

การสกัดสารสำคัญจากข้าวสังข์หยดงอกโดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย  
Solvent Extraction of Active Ingredients from Germinated Sangyod Rice

นิรณา ชัยฤกษ์  
Nirana Chairerk

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญา  
วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี  
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements for the  
Degree of Master of Engineering in Chemical Engineering  
Prince of Songkla University

2561

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การสกัดสารสำคัญจากข้าวสังข์หยดงอกโดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย  
 ชื่อผู้เขียน นางสาวนิรณา ชัยฤกษ์  
 สาขาวิชา วิศวกรรมเคมี

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	คณะกรรมการสอบ
..... (รองศาสตราจารย์ ดร.จันทิมา ชั่งสิริพร)	.....ประธานกรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.ลือพงศ์ แก้วศรีจันทร์)
	.....กรรมการ (ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรัสวดี กังสนันท์)
	.....กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพโรศิริศาล)
	.....กรรมการ (รองศาสตราจารย์ ดร.จันทิมา ชั่งสิริพร)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ อนุมัติให้รับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็น  
 ส่วนหนึ่งของการศึกษา ตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิศวกรรมเคมี

.....  
 (ศาสตราจารย์ ดร.ดำรงศักดิ์ ฟาร์รุ่งสา)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

ขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้มาจากการศึกษาวิจัยของนักศึกษาเอง และได้แสดงความขอบคุณบุคคลที่มี  
ส่วนช่วยเหลือแล้ว

ลงชื่อ.....

(รองศาสตราจารย์ ดร.จันทิมา ชั่งสิริพร)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

ลงชื่อ.....

(นางสาวนิรณา ชัยฤกษ์)

นักศึกษา

ข้าพเจ้าขอรับรองว่า ผลงานวิจัยนี้ไม่เคยเป็นส่วนหนึ่งในการอนุมัติปริญญาในระดับใดมาก่อน และ  
ไม่ได้ถูกใช้ในการยื่นขออนุมัติปริญญาในขณะนี้

ลงชื่อ.....

(นางสาวนิรณา ชัยฤกษ์)

นักศึกษา

ชื่อวิทยานิพนธ์	การสกัดสารสำคัญจากข้าวสังข์หยดงอกโดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย
ชื่อผู้เขียน	นางสาวนิรณา ชัยฤกษ์
สาขาวิชา	วิศวกรรมเคมี
ปีการศึกษา	2560

### บทคัดย่อ

ข้าวสังข์หยดเป็นข้าวพื้นเมืองที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ปัจจุบันความนิยมในการปลูกข้าวสังข์หยดลดลงเนื่องจากราคาขายและผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับราคาและผลผลิตของข้าวชนิดอื่น ๆ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตข้าวสังข์หยดงอกโดยกระบวนการงอกและการสกัดสารสกัดจากข้าวด้วยตัวทำละลาย โดยในกระบวนการสกัดได้ทำการศึกษาการใช้ตัวทำละลายชนิดเอทานอลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0, 50 และ 95 เวลาที่ใช้ในการสกัด 0.5, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:10, 1:15, 1:20 และ 1:25 (g/mL) ขนาดของข้าวบด 40 และ 70 mesh และการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากข้าวสังข์หยดงอกมีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก โดยกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดงอกขนาด 40 mesh ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) เป็นสถานะที่เหมาะสมและมีความคุ้มค่าต่อกระบวนการสกัดที่สุด เนื่องจากเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายสารสำคัญจากข้าวได้ดี ให้ปริมาณผลได้ (yield) ของสารสกัดร้อยละ 6.56 มีปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบ่า และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ  $1,627.00 \pm 53.08$  mg GAE/100 g rice,  $559.50 \pm 17.06$  mg QE/100 g rice,  $9.97 \pm 0.17$  mg GABA/100 g rice และ  $0.16 \pm 0.01$  mg/mL ตามลำดับ อีกทั้งสามารถนำเอทานอลกลับมาใช้ใหม่ได้ร้อยละ 86.33-87.33 หลังการปรับปริมาตรตัวทำละลายใหม่ (make-up) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ให้เท่ากับปริมาตรตัวทำละลายตั้งต้น ทำให้ตัวทำละลายที่ได้มีความหนาแน่นเท่ากับ  $0.940$  g/cm<sup>3</sup> ซึ่งใกล้เคียงกับตัวทำละลายตั้งต้นที่ใช้สกัดในครั้งแรก โดยให้ร้อยละผลได้และปริมาณสารสำคัญของสารสกัดจากการใช้ตัวทำละลายซ้ำที่ใกล้เคียงกับการสกัดด้วยตัวทำละลายตั้งต้น ทำให้การผลิตสารสกัดข้าวโดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีต้นทุนต่ำและมีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ในการผลิตในระดับ

(6)

อุตสาหกรรม ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถเพิ่มมูลค่าให้ข้าวสังข์หยดและสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกข้าว โดยการนำสารสกัดไปพัฒนาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เซรั่มที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี

**Thesis Title** Solvent Extraction of Active Ingredients from Germinated Sangyod Rice

**Author** Miss Nirana Chairerk

**Major Program** Chemical Engineering

**Academic Year** 2017

### ABSTRACT

Sangyod rice is a native rice species with high nutritional value. Currently, the cultivation of Sangyod rice is decreased because the average selling price and yield per acre lower than other types of rice. This research aimed to produce rice extract by Sangyod rice germination and solvent extraction. In extraction process, ethanol with concentrations of 0%, 50% and 95% were used. Various extraction times of 0.5, 1, 2 and 4 h, rice-to-solvent ratio of 1:10, 1:15, 1:20 and 1:25 (g/mL), grinding of rice at 40 and 70 mesh size sieves and solvent recovery were studied. The results showed that the extract from germinated Sangyod rice has higher contents of active ingredient and antioxidant activity than non-germinated Sangyod rice and Riceberry rice. The results of 40 mesh size sieves with using 50% ethanol, extraction time of 0.5 h and rice-to-solvent ratio of 1:15 (g/mL) were optimum condition for the germinated Sangyod rice extraction. The extraction yield, TPC, TFC, GABA and DPPH antioxidant assay were found at 6.56%, 1,627.00 ± 53.08 mg GAE/100 g rice, 559.50 ± 17.06 mg QE/100 g rice, 9.97 ± 0.17 mg GABA/100 g rice and 0.16 ± 0.01 mg/mL, respectively. The ethanol can effectively be recovered from extraction with 86.33-87.33%. After make-up the used solvent by 50% ethanol, the solvent density was found at 0.940 g/cm<sup>3</sup> closely to the initial solvent for extracting. The extract yield and active ingredient content by using the used solvent were almost as same as the using of initial solvent. These will effect to low cost and

economically performing for rice extraction by ethanol in industrial scale. The results of this study can provide new opportunities to promote Sangyod rice growers and value added to the rice product in the form of face serum formulated with antioxidants.



## กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.จันทิมา ชั่งสิริพร อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำความรู้แนวทางในการแก้ปัญหา และกระบวนการคิดในการทำงานวิจัย ตลอดจนตรวจทานแก้ไขรายงานวิทยานิพนธ์ให้ดำเนินไปอย่างสมบูรณ์

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ปรีชา ภูวไพริศรัศาล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรัสวดี กังสนันท์ และรองศาสตราจารย์ ดร.เลื่อนพงศ์ แก้วศรีจันทร์ คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่สละเวลาและให้คำแนะนำ เพื่อใช้ในการแก้ไขรายงานวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้มีความสมบูรณ์ถูกต้องมากขึ้น

ขอขอบพระคุณ บัณฑิตวิทยาลัย และ คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่ได้จัดสรรทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สนับสนุนการทำวิจัยและทุนสนับสนุนการศึกษาในระหว่างการทำงานวิจัยนี้

ขอขอบพระคุณ นางสาวพฤกระยา พงศ์ยี่หล้า ที่ให้ความช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการทดลองและขอบคุณบุคลากรทุกท่านในภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ที่ให้ความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในด้านต่าง ๆ

นิรณา ชัยฤกษ์

## สารบัญ

เรื่อง	หน้า
สารบัญ	(10)
รายการตาราง	(13)
รายการภาพประกอบ	(18)
บทที่	
1. บทนำ	1
1.1 บทนำตั้งเรื่อง	1
1.2 วัตถุประสงค์	3
1.3 ขอบเขตงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
2. ตรวจสอบเอกสาร	5
2.1 ขั้ว	5
2.2 ขั้วสังข์หยด	9
2.3 ขั้วกลิ้งงอก	13
2.4 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)	17
2.5 สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)	19
2.6 กรดแกมมา-แอมิโนบิวทีริก ( $\gamma$ -aminobutyric acid ; GABA)	20
2.7 กระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลาย	22
2.8 การนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่	26
2.9 เครื่องมือ / อุปกรณ์การสกัดด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรม	28
2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	30

## สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
3. วิธีการวิจัย	36
3.1 วัสดุ	36
3.2 อุปกรณ์	36
3.3 สารเคมี	37
3.4 วิธีดำเนินการวิจัย	39
4. ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	51
4.1 ผลของกระบวนการงอก	51
4.2 ผลความเข้มข้นของเอทานอล	58
4.3 ผลของเวลาการสกัด	61
4.4 ผลของอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย	65
4.5 ผลของขนาดข้าวบด	66
4.6 ผลของการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่	67
4.7 การพัฒนาสารสกัดเป็นเซรัม	72
4.8 แนวทางกระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม	75
4.9 การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต (Economic analysis)	76
5. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	79
5.1 สรุปผลการทดลอง	79
5.2 ข้อเสนอแนะ	80
บรรณานุกรม	81
ภาคผนวก	86
ภาคผนวก ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารกาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ	87

## สารบัญ (ต่อ)

เรื่อง	หน้า
ภาคผนวก ข ข้อมูลดิบของการทดลอง	94
ภาคผนวก ค บทความที่เผยแพร่ในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ	106
ประวัติผู้เขียน	111

## รายการตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1	9
2-2	11
2-3	12
2-4	12
2-5	16
2-6	24
3-1	43
4-1	53
4-2	58
4-3	66
4-4	67
4-5	68
4-6	73

### รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4-7	ผลทดสอบค่า pH ค่าความหนืด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเซรัมทั้ง 4 สูตร ก่อนและหลังทดสอบความคงตัว	73
4-8	ผลการคำนวณค่าพลังงานไฟฟ้าทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดงอก	76
4-9	อัตราค่าไฟฟ้าประเภทกิจการขนาดเล็ก	76
4-10	ผลของการคำนวณค่าวัตถุดิบทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการสกัด	77
4-11	ผลของการคำนวณต้นทุนของสารสกัดหลังการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่	78
ข-1	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 0 ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	94
ข-2	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	94
ข-3	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	95
ข-4	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมงด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	95
ข-5	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่เวลาสกัด 2 ชั่วโมงด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	95
ข-6	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่เวลาสกัด 4 ชั่วโมง ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	96
ข-7	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:20 ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	96
ข-8	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:25 ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	96

### รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ข-9	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอก ที่ขนาดข้าวบด 70 mesh อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 ด้วยเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	97
ข-10	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกในการ นำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ที่ขนาดข้าวบด 70 mesh อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	97
ข-11	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่าน กระบวนการงอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	98
ข-12	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่าน กระบวนการงอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	98
ข-13	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณ IC <sub>50</sub> ของข้าวสังข์หยดงอกที่อัตราส่วนข้าวต่อ ตัวทำละลาย 1:15 ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	99
ข-14	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณ IC <sub>50</sub> ของข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านกระบวนการ การงอก ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	99
ข-15	ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณ IC <sub>50</sub> ของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการ การงอก ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	100
ข-16	ปริมาณสารสกัดของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับความเข้มข้นของเอทานอล ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	100

### รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ข-17	ปริมาณสารสกัดข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับเวลาในการสกัด ด้วยเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	100
ข-18	ปริมาณสารสกัดของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายด้วย เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	101
ข-19	ปริมาณสารสกัดของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับขนาดของข้าวบด ด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	101
ข-20	ปริมาณสารสกัดของข้าวสังข์หยดงอกในการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ ด้วย เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 ขนาดข้าว 70 mesh	101
ข-21	ปริมาณสารสกัดข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ ไม่ผ่านกระบวนการงอก ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	102
ข-22	ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าว สังข์หยดงอก เทียบกับความเข้มข้นของเอทานอล ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	102



### รายการตาราง (ต่อ)

ตารางที่	หน้า
ข-23 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ ข้าวสังข์หยดงอก เทียบกับเวลาในการสกัด ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	103
ข-24 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ ข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย ด้วยเอทานอล เข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง	103
ข-25 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ ข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับขนาดของข้าวบด ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	104
ข-26 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ ข้าวสังข์หยดงอกในการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ ด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 ขนาดข้าว 70 mesh	104
ข-27 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าว สังข์หยดงอกเทียบกับข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าว ต่อตัวทำละลาย 1:15	105

## รายการภาพประกอบ

ภาพประกอบที่	หน้า
2-1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว	6
2-2 ขั้นตอนการสีข้าว	8
2-3 ลักษณะต้นและเมล็ดของข้าวสังข์หยด	10
2-4 แสดงการงอกของเมล็ดข้าว	13
2-5 แสดงประเภทของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืช	18
2-6 โครงสร้างของ phenolic acid and flavonoids	19
2-7 โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันในสารประกอบฟลาโวนอยด์	20
2-8 โครงสร้างของกลูตาเมต (L-glutamate) และสารกาบา (GABA)	21
2-9 กลไกการสังเคราะห์กาบา (GABA Shunt)	22
2-10 แสดงองค์ประกอบของเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน	26
2-11 แสดงเครื่องมือการกลั่นอย่างง่าย	27
2-12 แสดงองค์ประกอบของถัง Reactor	28
2-13 ลักษณะของ Decantor	29
2-14 แสดงหลักการทำงานของเครื่อง Thin film evaporator	30
3-1 แสดงข้าวเปลือกสังข์หยด	36
3-2 เครื่องกวนสารแบบแกนหมุนยี่ห้อ IKA รุ่น RW20 digital	37
3-3 เครื่องระเหยตัวทำละลายยี่ห้อ Heidolph รุ่น Basic 1	37
3-4 เครื่องหมุนเหวี่ยงยี่ห้อ Hermle รุ่น Z 206 A	38
3-5 เครื่อง UV-Vis spectrophotometer	38
3-6 กระบวนการเพาะข้าวสังข์หยดงอก	39
3-7 กระบวนการสีข้าว	41
3-8 แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตข้าวสังข์หยดงอก	42
3-9 กระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดงอก	44

## รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า	
3-10	แผนภาพแสดงขั้นตอนการทดลองการนำตัวทำละลายมาสกัดซ้ำ	46
3-11	แผนภาพแสดงขั้นตอนการทดลองในกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดดอก	47
4-1	ลักษณะของข้าวสังข์หยดดอกหลังกระบวนการงอกและการอบแห้ง	52
4-2	ลักษณะของเมล็ดข้าวสังข์หยดเทียบกับข้าวสังข์หยดดอก	52
4-3	ลักษณะข้าวสังข์หยดดอกก่อนการบดและหลังการบด	53
4-4	แสดงปริมาณร้อยละของผลผลิตของข้าวสังข์หยดดอกเทียบกับข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	55
4-5	แสดงปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดดอกเทียบกับข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก	57
4-6	แสดงปริมาณร้อยละของผลผลิตเทียบกับความเข้มข้นของเอทานอลในกระบวนการสกัดที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 เวลาสกัด 1 ชั่วโมง	59
4-7	แสดงปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดดอกเทียบกับความเข้มข้นของเอทานอล	61
4-8	แสดงปริมาณร้อยละของผลผลิตเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัดโดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15	62
4-9	แสดงปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดดอกเทียบกับเวลาการสกัด	64
4-10	แสดงการทำสมดุลมวล (Mass balance) ในกระบวนการสกัด	69
4-11	การจัดการข้าวหลังกระบวนการสกัด	71
4-12	ลักษณะของสีและเนื้อเซรัมทั้ง 4 สูตร	72
4-13	ผลิตภัณฑ์เซรัมตัวอย่าง	74
4-14	แสดงรูปแบบกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดดอกในระดับอุตสาหกรรม	75
ก-1	กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก	88

## รายการภาพประกอบ (ต่อ)

ภาพประกอบที่	หน้า	
ก-2	กราฟมาตรฐานเคอซีตินสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์	90
ก-3	กราฟมาตรฐานกาบาสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา	91
ก-4	กราฟสมการในการคำนวณ IC <sub>50</sub> สารสกัดเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 1 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:25	93
ก- 5	กราฟแสดงความหนาแน่นของเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	93

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 บทนำต้นเรื่อง

ข้าวสังข์หยด (Sangyod rice) เป็นข้าวนาปี มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง เมล็ดเล็กเรียวยาว ท้ายงอน เมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการของข้าวชนิดต่าง ๆ พบว่าข้าวสังข์หยดมีคุณค่าทางโภชนาการที่สูงกว่าข้าวชนิดอื่น โดยมีวิตามินบีในปริมาณสูง มีใยอาหารสูงที่มีประโยชน์ต่อระบบย่อยอาหารและระบบขับถ่าย นอกจากนี้ยังมีโปรตีน ธาตุเหล็ก และฟอสฟอรัสสูงกว่าข้าวขาว อีกทั้งยังมีกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มโอรีซานอล สารฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก ที่ช่วยลดความเสี่ยงของโรคมะเร็ง ชะลอความแก่ ป้องกันความจำเสื่อม และบำรุงโลหิต สำหรับภาคใต้จังหวัดพัทลุง มีการปลูกข้าวสังข์หยดมากเป็นอันดับ 1 ของประเทศ รองลงมาคือ นครศรีธรรมราชและสงขลา ในปี พ.ศ. 2555 เกษตรกรจังหวัดพัทลุงปลูกข้าวสังข์หยดรวมพื้นที่ปลูกทั้งสิ้น 14,687.25 ไร่ ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ 465.14 กิโลกรัม ราคาที่เกษตรกรขายเฉลี่ย 11.37 บาท/กิโลกรัม และในปี พ.ศ. 2557 มีพื้นที่ปลูกเพียงจำนวน 3,735.50 ไร่ (สำนักงานสถิติจังหวัดพัทลุง, 2558) จะเห็นได้ว่าพื้นที่ปลูกข้าวสังข์หยดมีปริมาณลดลงตามลำดับ เนื่องจากราคาขายและผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับราคาและผลผลิตข้าวชนิดอื่น ๆ ทำให้เกษตรกรไม่สนใจที่จะเพิ่มพื้นที่ปลูกหรือปรับปรุงการผลิตให้มีประสิทธิภาพ ข้าวสังข์หยดจึงเป็นสินค้าเกษตรตัวหนึ่งที่มีความจำเป็นต้องมีการพัฒนาในการเพิ่มมูลค่าของข้าวให้สูงขึ้น เพื่อจูงใจให้เกษตรกรหันมาปลูกและให้ความสำคัญต่อข้าวสังข์หยดมากยิ่งขึ้น ในปัจจุบันผู้ประกอบการภาคเอกชนกำลังให้ความสำคัญในการพัฒนาเพิ่มมูลค่าผลผลิตจากข้าว โดยส่วนใหญ่คิดว่าแนวทางการผลิตและการจำหน่ายข้าวจะต้องมีการเปลี่ยนแปลงเพื่อเพิ่มมูลค่าให้แก่ข้าว รวมทั้งใช้ประโยชน์จากข้าวให้เกิดคุณค่าด้วยการวิจัยและคิดค้นผลิตภัณฑ์รูปแบบใหม่ให้หลากหลายทั้งผลิตภัณฑ์แปรรูปจากข้าวและผลิตภัณฑ์จากสารสกัดข้าว

ข้าวกล้องงอก (Germinated brown rice) เป็นการนำข้าวมาผลิตเป็นข้าวงอกด้วยกระบวนการแช่และกระบวนการงอก เมื่อนำข้าวกล้องมาแช่น้ำเพื่อทำให้งอก โปรตีนภายในเมล็ดข้าว

จะถูกล่อยให้กลายเป็นกรดอะมิโนและเปปไทด์โมเลกุลเล็ก ๆ จะทำให้มีสารอาหารโดยเฉพาะสารกาบาเพิ่มขึ้นมากกว่าข้าวกล้องทั่วไปมากถึง 15 เท่า จึงมีการนำสารกาบามาประยุกต์ใช้ในวงการแพทย์ที่ใช้รักษาเกี่ยวกับโรคทางระบบประสาทต่าง ๆ อาทิ โรคเครียด โรคนอนไม่หลับ เป็นต้น อีกทั้งรายงานการวิจัยระบุว่าข้าวกล้องที่มีปริมาณสารกาบาสูง จะสามารถลดความดันโลหิต ลดไลโปโปรตีนโคเลสเตอรอลชนิดความหนาแน่นต่ำในเลือดได้เป็นอย่างดี ดังนั้นหากมีการปรับปรุงพัฒนาข้าวกล้องงอกเพื่อให้เพิ่มคุณค่ายิ่งขึ้นน่าจะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกสำหรับผู้บริโภค โดยเฉพาะการนำข้าวสังข์หยดมาผลิตเป็นข้าวกล้องงอกเพื่อพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ในด้านสุขภาพและความงาม

การผลิตข้าวกล้องงอก (Germination process) แบ่งเป็น 2 ขั้นตอนคือ การแช่ข้าวและกระบวนการงอก ซึ่งในกระบวนการผลิตข้าวกล้องงอกจากเมล็ดข้าวยังมีปัญหากลิ่นที่ไม่ดีและเกิดกลิ่นหมักขึ้นในระหว่างกระบวนการงอก ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากเมตาโบลิซึมภายในเมล็ดข้าวและจากกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่อยู่ผิวหน้าของเมล็ดข้าวจึงทำให้เกิดการเน่าขึ้น ดังนั้นจึงมีการรายงานการทดลองเพื่อปรับปรุงคุณสมบัติของข้าวกล้องงอกทั้งเปลือก โดยนำข้าวไปแช่น้ำเกลือก่อนจากนั้นจึงนำไปแช่น้ำธรรมดาและเติมอากาศในระหว่างการงอก (Kim et al., 2004) การทำข้าวกล้องงอกจากข้าวเปลือกจะไม่ต้องกังวลเรื่องเชื้อรา เนื่องจากมีเปลือกข้าวหุ้มเมล็ดข้าวอยู่และสามารถเก็บได้นาน มีปริมาณสารกาบาสูง อีกทั้งยังใช้ระยะเวลาในการงอกเพื่อให้ได้ร้อยละการงอกสูงสุดที่สั้นกว่าข้าวกล้องงอกที่เตรียมจากข้าวที่สีเปลือกออก (คู่มือการผลิตข้าวกล้องงอกคุณภาพสูง, 2556)

กระบวนการสกัดข้าวมีทั้งวิธีสกัดแบบบีบเย็น (Cold pressed) และวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction) การสกัดแบบบีบเย็นเป็นวิธีที่คงประโยชน์ทางโภชนาการของข้าวได้อย่างสมบูรณ์อีกทั้งยังมีความปลอดภัยจากสารเคมี แต่จะนิยมใช้วัตถุดิบที่ให้ปริมาณน้ำมันเยอะ วิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายเป็นกระบวนการที่ง่ายและค่าใช้จ่ายค่อนข้างต่ำ จึงเป็นที่นิยมใช้ในทางอุตสาหกรรมการสกัดพืชที่มีน้ำมันน้อย เป็นกระบวนการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารสกัดออกมาจากข้าว การสกัดจะเกิดได้ดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับกระบวนการละลายของสารสกัดในตัวทำละลายและเวลาที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้ขึ้นอยู่กับลักษณะของสารสำคัญที่อยู่ในเมล็ดข้าว หากสารสำคัญเพียงจุดขั้วที่ผิวของเมล็ดข้าวการสกัดจะใช้เวลาน้อย แต่หากสารสำคัญอยู่ภายในเมล็ดข้าวจะต้องใช้เวลาสกัดมากกว่า และหากการกระจายของตัวทำละลายภายในเมล็ดข้าวเกิดขึ้นได้ช้ามาก จำเป็นต้องบดเมล็ดข้าวให้ละเอียดก่อนทำการสกัดจะทำให้ตัวทำละลายสัมผัสกับข้าวได้ดี โดยภายในกระบวนการจะควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงเกินไปจะทำให้

องค์ประกอบทางเคมีของสารสกัดเปลี่ยนแปลงและมีกลิ่นผิดไปจากธรรมชาติ สารสกัดที่ได้หลังการสกัดจะต้องทำการระเหยตัวทำละลายออกจากสารสกัดเพื่อให้สารสกัดมีความเข้มข้นด้วยกระบวนการระเหยในภาวะสุญญากาศเพื่อแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัด โดยหลังกระบวนการระเหยตัวทำละลายตัวทำละลายที่ได้สามารถทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ในกระบวนการสกัด

งานวิจัยนี้จึงสนใจผลิตข้าวสังข์หยดงอกและสกัดสารสำคัญจากข้าวสังข์หยดงอกโดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย ศึกษาความเข้มข้นของตัวทำละลายเอทานอล เวลา อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย และขนาดของข้าวที่เหมาะสมในการสกัด พร้อมทั้งศึกษาการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ในกระบวนการสกัด โดยพิจารณาประสิทธิภาพการสกัดจากปริมาณสารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารกาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด พร้อมทั้งพัฒนาสารสกัดให้เป็นผลิตภัณฑ์ต้านอนุมูลอิสระที่พร้อมสำหรับการนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัตถุดิบสำคัญในทางด้านเวชสำอางและผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ งานวิจัยนี้จะเป็นประโยชน์ในการเพิ่มมูลค่าของข้าวสังข์หยดสู่การพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านสุขภาพครบวงจรที่จะทำให้สามารถช่วยเกษตรกรผู้ปลูกข้าวในการนำไปสู่เชิงพาณิชย์ได้อย่างยั่งยืน

## 1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อสกัดสารสำคัญจากข้าวสังข์หยดงอกโดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย สำหรับการสร้างมูลค่าเพิ่มในรูปของเวชภัณฑ์และเวชสำอาง

1.2.2 เพื่อศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารสำคัญของสารสกัดและนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ ในการลดต้นทุนการใช้ตัวทำละลายในกระบวนการสกัด

1.2.3 เพื่อพัฒนากระบวนการการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพในข้าวที่มีประสิทธิภาพ เพื่อให้ดำเนินการผลิตได้ในระดับชุมชนหรืออุตสาหกรรม

## 1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 ผลิตข้าวสังข์หยดงอกโดยทำการเพาะที่เวลา 60 ชั่วโมงในที่มืด ใช้ข้าวเปลือกสังข์หยดจาก ต.ปากกรอ อ.สิงหนคร จ.สงขลา

1.3.2 สกัดข้าวสังข์หยดงอกโดยใช้วิธีสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล

1.3.3 ศึกษาความเข้มข้นของเอทานอล (0%, 50% และ 95%) เวลา (0.5, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง) อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย (1:10, 1:15, 1:20 และ 1:25) และขนาดข้าวบดในกระบวนการสกัด (40 และ 70 mesh)

1.3.4 ศึกษาการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่

1.3.5 วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารกาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer

#### 1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถพัฒนากระบวนการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวให้ดำเนินการผลิตในระดับชุมชนได้

1.4.2 สามารถลดค่าใช้จ่ายในการใช้ตัวทำละลายในกระบวนการสกัด จากการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่

1.4.3 เพิ่มมูลค่าให้แก่ข้าวสังข์หยดในการพัฒนาสารสกัดจากข้าวเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกข้าว

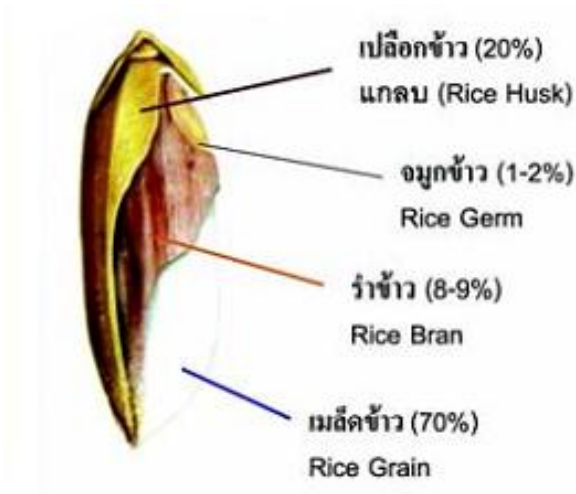


## บทที่ 2

### ตรวจสอบเอกสาร

#### 2.1 ข้าว

ข้าวเป็นพืชหลักและเป็นอาชีพที่สำคัญของเกษตรกรไทย ประเทศไทยมีพื้นที่ปลูกข้าวประมาณ 64 ล้านไร่ เกษตรกรผู้ปลูกข้าวมีจำนวน 3.7 ล้านครัวเรือน นอกจากนี้ยังมีบทบาทสำคัญต่อเศรษฐกิจไทย เนื่องจากเป็นทั้งพืชอาหารหลักของประชากรและเป็นสินค้าส่งออก อีกทั้งยังเป็นแหล่งรายได้ที่สำคัญของภาคเกษตรและอุตสาหกรรมก่อให้เกิดการจ้างงานในอุตสาหกรรมข้าวหลายล้านครัวเรือน เมล็ดข้าวประกอบด้วยส่วนสำคัญหลัก 2 ส่วนคือ ส่วนคัพภะ (Embryo) คือส่วนที่เรียกว่าจมูกข้าว ซึ่งเป็นตำแหน่งของส่วนที่งอกเป็นต้นข้าวต้นใหม่ อีกส่วนคือ เอ็นโดสเปิร์ม (Endosperm) เป็นแหล่งอาหารสำหรับเลี้ยงต้นอ่อนในขณะเมล็ดข้าวเริ่มงอก ประกอบด้วยชั้นอะลูโรน (Aleurone layer) เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอกสุดของส่วนที่เป็นแป้งซึ่งมีธาตุฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และโปแตสเซียมอยู่มาก อีกส่วนคือส่วนเนื้อแป้ง (Starchy endosperm) ซึ่งเป็นส่วนที่เราบริโภคเป็นอาหาร โดยเนื้อแป้งนี้ประกอบด้วยเซลล์เม็ดแป้งและโปรตีน โดยโปรตีนในเมล็ดข้าวอยู่บริเวณรอบนอกใกล้ ๆ กับชั้นในของชั้นอะลูโรน ส่วนเซลล์เม็ดแป้งจะอยู่บริเวณชั้นใน แสดงดังภาพประกอบที่ 2-1 ฉะนั้นในการสีข้าวจึงขัดเอาชั้นอะลูโรนออกไปมาก ซึ่งทำให้สีน้ำตาลหรือสีแดงของข้าวกล้องถูกขัดออกไปหมด ทำให้แร่ธาตุและโปรตีนดังกล่าวถูกขัดออกไปด้วย ซึ่งโดยทั่วไปข้าวกล้องมีโปรตีนประมาณร้อยละ 8 เมื่อขัดให้ขาวจนเป็นข้าวสารจะมีโปรตีนเหลืออยู่เพียงร้อยละ 6-7 เท่านั้น



ภาพประกอบที่ 2-1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

ที่มา : <http://narapimon.com/%E0%B8%AA%E0%B9%88%E0%B8%A7%E0%B8%99%E0%B8%9B%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%B8%81%E0%B8%AD%E0%B8%9A%E0%B8%82%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%95%E0%B9%89%E0%B8%99%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7/> (ค้นหาเมื่อ 18 ตุลาคม 2560)

### 2.1.1 องค์ประกอบทางเคมี

2.1.1.1 คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) ที่พบมากในข้าวจะอยู่ในรูปของแป้ง ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ จะพบมากที่สุดประมาณ 99 เปอร์เซ็นต์ จึงมีผลต่อคุณภาพข้าวมากที่สุด โมเลกุลของแป้งประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ อะมิโลสและอะมิโลแพคติน ซึ่งโมเลกุลแป้งทั้ง 2 ชนิดรวมกันแน่นจนเป็นเมล็ดแป้ง

2.1.1.2 โปรตีน (Protein) ในข้าวมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว โดยโปรตีนจะเกิดขึ้นตามส่วนต่างๆของเมล็ดโปรตีนจะรวมตัวกันเป็นรูปร่างที่มี Glutelin เป็นองค์ประกอบหลักอยู่ภายในซึ่งมี 3 รูปแบบ คือ แบบผลึก แบบรูปร่างกลมขนาดเล็ก และรูปร่างกลมขนาดใหญ่ โปรตีนในเมล็ดข้าวสามารถแบ่งเป็น 4 ชนิด ตามคุณสมบัติในการละลาย ได้แก่ อัลบูมิน โกลบูลินโปรลามิน และกลูเตลลิน

2.1.1.3 ไขมัน (Fat) ข้าวมีปริมาณไขมันประมาณร้อยละ 3 ของข้าวทั้งเมล็ดประเภทไขมันในข้าวส่วนใหญ่คือ ไตรกลีเซอไรด์ รองลงมาคือ ฟอสโฟลิพิด โกลโคลิพิด และเทอร์พีนอยด์

2.1.1.4 แร่ธาตุ (Mineral) ในเมล็ดข้าวที่สำคัญมี 9 ชนิด ได้แก่ แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม เหล็ก สังกะสี แมงกานีส ซีเลเนียม และกาบา (Gamma-amino butyric acid) ซึ่งเป็นสารที่เกิดขึ้นในเมล็ดข้าวขณะที่ข้าวเริ่มงอก

