การเปรียบเทียบผลของการสกัดแบบดั้งเดิมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิคต่อปริมาณแอนโทไซยานิน สารต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบฟีนอลิกรวมในข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2

COMPARISON OF TRADITIONAL AND ULTRASONIC-ASSISTED EXTRACTION METHODS ON ANTHOCYANIN, TOTAL PHENOLIC COMPOUNDS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF HOMDAENG ST.1 AND HOMDUM ST.2 BROWN RICE

ปราณี เลิศแก้ว* จันทิรา ย่านสากล ขนิษฐา อยู่ทิศ สุภาพร กงภูธร และ ธิดารัตน์ พรหมมา

Pranee Lertkaeo*, Jantira Yansakol, Khanittha Yoothit, Supaporn Kongputorn, and Thidarat Promma

โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

General Science Program Department, Faculty of Education, Kamphaeng Phet Rajabhat University

*corresponding author e-mail: neny_1105@hotmail.com

(Received: 16 December 2020; Revised: 21 March 2021; Accepted: 10 April 2021)

บทคัดย่อ

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพหลากหลายชนิดที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพถูกค้นพบในข้าวที่มีสี งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ คือ ข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 โดยเปรียบเทียบระหว่างการสกัดแบบดั้งเดิมและการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราโซนิคเพื่อศึกษาประสิทธิภาพของเทคนิคในการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ ในการสกัดสาร พบว่า วิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 มี %yield มากสุด เท่ากับ 2.45% ขณะที่การสกัดด้วยวิธีแบบดั้งเดิมในข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มี %yield น้อยสุด เท่ากับ 1.06% การตรวจหาปริมาณสารแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH-differential ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin–Ciocalteu colorimetric พบว่า วิธีการสกัดแบบใช้คลื่นอัลตราโซนิคของสารสกัดข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด เท่ากับ 9.128 มิลลิกรัมต่อลิตร อย่างไรก็ตามพบว่า มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมของสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 โดยมีค่าเท่ากับ 201.556 ไมโครกรัมบีเอชที

ต่อมิลลิลิตร และมีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.089 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังพบว่าวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมของข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มีสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด เท่ากับ 149.98 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ดังนั้นการศึกษาในครั้งนี้จึงอาจช่วยในการพิจารณาเลือกเทคนิคในการสกัดสารจากข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ

คำสำคัญ: แอนโทไซยานิน สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกรวม ข้าวกล้อง อัลตราโซนิค

Abstract

Variety of bioactive compounds with health benefits have been discovered in pigmented rice. This research aims to study the effects of extraction methods on biological active compounds of Homdaeng ST.1 and Homdum ST.2 brown rice. Both types of brown rice were extracted using conventional and ultrasonic-assisted extraction techniques to examine the most effective method of extracting their active compounds. The ultrasonic extraction method of Homdum ST.2 extract provided the highest yield of 2.45%, while traditional extraction method of Homdaeng ST.1 extract gave the lowest value amounted of 1.06%. Anthocyanin content was determined by pH-differential method. Antioxidant capacity was measured by DPPH method and total phenolic compounds were evaluated by Folin-Ciocalteu colorimetric. It was found that the ultrasonic extraction method of Homdum ST.2 exhibited the highest anthocyanin content of 9.128 mg/L. However, the highest antioxidant activity was shown in traditional extraction method of Homdaeng ST.1, exhibiting 201.556 µg BHT/ml, and IC_{50} value of 12.089 µg /ml. Moreover, the traditional method of Homdaeng ST.1 exhibited the highest total phenolic compound of 149.98 mg GAE/g extract. The findings of this study might help in considering the type of extraction techniques for Homdaeng ST.1 and Homdum ST.2 brown rice to be used as ingredients in supplements, as well as in functional foods.

