**บทที่ 2**

**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

**2.1 ความรู้ทั่วไปเกี่ยวกับรำข้าว**

**2.1.1 รำข้าว** คือเยื่อที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าวกล้อง มีสีน้ำตาล และถือเป็นผลิตผลพลอยได้จากกระบวนการขัดสีข้าว ซึ่งโดยส่วนใหญ่จะนำมาใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยรำข้าว 100 กิโลกรัม สามารถสกัดน้ำมันดิบได้ 16-17 กิโลกรัม และได้กากรำข้าว 80-81 กิโลกรัม (Naivikul และคณะ, 2008) องค์ประกอบและโครงสร้างที่สำคัญต่าง ๆ ในรำข้าว อาทิเช่น ขนาดอนุภาค องค์ประกอบทางด้านกายภาพและเคมี คุณค่าทางโภชนาการนั้นขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สภาวะที่ใช้ในการเพาะปลูก กระบวนการขัดสี เป็นต้น และจากปัจจัยดังกล่าวข้างต้นเป็นผลทำให้มีความผันแปรต่อปริมาณของสารสำคัญต่าง ๆ ในรำข้าว โดยรำข้าวนับเป็นแหล่งสำคัญของสารต้านออกซิเดชัน และสารพฤกษเคมีต่าง ๆ อาทิเช่น โอไรซานอล โทโคเฟอรอล โทโคไตรอีนอล) รวมทั้งกรดฟีนอลิก (Phenolic acids) โดยเฉพาะกรดเฟอรูลิก และกรดพาราคูมาริก (*p*-coumaric acid) เป็นต้น โดยรำข้าวที่ยังไม่ผ่านการสกัดน้ำมันจะไม่มีความเสถียรและเสื่อมเสียได้รวดเร็วมาก อันเป็นผลอันเนื่องมาจากการทางานของเอนไซม์ ไลเปส (Lipase) โดยเอนไซม์ดังกล่าวจะเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ของ  
ไตรกลีเซอไรด์ (Triglyceride) ได้เป็นกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) โดยจากการศึกษาพบว่าความชื้นมีส่วนสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปส ซึ่งส่งผลให้ไลเปสมีความจำเพาะเหมาะแก่การทำงาน ดังเช่น ในกรณีที่ไม่มีการปรับความชื้นจะทำให้การคืนสภาพธรรมชาติของไลเปสในรำข้าว  
เกิดได้ช้า และมีอัตราการไฮโดรไลซิสต่ำ แต่หากมีการปรับความชื้นให้เหมาะสมจะทำให้การคืนสภาพธรรมชาติของไลเปสเกิดได้เร็วขึ้น ดังนั้นการควบคุมความชื้นของรำข้าวต้องให้มีปริมาณที่ต่ำกว่าปริมาณที่เหมาะสมต่อการคืนสภาพธรรมชาติ และการทำงานของไลเปสในรำข้าว (Tabaraki และ Nateghi, 2011)

**2.1.2 คุณสมบัติทางกายภาพของรำข้าว** (Barber และ Benedito de Barber, 1977)

ขนาดอนุภาคของรำข้าวมีการกระจายตัวเป็นช่วงกว้าง ซึ่งขึ้นอยู่กับกระบวนการขัดสีข้าว เช่น การขัดสีข้าวโดยใช้เครื่องขัดสีแบบกด (Friction type) จะได้รำข้าวที่มีขนาดอนุภาคใหญ่กว่าการใช้เครื่องขัดสีแบบลูกแก้ว (Abrasion type) และเมื่อมีการขัดสีข้าวเพิ่มขึ้น จะทำให้ได้ขนาดอนุภาคของรำข้าวที่เล็กลง นอกจากนี้หากรำข้าวได้รับความร้อนโดยการอบด้วยไอน้ำ และการนึ่งนั้นจะทำให้อนุภาคของรำข้าวมีการจับตัวเป็นก้อน และได้อนุภาคที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

โดยทั่วไปความหนาแน่น (Bulk density) ของรำข้าวมีค่าประมาณ 0.32 กรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้รำข้าวซึ่งมีคุณสมบัติในการดูดซับ (Absorption) และการคายความชื้น (Desorption) จึงทำให้ความชื้นในรำข้าวมีค่าเปลี่ยนแปลงไปตามค่าความชื้นสัมพัทธ์ (Relative humidity)   
ของบรรยากาศ ซึ่งจากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้มีผลต่อองค์ประกอบและความเสถียรของรำข้าว  
ทั้งทางด้านกายภาพและเคมีในระหว่างการเก็บรักษาได้ (Barber และ Benedito de Barber, 1985)

**2.1.3 คุณสมบัติทางเคมีของรำข้าว**

องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญในรำข้าวได้แก่ คาร์โบไฮเดรต (Carbohydrates) โปรตีน (Proteins) กรดอะมิโน (Amino acids) ลิปิด (Lipids) แร่ธาตุ (Minerals) วิตามิน (Vitamins)   
และเอนไซม์ (Enzymes) โดยในรำข้าวส่วนใหญ่นั้นจะมีโปรตีน ไขมัน ใยอาหาร และเถ้า แต่มี  
ปริมาณคาร์โบไฮเดรตและพลังงานลดลง เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดข้าวขาว ซึ่งคุณสมบัติทางเคมี  
ของรำข้าวดังกล่าวนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ สภาวะที่ใช้ในการเพาะปลูก กระบวนการขัดสี เป็นต้น (Barber และ Benedito de Barber, 1977) โดยปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2.1

**ตารางที่ 2 .1** องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าว และกากรำข้าว

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **องค์ประกอบทางเคมี** | **รำข้าว** | **กากรำข้าว** |
| ความชื้น  โปรตีน  ไขมัน  ใยอาหาร  เถ้า  คาร์โบไฮเดรต | 10.8  14.3  22.8  9.2  9.2  33.7 | 10.5  18.3  1.8  10.8  12.4  46.2 |

\*ปริมาณ (กรัมต่อ 100 กรัม)  
ที่มา : นัยนา บุญทวียุวัฒน์ และ เรวดี จงสุวัฒน์, 2545

นอกจากนี้ในรำข้าวยังมีวิตามิน และแร่ธาตุเป็นองค์ประกอบ ซึ่งพบมากบริเวณเยื่อหุ้มเมล็ด และในเอ็มบริโอ (Embryo) โดยวิตามินที่พบมากคือ วิตามินบี ส่วนแร่ธาตุที่พบมากคือ ฟอสฟอรัส   
ซึ่งมีมากกว่าร้อยละ 90 ของแร่ธาตุทั้งหมด ซึ่งปริมาณแร่ธาตุทั้งหมดในรำข้าวมีประมาณร้อยละ   
9.0 – 11.5 ของเถ้า และเมื่อสีข้าว วิตามินบี ไขมัน และแร่ธาตุจะออกมากับรำข้าวและปลายข้าว   
จึงทำให้รำข้าวนับเป็นแหล่งอาหารที่สำคัญ โดยวิตามินและแร่ธาตุชนิดต่าง ๆ ที่พบในรำข้าว แสดงดังในตารางที่ 2.2

**ตารางที่ 2.2** ปริมาณแร่ธาตุและวิตามินในรำข้าว

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **วิตามินและแร่ธาตุ** | | **ปริมาณ** |
| **วิตามิน** | ไทอะมีน (Thiamine)  ไรโบฟลาวิน (Riboflavin)  ไนอะซิน (Niacin)  ไพริดอกซิน (Pyridoxine)  ไบโอติน (Biotin)  วิตามินเอ (Vitamin A)  วิตามินอี (Vitamin) | 10.10-26.90  1.17-3.40  241-590  10.30-32-10  0.16-0.47  4.20  149.20 |
| **แร่ธาตุ** | แคลเซียม (Calcium)  ฟอสฟอรัส (Phosphorus)  เหล็ก (Iron)  แมกนีเซียม (Magnesium)  โพแทสเซียม (Potassium) | 140-1,310  14,800-28,000  130-530  8,650-12,300  13,650-22,700 |

ที่มา : Salunkhe และคณะ, 1992

**2.2 การคงสภาพรําข้าว (Rice bran stabilization)**

หลังจากแยกชั้นของรำข้าวออกมาระหว่างกระบวนการขัดสีใหม่ ๆ คุณภาพของรำจะลดลง เนื่องจากไขมันในรำข้าวเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสจากเอนไซม์ไลเพส ส่งผลทำให้เกิดเป็นกรดไขมันอิสระ (Free fatty acid) จึงไม่เหมาะสมสำหรับทำเป็นผลิตภัณฑ์และสกัดเป็นน้ำมันเพื่อบริโภค ดังนั้นจึงจำเป็นต้องยับยั้งหรือทำลายให้เอนไซม์ดังกล่าวให้เร็วที่สุด เพื่อรักษาคุณภาพและปริมาณสารอาหารสำคัญของรำข้าว และในรำข้าวมีปริมาณไขมันเป็นองค์ประกอบสูงจึงเกิดปฏิกิริยา  
ไฮโดรลิซิสจากเอนไซม์ไลเพส และปฏิกิริยาออกซิเดชันจากเอนไซม์ลิพ็อกซีจีเนสได้ง่าย ส่งผลให้  
ปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วหลังจากผ่านกระบวนการขัดสีได้ชั้นรำข้าวออกมา (Zullaikah et al. 2005) นอกจากนี้การเก็บข้าวไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน ๆ จะส่งผลให้รำข้าวเกิด  
กลิ่นเหม็นหืน (Rancidity) เนื่องจากการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมัน การเสื่อมเสียของไขมันใน  
เมล็ดข้าวสามารถป้องกันได้โดยใช้ความร้อนเพื่อยับยั้งเอนไซม์และปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดจาก  
เอนไซม์ไลเพส หากไม่คงสภาพหรือยับยั้งเอนไซม์ก่อนไขมันจะถูกไฮโดรไลซ์และส่งผลให้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้ลดลง (O'Connor et al., 1992) ดังนั้นวิธีคงสภาพรำข้าวส่วนใหญ่จึงมุ่งเน้น   
การทำลายเอนไซม์ในรำข้าวที่ขัดสีเสร็จใหม่ ๆ เพื่อรักษาองค์ประกอบกรดไขมันและปริมาณสารสำคัญการคงสภาพทำได้หลายวิธี ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะวิธีที่ทำได้สะดวกและมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเสื่อมเสียได้ดี ดังนี้

**2.2.1 การใช้ลมร้อน (Dry heat)** เป็นวิธีการคงสภาพรำข้าว โดยอาศัยลมร้อนที่มี  
อุณหภูมิระหว่าง 100-110°C เป็นเวลานาน 20-30 นาที เพื่อยับยั้งหรือทำลายเอนไซม์ไลเพสและ และลิพ็อกซีจีเนส วิธีการใช้ลมร้อนที่นิยมใช้ ได้แก่ ฟลูอิไดเซชัน (Fluidization) การอบด้วยลมร้อน   
(Hot-air drying) การอบภายใต้สุญญากาศ (Vacuum drying) รำข้าวที่ผ่านการคงสภาพโดยวิธีอบด้วยลมร้อนในสภาพสุญญากาศที่อุณหภูมิ 95°C นาน 1 ชั่วโมง มีผลยับยั้งเอนไซม์ไลเพสและชะลอการเพิ่มของปริมาณกรดไขมันอิสระหลังเก็บนาน 1 สัปดาห์ จากรายงานของ Amarasinghe และ Gangodavilage (2004) ในการอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 100°C นาน 1 ชั่วโมง ด้วยความร้อน พบว่า  
รำข้าวมีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นร้อยละ 10.98 หลังเก็บนาน 70 วัน แต่ข้อเสียของการใช้  
ลมร้อนคงสภาพ คือ ใช้เวลานาน เนื่องจากค่าการนำความร้อนของรำข้าวต่ำ ทำให้ความร้อนทำลายเอนไซม์ไม่สมบูรณ์ ส่งผลทำให้มีปริมาณของเอนไซม์ไลเพสเหลืออยู่ (Juliana, 1985)