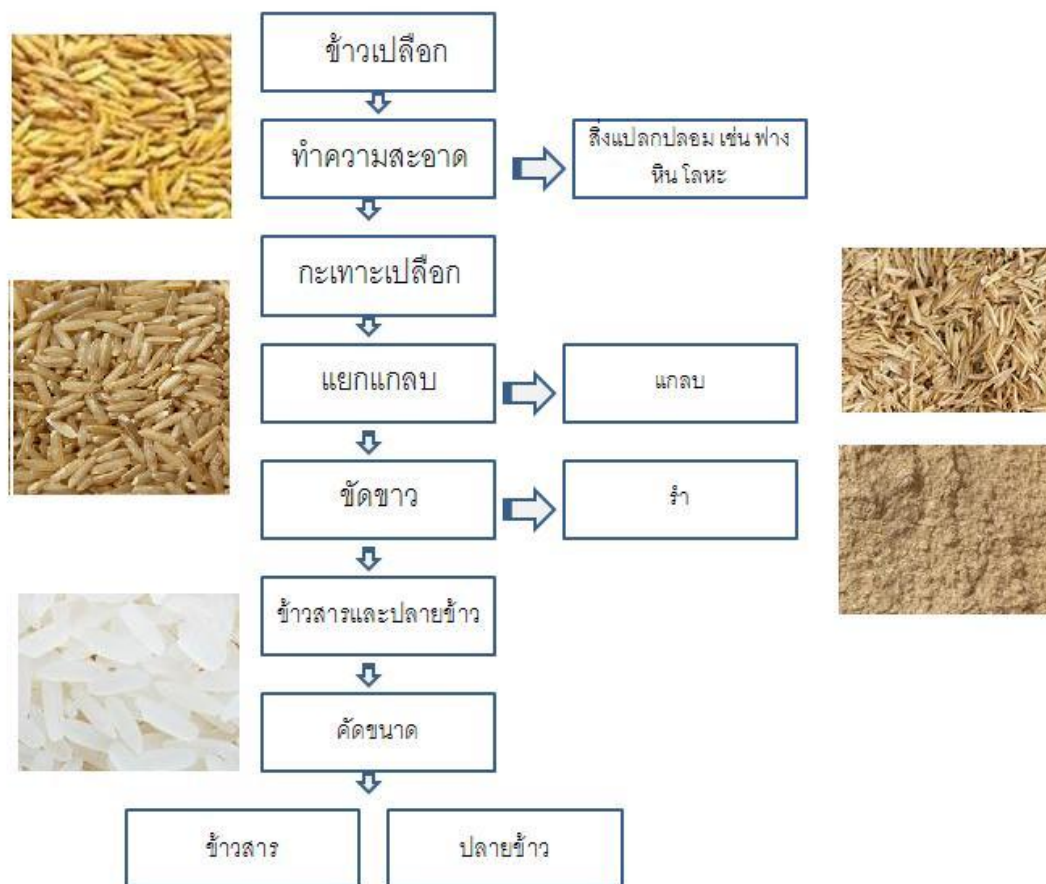
2.1.1.5 วิตามิน (Vitamin) ในเมล็ดข้าวมีวิตามินที่สำคัญได้แก่ กลุ่มวิตามินที่ละลายในน้ำประกอบด้วย วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 3 วิตามินบี 5 วิตามินบี 6 วิตามินบี 9 วิตามินบี 12 โคลีน และอินซิทอล กลุ่มวิตามินที่ละลายในไขมัน ประกอบด้วย วิตามินเอ วิตามินอี วิตามินเอฟ หรือที่รู้จักกันในชื่อ กรดไลโนเลอิกและแคโรทีน

## 2.1.2 การสีข้าว

การสีข้าว (Rice milling) เป็นขั้นตอนการแปรรูปข้าวเปลือกให้ได้เป็นข้าวสารหรือข้าวกล้องที่เหมาะสมกับการนำไปรับประทานหรือแปรรูป แสดงถึงภาพประกอบที่ 2-2 กรรมวิธีในการสีข้าวทำให้ได้ข้าวที่มีคุณประโยชน์ต่างกัน ดังนี้

1. ข้าวกล้อง เป็นข้าวที่ผ่านการขัดสีในขั้นตอนต้นเท่านั้น โดยเครื่องสีข้าวจะกะเทาะเปลือกข้าวหลุดออกไปที่เหลือเป็นเนื้อหรือเมล็ดข้าวและทั้งหมดคือข้าวกล้อง ซึ่งประกอบไปด้วย เยื่อหุ้มเมล็ด จมูกข้าว และเนื้อข้าว เยื่อหุ้มเมล็ด ซึ่งเป็นส่วนที่มีโปรตีน วิตามิน และแร่ธาตุที่เป็นประโยชน์สูงกว่าส่วนอื่น ๆ ของเมล็ดข้าว เยื่อหุ้มเมล็ดจะมีเส้นใยอาหารสูงและมีเกลือแร่อยู่บ้าง จมูกข้าวเป็นส่วนที่มีชีวิต อุดมไปด้วยวิตามิน ไขมัน โปรตีน เกลือแร่ต่าง ๆ และเป็นส่วนของข้าวที่จะเจริญเป็นต้นข้าวต่อไป

2. ข้าวขาวขัดสี เป็นข้าวเจ้าที่มีการขัดสีหลายครั้ง จนเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวและจมูกข้าวหลุดออกไปหมดได้เป็นเมล็ดข้าวสีขาว คุณค่าจึงมีเพียงคาร์โบไฮเดรตอย่างเดียว มีโปรตีนและวิตามินน้อยมาก โดยเฉพาะโปรตีนได้หายจากการขัดสีไปถึง 30 เปอร์เซ็นต์



ภาพประกอบที่ 2-2 ขั้นตอนการสีข้าว

ที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3644/%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%AA%E0%B8%B5%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7-rice-milling> (สืบค้นเมื่อ 9 มกราคม 2561)

เมื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ ข้าวกล้องจะมีโภชนาการทางอาหารของข้าวอย่างครบถ้วน แสดงดังตารางที่ 2-1 เพราะข้าวกล้องปริมาณ 100 กรัม มีใยอาหารสูงถึง 2.1 กรัม ซึ่งโดยปกติแล้วร่างกายเราต้องการใยอาหารอย่างน้อยวันละ 20 กรัม ข้าวกล้องมีใยอาหารที่เป็นประโยชน์ ซึ่งวงการแพทย์รายงานว่าใยอาหารเหล่านี้มีส่วนช่วยป้องกันการเกิดโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ และมะเร็งกระเพาะอาหาร อีกทั้งมีส่วนช่วยป้องกันการดูดซึมไขมันชนิดอิ่มตัวเข้าสู่กระเพาะอาหารได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้ในข้าวกล้องยังอุดมไปด้วยวิตามินบีอีกหลายชนิดที่สำคัญในการช่วยการทำงานของร่างกายในส่วนระบบประสาทและสมอง ทำให้ความจำดี อารมณ์ดี ไม่เครียดง่าย ช่วยในการ

ทำงานของระบบกล้ามเนื้อในร่างกาย เสริมความแข็งแรงของกล้ามเนื้อหัวใจ ช่วยรักษาโรคเหน็บชา วิตามินอีในส่วนจมูกข้าวเป็นสารยับยั้งอนุมูลอิสระที่สำคัญ ที่จะช่วยป้องกันไม่ให้ผิวหนังหย่อนคล้อย ริ้วรอยรอบดวงตา ฝ้า กระ ขี้ด่าง แดง ต้อกระจก หลอดเลือดอุดตัน ที่เป็นสาเหตุของโรคหัวใจ โรคมะเร็งและมีธาตุเหล็กที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคโลหิตจาง

ตารางที่ 2-1 คุณค่าทางโภชนาการในตัวอย่างข้าวกล้องและข้าวขาว 100 กรัม

คุณค่าทางโภชนาการ	ข้าวกล้อง	ข้าวขาว
โปรตีน (กรัม)	7.1	6.7
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	75.1	79.4
โซเดียม (มิลลิกรัม)	84	79
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม)	60	27
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	9	6
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	267	195
เหล็ก (มิลลิกรัม)	1.3	1.2
วิตามิน B1 (มิลลิกรัม)	0.26	0.007
วิตามิน B2 (มิลลิกรัม)	0.04	0.02
ไนอาซิน (มิลลิกรัม)	5.40	1.79

ที่มา: <http://b-natural.lnwshop.com/article/7/> (สืบค้น เมื่อ 6 มกราคม 2561)

## 2.2 ข้าวสังข์หยด

ข้าวสังข์หยด (Sangyod rice) มีถิ่นกำเนิดทางภาคใต้ของประเทศไทย สามารถปลูกได้ในพื้นที่รอบลุ่มทะเลสาบสงขลาทั้งสามจังหวัด คือ นครศรีธรรมราช สงขลา และพัทลุง ข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นข้าวพื้นเมืองที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง เมื่อสีเป็นข้าวสารจะมีลักษณะสีแดงเข้มปนสีขาวในเมล็ดเดียวกันเมื่อหุงสุกมีลักษณะนุ่มค่อนข้างเหนียว เนื่องจากมีปริมาณอะมิโลสต่ำร้อยละ 14.25 ข้าวสังข์หยดได้รับคำประกาศรับรองให้เป็นสินค้าสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ (Geographical Indication : GI) ตามพระราชบัญญัติคุ้มครองสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ พ.ศ. 2546 โดยใช้ชื่อว่า “ข้าวสังข์หยดเมืองพัทลุง” ตั้งแต่วันที่ 23 มิถุนายน 2549 นับเป็นข้าวจีไอพันธุ์แรกของ

ประเทศไทย จังหวัดพัทลุงได้กำหนดให้ข้าวพันธุ์สังข์หยดเป็นพันธุ์ข้าว 1 ใน 3 พันธุ์ที่ได้รับการส่งเสริมการผลิตข้าวตามยุทธศาสตร์พัฒนาจังหวัด การปลูกข้าวพันธุ์สังข์หยดของเกษตรกรในภาคใต้จึงได้พัฒนาไปสู่ระบบการผลิตเพื่อการค้าและการแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าของผลผลิตมากขึ้น

### 2.2.1 ลักษณะของข้าวพันธุ์สังข์หยด

ข้าวสังข์หยดเป็นพันธุ์ข้าวเจ้าที่มีความไวต่อช่วงแสง ปลูกมากในพื้นที่อำเภอเมือง อำเภอเขาชัยสน อำเภอกวนขนุน และอำเภอป่าพะยอมในจังหวัดพัทลุง เป็นข้าวที่ปลูกได้เฉพาะนาปี ต้นข้าวจะมีความสูงประมาณ 140 เซนติเมตร มีการแยกกอเฉลี่ย 8 ต้นต่อกอ และให้ผลผลิตค่อนข้างต่ำ แสดงดังภาพประกอบที่ 2-3 มีลักษณะเด่นแตกต่างจากข้าวพันธุ์อื่น ๆ คือ เยื่อหุ้มเมล็ดมีสีชาวนสีแดงจาง ๆ จนถึงสีแดงเข้มในเมล็ดเดียวกัน เมล็ดเล็กเรียวยาว ทำียงอน เมื่อหุงสุกแล้วจะมีลักษณะแข็ง รสชาติอร่อย ย่อยง่าย และมีคุณค่าทางโภชนาการสูง



ภาพประกอบที่ 2-3 ลักษณะต้นและเมล็ดของข้าวสังข์หยด

ที่มา: <https://www.xn-12cg1cxchd0a2gzc1c5d5a.net/%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7%E0%B8%AA%E0%B8%B1%E0%B8%87%E0%B8%82%E0%B9%8C%E0%B8%AB%E0%B8%A2%E0%B8%94/> (สืบค้นเมื่อ 20 ตุลาคม 2560)

### 2.2.2 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวสังข์หยด

ข้าวสังข์หยด เป็นพันธุ์ข้าวพื้นเมืองของจังหวัดพัทลุงมีลักษณะพิเศษคือ ข้าวกล้องมีสีแดงเข้ม มีคุณค่าทางโภชนาการสูง แสดงดังตารางที่ 2-2 เมื่อเปรียบเทียบคุณค่าของสารอาหารในข้าวพันธุ์ต่าง ๆ พบว่าข้าวสังข์หยดมีคุณค่าทางอาหารสูงกว่าข้าวพันธุ์อื่น กล่าวคือ มีวิตามินบีใน

ปริมาณสูง มีกากใยอาหารสูงกว่าข้าวพันธุ์อื่นจึงมีประโยชน์ต่อระบบขับถ่าย มีวิตามินอีสูง มีประโยชน์ในการชะลอความแก่ นอกจากนี้มีโปรตีน ธาตุเหล็ก และฟอสฟอรัสสูงกว่าข้าวขาว และยังมีกลุ่มสารต้านอนุมูลอิสระ กลุ่มโอรีซานอล สารกาบา และสารประกอบฟีนอลิก ช่วยลดอัตราเสี่ยงของการเป็นมะเร็ง ช่วยชะลอความแก่ ป้องกันความจำเสื่อม บำรุงโลหิต และสีแดงของข้าวสังข์หยด เป็นรงควัตถุประเภทฟลาโวนอยด์ชนิดแอนโทไซยานิน ซึ่งมีคุณสมบัติช่วยชะลอความชราและลดความเสี่ยงในการเป็นโรคต่าง ๆ เช่น โรคหัวใจ โรคมะเร็ง และโรคระบบภูมิคุ้มกันผิดปกติ เป็นต้น

ตารางที่ 2-2 คุณค่าทางโภชนาการในตัวอย่างข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุง 100 กรัม

คุณค่าทางโภชนาการ	ปริมาณ
พลังงาน (กิโลแคลอรี)	364.22
โปรตีน (กรัม)	7.30
ไขมัน (กรัม)	2.42
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	78.31
ใยอาหาร Dietary Fiber (กรัม)	4.81
ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	165
เหล็ก (มิลลิกรัม)	0.52
วิตามิน B1 (มิลลิกรัม)	0.32
วิตามิน B2 (มิลลิกรัม)	0.06
ไนอาซิน (มิลลิกรัม)	6.46

ที่มา: สำเร็จ แซ่ตัน (2550)

### 2.2.3 การตลาดข้าวสังข์หยด

จังหวัดพัทลุง เป็นแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญของภาคใต้ นอกจากนี้ยังปลูกเป็นพืชหลักของจังหวัดที่มีเนื้อที่ปลูกมากเป็นอันดับ 2 รองจากยางพารา โดยพื้นที่ปลูกข้าวนาปีลดลง ตามลำดับจากในปี พ.ศ. 2555 มีพื้นที่ปลูกข้าว 145,051 ไร่ คงเหลือในปี พ.ศ. 2557 จำนวน 140,715 ไร่ (ลดลงร้อยละ 2.99) แสดงดังตารางที่ 2-3 เนื่องจากราคายางพาราและปาล์มน้ำมันค่อนข้างสูงจึงให้เกษตรกรปรับเปลี่ยนพื้นที่ไปปลูกยางพาราและปาล์มน้ำมันมากขึ้น

ตารางที่ 2-3 เนื้อที่เพาะปลูกและผลผลิตข้าวสังข์หยด ปี พ.ศ. 2555-2557

ประเทศ/ จังหวัด	เนื้อที่เพาะปลูกข้าวสังข์หยด (ไร่)			ผลผลิตข้าวสังข์หยด (ตัน)		
	พ.ศ. 2555	พ.ศ. 2556	พ.ศ. 2557	พ.ศ. 2555	พ.ศ. 2556	พ.ศ. 2557
รวมทั้ง ประเทศ	64,950,593	64,998,380	64,658,652	27,233,903	28,021,697	28,581,781
พัทลุง	145,051	142,484	140,715	59,502	60,680	63,880

ที่มา: สำนักงานเกษตรจังหวัดพัทลุง (2558)

เกษตรกรส่วนใหญ่ขายข้าวเปลือกให้กับพ่อค้าส่งประเภทโรงสี เพื่อแปรรูปเป็นข้าวสารส่งต่อไปยังตลาดที่อำเภอสุไหง-โกลก จังหวัดนราธิวาส ตลาดทุ่งสง จังหวัดนครศรีธรรมราช ตลาดจังหวัดใกล้เคียง เช่น จังหวัดสงขลา จังหวัดสตูล จังหวัดตรัง และตลาดชายแดนไทย-มาเลเซีย เพื่อจำหน่ายให้กับผู้บริโภคที่นับถือศาสนาอิสลามแต่ข้าวสารที่ส่งไปจำหน่ายก็ยังไม่เพียงพอต่อความต้องการของตลาด เนื่องจากมีคุณสมบัติช่วยในการรักษาโรคเหน็บชาและมีสารแกมมาออริซานอล ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระเหมาะกับกลุ่มผู้บริโภคที่รักสุขภาพ

การผลิตข้าวสังข์หยดพัทลุงมีผลผลิตค่อนข้างต่ำ เนื่องจากเกษตรกรขาดความรู้ในการเพิ่มผลผลิตและเมล็ดพันธุ์ที่ใช้จึงไม่ค่อยนิยมปลูก จะเห็นได้ว่าจำนวนคร้วเรือนเกษตรกรที่ปลูกข้าวสังข์หยดพัทลุงมีจำนวนลดลงอย่างต่อเนื่อง คือ จาก 2,135 คร้วเรือน ในปี พ.ศ. 2555 คงเหลือจำนวน 703 คร้วเรือน ในปี พ.ศ. 2557 จึงทำให้มีราคาผลผลิตค่อนข้างสูงขึ้นคือในปี พ.ศ. 2555 ราคา กิโลกรัมละ 11.37 บาท ปี พ.ศ. 2556 ราคา 13.66 บาท และในปี พ.ศ. 2557 ราคา 17.07 บาท ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 2-4

ตารางที่ 2-4 ผลผลิตของข้าวสังข์หยดเฉลี่ยต่อไร่ ราคาที่เกษตรกรขายเฉลี่ย และจำนวนคร้วเรือนเกษตรกรที่ปลูกข้าวสังข์หยด ปี พ.ศ. 2555-2557

ข้าวสังข์หยด	ปี พ.ศ. 2555	ปี พ.ศ. 2556	ปี พ.ศ. 2557
ผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่ (ก.ก.)	465.14	439.66	435.17
ราคาที่เกษตรกรขายเฉลี่ย (ก.ก.)	11.37	13.66	17.07
จำนวนคร้วเรือนเกษตรกร	2,135	1,278	703

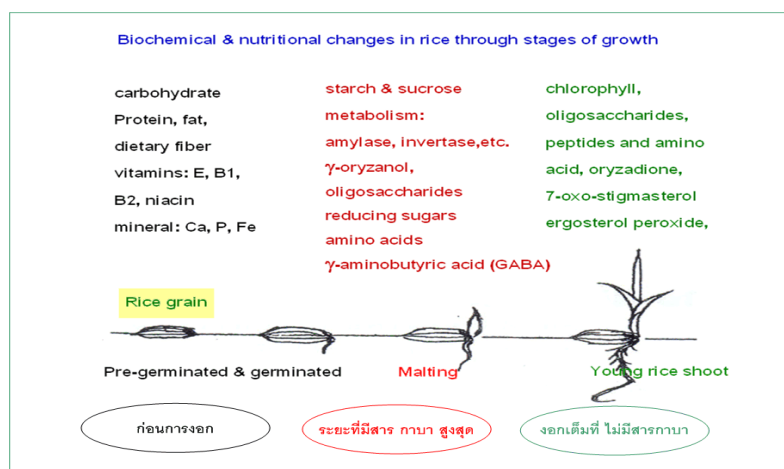
ที่มา: สำนักงานเกษตรจังหวัดพัทลุง (2558)



ในการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ที่สำคัญ พบว่าต้นทุนการผลิต จำนวนเกษตรกรที่ปลูกข้าวสังข์หยด จำนวนเกษตรกรที่ปลูกข้าวสังข์หยดที่มีคุณภาพ จำนวนเนื้อที่ปลูกข้าวสังข์หยด และจำนวนผลผลิตข้าวสังข์หยด เป็นตัวแปรที่สำคัญในการสร้างแรงจูงใจในการพัฒนาข้าวสังข์หยดให้มีมูลค่าเพิ่มขึ้น นอกเหนือจากการบริโภคเป็นอาหารด้วยการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ในหลากหลายรูปแบบ เพื่อเป็นแรงจูงใจให้เกษตรกรนิยมมาปลูกข้าวสังข์หยดมากขึ้น

### 2.3 ข้าวกล้องงอก

ข้าวกล้องงอก เป็นข้าวกล้องที่ผ่านกระบวนการเพาะงอก แสดงถึงภาพประกอบที่ 2-4 ในอุณหภูมิ ความชื้น และเวลาที่เหมาะสม โดยการเปลี่ยนแปลงจะเริ่มขึ้นเมื่อน้ำได้แทรกเข้าไปในเมล็ดข้าว น้ำจะกระตุ้นให้เอนไซม์ภายในเมล็ดข้าวเกิดการ ทำงาน เมื่อเมล็ดข้าวเริ่มงอกสารอาหารที่ถูกเก็บไว้ในเมล็ดข้าวก็จะถูกย่อยสลายไปตามกระบวนการชีวเคมี จนเกิดเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเล็กลงและน้ำตาลรีดิวซ์ นอกจากนี้โปรตีนภายในเมล็ดข้าวก็จะถูกย่อยให้เกิดเป็นกรดอะมิโนและเปปไทด์ รวมทั้งยังพบการสะสมสารเคมีสำคัญต่าง ๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายเช่น สารแกมมาโอไรซานอล และสารกาบา มากกว่าข้าวธรรมดาถึง 15 เท่า โดยมีปริมาณสารกาบาโดยเฉลี่ย 15-20 มิลลิกรัมต่อข้าวกล้องงอก 100 กรัม มีปริมาณสารฟีนอลิกเพิ่มขึ้นประมาณ 1.5 เท่า (พัชราภรณ์ รัตนธรรม และคณะ, 2556) มีเส้นใยอาหาร วิตามินอี ไนอาซิน และไลซีน มากกว่าประมาณ 4 เท่า และวิตามินบี 1 มากกว่าประมาณ 3 เท่า (Kayahara and Tsukahara, 2003)



ภาพประกอบที่ 2-4 แสดงการงอกของเมล็ดข้าว

ที่มา: วีระชัย อุ่นสากุล (2553)

### 2.3.1 คุณสมบัติของสารในข้าวกล้องงอก

ข้าวกล้องงอก นับว่ามีประโยชน์มากกว่าข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการงอก เนื่องจากมีสารกาบา (GABA) ของกรดกลูตามิก ดังนั้นการเลือกรับประทานข้าวกล้องงอกจึงนับว่าเป็นอีกทางเลือกสำหรับผู้รักสุขภาพ คุณสมบัติของข้าวกล้องงอกมีดังนี้ (สุนัน ปานสาคร, 2556)

2.3.1.1 สารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟีนอล (Phenolic compounds) สามารถในการป้องกันโรคต่าง ๆ โดยเฉพาะโรคหัวใจขาดเลือด มะเร็ง ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด ช่วยในเรื่องการไหลเวียนของเลือด ทำให้ผิวพรรณเปล่งปลั่งและแข็งแรง ในด้านความงามสารฟีนอลิกยังช่วยยับยั้งการเกิดฝ้าและชะลอความแก่

2.3.1.2 สารออริซานอล (Oryzanol) ช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ เนื่องจากสารต้านอนุมูลอิสระช่วยป้องกันการทำลายหลอดเลือดหัวใจจากอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ยังช่วยลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระ เช่น โรคมะเร็ง ช่วยลดคอเลสเตอรอล โดยการลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลในลำไส้เพิ่มไขมันที่ดีคือ ไตรกลีเซอไรด์และ HDL จึงเป็นการช่วยลดความเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ

2.3.1.3 สารกาบา (GABA) เป็นสารสื่อประสาทประเภทสารยับยั้ง รักษาสมดุลในสมองที่ได้รับการกระตุ้น ช่วยป้องกันโรคเกี่ยวกับระบบประสาท เช่น โรคอัลไซเมอร์ โรคลมชัก ช่วยให้รู้สึกสงบ ลดอาการวิตกกังวล และช่วยรักษาโรคนอนไม่หลับ เพิ่มอัตราการเผาผลาญของเซลล์สมอง ลดความดันโลหิต ยับยั้งและป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็ง

2.3.1.4 โยอาหาร (Food fiber) ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ป้องกันมะเร็งลำไส้

2.3.1.5 วิตามินอี (Vitamin E) ป้องกันการเกิดออกซิเดชันของสารในกลุ่มไขมัน ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของวิตามินเอได้ดียิ่งขึ้น และยังทำหน้าที่สำคัญคล้ายเป็นยาขยายหลอดเลือดเป็นยาต้านการแข็งตัวของเลือดและช่วยลดการเหนียวของผิว

### 2.3.2 การผลิตข้าวกล้องงอกจากข้าวเปลือก

ในการผลิตข้าวกล้องงอกจากข้าวเปลือก หากนำเมล็ดข้าวเปลือกมาเพาะเลยนั้นจะยังไม่เกิดการงอกเพราะข้าวแต่ละสายพันธุ์มีระยะเวลาการพักตัว ซึ่งการพักตัวเกิดขึ้นเนื่องจากมีสาร

ยับยั้งพวกซูเบอร์ิน (Suberin) หรือสารเพคติก (Pectic substance) (เอกสงวน ชูวิสิฐกุล, 2544) ต้องให้พ้นจากระยะการพักตัวก่อนจึงจะเกิดการงอกได้ หรือใช้วิธีการอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง (นงนุช วงศ์สินชวน, 2541) จะสามารถแก้การพักตัวของข้าวได้ข้าวแต่ละพันธุ์มีระยะการพักตัวแตกต่างกันออกไป เช่น ข้าวเล็บนก มีระยะการพักตัว 3 สัปดาห์ ข้าวเหนียวพัทลุง 1 สัปดาห์ ข้าวชัยนาท 8 สัปดาห์ และข้าวสังข์หยด มีระยะการพักตัวประมาณ 9 สัปดาห์ หลังจากพ้นระยะการพักตัวแล้วเมล็ดก็จะเริ่มเสื่อมไปเรื่อย ๆ ทำให้อัตราการงอกลดลง นอกจากนี้ปัจจัยที่จำเป็นต่อการงอกของเมล็ดข้าว ได้แก่ อุณหภูมิและความชื้น อุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 30-40 องศาเซลเซียส ดังนั้นข้าวเปลือกที่จะนำมาเพาะไม่ควรที่จะเป็นข้าวเปลือกใหม่ควรปล่อยไว้ประมาณ 1 เดือน เพื่อให้หมดระยะพักตัวก่อนและการเพาะข้าวกล้องงอกจำเป็นต้องตรวจสอบเปอร์เซ็นต์ความงอกของข้าวเปลือก หากเปอร์เซ็นต์ความงอกน้อยกว่า 80% ไม่ควรนำมาเพาะเป็นข้าวกล้องงอก เพราะจะทำให้เกิดกลิ่นบูดในระหว่างการเพาะจากเมล็ดที่ไม่มีชีวิต วิธีการทดสอบเปอร์เซ็นต์การงอกสามารถทำได้โดยใช้กล่องพลาสติกที่มีฝาปิดรองพื้นกล่องด้วยกระดาษทิชชู 2-3 ชั้น เติมน้ำประปาให้กระดาษทิชชูเปียกน้ำมีน้ำขังเล็กน้อย โรยข้าวเปลือก 100 เมล็ด ปิดฝากล่องเมื่อครบ 3 วัน นับเมล็ดที่งอกรากเล็ก ๆ หากนับได้มากกว่า 80% ถือว่าข้าวเปลือกดังกล่าวสามารถนำไปเพาะเป็นข้าวกล้องงอกได้

### 2.3.3 ปัจจัยในการงอกของเมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวที่งอกได้ต้องมีปัจจัยการงอกที่เหมาะสมทั้งตัวเมล็ดและสภาพแวดล้อมภายนอกดังนี้ (ชาญ มงคล, 2536)

2.3.3.1 เมล็ดที่งอกได้ต้องมีชีวิตอยู่ (Viable) นับว่าเป็นปัจจัยสำคัญในการงอกของเมล็ด

2.3.3.2 เมล็ดต้องพ้นระยะการพักตัว

2.3.3.3 เมล็ดต้องอยู่ในสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมในขณะที่ทำการเพาะ ซึ่งปัจจัยที่เกี่ยวกับสภาพแวดล้อม ได้แก่

น้ำ เป็นตัวกระตุ้น (Trigger) กระบวนการงอก กระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาเคมีและกระบวนการเมแทบอลิซึม น้ำทำให้เปลือกเมล็ดอ่อนนุ่มทำให้เมล็ดพองโต เนื่องจากการขยายของ

ผนังเซลล์และโพรโทพลาสต์ เมื่อเปลือกเมล็ดอ่อนนุ่มทำให้รากทะลุผ่านเปลือกได้สะดวกมากขึ้น ความสำคัญของความชื้นในเมล็ดมีส่วนเกี่ยวข้องกับควมมีชีวิตของเมล็ดด้วย

อุณหภูมิ มีความสำคัญมากต่อการควบคุมและอัตราการเกิดปฏิกิริยาทางชีวเคมี ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของพืชตามมา ด้วยความแตกต่างของชนิดและถิ่นกำเนิดของพืชทำให้พืชมีความต้องการอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการงอกที่แตกต่างกัน โดยเมล็ดพันธุ์แต่ละชนิดมีระดับอุณหภูมิสูงสุดและต่ำสุดที่เมล็ดสามารถงอกได้แตกต่างกันแสดงดังตารางที่ 2-5 อุณหภูมิที่เหมาะสมช่วยให้เมล็ดดูดน้ำและเร่งให้กระบวนการงอกของเมล็ดเกิดเร็วขึ้นซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับพืชแต่ละชนิดไม่เท่ากัน โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมของพืชเมืองร้อนย่อมสูงกว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมของพืชเมืองหนาว อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดคือ อุณหภูมิที่สามารถงอกเร็วและมีเปอร์เซ็นต์การงอกสูงสุด

ตารางที่ 2-5 อุณหภูมิระดับต่าง ๆ ที่เมล็ดพันธุ์พืชชนิดต่าง ๆ สามารถงอกได้

ชนิดพืช	อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)		
	ต่ำสุด	เหมาะสม	สูงสุด
ข้าว	10-20	20-30	40-42
ข้าวโพด	3-5	15-20	30-40
ข้าวบาร์เลย์	8-10	25	40-44
ข้าวสาลี	3-5	15-20	30-43
ถั่วเหลือง	8	20-35	40
มะเขือเทศ	20	20-30	35-40
ยาสูบ	10	24	30
แคนตาลูป	16-19	20-30	45-50

ที่มา: จวงจันท์ ดวงพัตรา (2529)

แสง เมล็ดเมื่อเริ่มงอกมีทั้งต้องการแสงและไม่ต้องการแสง ส่วนใหญ่เมล็ดเมื่อเริ่มงอกมักไม่ต้องการแสง นอกจากนี้แสงมีความจำเป็นหลังจากที่เมล็ดงอกแล้วขณะที่เป็นต้นกล้า โดยแสงที่พอเหมาะทำให้ต้นกล้าแข็งแรงและเจริญเติบโตได้ดี

ออกซิเจน เมื่อเริ่มงอกเมล็ดเริ่มหายใจมากขึ้น ซึ่งต้องใช้ออกซิเจนในกระบวนการทางชีวเคมีเพื่อเปลี่ยนแปลงสารอาหารที่สะสมไว้เป็นสารต่าง ๆ ที่เป็นพลังงานและสารที่เป็นปัจจัยสำคัญสำหรับการงอก

### 2.3.4 กระบวนการงอกของเมล็ดข้าว มี 3 ขั้นตอนดังนี้ (ชาญ มงคล, 2536)

2.3.4.1 ขั้นตอนการตื่นตัวการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีและสรีรวิทยา ขั้นตอนนี้ อาจเกิดขึ้นและสิ้นสุดในระยะเวลาเพียงสั้น ๆ เป็นนาทีหรือชั่วโมง ขั้นตอนนี้เริ่มตั้งแต่เมล็ดมีการดูดซึมน้ำทำให้เปลือกหุ้มเมล็ดอ่อนตัวลงและโปรโตพลาสซึมมีการดูดน้ำเข้าเซลล์เป็นผลให้กระบวนการสังเคราะห์ต่าง ๆ ภายในเซลล์เริ่มทำงาน เอ็นไซม์ซึ่งถูกสร้างขึ้นขณะเมล็ดกำลังเติบโตจะถูกเร่งให้อยู่ในสภาพกระตุ้นทำให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์โปรตีนต่าง ๆ DNA และ RNA พลังงานที่จะต้องใช้ในการสังเคราะห์เอนไซม์หรือโปรตีนต่าง ๆ จะได้จากไมโทคอนเดรีย ซึ่งมีหน้าที่ผลิต ATP ทำให้มีการเพิ่มอัตราการหายใจของเมล็ดอย่างรวดเร็ว

2.3.4.2 ขั้นตอนการย่อยและการลำเลียง เกิดการย่อยสลายสารอาหารที่สะสมไว้ในเมล็ด เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรตในเนื้อเยื่อสะสมคือ เอนโดสเปิร์มและเฟอริสเปิร์ม โดยสารอาหารที่ถูกย่อยเกิดเป็นสารประกอบง่าย ๆ เช่น น้ำตาลและกรดอะมิโน ถูกลำเลียงไปยังส่วนที่กำลังเจริญเติบโต ได้แก่ ส่วนคัพภะ คือ ส่วนที่รากจะงอกของข้าว เพื่อใช้ในการเจริญเติบโตของโครงสร้างเซลล์และโครงสร้างอวัยวะใหม่

2.3.4.3 ขั้นตอนการเติบโตของคัพภะ เมื่อคัพภะได้รับสารอาหารที่ย่อยแล้วจะเกิดกระบวนการแบ่งเซลล์และเกิดการยึดตัวของเซลล์เกิดขึ้นที่รากแรกเกิด ทำให้รากแรกเกิดยึดตัวและแทงออกจากเปลือกหุ้มเมล็ด ส่วนจุดการเจริญเติบโตของลำต้นในคัพภะคือ Plumule มีการยึดตัวและการเติบโตเกิดใบแรก และแกนของคัพภะส่วนใต้ใบเลี้ยงเติบโตเป็นไฮโปโคทิล (Hypocotyls) ส่วนเหนือใบเลี้ยงเจริญเป็นอีพิโคทิล (Epicotyls)

## 2.4 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลิก คือ สารเคมีกลุ่มใหญ่ที่สุดที่พืชสร้างขึ้น โดยมีโครงสร้างประกอบด้วยหมู่ไฮดรอกซีเกาะอยู่กับวงแหวนเบนซีน สารในกลุ่มนี้จึงมีคุณสมบัติที่ละลายน้ำได้ดีพบ