Keywords: Anthocyanin, Antioxidant, Phenolic compounds, Brown rice, Ultrasonic

บทนำ

ข้าว เป็นพืชเศรษฐกิจหลักของประเทศไทยที่คนไทยนิยมบริโภคเป็นอาหารหลัก เป็นพืชที่มีการเพาะปลูกและผลิตเพื่อการส่งออกมากที่สุดของประเทศไทย การส่งออกข้าวของไทยนับว่าเป็นสินค้าที่มีความสำคัญต่อระบบเศรษฐกิจ ก่อให้เกิดรายได้จากการส่งออกข้าวของประเทศนับแสนล้านบาท ต่อปี อีกทั้งประเทศไทยยังเป็นศูนย์กลางของการศึกษาวิจัยพันธุ์ข้าวเพื่อพัฒนาพันธุ์ข้าวให้มีความหลากหลายและมีคุณภาพมากขึ้น ในปัจจุบันนี้ข้าวของไทยมีหลากหลายสายพันธุ์และมีเอกลักษณ์เฉพาะที่โดดเด่นตามสภาพภูมิประเทศที่เพาะปลูก ทำให้ข้าวมีคุณค่าทางโภชนาการที่แตกต่างกันในแต่ละสายพันธุ์ เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน ใยอาหาร แร่ธาตุ เป็นต้น (วโรทัย, 2551)

จากการศึกษาที่ผ่านมา พบว่า สารสกัดจากข้าวไทย 9 สายพันธุ์ มีองค์ประกอบของสารประกอบฟีนอลิกรวม มีค่าสูงในกลุ่มข้าวขาว ข้าวแดง และข้าวดำ ในทุกสายพันธุ์ของข้าวจะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด อยู่ระหว่าง 333.7-1,402.9 mg FAE/g น้ำหนักแห้ง ปริมาณแอนโทไซยานินเฉลี่ยของข้าวขาว แดงและดำมีค่าเท่ากับ 123.7 75.6 และ 199.2 mg/L of cyanidin-3-glucoside ตามลำดับ (พิชญอร และลดาวัลย์, 2555) สารสกัดจากข้าวสีพันธุ์ไทย 4 สายพันธุ์ ได้แก่ หอมแดง หอมกุหลาบแดง ก่ำดอยสะเก็ด และหอมดำสุโขทัย2 มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง นอกจากนั้นยังพบว่า ข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 และข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูง ซึ่งมีคุณสมบัติสำคัญเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ จึงมีประโยชน์ในการลดภาวะเครียดออกซิเดชัน หากภาวะเครียดออกซิเดชันมีพัฒนาการที่รุนแรงขึ้นจะเป็นปัจจัยเสริมให้เกิดโรคต่างๆ เช่น โรคชรา โรคเบาหวาน โรคหัวใจขาดเลือด โรคข้ออักเสบ โรคความจำเสื่อม และโรคมะเร็ง เป็นต้น (นพวรรณ และคณะ, 2560; วิลัดดา และคณะ, 2557)

ปัจจุบันคนยุคใหม่หันมาใส่ใจดูแลสุขภาพมากขึ้น ข้าวที่ไม่ได้ขัดสีหรือข้าวกล้องจึงกลับมาได้รับความสนใจมากขึ้น ซึ่งในข้าวกล้องจะพบสารอาหารที่สำคัญมากกว่าในข้าวขัดสีทั่วไป ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระ สารเบต้าแคโรทีน สารประกอบฟีนอลิกรวมไปถึงสารแอนโทไซยานินที่มักพบในพืชที่มีสีดำ ม่วงแดง ซึ่งสารสำคัญเหล่านี้มีประโยชน์และมีสรรพคุณทางยา ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระช่วยในการหมุนเวียนของกระแสโลหิต ชะลอการเสื่อมของเซลล์ร่างกาย สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง และโรคเรื้อรังหลายโรคได้ (ราตรี และประภาศรี, 2536)

วิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากข้าวมีหลายวิธี เช่น การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม เป็นการแยกส่วนที่ต้องการออกจากส่วนที่ไม่ต้องการ โดยสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เฮกเซน (Hexane) เอทิลอะซิเตท (Ethyl acetate) เมทานอล (Methanol) และเอทานอล (Ethanol) ซึ่งทำให้สารที่ถูกสกัดออกมาในชั้นของตัวทำละลายแต่ละชนิด มีความมีขั้วมากหรือน้อยขึ้นอยู่

กับความมีขั้วของตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัด เวลาที่ใช้ในการสกัดก็จะแตกต่างกันไป ร่วมกับการสกัดซ้ำด้วยตัวทำละลายเดิม หรืออาจใช้การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีขั้วแตกต่างกัน ในการสกัดเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพ และให้ได้ปริมาณของสารสกัดที่จะนำมาศึกษามากขึ้น วิธีการสกัดสารแบบดั้งเดิมเป็นวิธีการสกัดที่ง่าย แต่ข้อจำกัดของวิธีการนี้ คือ สิ้นเปลืองตัวทำละลาย และใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน (กิตติพัฒน์ และปานทิพย์, 2560; อารีรัตน์, 2560)

ในปัจจุบันนี้ได้มีการนำเทคนิคอัลตราโซนิคมาใช้ในการสกัดร่วมกับสารละลายอินทรีย์หรือน้ำ เพื่อให้ได้สารสำคัญ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มมากขึ้น โดยการใช้อัตราเร็วในการสกัดที่มากขึ้นและเวลาที่ใช้ในกระบวนการสกัดสั้นลง (Vitkhu et al., 2008) โดยจะปล่อยคลื่นเสียงความถี่สูงออกมาในตัวพาซึ่งในที่นี้ คือ น้ำหรือตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งกระบวนการดังกล่าวจะทำให้เกิดฟองก๊าซ เกิดการหดตัวและขยายตัวเป็นวัฏจักร เมื่อฟองก๊าซขยายตัวจะดึงสารที่อยู่ภายในวัสดุออกมาละลายในตัวทำละลาย และในขณะที่ฟองก๊าซแตกออกจะเกิดความดันและความร้อนอย่างมากในบริเวณนั้น ซึ่งจะมีผลทำให้เนื้อเยื่อของวัสดุฉีกขาดด้วยอุณหภูมิที่สูงขึ้นทำให้สารต้านอนุมูลอิสระที่ต้องการสกัดละลายในตัวทำละลายได้ดีขึ้น (ดวงกมล, 2557) วิธีการนี้จึงเป็นทางเลือกใหม่ในการสกัดที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในทางการค้าได้ (Valero et al., 2007) ซึ่งข้อดีของวิธีการสกัดด้วยอัลตราโซนิคเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสูงใช้ตัวทำละลายในการสกัดต่ำ ค่าใช้จ่ายต่ำ และไม่เป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม (Tao, Zhang & Sun, 2014)

ดังนั้นในการทำวิจัยครั้งนี้ได้ศึกษาและเปรียบเทียบปริมาณแอนโทไซยานิน สารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สกัดได้จากข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและแบบใช้คลื่นอัลตราโซนิค เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญ และสารแอนโทไซยานินมักพบในพืชที่มีสีดำ ม่วงแดง เพื่อเป็นข้อมูลด้านวิชาการและเป็นข้อมูลในการเลือกใช้วิธีสกัดสารสำคัญ เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมสารสกัดจากข้าว

1.1 การเตรียมสารสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม นำเมล็ดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 ที่ได้จากโครงการเกษตรอินทรีย์สนามบินสุโขทัย มาบดละเอียด นำข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ ตัวอย่างละ 10 กรัม ละลายในสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 65%v/v (Labscan, Thailand) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วบ่มทิ้งไว้ให้ครบ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปกรองผ่านผ้าขาวบาง