**2.2.2 การให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำร้อน (Wet heat)** เป็นการใช้ความร้อนชื้นของไอน้ำช่วงอุณหภูมิระหว่าง 100-120°C นาน 5-15 นาที สำหรับการคงสภาพรำข้าว การให้ความร้อนแบบนี้ มีหลายวิธี เช่น การใช้ลูกกลิ้ง (Rolling mill) การนึ่งด้วยไอน้ำ (Steaming) และการใช้แรงอัด  
ที่อุณหภูมิสูง พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของการให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15 นาที หรืออุณหภูมิ 110°C นาน 5 นาที ทำให้รำข้าวคงคุณภาพ และมีประสิทธิภาพในการ  
ยับยั้งปริมาณของเอนไซม์ไลเพสในรำข้าวได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Amarasinghe และ Gangodavilage (2004) ที่ใช้ไอน้ำร้อนอุณหภูมิ 100°C นาน 30 นาที เพื่อคงสภาพรำข้าว โดยช่วยชะลอการเพิ่มขึ้นของกรดไขมันอิสระได้ถึงร้อยละ 9.01 หลังเก็บนาน 70 วัน และการคงสภาพด้วย วิธีการนี้ช่วยให้ปริมาณน้ำมันรำข้าวที่สกัดได้เพิ่มขึ้น และงานวิจัยของ Srimani และคณะ (1977) พบว่าการให้ความร้อนโดยใช้ไอน้ำมีประสิทธิภาพมากกว่าการใช้ลมร้อน แต่มีข้อควรระวังในการให้ความร้อนด้วยวิธีการนี้ คือ หากไม่นำรำข้าวไปทำแห้งก่อนหลังจากผ่านกระบวนการคงสภาพจะทำให้เอนไซม์ไลเพสที่ถูกทิ้งให้เย็นกลับมามีปริมาณมากในรำข้าวได้อีกครั้ง (Juliano, 1985)

**2.2.3 การให้ความร้อนแบบคลื่นไมโครเวฟ (Microwave heating)** เป็นการใช้พลังงานจากคลื่นแม่เหล็กไฟฟ้าที่ความถี่ 2,450 ครั้ง/วินาที หรือ 915 เมกะเฮิร์ทซ์ เพื่อทำให้โมเลกุลน้ำที่เป็น องค์ประกอบส่วนใหญ่ในอาหารแตกตัว เมื่อนำอาหารมาวางไว้ในสนามไฟฟ้าโมเลกุลของน้ำและสารอื่นที่มีขั้วจะจัดเรียงตัวให้สอดคล้องกับทิศทางของสนามไฟฟ้า และเกิดการสั่นสะเทือน เสียดสีกันภายในโมเลกุลของอาหารประมาณ 2,450 ครั้ง/วินาที ซึ่งพลังงานที่เกิดขึ้นจะเคลื่อนย้ายไปสู่  
อะตอมหรือโมเลกุลที่อยู่ใกล้เคียงทำให้เกิดความร้อนจากการสั่นสะเทือนต่อกันของโมเลกุลได้   
(วิไล รังสาดทอง, 2546) ในงานวิจัยของ Ramezanzadeh และคณะ (2000) พบว่าการประยุกต์ใช้ความร้อนแบบไมโครเวฟระดับความถี่ 2,450 ครั้ง/ วินาที และใช้กำลังไฟฟ้า 250 วัตต์ นาน 3 นาที   
คงสภาพรำข้าว (ความชื้นร้อยละ 21) จากนั้นบรรจุในบรรจุภัณฑ์และเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4, 5 และ 25°C พบว่าองค์ประกอบทางเคมีและปริมาณกรดไขมันของรำข้าวที่ผ่านการคงสภาพเกิดการเปลี่ยนแปลงน้อยมากเมื่อเทียบกับรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lakkakula และคณะ (2004) ที่ใช้ความร้อนแบบคลื่นไมโครเวฟคงสภาพรำข้าว (ความชื้นร้อยละ 21) ที่อุณหภูมิ 109°C เป็น เวลา 3 นาที ทำให้ปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 2.80 เป็น  
ร้อยละ 3.89 สำหรับรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพมีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 3.96 เป็นร้อยละ 18.03 หลังจากเก็บรักษาไว้นาน 6 เดือน ปริมาณกรดไขมันอิสระในรำข้าวที่ไม่ผ่านการ  
คงสภาพมีค่าเกินร้อยละ 10 ทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค และการให้ความร้อนแบบ  
คลื่นไมโครเวฟที่กำลังไฟฟ้าสูงสุดนาน 5 นาที ช่วยให้เพิ่มปริมาณน้ำมันที่สกัดได้จากรำข้าว (Zigoneanu et al, 2007)

**2.2.4 การให้ความร้อนแบบโอห์มมิก (Ohmic heating)** เป็นวิธีการทำให้อาหารร้อนขึ้น อย่างรวดเร็ว เนื่องจากความต้านทานการไหลของกระแสไฟฟ้าของอาหาร (วิไล รังสาดทอง, 2546) Lakkakula และคณะ (2004) พบว่า การคงสภาพรำข้าว (ความชื้นร้อยละ 21) ด้วยการให้ความร้อนแบบโอห์มมิกด้วยความถี่ 60 เฮิร์ท ส่งผลทําให้ปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นช้ากว่ารำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพ ข้าวที่ผ่านวิธีการนี้มีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มจากร้อยละ 3.25 เป็นร้อยละ 5.47  
 แต่รำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพมีปริมาณกรดไขมันอิสระเพิ่มขึ้นจากร้อยละ 3.96 เป็นร้อยละ 18.03 เนื่องจากไฟฟ้ากระแสสลับของการให้ความร้อนด้วยวิธีนี้มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง ความสามารถของเอนไซม์ไลเพสที่เป็นสาเหตุหลักของการเกิดกรดไขมันอิสระในรำข้าว และมีผลช่วยทําให้ปริมาณน้ำมันที่สกัดได้สูงถึงร้อยละ 92 ซึ่งรำข้าวที่ไม่ผ่านการคงสภาพสกัดได้เพียง ร้อยละ 53 เท่านั้น   
ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Loypimai และคณะ (2009) การให้ความร้อนแบบโอห์มมีการ  
คงสภาพรำข้าวที่ปรับความชื้นร้อยละ 30 กับแรงเคลื่อนไฟฟ้า 150 Vcm-1 มี ประสิทธิภาพในการยับยั้งเอนไซม์ไลเพส ช่วยลดปริมาณกรดไขมันอิสระและชะลอการปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยมีค่า  
สารไทโอบาร์บิทูริรีแอ็กทีฟ (Thiobarbituric reactive substance: TBARS) ต่ำที่สุดหลังเก็บนาน 21 วันและมีประสิทธิภาพช่วยคงปริมาณสารแอลฟา โทโคฟีรอล และแกมมา ออริซานอลในรำข้าว ดังตารางที่ 2.3

**ตารางที่ 2.3** ผลของวิธีการให้ความร้อนคงสภาพต่อคุณภาพของรำข้าว

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **วิธีคงสภาพรำข้าว** | **สภาวะที่ใช้** | **ผลที่ได้** | **แหล่งที่มา** |
| ลมร้อนสุญญากาศ | 95 °C นาน 1 ชั่วโมง | -ยับยั้งเอนไซม์  -ชะลอการเพิ่มขึ้นของ FFA เก็บนาน 1 สัปดาห์ | Zullaikah et al.(2005) |
| ไอน้ำร้อน | 100 °C นาน 30 นาที | - FFA เพิ่มขึ้นร้อยละ 9.01 หลัง เก็บนาน 70 วัน | Amarasinghe et al.(2004) |
| คลื่นไมโครเวฟ | ความชื้นร้อยละ 21 100 °C นาน 3 นาที | -FFA เพิ่มขึ้นร้อยละ 2.80 เป็นร้อยละ 3.89 (รำไม่คงสภาพ FFA) | Lakkakula et al. (2004) |
| การให้ความร้อน | ความชื้นร้อยละ 30 | - ยับยั้งเอนไซม์ไลเปสและลดการเกิดปฏิกิริยาออกซิ-เดชั่นหลังเก็บนาน 21 วัน | Lovpimai et al. (2009) |
| แบบโอห์มมิก | แรงคลื่นไฟฟ้า 150 Vcm-1 | -ช่วยคงปริมาณสารแอลฟา-โทโคฟีรอลและ แกรมมา-ออริซานอลดีกว่ารำข้าวที่ผ่านการคงสภาพ |  |

**2.3 การวิเคราะห์ความชื้น (Moisture)**

หลักการและเหตุผลในการวิเคราะห์ความชื้น ความชื้นในอาหารหรือวัตถุดิบอาหารนั้นมีผลต่อค่าตัวเลขที่แสดงถึงค่าปริมาณโภชนาต่าง ๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างนั้น เมื่อแสดงโภชนาการในรูป   
Base on feed basis นอกจากนั้นปริมาณความชื้นที่มากเกินไปจะมีผลต่อการเก็บรักษาวัตถุดิบอาหาร ณ อุณหภูมิห้อง ดังนั้นในการที่จะเปรียบเทียบปริมาณโภชนาการระหว่างวัตถุอาหารต่างๆ จึงจำเป็นต้องคำนึงถึงค่าของความชื้นหรือในทางกลับกันค่าของวัตถุแห้งหรือสิ่งแห้ง (Dry matter) ของตัวอย่างนั้น ๆ สามารถนำมาเปรียบเทียบกันได้ เรียกว่า Base on dry matter basis ลักษณะของน้ำหรือความชื้นที่ประกอบอยู่ในอาหารจะเป็นน้ำอิสระ (Free or available water) ส่วนน้ำซึ่งเกาะอยู่กับโมเลกุลสารประกอบอื่นๆ (Bound water) เช่น โปรตีนนั้นการที่จะแยกออกมาโดยการระเหย  
ให้แห้งด้วยความร้อนนั้นหาได้ยากเพราะต้องใช้อุณหภูมิสูงและจะทำให้เกิดการสลายตัวของสารประกอบอื่น ๆ ที่มีอยู่ในอาหารนั้นด้วยหลักการวิเคราะห์หาความชื้นในอาหารแบ่งกว้าง ๆ ได้ 4 วิธี คือ

