



ผลของคลื่นอัลตราโซนิกและรังสีอัลตราไวโอเลตต่อปริมาณสารประกอบ
พอลิฟีนอลและสมบัติต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1

ฉัตรชญา แก้วเมืองมา

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของความสมบูรณ์ของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยแม่โจ้



ใบรับรองวิทยานิพนธ์

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยแม่โจ้

ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร

ชื่อเรื่อง

ผลของคลื่นอัลตราโซนิกและรังสีอัลตราไวโอเลตต่อปริมาณสารประกอบ

พอลิฟีนอลและสมบัติต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดกล้ายาวพันธุ์สุโขทัย 1

โดย

ฉัตรฐา แก้วเมืองมา

พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก

จ.ม.

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุธยา พิมพ์พิไล)

วันที่ 5 เดือน ก.พ. พ.ศ. 57

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.สมเดช ศรีชัยรัตนกุล)

วันที่ 5 เดือน ก.พ. พ.ศ. 57

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

J.ม.

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ จตุรงค์กล้าเลิศ)

วันที่ 5 เดือน ก.พ. พ.ศ. 57

ประธานอาจารย์ประจำหลักสูตร

ร.พ.ท. แดง

(รองศาสตราจารย์ ดร.วิจิตรา แดงปรก)

วันที่ 5 เดือน ก.พ. พ.ศ. 57

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

ร.พ.ท. แดง

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.จาดุพงศ์ วาฤทธิ)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ 5 เดือน ก.พ. พ.ศ. 57

ชื่อเรื่อง	ผลของคลื่นอัลตราโซนิกและรังสีอัลตราไวโอเลตต่อปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลและสมบัติด้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1
ชื่อผู้เขียน	นางสาวฉัตรชญา แก้วเมืองมา
ชื่อปริญญา	วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก	การอาหาร ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรยา พิมพ์พิไล

บทคัดย่อ

กล้าข้าวสดมีสมบัติด้านอนุมูลอิสระของสารประกอบพอลิฟีนอลต่างๆ และสารอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการ แต่คุณค่าเหล่านั้นมักสูญเสียไปในระหว่างการเก็บรักษา การคงไว้หรือทำให้เกิดการสูญเสียน้อยที่สุดทางหนึ่งคือการแปรรูปให้อยู่ในรูปของสารสกัด การนำเทคโนโลยีคลื่นอัลตราโซนิกและรังสีอัลตราไวโอเลตร่วมกับตัวทำละลายที่อุณหภูมิต่างๆ ในการสกัดเป็นแนวทางที่คาดว่าจะสามารถเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารสกัดจากกล้าข้าวได้ โดยกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ได้ถูกเลือกให้เป็นวัตถุดิบสำหรับการศึกษานี้ จากการศึกษาพบว่า การผลิตสารสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับเอทานอล 95% ส่งผลต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล และปริมาณคลอโรฟิลล์มากกว่าการสกัดด้วยวิธีแบบเขย่าร่วมกับการใช้ตัวทำละลายอื่นๆ ($p < 0.05$) ในการศึกษาความถี่ที่เหมาะสมของคลื่นอัลตราโซนิกต่อการสกัดพบว่าคลื่นความถี่ที่ 28kHz หรือ 45kHz ร่วมกับเอทานอล 95% ส่งผลต่อสมบัติการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าคลื่นความถี่ที่ 100kHz ($p < 0.05$) จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัดพบว่า การสกัดที่อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที โดยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยในการสกัดเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัด อย่างไรก็ตามการให้รังสีอัลตราไวโอเลตแก่กล้าข้าวสดก่อนการสกัดมีผลให้สมบัติการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล รวมทั้งปริมาณคลอโรฟิลล์ในสารสกัดมีแนวโน้มลดลงเมื่อระยะเวลาการให้รังสีอัลตราไวโอเลตเพิ่มขึ้น สารสกัดที่ได้จากสภาวะการสกัดข้างต้นได้นำมาตรวจวิเคราะห์หาชนิดของสารประกอบในกลุ่มฟีนอลโดยใช้เทคนิค HPLC ซึ่งพบว่ามีสารประกอบในกลุ่มคาเทชินเป็นองค์ประกอบ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร Epicatechin (EC) สภาวะการสกัดที่ดีที่สุดสำหรับสมบัติด้านอนุมูลอิสระนี้จะเป็พื้นฐานในการผลิตสารสกัดจากกล้าข้าวสดต่อไป

Title	Effects of Ultrasonic Waves and Ultraviolet Radiation on Polyphenol Contents and Antioxidant Properties from Rice Seedling Extracts (var. Sukhothai 1)
Author	Miss Chatchada Kaewmuangma
Degree of	Master of Science in Food Science and Technology
Advisory Committee Chairperson	Assistant Professor Suthaya Phimphilai, Ph. D.

ABSTRACT

Fresh rice seedlings contain antioxidant characteristics mainly from phenolic compounds of various nutrients. However, those benefits decrease during storage. In this study that aimed to maintain or minimize the loss, rice seedlings were preserved in an extract from ultrasonic waves and ultraviolet radiation under solvents which were expected to enhance extraction yields from rice seedlings. The rice seedlings (var. Sukhothai 1) were chosen as raw material for this study. Results showed that ultrasonic wave extraction in 95% ethanol increased antioxidant properties, polyphenol contents and chlorophyll contents in comparison to shaking ($p<0.05$). In addition, ultrasonic waves at frequencies of 28kHz and 45kHz with 95% ethanol resulted in higher antioxidant properties over 100kHz ($p<0.05$). Ultrasound-assisted extraction at 98°C for 120 minutes was found to be an optimum condition for extraction. However, irradiation of rice seedlings of ultraviolet rays before extraction tended to lower antioxidant properties, polyphenol contents and chlorophyll contents. The rice seedling extracts were then analyzed for types of phenolic compounds using HPLC. Catechins, more specifically epicatechin (EC), were identified. The optimum extraction conditions for the highest antioxidant characteristic could be used in further scale-up process for fresh rice seedling extraction.

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรยา พิมพ์พิไล ประธานกรรมการที่ปรึกษา ที่กรุณาให้ความรู้ คำปรึกษา แนะนำ และช่วยแก้ไขปัญหาดังกล่าว ในระหว่างการทำวิจัยครั้งนี้ ตลอดจนการช่วยตรวจสอบแก้ไขจนกระทั่งงานวิจัยเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.สมเดช ศรีชัยรัตนกุล และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สมเกียรติ จตุรงค์กล้าเลิศ อาจารย์ที่ปรึกษา ที่ได้ให้คำปรึกษาและแนะนำในการทำวิจัย ตลอดจนช่วยตรวจสอบแก้ไขงานวิจัยให้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณคณาจารย์สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร และสาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ตลอดจนภาควิชาชีวเคมี คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ทุกท่าน ที่อำนวยความสะดวกด้านสถานที่วัสดุอุปกรณ์ และเครื่องมือในการดำเนินการทดลอง ขอขอบคุณบริษัทข้าวธรรมชาติ จำกัด จังหวัดสุโขทัย ที่ช่วยสนับสนุนทุนการศึกษาและวัตถุดิบในการทำวิจัยครั้งนี้จนสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ คุณแม่ศรีวรรณ เตปินตา คุณป้ากันยา ใจกันธิยะ รวมถึงบุคคลในครอบครัวข้าพเจ้าที่ได้ส่งเสริมสนับสนุนทุนการศึกษา ตลอดจนให้ความช่วยเหลือที่ดีเสมอมา และขอขอบคุณพี่ๆ เพื่อนๆ น้องๆ ทุกคนในสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิศวกรรมและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้ ที่ให้ความช่วยเหลือ และเป็นกำลังใจที่ดีมาตลอดการศึกษาในระดับบัณฑิตศึกษา

ฉัตรชญา แก้วเมืองมา

กันยายน 2557

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(3)
ABSTRACT	(4)
กิตติกรรมประกาศ	(5)
สารบัญ	(6)
สารบัญตาราง	(8)
สารบัญภาพ	(9)
สารบัญภาพผนวก	(11)
บทที่ 1 บทนำ	1
ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
วัตถุประสงค์ของการวิจัย	3
ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	4
ต้นข้าว	4
กระบวนการงอกของเมล็ดพืช	4
คุณค่าของกล้าข้าว	6
อนุมูลอิสระ	12
การเกิดอนุมูลอิสระ	13
สารต้านอนุมูลอิสระ	15
ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ	16
กลไกการทำงานของสารต้านอนุมูลอิสระ	18
สารประกอบฟีนอล	19
ฟลาโวนอยด์	21
คาเทชิน	23
คลอโรฟิลล์	25

กลิ่นอัลตราโซนิก	27
กลไกการสกัดของกลิ่นอัลตราโซนิก	28
การใช้กลิ่นอัลตราโซนิกในทางอุตสาหกรรมอาหาร	30
รังสีอัลตราไวโอเล็ต	31
การใช้รังสีอัลตราไวโอเล็ตในทางอุตสาหกรรมอาหาร	33
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	35
วัสดุอุปกรณ์	35
วิธีการทดลอง	38
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์	41
การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการสกัดและ	41
ตัวทำลายในการสกัด	
การศึกษาความถี่กลิ่นอัลตราโซนิกที่เหมาะสมต่อการสกัด	48
การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกลั้วข้าวพันธุ์สุโขทัย 1	57
ด้วยกลิ่นอัลตราโซนิก	
การศึกษาผลของการให้รังสีอัลตราไวโอเล็ตต่อคุณภาพของสารสกัด	66
จากกลั้วข้าวพันธุ์สุโขทัย 1	
การศึกษานิตและปริมาณสารประกอบในกลุ่มฟีนอลของสารสกัด	71
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย	85
สรุปผลการทดลอง	85
ข้อเสนอแนะ	86
บรรณานุกรม	87
ภาคผนวก	103
ภาคผนวก ก วัตถุประสงค์และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง	104
ภาคผนวก ข สารสกัดจากกลั้วข้าวพันธุ์สุโขทัย 1	107
ภาคผนวก ค วิธีการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี	111
ภาคผนวก ง ประวัติผู้วิจัย	116
ภาคผนวก จ บทความทางวิชาการ	118

สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นแต่ละชนิดที่พบในต้นอ่อนข้าวกล้อง	8
2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลในกลุ่มต่าง ๆ	20
3 โครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ในกลุ่มต่าง ๆ	22
4 ค่าความสว่าง (L^*) ของสารสกัดจากการสกัดสองวิธี	42
5 ค่าความเป็นสีเขียว-แดง (a^*) ของสารสกัดจากการสกัดสองวิธี	42
6 ค่าความเป็นสีน้ำเงิน-เหลือง (b^*) ของสารสกัดจากการสกัดสองวิธี	43
7 สมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลและ ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก เปรียบเทียบกับ การเขย่า	45
8 ค่าความสว่าง (L^*) ของสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก ความถี่ 3 ระดับ	49
9 ค่าความเป็นสีเขียว-แดง (a^*) ของสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก ความถี่ 3 ระดับ	49
10 ค่าความเป็นสีน้ำเงิน-เหลือง (b^*) ของสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก ความถี่ 3 ระดับ	50
11 สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก ความถี่ 3 ระดับ	52
12 ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลและปริมาณคลอโรฟิลล์ของสารสกัด จากการสกัดด้วยอัลตราโซนิกคลื่นความถี่ 3 ระดับ	53
13 สมการแสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัด	58
14 ผลการทดลองจากการออกแบบโดยใช้วิธีพหุคูณตอบสนอง	59
14 ผลการทดลองจากการออกแบบโดยใช้วิธีพหุคูณตอบสนอง (ต่อ)	60
15 ปริมาณสาร Epicatechin (EC) ของสารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1	81

สารบัญภาพ

ภาพ		หน้า
1	การเปลี่ยนแปลงสารชีวเคมีและสารอาหารในระยะต่าง ๆ ของเมล็ดข้าว	5
2	โครงสร้าง 6-aminopurine	7
3	โครงสร้างสารกาบา	8
4	โครงสร้าง 2"-O-glycosylisovitexin	11
5	โครงสร้าง บีเอชที	16
6	โครงสร้าง บีเอชเอ	17
7	โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบกลุ่มฟีนอล	17
8	โครงสร้างพื้นฐานของสารฟลาโวนอยด์	21
9	โครงสร้างของสารคาเทชิน	24
10	โครงสร้างของคลอโรฟิลล์	25
11	โครงสร้างของฮีม	26
12	คลื่นความถี่ของอัลตราโซนิกในช่วงต่าง ๆ	27
13	การเกิดฟองอากาศในตัวกลางเนื่องจากคลื่นอัลตราโซนิก	28
14	รูปแบบการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก	29
15	ช่วงแถบสเปกตรัม (spectrum) ของรังสีอัลตราไวโอเลต	31
16	ช่วงความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลตแบบต่าง ๆ	32
17	การทะลุทะลวงผ่านวัสดุของคลื่นรังสีอัลตราไวโอเลตแบบต่าง ๆ	33
18	อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อค่าความสว่าง (L^*)	61
19	อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อค่าความเป็นสีเขียว-แดง (a^*)	61
20	อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อค่าความเป็นสีน้ำเงิน-เหลือง (b^*)	62
21	อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS ⁺	63
22	อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP	63

23	อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อปริมาณ สารประกอบพอลิฟีนอล	64
24	อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อปริมาณคลอโรฟิลล์	64
25	สมบัติการต้านออกซิเดชันวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS ^{•+} ของสารสกัดจาก กล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1	67
26	สมบัติการต้านออกซิเดชันวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดจาก กล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1	67
27	ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลของสารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1	68
28	ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1	68
29	โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานในกลุ่มสารคาเทชินต่าง ๆ	71
30	โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยน้ำ (a) สกัดด้วยวิธีเขย่า (b) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 28kHz	72
30	โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยน้ำ (ต่อ) (c) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 45kHz (d) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 100kHz	73
31	โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 50% (a) สกัดด้วยวิธีเขย่า (b) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 28kHz	74
31	โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 50% (ต่อ) (c) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 45kHz (d) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 100kHz	75
32	โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 70% (a) สกัดด้วยวิธีเขย่า (b) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 28kHz	76
32	โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 70% (ต่อ) (c) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 45kHz (d) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 100kHz	77
33	โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 95% (a) สกัดด้วยวิธีเขย่า (b) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 28kHz	78
33	โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 95% (ต่อ) (c) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 45kHz (d) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 100kHz	79

สารบัญภาพผนวก

ภาพผนวก	หน้า
1 กล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1	105
2 เครื่องอัลตราโซนิก (SANPA W-113, Japan)	105
3 ตู้สเตนเลสปิดสนิท ภายในบรรจุหลอดอัลตราไวโอเลต (ultraviolet chamber)	106
4 สารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่ได้จากการสกัด แบบวิธีเขย่าเทียบกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิก (a) การสกัดโดยใช้ ตัวทำละลายด้วยน้ำ (b) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 50% (c) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 70% (d) การสกัดโดยใช้ ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 95%	108
5 สารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่ได้จากการสกัด โดยคลื่นอัลตราโซนิก ด้วยความถี่ 3 ระดับ (a) การสกัดโดยใช้ ตัวทำละลายด้วยน้ำ (b) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 50% (c) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 70% (d) การสกัดโดยใช้ ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 95%	109
6 สารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่ได้จากการออกแบบ โดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนองด้วยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ต่ำ 28kHz	110

บทที่ 1

บทนำ

ที่มาและความสำคัญของปัญหา

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยและเป็นอาหารหลักในการดำรงชีวิตของประชากรโลก ปัจจุบันผู้บริโภคไม่เพียงแต่นำเมล็ดข้าวมาบริโภคเพียงอย่างเดียวยังสามารถนำข้าวมาใช้ประโยชน์ได้ทั้งต้น การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากส่วนประกอบของกล้าข้าวเป็นการเพิ่มความหลากหลายในการใช้ประโยชน์และเพิ่มมูลค่าให้แก่ข้าวไทย กล้าข้าวประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ที่มีรายงานทางวิชาการในการลดความเสี่ยงในการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรังต่างๆ เช่น โรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเบาหวาน และโรคมะเร็ง (Donkor et al., 2012) รวมทั้งช่วยส่งเสริมสุขภาพที่ดีให้แก่ผู้บริโภค นอกจากนี้สารพฤกษเคมีที่พบในข้าว ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบกลุ่มฟีนอล เช่น แอนโทไซยานิน ฟลาโวนอยด์ โทโคฟีรอล คาเทชิน เบต้าแคโรทีน และกรดเฟอรูลิก เป็นต้น (Chun et al., 2003) ซึ่งส่งผลให้เกิดกระแสการบริโภคอาหารเสริมหรือเครื่องดื่มหสุขภาพที่ได้จากธรรมชาติเพิ่มมากขึ้น

กระแสการบริโภคผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพที่มาจากข้าวได้รับความสนใจมากขึ้น โดยจากที่ผ่านมามีกระแสการบริโภคน้ำข้าวกล้องงอก น้ำคั้นต้นอ่อนข้าวสาลีซึ่งเป็นอาหารสุขภาพที่ได้รับความนิยมอย่างมากในต่างประเทศเพราะมีคุณลักษณะของสารอาหารที่โดดเด่น เช่น คลอโรฟิลล์ ซึ่งมีประโยชน์ต่อการทำงานของร่างกาย เช่น ช่วยเสริมระบบภูมิคุ้มกัน ลดระดับน้ำตาลในเลือด ขจัดสารพิษในร่างกาย (ลักขณา, 2551) แต่เนื่องจากต้นอ่อนข้าวสาลีเป็นพันธุ์ข้าวที่มีการนำเข้าจากต่างประเทศจึงมีราคาค่อนข้างสูง ด้วยเหตุนี้จึงเกิดแนวคิดในการพัฒนาผลิตภัณฑ์จากกล้าข้าวที่เป็นพันธุ์ข้าวไทย อีกทั้งยังช่วยเพิ่มศักยภาพของกล้าข้าวไทยให้เทียบเท่ากับต้นอ่อนข้าวสาลีที่นำเข้าจากต่างประเทศได้ จากการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการพบว่า น้ำคั้นจากกล้าข้าวไทยมีธาตุแมกนีเซียมและปริมาณธาตุเหล็กสูงกว่าในข้าวสาลี นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณวิตามินในกล้าข้าวพันธุ์ข้าวไทยมีค่าสูงกว่าข้าวสาลีที่จำหน่ายทางการค้าอีกด้วย (ลักขณา, 2553)

กล้าข้าวได้มาจากต้นอ่อนที่เจริญเติบโตมาจากเมล็ดข้าว ซึ่งในระหว่างที่ข้าวมีการเจริญเติบโตจะมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในเมล็ดและจะมีการเปลี่ยนแปลงสารอาหารที่อยู่ในเมล็ดข้าวระหว่างการพัฒนาไปเป็นต้นอ่อน ทั้งนี้ในระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ด (germination) เอนไซม์ในข้าวจะเกิดการกระตุ้นให้มีการทำงาน เมื่อเวลาผ่านไปสารอาหารที่ถูกเก็บ

ไว้จะเกิดการย่อยสลายของสารเคมีในเมล็ดตามกระบวนการทางชีวเคมีได้เป็นน้ำตาลที่มีโมเลกุลเล็ก (oligosaccharide) และ reducing sugar เช่น น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว กรดอะมิโน กรดไขมัน เป็นต้น และเมื่อเมล็ดข้าวเจริญเติบโตเป็นต้นอ่อนจะมีการสร้างสารที่สำคัญ เช่น คลอโรฟิลล์ สาร oryzadione ที่มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย สาร oryzalide B และสาร oryzalic acid เป็นต้น (Kono et al., 2004) อีกทั้งยังมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น แกมมาออไรซานอล (gamma-oryzanol) (Juliano et al., 2005) อย่างไรก็ตามกล้าข้าวสดไม่สามารถเก็บรักษาไว้ได้นาน เนื่องจากเกิดการสูญเสียคุณค่าต่างๆ ในระหว่างการเก็บรักษา การแปรรูปวัตถุดิบให้เป็นสารสกัด คาดว่าเป็นวิธีการที่สามารถรักษาคุณภาพของสารสกัดทั้งคุณสมบัติทางกายภาพและเคมีรวมทั้งปริมาณสารออกฤทธิ์ ซึ่งการพัฒนาวัตถุดิบให้อยู่ในรูปสารสกัดจะเป็นแนวทางหนึ่งที่สะดวกต่อการเก็บรักษาเพื่อนำมาเตรียมเป็นผลิตภัณฑ์และทำให้ผลิตภัณฑ์มีรูปแบบที่เหมาะสม จึงเป็นทางเลือกหนึ่งให้กับผู้บริโภคที่ใส่ใจด้านสุขภาพ

จากข้อมูลขององค์การอาหารและยาจากประเทศสหรัฐอเมริกาพบว่าเทคโนโลยีคลื่นอัลตราโซนิกถือเป็นนวัตกรรมทางเลือกหนึ่งที่มีศักยภาพในกระบวนการสกัด (U.S. Food and Drug Administration, 2000) อีกทั้งยังเป็นเทคโนโลยีที่ไม่ใช้ความร้อน และใช้ระยะเวลาในการสกัดที่สั้นกว่าการใช้วิธีการแบบดั้งเดิม เช่น วิธีการแช่ ซึ่งวิธีการแบบดั้งเดิมนี้อาจใช้ระยะเวลาในการสกัดที่นาน (1-20 ชั่วโมง) เพื่อให้ได้สารประกอบที่สำคัญออกมาให้ได้มาก (Carrera et al., 2012)

นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Gonzalez-Barrio et al. (2009) พบว่าอุณหภูมิที่มีการใช้รังสีอัลตราไวโอเลต (UV-C) ในช่วงคลื่น 200-280 nm. ก่อนกระบวนการผลิตน้ำองุ่นจะช่วยเพิ่มปริมาณของสาร resveratrol ซึ่งเป็นสารประกอบพอลิฟีนอล มากถึง 35 เท่าเมื่อเทียบกับไม่ใช้ UV-C ดังนั้นในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จึงมีความสนใจที่จะนำเทคโนโลยีคลื่นอัลตราโซนิกและรังสีอัลตราไวโอเลตมาพัฒนากระบวนการสกัดสารสำคัญจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 โดยศึกษาอิทธิพลของปัจจัยดังกล่าวที่มีต่อสมบัติทางกายภาพและทางชีวเคมีของสารสกัดเพื่อให้ได้สารสกัดที่มีคุณภาพสามารถคงคุณสมบัติต่างๆ ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายและมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค ทั้งนี้ยังเป็นการช่วยอนุรักษ์และส่งเสริมให้มีการนำข้าวไทยมาแปรรูปมากยิ่งขึ้นเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับข้าวไทยตลอดจนสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการพัฒนากระบวนการผลิตเชิงพาณิชย์และต่อยอดผลิตภัณฑ์จากข้าวไทยสู่ระดับอุตสาหกรรมภายในประเทศไทยและต่างประเทศต่อไป

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการสกัดแบบแช่และการใช้คลื่นอัลตราโซนิก ร่วมกับตัวทำละลายของน้ำ และเอทานอลที่อัตราส่วนต่างๆ ในการสกัดกล้ายาวพันธุ์สุโขทัย 1
2. เพื่อศึกษาผลของความถี่คลื่นอัลตราโซนิก ร่วมกับตัวทำละลายของน้ำและเอทานอล ที่อัตราส่วนต่างๆ และการให้รังสีอัลตราไวโอเลตแก่กล้ายาวก่อนการสกัดที่มีต่อปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลและสมบัติต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากกล้ายาวพันธุ์สุโขทัย 1
3. เพื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบในกลุ่มฟีนอลของสารสกัดที่ได้จากกระบวนการสกัด โดยใช้เทคนิคโครมาโทกราฟีของเหลวสมรรถนะสูง (High Performance Liquid Chromatography)

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ได้วิธีการและตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดโดยพิจารณาจากสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบพอลิฟีนอลที่มีในสารสกัดกล้ายาวพันธุ์สุโขทัย 1
2. ได้องค์ความรู้ของการใช้เทคโนโลยีคลื่นอัลตราโซนิก ร่วมกับตัวทำละลายต่างๆ รวมถึงรังสีอัลตราไวโอเลต ในการพัฒนากระบวนการผลิตสารสกัดจากกล้ายาว
3. ได้ทราบถึงชนิดและปริมาณของสารประกอบในกลุ่มฟีนอล ที่มีในสารสกัดจากกล้ายาวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

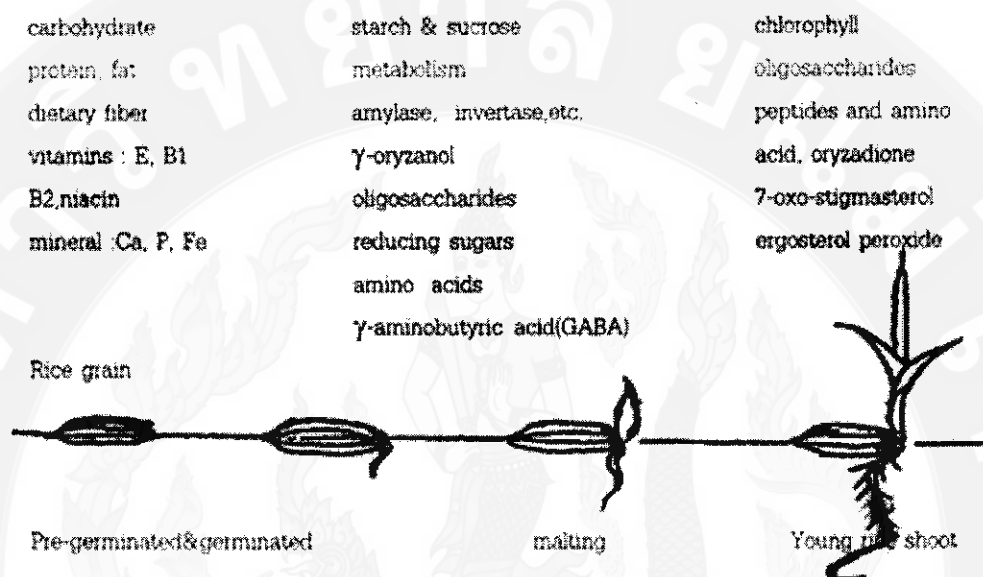
ต้นข้าว

ต้นข้าวเป็นพืชตระกูลหญ้า (Gramineae) ซึ่งจัดอยู่ในสกุลออไรซา (Genus *Oryza*) มีลำต้นเป็นไม้เนื้ออ่อน เป็นพืชล้มลุกที่มีอายุเพียงหนึ่งปี มีใบชนิดใบเลี้ยงเดี่ยว (monocotyledon) ที่ใบข้าวส่วนใหญ่จะมีขนอ่อนบนใบ ทำให้รู้สึกสากมือเมื่อสัมผัสที่ใบ และกาบใบจะทำหน้าที่ลำเลียงน้ำและแร่ธาตุจากรากและลำต้นไปยังตัวใบ และลำเลียงอาหารที่สังเคราะห์จากตัวใบไปยังส่วนต่างๆ ของต้นข้าว (บุญหงษ์, 2547)

กระบวนการงอกของเมล็ดพืช

ในกระบวนการงอกของเมล็ดธัญพืชเป็นต้นอ่อน (seedling) จะมีการสร้างวิตามินและแร่ธาตุขึ้น เนื่องจากเกิดกระบวนการสลายสารอาหารที่เก็บสะสมในเมล็ด เพื่อนำไปใช้ในการงอกและเจริญเติบโตของต้นอ่อน การงอก (germination) ของเมล็ด หมายถึง การเกิดกระบวนการต่างๆ ภายในเมล็ดพืชที่มีชีวิต (visible) ที่อยู่ในระยะพักหรือสภาวะสงบนิ่งแล้วได้รับปัจจัยต่างๆ ที่จำเป็นต่อการงอก เช่น ความชื้น อุณหภูมิ อากาศ ส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงภายในเมล็ด กระตุ้นทำให้เกิดรากอ่อนของต้นแทงทะลุเปลือกหุ้มเมล็ดออกมา ซึ่งทางสรีรวิทยาและชีวเคมีถือว่า คือ การงอกของเมล็ด ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงสารอาหารที่อยู่ภายในเมล็ด ส่งผลให้เอนไซม์ที่มีอยู่ภายในเมล็ดถูกกระตุ้นให้มีการทำงาน สารอาหารที่ถูกเก็บสะสมไว้ในเมล็ดจะมีการย่อยสลายไปตามกระบวนการชีวเคมีให้ได้เป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเล็ก (oligosaccharide) และน้ำตาลรีดิวส์ (reducing sugar) โดยการทำงานของเอนไซม์กลุ่มที่ย่อยแป้ง เช่น เอนไซม์อะไมเลส (amylase enzymes) เอนไซม์อินเวอร์เทส (invertase enzymes) เป็นต้น นอกจากนี้โปรตีนจะถูกย่อยให้เป็นกรดอะมิโน (amino acid) และเปปไทด์ (peptide) (Rimsten et al., 2003) และยังมีการสะสมสารต่างๆ เช่น สารแกมมาอะมิโนบิวทีริกแอซิด หรือกาบา (gamma aminobutyric acid, GABA) โยอาหาร อินโนซิทอล (inositols) กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) กรดไฟติก (phytic acid) โทโคเฟอรอล (tocopherol) โทโคไตรอีนอล (tocotrienol) แกมมาออไรซานอล (gamma-orazynol) และโพแทสเซียม (potassium) (Kayahara et al., 2000) เป็นต้น นอกจากนี้การงอกของเมล็ดธัญพืชเมื่อต้นข้าวเจริญเติบโตในระยะที่มีการแตกยอดอ่อนจะมีสร้างสารที่เรียกว่าสารทุติยภูมิ (secondary metabolite) ได้แก่ คลอโรฟิลล์ (chlorophyll) สารประกอบพอลิฟีนอล (polyphenol)

สารสติกมาสเตอร์อล (stigmasterol) และสารเออร์โกสเตอร์อล (ergosterol) เป็นต้น การเปลี่ยนแปลงสารชีวเคมีและสารอาหารในระยะต่างๆ ของข้าวดังแสดงในภาพที่ 1



ภาพ 1 การเปลี่ยนแปลงสารชีวเคมีและสารอาหารในระยะต่างๆ ของเมล็ดข้าว
ที่มา: ดัดแปลงจาก จูไรทิพย์ (2551)

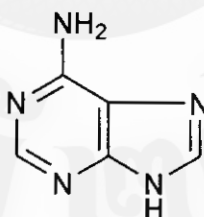
สารชีวเคมีเหล่านี้เป็นสารที่มีความสำคัญต่อการดำรงชีวิตของต้นข้าวโดยผ่านกระบวนการต่อต้านการเกิดโรคของพืช (defense mechanism) และยังมีการสะสมสารต่างๆ เช่น สารแกมมาอะมิโนบิวทีริกแอซิด หรือสารกาบา (gamma aminobutyric acid, GABA) อะราบินอกซ์แลน (arabinoxylan) โทโคเฟอรอล (tocopherol) โทโคไตรอีนอล (tocotrienol) (Juliano et al., 2005) สารประกอบเหล่านี้เป็นสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย รวมทั้งยังมีสารประกอบบางชนิดที่มีคุณสมบัติในการเป็นสารต้านออกซิเดชันหรือสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ที่สามารถป้องกันหรือกำจัดอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมในร่างกาย อันเป็นสาเหตุของความผิดปกติในร่างกายทำให้เกิดอาการเจ็บป่วย เช่น โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหัวใจ โรคสมอง รวมทั้งโรคการเสื่อมสภาพของร่างกาย เป็นต้น (Schnabel, 1940; Kulkarni et al., 2006)

คุณค่าของกล้าข้าว

กล้าข้าวเป็นต้นอ่อนที่เจริญเติบโตมาจากเมล็ดข้าว ซึ่งในระหว่างที่ข้าวมีการเจริญเติบโตจะมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีในเมล็ดและจะมีการเปลี่ยนแปลงสารอาหารที่อยู่ในเมล็ดข้าวระหว่างการพัฒนาไปเป็นต้นอ่อน ทั้งนี้ในระหว่างกระบวนการงอกของเมล็ด (germination) เอนไซม์ในข้าวจะเกิดการกระตุ้นให้มีการทำงาน ดังนั้นเมื่อเวลาผ่านไปสารอาหารที่ถูกเก็บไว้จะเกิดการย่อยสลายของสารเคมีในเมล็ดตามกระบวนการทางชีวเคมีได้เป็นสารอาหารที่มีโมเลกุลเล็กลงและมีการเพิ่มขึ้นของแร่ธาตุที่จำเป็นและเกิดการลดลงของสารประกอบที่ไม่มีประโยชน์ในการบำรุงร่างกาย (anti-nutrition) (Jimenez et al., 1985; Khalil et al., 2007) อีกทั้งในกระบวนการดังกล่าวจะเกิดการสังเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ การสังเคราะห์ไกลโคไซด์ (glycoside) ตลอดจนการสร้างสารประกอบในกลุ่มฟีนอลขึ้น (Calzuola et al., 2004) จากการศึกษาของ Rozanet et al. (2000) พบว่าเมล็ดธัญพืชที่งอกเป็นต้นอ่อน (seedlings) มีคุณค่าทางโภชนาการสูงกว่าเมล็ดธัญพืชที่ไม่งอก ในต้นอ่อนธัญพืชพบว่ามีเอนไซม์ P4D1 ซึ่งมีคุณสมบัติในการซ่อมแซมโมเลกุลของ DNA และด้านการก่อมะเร็ง

จากข้อมูลการศึกษาสารอาหารในต้นอ่อนธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวไรย์ ข้าวบาร์เลย์ ข้าวโพด พบว่าการงอกของเมล็ดดังกล่าวเป็นต้นอ่อนนั้นเป็นการเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการให้สูงขึ้น (Chavan and Kadam, 1989) นอกจากนี้ผลผลิตที่ได้จากการงอกของเมล็ดธัญพืชที่เจริญมาเป็นต้นอ่อน เช่น ข้าว ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ข้าวไรย์ ข้าวโอต จัดว่าเป็นแหล่งของสารอาหารที่มีคุณค่า เช่น วิตามิน แร่ธาตุ โยอาหาร สารต้านอนุมูลอิสระ เช่น เอนไซม์ซูเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase, SOD) ที่มีคุณสมบัติต้านออกซิเดชัน ช่วยลดการดูดซึมคอเลสเตอรอล และช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือด นอกจากนี้ยังพบสารกาบา ซึ่งนอกจากจะพบมากในเมล็ดธัญพืชที่ผ่านการงอกแล้ว ยังสามารถพบได้ในต้นอ่อนด้วย สารดังกล่าวมีสมบัติช่วยป้องกันความดันโลหิตสูง (antihypertensive) (Donkor et al., 2012) และสารสกัดจากต้นข้าวอ่อนยังเพิ่มระดับของฮอว์โมนอินซูลิน (insulin) ส่งผลให้สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดจึงเหมาะสมกับผู้ป่วยที่เป็นโรคเบาหวานได้ นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์สามารถช่วยลดการทำงานของเอนไซม์ α -amylase และ α -glucosidase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยแบ่งให้เป็นน้ำตาลที่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของระดับน้ำตาลในเลือด ที่เป็นสาเหตุของการเกิดโรคเบาหวาน ทั้งนี้อาจเนื่องจากในต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์นั้นมีสารประกอบในกลุ่มฟีนอลสูงจึงสามารถช่วยลดการทำงานของเอนไซม์ดังกล่าวได้ (Yu et al., 2002)

จากงานวิจัยของ Verma and Dubey (2003) พบว่าดินอ่อนข้าวสาลีในช่วงอายุ 5-20 วันมีปริมาณสารและเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Burkholder and Mcveigh (1942) ที่พบว่าดินอ่อนธัญพืชที่มีอายุ 0-12 วัน จะมีปริมาณของไทอามิน (thiamin, B1) และไรโบฟลาวิน (riboflavin, B2) เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับปริมาณที่มีอยู่ในเมล็ดแห้ง อีกทั้งในงานวิจัยของ Chen and Hsieh (2008) พบว่าในดินอ่อนข้าวที่มีอายุ 15 วัน จะมีปริมาณโปรตีนและสารที่ได้จากการสกัดสามารถเพิ่มจำนวนเซลล์เม็ดเลือดขาวที่สร้างภูมิคุ้มกันให้กับร่างกายได้ นอกจากนี้ยังพบสารประกอบที่มีชื่อว่า 6-aminopurine ที่มีสูตรโครงสร้าง ดังแสดงในภาพที่ 2 ซึ่งสารดังกล่าวมีคุณสมบัติในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ xanthin oxidase จากกระบวนการเมตาบอลิซึมของ xanthin โดยเอนไซม์ xanthin oxidase จะทำให้มีปริมาณของกรดยูริก (uric acid) ในเลือดสูงกว่าปกติ และสามารถเข้าไปสะสมในเยื่อตามข้อและปลายกระดูกส่งผลทำให้เกิดอาการปวดและอักเสบได้ นอกจากนี้ยังช่วยลดกิจกรรมของเอนไซม์ tyrosinase ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทในกระบวนการสร้างเมลานิน โดยทำหน้าที่เปลี่ยนสารตั้งต้นไทโรซีน (tyrosine) ไปเป็นสาร DOPA และ DOPA quinone ทำให้เกิดเม็ดสีดำของยูเมลานิน (eumelanin) ดังนั้นถ้าเอนไซม์นี้ทำงานมากเกินไป จะทำให้เม็ดสีเมลานินถูกสร้างได้มากขึ้นทำให้เกิดรอยดำ หรือ ฝ้า กระ สิว ฝ้าไม่สม่ำเสมอได้



ภาพ 2 โครงสร้าง 6-aminopurine

ที่มา: ดัดแปลงจาก Chen and Hsieh (2008)

จากงานวิจัยของ Takaoka (2004) พบว่าในดินอ่อนข้าวกลี้งมีปริมาณสารกาบา ประมาณ 19 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และยังพบสารอาหาร เช่น โปรตีน คาร์โบไฮเดรต ใยอาหาร แร่ธาตุ วิตามิน และคลอโรฟิลล์ ที่สำคัญยังพบว่ามีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายหลายชนิด Chen and Hsieh (2008) ดังแสดงในตาราง 1

ตาราง 1 ปริมาณกรดอะมิโนจำเป็นแต่ละชนิดที่พบในดินอ่อนข้าวกล้าง

ชนิดกรดอะมิโน	ปริมาณกรดอะมิโน (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)
ทรีโอนีน	42.7
วาเลีน	102.5
เมไทโอนีน	38.9
ไอโซลูซีน	34.4
ลูซีน	47.3
เฟนิลอะลานีน	44.9
ฮิสติดีน	15.7
ไลซีน	40.6

ที่มา: คัดแปลงจาก Takaoka (2004)

เช่นเดียวกับงานวิจัยของอรทัย (2552) ที่ได้ศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการงอกและคุณค่าทางอาหารของดินอ่อนรัฐพืชพบว่า การเปลี่ยนแปลงของคุณค่าทางอาหารในดินอ่อนของข้าวจะเพิ่มขึ้นมากกว่าเมล็ดที่ไม่งอก และพบว่า มีปริมาณวิตามินบี 1 รวมทั้งสารกาบาเป็นต้น ซึ่งสูตรโครงสร้างสารกาบา ดังภาพที่ 3 ทั้งนี้ยังพบว่าสารประกอบฟีนอลที่เพิ่มขึ้นนั้นจะขึ้นอยู่กับปัจจัยที่ใช้ในการงอก เช่น ระยะเวลาในการเพาะปลูก อุณหภูมิ ค่าความเป็นกรด-เบสของน้ำที่ใช้ในการแช่ เป็นต้น



ภาพ 3 โครงสร้างสารกาบา

ที่มา: คัดแปลงจาก Bradbury et al. (2008)