จำนวน 1 ครั้ง นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ให้ได้สารสกัดที่ใสและไม่มีตะกอน ทำการสกัดซ้ำ 5 ครั้ง นำไประเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่อง Rotary evaporator (BUCHI, Switzerland) ภายใต้ความดัน 175 mbar 121 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหา % yield ของสารสกัดจากข้าวกล้องเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นในการสกัด

1.2 การสกัดสารด้วยวิธีอัลตราโซนิค นำเมล็ดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 บดละเอียด นำข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ ตัวอย่างละ 10 กรัม ละลายในสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 65%v/v ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และนำไปสกัดในเครื่องอัลตราโซนิค (DRAWELL, USA) ที่ความถี่ 25 kHz ที่อุณภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที นำไปกรองผ่านผ้าขาวบาง จำนวน 1 ครั้ง นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ให้ได้สารสกัดที่ใสและไม่มีตะกอน ทำการสกัดซ้ำ 5 ครั้ง นำไประเหยตัวทำละลายออก ด้วยเครื่อง Rotary evaporator ภายใต้ความดัน 175 mbar 121 รอบต่อนาที (rpm) ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นำไปชั่งน้ำหนักเพื่อหา % yield ของสารสกัดจากข้าวกล้องเทียบกับน้ำหนักเริ่มต้นในการสกัด

2. การศึกษาปริมาณสารแอนโทไซยานินรวม ด้วยวิธี pH-differential

2.1 การสกัดแบบดั้งเดิม การทดลองในขั้นตอนนี้ใช้วิธีการทดสอบสารแอนโทไซยานินรวม โดยใช้วิธี pH-differential ดัดแปลงวิธีมาจาก (Shao, Sun & Beta, 2014) โดยบดข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ให้เป็นผง แล้วนำมาชั่งหนัก 1.5 กรัม นำไปสกัดด้วยสารละลายเมทานอล (Labscan, Thailand) ความเข้มข้น 80%v/v : กรดไฮโดรคลอริก (Labscan, Thailand) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (65 : 15 v/v) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร นำไปเขย่าด้วยเครื่อง Incubator Shaker (Stuart, England) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วบ่มทิ้งไว้ให้ครบ 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง นำสารสกัดข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ไปกรองผ่านผ้าขาวบาง จำนวน 1 ครั้ง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ให้ได้สารสกัดที่ใสและไม่มีตะกอน เก็บส่วนใสของสารสกัดข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ไว้

2.2 การสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค ทำการบดข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ให้เป็นผง แล้วนำมาชั่งหนัก 1.5 กรัม นำไปสกัดด้วย สารละลายเมทานอลความเข้มข้น 80%v/v : กรดไฮโดรคลอริก ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (65 : 15 v/v) ปริมาตร 15 มิลลิลิตร นำไปสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค จำนวน 1 รอบ กำลัง 50% อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที ความถี่ 25 kHz นำสารสกัดข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ไปกรองผ่านผ้าขาวบาง จำนวน 1 ครั้ง นำไปปั่นเหวี่ยงที่ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ให้ได้สารสกัดที่ใสและไม่มีตะกอน เก็บส่วนใสของสารสกัดข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ไว้

2.3 ใส่สารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 ที่เป็นส่วนใส 0.3 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง เติมบัฟเฟอร์ pH1 2.7 มิลลิลิตร ใส่สารสกัดข้าวกล้อง

หอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 ที่เป็นส่วนใส 0.3 มิลลิลิตร ในหลอดทดลองเติมบัฟเฟอร์ pH4.5 2.7 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ปริมาณสารแอนโทไซยานินจะแสดงออกมาในรูป Cyaniding-3-glucoside ดังสมการที่ 1

$$(mg/L) = A \times MW \times DF \times 1000/(\varepsilon \times l) \quad (1)$$

เมื่อ A = ค่าดูดกลืนแสง A = (A520 nm - A700 nm) pH1.0 - (A520 nm- A700 nm) pH 4.5