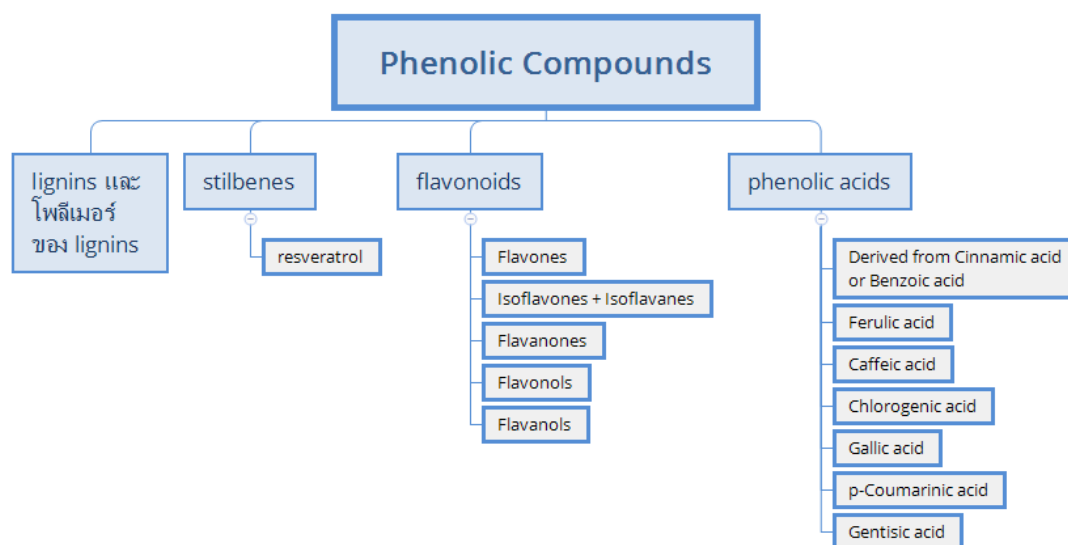
ได้ในพืช ผัก และผลไม้ทั่วไป (Margarita et al., 2001) สามารถจำแนกชนิดของสารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มใหญ่ ๆ ออกเป็น 4 กลุ่ม แสดงดังภาพประกอบที่ 2-5

2.4.1 กลุ่มกรดฟีนอลิก (Phenolic acid) ที่มาจาก hydroxybenzoic acids ได้แก่ gallic acid และกรดฟีนอลิกที่มาจาก hydroxycinnamic acid ได้แก่ caffeic, ferulic และ coumaric acid แสดงดังภาพประกอบที่ 2-6

2.4.2 ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นกลุ่มสำคัญของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ สารที่มีสูตรโครงสร้างเป็น C6-C3-C6 แยกย่อยออกได้เป็นหลายกลุ่ม ได้แก่ Catechins, Proanthocyanins, Anthocyanidins, Flavones, Flavonols, Flavonones และ Isoflavones flavonoids สามารถพบได้อย่างกว้างขวางทั้งพืช ผัก ผลไม้รวมทั้งเครื่องดื่มที่เตรียมมาจากพืช เช่น ชา ซึ่งพบสารสำคัญในการออกฤทธิ์เป็น Antioxidant และ Chemoprevention

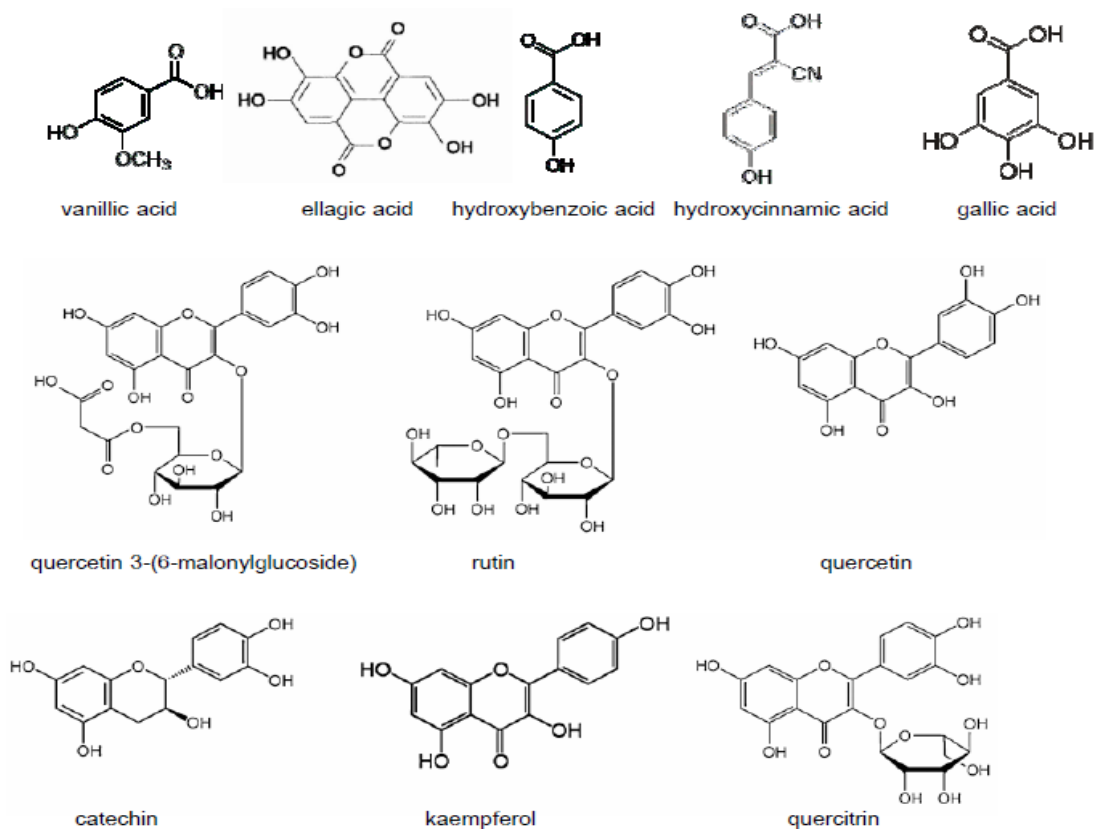
2.4.3 กลุ่มสติลเบิน (Stilbenes)

2.4.4 กลุ่มลิกนินและโพลีเมอร์ของลิกนิน ลิกนิน (Lignin) ลิกนินเป็นสารประกอบระหว่างคาร์บอน ไฮโดรเจนและออกซิเจนรวมกันเป็นหน่วยย่อยหลายชนิด เป็นสารประกอบเชิงซ้อนมีสมบัติไม่ละลายน้ำ โดยลิกนิน เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเป็นสารประกอบที่มีอยู่ในผนังเซลล์พืชชั้นสูง ปริมาณลิกนินที่มีอยู่ในเซลล์พืชประมาณ 20-30%



ภาพประกอบที่ 2-5 แสดงประเภทของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืช

ที่มา: ลือชัย บุตุคูป (2011)



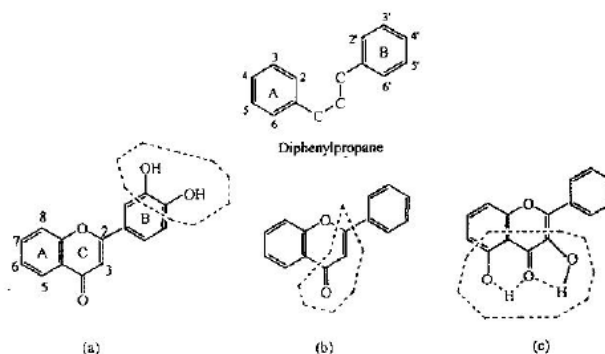
ภาพประกอบที่ 2-6 โครงสร้างของ phenolic acid and flavonoids

ที่มา: ลือชัย บุตุคุป (2011)

## 2.5 สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoid)

สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) เป็นกลุ่มที่พบมากที่สุดในธรรมชาติ ซึ่งพบแทบทุกส่วนของพืชตั้งแต่ราก ลำต้น ใบ ดอก และผลเป็นสารให้สีในพืช ฟลาโวนอยด์เป็นสารอินทรีย์ประเภทโพลีฟีนอล (Polyphenol) มีโครงสร้างพื้นฐานเป็นไดฟีนิลโพรเพน (Diphenylpropane) ฟลาโวนอยด์เป็นสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่มีมากในอาหารประเภทไขมันและไขมันผสมน้ำ โครงสร้างของสารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่เกี่ยวข้องกับการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันขึ้นอยู่กับหมู่ OH ที่บริเวณวงแหวน B ดังภาพประกอบที่ 2-7a พันธะคู่ที่ C2 และ C3 ที่คอนจูเกตอยู่กับหมู่คาร์บอนิล (C=O) ที่ตำแหน่ง C4 ของวงแหวน C ดังภาพประกอบที่ 2-7b และเกิดพันธะไฮโดรเจนของหมู่คาร์บอนิลที่ C4 ของวงแหวน C อยู่กับหมู่ OH ที่ตำแหน่ง C3

หรือ C5 ดังภาพประกอบที่ 2-7c การเปลี่ยนแปลงโครงสร้างที่วงแหวน C ทำให้มีการแยกฟลาโวนอยด์ออกเป็นกลุ่มต่าง ๆ และการเกิด hydroxylation ที่วงแหวน A และ B ทำให้เกิดอนุพันธ์ของฟลาโวนอยด์ชนิดนั้น ๆ



ภาพประกอบที่ 2-7 โครงสร้างของสารต้านออกซิเดชันในสารประกอบฟลาโวนอยด์

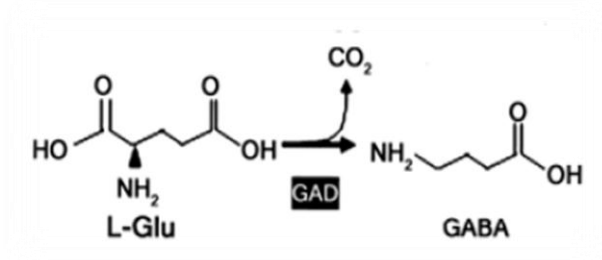
ที่มา: Shi et al. (2001)

## 2.6 กรดแกมมา-แอมิโนบิวทีริก ( $\gamma$ -aminobutyric acid ; GABA)

กรดแกมมา-แอมิโนบิวทีริก หรือ กาบา ( $\gamma$ -aminobutyric acid ; GABA) จัดเป็นกรดแอมิโนที่ไม่ใช่โปรตีน ประกอบด้วยคาร์บอน 4 อะตอม มีหมู่คาร์บอกซิล (COOH) และหมู่แอมิโน ( $\text{NH}_2$ ) อย่างละ 1 หมู่ ต่ออยู่กับคาร์บอนอะตอม ตรงตำแหน่งแกมมา-คาร์บอน ( $\gamma$ -carbon)

มีสูตรโมเลกุลคือ  $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_3\text{COOH}$  มวลโมเลกุลเท่ากับ 103.12 มีโครงสร้างเป็นวงแหวนคล้ายโพรลีน (Proline) และอยู่โดยไม่เกาะอยู่กับโมเลกุลอื่น มีคุณสมบัติในการละลายน้ำได้ดี จัดเป็น Zwitter ionic คือ มีทั้งขั้วบวกและขั้วลบ สลายตัวที่ 195 องศาเซลเซียส (Bown and Shelp, 1997) แสดงในภาพประกอบที่ 2-8





ภาพประกอบที่ 2-8 โครงสร้างของกลูตาเมต (L-glutamate) และสารกาบา (GABA)

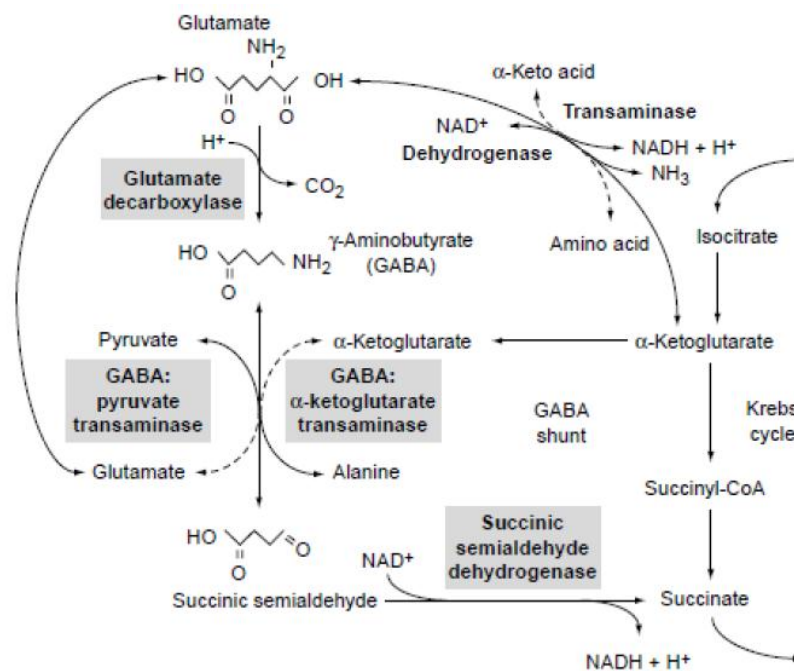
ที่มา: Liu et al. (2005)

กระบวนการเมทาบอลิซึมของกาบาจะเปลี่ยนกลูตาเมตไปเป็นซัคซิเนต (Succinate) ซึ่งเรียกว่า GABA Shunt ดังแสดงในภาพประกอบที่ 2-9 (Shelp et al., 1999 และ Bouche and Fromm, 2004)

ขั้นตอนแรก เป็นกระบวนการแอลฟา-ดีคาร์บอกซิเลชัน ( $\alpha$ -decarboxylation) ของกลูตาเมตเป็นกระบวนการที่ไม่สามารถผันกลับ โดยเอนไซม์กลูตาเมตดีคาร์บอกซิเลส (Glutamate decarboxylase; GAD) เกิดเป็นกาบาและคาร์บอนไดออกไซด์ ( $\text{CO}_2$ ) ซึ่งเอนไซม์ GAD นี้ มีความจำเพาะกับกลูตาเมต และมี Pyridoxal 5'-phosphate เป็นโคแฟกเตอร์ pH ที่เหมาะสมของเอนไซม์นี้อยู่ที่ประมาณ 5.8

ขั้นที่สอง เป็นกระบวนการที่ผันกลับได้ โดยเอนไซม์ GABA transaminase (GABA-T) จะเปลี่ยนกาบาไปเป็น Succinic semialdehyde โดยใช้ Pyruvate หรือ  $\alpha$ -ketoglutarate เป็น Amino acceptor

ขั้นสุดท้าย เป็นการบวนการที่ผันกลับไม่ได้ โดยเอนไซม์ Succinic semialdehyde dehydrogenase (SSADH) จะออกซิไดซ์ Succinic semialdehyde ไปเป็น Succinate



ภาพประกอบที่ 2-9 กลไกการสังเคราะห์กาบา (GABA Shunt)

ที่มา : Shelp et al. (1999)

## 2.7 กระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลาย

### 2.7.1 วิธีการสกัด

การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (Extraction with solvent) ตัวทำละลายที่นิยมใช้มากที่สุดคือ ปิโตรเลียมอีเทอร์ (Petroleum ether) อาจใช้ตัวทำละลายอื่น เช่น แอซีโตน เมทานอล และแอลกอฮอล์ เป็นต้น วิธีนี้จะควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วงไม่เกิน 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการสกัดแบบซอกเลตซึ่งต้องใช้อุณหภูมิสูง ทำให้องค์ประกอบทางเคมีเปลี่ยนแปลงและมีกลิ่นผิดไปจากธรรมชาติ จึงได้มีการนำวิธีการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยวิธีกวนผสมในถังกวนมาใช้ในทางอุตสาหกรรม หลักการของการสกัดคือ การใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งการสกัดมีวิธีการดังนี้

Solid/Liquid Extraction เป็นการใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมละลายสารที่ต้องการออกมาจากสารผสมซึ่งเป็นของแข็ง การสกัดจะเกิดได้ดีหรือไม่ขึ้นอยู่กับ การละลายของตัวถูกละลาย

ละลายในตัวสกัดหรือตัวทำละลายของเหลว และเวลาที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้จะสั้นหรือนานขึ้นอยู่กับลักษณะของตัวถูกละลายที่อยู่ในสารตัวอย่างของแข็ง หากตัวถูกละลายเพียงดูดซับที่ผิวของของแข็งการสกัดจะใช้เวลาสั้นแต่หากตัวถูกละลายอยู่ในภายในของแข็งจะต้องใช้เวลามากกว่าและหากการกระจายของตัวทำละลายภายในของแข็งเกิดขึ้นได้ช้ามาก จำเป็นต้องบดของแข็งให้ละเอียดก่อนทำการสกัดจะทำให้ตัวทำละลายสัมผัสกับของแข็งได้ดี วิธีการสกัดของแข็งสามารถทำได้ 2 วิธีคือ

1) หากตัวถูกละลายอยู่ในสารตัวอย่างของแข็งเพียงแค่ดูดซับที่ผิวและการละลายของตัวถูกละลายในตัวสกัดมีค่าสูง การสกัดสามารถทำได้ง่าย ๆ คือ นำสารตัวอย่างใส่ลงในบีกเกอร์หรือขวดปากกว้างแล้วเติมตัวทำละลายลงไป จากนั้นคนด้วยเครื่องเขย่าเมื่อคนเป็นเวลานานจนแน่ใจว่าตัวถูกละลายละลายในตัวสกัดหมดแล้ว ให้ใช้วิธีการกรองเอาของแข็งออกจากสารละลาย เทคนิคนี้เหมาะสำหรับใช้ในการแยกสารประกอบประเภทเกลือของสารอนินทรีย์และเป็นเทคนิคที่สำคัญในกระบวนการชะล้าง (Leaching operation)

2) หากตัวถูกละลายเป็นสารประกอบอินทรีย์หรือสารทางชีววิทยา ซึ่งเป็นสารประกอบที่มีการละลายในตัวสกัดต่ำหรือการสกัดจะสมบูรณ์ได้ต้องใช้เวลาหลายๆ จำเป็นต้องใช้เทคนิคของการสกัดอย่างต่อเนื่อง เครื่องมือที่นิยมใช้สำหรับการสกัดอย่างต่อเนื่องคือ เครื่องสกัดแบบซอกเลต (Soxhlet extractor)

## 2.7.2 ตัวทำละลาย

ตัวทำละลาย (Solvent) เป็นของเหลวที่สามารถละลายตัวถูกละลายที่เป็นของแข็งของเหลว หรือก๊าซได้เป็นสารละลาย ตัวทำละลายที่คุ้นเคยมากที่สุดและใช้ในชีวิตประจำวันคือ น้ำ โดยปกติตัวทำละลายจะมีจุดเดือดต่ำและระเหยง่ายหรือสามารถกำจัดโดยการกลั่นได้ โดยทั่วไปแล้วตัวทำละลายไม่ควรทำปฏิกิริยากับตัวถูกละลายคือ จะต้องมีความสมบัติเฉื่อยทางเคมีตัวทำละลายสามารถใช้สกัด (Extract) สารประกอบที่ละลายในตัวทำละลายจากของผสมได้ ตัวอย่างที่คุ้นเคยได้แก่ การต้มกาแฟหรือชาด้วยน้ำร้อน ปกติตัวทำละลายจะเป็นของเหลวใสไม่มีสีและส่วนใหญ่จะมีกลิ่นเฉพาะตัว โดยทั่วไปการสกัดสารสำคัญออกจากพืชมีวิธีการจำเพาะที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมีของสารที่ต้องการสกัด ซึ่งตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้สำหรับสกัดสารประกอบ

พีนอลิกได้แก่ เมทานอล เอทานอล (อเนก หาลี, 2559) เพราะสารประกอบพีนอลิกที่พบได้ในพืชเกือบทุกชนิดส่วนใหญ่อยู่ในรูปแบบที่มีขี้ละลายน้ำได้ ในการการสกัดสารประกอบพีนอลิกมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ เพราะต่างก็เป็นสารอินทรีย์เหมือนกันจึงเกิดการละลายกันตามหลักการละลายกันได้ (Like dissolves like) และเนื่องจากเอทานอลจัดเป็นสารกลุ่มที่มีขี้ปานกลาง จึงนิยมใช้ในการสกัดสารเบื้องต้น เพราะสามารถสกัดได้ทั้งสารที่มีขี้และสารที่ไม่มีขี้ออกมาได้ มีความสามารถละลายน้ำได้กว้างขวาง อีกทั้งยังมีความเป็นพิษต่ำและมีความปลอดภัยกว่าตัวทำละลายชนิดอื่น ความมีขี้ของสารที่จะแยกและความมีขี้ของตัวทำละลายที่เลือกใช้จึงมีผลต่อการแยกมาก น้ำมันธรรมชาติส่วนใหญ่เป็นสารอินทรีย์ชนิดที่ไม่มีขี้ในโมเลกุล ดังนั้นสารเคมีที่นำมาสกัดต้องเป็นสารที่ไม่มีขี้ในโมเลกุลด้วยเช่นกัน จึงจะสามารถละลายสารสกัดได้ดี ตัวทำละลายที่นิยมใช้ในทางอุตสาหกรรมได้แก่ Hexane, Ether เป็นต้น ซึ่งขี้ของตัวทำละลายจากน้อยไปมากที่ส่งผลต่อกระบวนการสกัดแสดงดังตารางที่ 2-6

ตารางที่ 2-6 แสดงคุณสมบัติของตัวทำละลาย

ตัวทำละลาย	ชนิดของสาร	การละลายน้ำ	ผลต่อการสกัด
Hexane	ไม่มีขี้	ไม่ละลายน้ำ	สกัดสารที่เป็นน้ำมันได้ดี
Cyclohexane	ไม่มีขี้	ไม่ละลายน้ำ	สกัดสารที่เป็นน้ำมันได้ดี
Chloroform	มีขี้	0.8 g/100ml (20°C)	สกัดสารได้ปานกลาง
Ethyl acetate	มีขี้	8.3 g/100ml (20°C)	สกัดสารได้ปานกลาง
Acetone	มีขี้	ละลายได้ดี	สกัดสารมีขี้ได้ดี
2-propanol	มีขี้	ละลายได้ดี	สกัดสารมีขี้ได้ดี
Ethanol	มีขี้	ละลายได้ดี	สกัดสารมีขี้ได้ดี
Methanol	มีขี้	ละลายได้ดี	สกัดสารมีขี้ได้ดี
น้ำ	มีขี้	-	สกัดสารมีขี้ได้ดี

ที่มา: <http://chemsci.kku.ac.th/crystal/cryst05.htm> (สืบค้นเมื่อ 5 มกราคม 2561)

### 2.7.3 การระเหยตัวทำละลายออกจากสารสกัด

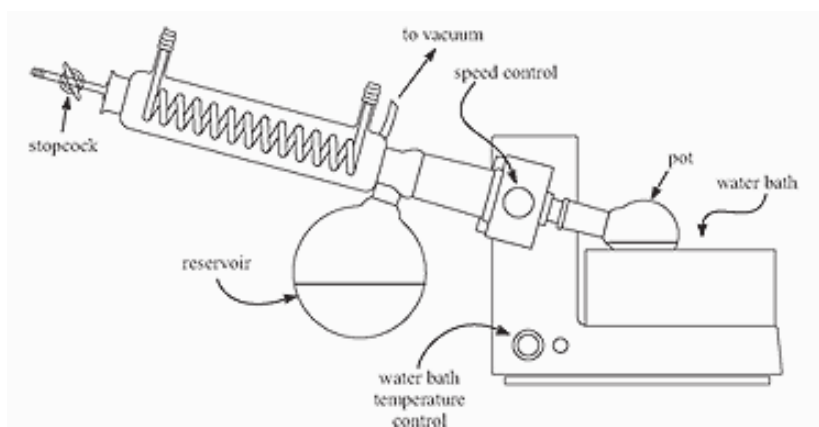
หลังกระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลาย สารสกัดที่ได้จะมีปริมาณมากและเจือจาง จึงต้องนำมาทำให้เข้มข้นด้วยวิธีการต่าง ๆ ดังนี้ (รัตนา อินทรานุปกรณ์, 2547)

#### 2.7.3.1 การระเหยด้วยความร้อน

การระเหย (Free evaporation) เป็นการนำตัวทำละลายออกจากตัวละลาย โดยใช้ความร้อนจากหม้ออังไอน้ำ (Water bath) หรือแผ่นความร้อน (Hot plate) วิธีนี้อาจทำให้องค์ประกอบในสารละลายตัวได้เนื่องจากอุณหภูมิสูงเกินไปและหากใช้สารอินทรีย์ในการสกัด การระเหยโดยใช้ความร้อนโดยตรง (Direct heat) บนแผ่นความร้อน อาจเกิดอันตรายได้ง่าย นอกจากนี้ควรคำนึงถึงอุณหภูมิที่จะทำให้เกิดการสลายตัวของสารสำคัญเมื่อใช้ความร้อน

#### 2.7.3.2 การระเหยในภาวะสุญญากาศ

การระเหยในภาวะสุญญากาศ (Evaporation in vacuum) เป็นวิธีที่นิยมมากที่สุดในการระเหยเอาตัวทำละลายออกจากสารสกัดโดยการระเหยที่อุณหภูมิต่ำ พร้อมทั้งลดความดันลงให้เกือบเป็นสุญญากาศ (Vacuum pump) เครื่องมือนี้เรียกว่า Rotary evaporator แสดงดังภาพประกอบที่ 2-10 ซึ่งประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ 3 ส่วน คือ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบที่จะระเหย (Distillation flask) ส่วนคอนเดนเซอร์หรือส่วนควบแน่นไอสารละลาย (Condenser) และภาชนะรองรับสารละลายหลังการระเหย (Receiving flask) โดยสารสกัดอย่างหยาบนี้ซึ่งบรรจุในภาชนะแช่อยู่ในหม้ออังไอน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้และจะหมุนตลอดเวลาที่ทำงาน เพื่อให้มีการกระจายความร้อนอย่างทั่วถึงและสม่ำเสมอ ภาชนะบรรจุสารสกัดอย่างหยาบนี้จะต้องต่อเข้ากับส่วนควบแน่น ซึ่งมีระบบทำความเย็นหล่ออยู่ตลอดเวลา ปลายของส่วนควบแน่นจะมีภาชนะรองรับ โดยทั้งระบบจะต่อเข้ากับระบบสุญญากาศ สารละลายที่ระเหยออกจากภาชนะบรรจุควบแน่นที่บริเวณคอนเดนเซอร์และหยดลงมาในภาชนะรองรับสารละลายหลังการระเหยซึ่งสารละลายดังกล่าวสามารถนำไปทำให้บริสุทธิ์และนำกลับมาใช้ใหม่ได้

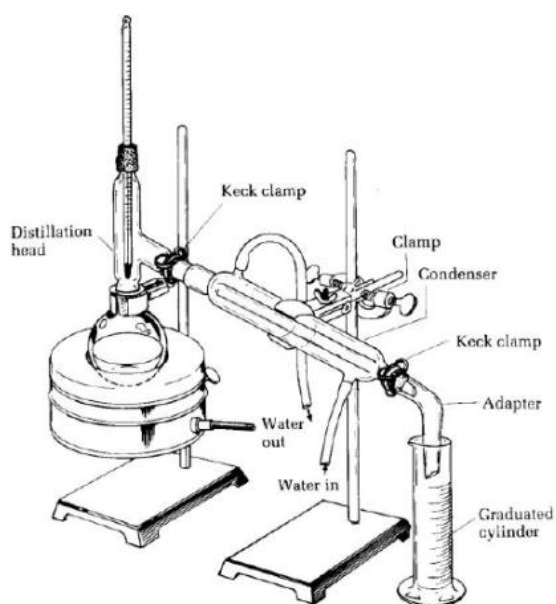


ภาพประกอบที่ 2-10 แสดงองค์ประกอบของเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน

ที่มา: [www.researchgate.net](http://www.researchgate.net) (สืบค้นเมื่อ 30 ตุลาคม 2560)

## 2.8 การนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่

โดยทั่วไปการใช้งานตัวทำละลายในภาคอุตสาหกรรมจะอยู่ในกระบวนการผลิตที่เป็นระบบปิด หรือมีระบบดักเก็บไอระเหยของตัวทำละลาย เพื่อป้องกันการสูญเสียของตัวทำละลาย ซึ่งมีราคาแพงและยังช่วยในการรักษาสภาพแวดล้อมได้ด้วย อย่างไรก็ตามสิ่งเจือปนที่อยู่ในตัวทำละลายจะถูกนำไปแยกสกัดออกเพื่อให้ได้ตัวทำละลายกลับคืนมาใช้งานใหม่ (Recycle) เนื่องจากสารตัวทำละลายมีราคาเพิ่มขึ้น ทำให้เป็นเหตุผลหนึ่งที่ต้องดำเนินการปรับปรุงประสิทธิภาพระบบการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ในภาคอุตสาหกรรม ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อการลดต้นทุนการใช้สารเคมีในกระบวนการและลดปัญหาด้านสิ่งแวดล้อมในการกำจัดกากของเสียที่เกิดขึ้นหลังกระบวนการระเหยตัวทำละลาย ตัวทำละลายที่ได้หลังการสกัดสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้โดยการวิเคราะห์และตรวจสอบสมบัติทางกายภาพของสาร เช่น สถานะ สี กลิ่น รูปร่างผลึก น้ำหนักโมเลกุล ความหนาแน่น ดัชนีหักเห จุดเดือด หรือจุดหลอมเหลว ซึ่งจะช่วยบ่งชี้ความบริสุทธิ์ของตัวทำละลาย วิธีที่ใช้ตรวจสอบชนิดและความบริสุทธิ์ของสารอย่างรวดเร็ววิธีหนึ่งคือ การหาจุดเดือดหรือจุดหลอมเหลวโดยวิธีการกลั่นแบบง่าย (Simple distillation) แสดงดังภาพประกอบที่ 2-11 ในการหาช่วงจุดเดือดของตัวทำละลาย



ภาพประกอบที่ 2-11 แสดงเครื่องมือการกลั่นอย่างง่าย

ที่มา: [http://www.suwattana.net/elements\\_compounds/PAGE6.html](http://www.suwattana.net/elements_compounds/PAGE6.html)

(สืบค้นเมื่อ 29 ตุลาคม 2560)

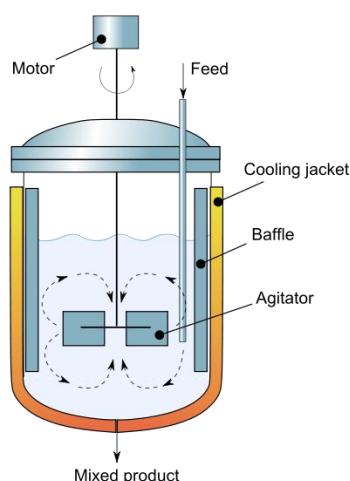
ในกระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืชการใช้ตัวทำละลายที่ผสมน้ำ (Solvent water mixture) สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในกระบวนการสกัด เนื่องจากตัวทำละลายแต่ละชนิดจะให้ผลการสกัดที่แตกต่างกัน เช่น กระบวนการสกัดไขมัน น้ำและเอทานอลให้ผลการสกัดสารต่างกันคือทั้งน้ำและเอทานอลสามารถสกัดไขมันได้ แต่น้ำสามารถสกัดกลีโคไซด์ได้ดีกว่าเอทานอล เนื่องจากเอทานอลมีกลีโคไซด์แต่ไม่มีกลีโคไซด์ ดังนั้นในการใช้ตัวทำละลายที่ผสมน้ำจะมีประสิทธิภาพต่อกระบวนการสกัดสารสำคัญจากพืชได้ดีกว่าการใช้ตัวทำละลายบริสุทธิ์ ในกระบวนการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่จะมีการ Make up ตัวทำละลายก่อนนำมาใช้ โดยจะต้องตรวจสอบความหนาแน่นเพื่อหาความเข้มข้นของตัวทำละลายก่อนการ Make up โดยสามารถตรวจสอบความเข้มข้นของตัวทำละลายที่ได้หลังกระบวนการระเหยจาก Calibration curve ระหว่างความหนาแน่นกับความเข้มข้นของตัวทำละลาย

ร้อยละการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ (%Solvent recovery) สามารถคำนวณได้จากปริมาณตัวทำละลายที่ได้หลังการสกัดต่อปริมาณของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด หากร้อยละการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ อยู่ในช่วง 80-100% จะส่งผลต่อการลดการใช้ตัวทำละลายในกระบวนการสกัดครั้งต่อไป ซึ่งในกระบวนการในระดับอุตสาหกรรมจะมีการติดตั้งระบบ Recovery เพื่อนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่เพื่อลดปริมาณการใช้สารเคมีส่งผลต่อการลดของเสียในกระบวนการ

## 2.9 เครื่องมือ / อุปกรณ์การสกัดด้วยตัวทำละลายที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรม

กระบวนการสกัดข้าวในระดับอุตสาหกรรมมีเครื่องมือและอุปกรณ์ ดังนี้

1. ถังกวน (Reactor) เป็นเครื่องมือที่ใช้กวนผสมข้าวกับตัวทำละลาย แสดงดังภาพประกอบที่ 2-12 โดยทั่วไปจะต้องมีการควบคุมอุณหภูมิ ความเร็วรอบในการกวน และความเข้มข้นของสาร ขั้นตอนนี้เป็นกระบวนการสกัดแบบ Solid/Liquid Extraction ด้วยการเติมตัวทำละลายในการละลายสารสำคัญจากข้าว



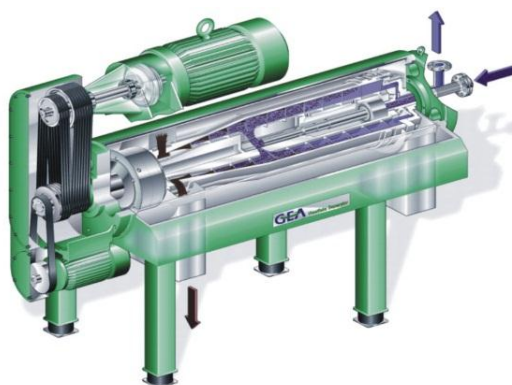
ภาพประกอบที่ 2-12 แสดงองค์ประกอบของถัง Reactor

ที่มา: [https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Agitated\\_vessel.svg](https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Agitated_vessel.svg)

(สืบค้นเมื่อ 12 มกราคม 2561)



2. เครื่องแยกตะกอนออกจากของเหลว (Decantor) แสดงดังภาพประกอบที่ 2-13 ใช้แยก (Separation) ตะกอนข้าวออกจากสารละลายของเหลวหลังจากกระบวนการสกัด โดยเครื่องมีส่วนประกอบหลักคือ กระจบอกรที่มีปลายข้างหนึ่งเป็นกรวย วางตัวในแนวนอน ภายในมีเกลียวลำเลียง (Screw conveyor) การแยกทำได้โดยใช้แรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง (Centrifugal force) แยกให้กากตกตะกอนและลำเลียงออกมาทางปลายด้านกรวยจะได้สารละลายที่ใส

