**ภาคผนวก**

**ภาคผนวก ก**

การเตรียมสารละลาย

**ก.1 การเตรียมสารละลายในการทดสอบสารโปลีฟีนอลรวม**

ก.1.1 คำนวณการเตรียมสารละลายโฟลิน (Folin – Ciocalteau reagent)

เตรียมสารละลาย Folin – Ciocalteau ที่ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร

จากสูตร % ปริมาตร/ปริมาตร (v/v)

10 %

Folin – Ciocalteau

Folin – Ciocalteau = 10 มิลลิลิตร

ดังนั้น จะต้องปิเปตสารละลาย Folin – Ciocalteau มา 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น จะได้สารละลาย Folin – Ciocalteau ที่มีความเข้มข้น 10% v/v

ก.1.2 การคำนวณเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (NaCO3)

การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 75 ไมโครกรัม /มิลลิลิตร 100 มิลลิลิตร

ในสารละลาย 1.0 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารอยู่ 75 มิลลิกรัม

จะต้องเตรียมสารละลาย 100 มิลลิลิตร จะมีเนื้อสารอยู่

= 7500 มิลลิกรัม

= 7.5 กรัม

ดังนั้น ต้องชั่งโซเดียมคาร์บอเนต มา 7.5 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

ก.1.3 การคำนวณเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

ก.1.3.1 เตรียม Stock Solution เข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

ในสารละลาย 1000 มิลลิลิตร จะมี Solution แกลลิก 1000 มิลลิกรัม

เตรียมสารละลาย 25 มิลลิลิตร จะมี Solution แกลลิก

= 25 มิลลิกรัม

= 0.025 กรัม

ดังนั้น นำแกลลิก ไปชั่ง 0.025 กรัม จากนั้นก็ละลายด้วยตัวทำละลายคือ เอทานอล แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ก็จะได้ Stock Solution ที่มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ก.1.3.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานแกลลิกเข้มข้น 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

จากสูตร C1V1 = C2V2

โดยกำหนดให้ C1 = ความเข้มข้นเริ่มต้น

C2 = ความเข้มข้นสุดท้าย

V1 = ปริมาตรที่ต้องการเจือจาง

V2 = ปริมาตรสุดท้าย

แทนค่า C1V1 = C2V2

(1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) x V1 = ( 50 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) x (100 มิลลิลิตร)

=

= 5 มิลลิลิตร

ดังนั้น นำ Stock Solution ที่ได้จากการเตรียมมาปิเปต 5 มิลลิลิตร แล้วจึงทำการปรับปริมาตรด้วยเอทานอลให้เป็น 100 มิลลิลิตร และคำนวณเหมือนกันความเข้มข้นที่ 100 150 200

ก.1.4 การคำนวณเตรียมสารสกัดจากรำข้าว

ก.1.4. เตรียม Stock Solution เข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

ในสารละลาย 1.0 มิลลิลิตร สารสกัด 1000 มิลลิกรัม

จะต้องเตรียมสารละลาย 100 มิลลิลิตร สารสกัด

= 10 มิลลิกรัม

= 0.01 กรัม

ดังนั้น นำสารสกัด ไปชั่ง 0.01 กรัม จากนั้นก็ละลายด้วยตัวทำละลายคือ เมทานอล แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ก็จะได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

**ก.2 การเตรียมสารละลายในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH**

ก.2.1 การคำนวณเตรียมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์

จากสูตร =

แทนค่า g

= 0.0039

ดังนั้น ต้องชั่งDPPH มา 0.0039 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตรด้วยเอทานอล

ก.2.2 การคำนวณเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้นต่างๆ

ก.2.2.1 เตรียม Stock Solution เข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร

ในสารละลาย 1000 มิลลิลิตร จะมี Solution แอสคอร์บิก 1000 มิลลิกรัม

เตรียมสารละลาย 25 มิลลิลิตร จะมี Solution แอสคอร์บิก

= 25 มิลลิกรัม

= 0.025 กรัม

ดังนั้น นำแอสคอร์บิก ไปชั่ง 0.025 กรัม จากนั้นก็ละลายด้วยตัวทำละลายคือ น้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรเป็น 25 มิลลิลิตร ก็จะได้ Stock Solution ที่มีความเข้มข้น 1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร

ก.2.2.2 เตรียมสารละลายมาตรฐานแอสคอร์บิกเข้มข้น 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

จากสูตร C1V1 = C2V2

โดยกำหนดให้ C1 = ความเข้มข้นเริ่มต้น

C2 = ความเข้มข้นสุดท้าย

V1 = ปริมาตรที่ต้องการเจือจาง

V2 = ปริมาตรสุดท้าย

แทนค่า C1V1 = C2V2

(1000 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) x V1 = ( 100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) x (100 มิลลิลิตร)