MW = น้ำหนักมวลโมเลกุลของ Cyanidin-3-glucoside (449.2 g/mol)

DF = dilution faction

ε = โมลาร์แอบซอบติวิตี้ (Molar absorptivity) ; 26,900 $M^{-1}cm^{-1}$

l = cell path length (1 cm)

1,000 = factor จาก ml ไปเป็น 1 L

3. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธี DPPH assay

เตรียมสารละลาย DPPH (ALDRICH, Germany) หลีกเลี่ยงการถูกแสง จากนั้นดูดสารสกัดตัวอย่างจากข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ ในแต่ละตัวทำละลายที่สกัดไว้ข้างต้น ใส่หลอดละ 1.5 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วตั้งไว้ในที่มืดนาน 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ รายงานผลเป็นค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่ยับยั้งอนุมูล DPPH คำนวณ ดังสมการที่ 2

$$\% \text{ inhibition} = [(A_{control} - A_{sample})/A_{control}] \times 100 \quad (2)$$

เมื่อ Acontrol = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม (ไม่มีสารสกัดตัวอย่าง)

Asample = ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดตัวอย่าง

หมายเหตุ สารละลายมาตรฐาน BHT ใช้แทนสารสกัดในขั้นตอนการทดลองแบบเดียวกับการทดลองข้างต้น

4. การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric

ปิเปตต์สารสกัดข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยเอทานอล 65% 0.3 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองจากนั้นปิเปตต์สารละลาย Folin Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10%v/v (CARLO ERBA, Australia) ในสารตัวอย่าง 1.5 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 8 นาที ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลาย Na_2CO_3 (CARLO ERBA, Australia) (7.5% w/v) ในตัวอย่าง 1.2 มิลลิลิตร นำไปเขย่าให้เข้ากัน แล้วตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ที่อุณหภูมิห้อง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง

ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร จากนั้นนำค่าที่ได้ไปเทียบกับสารมาตรฐาน (กรดแกลลิก (Gallic acid)) (ACROS, China) โดยรายงานผลเป็นมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด (mg GAE/g extract)

5. การวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการศึกษาแสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation; S.D.) สำหรับการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ จะใช้โปรแกรม Microsoft Excel เพื่อวิเคราะห์หาค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ผลการวิจัย

1. ปริมาณร้อยละของผลผลิตของสารสกัด

เมื่อนำข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 หนัก 10 กรัม มาสกัดด้วยสารละลายเอทานอลความเข้มข้น 65%v/v ปริมาตร 100 มิลลิลิตร โดยสกัดด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค จากนั้นนำไประเหยแห้ง จะได้น้ำหนักสารสกัดโดยคิดเป็น %yield ดังตารางที่ 1 โดยวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 มี %yield มากสุด เท่ากับ 2.45% และการสกัดด้วยวิธีแบบดั้งเดิมในข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มี %yield น้อยสุด เท่ากับ 1.06%

ตารางที่ 1 ร้อยละของผลผลิต (%yield) ของสารสกัดตัวอย่าง

ตัวอย่างพืช	วิธีการสกัด	น้ำหนักสด (กรัม)	น้ำหนักของสารสกัด (กรัม)	%yield Crude Extract (g)
ข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1	ดั้งเดิม	150	1.60	1.06%
	อัลตราโซนิค	150	1.92	1.28%
ข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2	ดั้งเดิม	150	1.86	1.24%
	อัลตราโซนิค	150	3.68	2.45%

2. การศึกษาปริมาณสารแอนโทไซยานิน ด้วยวิธี pH-differential

การศึกษาปริมาณสารแอนโทไซยานิน ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 ด้วยวิธี pH-differential โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร พบว่าวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด เท่ากับ 9.128 มิลลิลิตรกรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณสารแอนโทไซยานินจากสารสกัดตัวอย่าง