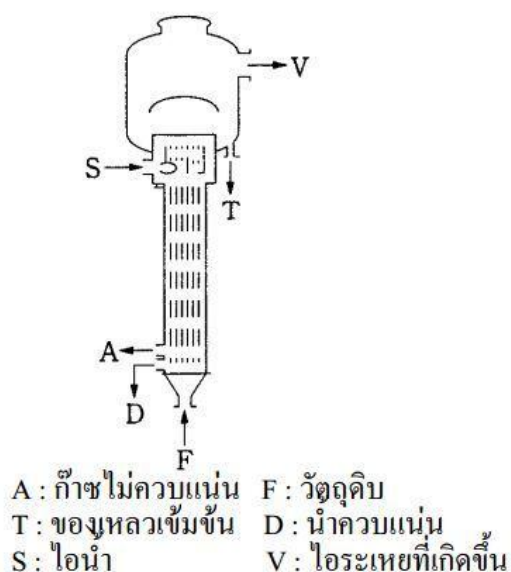


ภาพประกอบที่ 2-13 ลักษณะของ Decantor

ที่มา: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/0627/decanter-centrifuge>

(สืบค้นเมื่อ 12 มกราคม 2561)

3. เครื่องระเหยแบบแผ่นฟิล์ม (Thin film evaporator) แสดงดังภาพประกอบที่ 2-14 เมื่อทำการสกัดสารสำคัญจากข้าวเรียบริ้อยแล้ว จะได้สารละลายผสมซึ่งประกอบไปด้วยเอทานอลและสารสกัด จะต้องทำการแยกเอทานอลออกจากสารสกัด เพื่อให้ได้สารสกัดที่มีความเข้มข้น โดยป้อนของเหลวจากปลายล่างสุดของบริเวณให้ความร้อน จะเกิดการเดือดภายในท่อให้ความร้อนเข้าไปผสมกับไอระเหยที่เกิดขึ้น ในห้องระเหยของเหลวจะถูกแยกออกจากไอระเหยที่เกิดขึ้น ทำให้ได้ของเหลวเข้มข้นออกมาทางด้านล่างของหม้อ ที่ส่วนบนของหม้อของเหลวจะกลายเป็นแผ่นฟิล์มบางไต่ขึ้นไปตามผนังหม้อส่วนไอระเหยจะไหลผ่านกลางหม้อ



ภาพประกอบที่ 2-14 แสดงหลักการทำงานของเครื่อง Thin film evaporator

ที่มา: <https://ienergyguru.com/2015/09/evaporation-system/>

(สืบค้นเมื่อ 12 มกราคม 2561)

## 2.10 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.10.1 ศึกษากระบวนการงอกต่อการเปลี่ยนแปลงสารสำคัญ

วรั้มพร วงศ์สุติน และคณะ (2555) ได้ทำการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสำคัญในข้าวกล้องงอก โดยศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีของข้าวกล้อง 3 ชนิด ได้แก่ ข้าวหอมนิล ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวเหนียวดำที่ผ่านกระบวนการงอกที่อุณหภูมิ 30°C ระยะเวลางอก 48 ชั่วโมง พบว่าข้าวทั้ง 3 พันธุ์ที่ผ่านกระบวนการงอกมีปริมาณวิตามินบี 1 สารพอลิฟีนอล และแกมมาอะมิโนบิวทริก (GABA) เพิ่มขึ้น 1-4 เท่า เทียบกับธัญพืชที่ไม่ผ่านกระบวนการงอกสำหรับปริมาณ GABA พบว่า ข้าวหอมนิลงอกมีปริมาณ GABA สูงสุดเมื่อเทียบกับข้าวงอกพันธุ์อื่น มีปริมาณเท่ากับ 17.42 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม รองลงมาคือ ข้าวเหนียวต่างงอก และข้าวขาวดอกมะลิ 105 งอกตามลำดับ โดยการเพิ่มขึ้นของปริมาณ GABA เกิดจากเอนไซม์ Glutamate decarboxylase ที่ถูกสร้างขึ้นจากกระบวนการทางชีวเคมี เร่งปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนกลูตาเมตกับไฮโดรเจนไอออน ได้สาร GABA วิตามินบี 1 พบปริมาณสูงสุดในข้าวขาวดอกมะลิ 105 งอก มีปริมาณเท่ากับ 4.08

มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม รองลงมา คือ ข้าวเหนียวดำงอก และข้าวหอมนิลงอก ตามลำดับ ส่วนสารฟีนอลิกพบปริมาณสูงสุดในข้าวหอมนิลงอก มีปริมาณเท่ากับ 55.72 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม รองลงมา คือ ข้าวเหนียวดำงอก และข้าวขาวดอกมะลิ 105 งอก ตามลำดับ นอกจากนี้ข้าวงอกทั้ง 3 พันธุ์ มีประสิทธิภาพการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้น โดยข้าวเหนียวดำงอกมีสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับร้อยละ 47.90

ฤทัยรัตน์ สวัสดิวงศ์ (2552) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการงอกที่ทำให้ข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงสุด ของข้าวกล้องพื้นเมืองภาคใต้ของไทย คือ ข้าวเหนียวพัทลุง ข้าวเล็บนกปัตตานี และข้าวสังข์หยดพัทลุง โดยทำการแช่น้ำที่อุณหภูมิ 25, 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12, 24 และ 48 ชั่วโมง ตามลำดับ พบว่าข้าวกล้องงอกที่เตรียมโดยการแช่น้ำที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าเท่ากับ 72.02, 90.53 และ 86.22 mmol FAE/100 g sample ตามลำดับ โดยพบว่าเมื่ออุณหภูมิในการแช่ข้าวกล้องในน้ำเพิ่มขึ้นเป็น 30, 35 และ 40 องศาเซลเซียส ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีค่าลดลงเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นตามลำดับ ส่วนกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity ของข้าวกล้องทั้งสามสายพันธุ์มีค่าสูงที่สุดโดยมีค่าเท่ากับ 8.86, 9.99 และ 7.42 mmol FAE/100 g sample ตามลำดับ

จักรพงษ์ โสวะพันธ์ และคณะ (2556) ศึกษาผลของสภาวะการงอกที่มีผลต่อสมบัติความหนืดและปริมาณสารกาบาของแป้งข้าวกล้องงอกที่ผลิตจากข้าวเปลือกพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยทำการศึกษาผลของ วิธีงอกและระยะเวลาการงอกต่อผลทางเคมีและทางกายภาพ ปัจจัยที่ศึกษา คือ กระบวนการงอก 2 แบบ ได้แก่ การงอกโดยการแช่น้ำและการงอกบนผ้าขาวบางเปียกน้ำ ระยะเวลางอก 8 ช่วง ได้แก่ 12, 24, 36, 48, 60, 72, 84 และ 96 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ  $35 \pm 2$  องศาเซลเซียสโดยใช้ข้าวกล้องที่ไม่ผ่านกระบวนการงอกเป็นตัวอย่างควบคุม จากการศึกษาพบว่า การงอกบนผ้าขาวบางเปียกน้ำได้แป้ง ข้าวกล้องงอกที่มีน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้นมากกว่าการแช่น้ำ เมื่อระยะเวลางอกเพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นแต่ค่าความหนืดและค่าการคืนตัวของแป้งข้าวกล้องงอกของทั้ง 2 วิธีกลับลดลง อีกทั้งกระบวนการงอกบนผ้าขาวบางเปียกน้ำได้แป้งข้าวกล้องงอกที่มีปริมาณสารกาบาสูงกว่าการงอกโดยการแช่น้ำที่ระยะเวลาการงอก 24-60 ชั่วโมง แต่ที่

ระยะเวลางอก 96 ชั่วโมง กระบวนการงอกโดยการแช่น้ำได้ปริมาณสารกาบาสูงกว่าการงอกบนผ้าขาวบางเปียกน้ำ

Maisont และคณะ (2010) ได้ทำการศึกษาผลของกระบวนการงอกต่อการเปลี่ยนแปลงสารกาบา องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณฟีนอลิก และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในข้าวเปลือกข้าวเหนียว โดยทำการวิเคราะห์ความชื้นหลังจากการแช่น้ำ 0-50 ชั่วโมง ศึกษาการงอกที่เวลา 0, 12, 24, 36, 48 และ 60 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 28-30 องศาเซลเซียส โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า ปริมาณสารกาบาหลังจากแช่น้ำ 50 ชั่วโมงและเวลาการงอกที่ 60 ชั่วโมง จะมีปริมาณสารสูงถึง 220 mg /100 g embryo fresh weight และสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของกระบวนการงอกโดยมีปริมาณ 0.6432 mg gallic acid/g เช่นเดียวกับฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของกระบวนการงอก

พัชรภรณ์ รัตนธรรม และคณะ (2556) ศึกษาการสกัดสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอก โดยศึกษากระบวนการงอกของข้าวกล้อง 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวเหนียวดำ ข้าวหอมนิล และข้าวไรซ์เบอร์รี่ โดยแปรระยะเวลาการงอกที่ 0, 20, 24, 28 และ 72 ชั่วโมง พบว่าข้าวที่ผ่านกระบวนการงอกมีปริมาณสารอาหารเพิ่มขึ้นโดยข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านกระบวนการงอกนาน 48 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มขึ้นสูงกว่าข้าวกล้องหอมนิลและข้าวกล้องเหนียวดำที่ระยะเวลาการงอกเดียวกันส่วนปริมาณสารแอนโทไซยานินของข้าวทั้ง 3 พันธุ์มีค่าลดลงอย่างต่อเนื่องเมื่อระยะเวลาการงอกเพิ่มขึ้น อีกทั้งสมบัติการต้านอนุมูลอิสระที่วิเคราะห์ด้วยวิธี DPPH scavenging activity และ AETS scavenging activity ของข้าวทั้งสามพันธุ์ที่ผ่านกระบวนการงอกมีค่าเพิ่มสูงขึ้นด้วย

จากงานวิจัยพบว่ากระบวนการงอกสามารถเพิ่มปริมาณสารสำคัญในข้าวได้และการงอกที่อุณหภูมิห้องมีความเหมาะสมในการผลิตข้าวกล้องงอก ระยะเวลาที่เหมาะสมสำหรับการเตรียมข้าวกล้องงอกคือ การแช่น้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส กระบวนการงอกบนผ้าขาวบางเปียกน้ำมีความเหมาะสมในการผลิตข้าวกล้องงอกมากกว่าการแช่น้ำที่ระยะเวลา 24-60 ชั่วโมง และปริมาณสารสำคัญในข้าวเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการงอก โดยระยะเวลาการงอกที่ 60 ชั่วโมง เป็นระยะเวลาที่ให้สารสำคัญสูงสุด

### 2.10.2 ศึกษาการสกัดสารสำคัญจากข้าวโดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย

Hansakul และคณะ (2011) ได้ทำการสกัดสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์จากข้าวสังข์หยดและข้าวขาวดอกมะลิ 105 พร้อมทั้งศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีทางเคมีและใช้เครื่องตรวจวัดค่า  $EC_{50}$  โดยใช้ 95% เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่า ข้าวสังข์หยดมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดยมีปริมาณฟีนอลิก 189.20 mg gallic acid/g rice มีปริมาณ โพลฟลาโวนอยด์ 46.13 mg rutin hydrate/g rice และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ 230.71  $\mu\text{g}/\text{mL}$  ซึ่งการสกัดข้าวสังข์หยดและข้าวขาวดอกมะลิด้วย 95% เอทานอลจะมีความสามารถในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและโพลฟลาโวนอยด์สูงกว่าการสกัดด้วยน้ำ ผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า สารสกัดจากข้าวสังข์หยดมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูง เป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ อีกทั้งสารสกัดที่ได้สามารถนำไปใช้เป็นสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติได้

จากงานวิจัยพบว่าเอทานอลสามารถใช้เป็นตัวทำละลายในกระบวนการสกัดสารประกอบฟีนอลิกและสารโพลฟลาโวนอยด์ได้

### 2.10.3 ศึกษาผลของชนิดของตัวทำละลายต่อการสกัดสารสำคัญ

Alves และคณะ (2016) ได้ทำการศึกษาผลของการสกัดข้าวชนิดต่างๆ ด้วยตัวทำละลายพร้อมศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณสารสกัดโดยใช้ข้าว 7 ได้แก่ ข้าวดำ ข้าวแดง ข้าวป่า ข้าวสีน้ำตาล ข้าวขาวเมล็ดยาว ข้าวเหนียวสั้น และข้าวขาวเมล็ดสั้น มาสกัดด้วยตัวทำละลาย 6 ชนิด คือ Acetone/Water/Acetic acid (70:29.5:0.5 v/v), Acetone/Water (70:30 v/v), Distilled water, Ethanol, Methanol และ 80% Methanol พบว่าตัวทำละลาย Acetone/Water (70:30 v/v) จะสกัดสารจากข้าวได้ดีและให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแอนโทไซยานินและโปรแอนโทไซยานินที่สูงในข้าวดำและข้าวแดง โดยมีปริมาณฟีนอลิกสูงถึง 878.07 และ 694.12 mg gallic acid equivalents/100 g of sample ตามลำดับ ส่วนเมทานอลจะมีความสามารถในการสกัดได้ดีในข้าวที่มีการขัดสี

วชิราภรณ์ และถนันท (2559) ได้ทำการศึกษาการพัฒนาสารสกัดจากข้าวไรซ์เบอร์รี่ เพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โดยศึกษาอัตราส่วนของตัวทำละลายระหว่างเอทานอลต่อน้ำที่อัตราส่วน 50:50, 60:40, 70:30, 80:20, 90:10 และ 100:0 (v/v) นำสารสกัดที่ได้ไปวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณแอนโทไซยานินรวม รวมทั้งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ นำตัวทำละลายของสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด มาศึกษาปัจจัยของระยะเวลาในการสกัดคือ 1, 2, 4, 6 และ 12 ชั่วโมง ผลการศึกษาพบว่าตัวทำละลายเอทานอลต่อน้ำที่อัตราส่วน 70:30 แสดงฤทธิ์ทางชีวภาพสูงที่สุด โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ  $67.443 \pm 1.192$  mg GAE/g extract ปริมาณแอนโทไซยานินรวมเท่ากับ  $57.611 \pm 6.521$  mg C3G/g extract และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และ FRAP มีค่าเท่ากับ  $0.052 \pm 0.003$  mg/mL และ  $2,843.243 \pm 54.859$  mg TEAC/g extract ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดที่ใช้เวลาในการสกัด 6 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณแอนโทไซยานินรวม และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS และ FRAP สูงที่สุด มีค่าเท่ากับ  $53.354 \pm 1.373$  mg GAE/g extract,  $42.582 \pm 2.892$  mg C3G/g extract,  $0.015 \pm 0.0003$  mg/mL และ  $2,765.766 \pm 39.844$  mg TEAC/g extract ตามลำดับ ผลการศึกษาในครั้งนี้แสดงให้เห็นว่า สารสกัดจากข้าวไรซ์เบอร์รี่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ปริมาณแอนโทไซยานินสูง และมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีสามารถนำมาประยุกต์ใช้ในทางเครื่องสำอางได้

ฤทัยรัตน์ สวัสดิวงศ์ (2552) ศึกษาผลของชนิดสารสกัดต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกสายพันธุ์เฉี้ยงพัทลุง เล็บนกปัตตานี และสังข์หยดพัทลุงที่สกัดด้วยน้ำ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 และ 50 พบว่าข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์ ที่สกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและกิจกรรมการต้านออกซิเดชันสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับตัวทำละลายสกัดชนิดอื่น รองลงมาคือ น้ำและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยข้าวกล้องงอกทั้งสามสายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 133.79, 86.70 และ 272.58 mmol FAE/100 g sample ตามลำดับและมีกิจกรรมการต้านออกซิเดชัน DPPH radical scavenging activity มีค่าเท่ากับ 16.28, 9.05 และ 29.45 ตามลำดับ

จากงานวิจัยพบว่าความเข้มข้นของตัวทำละลายมีผลต่อกระบวนการสกัดสารสำคัญ จากข้าว ความเข้มข้นของตัวทำละลายและเวลาการสกัดมีผลต่อกระบวนการสกัดสารสำคัญจากข้าว และการใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีความสามารถในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ดี

#### 2.10.4 ศึกษาการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่

Werth และคณะ (2017) ศึกษาการนำเฮกเซนและเอทานอลกลับมาใช้ใหม่ใน กระบวนการสกัดน้ำมัน ด้วยกระบวนการ Nanofiltration เปรียบเทียบโดยการวัดค่า Pure solvent fluxes ของตัวทำละลายทั้ง 2 ชนิด จากการศึกษาพบว่า สำหรับการนำตัวทำละลายกลับมา ใช้ใหม่โดยเฉพาะประสิทธิภาพของเมมเบรนขนาดเล็ก พื้นที่ของเมมเบรนต้องมีการไหลเวียนของ อากาศสูงในขณะที่ตัวทำละลายบริสุทธิ์ซึมเข้าไป การนำ n-hexane กลับมาใช้ใหม่เหมาะสำหรับเยื่อ แผ่นที่ใช้ PDMS, GMT-ONF-1 และ GMTNC-1 สำหรับเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่เป็นมิตรกับ สิ่งแวดล้อมเพื่อทดแทน n-hexane ในกระบวนการสกัด มีค่าฟลักซ์ของเยื่อหุ้มเซลล์ทั้งหมดต่ำกว่า n-hexane ดังนั้น OSN assisted ไม่สามารถจะเกิดกระบวนการการกู้คืนตัวทำละลายเอทานอลได้ Organic solvent nanofiltration (OSN) เป็นทางเลือกที่มีแนวโน้มสำหรับการกู้คืนตัวทำละลายที่มี ประสิทธิภาพในการสกัดน้ำมันที่ใช้บังคับเป็นน้ำมันที่มีคุณภาพต่ำ กระบวนการการรีไซเคิล ตัวทำละลายที่ใช้แล้วอาจทำให้ผลผลิตลดลง แต่สามารถลดต้นทุนของตัวทำละลายและการใช้ พลังงานในกระบวนการได้เป็นอย่างดี

จากงานวิจัยการกู้คืนตัวทำละลายด้วยกระบวนการ Nanofiltration เพื่อนำกลับมา ใช้ใหม่ในกระบวนการสกัด ถือเป็นประโยชน์ในการลดต้นทุนและการใช้พลังงานในกระบวนการสกัด น้ำมัน

## บทที่ 3

### วิธีการวิจัย

#### 3.1 วัสดุ

ข้าวเปลือกสังข์หยดจากเกษตรกร ต.ปากกรอ อ.สิงหนคร จ.สงขลา เก็บไว้ในถังพลาสติกที่ปิดสนิท แสดงดังภาพประกอบที่ 3-1



(ก)

(ข)

ภาพประกอบที่ 3-1 แสดงข้าวเปลือกสังข์หยด; (ก) ลักษณะของข้าวเปลือกสังข์หยด; (ข) ภาชนะเก็บตัวอย่างข้าว

#### 3.2 สารเคมี

Ethanol, ความบริสุทธิ์ 95%, Sodium carbonate, Folin-Ciocalteu reagent, DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl), GABA reagent, Borate buffer pH 9, Phenol reagent, Gallic acid, Sodium hypochlorite, Aluminium chloride, Sodium hydroxide, Sodium nitrite และ Quercetin

จัดซื้อสารเคมีจากบริษัท U&V Holding (Thailand) CO., LTD. และจากห้องปฏิบัติการภาควิชาวิศวกรรมเคมี คณะวิศวกรรมศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์



### 3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

เครื่องชั่ง เครื่องแก้ว เครื่องระเหยตัวทำละลาย (Rotary Evaporator) เครื่องกวนสารแบบแกนหมุน ตู้อบ เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) เครื่อง UV-Vis spectrophotometer และ เครื่องวัดสี



ภาพประกอบที่ 3-2 เครื่องกวนสารแบบแกนหมุนยี่ห้อ IKA รุ่น RW20 digital



ภาพประกอบที่ 3-3 เครื่องระเหยตัวทำละลายยี่ห้อ Heidolph รุ่น Basic 1



ภาพประกอบที่ 3-4 เครื่องหมุนเหวี่ยงยี่ห้อ Hermle รุ่น Z 206 A



ภาพประกอบที่ 3-5 เครื่อง UV-Vis spectrophotometer

### 3.4 วิธีดำเนินการวิจัย

งานวิจัยการศึกษาการสกัดข้าวสังข์หยดงอกโดยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลายนี้ ได้ทำการผลิตข้าวสังข์หยดงอกเพื่อสกัดสารสำคัญ ซึ่งในกระบวนการสกัดจะทำการหาตัวทำละลาย สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการสกัดและนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ โดยมีรายละเอียดกิจกรรมหลักดังนี้

#### 3.4.1 การผลิตข้าวสังข์หยดงอก

1. ศึกษาเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของเมล็ดข้าวก่อนทำการงอก (อุไรวรรณ วัฒนกุล และคณะ, 2556)

1.1 ทำการสุ่มนับเมล็ดที่เต็มเมล็ด ไม่หัก ไม่แหว่ง

1.2 ทำการสุ่มทั้งหมด 5 ครั้ง โดยแต่ละจุดทำการแยกข้าวเต็มเมล็ดและหัก ครั้งละ 100 เมล็ด

1.3 คำนวณเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของเมล็ด ดังนี้

$$= \frac{\text{ผลรวมความสมบูรณ์ของข้าวเต็มเมล็ด}}{5} \times 100$$

5

2. นำข้าวเปลือกสังข์หยดมาคัดเลือกเมล็ดที่ไม่สมบูรณ์ออก นำไปฆ่าเชื้อด้วยสารละลาย 0.1% sodium hypochlorite ในอัตราส่วน 1:5 (g/mL) เป็นเวลา 15 นาที ล้างด้วยน้ำสะอาดแล้วนำไปแช่ด้วยน้ำกลั่น ในอัตราส่วนข้าว 100 g : สารละลาย 300 ml เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แสดงดังภาพประกอบที่ 3-6A หลังจากนั้นนำข้าวใส่ในภาชนะที่รองด้วยผ้าขาวบางเปียกคลุมเป็นเวลา 60 ชั่วโมงในที่มืดที่อุณหภูมิห้องแสดงดังภาพประกอบที่ 3-6B (จักรพงษ์ โสวะพันธ์ และคณะ, 2556)



(A)

(B)

(C)

ภาพประกอบที่ 3-6 กระบวนการเพาะข้าวสังข์หยดงอก; (A) ข้าวเปลือกสังข์หยดแช่ในน้ำกลั่น;

(B) การเพาะข้าวเปลือกด้วยผ้าขาวบาง; (C) ข้าวเปลือกสังข์หยดงอก

### 3. ศึกษาเปอร์เซ็นต์การงอกของข้าวเมื่อครบระยะเวลาการเพาะดังนี้

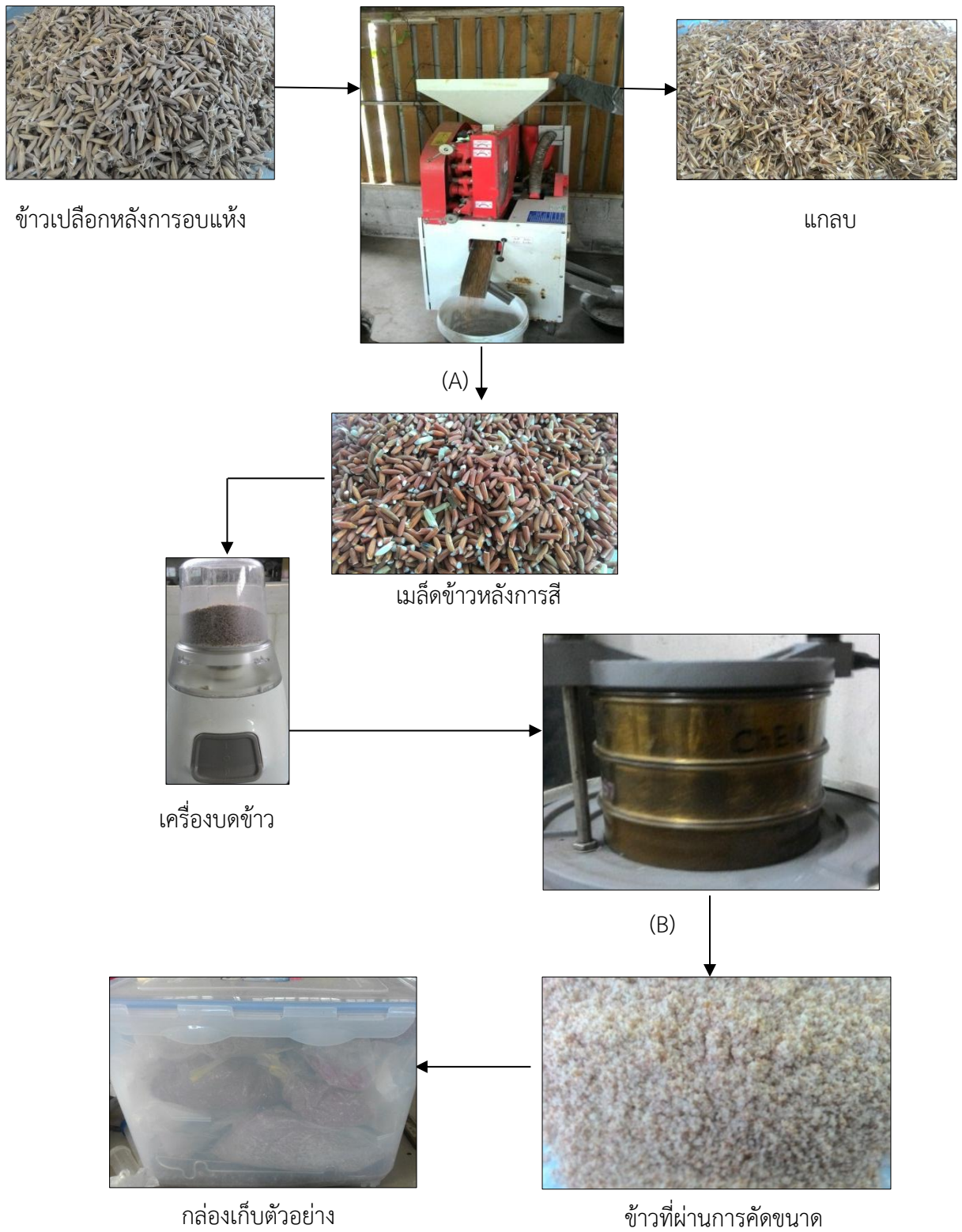
3.1 นำข้าวงอกที่ได้แสดงดังภาพประกอบที่ 3-6C มาทำการสุ่มนับการงอกของข้าวโดยนับข้าวงอกจากเมล็ดข้าวที่เต็มเมล็ดเท่านั้นไม่ หัก ไม่แห้ง

3.2 ทำการสุ่มทั้งหมด 3 ครั้งโดยแต่ละจุดทำการแยกข้าวเต็มเมล็ดและหัก ครั้งละ 100 เมล็ด

3.3 คำนวณเปอร์เซ็นต์การงอกของข้าวกล้องงอกโดย

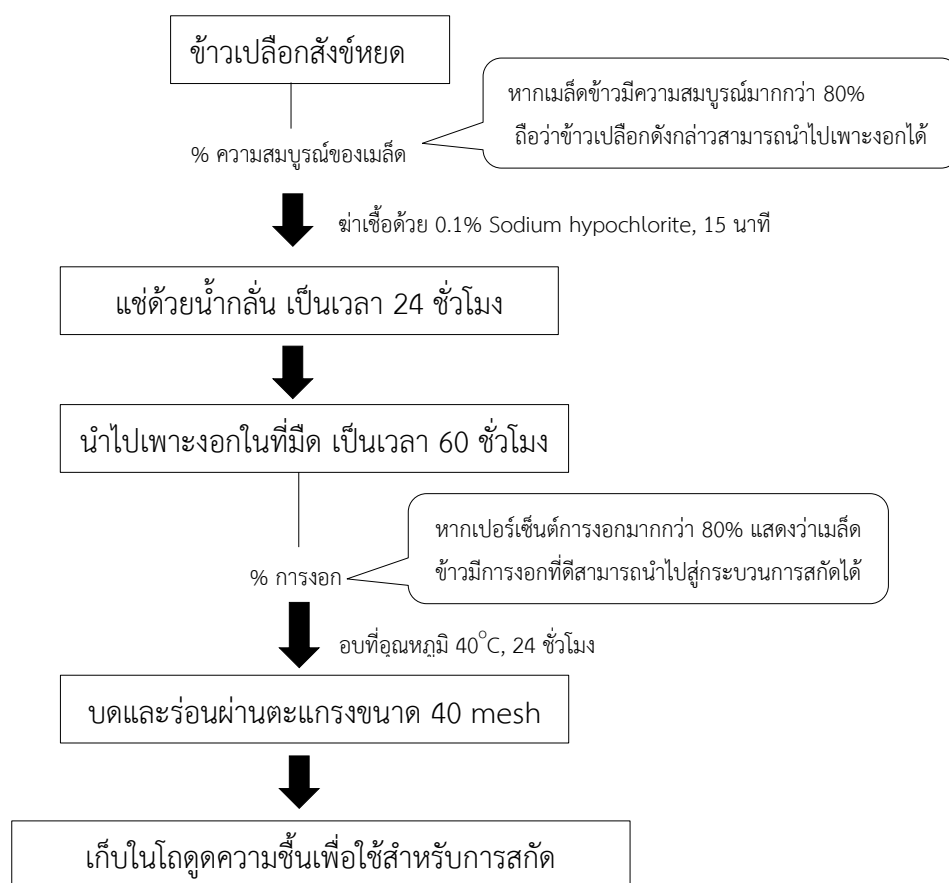
$$= (\text{ผลรวมของข้าวกล้องงอก} / 3) \times 100$$

4. นำข้าวสังข์หยดงอกอบแห้งที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ให้ความชื้นสุดท้ายเหลือประมาณ 13-15% นำข้าวเปลือกที่ผ่านการอบแห้งมาสีกะเทาะเปลือกด้วยเครื่องสีข้าวกล้องแสดงดังภาพประกอบที่ 3-7A จากนั้นนำมาบดและทำการร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh แสดงดังภาพประกอบที่ 3-7B เก็บไว้ในกล่องดูดความชื้นที่อุณหภูมิห้องเพื่อเตรียมสำหรับการสกัด (Hu et al., 2016)



ภาพประกอบที่ 3-7 กระบวนการสีข้าว; (A) เครื่องสีข้าวกล้อง; (B) แสดงตะแกรงร่อน

การผลิตข้าวสังข์หยดงอกในกระบวนการงอกความชื้นจะช่วยกระตุ้นการทำงานของ เอนไซม์ Glutamic acid decarboxylase (GAD) ที่อยู่ในข้าวให้เปลี่ยนเป็นสาร GABA อีกทั้งมีการ เปลี่ยนแปลงสารสำคัญอีกมากมาย โดยจากรายละเอียดกิจกรรมแสดงขั้นตอนการผลิตข้าวสังข์หยด งอกแสดงดังภาพประกอบที่ 3-8



ภาพประกอบที่ 3-8 แผนภาพแสดงขั้นตอนการผลิตข้าวสังข์หยดงอก

### 3.4.2 ศึกษาการทำตัวทำละลายที่เหมาะสมในกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดงอก

1. นำข้าวสังข์หยดงอกที่คัดขนาดแล้วปริมาณ 100 กรัม เติมตัวทำละลายคือ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 0, 50 และ 95 โดยทดลองที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:10, 1:15, 1:20 และ 1:25 กวนสารด้วยเครื่องกวนสารแบบแกนหมุนที่ความเร็ว 200 rpm เป็นเวลา 0.5, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง สกัดโดยใช้ขนาดของข้าว 40 และ 70 mesh และเปรียบเทียบปริมาณสารสำคัญของ ข้าวสังข์หยดงอกกับข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก แสดงดังตารางที่ 3-1

2. นำสารที่ได้มากรองและนำเข้าเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ 4000 rpm เป็นเวลา 5 นาที จะได้สารสกัดที่มีลักษณะใสสีน้ำตาลอ่อน หลังจากนั้นแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดด้วยเครื่องระเหยตัวทำละลาย (Rotary evaporator) ที่ความดันไอ 100 mbar อุณหภูมิอ่างน้ำที่ 40°C จะได้สารสกัดลักษณะขุ่นมีสีน้ำตาลเข้มและตัวทำละลาย

3. คำนวณหาปริมาณสารสกัด (% Yield Extract)

$$= (\text{น้ำหนักสารที่สกัดได้ (g)} / \text{ปริมาณข้าวที่ใช้ในการสกัด (g)}) \times 100$$

4. วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ สารกาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตารางที่ 3-1 ศึกษาการหาตัวทำละลายและสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดดอก

ลำดับ	ความเข้มข้นของเอทานอล (v/v)	เวลา (h)	อัตราส่วนข้าว/ตัวทำละลาย (w/v)	ขนาดของข้าว (Mesh)	วัตถุประสงค์
1	0%	1	1:15	40	สังข์หยดดอก
2	50%				
3	95%				
4	X <sub>1</sub>	0.5	1:15	40	สังข์หยดดอก
5		2			
6		4			
7	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	1:10	40	สังข์หยดดอก
8			1:20		
9			1:25		
10	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	70	สังข์หยดดอก
11	X <sub>1</sub>	X <sub>2</sub>	X <sub>3</sub>	X <sub>4</sub>	สังข์หยด
12					ไรซ์เบอร์รี่