สารกาบาเป็นส่วนสำคัญในการเป็นสารสื่อประสาทที่มีโมเลกุลขนาดเล็ก อีกทั้งมีการใช้ประโยชน์ของสารกาบาที่เป็นส่วนประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพมีส่วนช่วยในการควบคุมความดันโลหิตและช่วยบรรเทาอาการพั่นตัวสำหรับผู้ที่เกี่ยวข้องกับการดื่มแอลกอฮอล์ (Donkor et al., 2012) นอกจากนี้ยังมีต้นอ่อนจากพืชตระกูลหญ้าอีกหลายชนิดที่มีการรายงานการวิจัยว่ามีคุณค่าทางโภชนาการและทางยาสูง เช่น ต้นอ่อนข้าวสาลี หรือ wheatgrass ซึ่งเป็นที่นิยมนกันอย่างแพร่หลายในการบริโภคเพื่อสุขภาพ มักบริโภคในรูปแบบของน้ำคั้นสกัดจากต้นอ่อนข้าวสาลี หรือแบบเครื่องดื่มน้ำสำเร็จรูป (Hagiwara and Hagiwara, 1995) ทั้งนี้ในใบอ่อนข้าวสาลียังมีปริมาณแร่ธาตุและวิตามิน กรดอะมิโน ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ คลอโรฟิลล์ รวมทั้งเอนไซม์หลายชนิด (Sagliano and Sagliano, 1998) ซึ่งนอกจากจะมีเอนไซม์ SOD แล้ว ยังพบเอนไซม์ catalase (CAT), glutathione peroxidase (GPX) และ glutathione reductase (GR) เป็นต้น (Panda et al., 2003)

จากการศึกษาของ Kulkarni และคณะ (2006b) พบว่าต้นอ่อนข้าวสาลีในช่วงอายุการปลูกที่ 15 วัน มีปริมาณแร่ธาตุที่เหมาะสมและมีสมบัติการต้านออกซิเดชันสูงที่สุด และจากการศึกษาของ Yang et al. (2000) พบว่าในต้นอ่อนข้าวสาลีที่อายุ 7 วัน หลังจากผ่านกระบวนการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze dry) มีปริมาณวิตามินซี เบต้า-แคโรทีน วิตามินอี และสารประกอบฟีนอลเพิ่มขึ้นจากเมล็ดข้าวสาลี ทั้งนี้เนื่องจากการเจริญของต้นอ่อนในระยะแตกใบจะมีการสร้างผนังเซลล์ ซึ่งมีการสังเคราะห์สารประกอบฟีนอลที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์แทนนินเพื่อเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างพืช (Maillard and Berset, 1995)

จากการวิจัยของ Shukla และคณะ (2009) พบว่าสารสกัดจากต้นอ่อนข้าวสาลีมีปริมาณวิตามินซีและวิตามินอีสูงกว่าสาหร่ายสไปรูลินา ส่วนปริมาณสารประกอบฟีนอลนั้นมีปริมาณต่ำกว่าเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้ใบอ่อนข้าวสาลีในรูปของสารสกัดยังมีสรรพคุณทางยา โดยมีความสามารถในการช่วยลดการก่อตัวของสารก่อมะเร็ง และยับยั้งการกลายพันธุ์ของเซลล์ ซึ่งองค์ประกอบในการต้านการกลายพันธุ์ของเซลล์ในสารสกัดดังกล่าวเกิดจากการที่สารประกอบในกลุ่มของฟลาโวนอยด์ (Peryt et al., 1992) และในการวิจัยนี้ทำการศึกษาถึงประสิทธิภาพของต้นอ่อนข้าวสาลีสำหรับผู้ป่วยที่เป็นโรคลำไส้ใหญ่อักเสบ (ulcerative colitis) โดยการให้ดื่มน้ำสกัดจากต้นอ่อนข้าวสาลีสดจำนวน 100 ซีซี เป็นประจำทุกวัน พบว่าช่วยลดอาการรุนแรงของการมีเลือดออกทางทวารหนักได้เป็นอย่างดี (Ben-Ayre et al., 2002) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Marwaha et al. (2004) ที่พบว่าสารสกัดจากน้ำคั้นต้นอ่อนข้าวสาลีมีศักยภาพในการช่วยลดความถี่ของการถ่ายเลือดในผู้ป่วยโรคโลหิตจางให้ต่ำลงโดยลดระยะเวลาระหว่างการถ่ายเลือดแต่ละครั้งห่างออกไปถึง 25-50 เปอร์เซ็นต์จากเดิม

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการเสริมต้นอ่อนข้าวสาลีในสูตรอาหารช่วยลดระดับน้ำตาลและระดับไขมันในเลือดส่งผลให้สามารถควบคุมระดับน้ำตาลในอาหารสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 รวมทั้งช่วยป้องกันการเกิดภาวะระดับน้ำตาลในเลือดต่ำและป้องกันการเกิดภาวะไขมันในเลือดสูงสำหรับผู้ป่วยโรคเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ (Iyer et al., 2010) สำหรับต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์พบว่ามีสารอาหารคล้ายกับต้นอ่อนข้าวสาลี ซึ่งโดยทั่วไปจะนิยมนำข้าวบาร์เลย์มาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น เบียร์ วิสกี้ เหล้า เป็นต้น ทั้งนี้ในต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์อุดมไปด้วยวิตามินและแร่ธาตุหลายชนิด เช่น วิตามินบี ในอาซิน ไทอามิน และแร่ธาตุโพแทสเซียม เป็นต้น โดยพบว่าเมล็ดของข้าวบาร์เลย์ที่กำลังงอกจะมีกิจกรรมของเอนไซม์ภายในเมล็ดสูงขึ้น และมีคุณค่าทางโภชนาการที่ดี

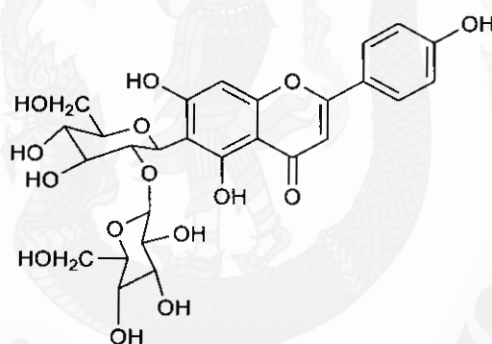
จากการวิเคราะห์สารสกัดจากต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์ โดยทำการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระต่อระดับไขมันและระดับน้ำตาลในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 พบว่า เมื่อให้ผู้ป่วยรับประทานสารสกัดจากต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์ ภายหลัง 4 สัปดาห์ ส่งผลให้ระดับ triglyceride, cholesterol รวมทั้งปริมาณของไขมัน LDL มีระดับที่ลดลง อีกทั้งยังช่วยทำให้ระดับของไขมัน HDL เพิ่มขึ้นแม้จะเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย

มีการศึกษาถึงผลกระทบต่อความไวของการเกิดออกซิเดชันของไขมัน LDL พบว่าในกลุ่มผู้ป่วยที่ได้รับสารสกัดจากต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์เพียงอย่างเดียว ส่งผลให้ระยะเวลาในการเกิด Sd-LDL น้อยกว่ากลุ่มที่ได้รับวิตามินซีและวิตามินอี รวมทั้งกลุ่มที่ได้รับสารสกัดต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์รวมกับการใช้วิตามินซีและวิตามินอี ทั้งนี้ตัว Sd-LDL เป็นไขมัน LDL ที่มีโมเลกุลขนาดเล็กกว่าไขมัน B-LDL ซึ่งตัว Sd-LDL มีบทบาทสำคัญในการเกิดออกซิเดชันของไขมัน LDL ได้มากกว่า B-LDL ที่มีขนาดใหญ่

อีกทั้งยังมีการศึกษาผลต่อการจับอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่าในการจับอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์ เปรียบเทียบกับการใช้วิตามินซี วิตามินอี พบว่า สารต้านอนุมูลอิสระจากสารสกัดต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์ มีผลต่อความไวของการเกิดอนุมูลอิสระ ซึ่งจะชี้ถึงถึงความไวต่อการจับอนุมูลอิสระ คือ ตัว lucigenin-CL เป็นตัวบ่งชี้ถึงความไวในการเกิด superoxide anions ส่วนตัว luminol-CL นั้นเป็นตัวบ่งชี้ถึงความไวในการเกิดอนุมูลอิสระของ O_2 ซึ่งอนุมูลอิสระทั้ง 2 ตัวนี้เป็นตัวที่เกิดจาก NADP(H) oxidase ในเซลล์เม็ดเลือดขาว ผลที่ได้แสดงให้เห็นถึงการเสริมด้วยสารสกัดจากต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์จะช่วยลดระดับของการเกิด O_2 และ superoxide anions ในเลือดของผู้ป่วยเบาหวานชนิดที่ 2 ได้ ทั้งนี้ความสามารถในการจับกับอนุมูลอิสระอาจมาจากสารประกอบฟีนอลที่มีอยู่ในต้นอ่อนข้าว

บาร์เลย์ร่วมด้วย ซึ่งประสิทธิภาพที่ได้เทียบเท่ากับการใช้สารต้านอนุมูลอิสระในรูปแบบสังเคราะห์ เช่น วิตามินซี วิตามินอี (Yu et al., 2002)

ต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์มีสารที่สำคัญ คือ 2"-O-glycosylisovitexin (2"-O-GIV) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่อยู่ในกลุ่มของสารประกอบฟลาโวนอยด์ (flavonoid) (Osawa et al., 1992) ดังภาพ 4 สารดังกล่าว พบว่ามีคุณสมบัติในการป้องกันเซลล์จากความเสียหายจากปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยลดการเกิด malondialdehyde จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันอันเนื่องจากรังสีอัลตราไวโอเลต และยังช่วยลดปริมาณไขมัน LDL ซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดโรคความดันโลหิตสูง และโรคหลอดเลือดหัวใจ อีกทั้งยังเพิ่มกระบวนการเมตาบอลิซึม ป้องกันการอักเสบ รวมถึงเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในร่างกาย (Bamforth, 1983; Aruoma and Halliwell, 1987; Johnson and Mokler, 2000; Nakajima et al., 1993; Acar et al., 2001; Janda et al., 2003; Lee et al., 2003)



ภาพ 4 โครงสร้าง 2"-O-glycosylisovitexin

ที่มา: ดัดแปลงจาก Osawa et al. (1992)

ปัจจุบันมีการศึกษาสมบัติในการช่วยรักษาความผิดปกติด้านสุขภาพมากมายของสารสกัดจากต้นอ่อนข้าวบาร์เลย์ เช่น โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคไขข้อ โรคโลหิตจาง ภาวะคอเลสเตอรอลในเลือดสูงเกินปกติ โรคไต และโรคกระเพาะอาหาร อีกทั้งสารคลอโรฟิลล์ที่พบในพืชสีเขียว นั้นยังมีฤทธิ์ในการต้านการอักเสบ (Anti-inflammatory) ป้องกันการเกิดเซลล์มะเร็งผิวหนัง (Johnson and Mokler, 2000; Nishiyama et al., 1994) เนื่องจากคุณสมบัติในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาที่พบว่าสารสกัดจากน้ำใบอ่อนข้าวบาร์เลย์มีสารประกอบพวกไกลโคโปรตีน เช่น เอนไซม์ D1G1 เอนไซม์ P4D1 ที่มีคุณสมบัติในการต้านการอักเสบที่ดีกว่าแอสไพริน (Kubota et al., 1983)

อนุมูลอิสระ (Free radicals)

อนุมูลอิสระ (Free radical หรือ oxidant) คือ อะตอม โมเลกุล หรือไอออนที่มีอิเล็กตรอนอิสระคู่โดดเดี่ยว (unpaired electrons) ที่ไม่เสถียรอยู่ในออร์บิทัลวงรอบนอกสุด มีพลังงานสูงและว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลต่างๆ ที่อยู่รอบข้างได้ทันทีที่ถูกสร้างขึ้น รวมถึงอะตอมของไฮโดรเจน และไอออนของโลหะทรานซิชัน (โอภา และคณะ, 2549) นอกจากนี้ยังรวมถึงโมเลกุลของออกซิเจนด้วย อนุมูลอิสระมีทั้งที่อยู่ในสถานะที่เป็นกลางทางไฟฟ้า และสถานะที่มีประจุไฟฟ้า โดยมีสัญลักษณ์ทางเคมีของอนุมูลอิสระ คือ อิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลที่แสดงด้วยจุดในตำแหน่งข้างบนของสัญลักษณ์ทางเคมี โดยมีสัญลักษณ์ทั่วไป คือ $R^\bullet$ อนุมูลอิสระที่มีความสำคัญได้แก่ อนุมูล superoxide anion ($O_2^{\bullet-}$), hydroxyl ($OH^\bullet$), peroxy ($ROO^\bullet$), alkoxyl ($RO^\bullet$), nitric oxide ($NO^\bullet$) และ nitrogen dioxide ($NO_2^\bullet$) เป็นต้น

อนุมูลอิสระดังกล่าวส่งผลทำให้เกิดความเสียหายแก่องค์ประกอบต่างๆ ของเซลล์ภายในร่างกาย อาทิ ส่งผลต่อการทำลายโครงสร้างดีเอ็นเอ (DNA) การเปลี่ยนแปลงของโปรตีนและไขมันของเยื่อหุ้มเซลล์ ผลต่อการทำงานของเอนไซม์บางชนิดทำให้การทำงานของโปรตีน หรือเอนไซม์เหล่านั้นผิดปกติได้ (เจนจิรา และประสงค์, 2554) อีกทั้งยังเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดโรคหลายชนิด ซึ่งสารอนุมูลอิสระเกิดจากการใช้ออกซิเจนของกระบวนการเมตาบอลิซึมของเซลล์ รวมทั้งปัจจัยจากสิ่งแวดล้อมภายนอก เช่น มลพิษ การติดเชื้อโรค รังสีอัลตราไวโอเลต ไอโซน ควันท่อไอเสีย รถยนต์ หรือควันบุหรี่ เป็นต้น อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นเหล่านี้สามารถถูกกำจัดหรือลดความรุนแรงด้วยสารที่เรียกว่า สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) ที่มีความสามารถจับกับอนุมูลอิสระ แล้วเกิดเป็นอนุมูลอิสระตัวใหม่ที่มีความเสถียรมากกว่าเดิม ส่งผลทำให้หยุดวงจรการเกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่ได้ ปัจจุบันมีการศึกษาเพื่อหาสารที่สามารถลดความรุนแรง กลไก หรือปฏิกิริยาเคมี รวมทั้งบทบาทของสารต้านอนุมูลอิสระเป็นปัจจัย และสิ่งสำคัญที่จะช่วยให้สามารถป้องกันอันตรายที่อาจจะเกิดขึ้นกับร่างกายได้ (เจนจิรา และ ประสงค์, 2554)

การเกิดอนุมูลอิสระ

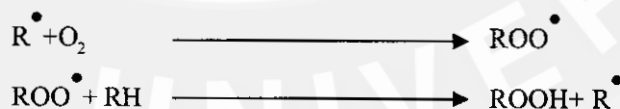
สิ่งมีชีวิตทุกชนิดจะมีการใช้ออกซิเจนเพื่อการดำรงชีวิต และจะมีอนุมูลอิสระของออกซิเจนเกิดขึ้นอยู่มากมาย ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระจัดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (free radical chain reaction) ซึ่งมีกลไกการเกิดปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน (Pratt and Hudson, 1990) การเกิดอนุมูลอิสระเหล่านี้มีสาเหตุมาจากปัจจัยภายในและภายนอกร่างกาย

1. ปัจจัยภายในร่างกาย

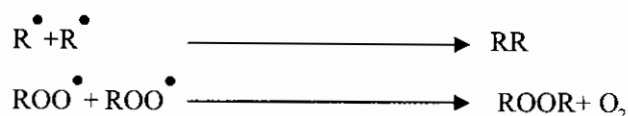
ปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นเอง (auto oxidation) ซึ่งมีกลไกการเกิดปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน คือขั้นตอนแรกเรียกว่า อินิทิเอชัน (initiation step) เป็นขั้นตอนที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ มักเกิดจากปฏิกิริยาการสลายพันธะด้วยน้ำ (hydrolysis) แสง (photolysis) รังสี (radiolysis) หรืออุณหภูมิเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา



ขั้นตอนที่สองเรียกว่าพรอบพาเกชัน (propagation step) เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระถูกเปลี่ยนไปเป็นอนุมูลตัวอื่นอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในขั้นตอนอินิทิเอชันจะดำเนินปฏิกิริยาอย่างต่อเนื่อง ในขั้นตอนพรอบพาเกชัน โดยเกิดปฏิกิริยาขึ้น 2 ทางคือ โดยการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียงหรือโดยการทำปฏิกิริยากับโมเลกุลออกซิเจนที่อยู่ในสถานะ ground state ทำให้เกิดอนุมูลอิสระตัวใหม่



ขั้นตอนสุดท้ายเรียกว่าขั้นตอนเทอร์มิเนชัน (termination step) เป็นขั้นตอนที่มีการรวมกันของอนุมูลอิสระ 2 อนุมูล ได้เป็นสารที่มีความเสถียร



2. ปังจัยภายนอกร่างกาย

2.1 ยารักษาโรคมบางชนิดที่รับประทานเข้าไปในร่างกายสามารถก่อให้เกิดอนุมูลอิสระได้ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง ยาในกลุ่มต้านจุลชีพและต้านมะเร็ง เช่น บลีโอไมซิน (bleomycin) แอนทราไซคลินส์ (anthracyclines) (Voest et al., 1994) เนื่องจากมีฤทธิ์เสริมปฏิกิริยาออกซิเดชัน

2.2 การใช้รังสีในการรักษาโรค เช่น รังสีเอกซ์ (X-ray) รังสีแกมมา (γ -ray) อาจเป็นสาเหตุทำให้เกิดอนุมูลอิสระขึ้นในร่างกายจากการถ่ายทอดพลังงานให้กับน้ำ ซึ่งเป็นส่วนประกอบของเซลล์แล้วก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนที่ละลายอยู่ในเซลล์ได้ อนุมูลอิสระเกิดขึ้น

2.3 คาร์บอนมี ส่วนประกอบของไนตริกออกไซด์ ($\text{NO}^\bullet$) ไนโตรเจนออกไซด์ (NO_2) และเพอรอกซีไนไตรท์ ($\text{ONOO}^\bullet$) รวมทั้งสารพิษ ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) และคาร์บอนเตตระคลอไรด์ (CCl_4) ซึ่งจะถูกกำจัดออกจากร่างกายโดยการทำงานของเอนไซม์ไซโทโครม P-450 ที่มีในเซลล์ตับและพบได้ในเซลล์ปอดและลำไส้ทำให้เป็นสาเหตุของการสร้างอนุมูลซูเปอร์ออกไซด์

2.4 โอโซน ไม่ได้เป็นอนุมูลอิสระแต่จัดเป็นสารออกซิไดส์แรงสูง ซึ่งสามารถเปลี่ยนรูปเป็นอนุมูลไฮดรอกซิลได้จากการกระตุ้นของคลื่นแสง (เจนจิรา และประสงค์, 2554)

สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)

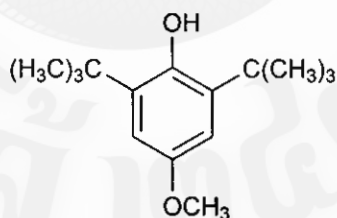
สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) คือ สารที่สามารถชะลอหรือป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (oxidation) ของอนุมูลอิสระได้ สามารถทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระโดยตรงเพื่อกำจัดอนุมูลอิสระ (free radical scavengers) หรือหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระไม่ให้ดำเนินต่อไป สารเหล่านี้มีกลไกในการต้านอนุมูลอิสระหลายแบบเช่นดักจับ (scavenge) อนุมูลอิสระโดยตรงยับยั้งการสร้างอนุมูลอิสระหรือเข้าจับ (chelate) กับโลหะเพื่อป้องกันการสร้างอนุมูลอิสระ (Sies et al., 1991) โดยทั่วไปแล้วอนุมูลอิสระสามารถพบได้ในธรรมชาติจากหลายสารชนิด เช่น กรดยูริก บิลิรูบิน จะกำจัดอนุมูล และวิตามินซี วิตามินอี กลูตาไทโอน เบต้า-แคโรทีน รวมทั้งสารประกอบพอลิฟีนอล ซึ่งเป็นสารพฤษเคมีที่สามารถพบได้ในพืชผักและผลไม้ เพื่อเข้าไปช่วยเสริมสร้างระบบต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันในร่างกายทำให้มีประสิทธิภาพในการทำลายอนุมูลอิสระได้ดียิ่งขึ้น และหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูล ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระประเภทหลังมีบทบาทสำคัญในการทำให้ลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสิ้นสุดลง (โอภา และคณะ, 2549)

สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้จะทำหน้าที่คอยควบคุมอนุมูลอิสระต่างๆ ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสม แต่ถ้าเกิดอนุมูลอิสระที่มากเกินไปร่างกายจะป้องกันได้จะทำให้เกิดสภาวะที่เรียกว่า oxidative stress ขึ้น ภายใต้อาการดังกล่าวอนุมูลอิสระจะทำอันตรายต่อเนื้อเยื่อเซลล์ต่างๆ ของร่างกาย ซึ่งถ้าสะสมมากๆ อาจนำไปสู่ความผิดปกติ หรือพยาธิสภาพหลายอย่างได้ (เจนจิรา และ ประสงค์, 2554) ปัจจุบันได้มีการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น การศึกษาข้อมูลทางเภสัชวิทยาของสารต้านอนุมูลอิสระ พบว่า มีสารออกฤทธิ์หลายชนิดที่มีส่วนช่วยเสริมสุขภาพและป้องกันการเกิดโรคในมนุษย์ เช่น เบต้า-แคโรทีน และลูทีนที่มีฤทธิ์ด้านการก่อกลายพันธุ์ (antimutagenic) สารประกอบฟีนอลที่ช่วยยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แอลฟาไกลูโคซิเดส (α -Glucosidase) ซึ่งมีผลช่วยลดปริมาณน้ำตาลในเลือดได้ในผู้ป่วยโรคเบาหวาน (Cornish and Garbary, 2010)

ประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระ

ปัจจุบันเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่า สารต้านอนุมูลอิสระโดยเฉพาะอย่างยิ่งที่ได้มาจากพืชผัก ผลไม้ และสมุนไพร ได้รับความสนใจและศึกษากันอย่างกว้างขวาง ซึ่งผลดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้สารต้านอนุมูลอิสระแบ่งได้แหล่งที่มาได้ 2 ประเภท คือ สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ และสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ

1. สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการสังเคราะห์ส่วนใหญ่จะเป็นสารจำพวกสารประกอบฟีนอลที่นิยมเติมลงในไขมัน น้ำมัน และผลิตภัณฑ์อาหารที่ผ่านกระบวนการผลิต เช่น บีเอชที (2,6-ditertiary-butyl-p-cresol), บีเอชเอ (3-tertiary-butyl-4-hydroxyanisole), propyl gallate ซึ่งมีสูตรโครงสร้างดังภาพ 5 และ 6 เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุของการเกิดกลิ่นหืน มีรสชาติที่เปลี่ยนแปลงไป สารสังเคราะห์เหล่านี้มีประสิทธิภาพและความคงตัวสูงกว่าสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติ แต่มีข้อจำกัดของการใช้เนื่องจากปัญหาด้านความปลอดภัยในการบริโภค (Yang et al., 2000)



ภาพ 5 โครงสร้าง บีเอชที

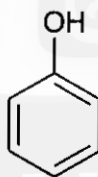
ที่มา: ดัดแปลงจาก สีวาพร (2546)



ภาพ 6 โครงสร้าง ปิเอชเอ

ที่มา: ดัดแปลงจาก ศิวาพร (2546)

2. สารต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากธรรมชาติ สารในกลุ่มนี้ได้รับความสนใจเป็นอย่างมากและมีการค้นคว้าในปัจจุบันเนื่องจากมีความเชื่อมั่นว่ามีความปลอดภัยในการบริโภคมากกว่าสารจากการสังเคราะห์ ตัวอย่างสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ เช่น วิตามินซี วิตามินอี เบต้า-แคโรทีน แคโรทีนอยด์ รวมทั้งสารประกอบในกลุ่มพอลิฟีนอล เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) ฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) เป็นต้น ซึ่งเป็นสารที่ไม่ให้คุณค่าทางโภชนาการ โดยปัจจุบันพบว่าสารประกอบในกลุ่มฟีนอลเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ (โอภา และคณะ, 2549) สารประกอบกลุ่มฟีนอลจะประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก และมีหมู่แทนที่เป็นไฮดรอกซิลอย่างน้อยหนึ่งหมู่ ดังภาพที่ 7

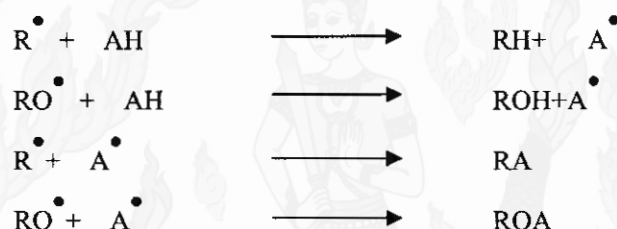


ภาพ 7 โครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบกลุ่มฟีนอล

ที่มา: ดัดแปลงจาก โอภา และคณะ (2550)

กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน

กลไกการทำงานของสารต้านออกซิเดชัน คือ จะเข้าไปรบกวนปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระที่มีความเสถียรขึ้น ซึ่งกลไกของปฏิกิริยาจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แล้วอนุมูลอิสระดังกล่าวจะเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์ตัวอื่นที่มีความเสถียรหรือคงตัว (เจนจิรา และประสงค์, 2554) ดังปฏิกิริยา



สารต้านออกซิเดชันจะทำหน้าที่เป็นตัวให้ไฮโดรเจนอะตอมหรืออิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ โดยจะยับยั้งหรือชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันในขั้นตอนเริ่มต้น ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ ($\text{R}^\bullet$) หรือยับยั้งในขั้นตอนการเพิ่ม โดยจะทำปฏิกิริยากับอนุมูลเปอร์ออกไซด์ (peroxide radical, $\text{ROO}^\bullet$) หรืออนุมูลอัลคอกซี (Alkoxy radical, $\text{RO}^\bullet$) และอนุมูลของสารต้านอนุมูล ($\text{A}^\bullet$) ซึ่งจะทำให้ปฏิกิริยาหยุดลงและได้ผลิตภัณฑ์ที่ไม่ได้อยู่ในรูปของอนุมูลอิสระ ทั้งนี้โดยธรรมชาติจะมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้นในเซลล์และร่างกายหลายชนิด ทั้งที่เป็นประโยชน์และให้โทษด้วยเช่นกัน กลไกสำคัญที่ทำหน้าที่ในการควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระจะทำหน้าที่ลดผลกระทบที่เป็นอันตรายของอนุมูลต่อเซลล์ ในสภาวะปกติกลไกเหล่านี้ถือว่าเพียงพอต่อการรักษาปริมาณอนุมูลอิสระให้อยู่ในสภาวะสมดุลได้ ซึ่งถือว่าสามารถควบคุมได้แม้ว่าจะมีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น และหากเกิดภาวะผิดปกติที่ทำให้กลไกการป้องกันเหล่านี้บกพร่องไม่สามารถที่จะควบคุมภาวะสมดุลได้ จะนำไปสู่การเกิดภาวะที่เซลล์และร่างกายถูกออกซิไดส์จนเกินสมดุล (oxidative stress) และทำให้เกิดโรคต่างๆ ขึ้นภายในร่างกายได้ (โอภาและคณะ, 2549)

สารประกอบฟีนอล (Phenolic compounds)

สารประกอบฟีนอลที่พบในพืชมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ รวมถึงกรดฟีนอล (phenolic acid) ฟลาโวนอยด์ และอนุพันธ์ (flavonoid and derivatives) เอสเทอร์ของกรดแกลลิก (ester of gallic acid) ลิกนิน (lignin) ความาริน (coumarine) และฟลาโวน (flavone) เป็นต้น (Shahidi, 1997) โดยทั่วไปสารประกอบฟีนอลที่จัดอยู่ในกลุ่ม primary antioxidant ส่วนใหญ่เป็นสารที่พบมากในธรรมชาติ เช่น พืชผัก ผลไม้ ชาเขียว ไวน์แดง เป็นต้น ปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลมากกว่า 8,000 ชนิด ซึ่งโครงสร้างพื้นฐานของสารประกอบฟีนอลจะประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติก (aromatic ring) และมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิล (OH-group) อย่างน้อยหนึ่งหมู่ในโครงสร้าง ดังแสดงในตาราง 2 โดยทั่วไปจะเกิดจากการรวมตัวของโมเลกุลของน้ำตาลตั้งแต่ 1 โมเลกุลขึ้นไปกับหมู่ไฮดรอกซิล โดยน้ำตาลชนิดที่พบมากที่สุด ในโมเลกุลของสารประกอบฟีนอล คือ น้ำตาลกลูโคส (glucose) (Bravo, 1998)

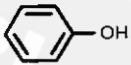
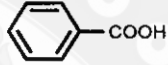
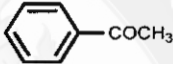
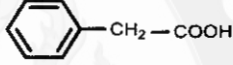
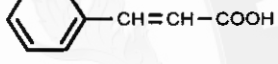
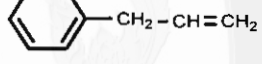
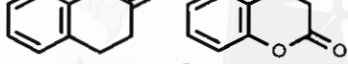
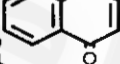
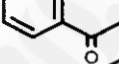
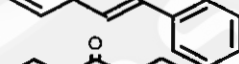
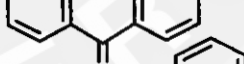
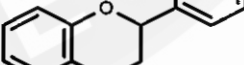
สารประกอบในกลุ่มพอลิฟีนอล (polyphenol) เป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ จัดเป็นสารประกอบในกลุ่มฟีนอล มีฤทธิ์ในการต้านเชื้อแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ มีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือด ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล รวมทั้งช่วยในการต้านการเกิดมะเร็ง และสามารถลดความดันโลหิตจากฤทธิ์ขยายหลอดเลือด เป็นต้น คุณสมบัติดังกล่าวมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (โอภา และคณะ, 2549) โดยสารประกอบที่สำคัญและพบมากที่สุดในกลุ่มสารประกอบพอลิฟีนอล ได้แก่ ฟลาโวนอยด์

สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอล

สมบัติที่สำคัญของสารประกอบฟีนอล คือ ความสามารถในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน ซึ่งเกิดจากอนุมูลอิสระโดยสารประกอบฟีนอลจะไปรบกวนปฏิกิริยาออกซิเดชันด้วยการให้ไฮโดรเจนอะตอม คือ หมู่ไฮดรอกซิล (-OH) แก่อนุมูลอิสระอย่างรวดเร็วเพื่อให้อนุมูลอิสระมีความเสถียรมากขึ้น จึงไม่สามารถเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันกับโมเลกุลอื่นๆต่อไปได้ ดังปฏิกิริยา



ตาราง 2 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลในกลุ่มต่าง ๆ

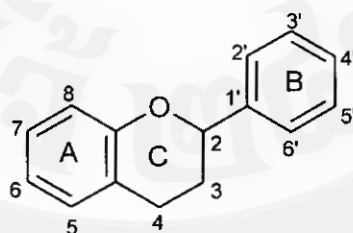
Class	Basic Skeleton	Basic Structure
Simple phenols	C ₆	
Benzoquinones	C ₆	
Phenolic acids	C ₆ -C ₁	
Acetophenones	C ₆ -C ₂	
Phenylacetic acids	C ₆ -C ₂	
Hydroxycinnamic acids	C ₆ -C ₃	
Phenylpropenes	C ₆ -C ₃	
Coumarins, isocoumarins	C ₆ -C ₃	
Chromones	C ₆ -C ₃	
Naftoquinones	C ₆ -C ₄	
Xanthenes	C ₆ -C ₁ -C ₆	
Stilbenes	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Anthraquinones	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Flavonoids	C ₆ -C ₂ -C ₆	
Lignans, neolignans	(C ₆ -C ₃) ₂	
Lignins	(C ₆ -C ₃) _n	

ที่มา: ดัดแปลงจาก Bravo (1998)

ดังนั้นสารประกอบฟีนอลจึงมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลยังมีสมบัติเป็นสารคีเลต (chelating agent) โดยทำหน้าที่จับกับโลหะ เช่น ทองแดง และเหล็ก ที่มีบทบาทสำคัญในการกระตุ้นการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระ (โอภา และคณะ, 2549) ปัจจุบันเป็นที่ยอมรับทั่วไปในวงการแพทย์ว่า การบริโภคอาหารที่อุดมด้วยฟลาโวนอยด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผักและผลไม้ที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ ซึ่งมีการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการเกิดของโรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจ โรคกระเพาะ ระบบทางเดินอาหาร โรคทางระบบประสาท โรคตับหลอดเลือด โรคอ้วน และโรคภูมิแพ้ มีอัตราการเกิดโรคที่ลดลง (Frei and Higdon, 2003; Lotito and Frei, 2006; Ramos, 2007) ทั้งนี้คุณสมบัติดังกล่าวนี้จึงมีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

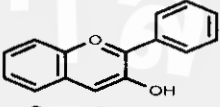
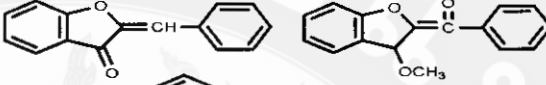
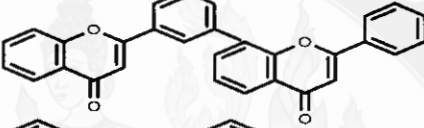
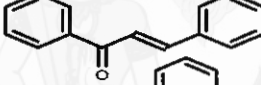
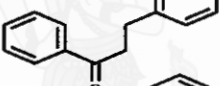
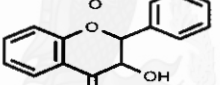
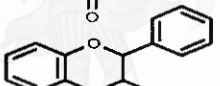
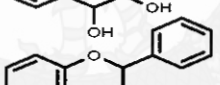
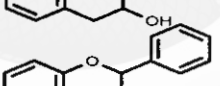
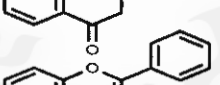
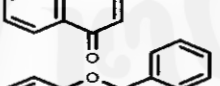
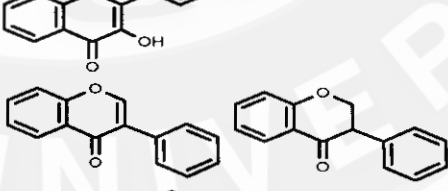
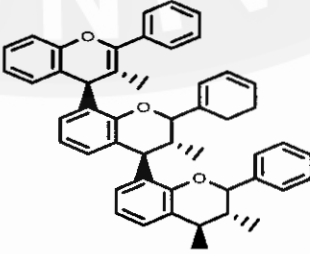
ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)

สารฟลาโวนอยด์พบได้ทั่วไปในทุกส่วนของพืชสีเขียว จัดเป็นสารสำคัญในกลุ่มพอลิฟีนอล มีสูตรโครงสร้างหลักเป็นฟลาเวน (flavan) ประกอบด้วยวงแหวน 2 วงที่เชื่อมต่อกันด้วยคาร์บอนสามอะตอม ($C_6C_3C_6$) และมีการระบุตำแหน่งของคาร์บอนอะตอมในโมเลกุลของฟลาโวนอยด์ ดังแสดงในภาพ 8



ภาพ 8 โครงสร้างพื้นฐานของสารฟลาโวนอยด์
ที่มา: ดัดแปลงจาก Bravo (1998)

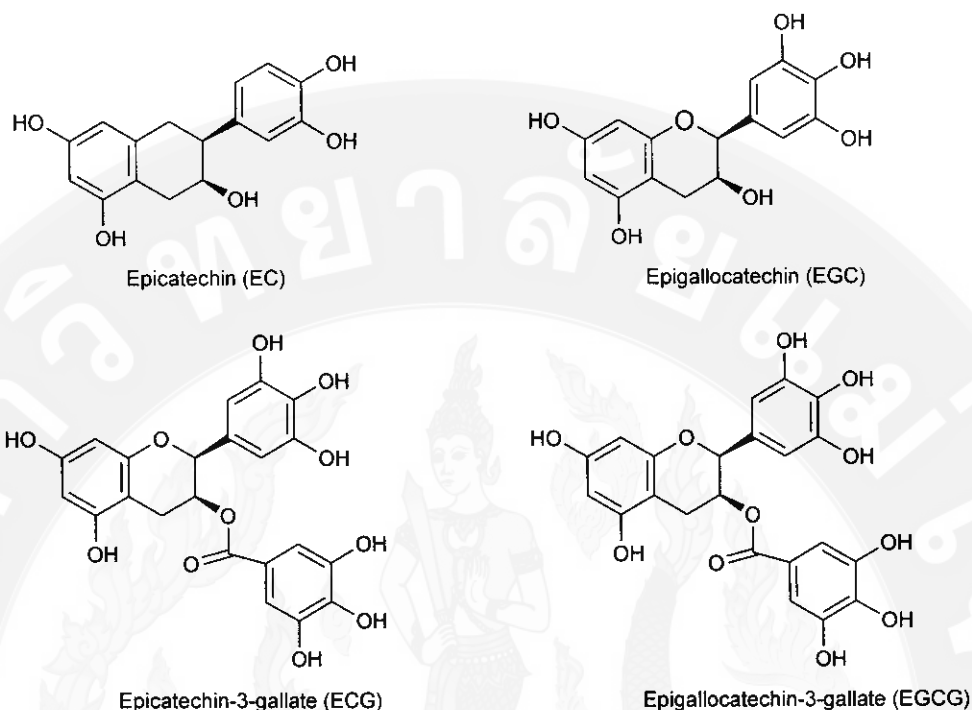
ตาราง 3 โครงสร้างของสารประกอบฟลาโวนอยด์ในกลุ่มต่างๆ

Flavonoid	Basic Structure
Anthocyanidin	
Aurones	
Biflavonoids	
Chalcones	
Dihydrochalcones	
Dihydroflavonol	
Flavandiols or leucoanthocyanidin	
Flavanol	
Flavanones	
Flavones	
Flavonols	
Isoflavonoids	
Proanthocyanidins or condensed tannins	

สารฟลาโวนอยด์ แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลากหลายกลุ่มได้แก่ ฟลาโวน (flavones เช่น rutin, apigenin, luteolin) และฟลาโวนอล (flavonols เช่น quercetin, myricetin, kaempferol) นอกจากนี้พบในกลุ่มอื่นๆ อาทิเช่น ฟลาโวนอน (flavonones เช่น naringin, taxifolin, fisetin, hesperetin) ซึ่งจะพบได้ในผลของพืชตระกูลส้ม มะนาว เปลือกผลของพืชตระกูลส้ม มะนาว (โอภา และคณะ, 2549) ดังแสดงในตารางที่ 3 อีกทั้งยังพบสารในกลุ่มฟลาวานอล (flavanols เช่น catechin, epicatechin, gallic catechin) ซึ่งเป็นสารฟลาโวนอยด์ที่พบมากที่สุดในใบชา และมีประโยชน์ต่อสุขภาพในหลายทาง เช่น มีคุณสมบัติเป็น anti-inflammatory สามารถรักษาอาการอักเสบได้ ช่วยลดระดับไขมันในเส้นเลือด ช่วยเพิ่มความร้อนให้แก่ร่างกาย และกระตุ้นการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในลำไส้ได้ (Johnson et al., 2010)

คาเทชิน (Catechins)

คาเทชินเป็นสารในกลุ่มฟีนอลิกจำพวก ฟลาวานอล สามารถพบได้ในอาหารประเภทต่างๆ เช่น โกโก้ ไวน์ แอปเปิ้ล แต่พบปริมาณสูงสุดในชาเขียว ซึ่งมีประมาณ 60-70% ของฟีนอลทั้งหมดในชา คาเทชินเป็นสารที่ไม่มีสี ละลายได้ในน้ำ มีรสขมและฝาด กลุ่มของคาเทชินที่พบมากในชาได้แก่ (-)-epicatechin (EC), (-)-epigallocatechin (EGC), (-)-epicatechin gallate (ECG) และ (-)-epigallocatechin gallate (EGCG) โดยสารคาเทชินเหล่านี้มีอยู่ประมาณ 90% ของคาเทชินทั้งหมด (Balentine et al., 1997) ทั้งนี้เป็นสารโภชนเภสัช (nutraceutical) ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านออกซิเดชัน (antioxidant) สามารถจับกับอนุมูลอิสระ และเป็น chelating agent ที่รวมตัวกับไอออนของโลหะได้ จึงทำให้สารคาเทชินมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งเป็นประโยชน์ทางด้านสุขภาพ อาทิเช่น ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคหัวใจและโรคหลอดเลือด (Hirano et al., 2002) ช่วยลดความอ้วน (Rain et al., 2011) และช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดของการเกิดโรคเบาหวาน (Kao et al., 2002) เป็นต้น