**2.3.1 การอบด้วยความร้อน (Indirect Distillation or Drying Method)** การหาความชื้นด้วยวิธีนี้มีหลักการคือนำตัวอย่างไปแยกเอาน้ำออกภายใต้สภาพที่เหมาะสม จากนั้น  
วัดน้ำหนักที่สูญหายไปเพื่อคำนวณหาเปอร์เซ็นต์ความชื้นปริมาณความชื้นที่วิเคราะห์ได้ขึ้นอยู่กับ  
ชนิดของตู้อบ (Oven) และเครื่องมือที่ใช้วัดอุณหภูมิ ระยะเวลาที่ใช้ และลักษณะของน้ำที่เป็นองค์ประกอบในตัวอย่าง ดังนั้นค่าความชื้นจากวิธีนี้เป็นเพียงค่าโดยประมาณ ไม่ใช่ค่าที่แท้จริง   
แต่วิธีหาความชื้นวิธีนี้เป็นวิธีที่นิยมใช้ทั่วไปเพราะทำได้ง่าย ให้ผลค่อนข้างรวดเร็วและวิเคราะห์ได้  
ครั้งละหลาย ๆ ตัวอย่าง การหาความชื้นแบบ (Drying method) มีวิธีได้หลายวิธี เช่น การอบแห้ง ด้วยตู้อบ (Air oven method) การอบในตู้อบสุญญากาศ (Vacuum oven method) การอบด้วย  
แสงอินฟราเรด (Infrared drying method) การทำให้แห้งด้วยความเย็นจัดหรือการแช่แข็ง  
 (Freeze drying method) หรืออบในโถดูดความชื้นที่มีสารดูดความชื้น (Evacuated desiccator) และที่นิยมใช้กันแพร่หลายคือ การอบแห้งด้วยตู้อบ (Air oven method) เป็นการแยกน้ำให้ระเหยด้วยความร้อนโดยใช้ตู้อบแห้ง (Dry Oven) ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับใช้หาความชื้นในอาหาร  
ทั่ว ๆ ไปคือ 105 °C แต่ยังมีข้อที่ควรคำนึง คือ

**1) อาหารที่มีไขมันอณูเล็ก (Short chain fatty acid)** เช่น ไขมันระเหยง่าย(volatile oil) จะระเหยออกไปจากอาหารพร้อมความขึ้นด้วย ดังนั้นถ้าตัวอย่างมีไขมันพวกนี้อยู่มาก  
ก็จะทำให้ค่าความชื้นที่คำนวณได้มากกว่าความเป็นจริง

**2) อาหารที่มีน้ำตาลประกอบอยู่มาก** ถ้าใช้ความร้อนสูงเกิน 70 °C ก็จะทำให้น้ำตาลเกิดการสลายตัว (Decomposition) หรือไหม้ ในกรณีนี้จึงใช้วิธีการอบแห้งในตู้อบสุญญากาศ (Vacuum heating method) คือการลดความดันบรรยากาศลงจะช่วยให้น้ำระเหยได้ที่อุณหภูมิต่ำลง คือ ประมาณ 70 °C ได้

**3) อาหารที่มีผงฟู (Backing powder)** เมื่อให้ความร้อนเพื่อหาความชื้นจะทำให้ผงฟูสูญสลายกลายเป็นก๊าซ CO จึงต้องวิเคราะห์โดยการใช้การลดความดันบรรยากาศเข้าช่วยและใช้เวลาในการอบนานขึ้น

**2.3.2 การกลั่นลำดับส่วน (Direct Distillation Method)** เป็นการวิเคราะห์หาความชื้นโดยการใช้สารเคมีที่มีจุดเดือดสูงกว่าน้ำแต่มีความถ่วงจำเพาะต่ำกว่าน้ำ เช่น Toluene Heptane และ Xylene เป็นต้น วิธีนี้ จะให้ผลที่แม่นยำกว่าเนื่องจาก Volatile oil จะรวมอยู่ในชั้นของสารเคมีที่ใช้ซึ่งแยกออกจากชั้นของน้ำโดยเด็ดขาด ทำให้ได้ค่าที่เป็นส่วนของน้ำจริง ๆ แต่มีข้อเสียคือ ค่าใช้จ่ายมากกว่าวิธี Drying method เพราะต้องสิ้นเปลืองค่าสารเคมีและเครื่องแก้วที่ใช้ในการกลั่น

**2.3.3 การใช้เครื่อง Electrical Moisture Meters** วิธีหาความชื้นโดยใช้เครื่องวัดความชื้น ไฟฟ้าเป็นการอาศัยความต้านทาน (Resistance) ความถี่ (Frequency) และ Dielectric properties ของน้ำที่อยู่ในอาหาร ซึ่งสามารถวัดความชื้นได้อย่างรวดเร็วและมีความคลาดเคลื่อนประมาณ 1% เหมาะสำหรับหาความชื้นของเมล็ดธัญพืชในโรงงาน โรงสี และตามยุ้งฉางใหญ่ ๆ หรือนอกห้องปฏิบัติการเพราะสะดวกและควรจะมีพื้นผิว (Surface area) ของภาชนะที่ใช้ใส่ตัวอย่าง  
 (Test cup) ที่ต้องการทดสอบในขนาดที่ค่อนข้างคงที่โดยประมาณ

**2.3.4 การทําปฏิกิริยาทางเคมี (Chemical Method)** เป็นการหาความชื้นโดยการใช้สารเคมีต่าง ๆ มาทำ ปฏิกิริยากับน้ำที่อยู่ในตัวอย่างซึ่งมีได้หลายวิธี เช่น

**1) Karl Fischer Method** ซึ่งใช้หลักการของ Nonstoichiometric reaction และ Sulphur dioxide ในสารละลาย Pyridine methanol วิธีนี้เหมาะกับตัวอย่างอาหารที่มีน้ำอยู่ในปริมาณต่ำ ๆ

**2) วิธีของ Serger** ใช้หาความชื้นได้รวดเร็วมากเพราะอาศัยหลักการเกิดปฏิกิริยา  
ทางเคมีระหว่างน้ำและแคลเซียมคาร์ไบด์ ได้ก๊าซ Acetylene แล้วคำนวณหาความชื้นในอาหาร  
โดยการชั่งน้ำหนักที่หายไปของอาหารหรือวัดความดันหรือปริมาตรของก๊าซที่เกิดขึ้น

**2.3.5 วิธีอื่น ๆ** เช่น วิธี Nuclear Magnetic Resonance และ Gas-liquid Chromatography ซึ่งอุปกรณ์ที่ใช้มีราคาแพงเป็นข้อที่ควรคำนึงในการวิเคราะห์หาความชื้น นอกจากการสูญสลายของสารบางอย่างที่ประกอบอยู่ในตัวอย่างอาหารต่าง ๆ นั้น จะมีผลต่อการได้ค่าการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นที่มากกว่าความเป็นจริงแล้ว ข้อปฏิบัติสำหรับตัวอย่างที่มีความชื้นมาก ๆ (Wet or hydroscopic products) เช่น ตัวอย่างสดต่าง ๆ อันได้แก่ เนื้อสดหมัก พืชสดหมัก โดยเฉพาะตัวอย่างจากเนื้อหมักจะมีการผสมทราย (Acid-washed sand) หรือ Celite ที่ทราบน้ำหนักแน่นอนลงไปด้วยเพื่อช่วยเพิ่มพื้นที่ผิวของตัวอย่างให้สัมผัสกับความร้อนได้มากขึ้น

**2.4 วิธีการสกัดสารตัวอย่าง**

การสกัดสารจากพืชสมุนไพรสามารถทำได้หลากหลายวิธีขึ้นอยู่กับความเหมาะสมต่อพืช หรือสารที่ต้องการสกัด

**2.4.1 วิธีการสกัดด้วยการแช่หมัก (Maceration)** การสกัดด้วยตัวทำละลายมีหลักการ คือ แยกสารบางชนิดออกจากสารผสมโดยใช้ตัวทำละลายสกัดออกมานั้นเป็นเทคนิคที่ใช้กันมากใน  
เคมีอินทรีย์ สารผสมที่นำมาสกัดอาจเป็นสารจากผลิตภัณฑ์ธรรมชาติ หรือสารจากการสังเคราะห์ในห้องปฏิบัติการ การสกัดสารด้วยวิธีนี้อาศัยสมบัติของตัวถูกละลายของสารที่ต่างกันในตัวทำละลาย ต่างชนิดกัน โดยการสกัดด้วยการแช่ในตัวทำละลายเป็นวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบดั่งเดิม   
แต่ยังคงใช้กันอยู่มากเพื่อเลือกตัวทำละลายที่เหมาะสม วิธีการสกัดด้วยการแช่ทำได้โดยนำสมุนไพรแช่กับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิด ทิ้งไว้ 3-7 วัน เขย่า หรือคนบ่อย ๆ แล้วกรองเอาสารสกัดไปใช้   
ถ้าต้องการให้หมดจดอาจต้องสกัดหลายครั้ง ข้อดีคือสารไม่ถูกความร้อน ทำได้ง่าย แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลือง ตัวทำละลายมากและค่อนข้างใช้เวลานาน (ดวงกมล เรือนงาม, 2557)

**2.4.1.1 หลักการเลือกตัวทำละลายให้เหมาะสมกับสารที่ต้องการแยก**

**1)** ตัวทำละลายสามารถละลายสารที่ต้องการสกัดได้

**2)** ตัวทำละลายจะต้องไม่ละลายสารอื่น ๆ ที่เราไม่ต้องการสกัด

**3)** ตัวทำละลายจะต้องไม่ทำปฏิกิริยากับสารที่เราต้องการสกัด ตัวทำละลายสามารถแยกออกจากสารที่เราต้องการสกัดได้ง่าย มีจุดเดือดต่ำ ระเหยง่าย

**4)** ตัวทำละลายไม่เป็นพิษ และมีราคาถูก

**2.4.1.2 ประโยชน์ของการสกัดด้วยตัวทําละลาย**

**1)** ใช้สกัดน้ำมันพืชจากเมล็ดพืช เช่นน้ำมันงา รํา ถั่ว ปาล์ม นุ่น บัว นิยมใช้เฮกเซน  
 เป็นตัวทําละลาย

**2)** สกัดสารมีสีออกจากพืช

**3)** ใช้สกัดน้ำมันหอมระเหยออกจากพืช

**4)** ใช้สกัดยาออกจากสมุนไพร (นิธิ ตั้งศิริทรัพย์, 2555)

**2.4.2 การแยกตัวทำละลาย** การแยกตัวทำละลายออกจากสารสกัดที่เป็นขั้นตอนทำให้สารสกัดมีความเข้มข้นมากขึ้น โดยทำการแยกตัวทาละลายออกไปให้ได้มากที่สุด เมื่อระเหยสารออกไปจะได้สารสกัดที่เข้มข้นมากขึ้นเรียกว่า สารสกัดหยาบหรือส่วนสกัดหยาบ โดยวิธีการแยกตัวทำละลายออกไปมีหลายวิธี ดังนี้

**1) การระเหยด้วยการให้ความร้อน** วิธีการนี้เหมาะกับการสกัดองค์ประกอบทางเคมีที่เสถียรต่อความร้อน สารที่สกัดไม่สูญเสียสภาพเมื่อถูกความร้อน ทำได้โดยให้ความร้อนกับสารสกัดจนตัวทำละลายระเหยกลายเป็นไอ การให้ความร้อนควรให้ผ่านอ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)   
ไม่ควรให้ความร้อนกับสารสกัดโดยตรง เพื่อป้องกันสารสลายตัวเมื่อได้รับความร้อนนาน ๆ หรือกรณีระเหยตัวทำละลายอินทรีย์ อาจทำให้เกิดไฟลุกไหม้และการเดือดพลุ่งพล่านได้

**2) การระเหยภายใต้ลดความดัน** การระเหยตัวทำละลายออกจากสารสกัดภายใต้  
การลดความดันด้วยเครื่องระเหยลดความดันแบบหมุน โดยเครื่องจะต่อกับปั๊มสุญญากาศ (Vacuum pump) เพื่อลดความดันให้เกือบเป็นสุญญากาศเครื่องมือประกอบด้วย 3 ส่วน คือ