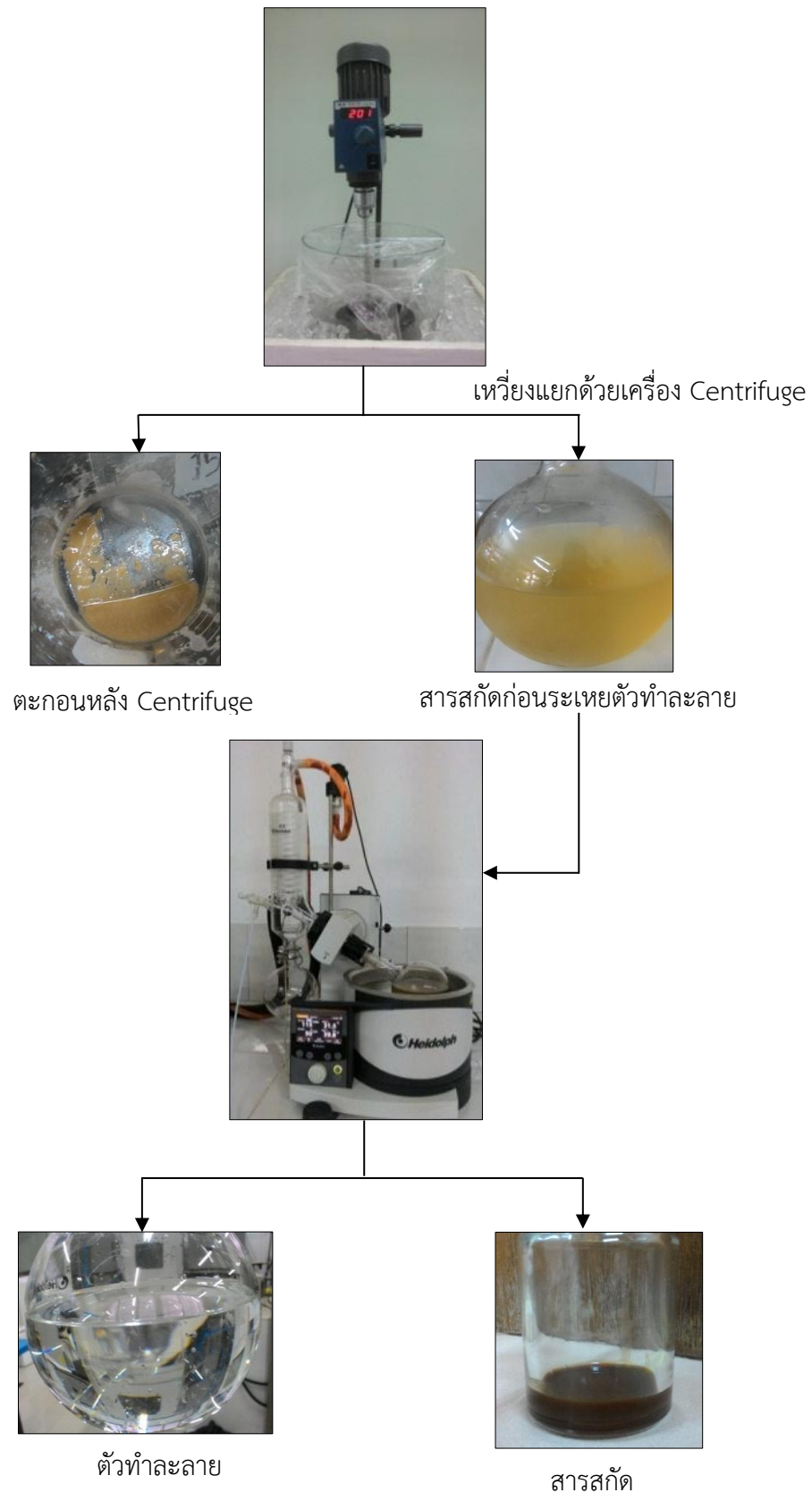
\* หมายเหตุ

X<sub>1</sub> = ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัด

X<sub>2</sub> = เวลาที่เหมาะสมในการสกัด

X<sub>3</sub> = อัตราส่วนที่เหมาะสมในการสกัด

X<sub>4</sub> = ขนาดข้าวที่เหมาะสมในการสกัด



ภาพประกอบที่ 3-9 กระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดงอก



### 3.4.3 ศึกษาการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่

1. นำตัวทำละลายที่เหมาะสม วัดความหนาแน่นก่อนการสกัดและทำการสกัด หลังจากนั้นระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่อง Rotary evaporator

2. นำตัวทำละลายที่ระเหยได้มาวัดความหนาแน่นหลังการสกัดอีกครั้ง

3. คำนวณหาปริมาณสารสกัด (% Yield Extract) และค่าร้อยละของการกลับคืน (% Solvent Recovery) ของตัวทำละลายหลังการสกัดแต่ละรอบ

$$\% \text{ Solvent Recovery} = \frac{\text{ปริมาณของตัวทำละลายที่ระเหยได้หลังการสกัด (mL)} \times 100}{\text{ปริมาณของตัวทำละลายก่อนการสกัด (mL)}}$$

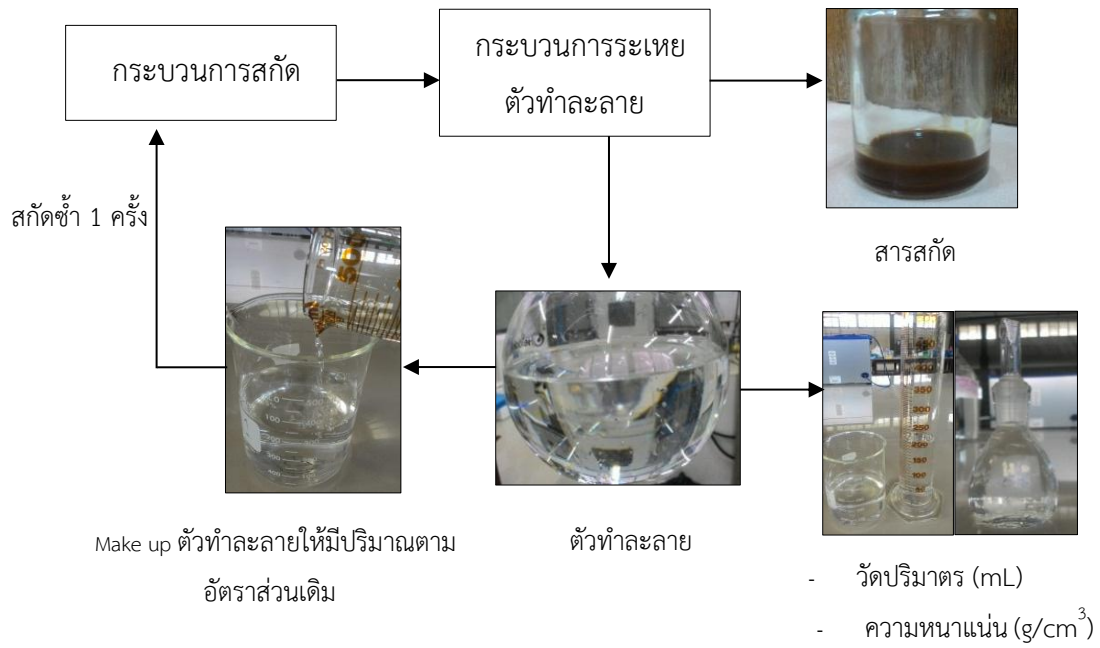
4. หากตัวทำละลายที่ระเหยได้ไม่เป็น 100% จะต้องทำการ Make up ตัวทำละลาย ด้วยการเติมตัวทำละลายให้มีปริมาณตามอัตราส่วนเดิมที่ใช้ในการสกัดครั้งแรก ให้มีความเข้มข้นเท่าเดิม หลังจากนั้นนำตัวทำละลายไปสกัดซ้ำ 1 รอบ โดยวัดความหนาแน่นและวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญในสารสกัดหลังกระบวนการสกัดซ้ำอีกครั้ง

5. วิเคราะห์ผลโดยเปรียบเทียบปริมาณฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารกาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้หลังการสกัด

6. ทำ Calibration curve ระหว่างความหนาแน่นของตัวทำละลายกับความเข้มข้นของตัวทำละลาย เพื่อนำไปใช้ในขั้นตอนการ Make up ตัวทำละลาย

จากรายละเอียดขั้นตอนการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ แสดงดังภาพประกอบ

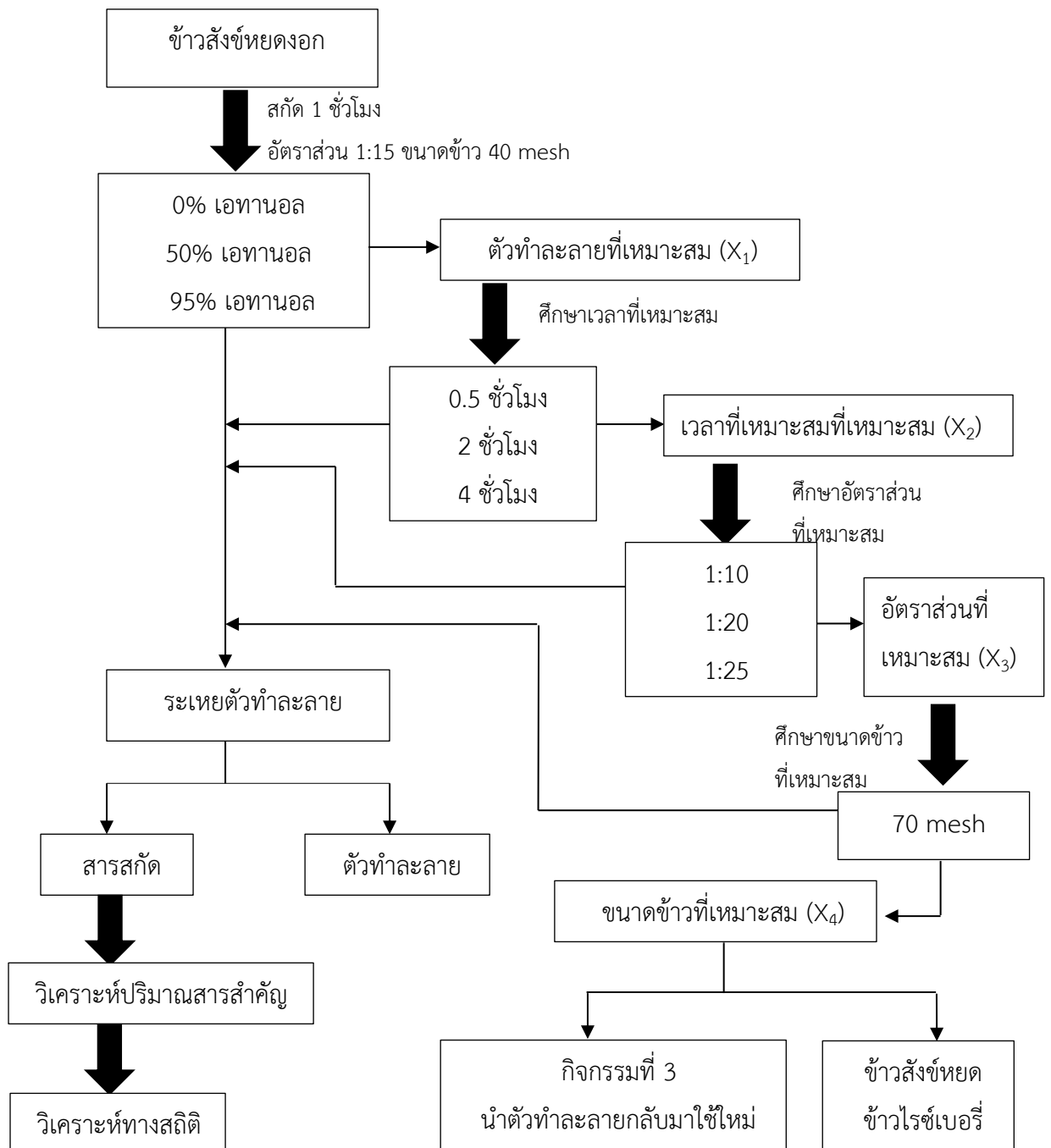
ที่ 3-10



ภาพประกอบที่ 3-10 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทดลองการนำตัวทำละลายมาสกัดซ้ำ

### 3.4.4 สรุปขั้นตอนการทดลองในกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดออก

จากรายละเอียดกิจกรรมในการศึกษาการหาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดข้าวสังข์หยดออกและการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ สามารถอธิบายขั้นตอนการวิจัยแสดงดังภาพประกอบที่ 3-11



ภาพประกอบที่ 3-11 แผนภาพแสดงขั้นตอนการทดลองในกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดออก

### 3.4.4 การวิเคราะห์คุณภาพของสารสกัด

#### 3.4.4.1 วิเคราะห์หาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิก (Total phenolic content: TPC) ปิเปตสารตัวอย่าง 500 ไมโครลิตรเติมน้ำกลั่นปริมาตร 9.50 มิลลิลิตรเติม Folin-Ciocalteu reagent ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร เขย่าทิ้งไว้ 5 นาที จากนั้นเติมสารละลาย  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมงวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตรคำนวณปริมาณสารฟีนอลิกจากกราฟมาตรฐานของ Gallic acid และรายงานผลเป็นปริมาณ Gallic acid equivalent (mg GAE/100 g rice) (Inchuen et al., 2010)

การวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา (GABA content) เตรียมสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 0.05 กรัมต่อมิลลิลิตรปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Borate buffer pH 9 ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตรและสารละลาย Phenol reagent เข้มข้นร้อยละ 6 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปแช่ในอ่างน้ำเย็นเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม  $\text{NaClO}$  เข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันหลังจากนั้นนำไปต้มในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95-98 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาทีแล้วนำออกมาแช่ในอ่างน้ำเย็น 5 นาที นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตรรายงานผลเป็น (mg GABA/100 g rice) (Karladee and Suriyong, 2012)

การวิเคราะห์ฟลาโวนอยด์ (Total flavonoid content : TFC) ปิเปตสารสกัด 500 ไมโครลิตร เติม  $\text{NaNO}_2$  ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าทิ้งไว้ 5 นาที หลังจากนั้นเติม  $\text{AlCl}_3$  เข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที หลังจากนั้นเติม  $\text{NaOH}$  ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร โดยใช้ Quercetin เป็นสารมาตรฐานและรายงานผลเป็น (mg QE/100 g rice) (Hu et al., 2016)

วิเคราะห์ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (2,2 diphenyl-1-picrylhydrazyl scavenging activity) DPPH โดยผสมสารสกัดความเข้มข้น 100 ไมโครกรัมต่อลิตรปริมาตร 1 มิลลิลิตรกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรทิ้งไว้ในที่มืดเป็น

เวลา 30 นาทีวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตรคำนวณร้อยละของการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้สูตร

$$\% \text{ Inhibition} = (A_{\text{control}} - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}) \times 100\%$$

$A_{\text{control}}$  คือค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

$A_{\text{sample}}$  คือค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ผสมกับสารละลาย DPPH

พล็อตกราฟหาค่า  $IC_{50}$  ในการรายงานค่าจะรายงานค่าเป็น  $IC_{50}$  ซึ่งได้จากการสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง % inhibition กับความเข้มข้นซึ่งความเข้มข้นที่ 50% inhibition จะมีค่าเป็น  $IC_{50}$  (จันทิมา นามโชติ และคณะ, 2556)

#### 3.4.4.2 วิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ทางสถิติ ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง ( $n=3$ ) และนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ( $\pm SD$ ) และวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของข้อมูลโดยใช้ One-way Anova (Single factor) โดยใช้ Duncan multiple comparison tests ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ( $p < 0.05$ )

#### 3.4.5 จัดทำผลิตภัณฑ์เซรั่มจากสารสกัดข้าวสังข์หยดดอง

จัดส่งสารสกัดข้าวสังข์หยดดองไปยังคณะเภสัชศาสตร์ ม.สงขลานครินทร์ เพื่อทำการผลิตเป็นเซรั่ม เพื่อทดสอบความเป็นไปได้ในการนำสารสกัดมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิว ก่อนนำไปพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่าง ๆ ต่อไป โดยเมื่อได้สูตรที่เหมาะสมเบื้องต้น จะจัดเตรียมใส่บรรจุภัณฑ์ขนาด 10-15 มิลลิลิตร มีรายละเอียดการวิเคราะห์เนื้อเซรั่ม ดังนี้

1. การตรวจสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) โดยเตรียมสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 1000 ppm จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่าง 20  $\mu L$  เติม DPPH 100  $\mu L$  ใช้ 100% v/v เอทานอล เป็น Blank เขย่าแล้วตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลตรีดเดอร์ นำค่าค่าที่วัดได้มาคำนวณหา %Inhibition จากนั้นคำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ( $IC_{50}$ ) จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง % Inhibition กับความเข้มข้นของสารสกัด

2. วัดความหนืดด้วยเครื่อง DV-III Ultra Brookfield Engineering Laboratories Inc. และทำการทดสอบความคงตัวของตำรับที่ได้ด้วยสภาวะเร่งที่เรียกว่า Freeze-thaw cycle จำนวน 6 รอบ โดย 1 รอบประกอบด้วยการนำตำรับไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำการวัดความหนืด และ pH ของตำรับ ก่อนและหลังการทดสอบ Freeze-thaw cycle

### 3.4.6 การประเมินต้นทุนเบื้องต้นในการสกัดข้าวสังข์หยด

ทำการประเมินต้นทุนในการสกัดข้าวสังข์หยดแต่ละกระบวนการ โดยพิจารณาจากสถานะที่ดีที่สุด ทำการประเมินค่าใช้จ่ายจากราคาวัตถุดิบ สารเคมี และค่าไฟฟ้าของอุปกรณ์ต่าง ๆ ที่ใช้ในระดับอุตสาหกรรมในหน่วย (บาท/kWh) ประเมินปริมาณและราคาของสารสกัดต่อความคุ้มค่าในการลงทุนในระดับอุตสาหกรรม

## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากกระบวนการผลิตข้าวสังข์หยดงอก (Germinated Sangyod rice) เพื่อสกัดสารสำคัญด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 0, 50 และ 95 เวลาการสกัดที่ 0.5, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:10, 1:15, 1:20 และ 1:25 ที่ขนาดข้าว 40 และ 70 mesh และทำการวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compound) สารฟลาโวนอยด์ (Flavonoid) สารกาบา (GABA) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity) ของสารสกัดในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมและนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ แสดงรายละเอียดผลและวิจารณ์ผลการทดลองดังนี้

#### 4.1 ผลของกระบวนการงอก (Germination process)

##### 4.1.1 การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางกายภาพและค่าสีของข้าวสังข์หยดงอก

การผลิตข้าวสังข์หยดงอกจากข้าวเปลือกที่เวลา 60 ชั่วโมงด้วยผ้าขาวบางเปียกพบว่าเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ของเมล็ดข้าวเปลือกสังข์หยดที่นำไปผลิตเป็นข้าวสังข์หยดงอกมีเปอร์เซ็นต์ความสมบูรณ์ร้อยละ 95.50 โดยความสมบูรณ์ของข้าวอยู่ในช่วงเกณฑ์มาตรฐานของข้าวที่สามารถนำมาเพาะงอกได้คือ มีความสมบูรณ์ของเมล็ดข้าวมากกว่าร้อยละ 80 และหลังจากกระบวนการงอกมีเปอร์เซ็นต์การงอกร้อยละ 92.00 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ อุไรวรรณ วัฒนกุล และคณะ (2556) ได้ร้อยละของการงอกของข้าวมอลต์นิ่งและข้าวกล้องงอกนิ่งอยู่ในช่วง 95.07-96.50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบความสมบูรณ์เมล็ดข้าวก่อนเพาะงอกที่มีความสมบูรณ์ 100 เปอร์เซ็นต์ โดยลักษณะของเมล็ดข้าวสังข์หยดงอกที่ได้มีความสมบูรณ์และไม่เกิดเชื้อราแสดงดังภาพประกอบที่ 4-1A หลังการอบแห้งลักษณะของข้าวที่ได้จะมีราก (Radicl) ติดอยู่ส่วนต้นอ่อน (Plumule) จะเหี่ยวและหลุดออกไปเนื่องจากรากมีการยึดติดที่เหนียวกว่า แสดงดังภาพประกอบที่ 4-1B



(A)



(B)

ภาพประกอบที่ 4-1 ลักษณะของข้าวสังข์หยดงอก; (A) หลังกระบวนการงอก; (B) หลังการอบแห้ง

ในกระบวนการสีข้าวเปลือกสังข์หยดงอกรากจะหลุดออกพร้อมเปลือก (Hull) ในระหว่างกระบวนการสี เมล็ดข้าวสังข์หยดงอกหลังกระบวนการสีลักษณะผิวด้านนอกจะมีสีแดงเข้มกว่าข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก แสดงดังภาพประกอบที่ 4-2A อีกทั้งลักษณะของเนื้อภายในของข้าวสังข์หยดงอกจะนุ่มและมีสีขาวเข้ม ทำให้เมล็ดข้าวมีการแตกหักได้ง่ายกว่าข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก แสดงดังภาพประกอบที่ 4-2B



(A)



(B)

ภาพประกอบที่ 4-2 ลักษณะของเมล็ดข้าวสังข์หยดเทียบกับข้าวสังข์หยดงอก; (A) สีผิวด้านนอก; (B) สีเนื้อภายใน



ในกระบวนการเตรียมตัวอย่างข้าวก่อนนำไปสกัด ในการสกัดแต่ละครั้งจะใช้ข้าว ปริมาณ 100 กรัม ในการเตรียมจะทำการชั่งข้าว 105 กรัม แสดงดังภาพประกอบที่ 4-3A หลังจากนั้นนำไปบดด้วยเครื่องปั่นและร่อนผ่านตะแกรง (Sieve) ขนาด 40 mesh พบว่าข้าวหลังจากการร่อนผ่านตะแกรงจะมีปริมาณ 102 กรัม ซึ่งมีการสูญเสียในระหว่างการร่อน 3 กรัม จากการติดที่ตะแกรง ร่อนโดยลักษณะของข้าวหลังการร่อนจะมีความละเอียดเป็นเม็ดเล็ก ๆ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-3B



ภาพประกอบที่ 4-3 ลักษณะข้าวสังข์หยดงอก; (A) ข้าวสังข์หยดงอกก่อนการบด; (B) ข้าวสังข์หยดงอกหลังการบดและร่อนผ่านตะแกรงขนาด 40 mesh

จากลักษณะทางกายภาพที่เปลี่ยนไปของเมล็ดข้าว เมื่อนำเมล็ดข้าวไปวัดค่าสี (Color value) พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงค่าสีของเมล็ดข้าวสังข์หยดงอกและไม่ผ่านการงอก แสดงดังตารางที่ 4-1

ตารางที่ 4-1 ค่าสีของเมล็ดข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก

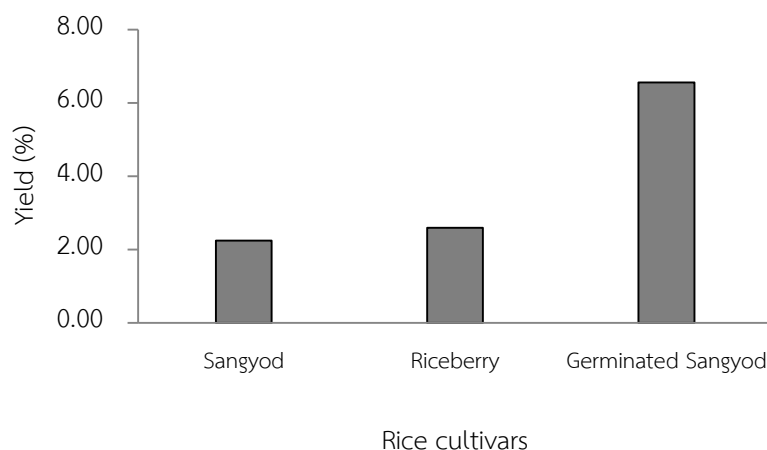
Rice	Color value		
	L*	a*	b*
Sangyod	44.46±0.52	11.92±1.23	16.52±0.35
Germinated Sangyod	43.13±0.99	13.63±0.95	15.88±0.29

หมายเหตุ L\* = ค่าความสว่าง  
a\* = ค่าความเป็นสีแดง  
b\* = ค่าความเป็นสีเหลือง

จากตารางที่ 4-1 แสดงผลการทดสอบค่าสีของเมล็ดข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับเมล็ดข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก พบว่าค่าความสว่าง ( $L^*$ ) และค่าความเป็นสีเหลือง ( $b^*$ ) ของข้าวสังข์หยดงอกลดลง ส่วนค่าความเป็นสีแดง ( $a^*$ ) มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก การลดลงของค่าความสว่างของเมล็ดข้าวสังข์หยดงอก แสดงให้เห็นว่าน้ำส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าความเป็นสีแดง ซึ่งสังเกตได้จากสีที่เปลือกเมล็ดข้าวเดิมที่จะมีสีค่อนข้างแดง เมื่อนำมาเพาะงอกด้วยการแช่ในน้ำซึ่งน้ำเป็นตัวทำละลายทำให้เม็ดสีถูกชะละลายปนออกมาผสมในน้ำที่แช่เมล็ดข้าว ดังนั้นเมล็ดข้าวจึงมีสีคล้ำขึ้นเมื่อเทียบกับเมล็ดข้าวที่ไม่เพาะงอก อีกทั้งการเปลี่ยนแปลงของค่าสีเหลือง อาจเนื่องมาจากความชื้นที่เพิ่มขึ้นจากกระบวนการแช่และบ่มข้าวไปกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ทำให้เกิดปฏิกิริยาการหมัก (Fermentation) (สุนัน ปานสาคร และ จตุรงค์ ลังกาพินธุ์, 2556) อาจเป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้ค่าความเป็นสีเหลืองของข้าวสังข์หยดงอกลดลง

#### 4.1.2 ปริมาณสารสกัด

ผลของกระบวนการงอกต่อร้อยละของผลผลิต (% Yield) ในการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 พบว่าข้าวสังข์หยดงอกมีปริมาณ % yield สูงสุดร้อยละ 6.56 ซึ่งสูงกว่าข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอกที่มี % yield เพียงร้อยละ 2.25 และ 2.60 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบข้าวสังข์หยดกับข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก พบว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่ให้ปริมาณสารสำคัญที่สูงกว่าข้าวสังข์หยดแสดงดังภาพประกอบที่ 4-4 จะเห็นได้ว่าข้าวสังข์หยดงอกให้ปริมาณสารสกัดที่สูง ดังนั้นกระบวนการงอกจึงเป็นกระบวนการที่สามารถเพิ่มปริมาณสารสกัดจากข้าวได้เป็นอย่างดี

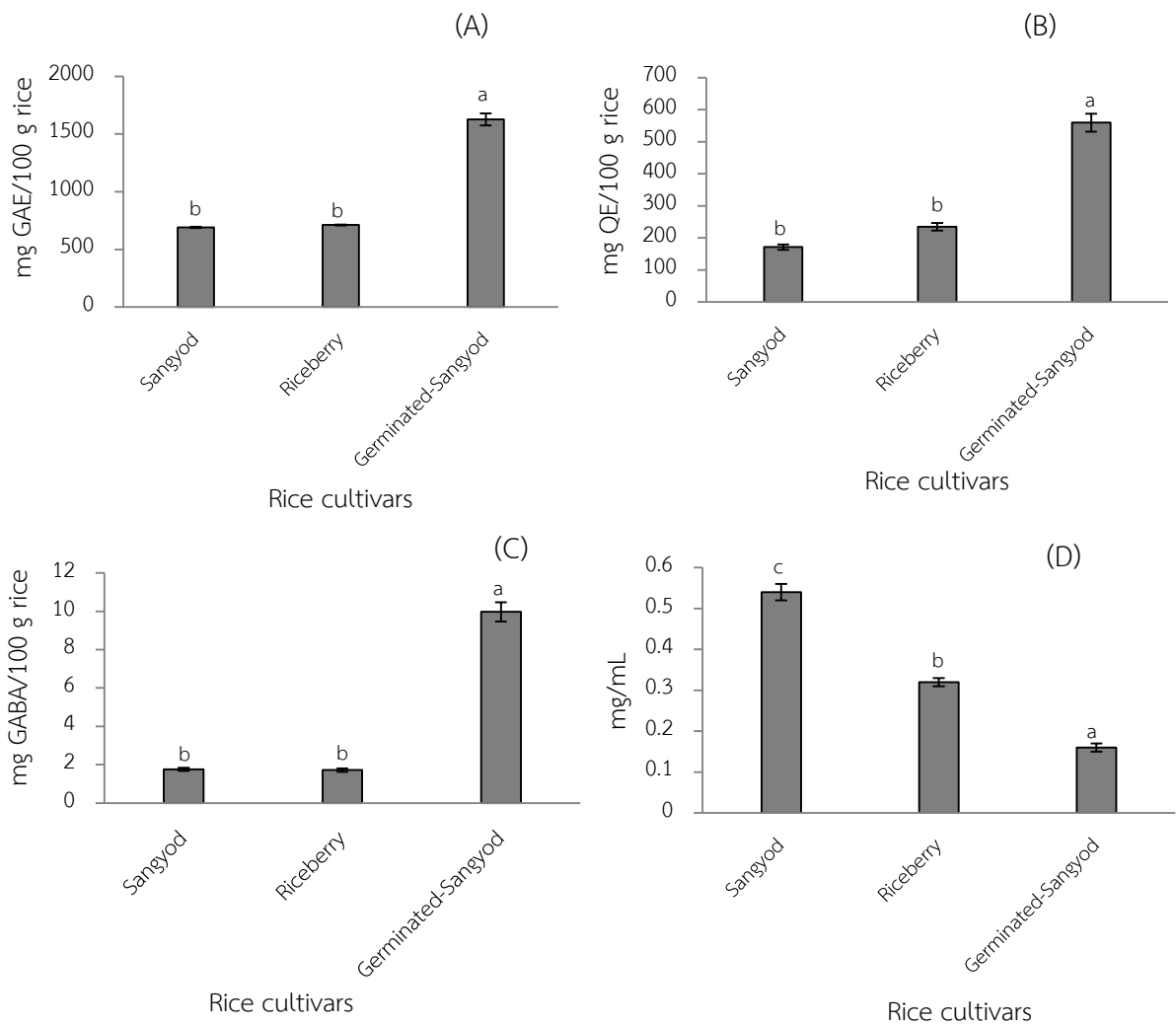


ภาพประกอบที่ 4-4 ปริมาณร้อยละของผลผลิตของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมงอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15

#### 4.1.3 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลของกระบวนการงอกต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยในด้านเวชสำอางเหล่านี้มีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน ช่วยต้านการอักเสบของผิวหนัง ลดการเกิดฝ้า กระ และลดริ้วรอยที่มีสาเหตุจากอนุมูลอิสระ พบว่าข้าวสังข์หยดงอกมีปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบาส่งสูงที่สุดเท่ากับ  $1,627.00 \pm 53.08$  mg GAE/100 g rice  $559.50 \pm 17.06$  mg QE/100 g rice และ  $9.97 \pm 0.17$  mg GABA/100 g rice ตามลำดับ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-5A-D ซึ่งมีปริมาณสารฟีนอลิกและสารกาบาเพิ่มขึ้นถึง 1-5 เท่าเมื่อเทียบกับข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอกซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วรัมย์พร วงศ์สุติน (2012) โดยปริมาณสารฟีนอลิกและสารกาบาในข้าวกล้องงอกเพิ่มขึ้นถึง 1-4 เท่าเมื่อเทียบกับข้าวกล้องที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก อีกทั้งข้าวสังข์หยดงอกยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดถึง  $0.16 \pm 0.01$  mg/mL โดยสารสกัดข้าวไรซ์เบอร์รี่จะมีปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านกระบวนการงอกแต่น้อยกว่าข้าวสังข์หยดงอก

จากผลการทดลองกระบวนการงอกสามารถเพิ่มปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และสารกาบาได้ เนื่องจากในระหว่างกระบวนการงอกทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีในข้าว (Phattayakorn et al., 2016) โดยการเปลี่ยนแปลงจะเริ่มขึ้นเมื่อน้ำได้แทรกเข้าไปในเมล็ดข้าว น้ำจะกระตุ้นให้เอนไซม์ภายในเมล็ดข้าวเกิดการ ทำงาน เมื่อเมล็ดข้าวเริ่มงอกสารอาหารภายในเมล็ดข้าวที่ถูกสะสมไว้จะถูกย่อยสลายด้วยกระบวนการทางชีวเคมี เกิดเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเล็กลงและน้ำตาลรีดิวิซ์ นอกจากนี้โปรตีนภายในเมล็ดข้าวจะถูกเปลี่ยนแปลงกลายเป็นกรดอะมิโนและกลูโคซิเตสเกิดเป็นสารกาบาและสารประกอบฟีนอลิก ดังนั้นกระบวนการงอกจึงเป็นกระบวนการที่เพิ่มปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และสารกาบาในข้าวอีกทั้งสามารถนำสารสกัดมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ได้เป็นอย่างดี



ภาพประกอบที่ 4-5 ปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดดอกเทียบกับข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก; (A) ปริมาณสารฟีนอลิก; (B) ปริมาณสารฟลาโวนอยด์; (C) ปริมาณสารกาบา; (D) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (error bars =  $\pm$  SD, ตัวหนังสือ a, b และ c ในแต่ละแห่งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ))




จากกระบวนการเตรียมข้าวสังข์หยดดอกนำไปสู่กระบวนการสกัดเพื่อสกัดสารสำคัญในกระบวนการสกัดจะทำการศึกษาความเข้มข้นของเอทานอล เวลาการสกัด อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย และขนาดของข้าว มีรายละเอียดผลการทดลองดังนี้

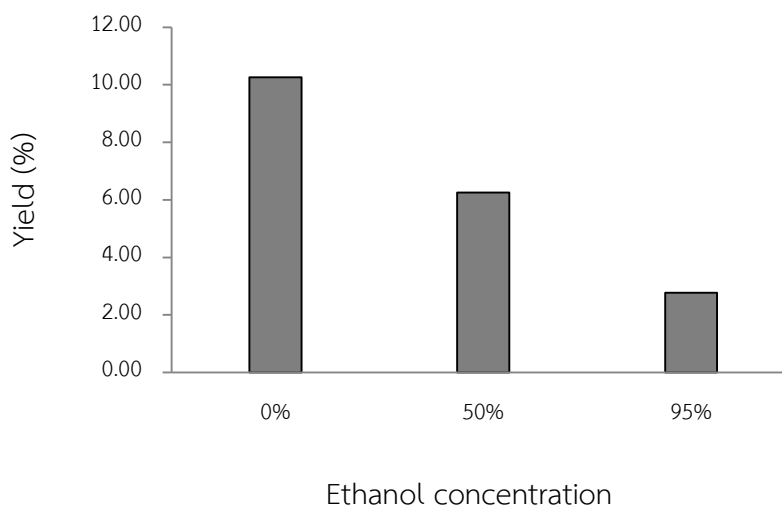
## 4.2 ผลความเข้มข้นของเอทานอล (Ethanol concentration)