ภาพ 9 โครงสร้างของสารคาเทชิน

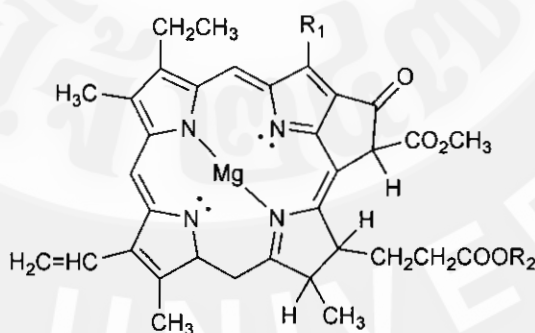
ที่มา: คัดแปลงจาก Johnson et al. (2010)

คาเทชินเป็นกลุ่มสารที่สำคัญของพืชตระกูลชา โดยโครงสร้างหลักของสารกลุ่มนี้จะเป็น flavan-3-ols ซึ่งวง C จะอึดตัวไม่มีพันธะคู่ ทำให้อิเล็กตรอนไม่สามารถเคลื่อนที่ไปมา ดังนั้นฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันจึงขึ้นอยู่กับจำนวนหมู่ฟีนอลในโครงสร้าง โดยสารที่มีจำนวนหมู่ฟีนอลมากจะให้ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันมาก สารที่เป็น catechin-gallate ester ที่เพิ่มหมู่ gallate ที่ตำแหน่ง 3-OH ทำให้มีจำนวนหมู่ฟีนอลเพิ่มขึ้น จะมีฤทธิ์มากกว่า (โอภา และคณะ, 2549) เมื่อเรียงลำดับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารกลุ่มคาเทชินจากมากไปน้อยพบว่า ECG > EGCG > EGC > EC อย่างไรก็ตาม พบว่า ฤทธิ์การต้านออกซิเดชันของสารกลุ่มคาเทชินจะมากกว่าวิตามินอี หรือวิตามินซีกว่า 2 เท่า ทั้งนี้มีการรายงานศึกษาพบว่า สารคาเทชินที่มีปริมาณสูงในชาเขียว ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ คือ EGCG โดยจะมีปริมาณ 40% ของสารคาเทชินทั้งหมดที่มีในชาเขียว (Seeram et al., 2006)

คลอโรฟิลล์ (Chlorophyll)

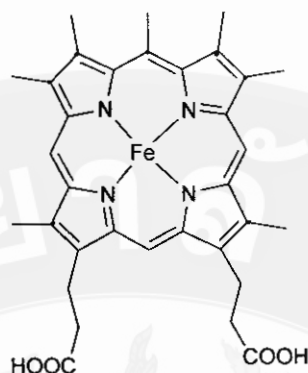
คลอโรฟิลล์เป็นรงควัตถุสีเขียวที่สำคัญในพืชและสาหร่ายที่มีสีเขียว โดยเฉพาะผักใบเขียว คลอโรฟิลล์เป็นส่วนที่สำคัญในกระบวนการสังเคราะห์แสงของพืชโดยทำหน้าที่ดูดพลังงานจากแสงแดดเพื่อสร้างคาร์โบไฮเดรตจากคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ แต่จะไม่คงตัวต่อความร้อน เมื่อได้รับความร้อนจะทำให้สีเขียวเปลี่ยนเป็นสีอื่นๆ (จริงแท้, 2549) ซึ่งคลอโรฟิลล์ที่พบในพืชมี 2 ชนิด คือ คลอโรฟิลล์เอและคลอโรฟิลล์บี

โครงสร้างของคลอโรฟิลล์จะมีลักษณะคล้ายกับโครงสร้างของฮีมในเม็ดเลือดแดง โดยมีอะตอมกลางเป็นเหล็ก (Fe) แต่ในคลอโรฟิลล์จะมีอะตอมกลางเป็นแมกนีเซียม (Mg) คลอโรฟิลล์แต่ละชนิดจะมีลักษณะที่แตกต่างกันออกไป เช่น คลอโรฟิลล์เอ และคลอโรฟิลล์บี มีโครงสร้างที่แตกต่างกันเพียงตำแหน่งวงแหวนไพโรลวงที่สองของคลอโรฟิลล์เอจะแทนที่ด้วยหมู่เมทิล ($-CH_3$) ส่วนคลอโรฟิลล์บีเป็นหมู่อัลดีไฮด์ ($-CHO$) (นิธิยา, 2549) ซึ่งโครงสร้างที่แตกต่างกันจะทำให้คุณสมบัติแตกต่างโดยเฉพาะความสามารถในการละลาย โดยที่หมู่เมทิลในโครงสร้างของคลอโรฟิลล์เอจะทำให้โมเลกุลมีขั้ว ดังนั้นจึงละลายได้ดีในสารละลายที่มีขั้ว เช่น แอลกอฮอล์ ส่วนหมู่อัลดีไฮด์จะไม่มีขั้วจึงทำให้คลอโรฟิลล์บีละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขั้ว เช่น ปิโตเลียมอีเทอร์



ภาพ 10 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์

ที่มา: ดัดแปลงจาก Lanfer-Marquez et al. (2005)



ภาพ 11 โครงสร้างของคลอโรฟิลล์

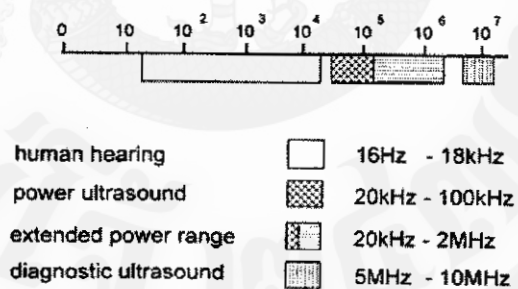
ที่มา: ดัดแปลงจาก Smith et al. (2010)

รายงานทางการแพทย์พบว่า การใช้คลอโรฟิลล์ในการบำบัดโรค เช่น โรคทางเดินอาหารลำไส้ใหญ่ โรคผิวหนังชนิดต่างๆ โดยเฉพาะแผลเรื้อรังเพื่อช่วยสมานแผล กล่าวคือ คลอโรฟิลล์สามารถใช้รักษาแผลเรียกเนื้อเยื่อให้แผลหายเร็วกว่าปกติ (กฤติยา, 2550) จากผลการวิจัยของ Egner et al. (2003) พบว่า สารคลอโรฟิลลินจะช่วยลดการทำลายของดีเอ็นเอ โดยสารอะฟลาทอกซิน (aflatoxin) ที่เกิดจากเชื้อราได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Jubert et al. (2009) ที่ได้ศึกษาผลของคลอโรฟิลล์และคลอโรฟิลลินต่อการดูดซึมสารอะฟลาทอกซินในเซลล์ โดยอาจช่วยจำกัดการดูดซึมสารอะฟลาทอกซินเข้าสู่ร่างกาย ในการศึกษาสารสกัดจากคลอโรฟิลล์ (จากการต้ม) พบว่า สารคลอโรฟิลล์จะช่วยฟื้นฟูริ้วรอย และความยืดหยุ่นของผิวหนังจากการถูกทำลายโดยแสงแดด อีกทั้งยังมีผลในการเพิ่มการผลิตคอลลาเจนในชั้นผิว และลดความเสียหายของชั้นผิวจากรังสี UV (Cho et al., 2006)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาสมบัติของสารคลอโรฟิลล์และคลอโรฟิลลินในการป้องกันมะเร็งที่เกิดจากสารไดเบนโซไพรีน (dibenzopyrene) ซึ่งเป็นสารก่อมะเร็งที่พบในควันบุหรี่ โดยผลการศึกษาในหนูทดลอง พบว่า คลอโรฟิลลินสามารถลดการดูดซึมสารก่อมะเร็งเข้าสู่ร่างกายได้ ทั้งนี้เป็นผลจากกลไกที่สอดคล้องกับสารคลอโรฟิลลินสามารถลดการจับสารไดเบนโซไพรีน กับดีเอ็นเอได้ (Castro et al., 2009; Keshava et al., 2009)

คลื่นอัลตราโซนิก (Ultrasonic waves)

คลื่นอัลตราโซนิก (ultrasonic waves) คือ พลังงานที่เกิดจากคลื่นเสียงที่มีความถี่สูงเกินกว่าที่มนุษย์จะได้ยิน โดยมีความถี่ (frequency) ที่มีการสั่นของคลื่นประมาณ 20,000 ครั้งต่อวินาที หรือสูงกว่า หรือคลื่นความดัน (pressure waves) ที่มีความถี่สูงกว่าคลื่นเสียงปกติ (สูงกว่า 20,000 กิโลเฮิร์ต, kHz) (Hoover, 2000) ซึ่งความถี่ที่นำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม หรือในกระบวนการแปรรูปอาหารนั้น สามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ ได้แก่ การใช้คลื่นอัลตราโซนิกกำลังต่ำและความถี่สูง (low power and high frequencies) จะใช้ในด้านการวิเคราะห์เป็นส่วนใหญ่ และการใช้คลื่นอัลตราโซนิกกำลังสูงและความถี่ต่ำ (high power and low frequencies) (Mason, 1998) การใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่กำลังสูงในกระบวนการแปรรูปอาหาร ทำให้เกิดผลต่อสมบัติทางกลและทางเคมีของอาหาร เนื่องจากคลื่นดังกล่าวทำให้เกิดปรากฏการณ์แคปิวเทชัน (cavitation) ซึ่งส่วนใหญ่จะใช้ที่ความถี่ในช่วง 20-40 kHz คลื่นความถี่ของอัลตราโซนิกในช่วงต่างๆ แสดงดังในภาพ 12

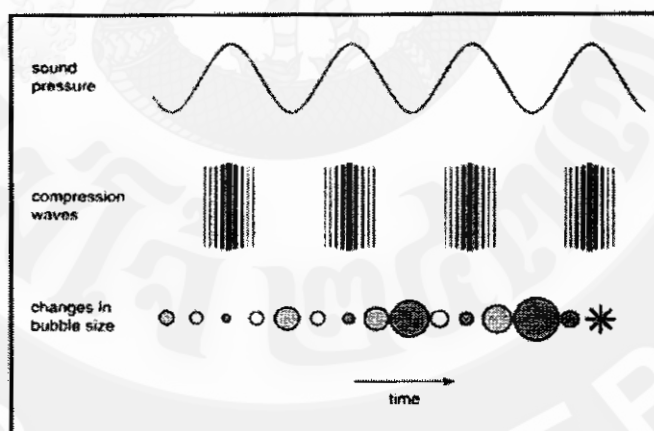


ภาพ 12 คลื่นความถี่ของอัลตราโซนิกในช่วงต่าง ๆ

ที่มา: Mason (1998)

กลไกการสั่นของคลื่นอัลตราโซนิก

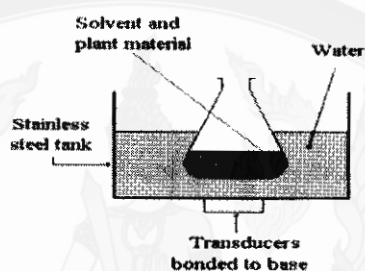
การประยุกต์ใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการช่วยสกัดสารสำคัญจากพืชได้นั้น เนื่องจากเนื้อเยื่อของพืชที่ประกอบด้วยเซลล์จะมีส่วนของผนังเซลล์อยู่ชั้นนอกสุด ซึ่งเป็นตัวที่ต้านทานการสกัดได้ การสกัดจะประกอบด้วยสองขั้นตอน คือ กระบวนการแพร่ผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลาย และการชะสารสำคัญออกจากเซลล์ เมื่อผนังเซลล์ถูกทำลาย ซึ่งคลื่นอัลตราโซนิกจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของกระบวนการดังกล่าวได้โดย การเกิดปรากฏการณ์แคปิวเตชัน โดยทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีและทางกายภาพจากแรงกลในช่วงอัดและช่วงขยายเมื่อคลื่นเคลื่อนที่ผ่านตัวทำละลายจะทำให้เกิดฟองอากาศ (bubbles) ของตัวทำละลายขนาดเล็กเป็นจำนวนมาก ซึ่งการที่เกิดฟองอากาศได้นั้นเนื่องจากโครงสร้างของของเหลวที่ได้รับคลื่นอัลตราโซนิกจะถูกบีบอัด (compress) และช่วงคลายตัว (stretch) ซ้ำไปซ้ำมาทำให้เกิดฟองอากาศขึ้น และฟองอากาศที่เกิดขึ้นภายในของเหลวจะสัมผัสกับแรงสั่นที่เกิดจากคลื่นอัลตราโซนิกเป็นระยะและจะเกิดการแตกเปลี่ยนแก๊สระหว่างกัน (Atchley and Crum, 1998) ดังแสดงในภาพ 13



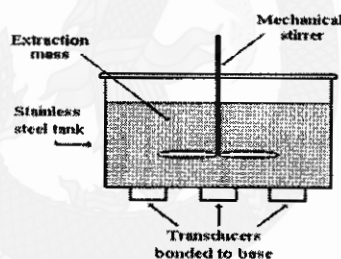
ภาพ 13 การเกิดฟองอากาศในตัวกลางเนื่องจากคลื่นอัลตราโซนิก

ที่มา: Suslick (1998)

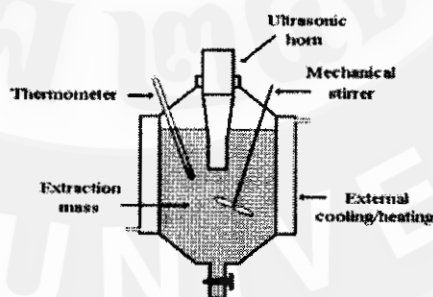
โดยรูปแบบของการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก มี 3 รูปแบบ คือ กระบวนการทางอ้อมโดยอาศัยตัวกลาง เช่น น้ำในการส่งผ่านคลื่นเสียง กระบวนการโดยตรงแบบให้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงติดกับตัวถังสกัด และกระบวนการโดยตรงแบบใช้ probe หรือ horn เป็นแหล่งกำเนิดของคลื่นเสียง ดังภาพ 14



กระบวนการทางอ้อมโดยอาศัยตัวกลาง เช่น น้ำในการส่งผ่านคลื่นเสียง



กระบวนการ โดยตรงแบบให้แหล่งกำเนิดคลื่นเสียงติดกับตัวถังสกัด



กระบวนการ โดยตรงแบบใช้ probe หรือ horn เป็นแหล่งกำเนิดของคลื่นเสียง

ภาพ 14 รูปแบบการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

ที่มา: ดัดแปลงจากสุเมธ (2551)

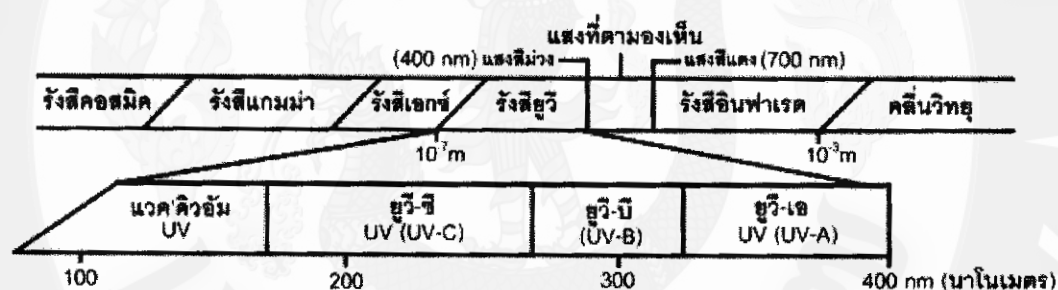
การใช้คลื่นอัลตราโซนิกในทางอุตสาหกรรมอาหาร

การนำคลื่นอัลตราโซนิกมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารยังคงมีการวิจัยศึกษาเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจากการศึกษาผลของคลื่นอัลตราโซนิกต่อกระบวนการแปรรูปน้ำผลไม้เบสลิค เบอร์รี่ที่ส่งผลต่อค่าสีและปริมาณสารแอนโทไซยานิน พบว่า ในการสกัดด้วยความถี่ต่ำ 20kHz มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสีและปริมาณสารแอนโทไซยานินที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการสกัด (Tiwari et al., 2009) และจากผลงานวิจัยยังสามารถช่วยเพิ่ม selectivity ของการสกัดโดยจะทำให้ลดเวลาการสกัดให้สั้นลงและเร่งกระบวนการสกัดของสารที่มีโมเลกุลต่ำ ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากผนังเซลล์ถูกทำลาย (สุเมธ, 2551) นอกจากนี้การใช้คลื่นอัลตราโซนิกยังช่วยให้ตัวทำลายแทรกซึมเข้าไปในวัสดุที่นำมาสกัดได้มากยิ่งขึ้น ทำให้การถ่ายเทมวลสาร (mass transfer) เพิ่มสูงขึ้นดังในตัวอย่างการสกัดสารในชา มินท์ ชิง เป็นต้น (Li et al., 1995; Mason and Zhao, 1994) นอกจากนี้คลื่นอัลตราโซนิกยังช่วยทำลายพื้นผิวที่บริเวณผนังเซลล์และภายในเซลล์ทำให้สารที่ต้องการสกัดสามารถออกมาได้ง่ายขึ้น ในงานวิจัยของ Hossain et al. (2012) ได้ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากมาร์จอรัมซึ่งเป็นพืชในตระกูลมินท์ (สาระแน) โดยใช้ความถี่ต่ำ 20kHz จะช่วยให้ผนังเซลล์เกิดความเสียหายส่งผลให้มีการปลดปล่อยสารต้านอนุมูลอิสระรวมทั้งสารประกอบฟีนอลออกมาเพิ่มมากขึ้น เช่นเดียวกับผลการวิจัยของ Carrera et al. (2012) ในองุ่นแดงที่ได้ทำการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่ความถี่ 24 kHz พบว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัดช่วยให้ผลวิเคราะห์ในเชิงปริมาณที่เพิ่มขึ้นโดยมีตัวชี้วัด คือ ปริมาณสารประกอบฟีนอล สารแอนโทไซยานิน และแทนนิน อีกทั้งยังใช้เวลาในการสกัดที่น้อยลง ทั้งนี้สามารถนำคลื่นอัลตราโซนิกมาช่วยพัฒนาในการสกัดได้เมื่อเทียบกับการสกัดแบบทั่วไป

นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Zhang et al. (2009) ได้วิจัยถึงผลของคลื่นอัลตราโซนิกในการสกัดสาร epimedin C จากใบสด epimedium ซึ่งเป็นพืชสมุนไพร พบว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดได้ ซึ่งในทางอุตสาหกรรมอาหารได้ให้ความสำคัญกับสาร epimedin C เนื่องจากเป็นสารสำคัญในกลุ่มฟลาโวนอยด์ที่มีส่วนช่วยในการป้องกันโรคหลอดเลือดหัวใจและโรคกระดูกพรุนได้ (Meng et al., 2005) และจากการศึกษานี้สามารถนำมาปรับให้เหมาะสมสำหรับกระบวนการแปรรูปในระดับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ อีกทั้งมีงานวิจัยที่ได้นำเทคโนโลยีอัลตราโซนิกมาใช้ในการกระบวนการผลิตน้ำองุ่น พบว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกมีผลทำให้ปริมาณสาร resveratrol ในน้ำองุ่นเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสาร resveratrol เป็นสารประกอบฟีนอลที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ รวมทั้งป้องกันการเกิดโรคมะเร็งด้านการอักเสบผลต่อการต้านริ้วรอยและความสามารถในการลดระดับน้ำตาลในเลือด (Hasan et al., 2013)

รังสีอัลตราไวโอเลต

รังสีอัลตราไวโอเลต (Ultraviolet) หรือ แสงยูวี เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้า เช่นเดียวกับคลื่นรังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา แสงแดด แต่มีช่วงแสงเป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความถี่สั้น และจะมีพลังงานสูงกว่าคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นมาก ซึ่งความยาวคลื่นแปรผกผันกับความถี่ กล่าวคือ แสงที่มีความยาวคลื่นสั้น ความถี่จะสูง และแสงที่มีความยาวคลื่นยาวจะมีความถี่ต่ำ แสงสีอัลตราไวโอเลต หรือ แสงยูวี เป็นคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่มีความยาวคลื่นตั้งแต่ 100 ถึง 400 นาโนเมตร ซึ่งมีพลังงานสูงพอที่จะกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาเคมี (แสง, ม.ป.ป.) โดยมีช่วงต่อจากแสงสีม่วง (ระหว่าง Visible Spectrum กับ X-ray) เป็นรังสีที่ตาคนมองไม่เห็น และไม่สามารถรับรู้ได้



ภาพ 15 ช่วงแถบสเปกตรัม (spectrum) ของรังสีอัลตราไวโอเลต

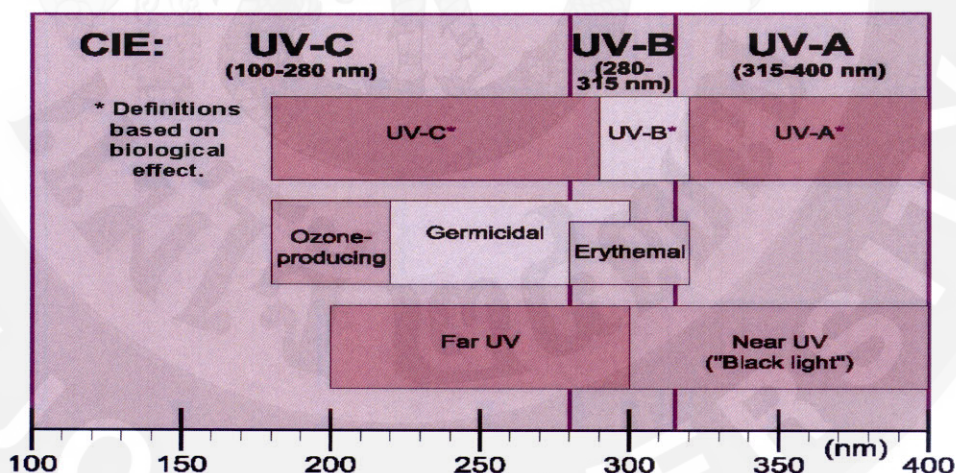
ที่มา: คัดแปลงจากแสง (ม.ป.ป.)

แสงยูวีสามารถแบ่งเป็น 3 ประเภท ตามช่วงความยาวคลื่น ดังนี้

1. UV-A ช่วงความยาวคลื่น 315-400 นาโนเมตร เป็นช่วงความยาวคลื่นที่มีพลังงานต่ำที่สุดของแสง มีปริมาณสูงในแสงแดด (ผ่านชั้นบรรยากาศของโลกมากที่สุดถึง 85.7 วัตต์ต่อตารางเมตร) จึงไม่ค่อยมีอันตรายมากนัก มีผลกระทบทำให้ผิวหนังมีสีคล้ำเนื่องจากเป็นคลื่นที่อยู่ใกล้กับแสงที่ตามองเห็น

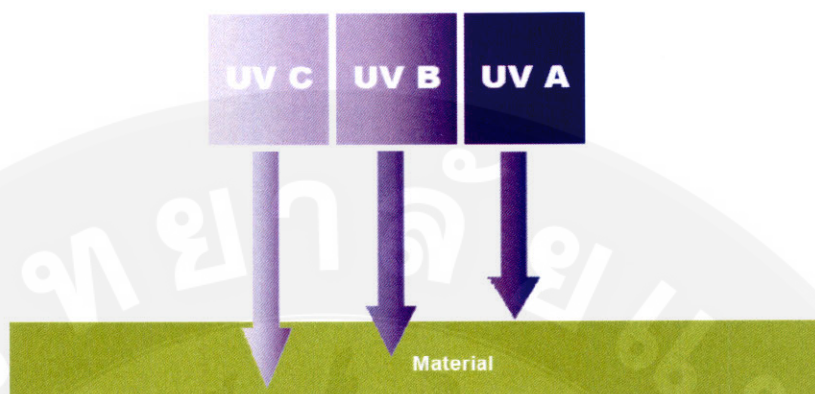
2. UV-B ช่วงความยาวคลื่น 280-315 นาโนเมตร จะมีพลังงานเพิ่มสูงขึ้น มีผลทำให้เกิดปฏิกิริยาทางชีวภาพมากที่สุดและมีผลต่อร่างกายและสิ่งของได้ ก่อให้เกิดการไหม้ของผิวหนัง (sunburn or erythematic) อาจเป็นต้นเหตุของการเกิดมะเร็งผิวหนังได้ แต่มีประโยชน์ในการรักษาโรคผิวหนังบางชนิดได้

3. UV-C ช่วงความยาวคลื่น 200-280 นาโนเมตรมีพลังงานสูงมาก เนื่องจากมีความยาวคลื่นสั้นที่สุด เป็นรังสีที่มีอันตรายต่อร่างกายได้อย่างรุนแรง อาจทำให้เกิดการไหม้บนผิวหนัง เยื่อตาอักเสบ (conjunctivitis) ทำให้ตาบอด และทำให้สารประกอบในกระจกตาขุ่น แต่สามารถนำมาประยุกต์มาใช้ประโยชน์ในการฆ่าเชื้อในอาหารได้



ภาพ 16 ช่วงความยาวคลื่นของรังสีอัลตราไวโอเลตแบบต่าง ๆ

ที่มา: Ryer (1997)



ภาพ 17 การทะลุทะลวงผ่านวัสดุของคลื่นรังสีอัลตราไวโอเลตแบบต่าง ๆ

ที่มา: Michael and Marie-Luis (2003)

การใช้รังสีอัลตราไวโอเลตในทางอุตสาหกรรมอาหาร

ปัจจุบันมีการนำรังสีอัลตราไวโอเลตมาใช้ในการรักษาคุณภาพอาหาร หรือนำมาใช้เพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาเนื่องจากเป็นเทคนิคใหม่ที่มีราคาไม่แพง และไม่ใช้ความร้อน (Shama, 2006) ทั้งนี้ยังมีงานวิจัยศึกษาการใช้รังสี UV-C ในกระบวนการผลิตไวน์ขาว โดยการให้รังสี UV-C สัมผัสบนผิวเปลือกองุ่นขาวหลังการเก็บเกี่ยวก่อนนำไปผลิตไวน์ พบว่า องุ่นขาวที่ผ่านการให้รังสี UV-C ช่วยเพิ่มคุณภาพไวน์ขาวและปริมาณสาร resveratrol สูงกว่าองุ่นขาวที่ไม่ผ่านรังสี UV-C และส่งผลทำให้ไวน์มีสีที่เข้มขึ้น อีกทั้งเมื่อนำกากองุ่นที่ผ่านรังสี UV-C เติมลงในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์จะส่งผลให้มีการสกัดสาร stilbenes ออกมาในไวน์เพิ่มมากขึ้น (Guerrero et al., 2010) ซึ่งสารสำคัญนี้เป็นสารประกอบในกลุ่มฟอลิฟีนอลที่มีประโยชน์ในการป้องกันหรือลดความเสี่ยงของโรคต่าง ๆ เช่น โรคมะเร็ง โรคหัวใจ และหลอดเลือด (Jang et al., 1997) ซึ่งสอดคล้องในงานวิจัย Guerrero et al. (2010) ที่ได้นำรังสี UV-C มาใช้เพื่อทำให้เกิดการสังเคราะห์สาร stilbenes ในองุ่นก่อนการผลิตไวน์ จากการศึกษาพบว่า องุ่นที่ผ่านรังสี UV-C จะช่วยทำให้ไวน์มีปริมาณสาร stilbenes เพิ่มมากขึ้น จึงเป็นส่วนสำคัญที่สามารถนำมาปรับใช้ในกระบวนการผลิตไวน์ที่อุดมด้วยสาร stilbene ให้เป็นที่รู้จักและทำให้ผลิตภัณฑ์มีมูลค่าเพิ่มเป็นที่ยอมรับของตลาด

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของการใช้รังสี UV-C ในกระบวนการผลิตน้ำแดงโม พบว่า รังสี UV-C ช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มโคลิฟอร์ม ยีสและเชื้อราทำให้สามารถยืดอายุการเก็บรักษาได้ อีกทั้งยังส่งผลทำให้ความเป็นกรด-เบส สารไลโคปีนและสารประกอบฟีนอลของน้ำผลแดงโมมีความคงตัวมากกว่าการไม่ใช้รังสี UV-C ได้นานถึง 25 วัน

หลังจากการใช้ UV-C ซึ่งการประยุกต์ใช้รังสี UV-C จะช่วยรักษาคุณภาพของน้ำแดงโม ดังนั้น กระบวนการผลิตนี้สามารถนำไปใช้เป็นวิธีการแปรรูปโดยไม่ใช้ความร้อนเพื่อความปลอดภัยและสามารถนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์ได้ (Feng et al., 2013) จากงานวิจัยของ Sales and Resurreccion (2010) พบว่า การใช้รังสี UV ร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัดถั่วลิสงจะช่วยให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอล รวมทั้งสาร resveratrol เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับการใช้รังสีหรือคลื่นอัลตราโซนิกเพียงอย่างเดียว ผลที่ได้มีความเหมาะสมสำหรับกระบวนการสกัดที่ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในถั่วลิสงที่เป็นประโยชน์ต่อสุขภาพแก่ผู้บริโภค เช่นเดียวกับงานวิจัยที่ได้ศึกษาผลของการใช้รังสี UV-C ต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมี กายภาพ และลักษณะทางประสาทสัมผัสของถั่วลิสงป่น พบว่า การใช้รังสี UV-C ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนสูงขึ้น ช่วยชะลอการสูญเสียปริมาณไขมัน และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในถั่วลิสงป่น สำหรับการทดสอบความชอบโดยรวมพบว่าผู้บริโภคให้การยอมรับถั่วลิสงป่นที่ผ่านการใช้รังสี UV-C ในด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัสไม่แตกต่างจากถั่วลิสงที่ไม่ผ่านรังสี UV-C ดังนั้นการใช้รังสี UV-C น่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมใช้ในการยืดอายุการเก็บรักษาถั่วลิสงป่น และรักษาคุณค่าทางโภชนาการไว้ได้ (พริมา และคณะ, 2555)

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการ

วัสดุอุปกรณ์

วัสดุดิบ

1. กล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 (บริษัท ข้าวธรรมชาติ จำกัด จังหวัดสุโขทัย)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (analytical balance: Sartorius BP 610, Germany)
2. เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (analytical balance: Sartorius CP 224S, Germany)
3. เครื่องหมุนเหวี่ยงตกตะกอนความเร็วสูง (centrifuge: Hettich, England)
4. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectrophotometer: Reyleigh VIS-723G, China)
5. เครื่องวัดความเป็นกรด-เบส (pH meter: Metrohm 744, Switzerland)
6. เครื่องวัดค่าสี (colorimeter: Tri-stimulus colorimeter, Japan)
7. ตู้อบลมร้อน (hot air oven: Termaks, Norway)
8. เครื่องอัลตราโซนิก (ultrasonic chamber: SANPA W-113, Japan)
9. ตู้รังสีอัลตราไวโอเลต (ultraviolet chamber)
10. เครื่อง HPLC (Agilent LC 1200, Infinity Series)

อุปกรณ์

1. ปีกเกอร์ (beaker)
2. หลอดทดลอง (tube)
3. กรวยแยก (separatory funnel)
4. กระบอกตวง (cylinder)
5. ขวดรูปชมพู่ (flask)
6. กรวยกรอง (funnel)

7. ขวดปรับปริมาตร (volumetric flask)
8. แท่งแก้วคนสาร (stirring rod)
9. ขวดปริมาตรก้นกลม (round bottom flask)
10. กระดาษกรอง (Nylon Syringe Filter; 0.45 μm)
11. หลอดวัดการดูดกลืนแสง (cuvettes)
12. บิวเรต (burette)
13. ปิเปต (pipette)
14. ไมโครปิเปต (micropipette)
15. ปิเปตทิป (pipette tip)
16. โถดูดความชื้น (desiccator)
17. เทอร์มอมิเตอร์ (thermometer)
18. กระป๋องอะลูมิเนียมพร้อมฝาปิด (moisture can)
19. ช้อนตักสารเคมี (dispensing spoons)
20. ขวดน้ำกลั่น (wash bottle)
21. ลูกยาง (rubber)
22. กระดาษกรอง (filter paper: Whatman No. 93)
23. กรวยบุชเนอร์ (buchner funnel)
24. นาฬิกาจับเวลา (stopwatch)
25. เข็มฉีดยา (Syringe)
26. ถาดอะลูมิเนียม (aluminum tray)
27. กระดาษอะลูมิเนียมฟอยล์ (aluminium foil)
28. ขวด duran
29. พาราฟิล์ม
30. ขวดลีซา
31. คอลัมน์ (Column: Zorbax Eclipse XDB-C18; 4.6x150 mm, 5 μm)

สารเคมี

1. Ethanol (Merck, Cat No. 1.00983)
2. Hydrochloric acid (Merck, Cat No.100317)
3. Trolox (Sigma-Aldrich, Cat No. 238813)
4. Ascorbic acid (Fisher, Cat No. A/8382/48)
5. ABTS [2,2'-azinobis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)] (Fluka, Cat No.11557)
6. Potassium persulfate (Carlo, Cat No.473701)
7. Ferrous sulfate heptahydrate (Merck, Cat No.103965)
8. Sodium acetate trihydrate (Fisher, Cat No.S/2040/60)
9. Glacial acetic acid (Merck, Cat No.100063)
10. Ferric chloride (Merck, Cat No.103943)
11. TPTZ [2,4,6-tris (2-pyridyl) s-triazine] (Sigma-Aldrich, Cat No.93285)
12. Sodium hydroxide (Merck, Cat No. 106498)
13. Gallic acid (Fluka, Cat No.48630)
14. Folin-Ciocalteu (Merck, Cat No. 109001)
15. Sodium carbonate (Ajax, Cat No. A463)
16. Diethyl ether (Merck, Cat No. 100921)
17. Acetone (Merck, Cat No. 1.00014.2500)
18. Calcium carbonate (Ajax, Cat No. 1201586)
19. Sodium sulfate (Merck, Cat No. A924749)
20. Methanol (Fisher, Cat No.M/4056/17)
21. Acetic acid (Merck, Cat No. 100063)
22. Water (ACI Labscan, Code No. LC1210)

วิธีการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการสกัดและตัวทำละลาย

ทำความสะอาดลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ด้วยน้ำสะอาด สะเด็ดน้ำ และตัดให้มีขนาดประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร ชั่งลำข้าว 3 กรัม ใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร จากนั้นเติมตัวทำละลายปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำการสกัดในด้วยเครื่องอัลตราโซนิคที่ความถี่ 28 kHz และเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (shaking water bath) และศึกษาตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด 4 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล 50% เอทานอล 70% และเอทานอล 95% โดยควบคุมอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่ 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที (ดัดแปลงจาก Zhang et al., 2009) นำมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ค่าสี (ระบบ CIE; L^* , a^* , b^*) และสมบัติทางชีวเคมีของสารสกัด โดยวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS radical cation decolorization assay (ABTS^{•+}) (ดัดแปลงจาก Re et al., 1999) วิธี Ferric reducing ability of power (FRAP) (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996) ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลทั้งหมด (ดัดแปลงจาก ประพันธ์ และวันทนี, 2545) และปริมาณคลอโรฟิลล์ (ดัดแปลงจาก ศุภกฤต, 2538)

จัดการสิ่งทดลองแบบ 2x4 แฟกทอเรียล และวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (2x4 Factorial: experiment in CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (SPSS version 16.0)

การศึกษาความถี่คลื่นอัลตราโซนิคที่เหมาะสมต่อการสกัด

ทำความสะอาดลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ด้วยน้ำสะอาด สะเด็ดน้ำ แล้วตัดให้มีขนาดประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร จากนั้นนำไปใส่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร (ปริมาณ 3 กรัมต่อขวด จำนวน 5 ขวด) แล้วเติมน้ำหรือตัวทำละลายปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำการสกัดโดยใช้ความถี่ 3 ระดับ คือ 28kHz, 45kHz และ 100 kHz ตัวทำละลาย ในการศึกษา ได้แก่ น้ำ เอทานอล 50% เอทานอล 70% และเอทานอล 95% โดยควบคุมอุณหภูมิในการสกัดที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที (ดัดแปลงจาก Zhang et al., 2009) จากนั้นนำสารสกัดมาวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและสมบัติทางชีวเคมี โดยการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลทั้งหมด และปริมาณคลอโรฟิลล์

จัดการสิ่งทดลองแบบ 3x4 แฟกทอเรียล และวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (3x4 Factorial: experiment in CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (SPSS version 16.0)

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) เพื่อหาระดับของปัจจัยที่เหมาะสมที่สุดในการสกัด โดยศึกษา 2 ปัจจัย คือ อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการสกัด ซึ่งกำหนดปัจจัย A แทนช่วงระดับอุณหภูมิ 30-98 องศาเซลเซียส และกำหนดปัจจัย B แทนช่วงระดับเวลา 10-120 นาที ผลจากการออกแบบโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนองคือ 17 treatment ได้แก่ treatment 1 = 81°C, 37.50 min; treatment 2 = 81°C, 92.50 min; treatment 3 = 64°C, 10.00 min; treatment 4 = 64°C, 37.50 min; Treatment 5 = 98°C, 120.00 min; treatment 6 = 64°C, 65.00 min; treatment 7 = 81°C, 65.00 min; treatment 8 = 30°C, 65.00 min; treatment 9 = 98°C, 10.00 min; treatment 10 = 47°C, 65.00 min; treatment 11 = 64°C, 120.00 min; treatment 12 = 47°C, 37.50 min; treatment 13 = 98°C, 65.00 min; treatment 14 = 47°C, 92.50 min; treatment 15 = 30°C, 10.00 min; treatment 16 = 30°C, 120.00 min; treatment 17 = 64°C, 92.50 min จากนั้นเก็บตัวอย่างสารสกัดเพื่อวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพ ค่าสี (ระบบ CIE; L*, a*, b*) สมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลทั้งหมด และปริมาณคลอโรฟิลล์ อาศัยโปรแกรมสำเร็จรูปทางสถิติในการคาดคะเนสภาวะการผลิตที่เหมาะสม (Minitab v.15)

การศึกษาผลของการให้รังสีอัลตราไวโอเลตต่อคุณภาพของสารสกัดจากลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1

นำลำข้าวสดที่ผ่านการล้างและลดขนาดลงให้มีขนาดประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร จำนวน 40 กรัม เกลี่ยใส่ถาด ให้มีความหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปวางในตู้ UV-C และให้รังสี UV-C (Sylvania, 15 วัตต์ 4 หลอด ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร) เป็นเวลานาน 0, 10, 20, 30, 60 นาที ตามลำดับ ก่อนนำมาสกัดในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาข้างต้น วิเคราะห์สมบัติต้านออกซิเดชันของสารสกัด ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลทั้งหมด และปริมาณคลอโรฟิลล์

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design: CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ ในแต่ละชุดการทดลอง วิเคราะห์ความแปรปรวนของข้อมูล (ANOVA) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป (SPSS version 16.0)

การศึกษาชนิดและปริมาณสารประกอบในกลุ่มฟีนอลของสารสกัดกล้ายาวพันธุ์สุโขทัย 1

นำสารสกัดจากกล้ายาวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่ได้จากการสกัดด้วยคลีนอัลตราโซนิก และการเขย่า มากรองผ่านกระดาษกรอง Nylon filter membranes ($0.45\mu\text{m}$) แล้วทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography) รุ่น (Agilent LC 1200, Infinity Series) โดยกำหนดสภาวะที่ใช้คือ คอลัมน์ชนิด Zorbax Eclipse XDB-C18 ($4.6 \times 150\text{ mm}$, $5\text{ }\mu\text{m}$), ตัวทำละลายเคลื่อนที่คือ $0.05\%\text{H}_2\text{SO}_4$: acetonitrile: ethylacetate ($86:12:2$; v/v/v), อัตราการไหลเท่ากับ 1 มิลลิลิตรต่อนาที และทำการฉีดตัวอย่างในปริมาตร 20 ไมโครลิตร วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ถูกชะออกมาที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร แล้วเปรียบเทียบพื้นที่ใต้รูปกราฟ (Peak area) ของสารที่ถูกแยกในช่วงค่าเวลาเฉพาะกับกราฟสารมาตรฐานเพื่อทราบชนิดและปริมาณของสารประกอบในกลุ่มฟีนอลของตัวอย่างหลังจากผ่านกระบวนการสกัด