**ส่วนที่ 1** ส่วนให้ความร้อนและกลั่นแยก ประกอบด้วยหม้ออังน้ำที่ควบคุมอุณหภูมิได้ ภาชนะที่จะกลั่น (Distillation flask) เป็นขวดก้นกลม ใช้บรรจุสารสกัด เครื่องควบแน่น ที่ส่วนปลาย มีก๊อกปิดเปิด ทำให้เป็นระบบสุญญากาศ และภาชนะรองรับ (Receiving flask) โดยในส่วนนี้ สามารถควบคุมความเร็วในการหมุนและปรับระดับเลื่อนขึ้นลงได้

**ส่วนที่ 2** ส่วนลดความดันหรือทำสุญญากาศ ซึ่งระบบจะต่อกับปั๊ม

**ส่วนที่ 3** ส่วนควบคุมอุณหภูมิภายในระบบ จะเป็นอ่างน้ำหมุนเวียนที่สามารถควบคุม อุณหภูมิได้ต่ำกว่าอุณหภูมิห้อง โดยต่อสายน้ำเข้าเครื่องควบแน่น

**2.4.3 การทำแห้งเยือกแข็ง** (สุรางค์รัตน์ 2558) การกำจัดตัวทำละลายออกจากตัวอย่างที่ไม่เสถียรเมื่อสัมผัสกับความร้อน ควรใช้กับวิธีการทำแห้งเยือกแข็ง (Freeze drying) เครื่องทำแห้ง  
เยือกแข็ง (Freeze dryer หรือ Lyophilizer) โดยทั่วไปใช้กำจัดน้ำออกจากตัวอย่างเครื่องมือประกอบด้วย 3 ส่วน ดังนี้

1) ส่วนบรรจุสารตัวอย่าง

2) เครื่องควบแน่น ช่วยลดอุณหภูมิของระบบ ซึ่งเท่ากับหรือต่ำกว่าจุดเยือกแข็งของ  
ตัวทำละลาย ทำให้ตัวทำละลายเปลี่ยนสถานะจากของเหลวเป็นของแข็ง (หรือเกิดผลึก)

3) ปั๊มสุญญากาศ ช่วยลดความดันของระบบ จึงเกิดการระเหิดกลายเป็นไอในที่สุด

**2.4.4 การหมัก (Maceration)** (นพมาศ, 2544) เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรโดยการหมักสมุนไพรกับตัวทำละลายในภาชนะที่ปิดจนกระทั่งเนื้อเยื่อของสมุนไพรอ่อนนุ่มและ  
ตัวทำละลายสามารถแทรกซึมเข้าไปละลายองค์ประกอบภายในผงสมุนไพรออกมาได้ ในระหว่างที่หมักควรเขย่าหรือคนเป็นครั้งคราวเพื่อเพิ่มอัตราเร็วของการสกัด เมื่อครบกำหนดเวลาจึงกรองเอาสารสกัดออกจากกากของพืชสมุนไพร ถ้าจะสกัดให้หมดจดอาจจำเป็นต้องสกัดซ้ำหลาย ๆ ครั้ง วิธีนี้เหมาะสมกับพืชสมุนไพรที่มีโครงสร้างหรือเนื้อเยื่อไม่แข็งแรงมากนัก เช่น ใบ ดอก มีข้อดีที่สารไม่   
ถูกความร้อน จึงเหมาะกับการสกัดสารที่ไม่ทนต่อความร้อน แต่เป็นวิธีที่สิ้นเปลืองตัวทำละลายมาก

**2.4.5 การหมักแบบต่อเนื่อง (Percolation)** เป็นวิธีการสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพรแบบต่อเนื่อง โดยใช้เครื่องมือที่เรียกว่าเพอร์โคเลเตอร์ซึ่งทำได้โดยการนำสมุนไพรมาหมักกับ  
ตัวทำละลายพอชื้นทิ้งไว้หนึ่งชั่วโมงเพื่อให้พองตัวเต็มที่แล้วค่อย ๆ บรรจุผงยาทีละชั้นลงใน  
เพอร์โคเลเตอร์ ซึ่งมีลักษณะเป็นคอลัมน์ปลายเปิดทั้งสองข้างเติมตัวทำละลายลงไปให้ระดับ  
ตัวทำละลายสูงเหนือสมุนไพรประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จึงเริ่มไขเอาสารสกัดออก โดยเติมตัวทำละลายเหนือสมุนไพรอย่าให้แห้งเก็บสารสกัดจนการสกัดสมบูรณ์ นำสารสกัดที่เก็บได้ทั้งหมดรวมกันแล้วนำไปกรองวิธีนี้จัดเป็นวิธีการสกัดที่ดีสำหรับการสกัดสารจากสมุนไพรแบบสมบูรณ์และไม่ต้องใช้ความร้อน แต่มีข้อเสียคือ เปลืองตัวทำละลาย และใช้เวลาในการสกัดนาน

**2.4.6 การสกัดด้วยซอกซ์เลตเอกซ์แทรกเตอร์ (Soxhlet extractor)** เป็นวิธีการสกัด แบบต่อเนื่อง โดยใช้ตัวทำละลายซึ่งมีจุดเดือดต่ำ การสกัดทำได้โดยใช้ความร้อนทำให้ตัวทำละลายในภาชนะระเหยขึ้นไปแล้วกลั่นตัวลงมาในทิมเบอร์ (Thimble) ซึ่งบรรจุสมุนไพรไว้ น้ำยาสกัดจะผ่าน  
ผงสมุนไพรซ้ำแล้วซ้ำอีกไปเรื่อย ๆ จนกระทั่งการสกัดสมบูรณ์ การสกัดด้วยวิธีนี้เหมาะสำหรับการสกัดองค์ประกอบที่ทนต่อความร้อน มีข้อดีคือใช้ตัวทำละลายน้อย ไม่สิ้นเปลือง แต่มีข้อเสียคือ   
ไม่เหมาะที่จะใช้กับองค์ประกอบที่ไม่ทนต่อความร้อน และตัวทำละลายที่ใช้ไม่ควรเป็นของผสม เพราะจะเกิดการแยกของตัวทำละลายแต่ละชนิด เนื่องจากมีจุดเดือดต่างกัน จะมีผลให้สัดส่วนของ  
ตัวทำละลายแตกต่างไปจากเดิมและผลการสกัดไม่ดีเท่าที่คาดการณ์ไว้

**2.4.7 การสกัดแบบไหลย้อนกลับ (Reflux extraction)** เป็นวิธีการสกัดสาระสำคัญ  
ออกจากพืชที่สกัดด้วยตัวทำละลาย โดยพืชที่แช่ด้วยตัวทำละลายจะถูกให้ความร้อนเพื่อทำการ  
ละลายสารสำคัญออกจากพืชตัวทำละลายจะถูกต้มจนเดือดแล้วระเหยขึ้นไปด้านบน   
แล้วจะถูกควบแน่นด้วยคอนแดนเซอร์กลับลงมาหมุนเวียนอย่างนี้ไปเรื่อย ๆ จนได้ผลิตภัณฑ**์  
 2.4.8 การกลั่น (Distillation)**

ใช้สำหรับการสกัดน้ำมันหอมระเหย ในทางอุตสาหกรรมมี 3 วิธี คือ

**1) การกลั่นด้วยน้ำ (Water distillation)** ใช้กับพืชแห้งซึ่งไม่ถูกทำลาย เนื่องจากพืชที่นำมากลั่นจะแช่อยู่ในน้ำเดือดทั้งหมดตลอดระยะเวลาการกลั่น วิธีนี้ใช้กลั่นน้ำมันจากเปลือกไม้

**2) การกลั่นด้วยน้ำและไอน้ำ (Water and steam distillation)** ใช้ได้กับพืชสดและแห้ง ซึ่งอาจทำลายได้ง่ายเมื่อถูกต้ม การกลั่นวิธีนี้สะดวกที่สุดและใช้กันอย่างกว้างขวางในการ ผลิตน้ำมันทางการค้า

**3) การกลั่นด้วยไอน้ำ (Steam distillation)** วิธีนี้ใช้กับพืชสดโดยนำพืชสดมาวางบนตะแกรงแล้วผ่านไอน้ำเข้าไปโดยตรง โดยไม่ต้องมีการหมักพืชด้วยน้ำก่อนจัดเป็นวิธีที่สะดวก รวดเร็ว และค่าใช้จ่ายน้อย

**2.4.9 การบีบหรือการอัด (Expression)** ใช้กับน้ำมันหอมระเหยที่ใช้วิธีกลั่นไม่ได้ เนื่องจากถูกทำลายได้ง่ายเมื่อถูกความร้อน เช่น น้ำมันหอมระเหยจากพืชตระกูลส้ม โดยนำผลไปบีบบนรางที่มีเข็มแหลม ๆ อยู่ เพื่อให้ต่อมน้ำมันแตกออก

**2.4.10 วิธีเอ็นฟอยเรนช์ (Enfleurage)** ใช้กับน้ำมันหอมระเหยของกลีบดอกไม้ต่าง ๆ เป็นวิธีที่เก็บความหอมได้ดี วิธีนี้จะใช้ไขมันหรือน้ำมันไม่ระเหยที่ไม่มีกลิ่นเป็นตัวดูดซับ โดยนำมาแผ่เป็นแผ่นบาง ๆ แล้วเอากลีบ ดอกไม้มาวางเรียงบนตัวดูดซับนาน 24 ชั่วโมง แล้วเปลี่ยนกลีบดอกไม้ใหม่ ทำเช่นนี้เรื่อย ๆ จนตัวดูดซับเอาน้ำมันหอมระเหยมากพอ จึงนามาสกัดเอาน้ำมันหอมระเหยออกด้วยแอลกอฮอล์

**2.5 อนุมูลอิสระและสสารต้านอนุมูลอิสระ**

**อนุมูลอิสระ (Free radical)** หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (Unpaired electron) ในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทั้งในสิ่งแวดล้อมในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง กระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมตาบอลิซึม (Metabolism)   
อนุมูลอิสระว่องไวต่อการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่ อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่าง ต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา (บุหวัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

**สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidants)** สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระหรือ สามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์ สารประกอบที่ละลาย  
ในน้ำและสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงาน  
ต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ (Radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (Singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (Metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (Chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (Synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ เป็นต้น (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม, 2554)

**สารประกอบฟีนอกลิก**

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอกและพบได้มากในธรรมชาติจัดเป็นส่วนประกอบหลักของเมตาบอไลท์ทุติยภูมิ (Secondary metabolites) ในพืช ได้แก่ พืชผักผลไม้ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง ฯลฯ เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบ ฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิด ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่ายเช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโปรพานอยด์และ ฟลาโวนอยด์ไปจนถึงโครงสร้างพอลิเมอร์ที่ซับซ้อนเช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่ม  
ฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่  
ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัมถึง 1,000 มิลลิกรัม สารประกอบฟีนอลิกมีบทบาทที่สำคัญมาก เนื่องจาก  
มีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้ สลายลิ่มเลือด ต้านสารก่อมะเร็ง ปกป้องหรือการชะลอความชรา และสามารถลดความดันโลหิตในการสลายลิ่มเลือด เป็นต้น ซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิกประกอบด้วย โครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติกและมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซิลตั้งแต่ 2 หมู่ขึ้นไป โดยหมู่ไฮดรอกซิลมีบทบาทสําคัญในการดักจับอนุมูลอิสระต่าง ๆ ไม่ให้ไปกระตุ้นหรือก่อให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ โดยการให้ไฮโดรเจนอะตอมแก่อนุมูลอิสระเหล่านั้น  
(ปิยศิริ สุนทรนนท์, 2551) ในที่นี้จะกล่าวถึงสารกลุ่มที่สำคัญ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์

**สารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Flavonoids)** แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่มตามความแตกต่าง   
ของสูตรโครงสร้างโดยเฉพาะที่วงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่างๆ เช่น อีเทอร์ คีโตน   
รวมทั้งการมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุล ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์   
ได้แก่ ฟลาแวน (Flanvanes), ฟลาวาโนน (Flavanones), ฟลาวานอล (Flavanols), ฟลาโวนอล (Flavonols), ฟลาโวน (Flavonoes) และแอนโทไซยานิดิน (Anthocyanidins) เป็นต้น โครงสร้าง ของกลุ่มฟลาโวนอยด์บางชนิดดังภาพที่ 2.1

Flavones Flavonols Flavanones

Isoflavonoids Anthocyanidins

**ภาพที่ 2.1** ตัวอย่างของสารกลุ่มฟลาโวนอยด์

**สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (Synthetic antioxidants)** เช่น

**1. บีเอชเอ (Butylated hydroxylanisole, BHA)** เป็นวัตถุกันหืนที่นิยมใช้กันมากชนิดหนึ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตภัณฑ์อาหารที่มีไขมันและน้ำมันเป็นส่วนประกอบ บีเอชเอเป็นสารประกอบที่มีผลึกสีขาวหรือสีเหลืองอ่อน มีกลิ่นฉุน ไม่ละลายน้ำ แต่ละลายในแอลกอฮอล์   
ส่วนใหญ่จะอยู่ในรูปของสารผสม 2 และ 3- tert butyl hyroxyanisole หรืออาจใช้ร่วมกับแกลเลตหรือบีเอชที เพื่อให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น ดังภาพ 2.2



**ภาพที่ 2.2** โครงสร้างของสารบีเอชเอ (BHA)

**2. บีเอชที (Butylated hydroxytoluene, BHT)** เป็นวัตถุกันหืนชนิดหนึ่งที่นิยมใช้กัน เช่นเดียวกับบีเอชเอ แต่มีประสิทธิภาพดีกว่าเล็กน้อยบีเอชทีเป็นสารประกอบที่เป็นผลึกสีขาวหรือ  
สีเหลืองอ่อนไม่ละลายน้ำ และ propane-1,2-diol แต่ละลายในแอลกอฮอล์ และให้กลิ่นฟีนอล (phenol) เช่นเดียวกัน มักนิยมให้ผสมกับวัตถุกันหินชนิดอื่น เพื่อเสริมให้มีประสิทธิภาพดีขึ้น นิยมใช้ในอาหารประเภทไขมันสัตว์ น้ำมันพืช ผลิตภัณฑ์นม ผลิตภัณฑ์ขนมอบผลิตภัณฑ์เนื้อผลิตภัณฑ์ปลา และน้ำมันหอมระเหย ดังภาพที่ 2.3



**ภาพที่ 2.3** โครงสร้างของสารบีเอชท (BHT)

**สารคีเลทโลหะ (Metal chelator)**

การขจัดโลหะทรานซิชันโดยใช้สารคีเลทโลหะเป็นอีกกลไกหนึ่งที่ใช้ควบคุมปริมาณ  
อนุมูลอิสระให้อยู่ในสมดุล ทั้งนี้เพราะโลหะทรานซิชัน เช่น ธาตุเหล็ก และทองแดง มีส่วนสำคัญในการเกิดอนุมูลอิสระ สารคีเลทโลหะในร่างกายส่วนใหญ่เป็นโปรตีนทำหน้าที่จับโลหะทรานซิชัน  
ที่ก่อให้เกิด OH﮲ เข้ามารวมไว้ในโครงสร้างโดยอยู่ในรูปสารประกอบเชิงซ้อน โลหะจึงไม่สามารถ  
ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระได้ โปรตีนในร่างกายที่จับโลหะเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อน   
มีดังนี้ คือ ทรานเฟอร์ริน (Transferrin) เฟอร์ริติน (Ferritin) แลกโตเฟอร์ริน (Lactoferrin)  
 เซรูโลพลามิน (Ceruloplasmin) สีโมเพล็กซีน (Hemoplexin) แอบโทโกลบิน (Haptoglobin) และอัลบูมิน (Albumin) นอกจากนี้ สารฟลาโวนอยด์ยังทำหน้าที่เป็นสารคีเลทโลหะด้วย

**2.6 วิธีที่ใช้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ**

สําหรับวิธีที่ใช้ในทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธีได้แก่

**2.6.1 วิธี DPPH radical**

DPPH• เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่คงตัวมีสีม่วงอยู่ในรูปอนุมูลอยู่แล้ว โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยาเพื่อให้เกิดอนุมูล การวิเคราะห์เป็นการวัดความสามารถในการรีดิวซ์ การวัดทำโดยใช้เครื่อง  
สเปคโตรโฟโตมิเตอร์วัดการลดลงของสีเมื่อเติมสารต้านอนุมูลลงไป โดยวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นา โนเมตร ดังสมการ

DPPH• + AH DPPH-H + A•

**ข้อดี** ของวิธีนี้มีข้อดี คือ ง่ายใช้เครื่องมือสามัญที่มีทั่วไป นิยมใช้เป็นวิธีเบื้องต้นในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารต้านอนุมูลจากธรรมชาติยกเว้นสารกลุ่มแคโรตินอยด์ที่มีดูดกลืนแสง   
  **ข้อด้อย** ของวิธีนี้ คือ อนุมูล DPPH• มีความคงตัวไม่ไวต่อปฏิกิริยาเหมือนอนุมูลที่เกิดในเซลล์หรือร่างกาย ดังนั้นวิธีนี้จึงไม่สามารถแยกแยะจัดอันดับอนุมูลที่มีความไวสูงได้ นอกจากนี้โครงสร้างทางเคมีของ DPPH• ที่แสดงจะเห็นว่าอิเล็กตรอนเดี่ยวของอนุมูลอิสระจะถูกบดบังด้วย  
วงเบนซีน 3 วง และหมู่ไนโตร ทำให้สารต้านอนุมูลที่มีฤทธิ์แรงแต่มีขนาดใหญ่บางสารไม่สามารถเข้าไปทำปฏิกิริยาขจัดอนุมูลหรือเกิดปฏิกิริยาช้ากว่าความเป็นจริงทั้ง ๆ ที่สารต้านอนุมูลนั้นมีฤทธิ์ดี  
การขจัดอนุมูลเปอร์ออกซีนอกจากนี้สารรีดิวซ์สามารถทําให้สี DPPH• จางลงได้อีกด้วย

**2.6.2 วิธี Scavenging activity of ABTS**

เป็นการวัดความสามารถในการฟอกสีของอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS.+ ) หรือ 2,2,- azinobis (3-ethylbenzothiazoline–6–sulfonic acid) radical ซึ่งมีสีเขียวปนน้ำเงินให้ค่าการ ดูดกลืนแสงสูงสุดที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร เมื่อเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไปจะทําให้มีสีลดลงสามารถนําไปคํานวณเป็น % Inhibition ได้ดังสมการ

**ข้อดี** ของวิธีนี้ คือ อนุมูลเอบีทีเอส ABTS·+ ละลายได้ดีในน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ สามารถทำปฏิกิริยาได้อย่างรวดเร็วกับสารต้านอนุมูลอิสระภายในเวลา 30 นาที ใช้ได้ในช่วง pH  
ที่กว้าง ดังนั้นจึงตรวจสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารที่ละลายได้ในน้ำและที่ละลายในไขมัน

**ข้อเสีย** คือ อนุมูลบีทีเอส (ABTS.+ ) ไม่เป็นสารธรรมชาติที่พบในร่างกายหรือในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต (อรวรรณ, 2555; Re et al., 1999)

**2.6.3 วิธี Hydroxyl (OH) radical scavenging activity**

**Hydroxyl (OH•)** เป็นอนุมูลอิสระที่ว่องไวสามารถจู่โจมชีวโมเลกุลที่สําคัญในร่างกาย โดยเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่อย่างต่อเนื่อง (Spencer et al, 1994) สิ่งมีชีวิตสามารถสร้าง OH• Radical โดย 2 กลไกลได้แก่

ก. ปฏิกิริยาของไอออนโลหะแทรนซิซันกับไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (OH-) แม้ว่าเกลือของโลหะแทรนซิซันทั่วไปทําปฏิกิริยากับ H2O2 ได้ OH• แต่ในร่างกายนั้นเป็นไปไม่ได้ว่าเกิดจากเหล็ก Fe2+ ทําปฏิกิริยากับ H2O2 ได้ OH• โดยเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Fenton reaction ดังสมการ

Fe2++ H2O2  Fe2+ + OH• + OH-

ข.การแตกตัวของน้ำเนื่องจากการถูกแสงหรือรังสี ดังสมการ

H2O + hv H2O .+ + e –

H2O .++ H2O OH- + H2O +

ค.ในการศึกษาความสามารถในการยับยั้ง OH• Radical ของสารตัวอย่างต้องทําการสังเคราะห์ Hydroxyl radical (OH•) จากน้ำตาล Deoxyribose โดยปฏิกิริยา Fenton reaction model system เมื่อเติมสาร Thiobarbituric acid (TBA) และ Trichloroacetic acid จะเกิดเป็น  
สีชมพู เมื่อเติมสารที่ต้องการทดสอบที่มีความสามารถในการยับยั้ง OH• Radical ลงไปจะทําให้  
สีชมพูของสารละลายจางลงโดยสามารถตรวจสอบได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่มีความยาวคลื่น   
532 นาโนเมตร (Mathew and Abraham, 2006) จากนั้นไปคํานวณเป็น % Inhibition ได้ดังสมการ   
(อรวรรณ, 2555; Ohkawa et al., 1979)

**2.6.4 วิธี Metal chelating activity**

การวัดความสามารถโดยการแย่งจับกับโลหะเป็นวิธีหนึ่งที่นิยมใช้ในการหาความสามารถ  
ในการต้านออกซิเดชันของสารที่ต้องการทดสอบเพราะโลหะไอออนเป็นตัวการสำคัญในการเร่ง  
ปฏิกิริยา ทําให้เกิดสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆมากมายหลายชนิดโดยเฉพาะธาตุเหล็กที่อยู่  
ในรูปเฟอร์รัส หรือ Fe2+ จะทําปฏิกิริยาออกซิเดชันกับออกซิเจนในอากาศเกิดป็นสารอนุมูล  
Superoxide anion radical (O﮲2 ) ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระตัวเริ่มต้นที่ทําให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นต่อไป  
ดังนั้นวิธีวัดความสามารถในการแย่งจับโลหะ Fe2+ ของสารที่ต้องการทดสอบนั้นอาศัยจากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นที่ 562 นาโนเมตร ที่มีค่าลดลงเมื่อเติมสาร Ferrozine ลงไปสารนี้จะไปจับกับ Fe2+ แล้วอยู่ในรูป Ferrozine (Fe2+) complex ซึ่งจะให้สีแดงและสารที่ต้องการทดสอบมีความสามารถในการ แย่งจับกับ Fe2+ จะอยู่ในรูปของ Antioxidant Fe2+ complex แล้วจะทําให้  
สีแดงของ Ferrozine (Fe2+) complex จางลงได้ เมื่อได้ค่าการดูดกลืนแสงแล้วนําไปคํานวณหา   
% Inhibition ได้ดังสมการ (อรวรรณ, 2555; Dinis et al.,1994)