=

= 10 มิลลิลิตร

ดังนั้น นำ Stock Solution ที่ได้จากการเตรียมมาปิเปต 10 มิลลิลิตร แล้วจึงทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร

ก.2.2.3 เตรียมสารละลายมาตรฐานแอสคอร์บิกเข้มข้น 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

แทนค่า C1V1 = C2V2

(100 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) x V1 = ( 10 ไมโครกรัม/มิลลิลิตร) x (100 มิลลิลิตร)

=

= 10 มิลลิลิตร

ดังนั้น นำ Stock Solution ที่ได้จากการเตรียมมาปิเปต 10 มิลลิลิตร แล้วจึงทำการปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 100 มิลลิลิตร และคำนวณเหมือนกันที่ความเข้มข้นที่ 30 50 70 และ90

**ภาคผนวก ข**

การคำนวณ

**ข.1การคำนวณความชื้นของรำข้าว**

**ชุมชนสวายจีก**

ครั้งที่ 1

จากสูตร

ครั้งที่ 2

จากสูตร

ครั้งที่ 3

จากสูตร

ความชื้นเฉลี่ยของชุมชนสวายจีก

ค่าความเบี่ยงเบนของชุมชนสวายจีก

**ตารางที่ ข1 การคำนวณความชื้นของรำข้าว**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **แหล่งที่มา** | **ครั้งที่** | **น้ำหนักคูซิเบิล(กรัม)** | **น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)** | **น้ำหนักตัวอย่าง**  **หลังอบ (กรัม)** | **%ความชื้น** | **% ความชื้นเฉลี่ย** | **ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน** |
| สวายจีก | 1 |  |  |  |  |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| สนวนนอก | 1 |  |  | 41.3751 | 10.4240 | 10.8657 | 0.4259 |
| 2 | 41.3652 | 10.8993 |
| 3 | 41.3574 | 11.2738 |
| โคกเมือง | 1 |  |  |  |  | 10.6866 | 0.3437 |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |

61

**ข.2 การคำนวณ % Yield ของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่างๆ**

**ข.2.1 ตัวทำละลายเมทานอล**

**ชุมชนบ้านสวายจีก**

ครั้งที่ 1

จากสูตร %Yield

%Yield

ครั้งที่ 2

จากสูตร %Yield

%Yield

ครั้งที่ 3

จากสูตร %Yield

%Yield

% yield เฉลี่ยของชุมชนสวายจี

**ตารางที่** **ข.2 การคำนวณ % Yield ของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่างๆ**

63

63

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **ตัวทำละลาย** | **แหล่งที่มา** | **ครั้งที่** | **น้ำหนักสารสกัดที่ได้** | **น้ำหนักรำข้าที่ใช้ในการสกัด** | **% Yield** | **% Yield เฉลี่ย** |
| เมทานอล | สวายจีก | 1 |  | 5 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| สนวนนอก | 1 |  | 5 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| โคกเมือง | 1 |  | 5 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| เอทานอล | สวายจีก | 1 |  | 5 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| สนวนนอก | 1 |  | 5 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |

**ตารางที่** **ข.2 การคำนวณ % Yield ของสารสกัดที่ได้จากตัวทำละลายชนิดต่าง ๆ**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **ตัวทำละลาย** | **แหล่งที่มา** | **ครั้งที่** | **น้ำหนักสารสกัดที่ได้** | **น้ำหนักรำข้าที่ใช้ในการสกัด** | **% Yield** | **% Yield เฉลี่ย** |
| เอทานอล | โคกเมือง | 1 |  | 5 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| เอทิลอะซิเตต | สวายจีก | 1 |  | 5 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| สนวนนอก | 1 |  | 5 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |
| โคกเมือง | 1 |  | 5 |  |  |
| 2 |  |  |
| 3 |  |  |