บทที่ 4

ผลการวิจัยและวิจารณ์

การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการและตัวทำละลาย

ในการศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการสกัดได้เปรียบเทียบการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคและเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (shaking water bath) โดยใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล 50% เอทานอล 70% และเอทานอล 95% ควบคุมอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่ 50 องศาเซลเซียส 60 นาที จากนั้นนำสารสกัดมาวิเคราะห์ค่าสี สมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล และปริมาณคลอโรฟิลล์ สำหรับการวิเคราะห์ค่าสีจะใช้ค่าสีในระบบ CIE ที่ประกอบด้วยค่าสี L^* , a^* และ b^* โดยค่าสี L^* เป็นค่าความสว่าง ถ้าค่า L^* เข้าใกล้ 0 หมายถึงตัวอย่างมีความสว่างน้อยหรือมีสีคล้ำ แต่ถ้า L^* มีค่าเข้าใกล้ 100 หมายถึงตัวอย่างมีความสว่างมากจนเป็นสีขาว ค่าสี a^* แสดงค่าความเป็นสีแดงและสีเขียว ถ้าค่า a^* เป็นบวก หมายถึง ตัวอย่างเป็นสีแดง แต่ถ้าค่า a^* เป็นลบ หมายถึง ตัวอย่างเป็นสีเขียว และค่าสี b^* แสดงค่าความเป็นสีเหลืองและสีน้ำเงิน ถ้าค่า b^* เป็นบวก หมายถึง ตัวอย่างเป็นสีเหลือง แต่ถ้าค่า b^* เป็นลบ หมายถึงตัวอย่างเป็นสีน้ำเงิน

ผลจากการวิเคราะห์ค่าสี พบว่าการสกัดกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ด้วยคลื่นอัลตราโซนิคมีผลให้ค่าความสว่างของสารสกัดต่ำกว่าการสกัดด้วยวิธีการแบบเขย่า ดังแสดงในตาราง 4-6 โดยตัวอย่างสารสกัดที่ได้จากการใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับการใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 95% มีค่าความสว่างของสี (L^*) น้อยกว่าตัวอย่างสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 70%, 50% และน้ำ ตามลำดับ โดยค่าความสว่างของตัวอย่างสารสกัดมีค่าเท่ากับ 33.99, 68.82, 82.36 และ 87.86 ตามลำดับ ทั้งนี้การใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับการใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 95% มีค่าความสว่างน้อยกว่าการใช้วิธีการแบบเขย่าร่วมกับการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น โดยค่าความสว่างของตัวอย่างสารสกัดจากการใช้วิธีการแบบเขย่าร่วมกับตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 95%, 70%, 50% และน้ำ มีค่าเท่ากับ 50.40, 64.18, 87.82 และ 90.50 ตามลำดับ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความมีขี้หรือความสามารถในการละลายของคลอโรฟิลล์ โดยโครงสร้างของคลอโรฟิลล์ที่แตกต่างกันจะทำให้สมบัติด้านการละลายแตกต่างกันได้ โดยที่หมู่เมทิลในโครงสร้างของคลอโรฟิลล์เองจะทำให้โมเลกุลมีขี้ ดังนั้นจึงละลายได้ดีในสารละลายที่มีขี้ เช่น แอลกอฮอล์ ส่วนหมู่อัลคิไนด์จะไม่มีขี้จึงทำให้คลอโรฟิลล์ละลายได้ดีในตัวทำละลายที่ไม่มีขี้ เช่น ปิโตรเลียมอีเทอร์ (นิธิยา, 2549)

ตาราง 4 ค่าความสว่าง (L*) ของสารสกัดจากการสกัดสองวิธี

วิธีการสกัด	ค่าสี L*			
	ตัวทำละลาย			
	น้ำ	เอทานอล 50%	เอทานอล 70%	เอทานอล 95%
แบบแช่	90.50±0.00 ^a	87.82±0.09 ^b	64.18±0.00 ^c	50.40±0.14 ^d
US	87.86±0.00 ^a	82.36±0.00 ^b	68.82±0.08 ^c	33.99±0.00 ^d

หมายเหตุ - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)
 - ^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)
 - US = คลื่นอัลตราโซนิก

ตาราง 5 ค่าความเป็นสีเขียว-แดง (a*) ของสารสกัดจากการสกัดสองวิธี

วิธีการสกัด	ค่าสี a*			
	ตัวทำละลาย			
	น้ำ	เอทานอล 50%	เอทานอล 70%	เอทานอล 95%
แบบแช่	7.83±0.28 ^a	2.02±0.31 ^b	-31.69±0.70 ^d	-30.62±0.21 ^c
US	6.73±0.02 ^a	3.90±0.09 ^b	-30.85±0.35 ^c	-51.39±1.47 ^d

หมายเหตุ - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)
 - ^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)
 - US = คลื่นอัลตราโซนิก

ตาราง 6 ค่าความเป็นสีน้ำเงิน-เหลือง (b*) ของสารสกัดจากการสกัดสองวิธี

วิธีการสกัด	ค่าสี b*			
	ตัวทำละลาย			
	น้ำ	เอทานอล 50%	เอทานอล 70%	เอทานอล 95%
แบบเขย่า	17.49±0.00 ^d	58.47±0.24 ^c	115.81±0.00 ^b	116.57±0.25 ^a
US	21.81±0.00 ^d	55.24±0.27 ^c	118.66±0.14 ^a	94.71±0.00 ^b

- หมายเหตุ
- ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)
 - ^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)
 - US = คลื่นอัลตราโซนิก

สำหรับค่าความเป็นสีเขียว (a*) ของสารสกัด พบว่า การสกัดด้วยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับเอทานอลที่ความเข้มข้น 95 % จะมีค่าน้อยกว่าตัวอย่างสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 70%, 50% และน้ำ ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ -51.39, -30.85, 3.90 และ 6.73 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการใช้วิธีการแบบเขย่าร่วมกับการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น โดยค่าความเข้มของสีเขียวในตัวอย่างสารสกัดที่ได้จากการเขย่าร่วมกับตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 95%, 70%, 50% และน้ำ มีค่าเท่ากับ -30.62, -31.69, 2.02 และ 7.83 ตามลำดับ และในส่วนค่าความเป็นสีเหลือง (b*) พบว่า ตัวอย่างสารสกัดที่ได้จากการสกัดโดยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับเอทานอลที่ความเข้มข้น 70% มีค่าความเป็นสีเหลืองมากกว่าตัวอย่างสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 95%, 50% และน้ำ ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ 118.66, 94.79, 55.24 และ 21.81 ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีแบบเขย่ามีค่าเท่ากับ 116.57, 115.81, 58.47 และ 17.49 ตามลำดับ

สำหรับการวิเคราะห์สมบัติทางชีวเคมีของสารสกัดจากกล่ำข้าว โดยการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอล และปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่าวิธีการสกัดและตัวทำละลายเป็นปัจจัยที่แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเกี่ยวกับกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากกล่ำข้าว (ตาราง 7)

ทั้งนี้การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับการใช้ตัวทำละลายในการสกัดจะช่วยให้การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในกล้าข้าวมีประสิทธิภาพมากขึ้นเมื่อเทียบกับวิธีการแช่ ซึ่งการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับการใช้เอทานอล 95% ให้สารสกัดที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชันมากกว่าการใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 70%, 50% และน้ำ ($p < 0.05$) โดยตัวอย่างสารสกัดที่ได้มีสมบัติการต้านออกซิเดชัน เท่ากับ 24.48, 20.06, 18.63 และ 15.64 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอคซ์ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ สำหรับสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP ซึ่งเป็นการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระที่สามารถถ่ายเทอิเล็กตรอนให้กับสารประกอบเชิงซ้อน (Fe^{3+}) เกิดการเปลี่ยนรูปเป็น (Fe^{2+}) ซึ่งปริมาณของ (Fe^{2+}) ที่เกิดสามารถประมาณความสามารถในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระได้ในรูปของ FRAP value (Gohari et al., 2011) โดยสารสกัดดังกล่าว มีค่าเท่ากับ 23.78, 19.03, 13.85 และ 8.72 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ สำหรับปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลนั้นมีค่า 9.27, 7.71, 7.65 และ 7.01 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ เช่นเดียวกับการสกัดด้วยวิธีการแช่ร่วมกับการใช้เอทานอล 95% ให้ผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันมากกว่าการใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 70%, 50% และน้ำ โดยตัวอย่างสารสกัดที่ได้มีสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS⁺ เท่ากับ 20.55, 19.10, 16.73 และ 12.93 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอคซ์ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ส่วนสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP มีค่าเท่ากับ 23.06, 15.78, 11.92 และ 7.84 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ สำหรับปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลมีค่าเท่ากับ 6.96, 6.79, 6.61 และ 6.17 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ในสารสกัด พบว่า มีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อตัวทำละลายเอทานอลมีความเข้มข้นมากขึ้น โดยการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิก จะมีค่าอยู่ในช่วง 0.05-2.99 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง เช่นเดียวกับการสกัดด้วยวิธีการแช่ จะมีค่าอยู่ในช่วง 0.03-1.97 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง

จากการศึกษาเปรียบเทียบในแต่ละตัวทำละลาย พบว่าสมบัติการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลจะมีค่าเพิ่มสูงขึ้นเมื่อตัวทำละลายเอทานอลมีความเข้มข้นมากขึ้น แสดงให้เห็นว่า สารต้านอนุมูลอิสระในกล้าข้าวมีทั้งในส่วนที่มีขั้วและไม่มีขั้ว ดังนั้นตัวทำละลายเอทานอลสามารถนำมาใช้เพื่อให้ได้สารต้านอนุมูลอิสระที่สูงในสารสกัด โดยเฉพาะอย่างยิ่งจากกล้าข้าว อย่างไรก็ตามขึ้นกับวัตถุประสงค์การใช้งานด้วย เช่น อาจใช้น้ำในการสกัดได้เช่นกัน หากไม่ต้องการให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีการปนเปื้อนสารเคมี แต่สมบัติต้านออกซิเดชันจะลดลง เมื่อเทียบกับการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย

ตาราง 7 สมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล และปริมาณคลอโรฟิลล์ของสารสกัดที่สกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกเปรียบเทียบกับ
การเขย่า

คุณสมบัติทางชีวเคมี	วิธีการสกัด	ตัวทำละลาย			
		น้ำ	เอทานอล 50%	เอทานอล 70%	เอทานอล 95%
สมบัติการต้านออกซิเดชัน วิธีวิเคราะห์ ABTS ⁺ (มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์)	แบบเขย่า	12.93±0.38 ^d	16.73±0.56 ^c	19.10±1.65 ^b	20.55±1.33 ^a
	US	15.64±0.48 ^d	18.63±1.31 ^c	20.06±1.85 ^b	24.48±0.67 ^a
สมบัติการต้านออกซิเดชัน วิธีวิเคราะห์ FRAP (มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟต)	แบบเขย่า	7.84 ±0.15 ^d	11.92±1.26 ^c	15.78±2.70 ^b	23.06±1.08 ^a
	US	8.72 ±0.18 ^d	13.85±0.79 ^c	19.03±1.89 ^b	23.78±2.25 ^a
ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก)	แบบเขย่า	6.17±0.04 ^c	6.61±0.32 ^b	6.79±0.71 ^b	6.96±0.08 ^a
	US	7.01±0.06 ^c	7.65±0.99 ^b	7.71±0.45 ^b	9.27±0.28 ^a
ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัม)	แบบเขย่า	0.03 ±0.00 ^c	0.05±0.00 ^c	0.81±0.06 ^b	1.97±0.18 ^a
	US	0.05 ±0.00 ^c	0.06±0.01 ^c	1.53±0.04 ^b	2.99±0.03 ^a

- หมายเหตุ
- ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)
 - ^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)
 - US = คลื่นอัลตราโซนิก

ผลการศึกษาที่สอดคล้องกับงานวิจัยของ Huang et al. (2009) ที่ได้ศึกษาการสกัดสารฟลาโวนอยด์จาก *Folium eucommiae* ซึ่งเป็นพืชสมุนไพรพื้นบ้านของจีนโดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัด ที่พบว่าการใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นมากขึ้น ส่งผลให้การสกัดสารฟลาโวนอยด์มีปริมาณเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการเปลี่ยนแปลงของตัวทำละลายที่มีสภาพความเป็นขั้วมากขึ้น จึงส่งผลต่อการสกัดสารได้สูง ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่า เอทานอลสามารถให้ความดันไอที่เหมาะสม มีความหนืดและแรงตึงผิว ซึ่งเป็นลักษณะทางกายภาพที่สำคัญของตัวทำละลายที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการสกัด

Hayouni et al. (2007) ได้ศึกษาการใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกันในการสกัดสารประกอบฟีนอล รวมทั้งสารต้านอนุมูลอิสระจากผล Tunisian (*Quercus coccifera* L.) และ ผล (*Juniperus phoenicea* L.) ซึ่งพบว่า การใช้ตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วมากขึ้นจะมีผลในการจับกับอนุมูลอิสระมากกว่าการใช้ตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วต่ำ จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่า สารต้านอนุมูลอิสระ หรือสารประกอบในสารสกัดจะมีความเป็นขั้วที่แตกต่างกันทำให้มีผลต่อความสามารถในการละลายของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวทำละลายที่มีความเป็นขั้วแตกต่างกัน เช่นเดียวกับการศึกษาของ Tabaraki and Nateghi (2011) ที่ศึกษาการใช้คลื่นอัลตราโซนิกและตัวทำละลายชนิดต่างๆ ในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลจากรำข้าว พบว่า การใช้ตัวทำละลายเมทานอลให้ผลในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลดีกว่าการใช้เอทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซน เนื่องจากเมทานอลมีความเป็นขั้วมากกว่า อย่างไรก็ตามการใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงยังให้ผลในการสกัดที่ดี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Zou et al. (2011) ที่พบว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับการใช้เมทานอลที่มีความเข้มข้น 63.8% ในการสกัดจะส่งผลทำให้การสกัดสารแอนโทไซยานินจากลูกหม่อนมีปริมาณสูงสุด ทั้งนี้เป็นผลจากแรงกลที่เกิดจากการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกที่ช่วยให้การแทรกซึมของตัวทำละลายเข้าไปในเนื้อเยื่อพืชและเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างของแข็งและของเหลว จึงส่งผลให้ตัวถูกละลายเกิดกระจายตัวจากเนื้อเยื่อออกมายังตัวทำละลายได้รวดเร็ว

การเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัดขึ้นอยู่กับการศึกษาทางด้านเศรษฐกิจและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมของตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ใช้ ซึ่งตัวทำละลายเป็นหนึ่งในปัจจัยที่มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการสกัด โดยทั่วไปกระบวนการสกัดจะนิยมใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดสารประกอบจากพืชด้วยวิธีการทั่วไป (Hayouni et al., 2007; Tabaraki and Nateghi 2011; Oliveira et al., 2013)

จากงานวิจัยของ Oliveira et al. (2013) ที่ได้ศึกษาการสกัดน้ำมันจากเมล็ดเสาวรส โดยเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดด้วยวิธีการแบบแช่ การกลั่น และคลื่นอัลตราโซนิก พบว่า คลื่นอัลตราโซนิกสามารถเพิ่มผลผลิตได้ถึง 23.8% ในการสกัดและสามารถนำมาประยุกต์ใช้ แทนวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Huang et al. (2009) ที่พบว่า การสกัดสารฟลาโวนอยด์จาก *Folium eucommiae* ด้วยคลื่นอัลตราโซนิก จะให้ปริมาณสารฟลาโวนอยด์สูงถึง 41% ซึ่งมีประสิทธิภาพในการสกัดมากกว่าการใช้ความร้อน การใช้ไมโครเวฟ และเอนไซม์ จากผลการศึกษาที่ได้แสดงให้เห็นถึงอิทธิพลของการสั่นสะเทือนจากคลื่นอัลตราโซนิกที่มีผลต่อการทำลายเซลล์โดยช่วยลดขนาดอนุภาคของเซลล์ และเพิ่มพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างของแข็งและของเหลวทำให้ตัวทำละลายสามารถเข้าถึงองค์ประกอบภายในเซลล์ได้ (Fang et al., 2007)

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาเปรียบเทียบการใช้คลื่นอัลตราโซนิกกับวิธีการกลั่น และไมโครเวฟในการสกัดเปลือกต้นสน พบว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกจะส่งผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่เพิ่มขึ้น เช่น สารประกอบพอลิฟีนอล สารแทนนิน เป็นต้น ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากแรงกระทำจากคลื่นอัลตราโซนิกที่มีต่อชั้นเปลือกต้นสนจนทำให้ผนังเซลล์ถูกกัดเซาะ เพราะอนุภาคที่เกิดจากการสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิกผ่านตัวกลางที่มีความต้านทานต่อพลังงานจากคลื่นที่เกิดขึ้น โดยจากการนำเปลือกสนที่ผ่านการสกัดไปส่องกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (SEM) (Estrella and Katherina, 2011)

จากผลการทดลองในตอนนี้ได้ศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกและเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบแช่ ซึ่งพบว่าการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกมีประสิทธิภาพที่ดีต่อคุณภาพสารสกัดจากลำข้าวพันธุสุโขทัย 1 ทั้งนี้จะนำคลื่นอัลตราโซนิกดังกล่าวไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

การศึกษาความถี่คลื่นอัลตราโซนิกที่เหมาะสมต่อการสกัด

ในการศึกษาความถี่คลื่นอัลตราโซนิกที่เหมาะสมสำหรับการสกัด ได้ใช้ความถี่ 3 ระดับ คือ 28kHz, 45kHz และ 100kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล 50% เอทานอล 70% และเอทานอล 95% โดยควบคุมอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำสารสกัดมาวิเคราะห์ค่าสี สมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลทั้งหมด และปริมาณคลอโรฟิลล์ ผลจากการวัดค่าสีของสารสกัดที่ได้จาก ความถี่ 3 ระดับ พบว่า การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่ความถี่ต่ำ 28kHz ร่วมกับตัวทำละลายเอทานอล 70% จะให้ค่าความสว่าง (L^*) น้อยกว่าเมื่อเทียบกับการสกัดด้วยความถี่ 45kHz และ 100kHz ร่วมกับตัวทำละลายชนิดอื่น ($p < 0.05$) โดยพบว่ามีค่าความสว่างของสี (L^*) เท่ากับ 26.82, 46.89, 69.30 และ 84.92 ตามลำดับ (ตาราง 8-10) สำหรับค่าความสว่างของสี (L^*) ที่ความถี่ 45kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 95% มีค่าความสว่างของสี (L^*) น้อยกว่าตัวอย่างสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 70%, 50% และน้ำ ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ 39.42, 44.61, 68.38 และ 85.25 ตามลำดับ ส่วนค่าสี (L^*) ที่ความถี่ 100kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 95% มีค่าความสว่างของสี (L^*) น้อยกว่าตัวอย่างสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 70%, 50% และน้ำ ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ 44.12, 45.29, 81.68 และ 89.68 ตามลำดับ สำหรับในส่วนค่าความเป็นสีเขียว (a^*) พบว่า ที่ความถี่ 45kHz ร่วมกับการใช้เอทานอล 95% มีค่ามากกว่าการใช้ความถี่ 28 kHz และ 100 kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น โดยพบว่ามีค่าความเป็นสีเขียว (a^*) เท่ากับ -45.52, 0.95, 4.63 และ 7.70 ตามลำดับ ส่วนค่าความเป็นสีเขียว (a^*) ที่ความถี่ 28kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 95% มีค่าของสี (a^*) มากกว่าการใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 70%, 50% และน้ำ ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ -46.46, -7.89, 3.38 และ 6.92 ตามลำดับ ส่วนค่าสี (a^*) ที่ความถี่ 100kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอลที่ความเข้มข้น 95% มีค่าของสี (a^*) มากกว่าการใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 70%, 50% และน้ำ ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ -49.96, -22.78, 2.81 และ 7.40 ตามลำดับ และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) พบว่าที่ความถี่ 28 kHz ร่วมกับการใช้เอทานอล 50% จะให้ค่าความเป็นสีเหลืองมากกว่าการสกัดด้วยความถี่ 45kHz และ 100kHz ร่วมกับตัวทำละลายชนิดอื่น ($p < 0.05$)

ตาราง 8 ค่าความสว่าง (L*) ของสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคความถี่ 3 ระดับ

คลื่นความถี่	ค่าสี L*			
	ตัวทำละลาย			
	น้ำ	เอทานอล 50%	เอทานอล 70%	เอทานอล 95%
28kHz	84.92±0.00 ^{az}	69.30±0.00 ^{by}	26.82±0.00 ^{dz}	46.89±0.00 ^{cx}
45kHz	85.25±0.12 ^{ay}	68.38±0.00 ^{bz}	44.61±0.24 ^{cy}	39.42±0.00 ^{dz}
100kHz	89.68±0.11 ^{ax}	81.68±0.10 ^{bx}	45.29±0.53 ^{cx}	44.12±0.00 ^{dy}

หมายเหตุ - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)
 - ^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)
 - ^{x-z} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวสทมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตาราง 9 ค่าความเป็นสีเขียว-แดง (a*) ของสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคความถี่ 3 ระดับ

คลื่นความถี่	ค่าสี a*			
	ตัวทำละลาย			
	น้ำ	เอทานอล 50%	เอทานอล 70%	เอทานอล 95%
28kHz	6.92±0.19 ^{ay}	3.38±0.00 ^{by}	-7.89±0.00 ^{cy}	-46.46±0.00 ^{dx}
45kHz	7.70±0.42 ^{ax}	4.63±0.23 ^{bx}	0.95±0.59 ^{cx}	-45.52±0.85 ^{dx}
100kHz	7.40±0.48 ^{ax}	2.81±0.06 ^{bz}	-22.78±0.80 ^{cz}	-49.96±2.62 ^{dy}

หมายเหตุ - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)
 - ^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

- ^{x-z} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวสดมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

ตาราง 10 ค่าความเป็นสีน้ำเงิน-เหลือง (b^*) ของสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 3 ระดับ

คลื่นความถี่	ค่าสี b^*			
	ตัวทำละลาย			
	น้ำ	เอทานอล 50%	เอทานอล 70%	เอทานอล 95%
28kHz	27.46±0.00 ^{dy}	82.86±0.00 ^{ax}	46.24±0.00 ^{cz}	80.84±0.00 ^{bx}
45kHz	27.77±0.20 ^{dx}	81.28±0.00 ^{ay}	76.90±0.41 ^{by}	67.97±0.00 ^{cz}
100kHz	24.71±0.18 ^{dz}	75.43±0.20 ^{cz}	78.08±0.92 ^{ax}	76.07±0.00 ^{by}

- หมายเหตุ
- ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน ($n=6$)
 - ^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)
 - ^{x-z} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวสดมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$)

โดยพบว่ามีความเป็นสีเหลือง (b^*) เท่ากับ 82.86, 80.84, 46.24 และ 27.46 ตามลำดับ สำหรับค่าของสี (b^*) ที่ความถี่ 45kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 50% มีค่าของสี (b^*) มากกว่าการใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 95%, 70% และน้ำ ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ 81.28, 67.97, 76.90 และ 27.77 ตามลำดับ ส่วนค่าสี (b^*) ที่ความถี่ 100kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 70% มีค่าความสว่างของสี (b^*) มากกว่าการใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 95%, 50% และน้ำ ตามลำดับ โดยมีค่าเท่ากับ 78.08, 76.07, 75.43 และ 24.71 ตามลำดับ ซึ่งจากการศึกษาผลของคลื่นอัลตราโซนิกต่อกระบวนการแปรรูปน้ำผลไม้แบล็คเบอร์รี่ที่ส่งผลต่อค่าสีและปริมาณสารแอนโทไซยานิน พบว่าการสกัดด้วยคลื่นความถี่ต่ำ 20kHz มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงค่าสี (L^*) ที่มีแนวโน้มลดลง ค่าสี (a^*) มีค่าเพิ่มขึ้น และค่าสี (b^*) มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น และปริมาณสารแอนโทไซยานินที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการสกัด (Tiwari et al., 2009) เช่นเดียวกับการศึกษาการใช้คลื่นอัลตราโซนิกต่อกระบวนการแปรรูปน้ำองุ่นแดง พบว่า การใช้คลื่นความถี่ต่ำ 20kHz มีผลทำให้ค่าสี (L^*) ที่มีแนวโน้มลดลง ค่าสี (a^*)

มีค่าเพิ่มขึ้น และค่า b^* มีแนวโน้มลดลง ทั้งนี้การเปลี่ยนแปลงค่า b^* ที่เกิดขึ้นในระหว่างการสกัด อาจเป็นผลจากอิทธิพลของปัจจัยภายนอก เช่น ความสมบูรณ์ของอุณหภูมิ สายพันธุ์ของอุณหภูมิ เป็นต้น (Tiwari et al., 2010)

จากการศึกษาสมบัติทางชีวเคมีของสารสกัดโดยทำการวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS⁺, FRAP, ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด พบว่า คลื่นความถี่และตัวทำละลายเป็นปัจจัยที่แสดงให้เห็นถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเกี่ยวกับกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากกล้วย (ตาราง 11-12) ตัวอย่างสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 28kHz และ 45kHz ร่วมกับการใช้เอทานอล 95% ในการสกัดจะให้ผลของสมบัติการต้านออกซิเดชันมากกว่าการใช้ตัวทำละลายเอทานอล 70%, 50% และน้ำ ทั้งนี้ช่วยทำให้การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในกล้วยมีประสิทธิภาพมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยความถี่ 100kHz ร่วมกับตัวทำละลายชนิดอื่น ($p < 0.05$) โดยสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 28kHz มีค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS⁺ เท่ากับ 31.60, 24.01, 26.66 และ 22.38 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอคซ์ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ส่วนสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 45kHz มีค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS⁺ เท่ากับ 28.68, 21.42, 25.52 และ 19.41 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอคซ์ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ และสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 100kHz มีค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS⁺ เท่ากับ 26.22, 19.51, 23.82 และ 17.66 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอคซ์ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ สำหรับสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP พบว่า การใช้คลื่นความถี่ 45kHz ร่วมกับการใช้เอทานอล 95% ในการสกัดจะให้ค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันไม่แตกต่างกันเมื่อเปรียบเทียบกับ การสกัดด้วยความถี่ที่ 100kHz ($p > 0.05$) ซึ่งมีค่าเท่ากับ 31.04, 13.60, 18.79 และ 7.78 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ ส่วนคลื่นความถี่ที่ 100kHz มีค่าเท่ากับ 29.93, 21.03, 18.17 และ 6.96 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ และคลื่นความถี่ที่ 28kHz มีค่าเท่ากับ 27.77, 19.97, 19.78 และ 7.76 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ตามลำดับ

จากผลการศึกษาการใช้คลื่นความถี่ที่ 28kHz หรือ 45kHz ร่วมกับการใช้เอทานอล 95% จะส่งผลต่อค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS⁺ ที่เพิ่มสูงขึ้น แต่ค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP ให้ผลไม่แตกต่างกันมากเมื่อเทียบกับคลื่นความถี่แต่ละระดับที่ใช้ในการสกัด

ตาราง 11 สมบัติการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 3 ระดับ

สมบัติทางชีวเคมี	คลื่นความถี่	ตัวทำละลาย			
		น้ำ	เอทานอล 50%	เอทานอล 70%	เอทานอล 95%
สมบัติการต้านออกซิเดชัน วิธีวิเคราะห์ ABTS ⁺ (มิลลิกรัมสมมูลโทร็อกซ์)	28kHz	22.38±0.25 ^{dx}	26.66±0.07 ^{bx}	24.01±0.04 ^{cx}	31.60±0.07 ^{ax}
	45kHz	19.41±0.06 ^{dy}	25.52±0.02 ^{by}	21.42±0.04 ^{cxy}	28.68±0.02 ^{ax}
	100kHz	17.66±0.04 ^{dz}	23.82±0.09 ^{bz}	19.51±0.03 ^{cy}	26.22±0.10 ^{ay}
สมบัติการต้านออกซิเดชัน วิธีวิเคราะห์ FRAP (มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟต)	28kHz	7.76 ±0.12 ^{dy}	19.78±0.47 ^{cx}	19.97±0.79 ^{bx}	27.77±0.71 ^{ay}
	45kHz	7.78 ±0.31 ^{dxy}	18.79±0.07 ^{by}	13.60±0.11 ^{cy}	31.04±0.27 ^{ax}
	100kHz	6.96 ±0.44 ^{dz}	18.17±0.70 ^{cy}	21.03±0.51 ^{bx}	29.93±0.65 ^{axy}

หมายเหตุ

- ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)
- ^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)
- ^{x-z} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวสคมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ตาราง 12 ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลและปริมาณคลอโรฟิลล์ของสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 3 ระดับ

สารพฤษเคมี	คลื่นความถี่	ตัวทำละลาย			
		น้ำ	เอทานอล 50%	เอทานอล 70%	เอทานอล 95%
ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก)	28kHz	5.88±0.11 ^{dx}	8.82±0.09 ^{cz}	9.51±0.02 ^{bxy}	10.49±0.27 ^{ax}
	45kHz	5.22±0.04 ^{dy}	9.99±0.18 ^{ax}	6.98±0.10 ^{cy}	9.17±0.14 ^{bxy}
	100kHz	5.34±0.42 ^{dy}	9.30±0.09 ^{cy}	9.56±0.19 ^{bx}	9.00±0.11 ^{ax}
ปริมาณคลอโรฟิลล์ (มิลลิกรัม)	28kHz	0.02±0.00 ^{dy}	0.05±0.00 ^{cz}	2.34±0.01 ^{bx}	2.70±0.05 ^{ay}
	45kHz	0.05 ±0.01 ^{dx}	0.28±0.01 ^{cx}	2.04±0.11 ^{by}	2.37±0.04 ^{az}
	100kHz	0.06 ±0.02 ^{dx}	0.14±0.01 ^{cy}	1.87±0.00 ^{bz}	4.30±0.02 ^{ax}

หมายเหตุ

- ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=6)
- ^{a-d} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวนอน แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)
- ^{x-z} ค่าเฉลี่ยที่มีอักษรกำกับแตกต่างกันในแนวสคมภ์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p<0.05)

ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากปรากฏการณ์แคปวิเตชัน (cavitation) ที่เกิดจากความแรงของคลื่นอัลตราโซนิกที่ลดลงเมื่อคลื่นความถี่เพิ่มขึ้น ซึ่งปรากฏการณ์แคปวิเตชันจะทำให้เกิดฟองอากาศที่มีขนาดเล็กและมีพลังงานน้อยลงจึงส่งผลทำให้อัตราผลผลิตจากการสกัดลดลง (Kirpalani and McQuinn, 2006) สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล พบว่า การใช้คลื่นความถี่ทั้ง 3 ระดับ ร่วมกับการใช้เอทานอลมีผลต่อปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลที่เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ($p < 0.05$) โดยตัวอย่างสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 28kHz มีค่าเท่ากับ 5.88-10.49 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ส่วนการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 45kHz มีค่าเท่ากับ 5.22-9.99 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก 1 กรัมตัวอย่างแห้ง และการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 100kHz มีค่าเท่ากับ 5.34-9.56 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก 1 กรัมตัวอย่างแห้ง และการวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ในสารสกัด พบว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับการใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้นมากขึ้นส่งผลต่อปริมาณคลอโรฟิลล์ที่เพิ่มสูงขึ้น ($p < 0.05$) โดยการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 100 kHz ร่วมกับการใช้เอทานอล 95% ในการสกัดจะให้ค่าสูงสุด ซึ่งมีค่าอยู่ในช่วง 0.06-4.30 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ส่วนการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 28kHz จะมีค่าอยู่ในช่วง 0.02-2.70 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้งและการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 45kHz จะมีค่าอยู่ในช่วง 0.05-2.37 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง จากการประยุกต์ใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับการใช้เอทานอลที่ความเข้มข้นเพิ่มขึ้นจะมีผลต่อค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลในตัวอย่างสารสกัดจากลำข้าวอย่างมีนัยสำคัญ การศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นว่า การใช้เอทานอล (95%) สามารถนำมาใช้เพื่อให้มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดด้วยการใช้คลื่นความถี่ที่ 28kHz, 45kHz หรือ 100kHz ในการสกัดลำข้าวที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ และอาจแสดงให้เห็นว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกอาจมีผลกระทบน้อยกว่าปัจจัยที่เป็นตัวทำละลายในการสกัด

จากผลการสกัดโดยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกนั้นอาจเนื่องมาจากอิทธิพลของคลื่นความถี่ที่ส่งผ่านตัวกลาง (น้ำ) ให้เกิดโมเลกุลเล็ก ๆ ที่เกิดจากปรากฏการณ์แคปวิเตชันโดยทำให้เกิดฟองอากาศขึ้น และฟองอากาศที่เกิดขึ้นภายในของเหลวนี้จะสัมผัสกับแรงสั่นที่เกิดจากคลื่นอัลตราโซนิกส่งผลทำให้เกิดความดันต่อเนื่องของพืชที่บริเวณผนังเซลล์และภายในเซลล์ทำให้ของเหลวภายในเซลล์ไหลออกมายังตัวทำละลายได้ (Knorr et al., 2002) เช่นเดียวกับการศึกษาของ (Oliveira et al., 2013) พบว่าการสกัดน้ำมันจากเมล็ดเสาวรสด้วยคลื่นอัลตราโซนิก จะส่งเสริมการสกัดโดยผ่านการมีปฏิสัมพันธ์ของคลื่นกับโมเลกุลของสารอินทรีย์โดยคลื่นอัลตราโซนิกจะทำให้ผนังเซลล์แตกจึงเป็นผลทำให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพไหลออกจากเซลล์ได้ง่ายมากขึ้น

การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกสามารถเพิ่มการละลายของสารประกอบที่สำคัญในพืชโดยการแพร่กระจายหรือการเพิ่มอัตราการถ่ายเทมวลสารไปยังตัวทำละลาย ซึ่งตัวทำละลายจะช่วยลดความหนืดและลดแรงตึงผิวของเซลล์พืชส่งผลทำให้สารสกัดออกมายังตัวทำละลายมากขึ้น (Spigno et al., 2007) นอกจากนี้การเลือกใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมต่อการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพเป็นขั้นตอนแรกที่สำคัญต่อกระบวนการสกัด ซึ่งตัวทำละลายที่แตกต่างกันจะส่งผลให้มีคุณภาพและปริมาณขององค์ประกอบของสารสกัดที่แตกต่างกันไปด้วย จากผลการศึกษาการใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายซึ่งมีความเป็นขั้วน้อยกว่าน้ำ มีผลทำให้สารประกอบพอลิฟีนอลและคลอโรฟิลล์ซึ่งเป็นสารประกอบที่ไม่มีขั้วจะถูกสกัดออกมาจากใบอ่อนข้าวได้เป็นส่วนมาก เช่นเดียวกับการศึกษาการใช้เมทานอล เอทานอล เอ็น-บิวทานอล และน้ำ ในการสกัดสาร phillyrinin จากพืชสมุนไพรเหลียงเคี้ยว พบว่า การใช้เมทานอล และน้ำ ให้ผลต่อการสกัดสาร phillyrinin มากกว่าการใช้เอทานอล และเอ็น-บิวทานอล ทั้งนี้เป็นผลจากความมีขั้วมากขึ้นของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด (Xia et al., 2011)

จากการศึกษาของ Hossain et al. (2012) ได้ศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากมาร์จอร์มซึ่งเป็นพืชในตระกูลมินท์ (สาระแหน่) โดยการใช้คลื่นความถี่ต่ำ 20kHz พบว่า การใช้คลื่นความถี่ต่ำช่วยให้ผนังเซลล์เกิดความเสียหายจึงทำให้มีการปลดปล่อยสารต้านอนุมูลอิสระ รวมทั้งสารประกอบพอลิฟีนอลออกมายังตัวทำละลายเพิ่มมากขึ้น ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Carrera et al. (2012) ได้ศึกษาวิธีการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่ความถี่ต่ำ 24kHz ในการสกัดองุ่นแดง พบว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกในการสกัดช่วยให้ผลวิเคราะห์เชิงปริมาณที่เพิ่มขึ้น โดยมีตัวชี้วัด คือ การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอล สารแอนโทไซยานิน และแทนนิน และยังใช้เวลาในการสกัดที่น้อยลง

Kaul et al. (2011) พบว่า การใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่ความถี่ต่ำ 24kHz จะเพิ่มประสิทธิภาพของการสกัดร่วมกับตัวทำละลายที่มีต่อคุณภาพน้ำมันและสารประกอบฟีนอลจากเมล็ดสับจัมและเมล็ดมะเดื่อ ผลที่ได้อาจเนื่องจากการเกิดแคปิวิตีชันซึ่งเป็นผลกระทบที่เกิดจากฟองอากาศโดยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่ความเข้มสูง ซึ่งเกิดจากแอมพลิจูดที่มีขนาดใหญ่ของคลื่นอัลตราโซนิกส่งผ่านไปยังตัวกลางจึงทำให้เกิดการบีบอัดของฟองอากาศส่งผลทำให้โมเลกุลของตัวทำละลายมีการเปลี่ยนแปลงความหนาแน่นและความยืดหยุ่นจึงนำไปสู่การถ่ายเทมวลสารที่เพิ่มขึ้น ในระหว่างขั้นตอนการสกัดน้ำมัน เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Swamy and Narayana (2001) ได้กล่าวถึงการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่ความถี่ต่ำมีผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดดีกว่าการใช้คลื่นความถี่สูง เนื่องจากแรงของคลื่นความถี่ต่ำเกิดจากความสูงของแอมพลิจูด ซึ่งเป็นผลทำให้คลื่น

ความถี่ต่ำมีกำลังจากแรงเฉือนมากกว่า และคลื่นความถี่ต่ำยังมีส่วนทำให้เกิดฟองอากาศที่มีขนาดใหญ่ของตัวกลางจึงส่งผลต่อการกัดเซาะพื้นผิวของวัสดุได้ดี

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาการใช้คลื่นความถี่ต่ำ 25 kHz ในการสกัดสาร mangiferin ที่มีฤทธิ์ในการเป็นสารต้านออกซิเดชันจากใบมะม่วง พบว่า การใช้คลื่นความถี่ต่ำให้ผลต่อการสกัดสาร mangiferin ในปริมาณที่สูงขึ้น จากการทดลองการใช้คลื่นความถี่ต่ำส่งผลต่อการสกัดคือการที่ใช้คลื่นความถี่สูงอาจเป็นผลจากการเกิดแคปพิเทชันที่ลดลงเมื่อความถี่คลื่นสูงขึ้น เนื่องจากเมื่อความถี่สูงขึ้นทำให้เกิดฟองอากาศที่มีขนาดเล็กและมีกำลังน้อย จึงส่งผลทำให้การสกัดสารที่ได้มีปริมาณน้อยลง (Kulkarni and Rathod, 2014)

ปัจจุบันการนำคลื่นอัลตราโซนิคมาประยุกต์ใช้ในการสกัดร่วมกับตัวทำละลายเป็นที่ทราบกันดีว่าคลื่นอัลตราโซนิคจะทำให้เกิดปรากฏการณ์แคปพิเทชันในตัวอย่างที่เป็นพืช Chen et al. (2007) ซึ่งการเกิดปรากฏการณ์แคปพิเทชัน (cavitation) เป็นกระบวนการที่ทำให้เกิดฟองอากาศในตัวกลาง หรือตัวทำละลายที่ได้รับคลื่นเสียงอัลตราโซนิค โดยจะทำให้เกิดการย่อยสลายจากความรุนแรงของฟองอากาศที่มีขนาดเล็กในของเหลวเนื่องจากความผันผวนของความดันที่เกิดขึ้นจากแรงสั่นสะเทือนของคลื่นอัลตราโซนิค นอกจากนี้ชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีบทบาทสำคัญในการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลจากตัวอย่าง

จากผลการทดลองที่ได้ศึกษาค้นคว้าความถี่ที่เหมาะสมต่อการสกัด พบว่า ผลการสกัดด้วยคลื่นความถี่ต่ำ 28kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 95% โดยภาพรวมมีผลต่อคุณภาพสารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 แต่อย่างไรก็ตาม การเลือกใช้ตัวทำละลายขึ้นกับวัตถุประสงค์ในการใช้งานด้วย เช่น อาจใช้น้ำเป็นตัวสกัดได้เช่นกันหากไม่ต้องการให้ผลิตภัณฑ์ดังกล่าวมีการปนเปื้อนสารเคมี รวมทั้งต้นทุนในการผลิตและผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมของตัวทำละลายแต่ละชนิดที่ใช้ Tabaraki and Nateghi (2011) ทั้งนี้การใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายจะเกิดความเสียดังกล่าวต่อสภาพแวดล้อมและสุขภาพได้ Oliveira et al. (2013) ผลกระทบดังกล่าวจึงเป็นสาเหตุให้การศึกษาขั้นตอนต่อไปเลือกที่จะนำคลื่นอัลตราโซนิคความถี่ต่ำ 28kHz และตัวทำละลายนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกล่ำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ด้วยคลื่นอัลตราโซนิก