**2.6.5 วิธี Superoxide radical scavenging**

Superoxide anion radical (O﮲2 ) เป็นอนุมูลเริ่มแรกที่เกิดในเซลล์ของสิ่งมีชีวิตและเป็นตัวเริ่มต้นที่ทําให้เกิดอนุมูลอิสระตัวอื่นๆอีกมากมายจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่นอกจากจะทําให้อนุมูลอิสระมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นแล้วฤทธิ์และความแรงของอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาลูกโซ่เป็นอันตรายสูงขึ้นด้วยตัวของ O2 - จะมีความว่องไวน้อยกว่า OH ซึ่งการเกิด O2 - เป็นดังสมการ

O2 + e - O2 –

O2 - + O2 - + 2H+ H2O2 + O2

เมื่อ O2.. ทําปฏิกิริยากับ H2O2 จะทําให้เกิด OH• เรียกปฏิกิริยานี้ว่า Haber Weiss reaction (Kappus, 1992) ดังสมการ

O2.. + H2O2 + H+ OH. + O2 + H2O

การศึกษาสมบัติการเป็นสารจับ O2 .. ของสารตัวอย่างซึ่ง O2 .. จะผลิตมาจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารในระบบ Phenazinemethosulphate (PMS)-Nicotinanide adenine dinucleotide (NADH) อนุมูล O2 .. ที่เกิดขึ้นจะทําปฏิกิริยากับสาร Nitroblue tetarzolium (NBT) ซึ่งมีสีเหลือง ปฏิกิริยาระหว่าง O2 .. กับสาร NBT ให้ผลิตภัณฑ์เป็นสาร Diformazan (DF) ที่มี  
สีน้ำเงินและสามารถวัดค่าการดูดกลืนแสงได้ที่ 560 นาโนเมตร จากนั้นนําไปคํานวณเป็น  
 % Inhibition ได้ดังสมการ (อรวรรณ, 2555; Nikishimi et al., 1994)

**2.6.6 วิธี Reducing power**

ความสามารถของการเป็นตัวอิเล็กตรอนในปฏิกิริยาออกซิเดชันรีดักชันของสารที่ ต้องการทดสอบสามารถใช้ในการหาความสามารถในการต้านออกซิเดชันได้ วิธีนี้เป็นการศึกษาความสามารถในการรีดิวซ์หรือให้อิเล็กตรอนของสารตัวอย่างที่ ต้องการทดสอบแก่สารอนุมูลอิสระ  
ที่สังเคราะห์ขึ้นภายในระบบโดยสารที่ต้องการทดสอบจะเป็นตัวให้อิเล็กตรอนแก่อนุมูลอิสระ  
ที่ทําให้เปลี่ยนเป็นสารที่คงตัวอีกทั้งยังสามารถหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระอีกด้วย   
โดยอาศัยการวัดปฏิกิริยา Reduction ของ Fe3+ (CN- )6 ไปเป็น Fe2+ (CN- )6 ซึ่งจะทําให้มีสีน้ำเงิน  
ที่เข้มขึ้น สามารถตรวจสอบความสามารถในการรีดิวซ์ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่   
ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร ค่าการดูดกลืนแสงที่เพิ่มขึ้นแสดงถึงความสามารถในการรีดิวซ์มากขึ้น   
(อรวรรณ, 2555; Oyaizu.,1994)

ในการศึกษาครั้งนี้จะใช้วิธี DPPH โดยอนุมูล DPPH ที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระ ดังนั้นจึงสามารถนําอนุมูล DPPH มาใช้ทดสอบหาความสามารถในการเป็นสามารถต้านอนุมูลอิสระ เบื้องต้นของตัวอย่าง

**2.7 เครื่องมือที่ใช้ในการศึกษา**

**2.7.1 หลักการของเครื่อง UV-VIS spectrophotometer**

สารอินทรีย์ดูดกลืนรังสีเฉพาะช่วงความยาวคลื่น 200-800 นาโนเมตร เท่านั้นที่วิเคราะห์ด้วยเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ได้ ปกติสารอินทรีย์ที่ไม่มีสีจะดูดกลืนรังสียูวี  
ช่วงความยาวคลื่น 200-400 nm และสารอินทรีย์ที่มีสีจะดูดกลืนแสงวิซิเบิลความยาวคลื่น   
400-800 nm กรณีแอลเคนซึ่งเกิดแทรนซิชันแบบ σ → σ\* มีความยาวคลื่นสูงสุดต่ำกว่า 200 nm จะต้องวิเคราะห์ในสภาวะสุญญากาศเท่านั้น ปัจจุบันเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์จำแนกออกเป็น 2 ประเภท คือ 1 ลำแสงเดี่ยว (Single beam) และ 2 ลำแสงคู่ (Double beam)

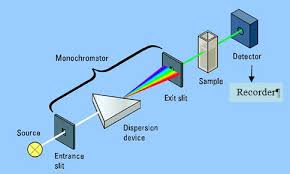
**1. แหล่งกำเนิดแสง (Light source)** เป็นส่วนที่ให้รังสีแม่เหล็กไฟฟ้า ได้แก่   
หลอดไฮโดรเจน (Hydrogen lamp) และหลอดดิวเทอเรียม (Deuterium lamp) เป็นแหล่งกำเนิดแสงที่ให้รังสียูวีช่วง ความยาวคลื่น 160-380 nm และหลอดทังสเตน (Tungsten lamp) ให้แสงวิซิเบิลความยาวคลื่น 240-2,500 nm (มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง, 2558)

**2. ตัวทำแสงเอกรงค์ (Monochromator)** แหล่งกำเนิดแสงจะให้รังสีที่มีความยาวคลื่นออกมาต่อเนื่องหลังจากผ่านตัวทำแสงเอกรงค์ เช่น เกรตติง (Grating) และปริซึม เป็นต้น ซึ่งทำหน้าที่เลือกความยาวคลื่นส่งผลให้รังสีเหลือความยาวคลื่นเดียวหรือความยาวคลื่นเฉพาะ

**3. เซลล์ตัวอย่าง (Sample cell)** หรือเรียกว่าคิวเวตต์ (Cuvette) ดังภาพที่ 2.4   
มีสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างทั้งสถานะแก๊ส ของเหลว และของแข็ง คิวเวตต์จึงผลิตจากวัสดุหลายประเภท ได้แก่ แก้วเหมาะสำหรับวิเคราะห์ตัวอย่างช่วงรังสียูวี ควอตซ์และซิลิกาจะใช้วิเคราะห์ช่วงแสงวิซิเบิล สำหรับในเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ประเภทลำแสงคู่ ส่วนประกอบจะมีเซลล์อ้างอิง (Reference cell) อยู่ด้วยดังตำแหน่งดังภาพที่ 2.5 โดยใช้บรรจุสารละลายแบลงก์  
(Blank solution) ซึ่งเตรียมเหมือนสารละลายตัวอย่างแต่ไม่มีตัวอย่างอยู่

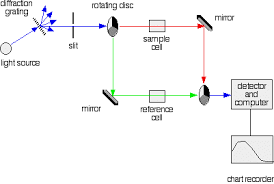
**4. ตัวตรวจวัด (Detector)** ทำหน้าที่วิเคราะห์ความเข้มรังสีที่ผ่านสารละลายตัวอย่าง หรือที่ถูกดูดกลืนไว้ โดยความเข้มของรังสีจะเปลี่ยนเป็นสัญญาณไฟฟ้า ตัวอย่างเครื่องตรวจหา เช่น เซลล์โฟโตโวลทาอิก (Photovoltaic cell) หลอดโฟโตมัลติพลายเออร์ (Photomultiplier tube) หลอดโฟโต (Phototube) และเครื่องตรวจหาซิลิกอนไดโอด (Silicon diode detector) เป็นต้น

**5. เครื่องบันทึก (Recorder)** ทำหน้าที่บันทึกสัญญาณที่มาจากเครื่องตรวจหา   
ได้เป็นตัวเลขของแอบซอร์แบนซ์ (Absorbance, A) หรือยูวีสเปกตรัม ลักษณะกราฟจะเป็นความสัมพันธ์ระหว่าง แกน X เป็นความยาวคลื่น และแกน Y เป็นแอบซอร์แบนซ์หรือร้อยละความส่งผ่าน (%Transmittance, %T) หรือโมลาร์สภาพดูดกลืน (ε) หรือ log ε ดังภาพที่ 2.6 อย่างไร  
ก็ตามลักษณะกราฟจะขึ้นอยู่กับ ประเภทของเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ด้วย ปัจจุบันนิยมพลอตแกน Y เป็นแอบซอร์แบนซ์ (มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลววง, 2558)



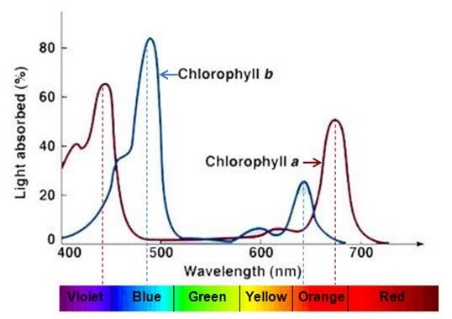
**ภาพที่ 2.4** ส่วนประกอบของเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ประเภทลำแสงเดี่ยว

ที่มา : Miramar’s college, 2015



**ภาพที่ 2. 5** ส่วนประกอบของเครื่องยูวี-วิซิเบิลสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ประเภทลำแสงคู่

ที่มา : Clark, 2006



### ภาพที่ 2.6 กราฟแสดงค่าดูดกลืนแสง (สเปคตรัม) ของคลอโรฟิลล์ เอ บีและแคโรทีนอยด์ ที่มา : <http://www2.mcdaniel.edu/Biology/botf99/photo/p3igments.html>

**2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**

มะลิวรรณ์ คำจัตุรัสและคณะ (2557) ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด  
จากข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก (พันธุ์พิษณุโลก 2 และ พันธุ์พวงเงิน) โดยนำเมล็ดข้าวตัวอย่าง  
มาสกัดด้วยตัวทำละลายโดยวิธีการสกัดแบบซอกห์เลต และสกัดด้วยการแช่ด้วยตัวทำละลาย   
เฮกเซน, เอทิลอะซิเตท, เอทานอล และเมทานอล ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดมา  
ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดีที่พีเอช ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า ข้าวกล้องงอก (พันธุ์พวงเงิน) สกัดแซ่ด้วยตัวทำละลายเฮกเซน มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด สารสกัดจากข้าวกล้องงอก (พันธุ์พิษณุโลก 2) สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอล โดยชอกห์เลตมีฤทธิ์ในการ  
ต้านอนุมูลอิสระต่ำที่สุด