64

**ข.3 คำนวณหาปริมาณโปลีฟีนอลรวมของสารสกัดรำข้าว**

**ชุมชนบ้านสวายจีก**

ครั้งที่ 1

จากสูตร mg GAE/g DW =

mg GAE/g DW =

mg GAE/g DW = 46.7

ครั้งที่ 2

จากสูตร mg GAE/g DW =

mg GAE/g DW =

mg GAE/g DW = 53.1

ครั้งที่ 3

จากสูตร mg GAE/g DW =

mg GAE/g DW =

mg GAE/g DW = 76.2

ปริมาณสารโปลีฟีนอลรวมเฉลี่ยของชุมชนสวายจีก

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **แหล่งที่มา** | **ครั้งที่** | **ค่าการดูดกลืนแสง**  **OD765** | **สมการเส้นตรง** | **slope** |  |  | **น้ำหนักของ**  **สารสกัดรำข้าว (กรัม)** | **ปริมาณโปลีฟีนอลรวม**  **mg GAE/g DW** | **ปริมาณโปลีฟีนอลรวม**  **mg GAE/g DW** |
| สวายจีก | 1 |  |  |  |  |  |  | 46.7 |  |
| 2 |  | 53.1 |
| 3 |  | 76.2 |
| สนวนนอก | 1 |  |  |  |  |  | 0.0188 | 37.7 |  |
| 2 |  | 37.2 |
| 3 |  | 44.1 |
| โคกเมือง | 1 |  |  |  |  |  |  | 32.3 |  |
| 2 |  | 33.6 |
| 3 |  | 32.1 |

**ตารางที่ ข.3 คำนวณหาปริมาณโปลีฟีนอลรวมของสารสกัดรำข้าว**

66

**ข.4 การคำนวณค่า % Inhibition**

**ชุมชนบ้านสวายจีก**

ครั้งที่ 1

จากสูตร Inhibition (%) =

Inhibition (%) =

Inhibition (%) = 86.0468

ครั้งที่ 2

จากสูตร Inhibition (%) =

Inhibition (%) =

Inhibition (%) = 85.5248

ครั้งที่ 3

จากสูตร Inhibition (%) =

Inhibition (%) =

Inhibition (%) = 86.3290

ความชื้นเฉลี่ยของชุมชนสวายจีก

ค่าความเบี่ยงเบนของชุมชนสวายจีก

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **แหล่งที่มา** | **ครั้งที่** |  |  |  | **%Inhibition** | **%Inhibition เฉลี่ย** | **ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน** |
| สวายจีก | 1 |  |  |  | 86.0468 |  |  |
| 2 |  | 85.5248 |
| 3 |  | 86.3290 |
| สนวนนอก | 1 |  |  | 0.0081 | 94.6106 |  |  |
| 2 |  | 95.5558 |
| 3 |  | 95.3583 |
| โคกเมือง | 1 |  |  | 0.0069 | 49.2663 |  |  |
| 2 |  | 51.4108 |
| 3 |  | 52.2855 |

**ตารางที่ ข.4 การคำนวณค่า % Inhibition**

68

**ข.5 การคำนวณค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อเทียบอยู่ในรูปของกรดแอสคอร์บิก**

**ชุมชนบ้านสวายจีก**

ครั้งที่ 1

จากสูตร mg Vitamin C/g DW =

mg Vitamin C/g DW =

mg Vitamin C/g DW = 57.3997

ครั้งที่ 2

จากสูตร mg Vitamin C/g DW =

mg Vitamin C/g DW =

mg Vitamin C/g DW = 57.0690

ครั้งที่ 3

จากสูตร mg Vitamin C/g DW =

mg Vitamin C/g DW =

mg Vitamin C/g DW = 57.5784

ความชื้นเฉลี่ยของชุมชนสวายจีก

ค่าความเบี่ยงเบนของชุมชนสวายจีก

**ตารางที่** **ข.5 การคำนวณค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ DPPH เมื่อเทียบอยู่ในรูปของกรดแอสคอร์บิก**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| **แหล่งที่มา** | **ครั้งที่** |  | **สมการเส้นตรง** | **slope** |  |  | **น้ำหนักของ**  **สารสกัด**  **รำข้าว (กรัม)** | **ปริมาณสาร**  **โปลีฟีนอลรวม**  **mg GAE/g DW** | **ปริมาณสาร**  **โปลีฟีนอลรวมฉลี่ย**  **mg GAE/**  **g DW** | **ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน** |
| สวายจีก | 1 | 86.0468 |  |  |  |  |  | 57.3997 |  |  |
| 2 | 85.5248 | 57.0690 |
| 3 | 86.3290 | 57.5784 |
| สนวนนอก | 1 |  |  |  |  |  | 0.0188 | 61.5548 |  |  |
| 2 |  | 62.1414 |
| 3 |  | 62.0188 |
| โคกเมือง | 1 |  |  |  |  |  |  | 33.5838 |  |  |
| 2 |  | 34.9214 |
| 3 |  | 35.4670 |