จากการศึกษาเบื้องต้นได้นำปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสกัดด้วยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ต่ำ 28kHz และตัวทำละลายน้ำมาใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดกล่ำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 โดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) เพื่อศึกษาผลของปัจจัย 2 ปัจจัยที่เหมาะสมที่สุดในการสกัด คือ อุณหภูมิ และเวลาที่ใช้ในการสกัด โดยกำหนดปัจจัย A แทนช่วงระดับอุณหภูมิ 30-98 องศาเซลเซียส และกำหนดปัจจัย B แทนช่วงระดับเวลา 10-120 นาที (ตาราง 13) จากนั้นนำสารสกัดมาวิเคราะห์ค่าสี สมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล และปริมาณคลอโรฟิลล์ และวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ในรูปแบบสมการ

จากการวัดค่าสีของสารสกัด พบว่า ระดับของอุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อค่าความสว่างของสี (L^*) ค่าความเป็นแดง (a^*) และค่าความเป็นสีเหลือง (b^*) ของสารสกัด โดยอุณหภูมิและระยะเวลาในการสกัดที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ค่าความสว่างของสารสกัดลดลง แต่ส่งผลต่อค่าความเป็นสีแดงและค่าความเป็นสีเหลืองเพิ่มขึ้น (ภาพ 18-20) แสดงให้เห็นว่าการให้อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลต่อการลดลงของค่าความสว่างของสารสกัด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rattanathanalerk et al. (2005) ที่พบว่าการให้ความร้อนที่สูงขึ้น (55-95 องศาเซลเซียส) ส่งผลต่อค่าความสว่างของสีที่ลดลง และค่าความเป็นสีแดงที่เพิ่มขึ้นของน้ำสับปะรด เนื่องจากการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลที่ไม่อาศัยเอนไซม์ (non-enzymatic browning) ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวเกิดจากการทำปฏิกิริยาระหว่างกรดอะมิโนและน้ำตาลในอาหารที่ผ่านกระบวนการให้ความร้อนสูง เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Garza et al. (1999) ที่ได้ศึกษาผลของความร้อนต่อการเปลี่ยนแปลงสีในน้ำลูกพีช พบว่าการให้อุณหภูมิที่เพิ่มสูงขึ้นส่งผลต่อการลดลงของค่าความสว่างของสีในน้ำลูกพีช และจากการศึกษาผลของระยะเวลาในการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกต่อค่าสีในน้ำผลไม้แบล็คเบอร์รี่ พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดมีผลต่อค่าความสว่างของสีน้ำผลไม้แบล็คเบอร์รี่มีค่าลดลง แต่ส่งผลทำให้ค่าความเป็นสีแดงและค่าความเป็นสีเหลืองของน้ำผลไม้แบล็คเบอร์รี่มีค่าเพิ่มขึ้น (Tiwari et al., 2009)

ตาราง 13 สมการแสดงความสัมพันธ์ของอุณหภูมิและเวลาที่ใช้ในการสกัด

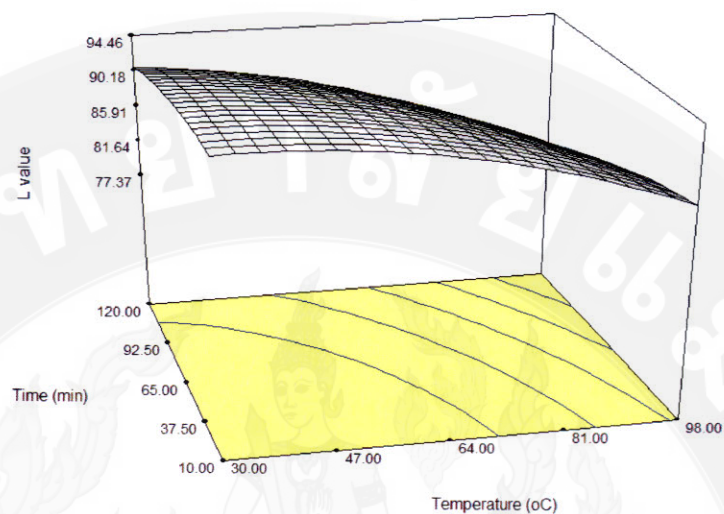
ค่าทดสอบ	สมการ	Adj.R ²
L * value	= 91.48 + (0.16 * A) + (0.02 * B) - (2.23 * A ²) - (3.56 * B ²) - (5.82 * A*B)	0.6812
a * value	= 11.44 - (0.77 * A) - (0.06 * B) + (1.40 * A ²) + (2.39 * B ²) + (5.92 * A*B)	0.7676
b * value	= 17.31 - (0.15 * A) + (0.14 * B) + (3.95 * A ²) - (3.03 * B ²) + (1.08 * A*B)	0.9137
สมบัติการต้านออกซิเดชัน วิธีวิเคราะห์ ABTS ⁺	= 8.32 - (0.04 * A) + (0.05 * B) + (1.71 * A ²) + (4.62 * B ²) - (6.39 * A*B)	0.5244
(มิลลิกรัมสมมูลโทรลอกซ์)	= 2.01 + (0.08 * A) + (0.01 * B)	0.4513
สมบัติการต้านออกซิเดชัน วิธีวิเคราะห์ FRAP		
(มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟต)	= 0.04 + (0.03 * A) + (0.03 * B) + (3.49 * A ²) - (5.06 * B ²) - (3.20 * A*B)	0.7154
ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล		
(มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก)	= 2.76 - (0.10 * A) - (1.10 * B) + (1.00 * A ²) - (7.74 * B ²) + (1.19 * A*B)	0.8904
ปริมาณคลอโรฟิลล์		
(มิลลิกรัม)		

ตาราง 14 ผลการทดลองจากการออกแบบโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง

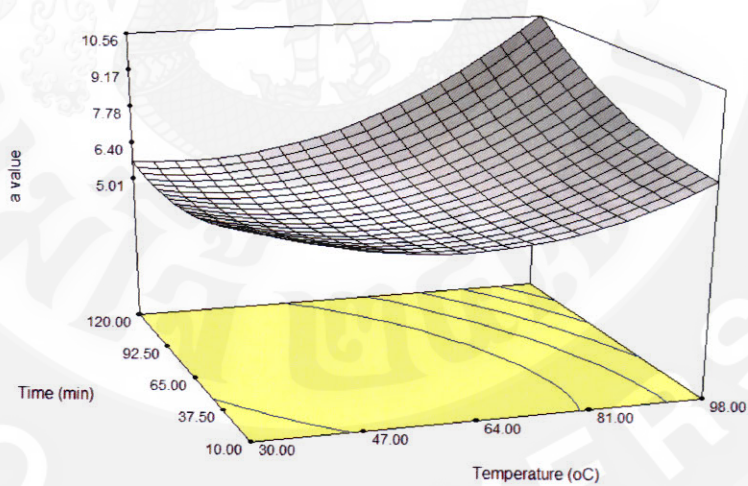
Test	Temperature (°C)	Time (min)	L* value	a* value	b* value
1	81.00	37.50	89.89	5.82	41.75
2	81.00	92.50	91.63	5.41	44.14
3	64.00	10.00	91.08	5.65	26.46
4	64.00	37.50	91.85	5.78	25.84
5	98.00	120.00	75.55	10.75	64.44
6	64.00	65.00	86.89	4.92	39.94
7	81.00	65.00	89.53	5.90	41.64
8	30.00	65.00	93.46	5.13	28.64
9	98.00	10.00	85.74	7.00	41.81
10	47.00	65.00	89.20	5.28	30.86
11	64.00	120.00	85.09	6.91	50.19
12	47.00	37.50	95.11	5.94	24.11
13	98.00	65.00	80.19	9.44	58.00
14	47.00	92.50	91.49	5.43	33.05
15	30.00	10.00	95.65	6.62	18.01
16	30.00	120.00	91.43	5.69	30.38
17	64.00	92.50	89.62	5.78	39.96

ตาราง 14 ผลการทดลองจากการออกแบบโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (ต่อ)

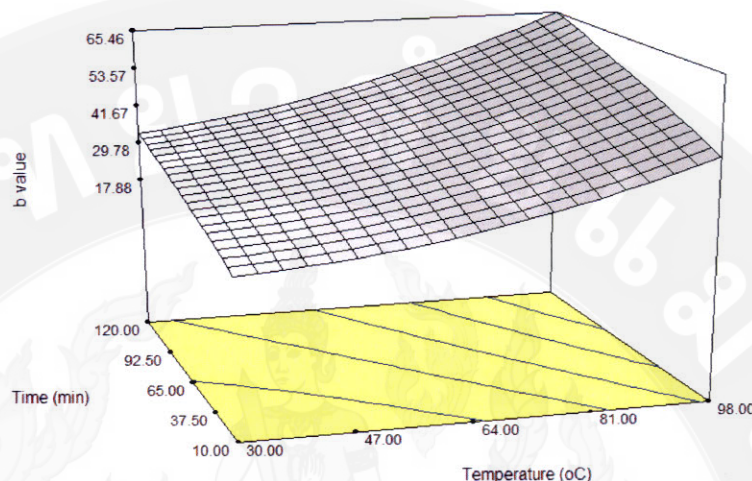
Test	Temperature (°C)	Time (min)	ABTS ⁺ (mg TEAC/1g DM)	FRAP (mg FeSO ₄ /1g DM)	TPC (mg GAE/1g DM)	Chlorophyll (mg/g)
1	81.00	37.50	22.03	2.90	7.48	1.98
2	81.00	92.50	14.31	7.69	4.62	1.42
3	64.00	10.00	13.05	10.11	4.96	0.91
4	64.00	37.50	8.22	6.73	3.33	0.46
5	98.00	120.00	20.62	12.21	7.67	3.91
6	64.00	65.00	16.31	10.16	5.18	0.86
7	81.00	65.00	14.69	11.60	6.31	1.36
8	30.00	65.00	10.59	6.01	3.29	0.81
9	98.00	10.00	19.57	13.66	7.24	2.19
10	47.00	65.00	14.25	9.71	5.20	0.67
11	64.00	120.00	16.18	8.71	5.45	0.92
12	47.00	37.50	8.71	5.50	3.12	0.35
13	98.00	65.00	21.32	12.49	7.55	3.36
14	47.00	92.50	13.24	8.18	4.72	0.46
15	30.00	10.00	10.34	3.19	2.06	0.38
16	30.00	120.00	13.41	5.88	3.92	0.98
17	64.00	92.50	15.75	9.39	5.16	0.84



ภาพ 18 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อค่าความสว่าง (L^*)

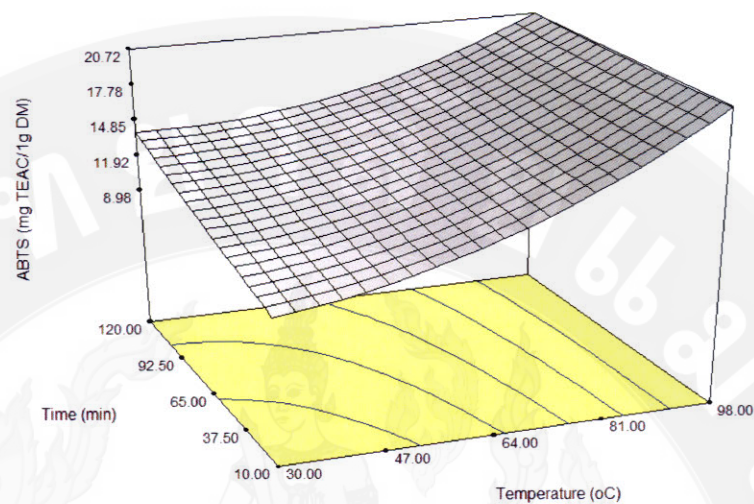


ภาพ 19 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อค่าความเป็นสีเขียว-แดง (a^*)

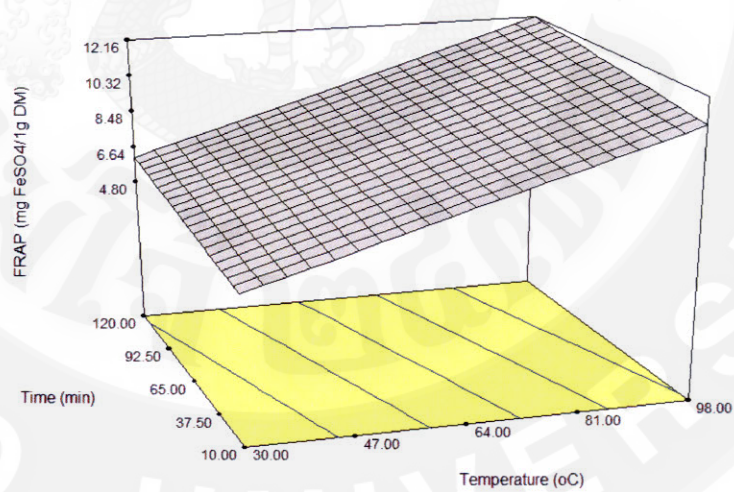


ภาพ 20 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อค่าความเป็นสีน้ำเงิน-เหลือง (b^*)

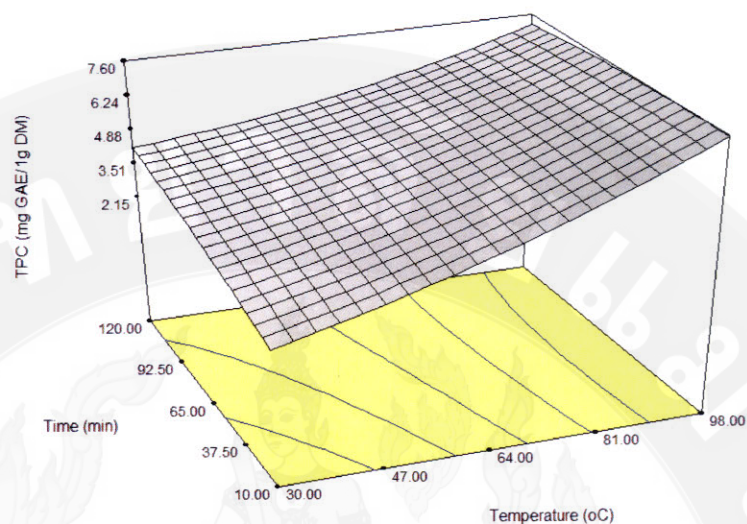
จากการศึกษาผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดต่อสมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล และปริมาณคลอโรฟิลล์ พบว่าเมื่ออุณหภูมิและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดกล้าข้าวเพิ่มขึ้นจะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของสมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล และปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สูงขึ้น (ภาพ 21-24) โดยพบว่า อุณหภูมิที่ 98 องศาเซลเซียส และเวลาที่ 120 นาที เป็นค่าที่ดีที่สุดที่มีผลต่อค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS⁺ มีค่าเท่ากับ 20.62 มิลลิกรัมสมมูลโทรลอคซ์ต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง และค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP มีค่าเท่ากับ 12.21 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลมีค่าเท่ากับ 7.67 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิก 1 กรัมตัวอย่างแห้ง และปริมาณคลอโรฟิลล์มีค่าเท่ากับ 3.91 มิลลิกรัมต่อ 1 กรัมตัวอย่างแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Su et al. (2007) พบว่าอุณหภูมิของน้ำและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดชาอู่หลง (Oolong tea) ที่เพิ่มขึ้นมีผลทำให้สมบัติการต้านออกซิเดชันและสารประกอบพอลิฟีนอลเพิ่มขึ้น ในระหว่างกระบวนการสกัดที่ใช้ความร้อนสูงในการสกัดนั้น ความร้อนจากกระบวนการสกัดจะส่งผลทำให้ผนังเซลล์พืชแตกสลาย องค์ประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบพอลิฟีนอลที่ละลายน้ำได้ในเซลล์พืชเกิดการสลายตัว (Randhir et al., 2008; Scalzo et al., 2004) ส่งผลให้สมบัติการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลที่สกัดออกมามีมากขึ้น



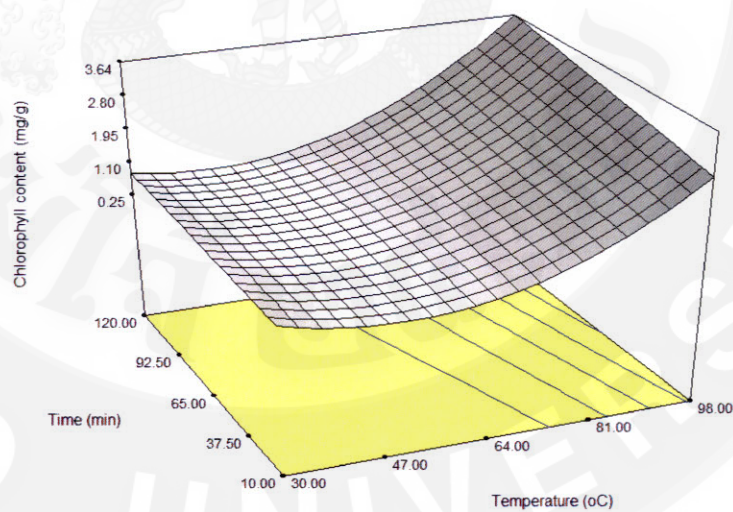
ภาพ 21 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS⁺



ภาพ 22 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP



ภาพ 23 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อปริมาณสารประกอบฟอลิฟินอล



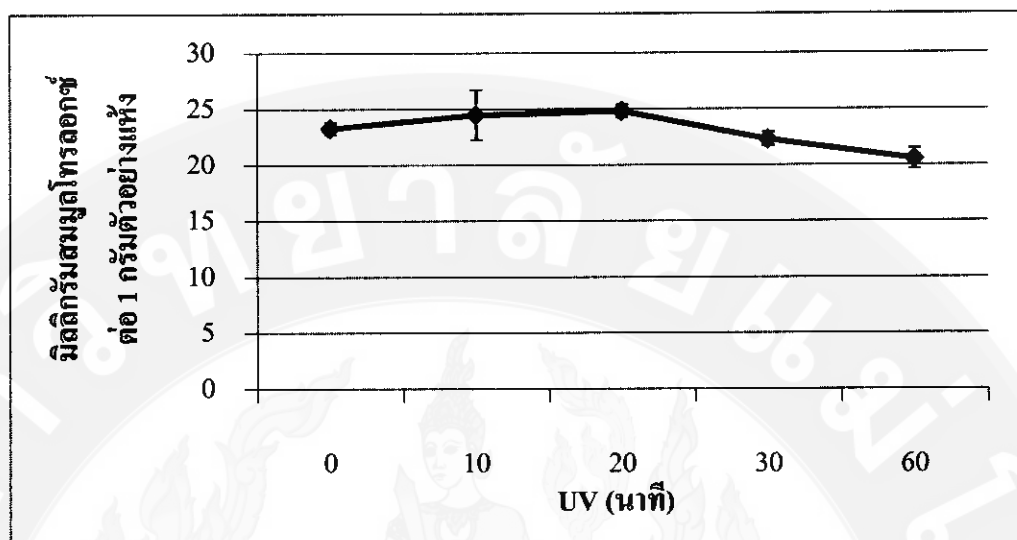
ภาพ 24 อิทธิพลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่มีต่อปริมาณคลอโรฟิลล์

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิน้ำร้อนต่อการสกัดสารที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารประกอบพอลิฟีนอลในพืช *Enicostemma littorale* พบว่าการใช้น้ำที่อุณหภูมิน้ำเดือดสามารถสกัดสารประกอบพอลิฟีนอลได้มากกว่าการใช้น้ำที่อุณหภูมิต่ำกว่า (Sthishkumar et al., 2009) เช่นเดียวกับการศึกษาของ Labbe et al. (2006) พบว่าอุณหภูมิและระยะเวลาในการชงชาเขียวที่เพิ่มขึ้น ส่งผลต่อการละลายที่เพิ่มขึ้นของสารคาเทชินและคาเฟอีน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Liebert et al. (1999) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดชาเขียวและชาดำขึ้นอยู่กับระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดที่เพิ่มขึ้น จะส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลในน้ำชา นอกจากนี้ยังพบว่าอิทธิพลของความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส และระยะเวลา 15-30 นาที ที่ใช้ในการสกัดเห็ดหอมสด ส่งผลทำให้ตัวอย่างมีสมบัติการต้านออกซิเดชันและสารประกอบพอลิฟีนอลที่เพิ่มขึ้น (Choi et al., 2006) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากความร้อนที่เกิดจากอุณหภูมิที่สูงขึ้นในระหว่างกระบวนการสกัดช่วยให้เนื้อเยื่อพืชอ่อนตัวลง สารต่าง ๆ ที่อยู่ภายในเซลล์จึงสามารถหลุดออกมาได้ง่ายขึ้นและส่งผลให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลของสารประกอบพอลิฟีนอลที่อาจมีการสลายตัวเป็นโมเลกุลขนาดเล็กลง (Scalzo et al., 2004; Dewanto et al., 2002) ในการศึกษาของ Salleh-Mack and Roberts (2007) พบว่าการนำคลื่นอัลตราโซนิกมาใช้ในการกระบวนการพาสเจอร์ไรซ์น้ำผลไม้ไม่มีผลทำให้เกิดความร้อนในระหว่างกระบวนการสกัดและยังพบว่าความร้อนที่เกิดขึ้นสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* (ATCC 25922) เมื่อระยะเวลาในการสกัดที่เพิ่มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาการใช้คลื่นอัลตราโซนิกที่ความถี่ต่ำ 25kHz มาปรับปรุงคุณภาพของน้ำส้ม พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดที่ 60 นาที ส่งผลทำให้สารต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มมีค่าสูงกว่าการใช้เวลาสกัดที่ 30 นาที อีกทั้งยังสามารถลดปริมาณจำนวนของเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งยีสต์และราได้ (Bhat et al., 2011) และจากการศึกษาผลของระยะเวลาและอุณหภูมิในการสกัดองุ่น พบว่าการใช้อุณหภูมิที่สูง 60 องศาเซลเซียสให้ผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบพีนอลสูงกว่าการใช้อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส และระยะเวลาที่ใช้ในการสกัดพบว่าการใช้ระยะเวลาที่นานขึ้น 20 ชั่วโมง ส่งผลต่อสมบัติการต้านออกซิเดชันและปริมาณสารประกอบพีนอลที่เพิ่มสูงขึ้น (Spigno et al., 2007)

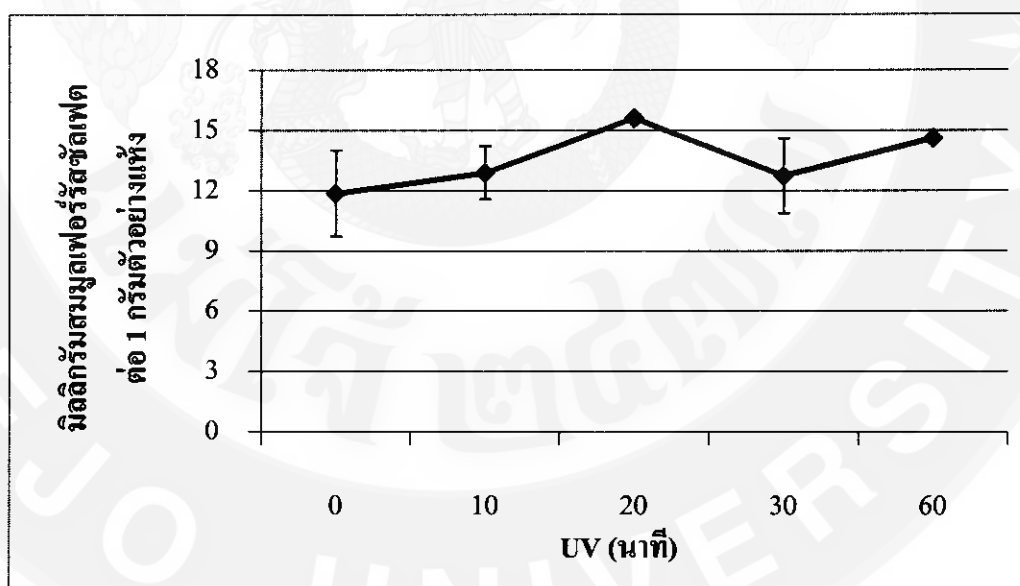
การศึกษาผลของการให้รังสีอัลตราไวโอเลตต่อคุณภาพ ของสารสกัดจากลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1

ตัวอย่างลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่ผ่านการล้างและลดขนาดลงให้มีขนาดประมาณ 0.5-1 เซนติเมตร โดยใช้ลำข้าวสด 40 กรัม ถูกลำมาเกลี่ยใส่ถาดให้มีความหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร แล้ววางในตู้ UV-C จากนั้นให้คลื่น UV-C (ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร) เป็นเวลา 0, 10, 20, 30, 60 นาที ตามลำดับ ก่อนนำมาสกัดในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาเบื้องต้นโดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 28 kHz ที่อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที จากนั้นนำมาวิเคราะห์สมบัติทางชีวเคมีของสารสกัดจากลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1

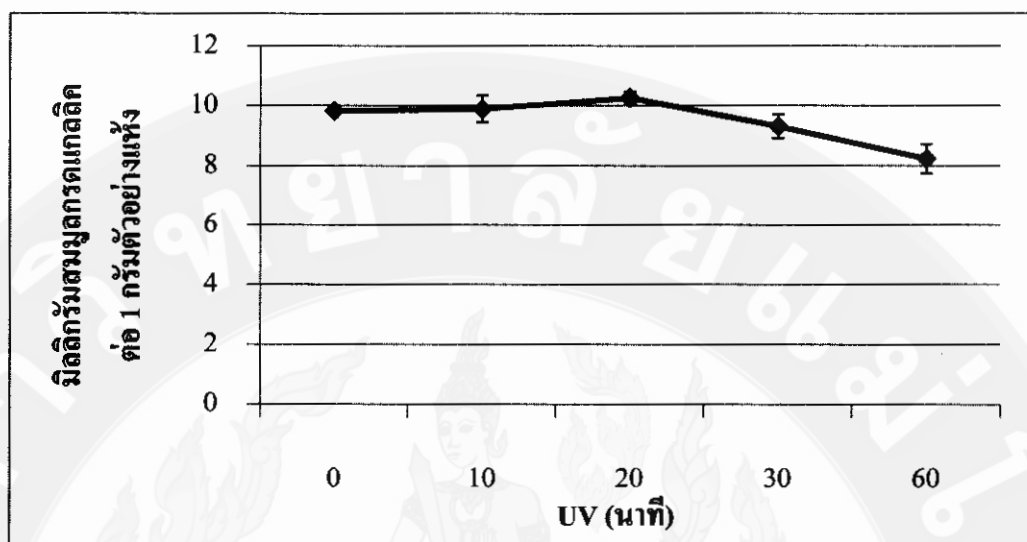
จากการวิเคราะห์สมบัติทางชีวเคมีของสารสกัด พบว่า สมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟอสฟีนอล และปริมาณคลอโรฟิลล์มีค่าแนวโน้มที่ลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการให้รังสีอัลตราไวโอเลต ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าการให้รังสีอัลตราไวโอเลตแก่ตัวอย่างใบอ่อนข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ส่งผลต่อการลดลงของสมบัติทางชีวเคมีดังกล่าว สอดคล้องกับการศึกษาของ Wang et al. (2009) พบว่าการให้รังสีอัลตราไวโอเลต (UV-C) ในระยะเวลาที่นานมากขึ้นส่งผลต่อปริมาณฟลาโวนอยด์ ปริมาณฟีนอล แอนโทไซยานิน และสารต้านอนุมูลอิสระ ที่มีค่าลดลงในผลบลูเบอร์รี่ เช่นเดียวกับการรายงานของ Baka et al. (1999) ได้รายงานผลของการให้รังสีอัลตราไวโอเลต (UV-C) ต่อผลสตอเบอร์รี่สด ซึ่งพบว่าเมื่อให้รังสีอัลตราไวโอเลตที่ความเข้มสูงขึ้นมีผลให้ผนังเซลล์พืชเกิดความเครียดมากขึ้นไปและอาจส่งผลทำให้ผนังเซลล์เกิดความเสียหายได้ มีการรายงานพบว่าการให้รังสี UV-C ร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ต่ำจะสามารถช่วยให้สารต้านอนุมูลอิสระมีปริมาณที่สูงขึ้น (Sales and Resurreccion, 2010) อย่างไรก็ตามการให้รังสี UV-C อาจก่อให้เกิดทั้งผลดีและผลเสีย เช่น ทำลายโครงสร้างของวิตามิน โปรตีน หรือสารต้านอนุมูลอิสระ สีของอาหารเปลี่ยนแปลงไป ซึ่งการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวอาจขึ้นอยู่กับปฏิกิริยาการดูดกลืนแสง (photochemical reaction) ของสารที่เป็นองค์ประกอบภายในอาหารแต่ละชนิด (Falguera et al., 2011) จากการศึกษาของ Artes-Hernandez et al. (2010) พบว่าการให้รังสี UV-C ในแดงโมัดัดแต่งสดมีผลทำให้ปริมาณไลโคปีนและวิตามินซีมีแนวโน้มที่ลดลงตลอดอายุการเก็บรักษา แต่สามารถช่วยลดปริมาณจำนวนเชื้อจุลินทรีย์ลงได้



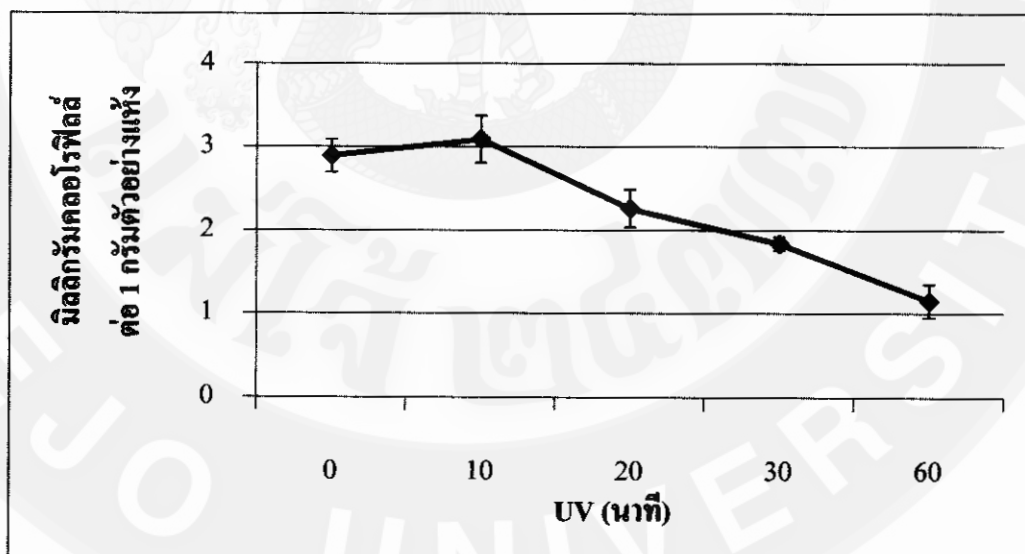
ภาพ 25 สมบัติการต้านออกซิเดชันวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS⁺ ของสารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1



ภาพ 26 สมบัติการต้านออกซิเดชันวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP ของสารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1



ภาพ 27 ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลของสารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1



ภาพ 28 ปริมาณคลอโรฟิลล์ของสารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1

การให้รังสีในอาหารจะทำให้อาหารเกิดการเปลี่ยนแปลงได้หลายลักษณะ เช่น ทำให้โมเลกุลที่มีขนาดยาวของเซลล์ulosแตกตัวเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเล็กลง ซึ่งเซลล์ulosเป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ในพืช ดังนั้นผักหรือผลไม้บางชนิดจึงเกิดการอ่อนนุ่มหรือเกิดการสูญเสียคุณภาพของเนื้อสัมผัส รวมทั้งทำให้สีของผักและผลไม้เปลี่ยนแปลงไปจากการผ่านรังสี เช่นเดียวกับการศึกษาผลของรังสี UV-C ต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในคะน้า พบว่าสามารถกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการต้านอนุมูลอิสระในคะน้าได้ และชะลอการลดลงของปริมาณวิตามินซีและคาร์โรทีนอยด์ (ชัยรัตน์ และวาริช, 2552) อย่างไรก็ตามการให้รังสี UV-C อาจมีผลทำให้เกิดการสูญเสียน้ำ ซึ่งการสูญเสียน้ำของผลิตผลสามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ ascorbic acid oxidase, polyphenol oxidase และ peroxidase ส่งผลทำให้ปริมาณวิตามินซีลดลงอย่างรวดเร็ว (จริงแท้, 2538) เช่นเดียวกับการรายงานของ Rosenthal (1992) พบว่าการให้รังสีแก่อำหารอาจทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีในอาหารได้ ซึ่งการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของอาหารที่เกิดขึ้นนั้นเป็นผลจากการแตกตัวเป็นไอออนของน้ำเนื่องมาจากรังสีทำปฏิกิริยาต่อเนื่องกับสารอื่น ๆ ภายในอาหาร ซึ่งในอาหารโดยส่วนใหญ่จะมีความชื้นสูงเมื่อได้รับรังสีจะทำให้ น้ำแตกตัวเป็นไอออนได้ ทั้งนี้องค์ประกอบทางเคมีที่ซับซ้อนในอาหารก็เป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีที่แตกต่างกันไปหลังการผ่านรังสี

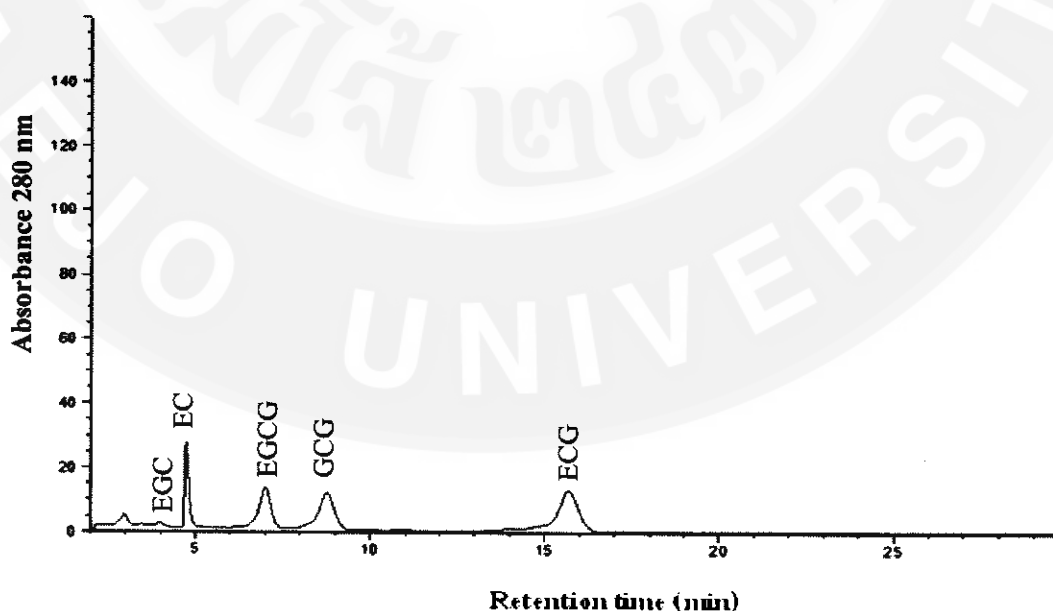
จากผลการศึกษาของ Park et al. (2013) ในการให้รังสี UV-C ต่อใบข้าว (*Oryza sativa* L. spp. *Japonica* cv. *Dongjin*) พบว่าการให้รังสี UV-C มีผลต่อปริมาณสารฟลาโวนอยด์และปริมาณสารประกอบฟีนอลที่ลดลงเมื่อเพิ่มระยะเวลาการให้รังสีที่นานขึ้น ทั้งนี้อาจเป็นผลจากการตอบสนองและกลไกการทำงานของสารประกอบทางเคมีในใบข้าวที่มีต่อรังสี จากการรายงานของ King and Morris (1994) ได้กล่าวว่าผักและผลไม้หลังจากการเก็บเกี่ยวจะเกิดความเสียหายอย่างรุนแรงหลังจากการลดลงของพลังงาน สารอาหาร ฮอโมนและน้ำ ที่มีอยู่ภายในเซลล์พืชซึ่งจะส่งผลทำให้พืชเกิดการเสื่อมสภาพอย่างรวดเร็ว อีกทั้งการให้รังสี UV-C มีผลต่อการลดลงของค่าสี L^* , a^* และ b^* ในแตงโมตัดแต่งสด ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากแสง UV-C หรือระยะเวลาในการเก็บรักษานั้นทำให้เกิดความแตกต่างของค่าสี L^* , a^* และ b^* ผลที่ได้แสดงให้เห็นว่าค่าสี a^* และ b^* มีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณไลโคปีน และเบต้า-แคโรทีนที่มีในแตงโมตัดแต่งสด ซึ่งผลที่เกิดขึ้นพบว่าแสง UV โดยเฉพาอย่างยิ่งแสง UV-C นั้นมีผลเหนี่ยวนำทำให้ปริมาณไลโคปีนและเบต้า-แคโรทีนนั้นลดลง รวมทั้งอาจมีผลต่อปริมาณของสารประกอบบางตัวและสามารถกระตุ้นทำให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันที่จะนำไปสู่การเปลี่ยนแปลงของสีทำให้สีซีดจางลงได้ (Fonseca and Rushing, 2006; Jay, 1997)

ในการศึกษาของ Vicente et al. (2005) พบว่าการให้รังสี UV-C ส่งผลให้สารแคโรทีนอยด์ในพริกไทยมีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับในพริกไทยที่ไม่ผ่านการให้รังสี UV-C และส่งผลต่อค่าความสว่างของพริกไทยที่ลดลง นอกจากนี้ยังมีการศึกษาผลของการให้รังสี UV-C ในมะเขือเทศ พบว่าการให้รังสี UV-C มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงความแน่นเนื้อที่ลดลงและเกิดการเสื่อมสภาพของผนังเซลล์จากกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันจากการสัมผัสกับรังสี UV-C (Barka et al., 2000)