มงคล ถิรบุญยานนท์และคณะ (2558) ได้ทำการศึกษาเรื่องสารออกฤทธิ์ชีวภาพเปบไทด์  
ต้านมะเร็งที่ได้จากการหมักรำข้าวด้วย *Bacillus subtitliis* MP9 ที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้ง  
การเจริญของเซลล์มะเร็งตับและรำไส้ พบว่าการศึกษาการศึกษาสารออกฤทธุ์ทางชีวภาพ  
และการผลิตเปปไทด์ต้านมะเร็งจากรำข้าวในครั้งนี้ มีวัตถุประสงค์เพื่อประยุกต์ใช้ประโยชน์  
จากรำข้าวในเชิงการป้องกันและหรือบำบัดรักษาโรคมะเร็งจากการนำเมล็ดข้าวที่ทำเกษตรอินทรีย์  
2 สายพันธุ์ คือข้าวหอมดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิลมาสีและคัดแยกรำข้าว พบว่าในสารสกัด  
รำข้าวด้วยเมทานอลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระในรำข้าวหอมดอกมะลิ 105 น้อยกว่ารำข้าวหอมนิลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P < 0.05) โดยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 24 : 70 mgGAE/g และมี ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสะ DPPH เท่ากับ 56 : 83 เปอร์เซ็นต์ สารต้านอนุมูลอิสะ ABTS" มีค่า IC เท่ากับ 0.32 : 0.06 และ  
สารต้านอนุมูลอิสะ FRAP เท่ากับ 359 : 836 umol/Fe/g ในรำข้าวหอมดอกมะลิ 105 และ  
ข้าวหอมนิลตามลำดับ การศึกษาชนิดและปริมาณของสารและหรือสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลังจากการหมักข้าวด้วย *B. subtilis* MP9 และทำการตรวจวัดด้วยเครื่อง GC-MS พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงปริมาณของ Tetradecanoic acid, 9-Octadecenoic acid และ Octadecanoic acid เพิ่มขึ้นเล็กน้อยหลังจากการหมักข้าวหอมดอกมะลิ 105 และมี Octadecanoic acid และ oleic acid เพิ่มขึ้นเล็กน้อยในรำข้าวหอมนิลหมัก การผลิตเอนไซม์โปรติเอสจาก *B.Subtilis* MP9 พบว่าได้เอนไซม์โปรตีเอสในรูปแบบแห้งที่มีปริมาณของเอนไซม์ เท่ากับ 15,400 U/g และเมื่อทำการผลิต  
เปปไทด์ด้วยการย่อยโปรตีนรำข้าวด้วยโปรติเอสที่ความเข้มข้น 10 U/g พบว่าได้เปปไทด์เท่ากับ 42   
และ 37 เปอร์เซนต์ในโปรตีนรำข้าวหอมดอกมะลิ 105 และหอมนิล ตามลำดับ การทดสอบการทบของเปปไทด์ต่อสภาวะกระเพาะอาหารและลำไส้จำลอง พบว่าเปปไทด์ที่คงทนได้มีน้ำหนักเหลือ 59 : 67 เปอร์เซ็นต์ และ 96 : 99 เปอร์เซ็นต์ของเปปไทด์จากรำข้าวหอมดอกมะลิ 105 และหอมนิลตามลำดับ การคัดแยกขนาดของเปปไทด์ออกเป็นขนาดต่าง ๆ ตามน้ำหนักโมเลกุล พบว่าเปปไทด์ที่มีขนาดใหญ่กว่า 50 kDa มีสัดส่วนมากกว่า 96 เปอร์เซ็นต์ ทั้งเปปไทด์จากรำข้าวหอมดอกมะลิ 105   
และหอมนิล ในขณะที่เปปไทด์ขนาดเล็กกว่า 50 kDa ในแต่ละช่วงขนาด คือ น้อยกว่า 3 อยู่ในช่วง  
 3 - 5 อยู่ในช่วง 5 - 10 และอยู่ในช่วง 30 - 50 kDa พบว่าในแต่ละช่วงขนาดมีน้ำหนักไม่แตกต่างกันมากนัก สารต้านอนุมูลอิสระที่พบในรำข้าวจากข้าวหอมดอกมะลิ 105 และจากข้าวหอมนิล รวมไปถึงเปปไทด์ชีวภาพที่ผลิตได้ด้วยเอนไซม์โปรตีเอสจาก *B. subtilis* MP9 ในงานวิจัยครั้งนี้อาจจะเป็นสารออกฤทธิ์ทางการที่สำคัญในการป้องกันและหรือบำบัดรักษาโรคมะเร็งได้ซึ่งคณะผู้วิจัยจะทำการศึกษาวิจัยต่อเนื่องต่อไป

อนงนาฎ ไพนุพงศ์ (2560) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระปริมาณสารฟีนอลิกและปริมาณสาร  
ฟลาโวนอยด์ของสารสกัดน้ำจากรำข้าวสีเข้ม ได้แก่ รำข้าวเหนียวดำลืมผัว รำข้าวมะลินิล และรำข้าวสังข์หยด รำข้าวทั้งหมดจะสกัดด้วยน้ำกลั่นและทำให้แห้ง ผลพบว่าสารสกัดรำข้าวเหนียวดำลืมผัว  
มีร้อยละผลผลิตมากที่สุด จากนั้นนำสารสกัดน้ำทั้งหมดไปทดสอบเพื่อหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ   
ปริมาณสารฟีนอลิก และปริมาณสารฟลาโวนอยด์ ด้วยวิธี DPPH Folin-Ciocalteu และ Aluminum chloride ตามลำดับ ผลพบว่าสารสกัดรำข้าวเหนียวดำลืมผัวมีร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ  
มากที่สุด (73.83±0.69%) แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับสารสกัดรำข้าวมะลินิล (72.70±0.47%) ปริมาณฟีนอลิกของสารสกัดทั้งหมดพบว่าสารสกัดรำข้าวมะลินิลมีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด (65.24±1.74 mg GAE/g) และแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับสารสกัดรำข้าวสังข์หยด (27.16±1.44 mg GAE/g) และสารสกัดรำข้าวเหนียวดำลืมผัว (38.47±1.44 mg GAE/g) สำหรับปริมาณฟลาโวนอยด์ของสารสกัดรำข้าวทั้งหมดมีค่าอยู่ในช่วง 0.02 - 0.05 mg QE/g และสารสกัดทั้ง 3 ตัวอย่างมีปริมาณฟลาโวนอยด์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติข้อมูลดังกล่าวสามารถนำไปใช้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ

ชัชวิน เพชรเลิศ (2562) ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ  
ของส่วนสกัดเอทานอลจากข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอหรือข้าวเหนียวดำในน้ำมันถั่วเหลืองด้วยการทดสอบ Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) การกำจัดอนุมูล DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (FRAP assay) นอกจากนี้ยังทำการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณแอนโธไซยานิน จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่าข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลมีปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณ  
แอนโธไซยานินสูงที่สุด (45.48±0.07 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด 323.08±0.50 มิลลิกรัมสมมูลของเควอร์เซตินต่อกรัมของสารสกัด และ 1908.01±5.79 มิลลิกรัมของไซยานินดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ) สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พบว่าข้าวก่ำดอยมูเซอมีฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH และมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนกับเหล็กได้ดีที่สุด โดยมีค่า EC50 เท่ากับ 0.23±0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า FRAP เท่ากับ 32.03±0.001 มิลลิกรัม สมมูลเฟอร์รัสซัลเฟต/กรัมของส่วนสกัดตามลำดับ นอกจากนี้แล้วสารสกัด  
เอทานอลจากข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (0.001, 0.01, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ทั้งแบบที่เติมสารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยา (48 ชั่วโมง) และเมื่อเติมสารสกัดลงในน้ำมันหลังจาก  
ทำปฏิกิริยา (48 ชั่วโมง) สำหรับการทดสอบ TBARS พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของข้าวกล้องหอมนิล  
ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีถึง 67.79% สรุปว่าสาร สกัดเอทานอลจาก  
ข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอ สามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์-ออกซิเดชันในปฏิกิริยาขั้นปฐมภูมิและขั้นทุติยภูมิได้และงานวิจัยนี้สามารถที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได

อัครเกียรติ พวงแสง (2562) ได้ทำการศึกษาเรื่องการสกัดรำข้าวด้วยน้ำมันพืชบริโภคได้เพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำมันมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าว พบว่าการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอล ร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการป้องกันเซลล์ประสาทเพาะเลี้ยง  
SH-SY5Y จากภาวะเครียดออกซิเดชัน สารออกฤทธิ์ชีวภาพในรำข้าวมีคุณประโยชน์หลากหลาย เช่น เป็นสารต้านออกซิเดชัน ต้านการเกิดมะเร็งและโดยเฉพาะอย่างยิ่งมีสารที่ป้องกันโรคความเสื่อมของระบบประสาท งานวิจัยนี้จึงสนใจเพิ่มมูลค่าให้รำข้าวด้วยการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพโดยใช้วิธีการให้ ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์และเปรียบเทียบประสิทธิภาพของ  
ตัวทำละลายเอทานอล และเอทิลอะซิเตต จากนั้นสารสกัดจะถูกประเมินคุณสมบัติทางเคมี   
โดยการทดสอบ Folin- Ciocalteu ทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH วิเคราะห์ปริมาณของ   
แกรมาออริซานอล และทดสอบการต้านภาวะเครียดออกซิเดชันในเซลล์ประสาท SH-SY5Y จากการศึกษาพบว่าสารสกัดที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลายในการสกัดโดยสกัดผ่านการให้ความร้อนแบบ  
ไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราวาวด์มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด 3.21 mg GAE/g มีค่า EC50 ต่ำสุดอยู่ที่ 0.53 mg/mL มีประมาณของแกมมาออริซานอลสูงที่สุด 12.98mg/g และมีค่าร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์ประสาทอยู่ที่ 79.13% ดังนั้น จึงสามารถสรุปได้ว่าการให้  
ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้ คลื่นอัลตราซาวดเ์ป็นวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพ ซึ่งสารออกฤทธิ์ชีวภาพมีประสิทธิ์ภาพในการต้านภาวะเครียดออกซิเดชันในเซลล์ประสาท SH-SY5Y

ปฏิวิทย์ ลอยพิมายและคณะ (2563) ได้ทำการศึกษาเรื่องการสกัดรำข้าวด้วยน้ำมันพืชบริโภคได้เพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำมันมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าว งานวิจัยนี้ศึกษาผลของการสกัดรำข้าวโดยใช้น้ามันพืชบริโภคได้ ได้แก่ น้ำมันถั่วเหลือง น้ำมันมะพร้าว น้ำมัน คาโนลา น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวัน   
น้ำมันข้าวโพด และน้ำมันปาล์ม เป็นตัวทำละลายต่อคุณภาพทางเคมีกายภาพปริมาณสารออกฤทธิ์   
ชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดน้ำมันที่ได้ พบว่าการสกัดด้วยน้ำมันพืชบริโภคได้ไม่  
ส่งผลต่อปริมาณกรดไขมันอิสระ แต่ส่งผลต่อค่าเพอร์ออกไซด์ (PV) และค่าทีบีเอ (TBA) และค่า ΔE (p<0.05) การสกัดด้วยน้ำมัน ถั่วเหลืองและน้ำมันดอกทานตะวัน มีค่า ΔE สูงสุด ( 3.25 ± 0.91 และ 3.19 ± 0.63 ตามลำดับ) นอกจากนี้รำข้าวที่สกัดด้วยน้ำมันถั่วเหลืองได้ปริมาณแกมม่าออริซานอล (549 ± 62.1 µg/ g) สูงสุด ในขณะที่น้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันมีปริมาณแอลฟ่าโทโคฟีรอล (40.7 ± 5.52 µg/ g) สูงสุด ซึ่งสารสกัดทั้งสองชนิดนี้มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด งานวิจัยนี้ชี้ให้เห็นว่าการใช้น้ำมันถั่วเหลืองหรือน้ำมันเมล็ดดอกทานตะวันเป็นตัวทำละลายชีวภาพทางเลือกมีประสิทธิภาพช่วยเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าว สำหรับการผลิตเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารหรือน้ำมันบริโภคได้เพื่อสุขภาพ