### 4.2.1 ปริมาณสารสกัด

จากการศึกษาผลของความเข้มข้นของเอทานอล โดยใช้สารละลายเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 0, 50 และ 95 สกัดที่อัตราส่วนข้าวต่อดั้วทำละลาย 1:15 เวลาสกัด 1 ชั่วโมง พบว่าลักษณะของสารสกัดเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 0 มีสีน้ำตาลอ่อน ส่วนสารสกัดเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 และ 95 จะมีสีน้ำตาลเข้ม แสดงลักษณะของสารสกัดดังตารางที่ 4-2 จากลักษณะสารสกัดแสดงให้เห็นว่าน้ำไม่สามารถสกัดสีจากข้าวได้ทำให้มีสีของสารสกัดที่อ่อนกว่าสารสกัดเอทานอล ซึ่งร้อยละของผลผลิต (% yield) ของการสกัดเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 0 มีค่าสูงสุดร้อยละ 10.26 รองลงมาคือ เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 และ 95 เท่ากับร้อยละ 6.26 และ 2.77 ตามลำดับ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-6

ตารางที่ 4-2 ลักษณะของสารสกัดที่เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 0, 50 และ 95

ความเข้มข้นของเอทานอล	Yield (%)	ลักษณะสารสกัด	
0%	10.26		สารสกัดมีความเข้มข้นสีน้ำตาลอ่อน
50%	6.26		สารสกัดมีความเข้มข้นสีน้ำตาลเข้ม
95%	2.77		สารสกัดมีความเข้มข้นสีน้ำตาลแดงเข้ม



ภาพประกอบที่ 4-6 ปริมาณร้อยละของผลผลิตเทียบกับความเข้มข้นของเอทานอลในกระบวนการสกัดที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 เวลาสกัด 1 ชั่วโมง

จากภาพประกอบที่ 4-4 จะเห็นได้ว่าเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 0 (น้ำกลั่น) ให้ร้อยละของผลผลิตสูงที่สุด แสดงให้เห็นว่าองค์ประกอบของสารสกัดข้าวสังข์หยดประกอบด้วยสารที่มีความเป็นขี้สูงที่ละลายได้ดีในสารที่มีขี้สูง เนื่องจากน้ำเป็นตัวทำละลายที่มีความเป็นขี้สูงกว่าเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 และ 95 จึงสามารถละลายสารที่มีขี้ออกมาได้ดี

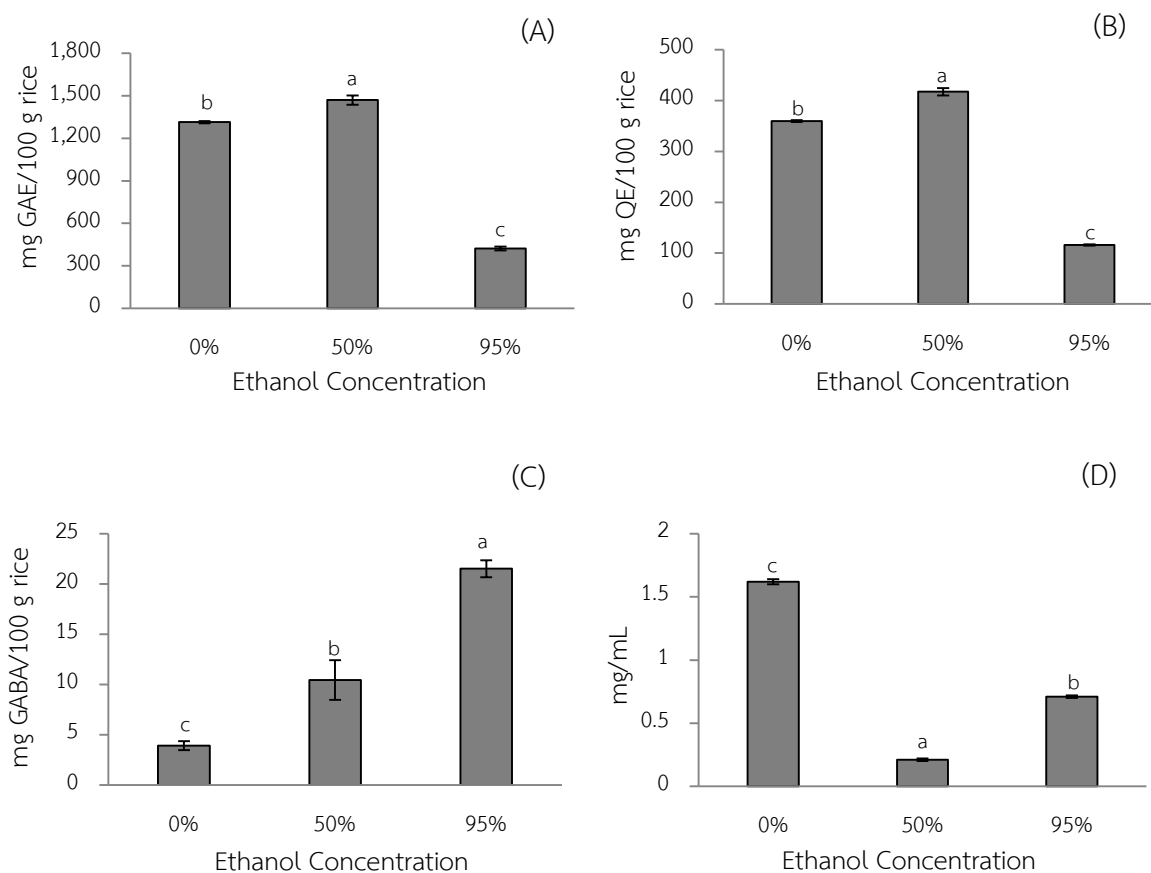
#### 4.2.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลของปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารกาบา และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-7 พบว่าผลที่ได้มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ( $p < 0.05$ ) เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ  $1,469.60 \pm 32.95$  mg GAE/100 g rice  $417.23 \pm 7.14$  mg QE/100 g rice และ  $0.21 \pm 0.01$  mg/mL ตามลำดับ และเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 มีปริมาณสารกาบาสูงสุดเท่ากับ  $21.52 \pm 0.84$  mg GABA/100 g rice แสดงให้เห็นว่าเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีความสามารถในการสกัดสารฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ได้ดีกว่าน้ำและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ซึ่งจากผลของการสกัดด้วยน้ำที่ให้ปริมาณร้อยละของผลผลิตที่สูงแต่มีปริมาณสารฟีนอลิก

ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เนื่องจากการสกัดด้วยน้ำให้ผลผลิตสูงแต่เมื่อเทียบปริมาณสารต่อหน่วยกรัมของสารสกัดดิบ (mg/g extract) สารสกัดจากเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 จะมีปริมาณสารสำคัญสูงกว่าเมื่อนำมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดจากน้ำ สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 โดยใช้ความเข้มข้นที่ต่ำกว่าสารสกัดน้ำและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 อีกทั้งเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 มีความเป็นขี้ผึ้งสูงกว่าเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 95 จึงสามารถละลายสารฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ได้ดีกว่า แต่ในทางตรงกันข้ามเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ซึ่งมีความเป็นขี้ผึ้งกลาง ๆ สามารถละลายสารกาบาได้ดีที่สุดจึงเหมาะแก่การใช้สกัดสารกาบามากกว่าสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ โดยเป็นไปตามกฎ “like dissolve like” คือสารสกัดที่มีขี้ผึ้งจะละลายได้ดีในตัวทำละลายที่มีขี้ผึ้งเหมือนกัน (Chew et al., 2011)

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของเอทานอลมีผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารกาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยสารสกัดเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ให้ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด ซึ่งสัมพันธ์กับงานวิจัยของ กุฑยิรต์น์ สวัสดิวงศ์ (2009) ที่สกัดสารประกอบฟีนอลิกด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าการสกัดด้วยน้ำและเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ดังนั้นประสิทธิภาพของการสกัดขึ้นอยู่กับทางเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดสารสำคัญชนิดต่าง ๆ จากข้าวจึงจะทำให้ได้สารสกัดที่มีคุณภาพ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ในกระบวนการศึกษาผลของเวลาที่ใช้การสกัดต่อไป





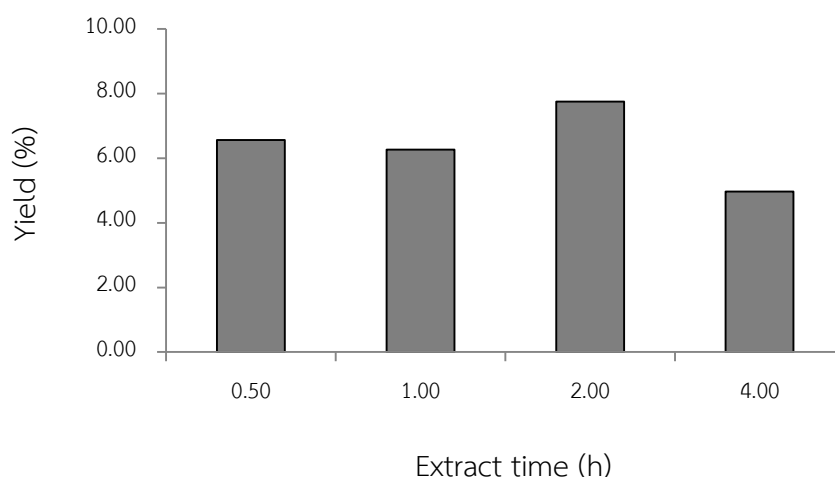
ภาพประกอบที่ 4-7 ปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับความเข้มข้นของเอทานอล; (A) ปริมาณสารฟีนอลิก; (B) ปริมาณสารฟลาโวนอยด์; (C) ปริมาณสารกาบา; (D) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (error bars =± SD, ตัวหนังสือ a, b และ c ในแต่ละแท่งแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ))

### 4.3 ผลของเวลาการสกัด (Extract time)

#### 4.3.1 ปริมาณสารสกัด

ผลของเวลาที่ใช้ในการสกัดข้าวสังข์หยดงอกด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 แสดงดังภาพประกอบที่ 4-8 พบว่าสารสกัดที่ใช้เวลาในการสกัด 2 ชั่วโมง มี % yield สูงที่สุดเท่ากับ 7.75 และที่เวลา 4 ชั่วโมง มี % yield น้อยที่สุดเท่ากับ 4.97 ซึ่งเวลาที่ใช้ในการสกัดจะมีผลกับความความสามารถของตัวทำละลายในการสกัดสารสำคัญ หากเวลาที่ใช้ในการสกัดสั้นเกินไปสารที่อยู่ในพืชจะละลายออกมาได้น้อย แต่หากใช้เวลาสกัดนาน

เกินไป อาจจะทำให้สารละลายเกิดการอิมตัวทำให้ได้ร้อยละของผลผลิตต่ำ ดังนั้นการใช้เวลาในการสกัดที่เหมาะสมจะช่วยลดการใช้พลังงานในกระบวนการสกัดและได้ผลผลิตที่สูงตามความต้องการ

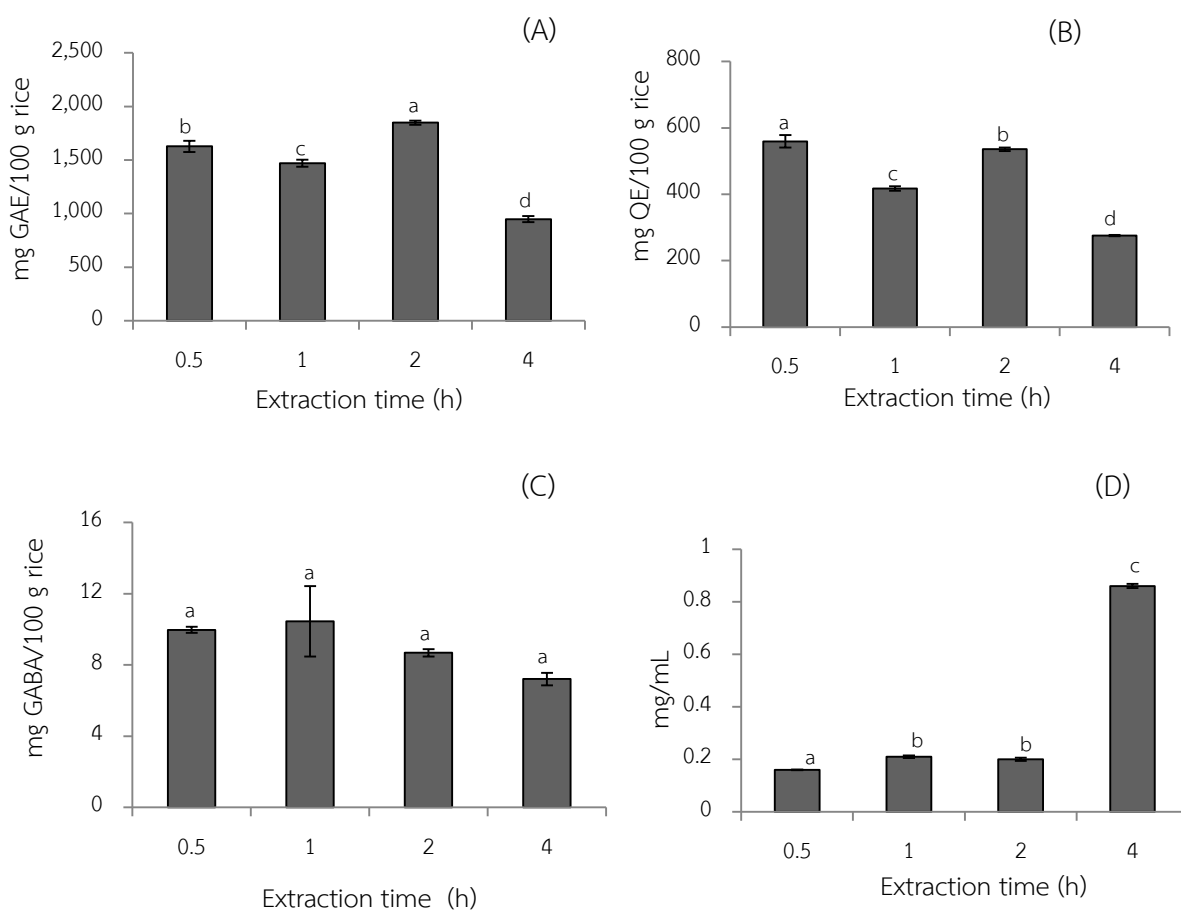


ภาพประกอบที่ 4-8 ปริมาณร้อยละของผลผลิตเทียบกับเวลาที่ใช้ในการสกัด โดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15

#### 4.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ผลของเวลาในการสกัดต่อปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แสดงดังภาพประกอบที่ 4-9A-D พบว่าระยะเวลาสกัดที่ 30 นาทีให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ  $559.50 \pm 18.88$  mg QE/100g rice และ  $0.16 \pm 0.01$  mg/mL ตามลำดับ เวลาการสกัดที่ 2 ชั่วโมงมีปริมาณสารฟีนอลิกสูงสุดเท่ากับ  $1,848 \pm 19.65$  mg GAE/100 g rice และปริมาณสารกาบาที่ 0.5, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) โดยที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมงให้ปริมาณสารกาบาสูงสุดเท่ากับ  $10.45 \pm 1.98$  mg GABA/100 g rice เมื่อเปรียบเทียบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ พบว่าที่เวลาการสกัดที่ 0.5, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง ให้ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ) ทั้งนี้ผลจากระยะเวลาในการสกัดที่สูงขึ้นจะทำให้การสัมผัสระหว่างข้าวกับตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ทำให้ตัวทำละลายสามารถละลาย

สารสกัดได้ดีแต่หากใช้เวลาในการสกัดที่นานเกินไป (4 ชั่วโมง) สารสกัดบางส่วนอาจเกิดการสลายตัวได้จากการถูกออกซิไดซ์ (วชิราภรณ์ ภักดี และ ถวนันท์ ศรีพิสุทธิ, 2559) ทำให้ปริมาณสารสำคัญน้อย โดยที่เวลาการสกัด 0.5 ชั่วโมง เป็นเวลาสกัดที่น้อยที่สุดแต่ได้ปริมาณสารสำคัญที่ใกล้เคียงกับการใช้เวลาสกัดที่ 1 และ 2 ชั่วโมง และให้ปริมาณสารสำคัญมากกว่าการใช้เวลาสกัด 4 ชั่วโมง สอดคล้องกับงานวิจัยของวชิราภรณ์ ภักดี และ ถวนันท์ ศรีพิสุทธิ (2559) ได้ทำการสกัดสารสำคัญจากข้าวไรซ์เบอร์รี่สกัดที่เวลาในการสกัด 1, 2, 4, 6 และ 12 ชั่วโมง พบว่าเวลาที่ใช้ในการสกัดที่ 1 ชั่วโมง จะให้สารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินใกล้เคียงกับเวลาการสกัดที่ 2 และ 4 ชั่วโมง โดยเวลาสกัดที่ 6 ชั่วโมงจะให้ปริมาณสารสกัดที่มีปริมาณสารสำคัญสูงสุดและเวลาสกัดที่ 12 ชั่วโมงให้ปริมาณสารสกัดที่มีปริมาณสารสำคัญน้อยที่สุดเมื่อเทียบกับสารสกัดที่เวลาอื่น ๆ ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เวลาการสกัดที่ 0.5 ชั่วโมง เนื่องจากเป็นเวลาที่เหมาะสมในการละลายสารสกัดจากข้าวได้เป็นอย่างดี สารสกัดที่ได้มีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีและมีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ในการสกัดมากกว่าการใช้เวลาการสกัดที่ 1, 2 และ 4 ชั่วโมง ซึ่งสามารถลดเวลาในการสกัดส่งผลต่อการลดใช้พลังงานในกระบวนการได้เป็นอย่างดี



ภาพประกอบที่ 4-9 ปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับเวลาการสกัด; (A) ปริมาณสารฟีนอลิก; (B) ปริมาณสารฟลาโวนอยด์; (C) ปริมาณสารกาบา; (D) ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (error bars indicate  $\pm$  SD, ตัวหนังสือ a, b, c และ d ในแต่ละจุดแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ))

#### 4.4 ผลของอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย (Rice-to-solvent ratio)

##### 4.4.1 ปริมาณสารสกัด

ผลของอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายต่อปริมาณสารสกัดในการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4.3 พบว่าที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:25 ให้ปริมาณสารสกัดสูงสุดเท่ากับร้อยละ 7.09 และที่อัตราส่วน 1:10 ให้ปริมาณสารสกัดน้อยที่สุดเท่ากับร้อยละ 6.15 เนื่องจากการการใช้อัตราส่วนของตัวทำละลายที่มากเป็นการเพิ่มพื้นที่สัมผัสของข้าวกับตัวทำละลาย ส่งผลให้ตัวทำละลายสามารถละลายสารสกัดออกมาได้ดีกว่าการใช้อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายที่น้อย

##### 4.4.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากตารางที่ 4-3 แสดงให้เห็นว่าการใช้อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายส่งผลต่อปริมาณสารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และสารกาบา โดยอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายที่ 1:15 และ 1:25 (g/mL) ให้ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดและที่อัตราส่วน 1:10 จะให้ปริมาณสารสำคัญน้อยที่สุด เนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้มีปริมาณน้อยทำให้ตัวทำละลายละลายสารสกัดได้ไม่เพียงพอส่งผลให้ปริมาณสารสกัดน้อยและเมื่อเพิ่มอัตราส่วนของข้าวกับตัวทำละลายเป็น 1:15, 1:20 และ 1:25 ปริมาณสารสกัดที่ได้จะมีค่าสูงขึ้นเนื่องจากตัวทำละลายที่ใช้เพียงพอในการละลายสารสกัด ทั้งนี้ที่อัตราส่วน 1:15 มีความเหมาะสมในกระบวนการสกัดมากกว่าการใช้อัตราส่วน 1:20 และ 1:25 เนื่องจากเป็นอัตราส่วนที่ใช้ตัวทำละลายที่ต่ำกว่าแต่ให้ปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน มีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์มากกว่าการใช้อัตราส่วน 1:20 และ 1:25 ดังนั้นในกระบวนการสกัดจึงเลือกใช้อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายที่ 1:15 ร่วมกับเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ในการสกัดสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และสารกาบาในกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดดอก

ตารางที่ 4-3 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวสังข์หยดงอก เทียบกับอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายในการสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

Rice to solvent ratio (g/mL)	Yield (%)	TPC (mg GAE/100 g rice)	TFC (mg QE/100 g rice)	GABA (mg GABA/100 g rice)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
1:10	6.15	1,162.72±8.95 <sup>d</sup>	403.69±1.41 <sup>d</sup>	6.09±0.09 <sup>d</sup>	0.53±0.01 <sup>d</sup>
1:15	6.56	1,627.00±53.08 <sup>b</sup>	559.50±17.06 <sup>c</sup>	9.97±0.17 <sup>b</sup>	0.16±0.01 <sup>b</sup>
1:20	6.43	1,533.81±22.04 <sup>c</sup>	617.02±18.88 <sup>b</sup>	9.00±0.04 <sup>c</sup>	0.22±0.03 <sup>c</sup>
1:25	7.09	2,093.18±35.69 <sup>a</sup>	785.86±2.66 <sup>a</sup>	12.34±0.09 <sup>a</sup>	0.13±0.02 <sup>a</sup>

(Mean ± SD; n = 3) ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ); TPC = Total phenolic content TFC = Total flavonoid content และ IC<sub>50</sub> = Inhibitory Concentration หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์

#### 4.5 ผลของขนาดข้าวบด (Size of rice)

ผลของขนาดของข้าวบดต่อปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 แสดงดังตารางที่ 4-4 พบว่าขนาดของข้าวที่ 70 mesh ให้ปริมาณสารสกัดที่สูงสุดเท่ากับร้อยละ 6.60 และมีปริมาณสารฟีนอลิกสูงสุดเท่ากับ 1,860.87 ± 10.04 mg GAE/100 g rice แต่ให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ สารกาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ต่ำกว่าขนาดข้าว 40 mesh เนื่องจากขนาดข้าวบดที่ละเอียดกว่าในกระบวนการสกัดตัวทำละลายสามารถละลายเข้าไปในเนื้อข้าวได้ดีจึงสามารถละลายสารสกัดออกมาได้ดี ซึ่งขนาดข้าวขนาดข้าว 40 mesh เป็นขนาดละเอียดใกล้เคียงกับขนาด

70 mesh จึงให้ผลที่ใกล้เคียงกัน ดังนั้นจึงเลือกใช้ขนาดข้าว 40 mesh มาใช้ในกระบวนการสกัด เนื่องจากให้ปริมาณสารสำคัญที่สูงใกล้เคียงกับขนาด 70 mesh และเป็นการลดเวลาในการเตรียมตัวอย่าง

ตารางที่ 4-4 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวสังข์หยดงอก เทียบกับขนาดข้าวบด ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15

Size (mesh)	Yield (%)	TPC (mg/100 g rice)	TFC (mg/100 g rice)	GABA (mg/100 g rice)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
40	6.56	1,627.00±53.08	559.50±17.06	9.97±0.17	0.16±0.01
70	6.60	1,860.87±10.04	516.92±5.71	9.80±0.01	0.25±0.04

Values are mean ± SD; n=3; TPC = Total phenolic content TFC = Total flavonoid content และ IC<sub>50</sub> = Inhibitory Concentration หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์

#### 4.6 ผลของการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ (Solvent recovery)

ประสิทธิภาพการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ในกระบวนการสกัดต่อร้อยละของผลผลิต ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ในการสกัดข้าวบดขนาด 70 mesh ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง แสดงดังตารางที่ 4-5 พบว่า ในกระบวนการสกัดสามารถนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ โดยมีค่า % Solvent recovery เท่ากับ 86.33-87.33 เปอร์เซ็นต์ ความหนาแน่นเริ่มต้นของเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ก่อนการสกัดเท่ากับ 0.936 g/cm<sup>3</sup> หลังจากกระบวนการระเหยตัวทำละลายมีความหนาแน่นเท่ากับ 0.941 g/cm<sup>3</sup> แสดงดังภาพประกอบที่ 4-7 หลังการปรับปริมาตรตัวทำละลายใหม่ (Make-up) เพื่อนำมาสกัดซ้ำมีความหนาแน่น เท่ากับ 0.940 g/cm<sup>3</sup> เมื่อเทียบกับ Calibration curve ระหว่างความหนาแน่นกับความเข้มข้นของเอทานอล แสดงดังภาพประกอบที่ ก-5 พบว่าตัวทำละลายที่นำมาสกัดซ้ำในครั้งที่ 1 มีความเข้มข้นร้อยละ 48 เมื่อนำมาสกัดซ้ำให้

ปริมาณ % yield เท่ากับ 6.45 และมีปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใกล้เคียงกับการสกัดด้วยตัวทำละลายตั้งต้น ทั้งนี้ในกระบวนการสกัดด้วยตัวทำละลายตัวทำละลายที่ได้หลังกระบวนการสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในระดัبودสาหกรรมการเป็นประโยชน์ในการลดต้นทุนการใช้ตัวทำละลายและลดของเสียจากกระบวนการสกัดได้เป็นอย่างดี

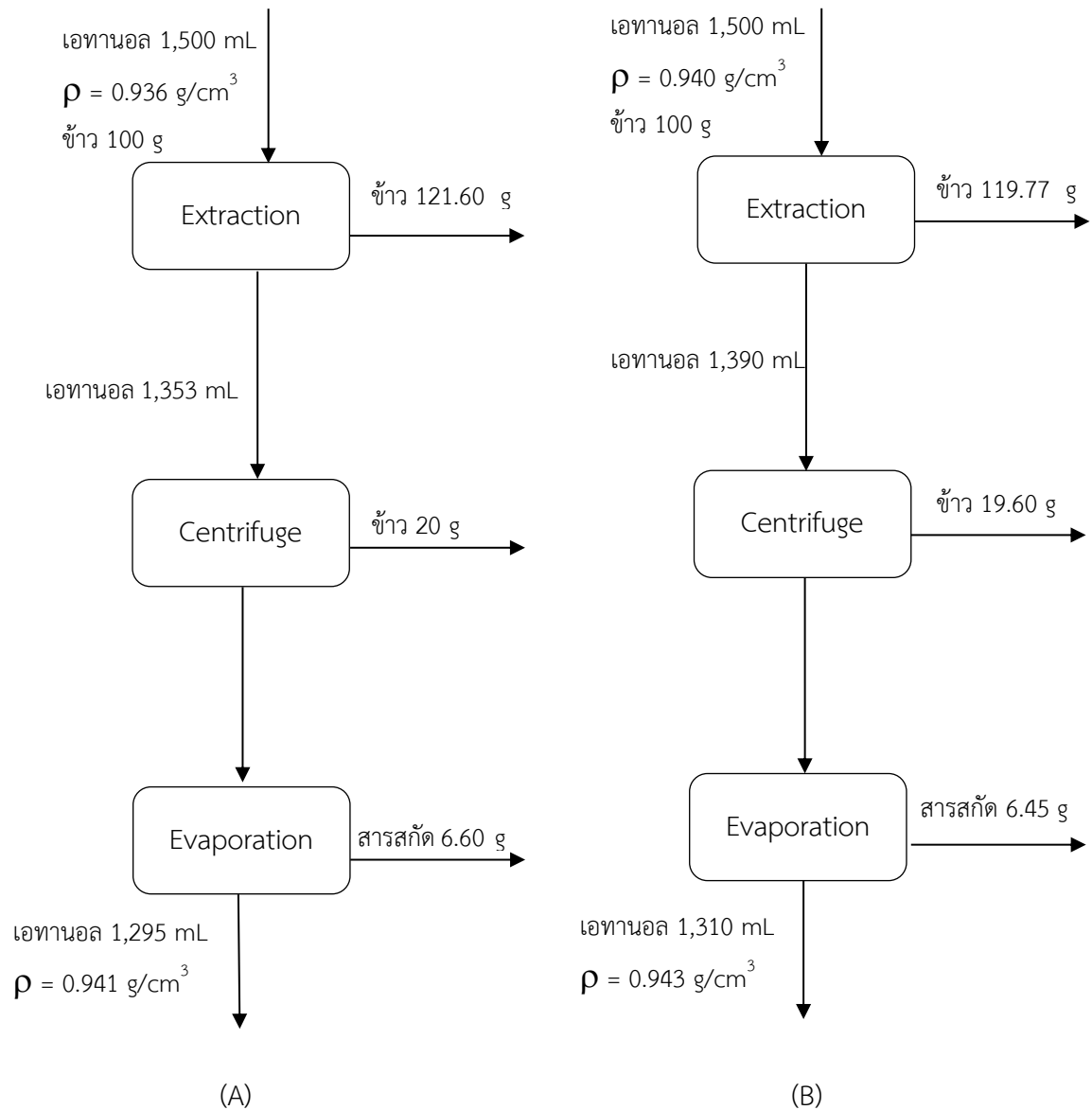
ตารางที่ 4-5 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวสังข์หยดดอกในการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 ขนาดข้าวบด 70 mesh

Number of recovery (time)	Density (g/cm <sup>3</sup> )	Solvent recovery (%)	Yield (%)	TPC (mg GAE/100 g rice)	TFC (mg QE/100 g rice)	GABA (mg GABA/100 g rice)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
0	0.936	86.33	6.60	1,860.87± 10.04	516.92± 5.71	9.80± 0.01	0.25± 0.04
1	0.940	87.33	6.45	1,553.42± 22.16	537.85± 20.77	9.80± 0.01	0.40± 0.01

Values are mean ± SD; n=3; TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content และ IC<sub>50</sub> = Inhibitory Concentration หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์



แสดงการทำสมดุลมวลในขั้นตอนการสกัดและการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่  
เพื่อวิเคราะห์การสูญเสียตัวทำละลายของแต่ละขั้นตอนในกระบวนการดังกล่าวประกอบที่ 4-10



ภาพประกอบที่ 4-10 แสดงการทำสมดุลมวล (Mass balance) ในกระบวนการสกัด; (A) ไม่ใช้ตัวทำละลายซ้ำ; (B) นำตัวทำละลายมาสกัดซ้ำ 1 ครั้ง

จากภาพประกอบที่ 4-10 พบว่าในกระบวนการสกัดมีการสูญเสียตัวทำละลายแสดงรายละเอียดการคำนวณสมมูลมวลดังนี้

1. กระบวนการ (A)

$$\text{เอทานอลที่สูญเสีย} = 1,500 - 1295 = 205.00 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \text{เอทานอลที่เหลือในข้าว} &= (121.60 + 20) - (100 - 6.60) = 48.20 \text{ g} \times 0.936 \text{ g/cm}^3 \\ &= 45.11 \text{ mL} \end{aligned}$$

∴ เอทานอลที่สูญเสียในกระบวนการ (A) เท่ากับ 205.00 mL โดยอยู่ในข้าวปริมาณ 45.11 mL

2. กระบวนการ (B)

$$\text{เอทานอลที่สูญเสีย} = 1,500 - 1,310 = 190.00 \text{ mL}$$

$$\begin{aligned} \text{เอทานอลที่เหลือในข้าว} &= (119.77 + 19.60) - (100 - 6.52) = 45.89 \text{ g} \times 0.940 \text{ g/cm}^3 \\ &= 48.39 \text{ mL} \end{aligned}$$

∴ เอทานอลที่สูญเสียในกระบวนการ (B) เท่ากับ 190.00 mL โดยอยู่ในข้าวปริมาณ 48.39 mL

จากการทำสมมูลมวลในกระบวนการสกัด แสดงให้เห็นว่าตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ 86.33-87.33 เปอร์เซ็นต์ และมีการสูญเสียตัวทำละลายหลายส่วนทั้งการหลงเหลืออยู่ในข้าวปริมาณ 45.11-48.39 mL การสูญเสียจากการปีบสารละลายออกจากข้าว การเทใส่ขวด และการระเหยในระหว่างขั้นตอนการสกัด 141.61-159.89 mL ซึ่งหากลดการสูญเสียตัวทำละลายจะเพิ่มปริมาณตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ได้เป็นอย่างดี

ตะกอนข้าวที่เหลือหลังกระบวนการสกัดจะนำมาจัดการ เพื่อนำมาใช้ใหม่ในพัฒนาสู่ การเลี้ยงสัตว์และการทำปุ๋ยเป็นการลดของเสียในกระบวนการสกัด แสดงดังภาพประกอบที่ 4-11



สารละลายหลังการวางให้แยกชั้น



กรอง



สารละลายใส



ตะกอนข้าว



อบที่ 50°C



ตะกอนข้าวหลังการอบ

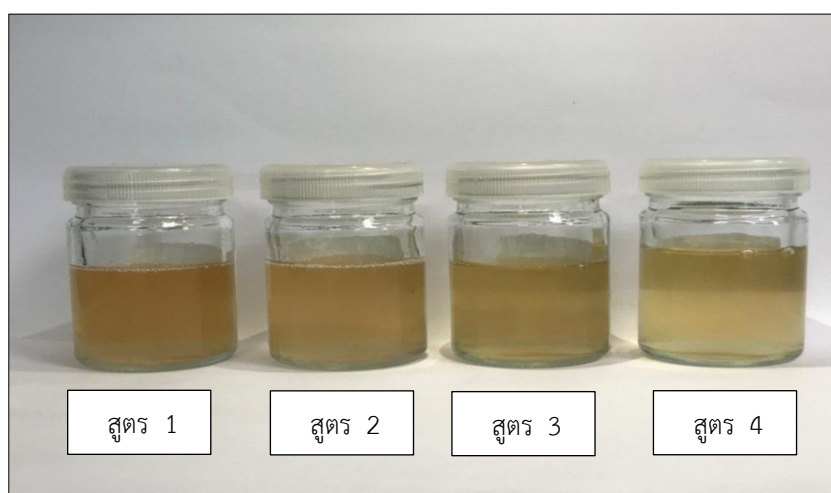


- เลี้ยงสัตว์
- ทำปุ๋ย

ภาพประกอบที่ 4-11 การจัดการข้าวหลังกระบวนการสกัด

#### 4.7 การพัฒนาสารสกัดเป็นเซรัม (Extract development)

ในการผลิตสารสกัดเป็นเซรัมทำการเตรียมตัวอย่างเซรัม 4 สูตร แสดงดังภาพประกอบที่ 4-12 โดยใช้สารสกัดความเข้มข้นร้อยละ 0.5 w/v เป็นส่วนประกอบร่วมกับส่วนประกอบอื่น ๆ แสดงดังตารางที่ 4-6 เพื่อวิเคราะห์หาสูตรที่ดีที่สุด จากผลการวิจัยพบว่าเซรัมสูตร 3 จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดถึงร้อยละ  $89.44 \pm 00$  เนื้อเซรัมมีความหนืดเท่ากับ  $1,159.67 \pm 2.08$  cPs และมีค่า pH เท่ากับ  $5.25 \pm 0.02$  หลังทดสอบความคงตัวจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ  $87.28 \pm 1.63$  เนื้อเซรัมมีความหนืดเท่ากับ  $1,144.00 \pm 9.54$  cPs และมีค่า pH เท่ากับ  $5.40 \pm 0.05$  เมื่อเปรียบเทียบกับเซรัมสูตร 1 สูตร 2 และ สูตร 4 แสดงดังตารางที่ 4-7