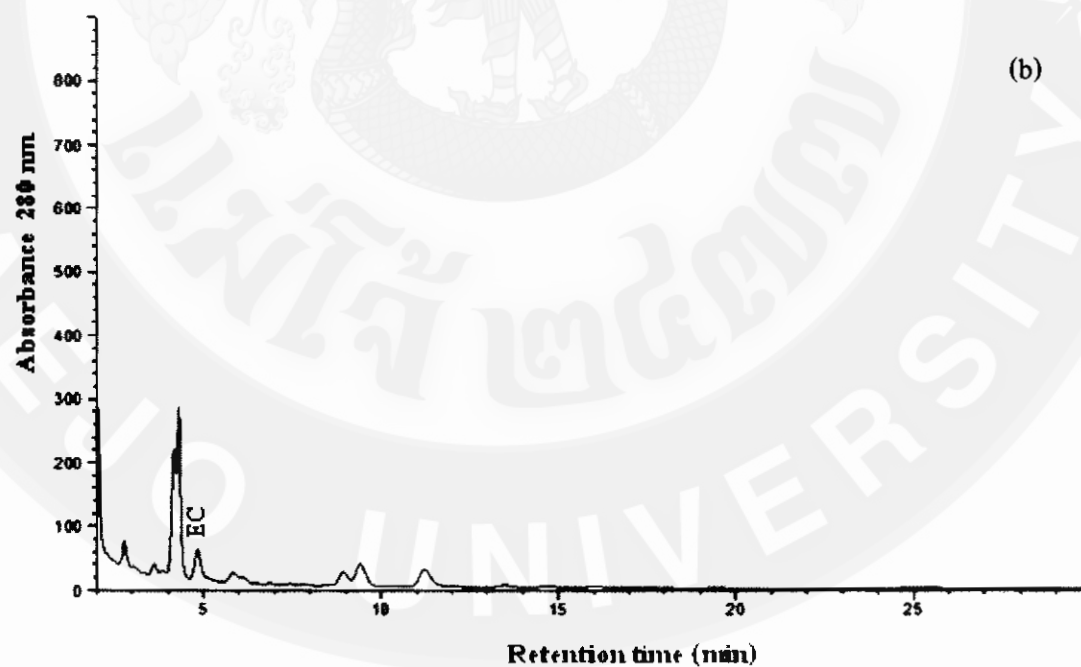
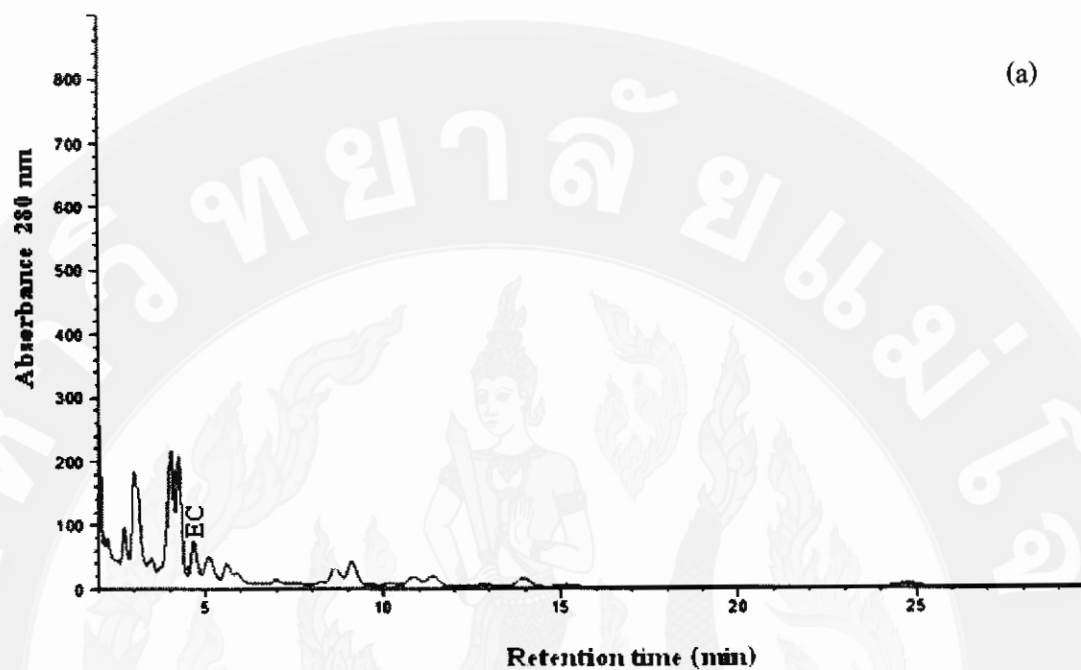
การศึกษาชนิดและปริมาณสารประกอบในกลุ่มฟีนอลของสารสกัดจากลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1

ในการตรวจวิเคราะห์สารประกอบในกลุ่มฟีนอลของสารสกัดจากลำข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ซึ่งได้จากการสกัดด้วยวิธีการเขย่าและการใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 3 ระดับ คือ 28kHz, 45kHz และ 100kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลาย 4 ชนิด คือ น้ำ เอทานอล 50% เอทานอล 70% และเอทานอล 95% โดยควบคุมอุณหภูมิและเวลาในการสกัดที่ 50 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที นั้นได้อาศัยเทคนิคทาง HPLC ในการศึกษา ซึ่งพบว่ามีสารในกลุ่มของคาเทชินต่างๆ รวมทั้งสารประกอบอะโรมาติกอื่นๆ ที่ถูกชะด้วยตัวทำละลาย โดยสารคาเทชินที่สนใจศึกษาจะถูกชะออกมาตามลำดับเวลา (retention time, RT) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร epicatechin (EC) ซึ่งเทียบกับกราฟมาตรฐานโดยมีลำดับเวลา (RT) ดังนี้ epigallocatechin (EGC) 3.978 นาที, epicatechin (EC) 4.742 นาที, epigallocatechin gallate (EGCG) 7.002 นาที, gallate catechingallate GCG 8.764 นาที และ epicatechin gallate (ECG) 15.683 นาที ที่ความยาวคลื่น 280 nm ดังภาพ 29

จากการวิเคราะห์ความเข้มข้นของสาร EC (epicatechin) ที่มีอยู่ในสารสกัดจากลำข้าวจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความสูงและพื้นที่ใต้กราฟของกราฟ ซึ่งพบว่าสารสกัดจากการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิกที่ความถี่ 100kHz ร่วมกับเอทานอลความเข้มข้น 70% จะมีสาร EC ในปริมาณที่สูงโดยพบในปริมาณ 137.47 มิลลิกรัมต่อตัวอย่างลำข้าว 1 กรัม ดังตาราง 15

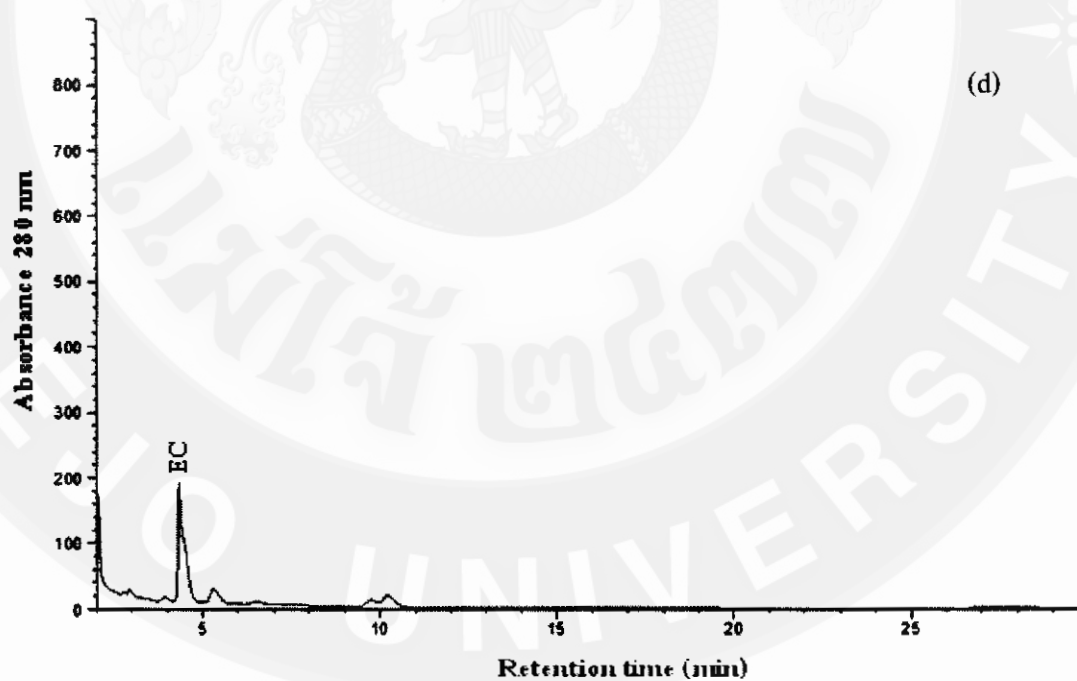


ภาพ 29 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐานในกลุ่มสารคาเทชินต่าง ๆ



ภาพ 30 โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยน้ำ

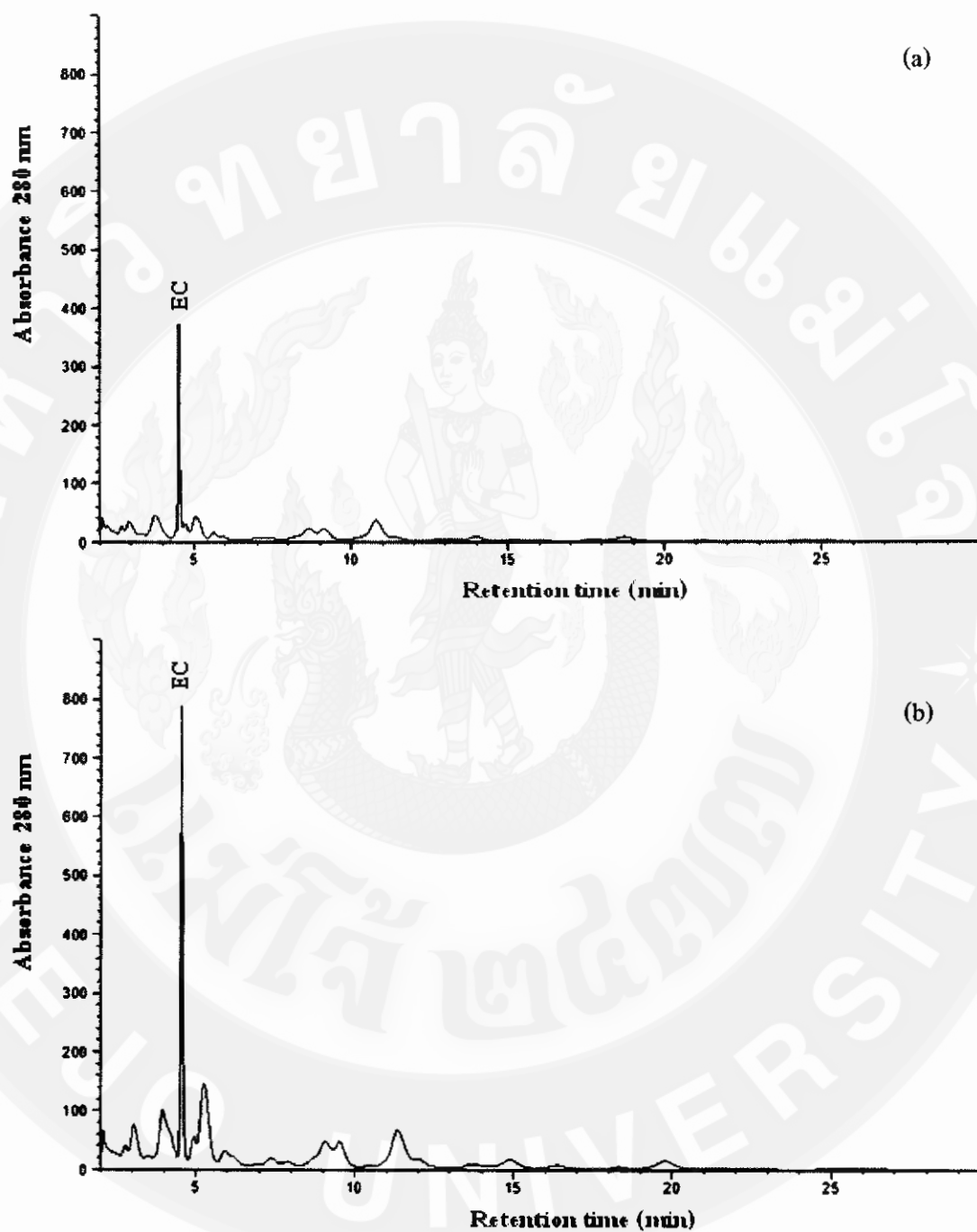
(a) สกัดด้วยวิธีเขย่า (b) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 28kHz



ภาพ 30 โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยน้ำ (ต่อ)

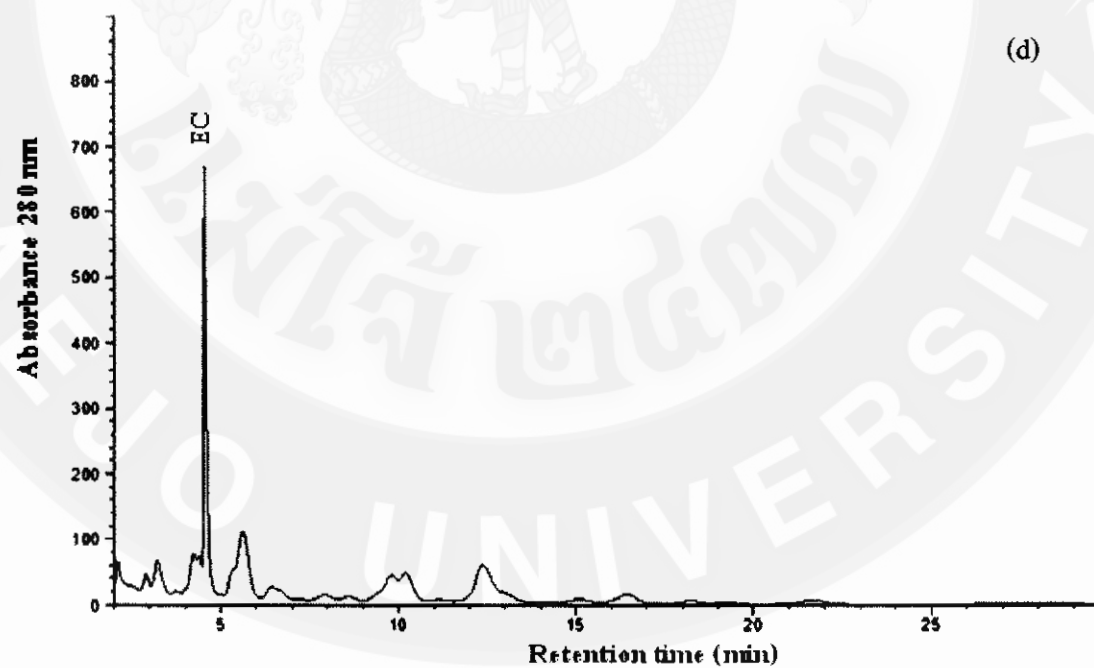
(c) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 45kHz

(d) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 100kHz



ภาพ 31 โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 50%

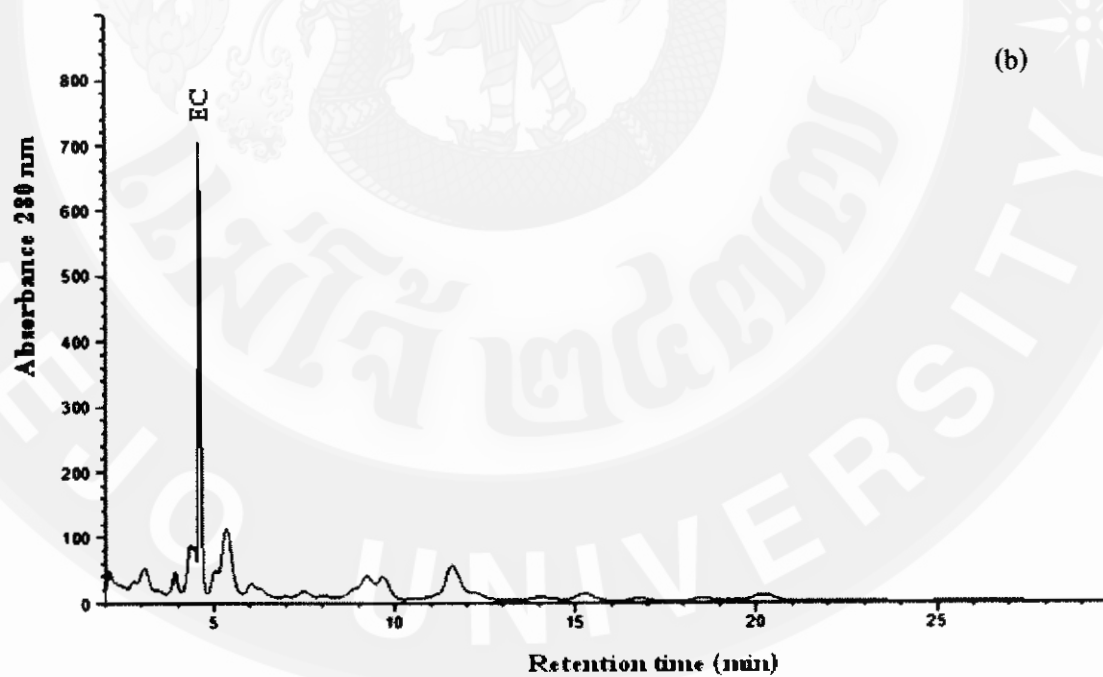
(a) สกัดด้วยวิธีเขย่า (b) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 28kHz



ภาพ 31 โครมาโทแกรมของสารสกัดลำข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 50% (ต่อ)

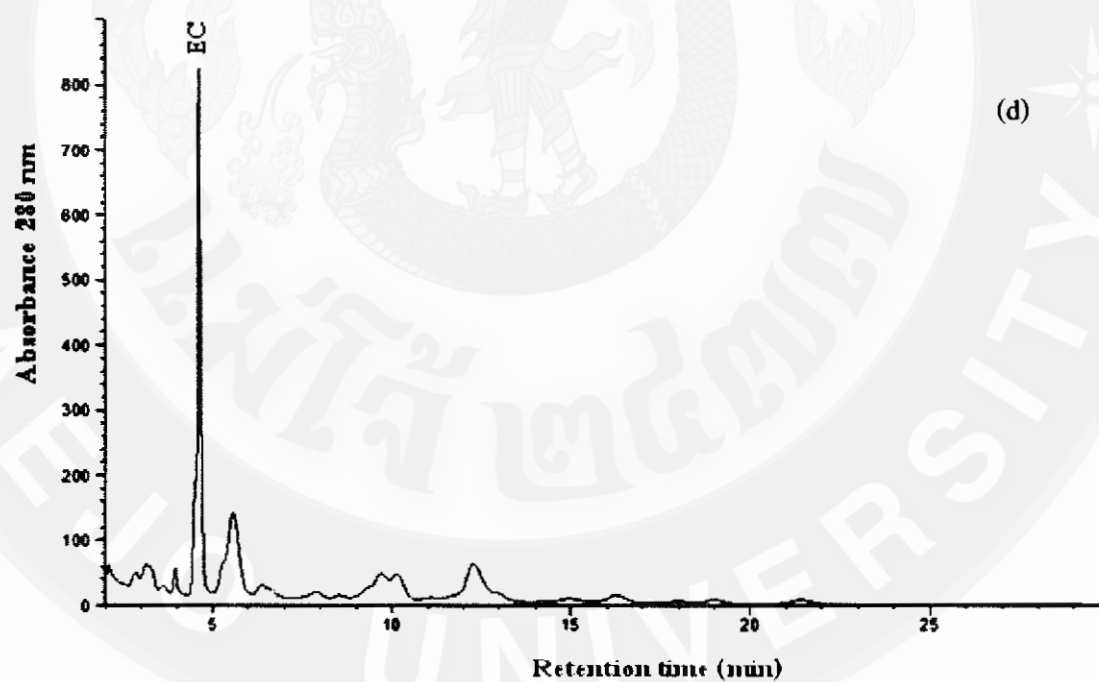
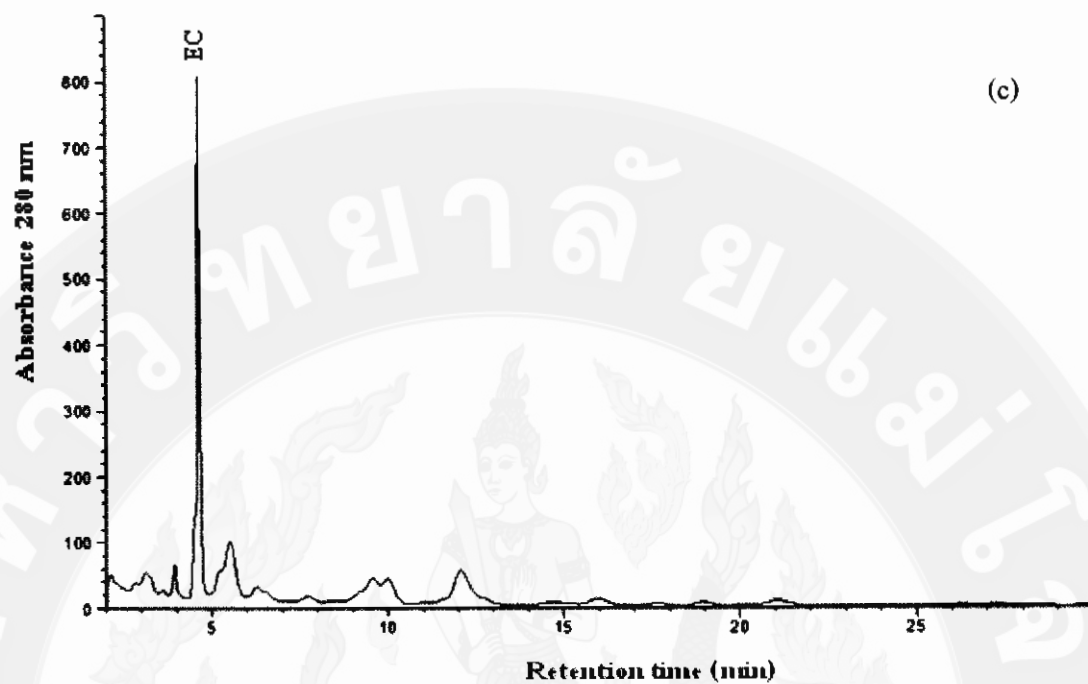
(c) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 45kHz

(d) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 100kHz



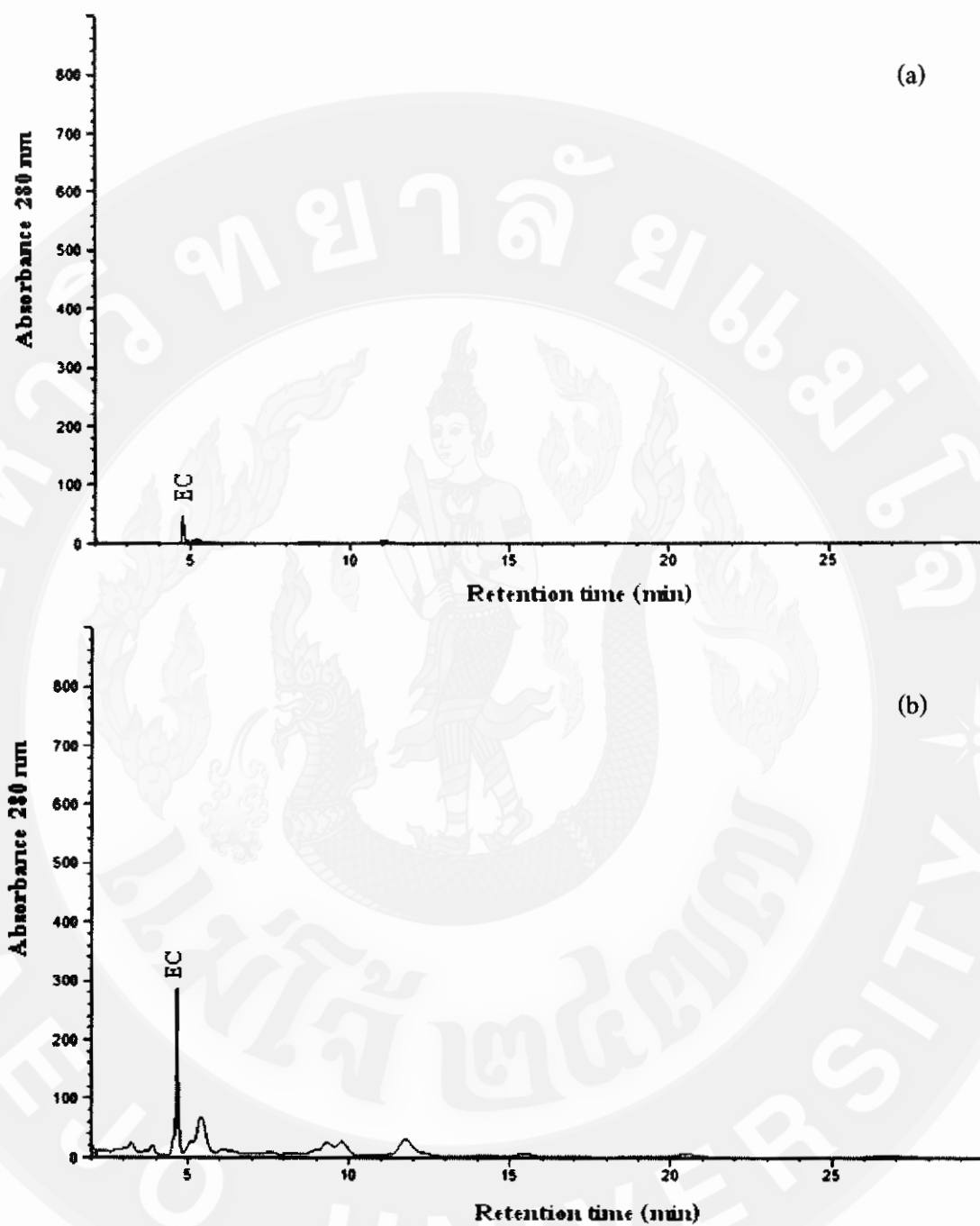
ภาพ 32 โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 70%

(a) สกัดด้วยวิธีเขย่า (b) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 28kHz



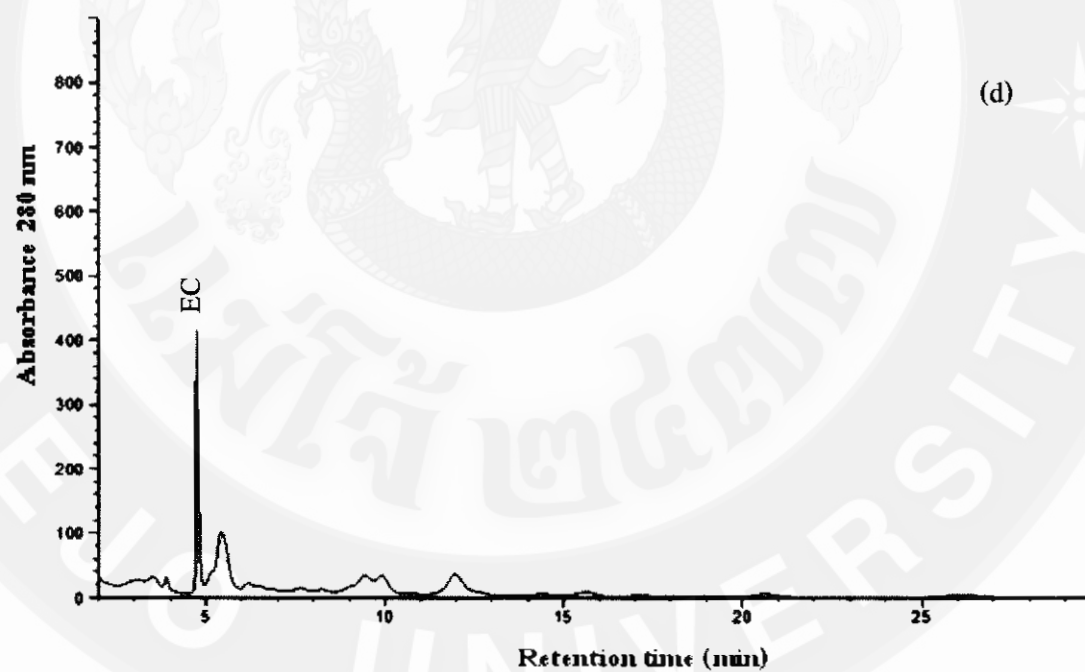
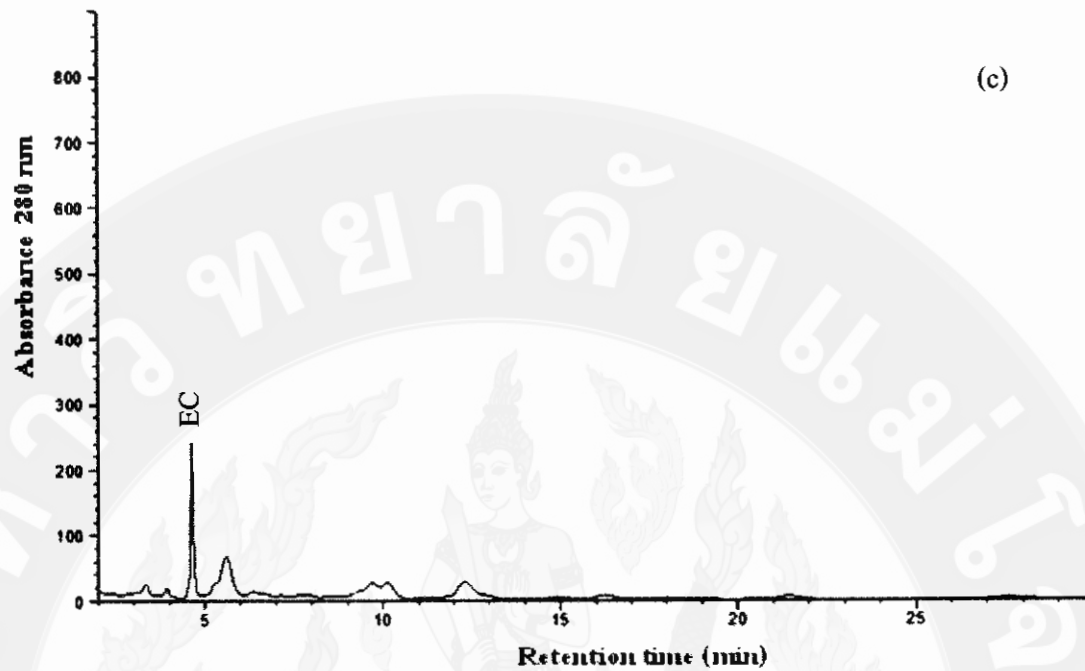
ภาพ 32 โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้ำข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 70% (ต่อ)

(c) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 45kHz (d) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 100kHz



ภาพ 33 โครมาโทแกรมของสารสกัดกล้าข้าวจากการสกัดด้วยเอทานอล 95%

(a) สกัดด้วยวิธีเย้า (b) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 28kHz



ภาพ 33 โครมาโทแกรมของสารสกัดกลีเซอรอลจากการสกัดด้วยเอทานอล 95% (ต่อ)

(c) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 45kHz (d) คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 100kHz

จากการวิเคราะห์ปริมาณสารในกลุ่มของคาเทชินโดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร EC (epicatechin) ของสารสกัดจากลำข้าวพันธุสุโขทัย 1 พบว่าความเข้มข้นของสารละลายเอทานอลมีผลต่อปริมาณสารในกลุ่มของคาเทชิน ซึ่งพบว่าสารสกัดที่สกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70% มีปริมาณของ EC ในระดับที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดที่สกัดโดยใช้สารละลายเอทานอลความเข้มข้น 50%, 95% และน้ำ ดังภาพ 30-33 ทั้งนี้เนื่องจากโมเลกุลของสารคาเทชินต่าง ๆ มีความเป็นขั้วใกล้เคียงกับเอทานอลจึงส่งผลทำให้สารคาเทชินสามารถละลายได้ดีและให้ปริมาณสารคาเทชินสูง แต่การใช้เอทานอลที่มีความเข้มข้นมากกว่า 85% อาจมีผลต่อการขาดน้ำในเซลล์ที่จะเพียงพอในการช่วยแพร่กระจายของสารภายในโครงสร้างดังจะเห็นได้จากใบชา (Lin et al., 2003) จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า สารละลายเอทานอลที่มีความเข้มข้นแตกต่างกันจะส่งผลต่อประสิทธิภาพในการสกัดที่แตกต่างกันออกไป ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับความมีขั้วหรือความสามารถในการละลายของสารสำคัญที่ต้องการในตัวทำละลายนั่นๆ เมื่อสารละลายมีสภาพความเป็นขั้วเหมือนกับสารสำคัญจะทำให้ความสามารถในการละลายเกิดได้ดีทำให้สามารถสกัดสารสำคัญได้มาก แต่บางครั้งสารสำคัญที่ต้องการอาจมีทั้งความเป็นขั้วมากหรือความเป็นขั้วน้อย เช่น การใช้เอทานอลที่ความเข้มข้น 70% มีประสิทธิภาพในการสกัดได้สูงกว่าเอทานอลความเข้มข้น 95% ทั้งนี้อาจเนื่องจากสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 70% มีน้ำเป็นส่วนประกอบถึง 30% ซึ่งเป็นสารที่มีความเป็นขั้วมากจึงทำให้สารสำคัญที่มีความเป็นขั้วมากถูกสกัดออกมาได้ดีกว่าการใช้เอทานอลความเข้มข้น 95%

อย่างไรก็ตามตัวทำละลายอินทรีย์ เช่น เอทานอล เมทานอล และอะซิโตน ไตรคลท์ที่ใช้ในการสกัดทั่วไปจะมีประสิทธิภาพในการสกัดสารคาเทชินจากชาเขียวโดยไม่ทำให้เกิดปฏิกิริยาอีพิเมอร์ไรเซชัน (epimerization) ของสารที่สำคัญในกลุ่มคาเทชิน (Suematsu et al., 1995) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Rusak et al. (2008) ที่พบว่าการใช้เอทานอลความเข้มข้น 40% และระยะเวลาในการสกัด 30 นาทีจะให้ผลต่อปริมาณคาเทชิน ปริมาณฟีนอลิก และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าการใช้เอทานอลความเข้มข้น 70% และ 10% ทั้งนี้ปริมาณสารดังกล่าวที่ได้ขึ้นอยู่กับชนิดของสารละลายและระยะเวลาที่ใช้ในการสกัด นอกจากนี้มีรายงานพบว่า การใช้เอทานอลความเข้มข้น 80% ในการสกัดผลิตภัณฑ์ชาเขียวและผลิตภัณฑ์อาหารเสริมชาเขียวมีผลต่อปริมาณสารคาเทชินและธีอะฟลาวินส์ (theaflavins) ซึ่งเป็นสารในกลุ่มของคาเทชินที่เกิดในระหว่างการบ่มชาอุณหภูมิสูงและชาดำสูงกว่าการใช้น้ำ (Friedman et al, 2006) แต่ทั้งนี้ปริมาณของสารคาเทชินที่ได้อาจมีปัจจัยหลายอย่างส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลง เช่น แหล่งที่มา ภูมิประเทศ ฤดูกาล การเพาะปลูก สายพันธุ์ อายุของใบชา การเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยว รวมทั้งโครงสร้างทางกายภาพและองค์ประกอบของใบที่แตกต่างกัน (Wang et al., 2000; Reto et al., 2007)

ตาราง 15 ปริมาณสาร Epicatechin (EC) ของสารสกัดจากลำข้าวพันธุส์ุโขทัย 1

Method	Solvent	(mg/g) sample
Shaker	Water	14.80±0.37
	50%EtOH	35.83±3.18
	70%EtOH	45.92±1.69
	95%EtOH	5.57±0.68
US 28kHz	Water	14.21±0.62
	50%EtOH	76.71±8.16
	70%EtOH	76.05±12.61
	95%EtOH	40.12±6.14
US 45kHz	Water	60.53±0.02
	50%EtOH	71.50±0.51
	70%EtOH	102.41±21.72
	95%EtOH	35.09±4.42
US 100kHz	Water	52.92±0.56
	50%EtOH	90.20±9.22
	70%EtOH	137.47±1.12
	95%EtOH	49.09±0.74

หมายเหตุ: - ค่าของข้อมูลแสดงค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

US = Ultrasonication

EtOH = Ethanol

Both et al. (2014) พบว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับการใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอลความเข้มข้น 90% ในการสกัดจะทำให้ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลเพิ่มขึ้น 30-35% ซึ่งมีปริมาณมากกว่าการใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและยังพบว่าการใช้คลื่นอัลตราโซนิกจะช่วยทำให้อนุภาคของใบชามีขนาดเล็กกว่าการใช้วิธีการสกัดแบบดั้งเดิม เนื่องจากคลื่นอัลตราโซนิกจะทำให้เกิดแรงสั่นสะเทือนซึ่งจะส่งผลให้สารประกอบพอลิฟีนอลสามารถละลายออกมายังตัวทำละลายเป็นผลทำให้เกิดความเข้มข้นของปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอลที่สูงในสารละลาย ณ จุดสมดุล อีกทั้งยังเป็นผลจากปริมาณน้ำที่เป็นส่วนผสมในตัวทำละลายจะช่วยเพิ่มความสามารถในการละลายของสารประกอบพอลิฟีนอลที่มีความเป็นขั้วออกมายังสารละลายผสมได้ดีและน้ำยังช่วยทำให้วัตถุดิบเกิดการบวมส่งผลทำให้สารละลายมีการเข้าถึงได้ง่ายขึ้น จากผลดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การใช้ตัวทำละลายเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการสกัดสารสำคัญที่ต้องการ

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาพบว่าค่า pH ของสารละลายที่ใช้ในการสกัดสารคาเทชินจากชาเขียวมีผลต่อปริมาณสารดังกล่าว ซึ่งสารละลายที่มีค่า pH สูงถึง 7.6 จะส่งผลทำให้ปริมาณสารคาเทชินลดลง (Yoshida et al., 1999) เช่นเดียวกับการรายงานของ Liang and Xu (2001) ที่พบว่าการเปลี่ยนแปลงของค่า pH อาจมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงการเคลื่อนไหวในโครงสร้างของสารคาเทชิน เนื่องจากการแสดงออกของกลุ่ม -OH ในโครงสร้างของคาเทชินที่มีความไวต่อผลของค่า pH จะทำให้เกิดไอออนในซิงของโมเลกุลภายในโครงสร้างได้ ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาความคงตัวของสารคาเทชินในชาเขียว ซึ่งพบว่าสารละลายที่มีค่า pH ต่ำกว่า 4 จะส่งผลต่อความคงตัวของสารคาเทชินมากกว่าสารละลายที่มีค่า pH มากกว่า โดยเฉพาะ EC และ ECG จะมีความคงตัวมากกว่า EGCG และ EGC ทั้งนี้เนื่องจาก -OH group ที่ตำแหน่ง 5' ในโครงสร้างของ EGCG และ EGC มีความเสี่ยงต่อการทำลายและเกิดการสลายตัวได้มากกว่า -OH group ที่ตำแหน่ง 3' และ 4' ในโครงสร้างของ EC และ ECG (Zhu et al., 1997)

จากการศึกษาดังกล่าวอาจส่งผลทำให้พบปริมาณสาร EC ที่สูงในสารสกัดจากลำข้าว อีกทั้งยังมีการรายงานว่าไอโซเมอร์ของสาร EC ที่ได้จากชาเขียวจะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดคอเลสเตอรอลชนิด LDL และเยื่อหุ้มเซลล์ของเม็ดเลือดแดงจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Zhang et al., 1997a, b) อย่างไรก็ตามสารคาเทชินในชาเขียวจะมีแนวโน้มที่ลดลงเนื่องจากการเสื่อมสภาพซึ่งเป็นผลจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน การเกิดอิพิเมอร์ไรเซชัน และพอลิเมอร์ไรเซชันในระหว่างกระบวนการผลิต ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสารคาเทซินดังกล่าว อาทิเช่น ผลของอุณหภูมิ ค่า pH ออกซิเจน ไอออนของโลหะ เป็นต้น (Ananingsih et al., 2013)

ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารคาเทชิน โดยเฉพาะสาร EC ที่พบในการวิจัยนี้เป็น การศึกษาในห้องปฏิบัติการเพื่อใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการนำสารสกัดจากธรรมชาติมาประยุกต์ใช้ แทนสารเคมีที่ใช้ช่วยบำบัดหรือบรรเทาอาการต่างๆ จากการศึกษาดังกล่าวเป็นที่น่าสนใจอย่างยิ่งใน การตรวจพบปริมาณสารคาเทชิน (EC) ในสารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ซึ่งเป็นข้าวพันธุ์ไทย โดยตรวจพบในปริมาณที่สูงถึง 137.47 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างกล้าข้าว

สารคาเทชินเป็นสารฟลาโวนอยด์ที่พบมากที่สุดในพืชตระกูลชาโดยเฉพาะในยอด ใบชาสดและชาเขียวซึ่งมีประมาณ 75% ของสารพอลิฟีนอลทั้งหมด (Balentine et al., 1997) ทั้งนี้สาร คาเทชินเป็นสารพฤษเคมีที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพเนื่องจากมีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระที่เป็น ประโยชน์สำคัญต่อผู้บริโภคที่จะได้รับจากการบริโภคชา ซึ่งในปัจจุบันมีการบริโภคชาเขียวรวมทั้ง ผลิตภัณฑ์ต่างๆ ที่มีส่วนประกอบของชาเขียวเพิ่มสูงขึ้น จากสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของสาร คาเทชินทำให้มีประโยชน์ต่อสุขภาพได้ เช่น ช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็ง ด้านเชื้อจุลินทรีย์ ด้านการอักเสบ และด้านโรคอ้วน (Yuan et al., 2011; Rain et al., 2011; Mukhtar and Ahmad, 2000) มี การศึกษาพบว่าการใช้สารสกัดจากชาเขียวจะช่วยยับยั้งการเกิดออกซิเดชันของไขมัน LDL ซึ่งเป็น คอเลสเตอรอลชนิดเลว และยังสามารถเพิ่มปริมาณ HDL ซึ่งเป็นคอเลสเตอรอลชนิดดี (Yokozawa et al., 2002) เช่นเดียวกับ Osada et al. (2001) ได้ศึกษาพบว่า สารคาเทชินในชาสามารถยับยั้งการเกิด ออกซิเดชันของคอเลสเตอรอล อีกทั้งยังสามารถจับกับ copper ion และ hydroxyl radical ที่เกิดจาก ปฏิกิริยา peroxidation ของ superoxide anion