อัครเกียรติ พวงแสงและศุภกาญจน์ รัตนกร (2563) ได้ทำการศึกษาเรื่องการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์   
มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าว พบว่าการศึกษาการสกัด  
สารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลด้วยหม้อนึ่งแรงดันแก่รำข้าวและใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการช่วยสกัด นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทําละลายอินทรีย์ในการสกัด ซึ่งใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล และเอทิลอะซิเตท จากนั้นสารสกัดจะถูกประเมินคุณสมบัติทางเคมีโดยการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธีโฟลิน-ซิโอคาตู และทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช โดยพบว่าสารสกัดที่ผ่านการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์และใช้เอทานอลเป็นตัวทําละลาย มีปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพสูงที่สุด โดยมีประมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด 3.21 mg GAE/g และมีค่า EC50 ต่ำสุดอยู่ที่ 0.53 mg/mL เมื่อเทียบกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิกหรือการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลเพียงอย่างเดียว ดังนั้นการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์จึงเป็นอีกวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวที่มีประสิทธิภาพ

Buran Phansawan (2013) ได้ทำการศึกษาเรื่องอนุมูลอิสระของสารสกัดเพื่อต้านอนุมูลอิสระ  
และการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งมีวัตถุประสงค์เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิง  
คุณภาพและปริมาณเพื่อทดสอบความถูกต้องและแม่นยำ ซึ่งในการทดสอบพบว่าอนุมูลอิสระ  
คือสารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยวในอะตอมหรือโมเลกุลเปนสาเหตุใหเกิดโรคตาง ๆ มากมาย ได้แก่   
 โรคชราโรคมะเร็ง โรคหัวใจขาดเลือด โรคความจําเสื่อม โรคขออักเสบ โรคภูมิแพ้ โรคความดันโลหิต  
โรคเหงือก โรคเกี่ยวกับสายตา เกิดความผิดปกติของปอดและระบบประสาท เป็นต้น ธรรมชาติหรือ   
รางกายของสิ่งมีชีวิตจึงมีการสร้างสารตานอนุมูลอิสระขึ้นมาเพื่อทําหนาที่ในการตานอนุมูลอิสระ   
ซึ่งกลไกในการตานอนุมูลอิสระมีหลายรูปแบบ เช่น การดักจับอนุมูลอิสระการยับยั้งการทํางานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน การจับกับโลหะที่สามารถเรงปฏิกิริยาออกซิเดชัน การหยุดปฏิกิริยาการสรางอนุมูลอิสระการเสริมฤทธิ์และการยับยั้งการทํางานของเอนไซมที่เรงปฏิกิริยาอนุมูลอิสระ   
สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งจากธรรมชาติและจากการสังเคราะหทั้งนี้การวิเคราะหฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระ  
เชิงคุณภาพและปริมาณมีหลายวิธีดวยกัน แตละวิธีมีความจําเพาะแตกตางกัน ปกติมักใชหลายวิธี  
รวมกัน ในการตรวจสอบและสรุปผลทั้งนี้เพื่อใหผลการทดสอบมีความถูกตองและแมนยํา วิธีการ  
วิเคราะหฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระเชิงคุณภาพที่นิยมไดแกการทําใหเกิดสีโครมาโตกราฟแบบชั้นบาง และเทคนิคโครมาโทกราฟของเหลวสมรรถนะสูง สวนวิธีการวิเคราะหฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณที่นิยม   
ไดแกการตรวจวัดฤทธิ์ตานอนุมูลอิสระดวยวิธีการทําลายอนุมูลอิสระ DPPH การฟอกจางสี  
อนุมูลอิสระเอบีทีเอส และการวิเคราะหความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ  
วิธีที่ไดนําเสนอในบทความนี้ถือไดวาเปนวิธีที่งาย สะดวกรวดเร็ว และสามารถนําไปประยุกตใชกับตัวอยางไดหลายชนิด

F.Arab et al.(2014) ได้ทำการศึกษาเรื่องฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าวมีวัตถุประสงค์เพื่อ  
ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวอิหร่าน 2 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย แตกต่างสามชนิดพบว่าในงานวิจัยนี้ได้ทำการประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวอิหร่าน 2 สายพันธุ์  
ได้แก่ Fajr และ Tarem ที่สกัดด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกันสามชนิด (เมทานอล เอทานอล   
และเอทิลอะซิเตต) ตามลำดับของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระประเมิน โดยการวัดปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด   
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในกรดไลโนเลอิก และความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH สารสกัดเมทานอลจากรำข้าว Fajr แสดงปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด 3. 31 mg ของกรดแกลลิก รำข้าวมีความสามารถใน การกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH ที่ 93. 91% ได้ ที่ความเข้มข้น 50 mg/ml และเปอร์เซ็นต์การยับยั้ง  
กรดไลโนเลอิกเปอร์ออกซิเดชันของ 68. 01% ผลลัพธ์เหล่านี้บ่งชี้ว่าส่วนประกอบเมทานอลของ  
สารสกัดจากรำข้าวอาจเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ

Nirana (2018) ได้ทำการศึกษาเรื่องการสกัดสาระสำคัญจากข้าวสังข์หยดงอก โดยวิธีการสกัด  
ด้วยตัวทำละลาย พบว่าข้าวสังข์หยดเป็นข้าวพื้นเมืองที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง ซึ่งในปัจจุบันความนิยมในการปลูกข้าวสังข์หยดลดลงเนื่องจากราคาขายและผลผลิตเฉลี่ยต่อไร่น้อย เมื่อเทียบกับราคาและผลผลิตของข้าวชนิดอื่น ๆ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตข้าวสังข์หยดงอกโดยกระบวน  
การงอก และการสกัดสารสกัดจากข้าวด้วยตัวทำละลาย โดยในกระบวนการสกัดได้ทำการศึกษาการใช้ตัวทำละลายชนิดเอทานอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0, 50 และ 95 เวลาที่ใช้ในการสกัด 0.5, 1, 2 และ 4 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:10, 1:15, 1:20 และ 1:25 (g/ml) ขนาดของข้าวบด 40 และ 70 mesh และการนำตัวทำละลายกลับมาใช้ใหม่ จากผลการทดลองพบว่าสารสกัดจากข้าวสังข์หยดงอกมีปริมาณสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าข้าวสังข์หยดและข้าวไรซ์เบอรี่ที่ไม่ผ่านกระบวนการงอก โดยกระบวนการสกัดข้าวสังข์หยดงอกขนาด 40 mesh ด้วยเอทานอล  
เข้มข้นร้อยละ 50 ที่เวลาสกัด 0.5 ชั่วโมง อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลาย 1:15 (g/ml) เป็นสภาวะ  
ที่เหมาะสม และมีความคุ้มค่าต่อกระบวนการสกัดที่สุด เนื่องจากเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50   
เป็นตัวทำละลายที่สามารถละลายสารสำคัญจากข้าวได้ดีให้ปริมาณผลได้ (Yield) ของสารสกัดร้อยละ 6.56 มีปริมาณ สารฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ กาบา และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุดเท่ากับ 1,627.00 ±   
53.08 mg GAE/100 g rice, 559.50 ± 17.06 mg QE/100 g rice, 9.97 ± 0.17 mg GABA/100 g rice และ 0.16 ± 0.01 mg/mL ตามลำดับ อีกทั้งสามารถนำเอทานอลกลับมาใช้ใหม่ได้ร้อยละ 86.33-87.33 หลังการปรับปริมาตรตัวทำละลายใหม่ (Make-up) ด้วยเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 50 ให้เท่ากับปริมาตรตัวทำละลายตั้งต้น ทำให้ตัวทำละลายที่ได้มีความหนาแน่นเท่ากับ 0.940 g/cm3   
ซึ่งใกล้เคียงกับตัวทำละลายตั้งต้นที่ใช้สกัดในครั้งแรก โดยให้ร้อยละผลได้และปริมาณสาระสำคัญของ  
สารสกัดจากการใช้ตัวทำละลายซ้ำที่ใกล้เคียงกับการสกัดด้วยตัวทำละลายตั้งต้น ทำให้การผลิต  
สารสกัดข้าว โดยการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลมีต้นทุนต่ำและมีความคุ้มค่าทางเศรษฐศาสตร์ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรม ผลการศึกษาครั้งนี้สามารถเพิ่มมูลค่าให้ข้าวสังข์หยดและสร้างรายได้ให้แก่ เกษตรกรผู้ปลูกข้าว โดยการนำสารสกัดไปพัฒนาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์เซรั่มที่มี  
ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้เป็นอย่างดี

Pakamas (2020) ได้ทำการศึกษาเรื่องปริมาณสารฟีนอลิกในพันธุ์ข้าวไทย และผลของอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อคุณภาพข้าว พบว่าสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ   
พบมากในส่วนของรำข้าว โดยสารแต่ละชนิดมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกัน กลุ่มของ สารประกอบฟีนอลิกที่สำคัญ ได้แก่ กลุ่มกรดฟีนอลิก (Gallic acid, Protocatechulic acid,   
Vanilic acid, *p*-coumanicacid, Sinapic acid และ Ferulic acid) และสารกลุ่มฟลาโวนอยด์ (Catechin, epicathechiri, Rutini, Quercetin และ Apigenin) งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษา  
ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าวกล้อง 27 พันธุ์ด้วยเทคนิคลิควิดโครมาโทกราฟีสมรรถนะสูง  
(HPLC) และศึกษาเปรียบเทียบอุณหภูมิในการเก็บรักษาต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณสาร  
ฟีนอลิกในข้าวผลการศึกษาพบสาร Ferulic acid ปริมาณสูงสุดที่179-359 mg/kg  
โดยในข้าวกล้องสีดำพบสาร Protocatechuic acid, Vanllic acid, Rutin และQuercetin ปริมาณ   
118.13 132.59 50.79 และ 14.09 mg/kg ตามลำดับมากกว่าในข้าวกล้องสีแดง (23.43 2.77 และ 10.30 mg/kg และไม่พบสาร Quercetin) ส่วนในข้าวกล้องสีน้ำตาล พบสารดังกล่าวปริมาณ 8.33   
 4.61 7.71 และ 2.44 ตามลำดับ แต่ไม่พบสารดังต่อไปนี้คือ Gallic acid ในขณะที่ข้าวกล้องสีแดงพบสาร *p*-coumaric acid, Sirapic acid และEpicathechin มากกว่าในข้าวกล้องสีดำและข้าวกล้อง  
สีน้ำตาล แต่ไม่พบสาร Quercetin ทั้งนี้พบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการเก็บรักษามีผลต่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก จากการตรวจสอบปริมาณของสารฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-ciocalteu  
colorimnatnic assay ในตัวอย่างข้าวขาวดอกมะลิ 105 กข6 ชัยนาท 1 มะลินิลสุรินทร์ และ  
สังข์หยดพัทลุง พบว่าการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 15 °C ในรูปข้าวเปลือกและข้าวกล้องสามารถรักษาคุณภาพและปริมาณสารฟีนอลิกได้ดีกว่าการเก็บที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก  
มีแนวโน้มลดลง โดยในข้าวกล้องสีน้ำตาลสารฟีนอลิกเริ่มลดลงตั้งแต่เดือนที่ 2 ข้าวกล้องสีแดง  
และสีดำเริ่มลดลงในเดือนที่ 4

อย่างไรก็ตาม การเก็บทุกรูปแบบเป็นเวลา 12 เดือน สารฟีนอลิกในรำข้าวยังคงอยู่ ดังนั้น  
เพื่อรักษาคุณภาพข้าว และสารสำคัญต่าง ๆ ในข้าวควรเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำจะช่วยรักษาคุณค่าทางโภชนาการได้ดี