ภาพประกอบที่ 4-12 ลักษณะของสีและเนื้อเซรัมทั้ง 4 สูตร

ตารางที่ 4-6 ส่วนประกอบของเซรั่มทั้ง 4 สูตร

Ingredients	Rx1	Rx2	Rx3	Rx4
Methylcellulose	-	-	-	√
Hydroxyethyl cellulose	√	√	√	-
Rice extract	0.5	0.5	0.5	0.5
Aloe vera	√	-	-	√
Unirepair T-43	√	√	√	√
Witch hazel	√	√	-	√
Glycerine	√	√	√	√
Propylene glycol	√	√	√	√
Bio sodium hyaluronate	√	√	√	√
Ascorbyl glucoside	√	√	√	√
Tween20	√	√	√	√
Phenoxyethanol	√	√	√	√
Triethanolamine	qs	qs	qs	qs
Perfume	qs	qs	qs	qs
Water	√	√	√	√

qs หมายถึง ปริมาณเล็กน้อยที่เติมลงไปในการผลิตภัณฑ์

ตารางที่ 4-7 ผลทดสอบค่า pH ค่าความหนืด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของเซรั่มทั้ง 4 สูตรก่อนและหลังทดสอบความคงตัว

Rx	pH		Viscosity (cPs)		Antioxidant activity (%)	
	before FT	after FT	before FT	after FT	before FT	after FT
1	5.79±0.07	5.94±0.05	1,444.33±1.53	1,430.00±6.08	82.77±2.05	79.35±3.08
2	5.54±0.09	5.65±0.10	1,018.22±1.53	1,018.00±13.11	83.13±1.12	79.89±1.90
3	5.25±0.02	5.40±0.05	1,159.67±2.08	1,144.00±9.54	89.44±0.00	87.28±1.63
4	5.20±0.02	5.33±0.06	605.33±1.53	612.67±1.53	73.93±2.19	68.71±3.30

หมายเหตุ FT = Freeze-thaw cycle การทดสอบความคงตัว

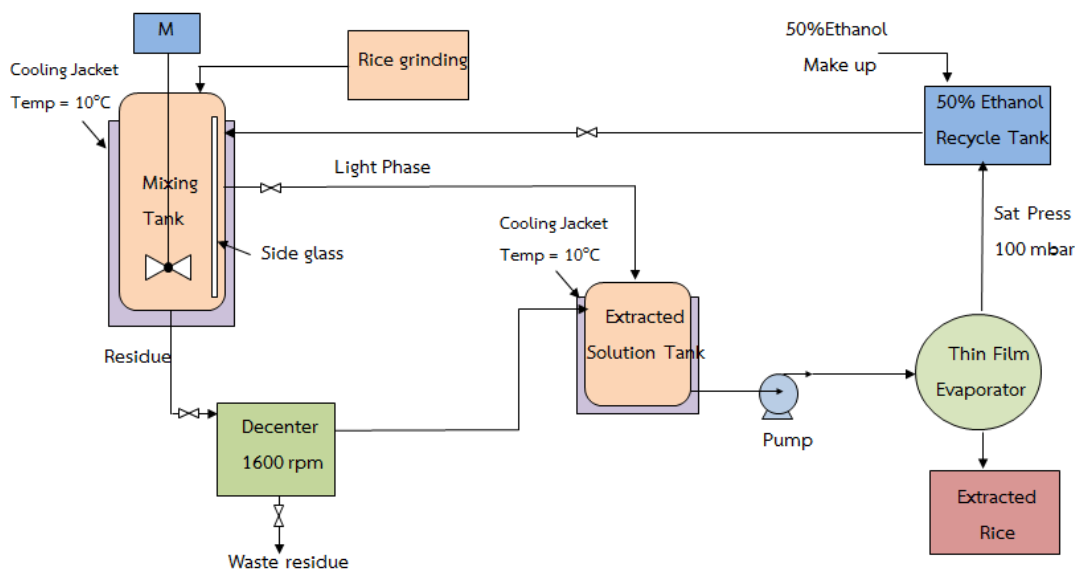
จากผลการวิเคราะห์แสดงให้เห็นว่าเซรั่มสูตรที่ 3 มีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด เมื่อทดสอบความคงตัวของเนื้อเซรั่มให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ใกล้เคียงกับก่อนทดสอบและตัวเนื้อผลิตภัณฑ์ให้ความหนืดที่พอดีโดยไม่เหนียวและเหลวจนเกินไป มีค่า pH ที่เหมาะสมกับผิวหนังอยู่ในช่วง 5.00-5.50 ซึ่งเป็นค่า pH ที่เหมาะสมกับการใช้กับผิวหนัง ดังนั้นจึงเลือกใช้สูตร 3 ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์เซรั่มตัวอย่างขนาด 15 มิลลิลิตร แสดงดังภาพประกอบที่ 4-13 ซึ่งคุณสมบัติของเซรั่มในส่วนสารสกัดจากข้าวที่ประกอบด้วยสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติช่วยต้านอนุมูลอิสระต้านทานการเกิดออกซิเดชันไม่ให้เซลล์ผิวหนังทำลาย การกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ ลดเลือนริ้วรอยและความหย่อนคล้อย ที่อาจเกิดจากทั้งปัจจัยภายใน เช่น การเกิดหรือการบางลงของผิวหนังจากปริมาณคอลลาเจนและอีลาสตินในผิวที่ลดลง และปัจจัยภายนอก เช่น การสัมผัสกับสิ่งแวดล้อมต่างๆ ได้แก่ มลภาวะ ควันบุหรี่ และแสงแดด ปกป้องผิวจากรังสียูวี (UV) ช่วยบำรุงผิวที่คล้ำเสียที่ถูกทำลายจากแสงแดด สร้างเซลล์ผิวใหม่ที่เรียบนุ่ม กระตุ้นให้ผิวหนังมีการผลัดเปลี่ยนเซลล์เร็วขึ้น ฟลาโวนอยด์เป็นวิตามินช่วยในเรื่องของการเพิ่มความชุ่มชื้นและความเต่งตึงให้แก่ผิวพรรณ



ภาพประกอบที่ 4-13 ผลิตภัณฑ์เซรั่มตัวอย่าง

#### 4.8 แนวทางกระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม (Industrial production process)

จากกระบวนการสกัดสารสำคัญจากข้าวสังข์หยดงอกในระดับห้องปฏิบัติการสามารถนำไปออกแบบประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม เพื่อวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต แสดงดังภาพประกอบที่ 4-14



ภาพประกอบที่ 4-14 แสดงรูปแบบกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดงอกในระดับอุตสาหกรรม

จากภาพประกอบที่ 4-14 การออกแบบกระบวนการสกัดในอุตสาหกรรมจะใช้ถังกวนขนาด 50 ลิตร ใช้ข้าวปริมาณ 2.67 กิโลกรัมต่อตัวทำละลาย 40 ลิตร ได้สารสกัดปริมาณ 0.175 กิโลกรัมต่อการสกัด 1 ครั้ง ในการกวนผสมข้าวกับเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ภายนอกถังกวนจะเคลือบ Cooling jacket เพื่อลดอุณหภูมิของตัวทำละลาย เป็นการป้องกันการระเหยของตัวทำละลายในระหว่างการสกัด ทำการสกัดเป็นเวลา 30 นาที ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) หลังกระบวนการสกัดสารละลายที่ได้จะถูกส่งมายังเครื่องเหวี่ยงแยก (Decanter) เพื่อเหวี่ยงแยกตะกอนของข้าวออกจากสารละลายเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นสารละลายที่ได้จะถูกส่งไปยังถังเก็บสารละลายและส่งไปยังเครื่องระเหยตัวทำละลายแบบฟิล์ม (Thin film evaporator) ที่ความ

ดันไอ 100 mbar เป็นเวลา 4 ชั่วโมง จะได้สารสกัดที่เข้มข้นและตัวทำละลายหลังกระบวนการระเหย จะเก็บไว้ในถังเก็บเพื่อนำมาใช้ใหม่ในกระบวนการ

#### 4.9 การวิเคราะห์ต้นทุนการผลิต (Economic analysis)

##### 4.9.1 การประมาณค่าพลังงานไฟฟ้าทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการสกัดสารสำคัญ

##### จากข้าวสังข์หยดงอก

การประมาณค่าการใช้พลังงานไฟฟ้าทั้งหมดในกระบวนการสกัด ทำโดยการ ประเมินจากค่ากำลังไฟฟ้าของอุปกรณ์ไฟฟ้าทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการ ประกอบด้วยไฟฟ้าจาก เครื่องมือในกระบวนการสกัดในระดับอุตสาหกรรม แสดงรายละเอียดดังตารางที่ 4-8

ตารางที่ 4-8 การคำนวณค่าพลังงานไฟฟ้าทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดงอก

เครื่องมือ/อุปกรณ์	กำลังไฟฟ้า (กิโลวัตต์)	ระยะเวลาการใช้งาน (ชั่วโมง/ครั้ง)	หน่วยการใช้ไฟฟ้า (กิโลวัตต์ชั่วโมง)
เครื่องกวนสารขนาด 50 ลิตร	1.10	0.5	0.55
เครื่อง Decanter	1.50	4	15.60
เครื่อง Thin film evaporator	3.90	2	3.00
ปั๊ม	0.37	4	1.48
อัตราการใช้ไฟฟ้า	20.63 หน่วย/ครั้ง		

ตารางที่ 4-9 อัตราค่าไฟฟ้าประเภทกิจการขนาดเล็ก ซึ่งมีความต้องการพลังงานไฟฟ้าเฉลี่ยในเวลา 15 นาที สูงสุดต่ำกว่า 30 กิโลวัตต์ โดยต่อผ่านเครื่องวัดไฟฟ้าเครื่องเดียว (การไฟฟ้าส่วนภูมิภาค, 2560)

อัตราการใช้พลังงานไฟฟ้า	ค่าพลังงานไฟฟ้า (บาทต่อหน่วย)
150 หน่วยแรก (หน่วยที่ 0 - 150)	1.8047
250 หน่วยต่อไป (หน่วยที่ 151 - 400)	2.7781
เกิน 400 หน่วยขึ้นไป (หน่วยที่ 401 เป็นต้นไป)	2.9781



$$\text{Cost} = W \times C \quad (4-1)$$

เมื่อ  $C =$  ค่าพลังงานไฟฟ้าต่อหน่วย (บาทต่อกิโลวัตต์ชั่วโมง)

$W =$  หน่วยการใช้ไฟฟ้า (กิโลวัตต์ชั่วโมง)

จากตารางที่ 4-8 ค่าการคำนวณอัตราการใช้ไฟฟ้าในการสกัดสารสำคัญจากข้าวสังข์หยดออก พบว่ากระบวนการสกัดใช้อัตราการใช้ไฟฟ้าเป็น 515.75 หน่วย/เดือน ซึ่งเมื่อพิจารณาอัตราค่าไฟฟ้าประเภทกิจการขนาดเล็ก แสดงดังตารางที่ 4-9 พบว่าค่าพลังงานไฟฟ้า 150 หน่วยแรกมีค่าเป็น 1.8047 บาทต่อหน่วย และเมื่อทำการคำนวณค่าไฟฟ้างวดที่ 4-1 จะได้  $20.63 \times 1.8047 = 37.23$  บาท

#### 4.9.2 การประมาณค่าวัตถุดิบทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการสกัด

วัตถุดิบทั้งหมดที่ใช้ในการสกัดประกอบด้วย ข้าวสังข์หยดและเอทานอล ซึ่งสามารถแสดงรายละเอียดการคำนวณดังตารางที่ 4-10

ตารางที่ 4-10 ผลของการคำนวณค่าวัตถุดิบทั้งหมดที่ใช้ในกระบวนการสกัด

วัตถุดิบ	ราคา	ปริมาณที่ใช้	จำนวนเงิน (บาท)
ข้าวสังข์หยด	17.00 (บาท/กิโลกรัม)	2.67 กิโลกรัม	45.39
เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50	32.08 (บาท/ลิตร)	40.00 ลิตร	1,283.33
ราคารวม	1,365.95 บาท/ครั้ง		

จากตารางที่ 4-10 ผลการคำนวณค่าวัตถุดิบจะได้สารสกัดปริมาณ 0.175 กิโลกรัม ราคาต้นทุนของสารสกัดเท่ากับ 7,805.43 บาทต่อกิโลกรัม ซึ่งสามารถนำเอทานอลกลับมาใช้ใหม่ในกระบวนการสกัดได้ในครั้งต่อไป โดยสามารถลดต้นทุนของสารสกัดแสดงดังตารางที่ 4-8

ตารางที่ 4-11 ผลของการคำนวณต้นทุนของสารสกัดหลังการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่

วัตถุดิบ	ราคา	ปริมาณที่ใช้	ตัวทำละลาย ที่นำกลับมา ใช้ใหม่	ปริมาณตัวทำ ละลายที่ใช้ Make up	จำนวน เงิน (บาท)
ข้าวสังข์หยด	17.00 (บาท/ กิโลกรัม)	2.67 กิโลกรัม	-	-	45.39
เอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 50	32.08 (บาท/ลิตร)	40.00 ลิตร	34.53 ลิตร	5.47 ลิตร	175.48
ราคารวม	258.10 บาท/ครั้ง				

จากตารางที่ 4-11 ผลการคำนวณค่าวัตถุดิบจะได้สารสกัดปริมาณ 0.172 กิโลกรัม  
 ราคาต้นทุนของสารสกัดหลังการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่เท่ากับ 1,500.58 บาทต่อ  
 กิโลกรัม จะเห็นได้ว่าการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่สามารถลดต้นทุนของสารสกัดได้ถึงร้อยละ  
 80.78

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

5.1.1 กระบวนการงอกมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงลักษณะ ค่าสี และการเพิ่มขึ้นของปริมาณสารสำคัญในข้าวสังข์หยด โดยลักษณะกายภาพของเมล็ดข้าวสังข์หยดงอกเมล็ดมีความนิ่มและหักง่าย นอกจากนี้กระบวนการงอกจะส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีในลักษณะที่ค่าความสว่างและค่าสีเหลืองลดลง ส่วนค่าสีแดงจะเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับเมล็ดข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านกระบวนการงอกและให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ และกาบาสูงกว่าข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก

5.1.2 กระบวนการผลิตข้าวสังข์หยดงอกสามารถเพิ่มสารต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี โดยให้ปริมาณสารฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ และสารกาบาที่เพิ่มขึ้นถึง 2, 3 และ 5 เท่าตามลำดับ

5.1.3 สภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดงอก คือ การสกัดด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ในอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 g/mL ที่ขนาดข้าวบด 40 mesh ให้ปริมาณสารสกัดร้อยละ 6.56 มีปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ  $1,627.00 \pm 53.08$  mg GAE/100 g rice,  $559.50 \pm 17.06$  mg QE/100 g rice,  $9.97 \pm 0.17$  mg GABA/100 g rice และ  $0.16 \pm 0.01$  mg/mL ตามลำดับ

5.1.4 ตัวทำละลายที่ใช้ในกระบวนการสกัดสามารถนำกลับมาใช้ใหม่ได้ร้อยละ 86.33-87.33 หลังการปรับปริมาตรตัวทำละลายใหม่ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เพื่อนำกลับมาใช้ซ้ำมีความหนาแน่นเท่ากับ  $0.940$  g/cm<sup>3</sup> เมื่อนำมาสกัดซ้ำให้ร้อยละผลผลิตและปริมาณสารสำคัญที่ใกล้เคียงกับการสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเตรียมตั้งต้น

5.1.5 การประเมินต้นทุนเบื้องต้น พบว่าการสกัดสารสำคัญจากข้าวสังข์หยดออกด้วยการใช้เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 และนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ถือเป็นกระบวนการที่มีต้นทุนที่ต่ำสามารถนำไปใช้งานในระดับอุตสาหกรรมได้และมีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์

5.1.6 สารสกัดที่ได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงสามารถพัฒนาต่อยอดเป็นเซรั่มที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 87.28 โดยมีค่า pH เท่ากับ 5.40 สามารถนำมาใช้กับผิวหนังได้อย่างปลอดภัย เป็นการพัฒนาผลผลิตทางการเกษตรเป็นผลิตภัณฑ์ที่สามารถสร้างอาชีพและสร้างรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกข้าวได้เป็นอย่างดี

## 5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 ควรศึกษาผลของอุณหภูมิในกระบวนการสกัด

5.2.2 ควรศึกษาว่าตัวทำละลายสามารถใช้ซ้ำในกระบวนการสกัดสูงสุดได้กี่ครั้งจึงจะต้องเปลี่ยนตัวทำละลายใหม่

5.2.3 ควรศึกษาการสกัดด้วยตัวทำละลายกับข้าวพันธุ์อื่นเพิ่มเติมเพื่อเปรียบเทียบผลกับข้าวสังข์หยด

## บรรณานุกรม

- Alves, G.H., Ferreira, C.D., Viaian, P.G., Monks, J.L.F., Elias, M.C., Vanier, N.L., Oliveira, M.D. (2016). The revisited levels of free and bound phenolics in rice: Effects of the extraction procedure. *Journal of Food Chemistry*. 208: 116-123.
- Chew, K. K., Khoo, M. Z., Ng, S. Y., Thoo, Y. Y., Wan Aida, W. M., Ho, C. W. 2011. Effect of ethanol concentration, extraction time and extraction temperature on the recovery of phenolic compounds and antioxidant capacity of *Orthosiphon stamineus* extracts. *J. International Food Research* 18: 1427-1435.
- Cong-Cong, X., Bing, W., Yi-Qiong, P., Jian-Sheng, T., Tong, Z. 2017. Advances in extraction and analysis of phenolic compounds from plant materials. *J. Natural Medicines*. 15: 0721–0731.
- Dong-Hwa, C., Seung-Taik, L. 2016. Germinated brown rice and its bio-functional compounds. *J. Food Chem*. 196: 259–271.
- Hansakul, P., Srisawat, U., Itharat, A., Lerdvuthisophon, N. (2011). Phenolic and flavonoid contents of Thai Rice extracts and their correlation with antioxidant activities using chemical and cell assays. *J Med Assoc*. 94: 122-130.
- Hu, Z., Tang, X., Liu, J., Zhu, Z., Shao, S. 2016. Effect of parboiling on phytochemical content, antioxidant activity and physicochemical properties of germinated red rice. *J. Food*. 214: 285-292.
- Inchuen, S., Pornchaloempong, P., Narkrugsa, W. 2010. Effect of drying methods on chemical composition, color and antioxidant properties of Thai red curry powder. *Kasetsart J. Nat. Sci*. 44: 142- 151.

- Karladeea, D., Suriyonga, S. 2012. Aminobutyric acid (GABA) content in different varieties of brown rice during germination. *J. Sci.* 38: 13–17.
- Kayahara, H., Takamura, M. (2003). *Surprising live germinated brown rice*. Tokyo: Shougakukan-Square Co.
- 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.
- Komatsuzaki, N., Tsukahara, K., Toyoshima, H., Suzuki, T., Shimizu, N., Kimura, T. 2007. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. *J. Food Eng.* 78: 556–560.
- Liu X, Wang Q, Haydar TF, Bordey A. (2005). Nonsynaptic GABA signaling in postnatal subventricular zone controls proliferation of GFAP - expressing progenitors. *Nature Neurosci.* 8: 1179–1187
- Maisont, S., Narkrugsa, W. (2010). The Effect of Germination on GABA Content, Chemical Composition, Total Phenolics Content and Antioxidant Capacity of Thai Waxy Paddy Rice. *Kasetsart J. (Nat. Sci.)* 44: 912–923.
- Oh, S. H., Soh, J. R., Cha, Y. S. 2003. Germinated brown rice extract shows a nutraceutical effect in the recovery of chronic alcohol-related symptoms. *J. Medicinal Food*.6: 115–121.
- Phattayakorn, K., Pajanyor, P., Wongtecha, S., Prommakool, A., Saveboworn, W. 2016. Effect of germination on total phenolic content and antioxidant properties of ‘Hang’ rice. *J. Food.* 23: 406-409.
- Pukdee, W., Kumar, N., Chaiwut, P., Sripisut, T. 2016. Development of riceberry extract for antioxidant activity. *MFUIC & KTCM*: 139- 146.
- Shi, H., Noguchi, N., Niki, E. 2001. Introducing natural antioxidant. In *Antioxidants in Food*. (Pokony, J., Nedyalka and Gordon, M., eds). p: 147-157. Woodhead publishing Ltd. Cambridge.

Thu Thao, L.N., Kim Thoa, D.T., Phuoc Thang, L., Ut Xi, T.T., Sao Mai, D., Ngoc Tram, N.T. 2015. Effect of ethanol on the anthocyanin extraction from the purple rice of Vietnam. J. Food and Nutrition Sci. 3: 45-48.

Ti, H., Zhang, R., Zhang, M., Li, Q., Wei, Z., Zhang, Y., Tang, X., Deng, Y., Liu, L., Ma, Y. 2014. Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. J. Food Chem. 161: 337-344.

ข้าวสังข์หยด ประโยชน์และสรรพคุณของข้าวสังข์หยด. ค้นหาเมื่อ 20 ตุลาคม 2560, สืบค้นจาก: <https://www.xn-12cgcxchd0a2gzc1c5d5a.net/%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7%E0%B8%AA%E0%B8%B1%E0%B8%87%E0%B8%82%E0%B9%8C%E0%B8%AB%E0%B8%A2%E0%B8%94/>

เจ้าของร้าน. ข้าวกล้องกับข้าวขาวมีประโยชน์แตกต่างกันอย่างไร. ค้นหาเมื่อ 6 มกราคม 2561, สืบค้นจาก: <http://b-natural.lnwshop.com/article/7/>

เจ้าของร้าน. ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว. ค้นหาเมื่อ 18 ตุลาคม 2560, สืบค้นจาก: <http://b-natural.lnwshop.com>

เอนก หาลี และบุญยกฤต รัตนพันธุ์. (2559). ผลของชนิดตัวทำละลายและความเข้มข้นของกรดซิตริกที่มีต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากข้าวหอมนิล. วารสารวิจัยและพัฒนา มจร. ปีที่ 39 ฉบับที่ 3

จักรพงษ์ โสวะพันธ์ กมลวรรณ แจ้งชัด พัทรี ตั้งตระกูล. (2556). ผลของสภาพการงอกต่อสมบัติความหนืดและปริมาณ GABA ของแป้งข้าวกล้องงอกที่ผลิตจากข้าวเปลือก. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จันทิมา นามโชติ ศศมล ผาสุข ปันณรัถัส ถกถกถกดี. (2556). ประสิทธิภาพของสารสกัดหยาบกิ่งมะขวิดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร ฉบับพิเศษ การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคล ครั้งที่ 5

จิราภรณ์ กระแสเทพ มาระตรี เปลียนศิริชัย มั่นทนา นครเรียบ. (2556). สารกาบา สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากข้าว. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี การประชุมวิชาการมหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 10

- บลินดา อินมณเฑียร. (2554). กินข้าวแดงช่วยป้องกันโรคเรื้อรัง. (2554). ค้นเมื่อ 16 ตุลาคม 2559, สืบค้นจาก : [http:// sangyodrice.blogspot.com/2011\\_01\\_09\\_archive.html](http://sangyodrice.blogspot.com/2011_01_09_archive.html)
- ประสิทธิ์ วังภคพัฒน์วงศ์. (2553). โภชนาการของข้าวและนวัตกรรมการใช้ประโยชน์. วารสารคลินิกอาหารและโภชนาการ (วคอก). พ.ศ. 2553 ปีที่ 4 ฉบับที่ 1
- พัชรารณณ์ รัตนธรรม ัญญา เลหากุลจิตต์ อรพิน เกิดชูชื่น. (2556). สารประกอบฟีนอลิกแอนโทไซยานินและสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องสีงอก. ว.วิทยาศาสตร์เกษตร ปีที่ 44. ฉบับที่ 2
- พิมพ์ สิทธิศักดิ์ พัชรี ชุมทอง นครเศ รังควัต. (2557). การผลิตและการตลาดข้าวสังข์หยดของเกษตรกรในจังหวัดพัทลุง. ภาควิชาการพัฒนาส่งเสริมและนิเทศศาสตร์เกษตร คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. แก่นเกษตร 42 ฉบับพิเศษ 1
- พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ นิธิยา รัตนานนท์. การสีข้าว. สืบค้นเมื่อ 9 มกราคม 2561, สืบค้นจาก: <http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/3644/%E0%B8%81%E0%B8%B2%E0%B8%A3%E0%B8%AA%E0%B8%B5%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2% E0%B8%A7-rice-milling>
- ภัสจันท์ หิรัญ อรพิน เกิดชูชื่น ัญญา เลหากุลจิตต์. (2558). อิทธิพลของกระบวนการทางชีวภาพที่ ส่งผลต่อการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องขาวดอกมะลิ 105 และข้าวฟ่างเฮกการี. หลักสูตรเทคโนโลยีชีวเคมี คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยพระจอมเกล้าธนบุรี. SDU Res. J. 8 (2)
- รัตนา อินทรานุปกรณ์. 2547. การตรวจสอบและการสกัดสารสำคัญจากสมุนไพรร. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ฤทัยรัตน์ สวัสดิวงศ์. (2552). ข้าวกล้องงอกจากข้าวพื้นเมืองภาคใต้ของไทย: สภาวะในการงอกและสมบัติการต้านออกซิเดชัน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์
- ลือชัย บุตุคูป. (2011). สารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ทางชีวภาพ. J Sci Technol MSU. Vol 31, No 4.
- วชิราภรณ์ ภักดี ถวนันท์ ศรีพิสุทธิ์. (2559). การพัฒนาสารสกัดจากข้าวไรซ์เบอร์รี่เพื่อเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ. สำนักงานวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง



- วรั้มพร วงศ์สุติน พัทธราภรณ์ รัตนธรรม ณีภูษา เลหากุลจิตต์ อรพิน เกิดชูชื่น. (2555). การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสำคัญในข้าวกล้องงอก. ว.วิทยาศาสตร์ เกษตร. ปีที่ 43 ฉบับที่ 2
- วีระชัย อุ่นสาคร. กาบในข้าวกล้องงอก. ค้นเมื่อ 15 พฤศจิกายน 2559, สืบค้นจาก: <http://www.patomsit.net/index.php?lay=show&ac=article&id=539239200>
- ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว. ค้นเมื่อ 18 ตุลาคม 2560, สืบค้นจาก: <http://narapimon.com/%E0%B8%AA%E0%B9%88%E0%B8%A7%E0%B8%99%E0%B8%9B%E0%B8%A3%E0%B8%B0%E0%B8%81%E0%B8%AD%E0%B8%9A%E0%B8%82%E0%B8%AD%E0%B8%87%E0%B8%95%E0%B9%89%E0%B8%99%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7/>
- สำเร็จ แซ่ตัน. (2550). ข้าวพันธุ์พื้นเมืองภาคใต้. กรมการข้าวสำนักวิจัยและพัฒนาข้าว ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง. ISBN 978-974-403-458-8
- สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. (2558). สถิติการเกษตรของประเทศไทยปี 2558
- สุนัน ปานสาคร และ จตุรงค์ ลังกาพินธุ์. (2556). พัฒนาระบบการผลิตผลิตภัณฑ์งอกร่วมกับการคั่วเพื่อเพิ่มมูลค่าผลผลิตทางการเกษตร. KHON KAEN AGR. J. 41 (3) : 305-316.
- สุนัน ปานสาคร จตุรงค์ ลังกาพินธุ์. (2556). ข้าวกล้องงอกทานง่ายได้ประโยชน์สูง. สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี
- สุพิศกานันท์ กัญญ์. (2557). การพัฒนาสารสกัดมาตรฐานจากเศษข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105 เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ. สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง
- อุไรวรรณ วัฒนกุล วัฒนา วัฒนกุล ชุตินุช สุจริต. (2556). ผลของอุณหภูมิในการแข่งงอกและหุงต้มต่อปริมาณไทอะมีน GABA จากสารต้านอนุมูลอิสระในข้าวมอลต์และข้าวกล้องงอกนึ่งสังขยดพัทลุง. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการประมง มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก สารฟลาโวนอยด์ สารกาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

### 1. การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-Ciocalteu Method ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Inchuen et al. (2010)

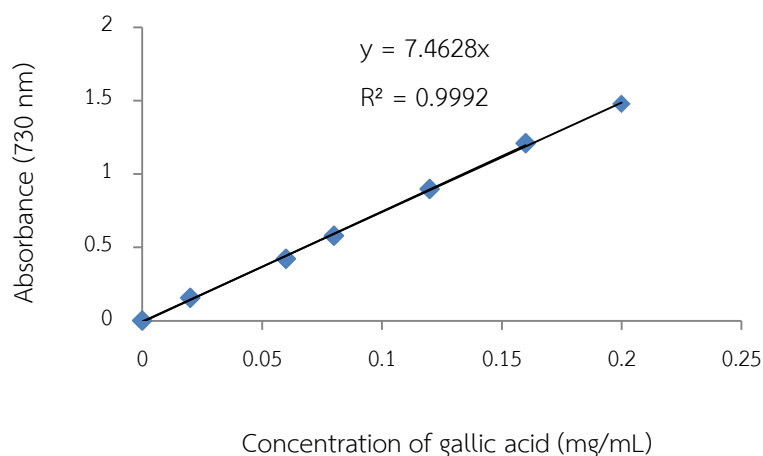
#### สารเคมีที่ใช้

Folin-Ciocalteu reagent

สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

#### การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้น 0.02, 0.06, 0.08, 0.12, 0.16 และ 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
3. เติมน้ำกลั่นปริมาตร 9.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
4. ปิเปต Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้สารผสมกันและตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา 5 นาที
5. ปิเปตสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าและเก็บไว้ในที่มืด 2 ชั่วโมง
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน แสดงดังภาพประกอบที่ ก-1 เพื่อใช้เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในสารตัวอย่าง



ภาพประกอบที่ ก-1 กราฟมาตรฐานกรดแกลลิกสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

#### การคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิกได้สมการเส้นตรง คือ  $y = 7.4628x$  แสดงการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของ gallic acid จากส่วนสกัดเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมงของข้าวสังข์หยดตอง โดยมี %yield = 6.56 สารสกัดปริมาณ 0.241 g ปรับปริมาตรในขวดวัดปริมาตร 25 ml มีค่า dilute factor = 20

$$\text{จากสมการ } y = 7.4628x$$

$$\text{แทนค่าดูดกลืนแสง } y = 0.8920$$

$$0.8920 = 7.4628x$$

$$x = 0.11955$$

ในส่วนสกัดของ 50% เอทานอล มีความเข้มข้นเทียบกับกรดแกลลิก เท่ากับ 0.11955 mg/ml

$$\begin{aligned} \text{คำนวณในหน่วย mg GAE/100 g rice} &= 0.1195 \text{ mg /mL} \times (25 \text{ mL}/0.241 \text{ g extract}) \times 20 \\ &\times 6.56 \text{ g extract}/100 \text{ g rice} \\ &= 1,627.00 \text{ mg GAE}/100 \text{ g rice} \end{aligned}$$

## 2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมด จากวิธีการของ Hu et al. (2016)

### สารเคมีที่ใช้

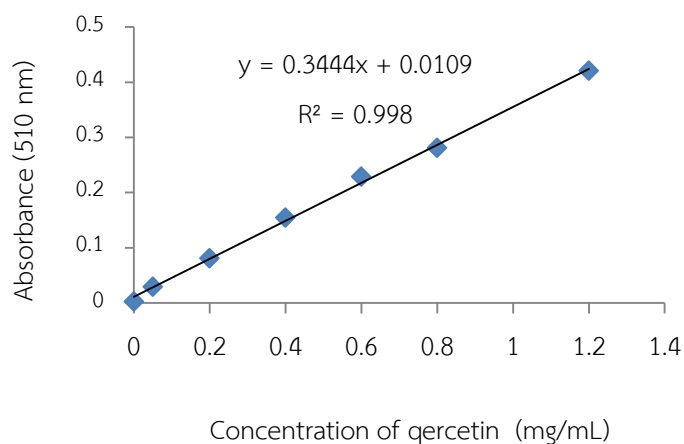
โซเดียมไนไตรท ( $\text{NaNO}_2$ )

อลูมิเนียมคลอไรด์ ( $\text{AlCl}_3$ )

และโซเดียมไฮดรอกไซด์

### การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายเคอซีติน

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานเคอซีตินความเข้มข้น 0.05, 0.20, 0.40, 0.60, 0.80 และ 1.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานเคอซีตินความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
3. ปิเปตสารละลาย  $\text{NaNO}_2$  ความเข้มข้นร้อยละ 5 ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าทิ้งไว้ 5 นาที
4. ปิเปตสารละลาย  $\text{AlCl}_3$  ความเข้มข้นร้อยละ 10 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร ทิ้งไว้ 5 นาที
5. ปิเปตสารละลาย  $\text{NaOH}$  ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1 มิลลิลิตรและน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที
6. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน แสดงตั้งภาพประกอบที่ ก-2 เพื่อใช้เปรียบเทียบปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในสารตัวอย่าง



ภาพประกอบที่ ก-2 กราฟมาตรฐานเคอซีตินสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์

### การคำนวณปริมาณสารฟลาโวนอยด์

จากกราฟมาตรฐานเคอซีตินได้สมการเส้นตรง คือ  $y = 0.3444x + 0.0109$  แสดงการคำนวณหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของ quercetin จากส่วนสกัดเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมงของข้าวสังข์หยดงอก

$$\text{จากสมการ } y = 0.3444x + 0.0109$$

$$\text{แทนค่าดูดกลืนแสง } y = 0.2717$$

$$0.2717 - 0.0109 = 0.3444x$$

$$x = 0.7573$$

ในส่วนสกัดของ 50% เอทานอล มีความเข้มข้นเทียบกับสารเคอซีติน เท่ากับ 0.7573 mg/mL

### 3. การวิเคราะห์หาปริมาณสารกาบา

การวิเคราะห์ปริมาณกาบา จากวิธีการของ Karladee and Suriyong (2012)