70

**ภาคผนวก ค**

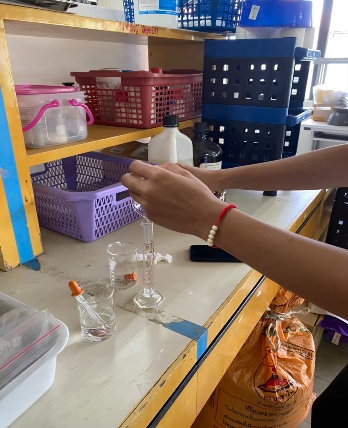
ภาพประกอบการทำงานวิจัย

****

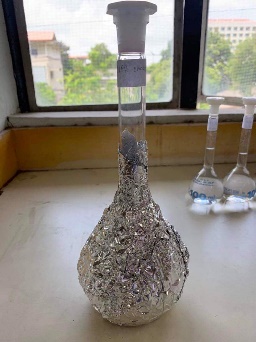
ค.1 การเตรียมสารละลายโฟลิน

****

ค.2 การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

****

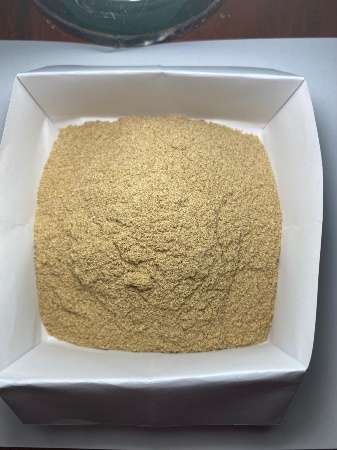
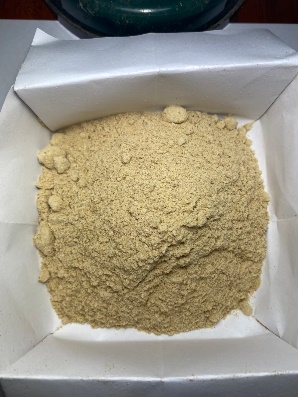
ค.3 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก

****

ค.4 การเตรียมสารละลายดีพีพีเอช (DPPH)

****

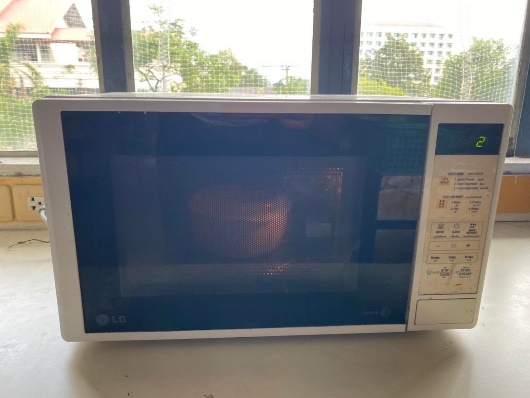
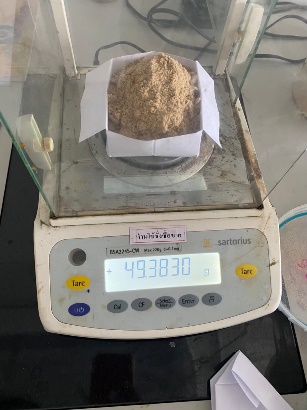
ค.5 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก



ค.6 ตัวอย่างรำข้าวจากชุมชนสวายจีก สนวนนอกและโคกเมืองตามลำดับ



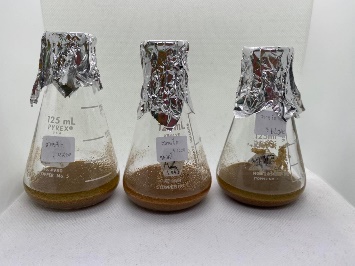
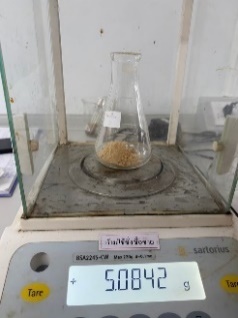
ค.7 ร่อนคัดขนาดของตัวอย่างรำข้าวและเก็บไว้ในถุงซิปล็อค



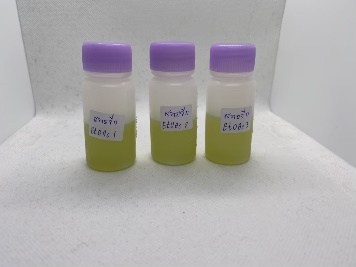
ค.8 ชั่งตัวอย่างรำข้าวอย่างละ 100 กรัม แล้วนำมาคงสภาพรำข้าวด้วยไมโครเวฟ



ค.9 การหาความชื้นของตัวอย่างรำข้าว



ค.10 ชั่งตัวอย่างรำข้าวและเติมตัวทำละลายเพื่อทำการสกัด





ค.11 ทำการเขย่า และกรองสารสกัดหยาบออกมา



ค.12 ระเหยตัวทำละลายออกจากสารสกัดหยาบ



ค.13 เตรียมตัวอย่างก่อนการนำไปตรวจวัด



ค.14 ทำการตรวจวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์การดูดกลืนแสง   
(UV-Vis Spectrophotometer)