นอกจากนี้ยังมีการศึกษาทางระบาดวิทยาพบว่า การบริโภคชาเขียวนั้นมีประโยชน์ ต่อสุขภาพในการป้องกันการเกิดมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด รวมทั้งโรคทางระบบประสาท (Zaveri, 2006) นอกจากนี้สมเดชและคณะ (2546) ได้ศึกษาพบว่าสารคาเทชินที่สกัดได้จากใบชาเขียวมี คุณสมบัติในการลดปริมาณอนุมูลอิสระที่มากเกินไปและมีความสามารถในการจับกับธาตุเหล็ก ซึ่งผลที่ ได้จะช่วยทำให้ลดภาวะธาตุเหล็กเกินในผู้ป่วยที่มีภาวะเหล็กเกินได้ อีกทั้งพบว่าการดื่มชาเขียวจะมี ส่วนช่วยลดสภาวะ oxidative stress และช่วยป้องกันการเกิดออกซิเดชัน เนื่องจากสารคาเทชินในชา มี ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระจำพวก superoxide radical, singlet oxygen, peroxy radical, nitric oxide, nitrogen dioxide และ hydroxyl radical ซึ่งจะช่วยลดการถูกทำลายในเนื้อเยื่อไขมัน โปรตีน และ กรดนิวคลีอิกภายในเซลล์ (Erba et al. 2005 อ้างโดย ชีรพงษ์, 2013)

จากรายงานการบริโภคเพื่อให้ได้ประโยชน์ต่อสุขภาพนั้นขึ้นอยู่กับชนิดปริมาณคาเทชิน รวมทั้งปริมาณสารออกฤทธิ์ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับกลไกในการเผาผลาญ การแพร่กระจาย และความสามารถในการดูดซึมสารพอลิฟีนอลที่มีในชาของแต่ละคน (Mukhtar and Ahmad, 2000)

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณสารคาเทชินที่ได้จากสารสกัดลำข้าวพันธุสุโขทัย 1 ใน การศึกษานี้ คาดว่าจะสามารถนำสารสกัดดังกล่าวไปประยุกต์ใช้แทนสารเคมีที่สามารถใช้ช่วยบำบัดหรือบรรเทาอาการต่าง ๆ หรืออาจพัฒนาสารสกัดให้อยู่ในรูปแบบผงเพื่อเป็นแนวทางที่สะดวกต่อการเก็บรักษาต่อไป

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

สรุปผลการทดลอง

1. การใช้คลื่นอัลตราโซนิกร่วมกับตัวทำละลายเอทานอลที่ความเข้มข้น 95% ให้ประสิทธิภาพที่ดีต่อคุณภาพสารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 เมื่อเทียบกับการใช้วิธีการสกัดแบบเขย่าร่วมกับการใช้ตัวทำละลายชนิดอื่น ๆ ซึ่งวิธีการสกัดที่เหมาะสมดังกล่าวจะให้สารสกัดที่มีสมบัติการต้านออกซิเดชัน สารประกอบฟีนอล และปริมาณคลอโรฟิลล์สูงสุด คลื่นอัลตราโซนิกดังกล่าวจึงถูกนำไปศึกษาคลื่นความถี่ที่เหมาะสมต่อการสกัดสารจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ในขั้นตอนต่อไป

2. สารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 28kHz และ 45kHz ร่วมกับการใช้เอทานอล 95% ให้ผลของสมบัติการต้านออกซิเดชันมากกว่าการใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 70%, 50% และน้ำ โดยสารสกัดที่ได้จากการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 28kHz และ 45kHz ร่วมกับการใช้เอทานอล 95% มีค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันเมื่อวิเคราะห์ด้วยวิธี ABTS⁺ เท่ากับ 31.60 และ 28.68 มิลลิกรัมสมมูลโทร็อกซ์ต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม ตามลำดับ สำหรับสมบัติการต้านออกซิเดชันโดยวิเคราะห์ด้วยวิธี FRAP มีค่าเท่ากับ 31.04 และ 27.77 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม ตามลำดับ จากการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลมีค่าเท่ากับ 10.49 และ 9.17 มิลลิกรัมสมมูลแกลลิกต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม ตามลำดับ ส่วนปริมาณคลอโรฟิลล์นั้น พบว่าการสกัดด้วยคลื่นความถี่ 100 kHz ร่วมกับการใช้เอทานอล 95% ในการสกัดจะให้ค่าคลอโรฟิลล์สูงสุดเท่ากับ 4.30 มิลลิกรัมต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม

3. การใช้อุณหภูมิที่ 98 องศาเซลเซียส และเวลา 120 นาที ในการสกัดกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 โดยใช้คลื่นอัลตราโซนิกช่วยในการสกัด เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการสกัด ซึ่งสภาวะที่ใช้ดังกล่าวจะส่งผลให้สารสกัดมีสมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอลและปริมาณคลอโรฟิลล์ที่สูง โดยมีค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี ABTS⁺ มีค่าเท่ากับ 20.62 มิลลิกรัมสมมูลโทร็อกซ์ต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม และค่าสมบัติการต้านออกซิเดชันด้วยวิธี FRAP มีค่าเท่ากับ 12.21 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม ปริมาณสารประกอบฟีนอลมีค่าเท่ากับ 7.67 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม และปริมาณคลอโรฟิลล์มีค่าเท่ากับ 3.91 มิลลิกรัมต่อตัวอย่างแห้ง 1 กรัม

4. กล้าข้าวที่ผ่านการให้รังสี UV-C เป็นเวลานาน 60 นาที ก่อนนำมาสกัดโดยการ ใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 28 kHz ที่อุณหภูมิ 98 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาทีที่มีผลต่อการ ลดลงของสมบัติการต้านออกซิเดชัน ปริมาณสารประกอบฟีนอล และปริมาณคลอโรฟิลล์

5. จากการตรวจวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบในกลุ่มฟีนอลของสารสกัดจาก กล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่ได้จากการสกัดด้วยวิธีการแช่และการใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 3 ระดับ คือ 28kHz, 45kHz และ 100kHz ร่วมกับการใช้ตัวทำละลาย คือ น้ำ เอทานอล 50% เอทานอล 70% และเอทานอล 95% ด้วยวิธี HPLC พบว่ามีสารในกลุ่มของคาเทชินโดยเฉพาะอย่างยิ่งสาร epicatechin (EC) ที่มีอยู่ในสารสกัดจากกล้าข้าวสายพันธุ์สุโขทัย 1 ซึ่งพบว่าสารสกัดจากการสกัดด้วย คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ 100kHz ร่วมกับเอทานอลความเข้มข้น 70% จะมีสาร EC ในปริมาณที่สูง โดยพบในปริมาณ 137.47 มิลลิกรัมต่อกรัมตัวอย่างกล้าข้าว

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษานี้เป็นเพียงการศึกษาในระดับห้องปฏิบัติการซึ่งใช้อัตราส่วนกล้าข้าว เพียง 3 กรัมต่อตัวทำละลาย 50 มิลลิลิตร ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมหากต้องการเพิ่มกำลังการผลิตสารสกัดจากกล้าข้าว โดยมุ่งเน้นการศึกษาระดับพลังงานของคลื่นอัลตราโซนิกต่อปริมาตรที่ใช้ในการสกัดด้วย
2. หากมีการศึกษาในระดับอัตราส่วนที่มากขึ้น ควรศึกษาระบบของคลื่นอัลตราโซนิก เช่น เครื่องกำเนิดกระแสไฟฟ้าให้เพียงพอต่อกำลังที่ต้องการในการสกัด การออกแบบ ทรานสดิวเซอร์ให้มีขนาดที่เหมาะสม เพื่อให้เกิดการสั่นตามความถี่ของคลื่นที่ต้องการใช้ในการ สกัด
3. Epicatechin ที่สกัดได้อาจเป็นประโยชน์ด้านการสมานแผลได้ โดยให้อยู่ในรูปแบบ สารสกัดที่มีเอทานอล 70% เป็นตัวทำละลาย และฆ่าเชื้อ

บรรณานุกรม

- กฤติยา (นามปากกา). 2550. คลอโรฟิลล์ คุณอนันต์ โทมมพันธ์. *ชีวจิต* 9(199): 62-64.
- จริงแท้ ศิริพานิช. 2546. *สรีรวิทยาและเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวผักและผลไม้*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 396 น.
- จริงแท้ ศิริพานิช. 2549. *ชีววิทยาหลังการเก็บเกี่ยวและการวางของพืช*. กรุงเทพฯ: ภาควิชาพืชสวน คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 453 น.
- จิตนา แจ่มเมฆ, สายสนม ประดิษฐ์ดวง, ทนง ภักษ์พันธุ์, ปรีชา วิบูลย์เศรษฐ์, เนื่อทอง วานานวัช, มาลัยวรรณ อารยะสกุล, ศิวพร ศิวเวช, สมจิต สุรพัฒน์, สุคนธ์ชื่น ศรีงาม และ อรอนงค์ นัยวิกุล. 2546. *วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 528 น.
- จุไรทิพย์ หวังสินทวีกุล. 2551. มหัศจรรย์ข้าวออก. *เกษตรธรรมชาติ* 11(12): 29-32.
- เจนจิรา จิรัมย์ และ ประสงค์ สีหานาม. 2554. อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ: แหล่งที่มาและกลไกการเกิดปฏิกิริยา. *วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยราชภัฏกาฬสินธุ์* 1(1): 59-70.
- ชัยรัตน์ บุรณะ และ วาริช ศรีละออง. 2552. ผลของการให้รังสี UV-C ต่อกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระในคะน้า. *ว. วิทยาศาสตร์เกษตร* 40(3): 137-140.
- ธีรพงษ์ เทพกรณ์. 2556. คาเทชินในชาเขียวและความคงตัวของเก็บรักษา. *ว. วิทยาศาสตร์ มข.* 41(1): 46-55.
- นิธิยา รัตนพานนท์. 2549. *เคมีอาหาร*. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ: โอเดียนสตา. 504 น.
- บุญหงส์ จงคิด. 2547. *ข้าวและเทคโนโลยีการผลิต*. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. 184 น.
- ประพันธ์ ปิ่นศิริโรคม และ วันทนี ช้างน้อย. 2545. การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและศักยภาพการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารสกัดจากเมล็ดพืชตระกูลส้มสายพันธุ์ต่างๆ ที่ปลูกในประเทศไทย. *อาหาร* 32(4): 300-307.
- พริมา พิธิยางกูร, กนกพรรณ ชะเอมเทศ และ จุฑาทิพย์ โพธิ์อุบล. 2555. ผลของการฉายรังสีอัลตราไวโอเลต ซี ต่อการเปลี่ยนแปลงทางด้านชีวเคมี กายภาพ และลักษณะทางประสาทสัมผัสของถั่วลิสงป่น. *ว. วิทยาศาสตร์เกษตร* 43(3): 544-547.
- ลักขณา เบ็ญจวรรณ. 2551. สุขภาพดีด้วยการดื่มน้ำคั้นคั้นอ่อนข้าวไทย. *เกษตรธรรมชาติ* 11(12): 9-14.

- ลักขณา เบ็ญจวรรณ. 2553. “น้ำคั้นจากใบข้าว” มีคุณค่าทางโภชนาการสูง. [ระบบออนไลน์].
แหล่งที่มา <http://www.manager.co.th/Campus/ViewNews.aspx?NewsID=9530000017558> (1 กันยายน 2556).
- ศิวาพร ศิวเวช. 2546. วัตถุเจือปนอาหาร. นครปฐม: โรงพิมพ์ศูนย์ส่งเสริมและฝึกอบรม
การเกษตรแห่งชาติ.
- ศุภกฤต ไทยอุดม. 2538. การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำบัวบก *Centella asiatica* (Linn.) Urban พง
สำเร็จ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- สมเดช ศรีชัยรัตนกุล, อุดมกัณฑ์ ขาสสุวรรณ, จันทร์ศิริ วาทะหงส์, ชัยวัฒน์ ชุ่มปิ่น และ สะแกวัลย์
อุ๋นใจจิ้น. 2546. การตรวจวิเคราะห์คุณสมบัติด้านออกซิเดชันและจับธาตุเหล็กของสารตะ
เคซินในใบชาจากโครงการหลวง. น. 348-349. ใน รายงานการประชุมวิชาการผลงานวิจัย
ของมูลนิธิโครงการหลวง ประจำปี 2546. เชียงใหม่: มูลนิธิโครงการหลวง.
- สุเมธ บุญเกิด. 2551. อัลตราซาวด์. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา
<http://www.gpo.or.th/rdi/html/Ultrasound.html> (31 สิงหาคม 2556).
- แสง เกิดประทุม. ม.ป.ป. แสงอัลตราไวโอเลต. [ระบบออนไลน์]. แหล่งที่มา
www.tistr.or.th/ed/images/stories/engineer/article/UVlight.pdf (25 สิงหาคม 2556).
- อรทัย ขำคำ. 2552. ปัจจัยที่มีผลต่อการงอกและคุณค่าทางอาหารของต้นอ่อนธัญพืช. วิทยานิพนธ์
ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 139 น.
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัดต์สินทอง. 2549. สารต้าน
อนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: พี.เอส.พรินท์. 200 น.
- โอภา วัชรคุปต์, ปรีชา บุญจุง, จันทนา บุญยะรัตน์ และ มาลีรักษ์ อัดต์สินทอง. 2550. สารต้าน
อนุมูลอิสระ. กรุงเทพฯ: นิเวศไทยมิตรการพิมพ์. 262 น.
- A.O.A.C. 2006. **Official Methods of Analysis**. 18th ed. Association of Analytical Chemistry:
Gaithersburg, MD.
- Acar, O., I. Turkan and F. Ozdemir. 2001. Superoxide dismutase and peroxidase activities in
drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties. **Acta Physiologiae
Plantarum** 23(3): 351-356.
- Ananingsih, V. K., A. Sharma and W. Zhou. 2013. Green tea catechins during food processing
and storage: A review on stability and detection. **Food Research International** 50: 469-
479.

- Artes-Hernandez, F., P. A. Robles, P. A. Gomez, A. Tomas-Callejas and F. Artes. 2010. Low UV-C illumination for keeping overall quality of fresh-cut watermelon. **Postharvest Biology and Technology** 55: 114-120.
- Aruoma, O.I. and B. Halliwell. 1987. Superoxide-dependent and ascorbate-dependent formation of hydroxyl radicals from hydrogen peroxide in the presence of iron. Are lactoferrin and transferrin promoters of hydroxyl-radical generation?. **Biochemical Journal** 241(1): 273-278.
- Atchley, A.A. and L. A. Crum. 1998. Acoustic cavitation and bubbles dynamics. pp. 1-64. *In* **Ultrasounds, its chemical, physical and biological effects**. K. S. Suslick (eds.). VCH Publishers, Inc. New York.
- Baka, M., J. Mercier, R. Corcuff, F. Castaigne and J. Arul. 1999. Photochemical treatment to improve storability of fresh strawberries. **Journal of Food Science** 64: 1068-1072.
- Balentine, D.A., S.A. Wiseman and L.C.M. Bouwens. 1997. The chemistry of tea flavonoids. **Critical Review in Food Science and Nutrition** 37: 693-704.
- Bamforth, C.W. 1983. Superoxide dismutase in barley. **Journal of Institute of Brewing** 89(3): 420-423.
- Barka, E. A., S. Kalantari, J. Makhoulf and J. Arul. 2000. Impact of UV-C Irradiation on the Cell Wall-Degrading Enzymes during Ripening of Tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) Fruit. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**. 48: 667-671.
- Ben-Ayre, E., E. Goldin, D. Wengrower, A. Stamper, R. Kohn and E. Berry. 2002. Wheat grass juice in the treatment of active distal ulcerative colitis: a randomized double-blind placebo-controlled trial. **Scandinavian Journal of Gastroenterology** 37(4): 444-449.
- Benzie, I. F. F. and J. J. strain. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. **Analytical Biochemistry** 239(1): 70-76.
- Bhat, R., N. S. B. Che Kamaruddin, L. Min-Tze and A. A. Karim. 2011. Sonication improves kasturi lime (*Citrus microcarpa*) juice quality. **Ultrasonics Sonochemistry** 18: 1295-1300.
- Both, S., F. Chemat and J. Strube. 2014. Extraction of polyphenols from black tea – Conventional and ultrasound assisted extraction. **Ultrasonics Sonochemistry** 21: 1030-1034.

- Bradbury, L. M. T., S.A. Gillies, D. J. Brushett, D. L. E. Waters and R. J. Henry. 2008. Inactivation of an aminoaldehyde dehydrogenase is responsible for fragrance in rice. **Plant Molecular Biology** 68: 439-449.
- Bravo, L. 1998. Polyphenol: chemistry, dietary sources, metabolism and nutritional significance. **Nutrition Review** 56(11): 317-333.
- Burkholder, R. and I. Mcveigh. 1942. The Increase of B vitamins in germinating seeds. **Botany** 28(10): 440-446.
- Calzuola, I., V. Marsili and G.L. Gianfranceschi. 2004. Synthesis of antioxidant in wheat sprouts. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 52(16): 5201-5206.
- Carrera, C., A. Ruiz-Rodriguez, M. Palma and C. G. Barroso. 2012. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. **Analytica Chimica Acta** 732: 100-104.
- Castro, D. J., C. V. Lohr, K. A. Fischer, K. M. Water, B. Webb-Robertson, R. H. Dashwood, G. S. Bailey and D. E. Williams. 2009. Identifying efficacious approaches to chemoprevention with chlorophyllin purified chlorophylls and freeze-dried spinach in a mouse model of transplacental carcinogenesis. **Carcinogenesis** 30(2): 315-320.
- Chavan, J. K. and S. S. Kadam. 1989. Nutritional improvement of cereals by sprouting. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition** 28(5): 401-437.
- Chen, F., Y. Sun, G. Zhao, X. Liao, X. Hu, J. Wu and Z. Wang. 2007. Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. **Ultrasonics Sonochemistry** 14: 767-778.
- Chen, S. T. and J. F. Hsieh. Monocotyledon plant indication extract compositions, method of preparation and pharmaceutical composition containing them. **United States Patent 2008/0089957 A1**. 17 April 2008.
- Chen, Z. Y., Q. Y. Zhu, D. Tsang, S and Y. Huang. 2001. Degradation of Green Tea Catechins in Tea Drinks. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 49: 477-482.
- Cho, S., D. H. Lee, C. H. Won, S. M. Kim, S. Lee, M. J. Lee and J.H. Chung. 2006. Drink containing chlorophyll extract improves signs of photo aging and increase type I procollagen in human skin in vivo. **Korean Journal of Investigative Dermatology** 13(4): 111-119.

- Choi, Y., S. M. Lee, J. Chun, H. B. Lee and J. Lee. 2006. Influence of heat treatment on the antioxidant activities and polyphenolic compound of Shitake (*Lentinus edodes*) mushroom. **Food chemistry** 99(2): 381-387.
- Chun, H., J. Zawstowski, W. Ling. and D. D. Kitts. 2003. Black Rice (*Oryza sativa* L. indica) Pigmented Fraction Suppresses both Reactive Oxygen Species and Nitric Oxide in Chemical and Biological Model Systems. **Agricultural and Food Chemistry** 51(18): 5271-5277.
- Cornish, M. L. and D. J. Gerbary. 2010. Antioxdant from microalgae: potential application in human health and nutrition. **Free Radical Biology & Medicine** 25: 155-171.
- Dewanto, V., X. Wu, K. K. Adom and R. H. Liu. 2002. Thermal processing enhances the nutritional value of tomatoes by increasing total antioxidant activity. **Agricultural and Food Chemistry** 50: 3010-3014.
- Donkor, O.N., L. Stojanovska, P. Ginn, J. Ashton and T. Vasiljevic. 2012. Germinated grains – Sources of bioactive compounds. **Food Chemistry** 135: 950–959.
- Egner, P. A., A. Munoz and T. W. Kensler. 2003. Chemoprevention with chlorophyllin in individuals exposed to dietary aflatoxin. **Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis** 523-524: 209-216.
- Erba, D., P. Riso, A. Bordoni, P. Foti, P. L. Biagim and G. Testolin. 2005. Effectiveness of moderate green tea consumption on antioxidative status and plasma lipid profile in humans. **Journal of Nutritional Biochemistry** 16: 144-149.
- Estrella, A. and F. Katherina. 2011. The effect of different extraction techniques on extraction yield, total phenolic, and anti-radical capacity of extracts from *Pinus radiata* Bark. **Industrial Crops and Products** 34: 838-844.
- Falguera, V., J. Pagan, S. Garza, A. Garvin and A. Ibarz. 2011. Ultraviolet processing of liquid food: A review Part 2: Effects on microorganisms and on food components and properties. **Food Research International** 44: 1580-1588.
- Feng, M., K. Ghafoor, B. Seo, K. Yang and J. Park. 2013. Effects of ultraviolet-C treatment in Teflon®-coil on microbial populations and physico-chemical characteristics of watermelon juice. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 19: 133-139.

- Fonseca, J. M. and J. W. Rushing. 2006. Effect of ultraviolet-C light on quality and microbial population of fresh-cut watermelon. **Postharvest Biology Technology** 40: 256–261.
- Frei, B. and J. V. Higdon. 2003. Antioxidant activity of tea polyphenols in vivo: evidence from animal studies. **Nutrition** 133: 3275S-3284S.
- Friedman, M., C. E. Levin, S. H. Choi, E. Kozukue and N. Kozukue. 2006. HPLC Analysis of Catechins, Theaflavins, and Alkaloids in Commercial Teas and Green Tea Dietary Supplements: Comparison of Water and 80% Ethanol/Water Extracts. **Journal of Food Science** 71(6): C328-C337.
- Garza, S., A. Ibarz, J. Pagan and J. Giner. 1999. Non-enzymatic browning in peach puree during heating. **Food Research International** 32:335-343.
- Gohari, A. R., H. Hajimehdipoor, S. Saeidnia, Y. Ajani and A. Hadjiakhoondi. 2009. Antioxidant activity of some medicinal species using FRAP assay. **Journal of Medicinal Plants** 10:54-60.
- Gonzalez-Barrio, R., M. L. Vidal-Guevara, F. A. Tomas-Barberan and J. C. Espin. 2009. Preparation of a resveratrol-enriched grape juice based on ultraviolet C-treated berries. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 10:374-382.
- Guerrero, R. F., B. Puertas, M. I. Fernandez, Z. Pineiro and E. Cantos-Villar. 2010. UVC-treated skin-contact effect on both white wine quality and resveratrol content. **Food Research International** 43: 2179-2185.
- Guerrero, R. F., B. Puertas, M. I. Fernandez, M. Palma and E. Cantos-Villar. 2010. Induction of stilbenes in grapes by UV-C: Comparison of different subspecies of Vitis. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 11: 231-238.
- Hagiwara, Y. and H. Hagiwara. Powders of plant green juice and process for their production. **United States Patent 5,445,839**. 29 August 1995.
- Hasan, M. M., H. K. Yun, E. J. Kwak and K. H. Baek. 2013. Preparation of resveratrol-enriched grape juice from ultrasonication treated grape fruits. [Online]. Available <http://dx.doi.org/10.1016/j.ultasonch.2013.08.008> (8 April 2013)

- Hayouni, E. A., M. Abedrabba, M. Bouix and M. Hamdi. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. **Food Chemistry** 105: 1126-1134.
- Hirano, R., Y. Momiyama, R. Takahashi, H. Taniguchi, K. Kondo, H. Nakamura and F. Ohusuzu. 2002. Comparision of green tea intake in Japanese patients with and without angiographic coronary artery disease. **American Journal of Cardiology** 90: 1150-1153.
- Hoover, D. G. 2000. Ultrasound. Kinetics of microbial inactivation for alternative food processing technologies. **Food Sci. Supplement** : 93-95.
- Hossain, M. B., N. P. Brunton, A. Patras, B. Tiwari, C. P. O'Donnell, A. B. Martin-Diana and C. Barry-Ryan. 2012. Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry** 19: 582-590.
- Huang, W., A. Xue, H. Niu, Z. Jia and J. Wang. 2009. Optimised ultrasonic-assisted extraction of flavonoids from *Folium eucommiae* and evaluation of antioxidant activity in multi-test systems in vitro. **Food Chemistry** 114: 1147-1154.
- Iyer, U., M. Sharma, S Dhruv and U. V. Mani. 2010. Glycemic and lipemic response of wheat grass incorporated recipes. **Journal of Herbal Medicine and Toxicology** 4(1): 161-164.
- Janda, T., G. Szalai, K. Rios-Gonzales, O. Veisz and E. Pldi. 2003. Comparative study of frost tolerance and antioxidant activity in cereals. **Plant Science** 164(2): 301-306.
- Jang, M. S., E. N. Cai, G. O. Udeani, K. V. Slowing, C. F. Thomas, C. W. W. Beecher, H. H. S. Fong, N. R. Farnsworth, A. D. Kinghorn, R. G. Mehta, R. C. Moon and J. M. Pezzuto. 1997. Cancer chemopreventive activity of resveratrol, a natural product derived from grapes. **Science** 275 (5997): 218-220.
- Jay, J.M. 1997. Radiation preservation of foods and nature of microbial radiation resistance. Pp. 304-323. **In Modern Food Microbiology**. Jay, J. M. (Ed.). Chapman and Hall, New York.
- Jimenez, M. J., L.G. Elias, R. Bressani, D. A. Navarrete, R. Gomez-Brenes and M. R. Molina. 1985. Biochemical and nutritional studies of germinated soybean seeds. **Archivos Latinoamericanos de Nutrition** 35(3): 480-490.

- Johnson, D. W. and D. J. Mokler. 2000. Barley grass and green barley grass juice. **New Hope Institute of Retailing**. Continuing Education Module, pp. 2-7.
- Johnson, J. J., Bailey, H. H. and Mukhtar, H. 2010. Green tea polyphenols for prostate cancer chemoprevention: A translational perspective. **Journal of Phytomedicine** 17: 3-13.
- Jubert, C., J. Mata, G. Bench, R. Dashwood, C. Pereira, W. Tracewell, K. Turteltaub, D. Williams and G. Bailey. 2009. Effects of chlorophyll and chlorophyllin on low-dose aflatoxin B-1 pharmacokinetics in human volunteers. **Cancer Prevention Research** 2(12): 1015-1022.
- Julino, C., M. Cossu, M. C. Alamanni and L. Piu. 2005. Antioxidant activity of gamma-oryzanol: Mechanism of action and its effect on oxidative stability of pharmaceutical oils. **International Journal of Pharmaceutics** 299: 146-154.
- Kao, Y.H., H.H. Chang, M.J. Lee and C.L. Chen. 2006. Tea, obesity, and diabetes. **Molecular Nutrition and Food Research** 50: 180-210.
- Kayahara, H., K. Tsukahara and T. Tatai. 2000. Flavor, health and nutritional quality of pre-germinated brown rice. pp. 546-551. In **Spanier**. 10th International Flavor Conference, 4-7 July 2000. Paros, Greece.
- Kaul, S., G. Sharma, J. Porwal and N. Bisht. 2011. Effect of low frequency ultrasonic assisted extraction on the quality of seed oils of Indian origin. **Fuel Processing Technology** 92: 1813-1820.
- Keshava, C., R. L. Divi, T. L. Einem, D. Keshava, M. C. Poirier and A. Weston. 2009. Chlorophyllin significantly reduces benzo(a)pyrene-DNA adduct formation and alters cytochrome P450 1A1 and 1B1 expression and EROD activity in normal human mammary epithelial cells. **Environ Mol Mutagen** 50(2): 134-144.
- Khalil, A.W., A. Zeb, F. Mahmood, S. Tariq, A.B. Khattak and H. Shah. 2007. Comparison of sprout quality characteristics of desi and kabuti type chickpea cultivars (*Cicer arietinum* L.). **Swiss Society of Food Science and Technology** 40: 937-945.
- King, G. A. and S. C. Morris. 1994. Early compositional changes during postharvest senescence of broccoli. **Journal of the American Society for Horticultural Science**. 119: 1000-1005.

- Kirpalani, D. M. and McQuinn K. J. 2006. Experimental quantification of cavitation yield revisited: focus on high frequency ultrasound reactors. **Ultrasonics Sonochemistry** 13: 1-5.
- Knorr, D., B. I. O. Ade-Omowaye, and V. Heinz. 2002. Nutritional improvement of plant foods by non-thermal processing. **Proceedings of the Nutrition Society** 61(22): 311-318.
- Kono, Y., A. Kojima, R. Nagai, M. Watanabe, T. Kawashima, T. Onizawa, T. Teraoka, M. Watanab, H. Koshino, J. Uzawa, Y. Suzuki and A. Sakurai. 2004. Antibacterial diterpenes and their fatty acid conjugates from rice leaves. **Phytochemistry** 65: 1291-1298.
- Kubota, K., Y. Matsuoka and H. Seld. 1983. Isolation of potent anti-inflammatory protein from barley leaves. **The Japanese Journal of Inflammation** 3(4): 145-150.
- Kulkarni, S.D., J. Tilak, R. Acharya, N. S. Rajurkar, T. P. A. Devasagayam and A. V. R. Reddy. 2006. Evaluation of the antioxidant activity of wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) as a function of growth under different conditions. **Phytotherapy Research** 20(3): 218-227.
- Kulkarni, V. M. and V. K. Rathod. 2014. Mapping of an ultrasonic bath for ultrasound assisted extraction of mangiferin from *Mangifera indica* leaves. **Ultrasonics Sonochemistry** 21: 606-611.
- Labbe, D., A. Tremblay and L. Bazinet. 2006. Effect of brewing temperature and duration on green tea catechin solubilization: Basis for production of EGC and EGCG-enriched fractions. **Separation and Purification Technology** 49: 1-9.
- Lanfer-Marquez, U. M., R. M. C. Barros and P. Sinnecker. 2005. Antioxidant activity of chlorophylls and their derivatives. **Food Research International** 38: 885-891.
- Lee, S. H., S. S. Jew, P.S. Chang, I.J. Hong, E.S. Hwang, K.S. Kim, K.T. Kim and H.L. Sung. 2003. Free radical scavenging effect and antioxidant activities of barley leaves. **Food Science and Biotechnology** 12(3): 263-273.
- Li, H., E. Ohdaira and M. Ide. 1995. Enhancement in diffusion of electrolyte through membrane using ultrasonic dialysis equipment with plane membrane. **Japanese Journal of Applied Physics** 34: 2725-2729.
- Liang, Y. R and Y. R. Xu. 2001. Effect of pH on cream particle formation and solids extraction yield of black tea. **Food Chemistry** 74: 155-160.

- Liebert, M., U. Licht, V. Bohm and R. Bitsch. 1999. Antioxidant properties and total phenolics content of green and black tea under different brewing conditions. **Z Lebensm Unters Forsch A** 208: 217-220.
- Lin, Y. M., Y. J. Tsai, J. S. Tsay and J. K. Lin. 2003. Factors Affecting the Levels of Tea Polyphenols and Caffeine in Tea Leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 51: 1864-1873.
- Lotito, S.B. and B. Frei. 2006. Consumption of flavonoid-rich foods and increased plasma antioxidant capacity in humans: cause, consequence, or epiphenomenon?. **Free Radical Biology & Medicine** 41: 1727-1746
- Maillard, M.N. and C. Berset. 1995. Evolution of antioxidant activity during kilning: role of insoluble bound phenolic acids of barley and malt. **Agricultural and Food Chemistry** 43(7): 1789-1793.
- Marwaha, R.K., D. Bansal, S. Kaur and A. Trehan. 2004. Wheat grass juice reduces transfusion requirement in patients with thalassemia major: a pilot study. **Indian Pediatrics** 41(7): 716-720.
- Mason, T. J. and Y. Zhao. 1994. Enhancement in of ultrasonic cavitation yield by multi-frequency sonication. **Ultrasonics Sonochemistry** 29(5): 567-582.
- Mason, T. J. 1998. Power ultrasound in food processing-the way forward. pp. 105-126. In **Ultrasound in Food Processing**. Povey, M. J. W. and Mason, T. J. (eds.). Blackie Academic & Professional, London.
- Meng, F.H., Y.B. Li, Z. L. Xiong, Z. M. Jiang and F. M. Li. 2005. Osteoblastic proliferative activity of *Epimedium bervicornum* Maxim. **Phytomedicine** 12:189-193.
- Michael, H. and B. Marie-Luis. 2003. **Ultraviolet radiation basics and technology**. [Slides]. Heraeus Noblelight GmbH: Industrial Process Technology.
- Mukhtar, H. and N. Ahmad. 2000. Tea polyphenols: prevention of cancer and optimizing health 1-3. **American Journal of Clinical Nutrition** 71: 1698S-1702S.
- Nishiyama T., Y. Hagiwara, H. Hagiwara and T. Shibamoto. 1993. Inhibition of malondialdehyde formation from lipids by an isoflavonoid isolated from young green barley leaves. **Journal of the American Oil Chemists Society** 70: 911-913.

- Nishiyama, T., Y. Hagiwara, H. Hagiwara and T. Shibamoto. 1994. Inhibitory effect of 2''-O-glycosyl isovitexin and α -tocopherol on genotoxic glyoxal formation in a lipid peroxidant system. **Food and Chemical Toxicology** 32(11): 1047-1051.
- Oliveira, R. C. D., S. T. D. Barros and M. L. Gimenes. 2013. The extraction of passion fruit oil with green solvents. **Journal of Food Engineering** 117: 458-463.
- Osada, K., M. Takahashi, S. Hoshina, M. Nakamura, S. Nakamura and M. Sugano. 2001. Tea catechins inhibit cholesterol oxidation accompanying oxidation of low density lipoprotein in vitro. **Comparative Biochemistry and Physiology Part C** 128: 153-164.
- Osawa, T., H. Katsuzaki, Y. Hagiwara, H. Hagiwara and T. Shibamoto. 1992. A novel antioxidant isolated from green barley leaves. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 40(7): 1135-1138.
- Panda, S.K., I. Chaudhury and M.H. Khan. 2003. Heavy metals induce lipid peroxidation and affect antioxidants in wheat leaves. **Biologia Plantarum** 2: 289-294.
- Park H. L., S. W. Lee, K. H. Jung, T. R. Hahn and M. H. Cho. 2013. Transcriptomic analysis of UV-treated rice leaves reveals UV-induced phytoalexin biosynthetic pathways and their regulatory networks in rice. **Phytochemistry** 96: 57-71.
- Peryt, B., T. Szymczyk and P. Lesca. 1992. Mechanism of antimutagenicity of wheat sprout extracts. **Mutation research** 269(2): 201-215.
- Pinsirodom, P., and W. Changnoi. 2001. Comparison of total polyphenol content and antioxidant potential of extracts obtained from seeds of different citrus fruits cultivated in Thailand. **Food** 34(4): 300-307.
- Pratt, D. E. and Hudson, B. J. F. 1990. Natural antioxidants not exploited commercially. In **Hudson BJF (Ed.), Food Antioxidant**. Amsterdam: Elsevier.
- Premier group of industries. 2009. **Organic-Chemicals** [Online].
<http://www.premierindiaa.com/organic-chemicals.html>. (2 September 2013).
- Rains, T.M., S. Agarwal and K.C. Maki. 2011. Antiobesity effects of green tea catechins: a mechanistic review. **Journal of Nutritional Biochemistry** 22: 1-7.
- Ramos, S.N. 2007. Effects of dietary flavonoids on apoptotic pathways related to cancer chemoprevention. **Journal of Nutritional Biochemistry** 18: 427 – 442.

- Randhir, R., Y. I. Kwon and K. Shetty. 2008. Effect of thermal processing on phenolics, antioxidant activity and health-relevant functionality of select grain sprouts and seedlings. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 9: 355-364.
- Rattanathanalerk, M., N. Chiewchan and W. Srichumpoung. 2005. Effect of thermal processing on the quality loss of pineapple juice. **Food Engineering** 66: 259-265.
- Re, R., N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang and C. Rice-Evans. 1999. Antioxidation activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology and Medicine** 26(9-10): 1231-1237.
- Reto, M., M. E. Figueira, M. F. Filipe and C. M. M. Almeida. 2007. Chemical composition of green tea (*Camellia sinensis*) infusions commercialized in Portugal. **Plant Foods for Human Nutrition**. 62: 139-144.
- Rimsten, L., T. Stenberg, R. Andersson, A. Andersson and P. Aman. 2003. Determination of beta-glucan molecular weight using SEC with calcofluor detection in cereal extracts. **Cereal Chemistry** 80(4):485-490.
- Rosenthal, I. 1992. Electromagnetic radiations in Food Science. **In Biomedical and Life Sciences**. Germany: Springer Berlin Heidelberg.
- Rozan, P., Y. H. Kuo and F. Lambein. 2000. Free amino acids presented in commercially available seeding sold for human consumption. A potential hazard for consumers. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 48(3): 716-723.
- Rusak, G., D. Komes, S. Likic, D. Horzic and M. Kovac. 2008. Phenolic content and antioxidative capacity of green and white tea extracts depending on extraction conditions and the solvent used. **Food Chemistry** 110: 852-858.
- Ryer, A.D. 1997. **Light Measurement Tutorial** [Online]. แหล่งที่มา <http://www.intl-lighttech.com/support/what-is-light-chapter-1-light-measurement-tutorial> (12 September 2013).
- Sagliano, F.S. and E.A. Sagliano. Method for growing and preserving wheatgrass nutrients and products thereof. **United States Patent 5,820,916**. 13 October 1998.
- Sales, J. M. and A. V. A. Resurreccion. 2010. Phenolic profile, antioxidants, and sensory acceptance of bioactive-enhanced peanuts using ultrasound and UV. **Food Chemistry** 122: 795-803.

- Salleh-Mack, S. Z. and J. S. Roberts. 2007. Ultrasound pasteurization: The effects of temperature, soluble solids, organic acids and pH on the inactivation of *Escherichia coli* ATCC 25922. **Ultrasonics Sonochemistry** 14: 323–329.
- Scalzoa, R. L., T. Iannoccaria, C. Summaa, R. Morellib and P. Rapisardac. 2004. Effect of thermal treatment on antioxidant and antiradical activity of blood orange juice. **Food Chemistry**. 85(1): 41-47.
- Schnabel, C. 1940. We're harvesting our crops too late! **Magazine Digest**. November, 1940.
- Seeram, N. P., S. M. Henning, Y. Niu, R. Lee, H. S. Scheuller and D. Heber. 2006. Catechahin and Caffeine Content of Green Tea Dietary Supplements and Correlation with Antioxidant Capacity. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 54: 1599-1603.
- Shahidi, F. 1997. Natural Antioxidant: Chemistry, Health Effects and Applications. Illinois. **AOCS Press**.
- Shama, G. 2006. Ultraviolet light. pp. 122 In Y. H. Hui, (Ed.), **Handbook of Food Science Technology and Engineering**, vol. 3. CRC/Taylor and Francis, Boca Raton, Florida.
- Shukla, V., M. Vashistha and S. N. Singh. 2009. Evolution of antioxidant profile and activity of analaki (*Emblica Officinalis*) spirulina and wheat grass. **Clinical Biochemistry** 24(1): 70-75.
- Sies, H., W. Stahl and A. Sundquist. 1991. Antioxdtant functions of vitamins, vitamin E and C, beta-carotene and other carotenoids. **Annals of the New York Academy of sciences** 368: 7-19.
- Smith, L. J., A. Kahraman and J. M. Thornton. 2010. Heme proteins-Diversity in structural characteristics, function, and folding. **Proteins** 78: 2349-2368.
- Spigno, G., L. Tramelli, and D. M. De Faveri. 2007. Effect of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape mare phenolics. **Journal of Food Engineering** 81: 200-208.
- Sthiskumar, R., P. T. V. Lakshmi and A. Annamalai. 2009. Effect of drying treatment on the content of antioxidants in *Enicostemma littorale* Blume. **Medical Plant** 3: 93-101.
- Su, X., J. Duan, Y. Jiang, X. Duan and F. Chen. 2007. Polyphenolic profile and antioxidant activities of oolong tea infusion under various steeping conditions. **Molecular Sciences** 8: 1196-1205.