#### สารเคมีที่ใช้

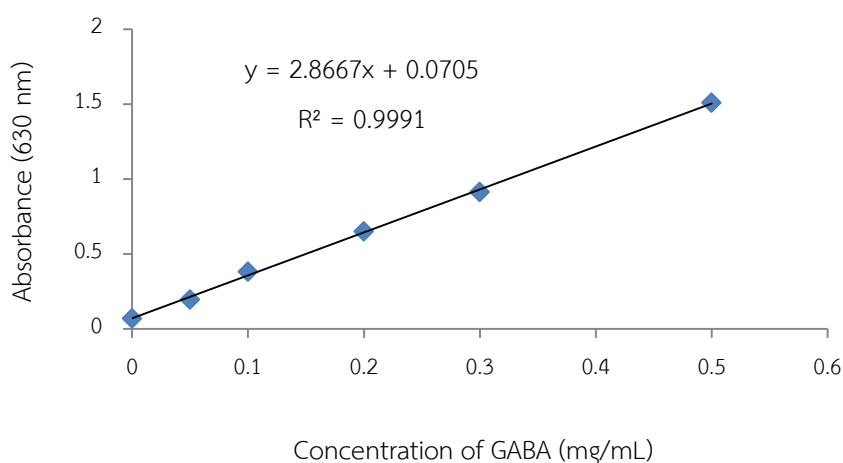
Borate buffer

Phenol reagent

Sodium hypochlorite (NaClO)

### การสร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกาบา

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.20, 0.30 และ 0.50 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร
2. ปิเปตสารละลายมาตรฐานกาบาความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
3. ปิเปตสารละลาย Borate buffer pH 9 ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตรและสารละลาย Phenol reagent ความเข้มข้นร้อยละ 6 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปแช่ในอ่างน้ำเย็นเป็นเวลา 10 นาที
4. NaClO ความเข้มข้นร้อยละ 7.5 ปริมาตร 0.8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันหลังจากนั้นนำไปต้มในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95-98 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาทีแล้วนำออกมาแช่ในอ่างน้ำเย็น 5 นาที
5. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer จากนั้นนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปสร้างกราฟมาตรฐาน แสดงดังภาพประกอบที่ ก-3 เพื่อใช้เปรียบเทียบปริมาณกาบาในสารตัวอย่าง



ภาพประกอบที่ ก-3 กราฟมาตรฐานกาบาสำหรับวิเคราะห์ปริมาณสารกาบา

### การคำนวณปริมาณสารกาบา

จากกราฟมาตรฐานกาบาได้สมการเส้นตรง คือ  $y = 2.8667x + 0.0705$   
แสดงการคำนวณหาปริมาณสารกาบา จากส่วนสกัดเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด  
1 ชั่วโมงของข้าวสังข์หยดงอก

$$\text{จากสมการ } y = 2.8667x + 0.0705$$

$$\text{แทนค่าดูดกลืนแสง } y = 0.1370$$

$$0.1370 - 0.0705 = 2.8667x$$

$$x = 0.0232$$

ในส่วนสกัดของ 50% เอทานอล มีความเข้มข้นเทียบกับสารกาบา เท่ากับ  
0.0232 mg/mL

### 4. การหาค่า $IC_{50}$

$$\text{จากสมการ } y = 17.754x - 36.476$$

$$\text{แทนค่า } y = 50, 50 = 17.754x - 36.476$$

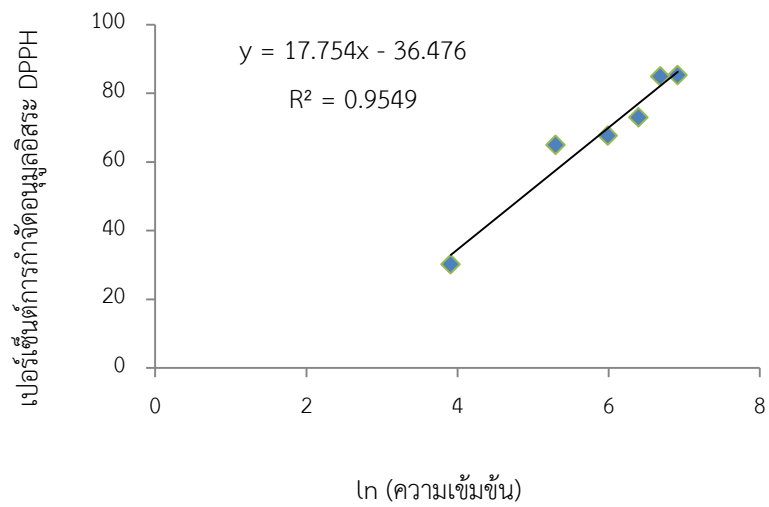
$$x = 4.870$$

$$x = \ln(\text{ความเข้มข้น}), \ln = x$$

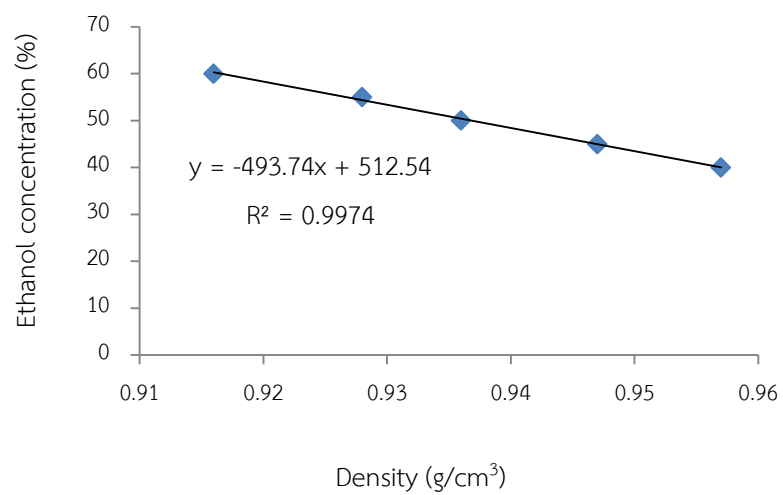
$$\text{ความเข้มข้นสาร} = e^x$$

ดังนั้น ความเข้มข้นสาร =  $130.35$  ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร =  $0.13$  มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร





ภาพประกอบที่ ก-4 กราฟสมการในการคำนวณ IC<sub>50</sub> สารสกัดเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 1 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อดัวทำละลาย 1:25 ของข้าวสังข์หยดดอก



ภาพประกอบที่ ก- 5 กราฟแสดงความหนาแน่นของเอทานอลที่ความเข้มข้นต่าง ๆ

**ภาคผนวก ข ข้อมูลดิบของการทดลอง**

ตารางที่ ข-1 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 0 ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

ครั้ง	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	0.228	0.145	0.535
2	0.225	0.147	0.571
3	0.250	0.144	0.538

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-2 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

ครั้ง	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	0.448	0.128	0.101
2	0.447	0.130	0.104
3	0.479	0.124	0.125

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-3 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดดอกที่เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 95 ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

ครั้งที่	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	0.228	0.209	0.535
2	0.225	0.206	0.570
3	0.249	0.205	0.510

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-4 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดดอกที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

ครั้งที่	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	0.837	0.258	0.138
2	0.901	0.259	0.135
3	0.937	0.237	0.137

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-5 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดดอกที่เวลาสกัด 2 ชั่วโมง ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

ครั้งที่	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	0.958	0.249	0.141
2	1.003	0.249	0.166
3	0.972	0.247	0.164

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-6 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดดอกที่เวลาสกัด 4 ชั่วโมง ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

ครั้ง	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	0.596	0.160	0.163
2	0.609	0.159	0.164
3	0.631	0.158	0.167

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-7 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดดอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:20 (g/mL) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

ครั้ง	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	1.108	0.258	0.144
2	1.071	0.259	0.148
3	1.125	0.237	0.144

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-8 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดดอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:25 (g/mL) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

ครั้ง	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	1.166	0.533	0.133
2	1.113	0.533	0.133
3	1.177	0.537	0.135

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-9 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกที่ขนาดข้าวบด 70 mesh อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

ครั้ง	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	1.381	0.281	0.190
2	1.407	0.281	0.190
3	1.390	0.292	0.190

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-10 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดงอกในการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ที่ขนาดข้าวบด 70 mesh อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

ครั้ง	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	1.211	0.403	0.190
2	1.199	0.360	0.190
3	1.155	0.406	0.190

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-11 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านกระบวนการงอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

ครั้ง	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	0.827	0.159	0.100
2	0.807	0.151	0.100
3	0.827	0.110	0.100

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-12 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณปริมาณสารสำคัญของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

ครั้ง	Absorbance		
	TPC	TFC	GABA
1	0.901	0.197	0.105
2	0.904	0.197	0.109
3	0.910	0.164	0.100

หมายเหตุ TPC = Total phenolic content, TFC = Total flavonoid content

ตารางที่ ข-13 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณ  $IC_{50}$  ของข้าวสังข์หยดงอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

Concentration (mg/mL)	Absorbance		
	1	2	3
0.05	0.154	0.153	0.153
0.2	0.096	0.094	0.096
0.4	0.054	0.054	0.054
0.6	0.043	0.043	0.042
0.8	0.032	0.032	0.031
1.0	0.038	0.038	0.038

ตารางที่ ข-14 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณ  $IC_{50}$  ของข้าวสังข์หยดที่ไม่ผ่านกระบวนการงอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

Concentration (mg/mL)	Absorbance		
	1	2	3
0.05	0.560	0.560	0.560
0.2	0.444	0.443	0.443
0.4	0.400	0.401	0.400
0.6	0.329	0.330	0.330
0.8	0.192	0.192	0.192
1.0	0.133	0.133	0.133

ตารางที่ ข-15 ข้อมูลค่าการดูดกลืนแสงก่อนการคำนวณ  $IC_{50}$  ของข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอกที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

Concentration (mg/mL)	Absorbance		
	1	2	3
0.05	0.477	0.477	0.477
0.2	0.371	0.371	0.371
0.4	0.276	0.278	0.277
0.6	0.210	0.210	0.211
0.8	0.182	0.183	0.182
1.0	0.141	0.141	0.141

ตารางที่ ข-16 ปริมาณสารสกัดของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับความเข้มข้นของเอทานอล ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

Ethanol concentration	Yield (%)
0%	10.26
50%	6.26
95%	2.77

ตารางที่ ข-17 ปริมาณสารสกัดข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับเวลาในการสกัด ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

Time (h)	Yield (%)
0.5	6.56
1	6.26
2	7.75
4	4.97



ตารางที่ ข-18 ปริมาณสารสกัดของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

Rice to solvent ratio (g/mL)	Yield (%)
1:10	6.15
1:15	6.56
1:20	6.43
1:25	7.09

ตารางที่ ข-19 ปริมาณสารสกัดของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับขนาดของข้าวบด ด้วยเอทานอลเข้มข้น ร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

Size of rice (mesh)	Yield (%)
40	6.56
70	6.60

ตารางที่ ข-20 ปริมาณสารสกัดของข้าวสังข์หยดงอกในการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ ด้วย เอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) ขนาดข้าว 70 mesh

Number of recovery (time)	Density (g/cm <sup>3</sup> )	Solvent recovery (%)	Yield (%)
0	0.936	86.33	6.60
1	0.940	87.33	6.45

ตารางที่ ข-21 ปริมาณสารสกัดข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

Rice cultivars	Yield (%)
Sangyod	2.25
Germinated- Sangyod	6.56
Riceberry	2.65

ตารางที่ ข-22 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับความเข้มข้นของเอทานอล ที่เวลาสกัด 1 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15

Ethanol concentration	TPC (mg /100 g rice)	TFC (mg /100 g rice)	GABA (mg /100 g rice)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
0%	1,314.41±8.16 <sup>b</sup>	359.71±1.96 <sup>a</sup>	3.90±0.45 <sup>c</sup>	1.62±0.02 <sup>c</sup>
50%	1,469.60±32.95 <sup>a</sup>	417.23±7.14 <sup>a</sup>	10.45±1.98 <sup>b</sup>	0.21±0.01 <sup>a</sup>
95%	421.43±13.31 <sup>c</sup>	115.79±1.19 <sup>b</sup>	21.52±0.84 <sup>a</sup>	0.71±0.01 <sup>b</sup>

(Mean ± SD; n = 3) ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ); TPC = Total phenolic content TFC = Total flavonoid content และ IC<sub>50</sub> = Inhibitory Concentration หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ข-23 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวสังข์หยด  
 งดเทียบกับเวลาในการสกัด ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15  
 (g/mL)

Time (h)	TPC (mg /100 g rice)	TFC (mg /100 g rice)	GABA (mg /100 g rice)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
0.5	1,627.00±53.08 <sup>b</sup>	559.50±18.88 <sup>a</sup>	9.97±0.17 <sup>a</sup>	0.16±0.01 <sup>a</sup>
1	1,469.60±32.95 <sup>c</sup>	417.23±7.14 <sup>c</sup>	10.45±1.98 <sup>a</sup>	0.21±0.02 <sup>b</sup>
2	1,848±19.65 <sup>a</sup>	535.52±4.95 <sup>b</sup>	8.68±0.21 <sup>a</sup>	0.20±0.01 <sup>b</sup>
4	948.13±28.51 <sup>d</sup>	275.59±1.91 <sup>d</sup>	7.21±0.35 <sup>a</sup>	0.86±0.02 <sup>c</sup>

(Mean ± SD; n = 3) ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมี  
 นัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ); TPC = Total phenolic content TFC = Total flavonoid  
 content และ IC<sub>50</sub> = Inhibitory Concentration หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง  
 อนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ข-24 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวสังข์หยด  
 งดเทียบกับอัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง

Rice to solvent ratio (g/mL)	TPC (mg GAE/100 g rice)	TFC (mg QE/100 g rice)	GABA (mg GABA/100 g rice)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
1:10	1,162.72±8.95 <sup>d</sup>	403.69±1.41 <sup>d</sup>	6.09±0.09 <sup>d</sup>	0.53±0.01 <sup>d</sup>
1:15	1,627.00±53.08 <sup>b</sup>	559.50±17.06 <sup>c</sup>	9.97±0.17 <sup>b</sup>	0.16±0.01 <sup>b</sup>
1:20	1,533.81±22.04 <sup>c</sup>	617.02±18.88 <sup>b</sup>	9.00±0.04 <sup>c</sup>	0.22±0.03 <sup>c</sup>
1:25	2,093.18±35.69 <sup>a</sup>	785.86±2.66 <sup>a</sup>	12.34±0.09 <sup>a</sup>	0.13±0.02 <sup>a</sup>

(Mean ± SD; n = 3) ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมี  
 นัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ); TPC = Total phenolic content TFC = Total flavonoid

content และ  $IC_{50}$  = Inhibitory Concentration หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้งอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ ข-25 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวสังข์หยดงอกเทียบกับขนาดของข้าวบด ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

Size of rice (mesh)	TPC (mg/100 g rice)	TFC (mg/100 g rice)	GABA (mg/100 g rice)	$IC_{50}$ (mg/mL)
40	1,627.00±53.08	559.50±17.06	9.97±0.17	0.16±0.01
70	1,860.87±10.04	516.92±5.71	9.80±0.01	0.25±0.04

(Mean ± SD; n = 3)

ตารางที่ ข-26 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวสังข์หยดงอกในการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL) ขนาดข้าว 70 mesh

Number of recovery (time)	TPC (mg GAE/100 g rice)	TFC (mg QE/100 g rice)	GABA (mg GABA/ 100 g rice)	$IC_{50}$ (mg/mL)
0	1,860.87± 10.04	516.92± 5.71	9.80± 0.01	0.25± 0.04
1	1,553.42± 22.16	537.85± 20.77	9.80± 0.01	0.40± 0.01

(Mean ± SD; n = 3)

ตารางที่ ข-27 ปริมาณสารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวสังข์หยด  
งอกเทียบกับข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50  
เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง ที่อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/mL)

Rice cultivars	TPC (mg /100 g rice)	TFC (mg /100 g rice)	GABA (mg /100 g rice)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
Sangyod	689.71±4.95 <sup>b</sup>	171.48±10.72 <sup>b</sup>	1.76±0.03 <sup>b</sup>	0.54±0.02 <sup>c</sup>
Germinated- Sangyod	1,627.00±53.08 <sup>a</sup>	559.50±17.06 <sup>a</sup>	9.97±0.17 <sup>a</sup>	0.16±0.01 <sup>a</sup>
Riceberry	711.45±3.34 <sup>b</sup>	234.73±30.57 <sup>b</sup>	1.72±0.01 <sup>b</sup>	0.32±0.01 <sup>b</sup>

(Mean ± SD; n = 3) ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมี  
นัยสำคัญทางสถิติ ( $p < 0.05$ ); TPC = Total phenolic content TFC = Total flavonoid  
content และ IC<sub>50</sub> = Inhibitory Concentration หมายถึง ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์ยับยั้ง  
อนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์

ภาคผนวก ค บทความที่เผยแพร่ในงานประชุมวิชาการระดับนานาชาติ

**Proceedings**

**ITIChE 2017**  
**TIChE 2017**

**October 18 - 20, 2017**

**Shangri-La hotel**  
**Bangkok, Thailand**

The 7<sup>th</sup> International Thai Institute of Chemical Engineering and Applied Chemistry Conference 2017 (ITIChE 2017) and  
The 27<sup>th</sup> National Thai Institute of Chemical Engineering and Applied Chemistry Conference 2017 (TIChE 2017)

**Organized by**  
**Department of Chemical Engineering**  
**King Mongkut's University of Technology Thonburi**



## SOLVENT EXTRACTION OF ACTIVE INGREDIENTS FROM GERMINATED SANGYOD RICE

Nirana Chairerk<sup>1</sup>, Prukraya Pongyeela<sup>2</sup> and Juntima Chungsiriporn<sup>\*3</sup>

Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Prince of Songkla University, Hat Yai, Songkhla, 90112, Thailand.

<sup>1</sup> nirana\_1234@hotmail.com

<sup>2</sup> prukraya.a@hotmail.com

<sup>\*3</sup> juntima.c@psu.ac.th

**Abstract** : Sangyod rice is one of special red rice, originally planted in Pattalung province. This kind of rice gives more nutrients and antioxidants. It is well known that germinated rice is considered to be a functional rice product which has high content of phytochemicals. Then, this research aimed to study in germinated Sangyod rice production and follow by solvent extraction to produce total phenolic and GABA. The germinated Sangyod rice was produced by soaking and sprouting at room temperature for 24 h and 60 h, respectively. In solvent extraction process, ethanol with concentration of 50, 70, and 95% was used. The ratio of rice : solvent (w/v) were controlled at 1:15. The effectiveness of total phenolics and GABA content was measured by the UV-vis spectrophotometer. The results showed that the extract from germinated Sangyod rice has higher content of total phenolic and GABA than non-germinated and Dawk Mali rice. The using of 50% ethanol exhibited highest total phenolic of 849.06±41.59 mg gallic/100 g rice and 95% ethanol exhibited highest GABA content of 21.19±0.06 mg GABA/100 g rice. The results of this study can provide new opportunities to promote Sangyod rice growers and value added the rice product.

**Keywords**: Sangyod rice, solvent extraction, GABA, germination, phenolic

### INTRODUCTION

Sangyod rice sources of many bioactive compounds including phenolic,  $\gamma$ -aminobutyric acid and oryzanol make people who usually take to be less chance of getting cancer diseases. Phenolic compounds commonly present in whole grains are phenolic acids and flavonoids (Al-Farsi et al., 2008). Gamma-aminobutyric acid (GABA) is a non-protein amino acid that acts as the main inhibitory neurotransmitter in the mammalian cortex since it was first discovered as an integral part of the mammalian central nervous system. Furthermore,

GABA has other physiological functions in human and other vertebrates, such as blood vessels strengthening, modulation of insulin secretion, prevention of blood cholesterol amplification, alleviation of emotional unrest, and protection from chronic alcohol-related diseases (Kawabata et al., 1999; Oh, Soh, & Cha, 2003).

Sangyod is a local rice of Phatthalung province, Thailand. In 2006, sangyod rice was certified by Geographical Indications Protection Act 2003 in the product of Geographical Indication GI rice under the name of "SANGYOD MUANG PHATTHALUNG". In 2012, farmers in Phatthalung province cultivated Sangyod rice of 14,687.25 rai with average yield of 465.14 kilograms per rai. In 2014, there are only 3,735.50 rai for plantation (Agricultural statistics of Thailand, 2015). It can be seen that Sangyod rice has decreased in planting area because the average selling price and yield per rai are lower than other rice. Sangyod rice has high nutritious, therefore the value added by developing to be agricultural commodities should be a positive value.

Germination of rice is a metabolic process that may induce changes in the bioactive components (Dong-Hwa et al., 2015) and has high content of phytochemicals. Germinated brown rice has shorter cooking time, softer texture and higher nutrition (Komatsuzaki et al., 2007), which may have the effect of raising the GABA content and phenolic. However, many factors have effected in total phenolic content such as extraction methods, solvent, growing conditions and germination time (Ti et al., 2014).

Solvent extraction is recommended as a suitable method to extract active ingredients from rice. Mixture of ethanol and water at various ratios is commonly used to study for the extraction of antioxidants from rice (Wachiraporn et al., 2012). Solvent extraction has low production costs compared with other extraction methods. It is also,

The 7th International TIChE Conference (ITIChE 2017)  
 "Innovative Chemical Engineering and Technology toward a Sustainable Future"  
 Shangri-La Hotel, Bangkok, Thailand, October 18-20, 2017



guidelines for adding value to agricultural products and can be used in the food industry.

Therefore, the aims of this research were to study in production of germinated Sangyod rice and extraction of bioactive compounds from the rice. Solvent extraction using ethanol and water was applied in the extraction process. To evaluate the effect of germination and concentration of ethanol on extract properties, total phenolic and GABA content were measured.

## EXPERIMENTAL

### Materials

Sangyod rice was harvested from Amphoe Singhanakhon in 2016. After sun drying to the moisture content less than 14%, the grain was put in a tight plastic bag at room temperature for about 3 months before germination. Chemical reagents, such as Folin-Ciocalteu reagent, sodium carbonate, GABA reagent, gallic acid, phenol reagent, borate buffer and ethanol were purchased from U&V Holding (Thailand) CO., LTD.

### Preparation of germinated Sangyod rice

The germinated Sangyod rice was prepared by using the method reported by Hu et al. (2016) with modification. Sangyod paddy rice washed by distilled water, and soaked in distilled water for 24 h to saturate moisture content. Then, the soaked rice was sprouted for 60 h in the darkness at room temperature, the germinated Sangyod rice were dried at 40°C for 24 h until the moisture content reduced to less than 14%. Germinated Sangyod rice were dehusked and grounded by a mill and passed through 40 mesh sieve. All samples stored in desiccator prior to analysis.

### Extraction

Rice flour from Sangyod rice and germinated brown rice were used as raw material in extraction process. 200 g of rice flour was extracted twice with solvent at concentration of 50%, 70% and 95% ethanol and a ratio of rice to solvent at 1:15 (w/v). For each extraction the mixture of rice and solvent was kept on a mechanical shaker for 1 h at 200 rpm at room temperature. After centrifuging at 4000 rpm for 5 min, the supernatants obtained from each extraction were collected and combined together. Concentrated the extracts using a rotary evaporator at 40°C was performed. The extracts were kept at 4°C for analysis.

### Determination of total phenolic content

The content of free phenolics in the mixture was evaluated by using the Folin-Ciocalteu method (Inchuen et al., 2010). 0.5 mL of the diluted extracts were mixed with 9.5 mL of distilled water, 0.5 mL of Folin-Ciocalteu reagent. After reacting for 5 min, 2 mL of 10% sodium carbonate was added. Continue reacting for 2 h, the absorbance of the mixture was measured at 730 nm. Gallic acid is used as the standard compound for calibration. Results were expressed in the unit of mg of gallic acid per 100 g of rice on a dry weight basis.

### Determination of GABA content

The analysis of GABA content was performed by using the method reported by Karladee and Suriyong, (2012) with modification. 0.4 mL of the filtrate was collected to which was added 0.4 mL of borate buffer (pH 9.0), 2 mL of 6% phenol and 0.8 mL of 7.5% sodium hypochlorite. After intensive oscillation, the mixture was put in ice bath water for 10 min, and then put in boiling water bath for 10 min. Finally, put in ice bath water for 5 min, and the sample was analyzed absorbance at 630 nm wavelength, with ethanol as a blank. GABA content of sample was determined by a relationship between absorption value and standard GABA content.

### Statistical analysis

All parameters were measured in triplicate, and presented on a dry basis as  $\pm$  means standard deviation (SD). Data analysis was performed with SPSS program, using ANOVA, followed by Duncan multiple comparison tests. Statistical significance was defined at level of  $P < 0.05$ .

## RESULTS AND DISCUSSION

### 1. The effect of germination

The result of total phenolic and GABA content of Sangyod, Riceberry and Dawk Mali rice and germinated Sangyod rice by 95% ethanol extraction are shown in Table 1. The result shows that germinated Sangyod rice can get high yield with the value of 1.99% closely to Riceberry extract. Moreover, the ethanolic extract of Sangyod rice contained the highest of phenolic content comparing to Riceberry and Dawk Mali. In the other hand, the Riceberry has very high content of GABA with the value of  $45.87 \pm 0.92$  mg GABA/100 g rice. Both of total phenolic and GABA content are significantly increased according to germination performing. The germination of Sangyod rice can increase the total phenolic content from  $304.99 \pm 7.07$  to  $417.03 \pm 7.08$  mg of gallic acid equivalents per 100 g of rice.



The 7th International TIChE Conference (ITIChE 2017)  
 "Innovative Chemical Engineering and Technology toward a Sustainable Future"  
 Shangri-La Hotel, Bangkok, Thailand, October 18-20, 2017



While the GABA content of Sangyod rice and germinated Sangyod rice increased from  $12.39 \pm 0.50$  to  $21.19 \pm 0.06$  mg GABA/100 g rice, respectively, which corresponds to Warumporn et al. (2012)

phenolic and gamma aminobutyric acid (GABA) of germinated brown rice were increased at 1-4 times compared with brown rice.

**Table 1.** Total phenolic and GABA profiles in ethanolic extract of Sangyod, Riceberry and Dawk Mali rice comparing to Germinated Sangyod rice.

Rice extract	% Yield	Contents of total phenolic (mg gallic/100 g rice)	Content of GABA (mg GABA/100 g rice)
Sangyod	1.70	$304.99 \pm 7.07^b$	$12.39 \pm 0.50^c$
Riceberry	2.01	$208.62 \pm 1.57^c$	$45.87 \pm 0.92^d$
Dawk Mali	0.58	$22.84 \pm 1.37^d$	$1.89 \pm 0.14^d$
Germinated Sangyod	1.99	$417.03 \pm 7.08^a$	$21.19 \pm 0.06^b$

Values are mean  $\pm$  SD of 3 replicates. Different small letters in the same items indicate a significant difference ( $p < 0.05$ )

Germination can increase total phenolic and GABA content in rice because of the changing in chemical compounds and bioactive compounds in rice during germination (Phattayakorn et al., 2016). Grains of rice are soaked during germination process, imbibition is begun, respiration is accelerated, which further stimulates the metabolism of amino acids, resulting in the formation of enzyme systems. Amino acid and glucosidase such as GABA and phenolic compound is also synthesized. Therefore, germinated Sangyod rice is the most valuable source to obtain total phenolic and GABA in extracted product.

## 2. Extraction yields

The effect of solvent concentrations on the extraction yields of germinated rice are presented in Table 2. 50% ethanol presented significantly highest of yield with the value of 3.65% whereas 95% ethanol was showed the lowest of yield with the value of 1.99% that related with the studied of Wachiraporn et al. (2016). The result showed the yield of extraction depends on the solvent concentration. The mixing of ethanol and water facilitates all extract compounds to dissolve in the extraction process.

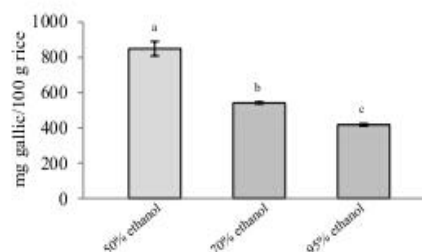
**Table 2.** The solvent concentration affected to the ability of the germinated rice extraction yields

Solvent	% Yield
50% ethanol	3.65
70% ethanol	2.89
95% ethanol	1.99

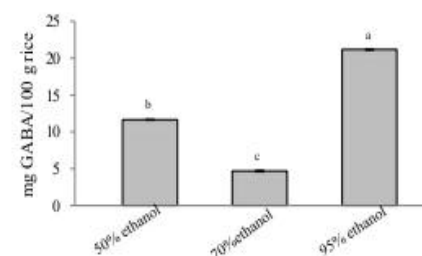
## 3. Effect of extraction on phytochemicals profiles

Comparing result of the phenolic and GABA profiles of the germinated Sangyod rice at various solvent concentrations are presented in Fig. 1 and Fig. 2, respectively. The result showed that the 50%

ethanol obtained the highest total phenolic content with value of  $849.06 \pm 41.59$  mg gallic/100 g rice. That is because of the 50% ethanol has highly polarity than 95% ethanol and phenolic compounds are polarity. So phenolic can be better dissolved in 50% ethanol than 95% ethanol. In contrast to the 95% ethanol gave low yield but obtained the highest GABA content with value of  $21.19 \pm 0.06$  mg GABA/100 g rice more than 50% ethanol. This may be attributable to the higher solubility of GABA in pure ethanol than ethanol : water mixture.



**Figure 1.** Total phenolic content of germinated Sangyod rice with different solvent concentration.



**Figure 2.** GABA content of germinated Sangyod rice with different solvent concentration.

The 7th International TIChE Conference (ITIChE 2017)  
 "Innovative Chemical Engineering and Technology toward a Sustainable Future"  
 Shangri-La Hotel, Bangkok, Thailand, October 18-20, 2017



These studies showed the different concentration of ethanol obtained different total phenolic, depend on polarity of the solvent and compound that related with the studied of Rutairat (2009). 50% ethanolic extracts sample in Sangyod rice and germinated Sangyod rice were higher than those of water and 95% ethanolic extracts may be caused the solubility of phenolic compounds is governed by the type polarity of solvent. Therefore the solvent has highly polarity suitable for the phenolic extraction. Under the same time extraction using 50% ethanol can be reduced costs of extraction and safety than using 95% ethanol.

### CONCLUSIONS

Germination affected to the content of biologically active compounds of Sangyod rice. Total phenolics and GABA were increased during germination. The optimum condition of solvent extraction for germinated Sangyod rice in this study was 50% ethanol and a ratio of rice to solvent at 1:15 (w/v). Total phenolic content and GABA content were derived at 849.06±41.59 mg gallic/100 g rice and 11.65±0.06 mg GABA/100 g rice, respectively. The ethanolic extract of germinated Sangyod rice contained the highest of phenolic content comparing to Riceberry and Dawk Mali. The findings of the present study suggest that the germinated Sangyod extracts possess high antioxidant potential and could thus be potential sources of natural antioxidants, especially phenolic compound.

### ACKNOWLEDGEMENTS

The authors are grateful to the PSU Research Fund for financial support. The authors also appreciate kind support from the Department of Chemical Engineering, Faculty of Engineering, Prince of Songkla University.

### REFERENCES

- [1] Agricultural statistics of Thailand, Office of agricultural economics, (2015) ISSN 0857-6610.
- [2] C. Dong-Hwa and L. Seung-Taik, Germinated brown rice and its bio-functional compounds, *Journal of Food Chemistry*, 196(2016) 259–271.
- [3] D. Karladeea, and S. Suriyonga, Aminobutyric acid (GABA) content in different varieties of brown rice during germination, *ScienceAsia*, 38(2012) 13–17.
- [4] H. Ti, R. Zhang, M. Zhang, Q. Li, Z. Wei, Y. Zhang, X. Tang, Y. Deng, L. Liu and Y. Ma, Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at

different germination stages, *Food Chemistry*, 161(2014) 337-344.

- [5] I. Balinda, Sangyod GI rice, Available at : <http://sangyod-rice.blogspot.com/2010/07/sang-yod-gi-rice-phatthalung-province.html>, 2010.
- [6] K. Phattayakorn, P. Pajanyor, S. Wongtecha, A. Prommakool and W. Saveboworn, Effect of germination on total phenolic content and antioxidant properties of 'Hang' rice, *International Food Research Journal*, 23(2016) 406-409.
- [7] M.A. Al-Farsi and C.Y. Lee, Optimization of phenolic and dietary fiber extraction from date seeds, *Food Chem*, 108 (2008) 977-985.
- [8] N. Komatsuzaki, K. Tsukahara, H. Toyoshima, T. Suzuki, N. Shimizu and T. Kimura, Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice, *Journal of Food Engineering*, 78 (2007) 556–560.
- [9] P. Wachiraporn, K. Naphatsorn, C. Phanuphong and S. Tawanun, Development of riceberry extract for antioxidant activity, *MFUIC & KTCM* (2016) 139-146.
- [10] S. H. Oh, J. R. Soh and Y. S. Cha, Germinated brown rice extract shows a nutraceutical effect in the recovery of chronic alcohol-related symptoms, *Journal of Medicinal Food*, 6(2003) 115–121.
- [11] S. Inchue, W. Narkrugsa and P. Pornchaloempong, Effect of drying methods on chemical composition, color and antioxidant properties of Thai red curry powder, *Kasetsart Journal of Natural Science*, 44(2010) 142- 151.
- [12] S. Rutairat, Germinated brown rice of indigenous southern Thai rice cultivars: Germinated condition and antioxidant properties, *Food science and Technology*, Prince of Songkla University, 2009, p. 39-57.
- [13] V. Warumporn, R. Patcharaporn, L. Natha and K. Orapin, Change of bioactive compounds in germinated rice, *Agricultural Sci. J.*, 43(2012) 553-556.
- [14] Z. Hu, X. Tang, J. Liu, Z. Zhu and S. Shao, Effect of parboiling on phytochemical content, antioxidant activity and physicochemical properties of germinated red rice, *Journal of Food Chemistry*, 214(2016) 285-292.

