{a}	6.957±0.008^{a}
Lipid	2.769±0.001^{c}	2.779±0.003^{c}	2.756±0.005^{c}	2.860±0.002^{c}	2.903±0.001^{c}	3.025±0.001^{b}	3.081±0.004^{b}	3.293±0.005^{a}
Ash	1.434±0.005^{a}	1.462±0.003^{a}	1.389±0.001^{a}	1.378±0.001^{a}	1.189±0.001^{b}	1.018±0.009^{b}	0.964±0.001^{b}	0.888±0.002^{b}
Fiber	20.005±0.007^{c}	20.303±0.004^{b}	20.816±0.002^{a}	20.599±0.010^{b}	20.336±0.008^{b}	20.194±0.005^{c}	19.794±0.002^{d}	19.758±0.001^{d}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ภาคผนวกตารางที่ ซ-9 องค์ประกอบทางเคมีของข้าวกล้องเล็บนกปัตตานีเมื่อแช่ในน้ำที่ระยะเวลาต่างๆ (% dry basis)

Proximate compositions	Soaking time (h)							
	1	2	4	6	12	24	36	48
Moisture	9.620±0.005^{b}	9.897±0.002^{b}	10.279±0.020^{b}	10.584±0.006^{a}	10.382±0.010^{b}	10.681±0.009^{a}	10.723±0.011^{a}	11.134±0.004^{a}
Protein	7.243±0.001^{c}	7.390±0.003^{c}	7.336±0.010^{c}	7.333±0.002^{c}	7.351±0.001^{c}	7.642±0.008^{b}	7.657±0.006^{b}	7.994±0.002^{a}
Lipid	2.726±0.001^{b}	2.852±0.004^{b}	2.931±0.005^{a}	2.950±0.007^{a}	2.961±0.004^{a}	3.023±0.005^{a}	3.050±0.009^{a}	3.179±0.010^{a}
Ash	1.616±0.002^{a}	1.610±0.005^{a}	1.627±0.001^{a}	1.628±0.009^{a}	1.515±0.008^{a}	1.207±0.006^{b}	1.262±0.001^{b}	1.149±0.011^{b}
Fiber	20.073±0.002^{b}	20.044±0.002^{b}	20.283±0.011^{a}	20.586±0.010^{a}	20.013±0.009^{b}	19.660±0.001^{c}	19.683±0.008^{c}	19.608±0.001^{c}

Values are given as mean ± SD from triplicate

Different superscripts in the same row indicate significant difference (P<0.05)

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ สกุล นางสาวฤทัยรัตน์ สวัสดิวงศ์

รหัสประจำตัวนักศึกษา 5011020054

วุฒิการศึกษา

วุฒิ	ชื่อสถาบัน	ปีที่สำเร็จการศึกษา
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีอาหาร)	มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์	2549

ทุนการศึกษา (ที่ได้รับในระหว่างการศึกษา)

- ทุนการศึกษาและทุนอุดหนุนวิจัยระดับปริญญาโท สถานวิจัยผลิตภัณฑ์เสริมอาหารและอาหารเพื่อสุขภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ พ.ศ. 2550

การตีพิมพ์เผยแพร่ผลงาน

Sawaddiwong, R., Jongjareonrak, A. and Benjakul, S. 2008. Phenolic content and antioxidant activity of germinated brown rice as affected by germination temperature and extraction solvent. KMITL Sci. J. 8(2): 45-49.

Sawaddiwong, R., Jongjareonrak, A. and Benjakul, S. 2008. Phenolic content and antioxidant activity of germinated brown rice as affected by germination temperature and extraction solvent. *In Proceeding of the 34th Congress on Science and Technology of Thailand (STT34) 2008*. October 31-November 2, Thailand.