- Suematsu, S., Y. Hisanobu, H. Saigo, R. Matsuda and Y. Komatsu. 1995. A new extraction procedure for determination of caffeine and catechins in green tea. **Nippon Syokuhin Kagaku Kaishi**. 42: 419-424.
- Suslick, K. S. 1998. Homogeneous sonochemistry. pp. 121-164. In **Ultrasounds, its chemical, physical and biological effects**. K. S. Suslick (eds.). VCH Publishers, Inc. New York.
- Swamy, K. M. and K. L. Narayana, 2001. Intensification of leaching process by dual-frequency ultrasound. **Ultrasonics Sonochemistry** 8: 341-346.
- Tabaraki, R. and A. Nateghi, 2011. Optimization of ultrasound-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology. **Ultrasonics Sonochemistry** 18: 1279-1286.
- Takaoka, T. Food provided for emergencies. **United States Patent 2004/0185163 A1**. 23 September 2004.
- Tiwari, B. K., A. Patras, N. Brunton, P. J. Cullen and C. P. O'Donnell. 2010. Effect of ultrasound processing on anthocyanins and color of red grape juice. **Ultrasonics Sonochemistry** 17: 598-604.
- Tiwari, B. K., C. P. O'Donnell and P. J. Cullen. 2009. Effect of sonication on retention of anthocyanins in blackberry juice. **Journal of Food Engineering** 93: 166-171.
- U.S. Food and Drug Administration, 2000. J. Food Sci. 65 (Suppl.).
- Verma, S. and R.S. Dubey. 2003. Lead toxicity induces lipids peroxidation and alters the activities of antioxidant enzyme in growing rice plants. **Plant Science** 164(4): 645-655.
- Vicente, A. R., C. Pineda, L. Lemoine, P. M. Civello, G. A. Martinez and A. R. Chaves. 2005. UV-C treatments reduce decay, retain quality and alleviate chilling injury in pepper. **Postharvest Biology and Technology** 35: 69-78.
- Voest, E. E., G. Vreugdenhil and J. Marx. 1994. Iron-chelating agents in non-iron overload conditions. **Annals of Internal Medicine** 120: 490-499.
- Wang, C. Y., C. T. Chen and S. Y. Wang. 2009. Changes of flavonoid content and antioxidant capacity in blueberries after illumination with UV-C. **Food Chemistry** 117: 426-431.
- Wang, L. F., D. M. Kim and C. Y. Lee. 2000. Effect of heat processing and storage on flavanols and sensory qualities of green tea beverage. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 48(9): 4227-4232.

- Xia, E. Q., X. X. Ai, S. Y. Zang, T. T. Guan, X. R. Xu and H. B. Li. 2011. Ultrasound-assisted extraction of phyllirin from *Forsythia suspensa*. **Ultrasonics Sonochemistry** 18: 549-552.
- Yang, F., T. K. Basu and B. Ooraikul. 2001. Studies on germination conditions and antioxidant contents of wheat grain. **International Journal of Food Sciences and Nutrition** 52(4): 319-330.
- Yokozawa, T., T. Nakagawa and K. Kitani. 2002. Antioxidative Activity of Green Tea Polyphenol in Cholesterol-Fed Rats. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 50: 3549-3552.
- Yoshida, Y., M. Kiso and T. Goto. 1999. Efficiency of the extraction of catechins from green tea. **Analytical, Nutritional and Clinical Methods Section** 67: 429-433.
- Yu, Y. M., W. C. Chang, C. T. Chang, C. T. Hsieh and C. T. Tsai. 2002. Effect of young barley leaf extract and antioxidative vitamins on LDL oxidation and free radical scavenging activities in type 2 diabetes. **Diabetes Metabolism** 28: 107-114.
- Yuan, J. M., C. Sun and L. M. Butler. 2011. Tea and cancer prevention: Epidemiological studies. **Pharmacological Research** 64: 123-135.
- Zaveri, N. T. 2006. Green tea and its polyphenolic catechins: Medicinal uses in cancer and noncancer applications. **Life Sciences** 78: 2073-2080.
- Zhang, A., P. T. Chan, Y. S. Luk, W. K. K. Ho and Z. Y. Chan. 1997a. Inhibitory effect of jasmine green tea epicatechin isomers on LDL-oxidation. **Journal of Nutritional Biochemistry** 8: 334-340.
- Zhang, A., Q. Y. Zhu, Y. S. Luk, K. Y. Ho, K. P. Fung and Z. Y. Chan. 1997b. Inhibitory effects of jasmine green tea epicatechin isomers on free radical-induced lysis of red blood cells. **Life Sciences** 61: 383-394.
- Zhang, H. F., X. H. Yang, L. D. Zhao and Y. Wang. 2009. Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of *Epimedium* and extraction mechanism. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 10:54-60.
- Zhu, Q. Y., A. Zhang, D. Tsang, Y. Huang and Z. Y. Chen. 1997. Stability of Green Tea Catechins. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 45: 4624-4628.

Zou, T. B., M. Wang, R. Y. Gan and W. H. Ling. 2011. Optimization of Ultrasound-Assisted Extraction of Anthocyanins from Mulberry, Using Response Surface Methodology. **International Journal of Molecular Sciences** 12: 3006-3017.





ภาคผนวก



ภาคผนวก ก

วัตถุสืบ และเครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง



ภาพผนวก 1 กล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1



ภาพผนวก 2 เครื่องอัดตราโซนิค (SANPA W-113, Japan)

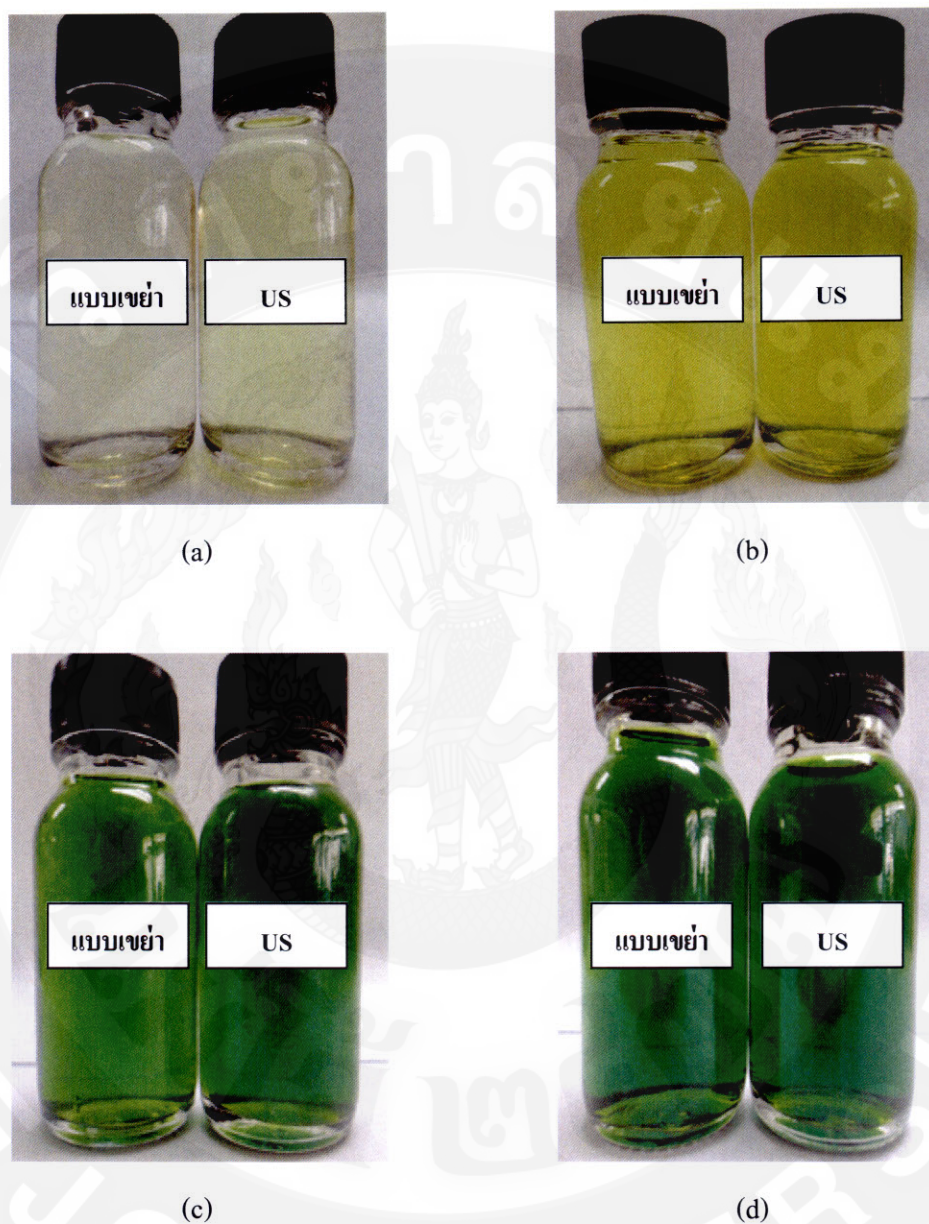


ภาพผนวก 3 ตู้สแตนเลสปิดสนิท ภายในบรรจุหลอดอัลตราไวโอเลต (ultraviolet chamber)



ภาคผนวก ข

สารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1



ภาพผนวก 4 สารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่ได้จากการสกัดแบบวิธีเขย่าเทียบกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิก (a) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยน้ำ (b) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 50% (c) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 70% (d) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 95%

หมายเหตุ: US = Ultrasonication



(a)



(b)

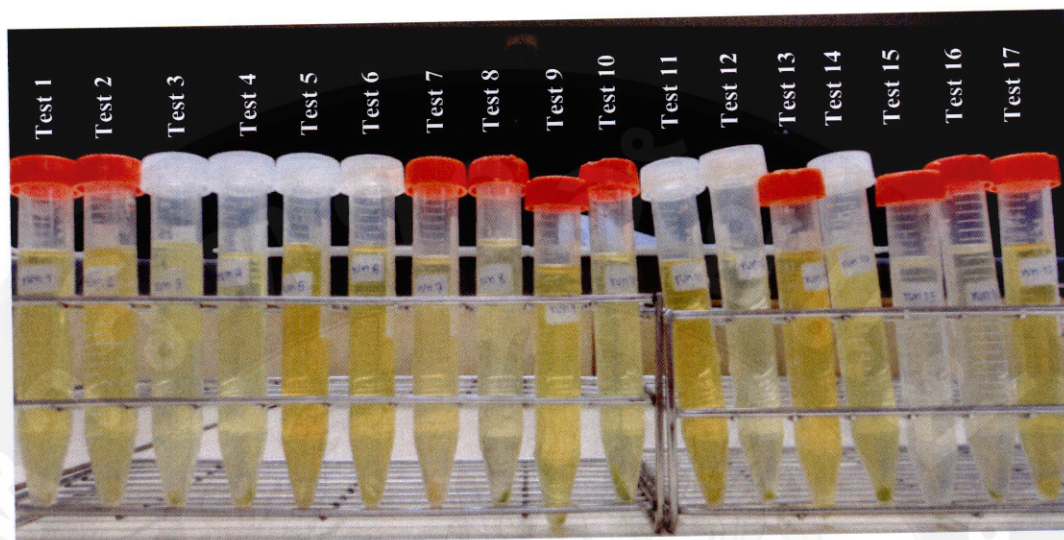


(c)



(d)

ภาพผนวก 5 สารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่ได้จากการสกัดโดยคลื่นอัลตราโซนิก ด้วยความถี่ 3 ระดับ (a) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยน้ำ (b) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 50% (c) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 70% (d) การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายด้วยเอทานอล 95%



ภาพผนวก 6 สารสกัดจากกล้าข้าวพันธุ์สุโขทัย 1 ที่ได้จากการออกแบบโดยใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง
ด้วยการใช้คลื่นอัลตราโซนิกความถี่ต่ำ 28kHz

หมายเหตุ: Test 1 = 81°C, 37.50 min

Test 3 = 64°C, 10.00 min

Test 5 = 98°C, 120.00 min

Test 7 = 81°C, 65.00 min

Test 9 = 98°C, 10.00 min

Test 11 = 64°C, 120.00 min

Test 13 = 98°C, 65.00 min

Test 15 = 30°C, 10.00 min

Test 17 = 64°C, 92.50 min

Test 2 = 81°C, 92.50 min

Test 4 = 64°C, 37.50 min

Test 6 = 64°C, 65.00 min

Test 8 = 30°C, 65.00 min

Test 10 = 47°C, 65.00 min

Test 12 = 47°C, 37.50 min

Test 14 = 47°C, 92.50 min

Test 16 = 30°C, 120.00 min



ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี

วิธีการวิเคราะห์สมบัติทางกายภาพและเคมี

1. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (AOAC, 2005)

นำกระป๋องอะลูมิเนียมพร้อมฝาไปอบในตู้อบลมร้อน (hot air oven) ยี่ห้อ Termaks รุ่น TS4115 ที่อุณหภูมิ 105 °C 1 ชั่วโมง ทำให้เย็นในโถดูดความชื้นแล้วชั่งน้ำหนัก (W_1) ชั่งตัวอย่างกล้าข้าวสาคูที่ผ่านการตัดให้มีขนาด 0.5-1.0 เซนติเมตร จำนวน 3 กรัม ให้ได้น้ำหนักที่แน่นอน (W_s) ใส่ลงในกระป๋องอะลูมิเนียม นำไปอบที่อุณหภูมิ 105 °C จนมีน้ำหนักคงที่ (W_2) คำนวณหาปริมาณความชื้นจากสมการ

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

2. การวัดค่าสี (จิตรนา และคณะ, 2546)

ก่อนการวิเคราะห์ควรอุ่นเครื่องวัดสี (Tri-stimulus colorimeter รุ่น JC801) ประมาณ 30 นาที หลังจากนั้นเลือกแท่นรองให้สัมพันธ์กับขนาดของวัตถุที่วัด วางบนช่องแสงผ่านแล้วปรับมาตรฐานเครื่องวัดสีด้วย standard white plate ก่อนการวัดค่าสีของตัวอย่าง ซึ่งการวัดค่าสีระบบ CIE ประกอบด้วยตัวแปรของค่าสี 3 ตัวคือ

1. ค่าสี L^* หมายถึง ค่าความสว่างของสี ซึ่งมีค่าจาก 0 คือ สีดำ ถึง 100 คือ สีขาว
2. ค่าสี a^* หมายถึง ค่าความเป็นสีเขียวและสีแดง เมื่อ a^* มีค่าบวก จะแสดงถึงความเป็นสีแดง และเมื่อ a^* มีค่าลบ จะแสดงถึงความเป็นสีเขียว
3. ค่าสี b^* หมายถึง ค่าความเป็นสีน้ำเงินและสีเหลือง เมื่อ b^* มีค่าบวก จะแสดงถึงความเป็นสีเหลือง และเมื่อ b^* มีค่าลบ จะแสดงถึงความเป็นสีน้ำเงิน

3. การวิเคราะห์สมบัติการต้านออกซิเดชัน

3.1 การเตรียมตัวอย่าง

ตัวอย่างสารสกัดที่ผ่านกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 93 นำมาเก็บไว้ในขวดสีชา ขนาด 100 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำมาวิเคราะห์สมบัติทางเคมี

3.2 วิธี Ferric reducing ability power (FRAP) (ดัดแปลงจาก Benzie and Strain, 1996)

เตรียม working FRAP reagent โดยผสมอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ ที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง 2.5 มิลลิลิตร สารละลาย TPTZ ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ จำนวน 2.5 มิลลิลิตร และสารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ จำนวน 2.5 มิลลิลิตร แล้วทดสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันของตัวอย่าง โดยผสมตัวอย่างจำนวน 40 ไมโครลิตร ตัวทำละลายของตัวอย่าง 120 ไมโครลิตร และ working FRAP reagent 1.2 มิลลิลิตร หลังจากนั้น 4 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร โดยใช้เฟอร์รัสซัลเฟตเป็นสารมาตรฐาน

3.3 วิธี ABTS⁺ radical cation decolorization assay (ABTS⁺) (Re et al., 1999)

เตรียม ABTS stock solution โดยใช้สารละลาย ABTS ความเข้มข้น 7 มิลลิโมลาร์ ผสมกับ สารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 1:0.5 โมล/โมล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด เป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง จากนั้นทดสอบ ABTS⁺ working solution โดยนำ ABTS stock solution มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.7-0.9 นาโนเมตร แล้วทดสอบสมบัติการต้านออกซิเดชันของตัวอย่าง โดยผสมตัวอย่างจำนวน 20 ไมโครลิตร ตัวทำละลายของตัวอย่าง 80 ไมโครลิตร และ ABTS⁺ working solution 2 มิลลิลิตร หลังจากนั้น 3 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร โดยใช้โทรลอกซ์เป็นสารมาตรฐาน

4. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบพอลิฟีนอล (ประพันธ์ และวันทนิย์, 2544)

วิเคราะห์ตัวอย่างสารสกัด โดยผสมตัวอย่างสารสกัด 0.5 มิลลิลิตร น้ำกลั่น 9.5 มิลลิลิตร และ Folin-ciocalteu 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 10 ลงไป 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันและตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 730 นาโนเมตร

5. การวิเคราะห์ปริมาณคลอโรฟิลล์ (ดัดแปลงจาก AOAC Official Method 942.04, 2006)

ตัวอย่างสารสกัด 20 มิลลิกรัม ลงในกรวยแยกผสมกับแคลเซียมคาร์โบเนต 0.1 กรัม จากนั้นเติมอะซิโตนความเข้มข้นร้อยละ 85 ปริมาตร 25 มิลลิกรัม เขย่าให้เข้ากันเป็นเวลา 2 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดการแยกส่วนของตะกอน นาน 20 นาที นำส่วนใสที่ได้มาปรับปริมาตรให้เป็น 250 มิลลิกรัม ด้วยอะซิโตนที่ความเข้มข้นร้อยละ 85 เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นนำตัวอย่าง 50 มิลลิกรัม ผสมกับเอทิลอีเทอร์ 50 มิลลิกรัม เขย่าให้เป็นเนื้อเดียวกัน ทำการล้างชั้นอีเทอร์ด้วยน้ำกลั่น 20 ครั้งๆ ละ 10 มิลลิกรัม ทำการปรับปริมาตรสารสกัดด้วยเอทิลอีเทอร์ 100 มิลลิกรัม จากนั้นเติมโซเดียม ซัลเฟต 0.5 กรัม แล้วทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 642.5 และ 660 นาโนเมตร นำค่า การดูดกลืนแสงมาคำนวณหาปริมาณคลอโรฟิลล์ตามสมการ

$$\text{ปริมาณคลอโรฟิลล์ทั้งหมด (mg/g)} = 7.12A_{660} + 16.8A_{642.5}$$

หมายเหตุ A หมายถึง ค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านได้จากความยาวคลื่น (นาโนเมตร)

6. การวิเคราะห์ปริมาณสารคาเทชินด้วยวิธี HPLC (ดัดแปลงจาก Chen et al., 2001)

6.1 การเตรียมสารสกัด

นำตัวอย่างสารสกัดที่ผ่านการทำแห้งผสมกับตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดแต่ละ ตัวอย่างให้มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัม กรองด้วยกระดาษกรอง Nylon filter membranes (0.45µm) นำสารสกัดที่ได้มานี้วิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC หลังจากนั้นเก็บรักษาสารสกัดไว้ที่ -20 องศา เซลเซียสเพื่อเก็บไว้ใช้วิเคราะห์ต่อไป

6.2 การวิเคราะห์ปริมาณสารคาเทชินด้วยวิธี HPLC

นำสารสกัดที่ได้จากข้อ 6.1 มาทำการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC ยี่ห้อ Agilent LC 1200 Infinity Series ภายใต้สภาวะที่กำหนดดังนี้

6.2.1 คอลัมน์ที่ใช้วิเคราะห์ คือ Zorbax Eclipse XDB-C18 (4.6x150 mm, 5 µm)

6.2.2 ตัวทำละลายเคลื่อนที่ คือ 0.05% H₂SO₄: acetonitrile: ethylacetate (86:12:2; v/v/v)

ทำการฉีดสารละลายมาตรฐานคาเทชินต่างๆ หรือตัวอย่างสารสกัด 20 ไมโครลิตร เข้าไปในช่องสำหรับฉีดสารตัวอย่างของเครื่องมือ HPLC แล้วทำการชะล้างด้วยตัวทำละลาย เคลื่อนที่ด้วยอัตราเร็วของการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารที่ถูกชะออกมา ที่ความยาวคลื่น 280 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-VIS detector (SpectraMonitor LC)

6.3 การหาปริมาณของสารคาเทชิน

นำค่าพื้นที่ใต้กราฟ (Peak area) ของสารที่ถูกแยกออกมาในช่วงค่าเวลาเฉพาะมา เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารคาเทชิน (EGC, EC, EGCG, GCG และ ECG) แล้วคำนวณหา ปริมาณสารคาเทชินที่มีอยู่ในสารสกัด (หน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อกรัมของน้ำหนักกล้าข้าว)



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-สกุล	นางสาวนัฏรชญา แก้วเมืองมา
วันเดือนปีเกิด	1 พฤศจิกายน พ.ศ. 2530
ประวัติการศึกษา	พ.ศ. 2552 วท.บ. (วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) มหาวิทยาลัยแม่โจ้ จังหวัดเชียงใหม่
ผลงานทางวิชาการ	พ.ศ. 2557 “Ultrasonic-assisted extraction of polyphenols and chlorophyll contents from rice seedlings (var. Sukhothai 1)” ในการประชุมวิชาการ The 2 nd International Conference Food and Applied Bioscience; February 6-7, 2014 at The Empress Hotel, Chiang Mai, Thailand.
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	พ.ศ. 2555 ทุนสนับสนุนการวิจัยจาก บริษัทข้าวธรรมชาติ จำกัด
ประวัติการทำงาน	พ.ศ. 2553 นักวิทยาศาสตร์ ภาควิชาเกษตรชีววิทยา คณะแพทยศาสตร์- ศิริราชพยาบาล มหาวิทยาลัยมหิดล กรุงเทพมหานคร



Ultrasonic-assisted extraction of polyphenols and chlorophyll contents from rice seed lings (*var. Sukhothai 1*)

Supika Kaewmuangma and Suthaya Phimphilai*

Abstract

Ultrasonic-assisted extraction presently is an interest technique for recovering the valuable compounds from the vegetal materials. This study was conducted for comparing a traditional extracting technique (shaking) to an ultrasonic-assisted extraction (28, 45, 100 kHz) on rice seedling (*var. Sukhothai 1*) sample. In combination, solvent effect (water and various concentrations of ethanol) under 50°C 60 min extracting conditions were also investigated. Antioxidant properties, total polyphenol contents as well as chlorophyll contents in the extracts were analyzed. The extracts obtained by higher ethanol concentration are more desirable and that the ultrasonic technology can be potentially used in the extraction process to improve efficiency.

Keyword: rice seedling, polyphenols, antioxidant properties, chlorophyll, extraction

1. Introduction

Seedlings are young plants grown from seeds i.e. wheat, barley, oat, rye, or rice. During germination, these plants degrade any large compounds into smaller ones such as vitamins, minerals, dietary fiber, antioxidants, superoxide dismutase (SOD), fatty acids, amino acids, polyphenols, and chlorophyll (Hattori, 2002). The cereal seedlings are currently found to be excellent sources of vitamin K, folic acid, calcium and protein as well as good sources of vitamin C and vitamin B, which are beneficial to human health. Gallic acid, catechin, rutin and isoquercetin are common polyphenols found in the rice seedling (Phimphilai et al., 2013). As the rice seedlings are perishable, they have been preserved or extracted for maintaining or minimizing any losses of functional qualities (Phimphilai et al., 2012). A traditional extraction method, especially shaking, requires a long period of maceration and extraction (Carrera et al., 2012). Using other extracting-aid procedures has been recently reported.

Ultrasonic-assisted extraction is a method utilized for recovering the valuable compounds from the vegetal materials (Vilkhu et al., 2008). In 2000, the U.S. Food and Drug Administration (USFDA) released a report on alternative food processing technologies in which several solvents, such as water and ethanol, have been used in several processes including

shaking and ultrasonication to recover active compounds from many plant cells (USFDA, 2000). The naturally active compounds are valuable in food applications, food supplements including pharmaceutical products.

This research was aimed to compare efficacies of extraction conditions on total polyphenols, pigments or chlorophyll, as well as antioxidant activities of the particular Thai rice seedling extracts.

2. Materials and Methods

2.1 Chemicals and solvents

All chemicals used in this study were of analytical grade. Distilled water as well as ethanol solution with concentrations of 95%, 70% and 50% (v/v) were used as extraction solvents.

2.2 Raw materials

Rice seedlings (var. *Sukhothai 1*) were provided by Natural Rice Co., Ltd. (Sukhothai, Thailand). An optimum age of rice seedling is 12-15 days after germination. The seedlings were freshly cut and stored at -20°C under vacuum condition until studied. In preparation, the seedlings were thoroughly water-rinsed, drained and cut into pieces (0.5 -1.0 cm) prior to an extraction step.

2.3 Extraction methods

Three grams each of rice seedling was mixed with 50 mL of extracting solvent; water, 95% ethanol (v/v), 70% ethanol (v/v) and 50% ethanol (v/v), in Erlenmeyer flasks. All the extractions were carried out at 50°C for 60 min using a shaker bath at 120 rpm (Zhang et al., 2009) or an ultrasonic bath (Honda, Japan) with frequencies of 28 kHz, 45 kHz and 100 kHz. All sample extracts then were collected into small vials and stored under -20°C for 24 hours prior to analyses.

2.4 Analysis of antioxidant activity (AOA)

2.4.1 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{••}) assay

Radical scavenging activity determination was modified from the method described by Re and colleagues (1999). Sample solution was diluted before measured an absorbance at 730 nm using UV-VIS spectrophotometer (Perkin Elmer, Germany). Trolox solution was used to

create a standard curve and the activity was reported as trolox equivalent antioxidant capacity (mg) in 1 g dry sample (mg TEAC/1g DM).

2.4.2 Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay

Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay was conducted using the method described by Benzie and Strain (1996) with some modifications. The absorbance was measured at 593 nm and FeSO_4 solution was used to create a standard curve. A result was expressed as FeSO_4 equivalent (mg) in 1 g dry sample.

2.5 Total polyphenol content (TPC)

Total polyphenol content (TPC) was determined using the method described by Pinsirodom and Changnoi (2001) with some modifications. To create a standard curve, gallic acid solution was used and the absorbance was measured at 734 nm. Each result was reported as gallic acid equivalent (mg) in 1 g dry sample (mg GAE/1g DM).

2.6 Chlorophyll content

Chlorophyll contents were determined using the method described by AOAC Official Method 942.04 (2006). Acetone was firstly used in chlorophyll extraction and diethyl ether was applied to purify the sample. After adjusting to a certain volume, absorbances were measured at 642.5 and 660 nm. and reported as total chlorophyll contents.

2.7 Statistical analysis

A completely randomized design (CRD) was applied to this experiment. The data were analyzed using ANOVA (SPSS version 16.0) and mean comparisons were conducted by Duncan's new multiple range test. Any significant differences were defined at $p \leq 0.05$.

3. Results and Discussion

3.1 Antioxidant activities

Both extracting factors; method and solvent, significantly showed differences on antioxidant activities in rice seedling extracts where $\text{ABTS}^{\bullet+}$ and FRAP were observed (Table 1). Ultrasonication with all extracting solvents significantly facilitated the rice seedling antioxidant extraction ($\text{ABTS}^{\bullet+}$) comparing to the shaking method. However, water-soluble antioxidants with ferric-reducing ability were not much different among the extracting devices. Combination of 28kHz or 45kHz ultrasonication with 95% ethanol resulted in the highest antioxidation activities

(ABTS^{•+}) of rice seedling extract with the activities equivalent to 31.60mg trolox per gram of the seedling (dry basis). However, lower antioxidant activities were found in all samples extracted with a 100kHz ultrasonic comparing to other lower frequencies. It has been stated in a literature that cavitation yield from ultrasonic decreases as frequency increases. The cavitation bubbles, therefore, tend to be smaller and less energetic resulting in a reduction yield (Kirpalani and McQuinn, 2006).

Table 1. Effect of extracting method and solvent on antioxidant properties of rice seedling extracts.

Antioxidant activities (AOA)	Method	Solvent			
		Water	50%Ethanol	70%Ethanol	95%Ethanol
ABTS ^{•+} (mgTrolox equiv. perg sample, db.)	Shaker	12.93±0.38 ^{dZ}	16.73±0.56 ^{cZ}	19.10±1.65 ^{bXY}	20.55±1.33 ^{aX}
	US 28kHz	22.38±0.25 ^{dW}	26.66±0.07 ^{bW}	24.01±0.04 ^{cW}	31.60±0.07 ^{aW}
	US 45kHz	19.41±0.06 ^{dX}	25.52±0.02 ^{bX}	21.42±0.04 ^{cWX}	28.68±0.02 ^{aW}
	US 100kHz	17.66±0.04 ^{dY}	23.82±0.09 ^{bY}	19.51±0.03 ^{cY}	26.22±0.10 ^{aX}
FRAP (mgFeSO ₄ equiv. perg sample, db.)	Shaker	7.84 ±0.15 ^{dW}	11.92±1.26 ^{cY}	15.78±2.70 ^{bX}	23.06±1.08 ^{aY}
	US 28kHz	7.76 ±0.12 ^{dX}	19.78±0.47 ^{cW}	19.97±0.79 ^{bW}	27.77±0.71 ^{aX}
	US 45kHz	7.78 ±0.31 ^{dWX}	18.79±0.07 ^{bX}	13.60±0.11 ^{cY}	31.04±0.27 ^{aW}
	US 100kHz	6.96 ±0.44 ^{dY}	18.17±0.70 ^{cX}	21.03±0.51 ^{bW}	29.93±0.64 ^{aWX}

Data are expressed as mean ± SD(n=6).

^{a-d} Values in each row with different letters are significantly different (p<0.05).

^{w-z} Values in each column of each analytical property with different letters are significantly different (p<0.05).

US = Ultrasonication.

From the study, it was revealed that antioxidant compounds in the rice seedling were both in hydrophilic and hydrophobic parts, but likely to have more composition in ethanol-soluble compounds. High concentration of ethanol (95%), therefore, could be used to obtain the highest antioxidant-activity extract from the particular rice seedling.

In 2013, Oliveira and colleagues reported similar results, which were expressed as passion fruit oil extract to solvent ratio, where ethanol was the most efficient solvent. However, the appropriate solvent was selected based upon the economic considerations. Type of solvent is one of the factors generally investigated during the extraction and ethanol was commonly used as a solvent to recover the plant compounds in a conventional method (Hayouni et al., 2007).

3.2 Total polyphenol contents(TPC)

Total polyphenols in the seedling extracts were reported as gallic acid equality (Table 2). Traditional shaking with ethanol combination showed slight increment in total polyphenol contents ($p<0.05$) of the extracts. However, application of ultrasonic wave with ethanol significantly increased amounts of the particular compounds. This study indicated that high concentration of ethanol (95%) could be used to achieve higher total polyphenol contents in the extract with 28kHz, 45kHz, or 100kHz ultrasonic-assisted devices. The ultrasonic frequencies used in this study showed smaller effects on the extracted compounds than that of the solvent factor.

Table 2. Effects of extracting method and solvent on total polyphenol contents (TPC) of rice seedling extracts.

Analyses	Method	Solvent			
		Water	50%Ethanol	70%Ethanol	95%Ethanol
Total polyphenol contents (mggallic acid equiv./g sample, db.)	Shaker	6.17±0.04 ^{dW}	6.61±0.32 ^{cZ}	6.79±0.71 ^{bX}	6.96±0.08 ^{aX}
	US 28kHz	5.88±0.11 ^{dX}	8.82±0.09 ^{cY}	9.51±0.02 ^{bWX}	10.49±0.27 ^{aW}
	US 45kHz	5.22±0.04 ^{dY}	9.99±0.18 ^{aW}	6.98±0.10 ^{cX}	9.17±0.14 ^{bWX}
	US 100kHz	5.34±0.42 ^{dY}	9.30±0.09 ^{cX}	9.56±0.19 ^{bW}	9.00±0.11 ^{aW}

Data are expressed as the mean±SD(n=6).

^{a-d} Values in each row with different letters are significantly different($p<0.05$).

^{W-Z} Values in each column of each analytical property with different letters are significantly different ($p<0.05$).

US = Ultrasonication

Among the studied factors, higher amplitude of ultrasound or ultrasonic could damage more cell wall, then releasing more antioxidants including phenolic compounds to the solvents (Hossain et al., 2012). Ultrasonic extraction could increase the solubility of target compounds as well as their diffusion rate and mass transfer of solvent while decreasing the viscosity and surface tension of solvent. Effect of different ethanol concentrations on plant extracts was previously examined (Spigno et al., 2007). In fact, ethanol could effectively recover tannins and bioactive compounds from raw plant materials, but solubility of these compounds was enhanced by a mixed solvent over a limited compositional range (Cacace and Mazza, 2003).

3.3 Chlorophyll contents

Results for chlorophyll analysis (Table 3) in the rice seedling extract showed that both extracting method and solvent have significant effects on their chlorophyll contents ($p < 0.05$). Within each ultrasonic frequency, the stronger ethanol solvent applied, the higher chlorophyll contents were extracted. Maximum total chlorophyll contents were found in 95% ethanol with 100kHz ultrasonic-assisted extraction ($p < 0.05$) at 50°C for 60 min extracting time.

Table 3. Effects of extracting method and solvent on chlorophyll contents of rice seedling extracts.

Analyses	Method	Solvent			
		Water	50%Ethanol	70%Ethanol	95%Ethanol
Chlorophyll (mg/100g)	Shaker	3.37±0.39 ^{dx}	5.33±0.14 ^{cY}	81.49±5.96 ^{bZ}	197.30±17.87 ^{aZ}
	US 28kHz	1.75±0.46 ^{dY}	4.81±0.22 ^{cY}	233.88±1.31 ^{bW}	270.28±4.68 ^{aX}
	US 45kHz	5.02±0.53 ^{dW}	28.48±1.12 ^{cW}	203.71±11.16 ^{bX}	237.10±4.04 ^{aY}
	US 100kHz	6.22±2.10 ^{dW}	14.45±0.62 ^{cX}	187.18±0.35 ^{bY}	430.30±1.64 ^{aW}

Data are expressed as the mean±SD(n=6).

^{a-d} Values in each row with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

^{x-z} Values in each column with different letters are significantly different ($p < 0.05$).

US = Ultrasonication

Ultrasonic waves promote the extraction through the interaction of waves with organic molecules that are presented in a particular sample. As a result, cell walls are broken and bioactive compounds are released (Oliveira et al., 2013). Besides, an appropriate solvent composition for bioactive recovery is the first critical step to be examined as differing solvents generally result in varying quality and quantity of extract compositions. In this study, water and different concentrations of ethanol were evaluated for the most suitable solvent composition for the rice seedling extractable compounds. Results indicated that the extraction efficiency, which is characterized by total polyphenol contents and chlorophyll contents, was increased with higher concentration of ethanol. Ethyl alcohol is a solvent with less polar than water. As a result, polyphenols and chlorophyll, of which non polar compounds mainly comprised, could be highly extracted from the rice seedling using the particular solvent. On the other hands, more hydroxyl group or more polar compound was more extractable in methanol and water than that in n-butanol and ethanol. Phillyrinin *Forsythia suspensa* was an example (Xia et al., 2011).

A combination of ultrasonic method and 95% ethanol showed the highest extraction efficiency among all examined conditions, suggesting that the ultrasonic vibration has either increased a number of ruptured cells and/or provided the faster access for a solvent to remove solutes from these cells. On the other hand the compounds are more accessible for an extraction solvent so that the external and internal mass diffusivities increase. Therefore, the extraction time and the ratio of solvent to sample were reduced dramatically for the same amount of extract (Chen et al., 2007).

Application of ultrasonication in ambient fluids is well known to cause cavitations in the samples, which were the same in plant materials (Chen et al., 2007). Cavitation refers to the formation, growth and violent collapse of micro-bubbles in the sonication liquid due to pressure fluctuations. Moreover, the type of solvent can play an important role in extracting antioxidant compounds and polyphenol from the complex samples.

4. Conclusion

Extraction method and solvent significantly affect the composition of rice seedling extract. Ethanol and water are effective for recovering antioxidant compounds and polyphenol, yielding extracts with high antioxidant activities as well as total polyphenol and chlorophyll contents. It can be concluded that the extracts obtained by higher ethanol concentration are more desirable and that the ultrasonic technology can be potentially used in the extraction process to improve efficiency. This study will be applied for the large-scale industrial processing and preparation of natural extracts rich in antioxidant compounds.

Acknowledgements

The authors would give their appreciations to Natural Rice Co., Ltd. for providing raw materials and apart of research funding.

References

- AOAC. 2006. Official Methods of Analysis of AOAC International. 18th ed. Gaithersburg, MD: The Association of Analytical Chemists.
- Benzie, I.F.F. and Strain, J.J. 1996. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Analytical Biochemistry*. 239(1): 70-76.
- Cacace, J. E. and Mazza, G. 2003. Optimization of extraction of anthocyanins from black currants with aqueous ethanol. *Journal of Food Science*. 68(1): 240-248.

- Carrera, C., Ruiz-Rodriguez, A., Palma, M. and Barroso, C. G. 2012. Ultrasound assisted extraction of phenolic compounds from grapes. *Analytica Chimica Acta*. 732: 100-104.
- Chen, F., Sun, Y., Zhao, G., Liao, X., Hu, X., Wu, J. and Wang, Z. (2007). Optimization of ultrasound-assisted extraction of anthocyanins in red raspberries and identification of anthocyanins in extract using high-performance liquid chromatography-mass spectrometry. *Ultrasonics Sonochemistry*. 14: 767-778.
- Hattori, T., inventor. 2002. Young leaves of grass plant. U.S. Patent no. 6,379,717 B1. April 30, 2002.
- Hayouni, E. A., Abedrabba, M., Bouix, M. and Hamdi, M. 2007. The effects of solvents and extraction method on the phenolic contents and biological activities in vitro of Tunisian *Quercus coccifera* L. and *Juniperus phoenicea* L. fruit extracts. *Food Chemistry*. 105: 1126-1134.
- Hossain, M. B., Brunton, N. P., Patras, A., Tiwari, B., O'Donnell, C. P., Martin-Diana, A. B. and Barry-Ryan, C. 2012. Optimization of ultrasound assisted extraction of antioxidant compounds from marjoram (*Origanum majorana* L.) using response surface methodology. *Ultrasonics Sonochemistry*. 19: 582-590.
- Kirpalani, D. M. and McQuinn K. J. 2006. Experimental quantification of cavitation yield revisited: focus on high frequency ultrasound reactors. *Ultrasonics Sonochemistry*. 13: 1-5.
- Oliveira, R. C. D., Barros, S. T. D. and Gimenes, M. L. (2013). The extraction of passion fruit oil with green solvents. *Journal of Food Engineering*. 117: 458-463.
- Phimphilai, S., Teerawutgulrag, A., Phimphilai, K., Klinkajorn, P., Kapkum N., Thongboon, J., Kantima, S. and Charoenrath, S. 2012. Process development on dried Thai rice grass for making beverage. In Proceeding of the 2nd National Rice Conference. December 21-23, 2012. Swissotel Le Concorde Hotel, Bangkok, Thailand. (In Thai).
- Phimphilai, S., Topoonyanont, N., Srichairatanakool, S., Wangcharoen, W., Teerawutgulrag, A., Poonnoy P. and Charoenrath S. 2013. "Research and development of rice grass products for Thalassemia patients", Final report, 2013, National Research Council of Thailand, Bangkok, Thailand.
- Pinsirodom, P., and Changnoi, W. 2001. Comparison of total polyphenol content and antioxidant potential of extracts obtained from seeds of different citrus fruits cultivated in Thailand. *Food*. 34(4): 300-307.

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M. and Rice-Evans, C. 1999. Antioxidation activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free Radical Biology and Medicine*. 26(9-10): 1231-1237.
- Spigno, G., Tramelli, L. and De Faveri, D. M. (2007). Effect of extraction time, temperature and solvent on concentration and antioxidant activity of grape marc phenolics. *Journal of Food Engineering*. 81: 200-208.
- U.S. Food and Drug Administration, 2000. *J. Food Sci.* 65 (Suppl.).
- Vilkhu, K., Mawson, R., Simons, L. and Bates, D. 2008. Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry-A review. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 9: 161-169.
- Xia, E. Q., Ai, X. X., Zang, S. Y., Guan, T. T., Xu, X. R. and Li, H.B. 2011. Ultrasound-assisted extraction of phyllirin from *Forsythia suspensa*. *Ultrasonics Sonochemistry*. 18: 549-552.
- Zhang, H. F., Yang, H. X., Zhao, L. D. and Wang Y. 2009. Ultrasonic-assisted extraction of epimedin C from fresh leaves of *Epimedium* and extraction mechanism. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*. 10: 54-60.