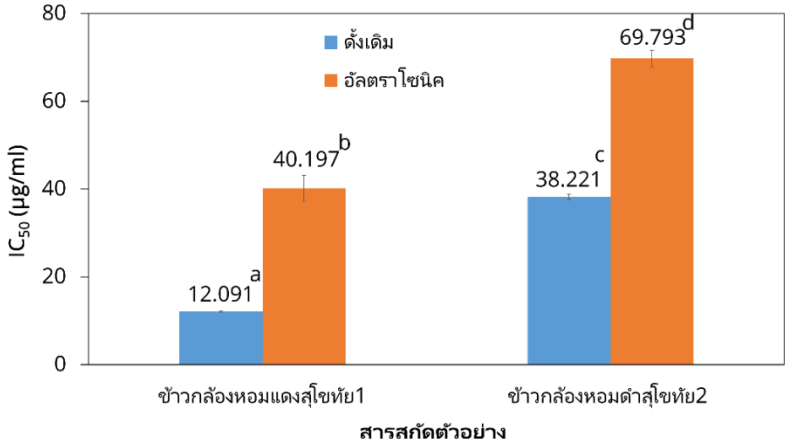
สารสกัด	วิธีการสกัด	ปริมาณสารแอนโทไซยานิน (mg/L)
ข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1	ดั้งเดิม	N.D.
	อัลตราโซนิค	N.D.
ข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2	ดั้งเดิม	7.904±1.35
	อัลตราโซนิค	9.128±0.98

Data express as mean ± SD (n=3) N.D. หมายถึง ไม่สามารถตรวจพบได้ (Not Detection)

จากตารางแสดงปริมาณสารแอนโทไซยานินจากสารสกัดตัวอย่าง พบว่า ปริมาณแอนโทไซยานิน ที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 ไม่สามารถตรวจพบปริมาณแอนโทไซยานิน และปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค ในสารสกัดข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 พบปริมาณแอนโทไซยานิน เท่ากับ 7.904 และ 9.128 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

3. การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค ในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 ด้วยวิธี DPPH assay ซึ่งแสดงเป็นค่า IC_{50} ดังภาพที่ 1 โดยที่ค่า IC_{50} คือ ค่าความเข้มข้นที่สารนั้นมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระที่ 50% โดยพิจารณาจากค่าความเข้มข้นของสารที่มีความเข้มข้นน้อยจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งพบว่า ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เท่ากับ 12.091 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แตกต่างกับกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$

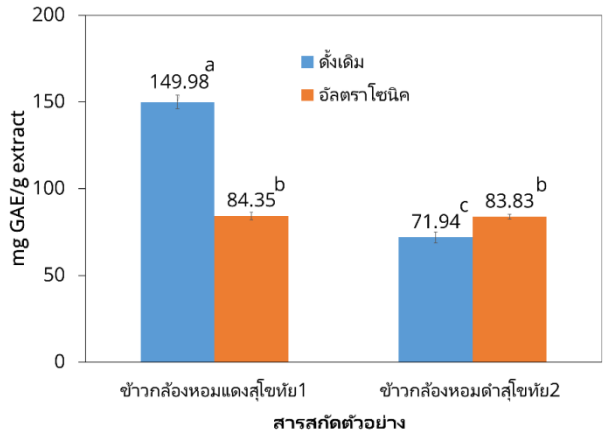


Data express as mean±S.D. (n=3) ตัวเลขที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ภาพที่ 1 แผนภูมิแสดงค่า IC_{50} ของสารสกัดตัวอย่าง

4. การศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin–Ciocalteu colorimetric

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu colorimetric และคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดตัวอย่างเทียบกับสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก (Gallic acid) พบว่า ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากสุด เท่ากับ 149.98 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด แตกต่างกับกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $P \leq 0.05$ ดังภาพที่ 2



Data express as mean ± SD (n=3) ตัวเลขที่มีตัวอักษรต่างกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ภาพที่ 2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมของสารสกัดตัวอย่าง

อภิปรายผล

การเปรียบเทียบผลของการสกัดแบบดั้งเดิมกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิคต่อปริมาณแอนโทไซยานิน สารต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 โดยในการสกัดสารด้วยวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 และข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มี %yield เท่ากับ 2.45% และ1.28% ตามลำดับ ขณะที่การสกัดด้วยวิธีแบบดั้งเดิมข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 และข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มีค่าเท่ากับ 1.24% และ 1.06% ตามลำดับ พบว่า ร้อยละการเพิ่มขึ้นของ %yield ในข้าวทั้ง2 สายพันธุ์ที่สกัดด้วยวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค เท่ากับ 97.58 และ 20.75 ตามลำดับ การหาปริมาณแอนโทไซยานิน ที่สกัดด้วยวิธีการแบบดั้งเดิม และวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 มีค่าเท่ากับ 7.904 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 9.128 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่า วิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคได้ปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมเพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 15.49 เนื่องจากวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคเป็นการใช้คลื่นความถี่สูงในการผสมสารให้เป็นเนื้อเดียวกัน ซึ่งเป็นตัวช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดแอนโทไซยานิน และการลดเวลาในการสกัด เพื่อให้แน่ใจว่าสารสกัดไม่ได้สลายในระหว่างขั้นตอนการสกัด (อรัญญา และคณะ, 2558; Hielscher, 2019) ส่วนในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 ไม่สามารถตรวจพบปริมาณแอนโทไซยานิน เมื่อการสกัดด้วยวิธีแบบดั้งเดิม และการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค เนื่องจากผลการวิเคราะห์นั้นจะพบแอนโทไซยานินเฉพาะในข้าวสีม่วง-ดำเท่านั้น ซึ่งจะไม่พบในพันธุ์ข้าวสีแดง และข้าวขาว (เฉลิม และคณะ, 2553) เมื่อเปรียบเทียบข้อมูลกับรายงานการวิจัยของ นพวรรณ และคณะ (2560) การศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 ข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวดอกข่า พบว่า มีแนวโน้มไปในทิศทางเดียวกัน คือ ข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด เนื่องจากมีสีแดงเข้ม รองมา คือ ข้าวไร่พันธุ์หอมดอกข่าให้สีแดง และน้อยสุดในข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 ให้สีเหลืองส้ม

การเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม และวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 พบว่าที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม และวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แสดงเป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 12.091 และ 40.197 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม และวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ แสดงเป็นค่า IC_{50} เท่ากับ 38.221 และ 69.793 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งพบว่าในข้าวกล้องทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่สกัดด้วยวิธีสกัดแบบดั้งเดิมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิค คิดเป็นร้อยละการลดลงของค่า IC_{50} ในข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 เท่ากับ 232.45 และ 83.60 ตามลำดับ เนื่องจาก

การใช้ความร้อนสูงในการสกัดอาจเกิดความเสียหายต่อคุณภาพของสารสกัดได้ (Porto & Decorti, 2009) จะเห็นได้จากงานวิจัยเรื่อง ผลของการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและโครงสร้างของ β-Lactoglobulin โดยใช้การออกแบบ Box-Behnken ซึ่งพบว่า ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เมื่ออุณหภูมิอัลตราโซนิคเปลี่ยนจาก 40 เป็น 50 องศาเซลเซียส แต่กลับลดลง เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส ทั้งนี้เป็นเพราะสารต้านอนุมูลอิสระมีแนวโน้มที่จะถูกทำให้เสียสภาพ เมื่ออุณหภูมิอัลตราโซนิคสูงเกินไป และปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงสุดที่เวลาสกัด 20 นาที แต่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระกลับลดลงเมื่อใช้เวลาในการสกัดนานกว่า 20 นาที ซึ่งการอัลตราโซนิคที่ใช้เวลานานเกินไปจะทำลายปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับผลของความร้อนที่ลดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Shuang, Cuin & Mingruo, 2018) ดังนั้นการใช้ความร้อนร่วมในการสกัดต้องคำนึงถึงสารสกัดที่ต้องการว่าอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัดส่งผลต่อสารที่ต้องการหรือไม่ จึงเป็นเหตุผลที่จะต้องเลือกอุณหภูมิให้เหมาะสมในการสกัดสารที่ต้องการ (ศิรินาถ, 2556) นอกจากนี้เวลาก็เป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่จะเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัด โดยเวลาที่ใช้จะขึ้นอยู่กับชนิดของตัวอย่างที่ใช้สกัด (Yaqinet et al., 2008)

การเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 พบว่า ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม และวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม เท่ากับ 149.98 และ 84.35 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด และด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม และวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเท่ากับ 71.94 และ 83.83 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด ซึ่งพบว่า ที่สกัดด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 77.81 และในส่วนของวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากกว่าวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมในสารสกัดข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 16.53 เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พื้นที่การปลูก รวมถึงสภาพภูมิประเทศ (อเนก และบุณยกฤต, 2560) ข้าวแต่ละสายพันธุ์มีส่วนประกอบภายในที่แตกต่างกัน เช่น ปริมาณแอมิโลส แอมิโลเพกติน ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดจะลดลงเมื่ออุณหภูมิในการสกัดสูงกว่า 100 องศาเซลเซียส และใช้เวลานานกว่า 15 นาที (รัตนา, กรรณิการ์ และธัญชนก, 2560) สอดคล้องกับการรายงานการสกัดสารโพลีฟีนอลจากเมล็ดองุ่น โดยใช้ความถี่ 20 กิโลเฮิร์ต กำลัง 150 วัตต์ ตัวแปรเวลา คือ 5 15 40 และ 60 นาที พบว่า การสกัดโฟลีฟีนอลเวลา 15 นาที มีปริมาณสารโพลีฟีนอลสูงสุด แต่เมื่อสกัดเป็นระยะเวลานานขึ้น (40 และ 60 นาที) มีแนวโน้มปริมาณโพลีฟีนอลลดลง

(Carla, Erica, & Deborha, 2012) นอกจากนี้ในรายงานผลการสกัดสารประกอบฟีนอลิกของสารสกัดรำข้าวจากพันธุ์ข้าวไทย พบว่า เวลาในการสกัด 60 นาที ให้สารสกัดที่มีสารประกอบฟีนอลิกสูง แต่สารประกอบฟีนอลิกในสารสกัดลดลงเมื่อใช้เวลาสกัด 90 นาที แสดงให้เห็นว่าผลของอุณหภูมิและเวลาในการสกัดนั้นสัมพันธ์กับชนิดและรูปแบบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของรำข้าว (Peanparkdee, Patrawart & Iwamoto, 2019)

จากที่กล่าวมาพบว่าวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคเป็นอีกวิธีหนึ่งที่นาสนใจ เนื่องจากมีประสิทธิภาพในการสกัดสารแอนโทไซยานินสูง ช่วยลดเวลาในการสกัด ใชตัวอย่างและตัวทำละลายในปริมาณน้อย สามารถนำไปประยุกต์ใช้กับอุตสาหกรรมอาหารได้ โดยนำสารสกัดไปเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหาร ซึ่งอาจจะอยู่ในรูปแบบผลิตภัณฑ์อาหารเสริมเพื่อสุขภาพ

สรุปผลการวิจัย

การวิเคราะห์หาปริมาณแอนโทไซยานิน สารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธีการสกัดแบบดั้งเดิม และวิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 พบว่า การตรวจหาปริมาณสารแอนโทไซยานินด้วยวิธี pH-differential พบว่า วิธีการสกัดด้วยคลื่นอัลตราโซนิคในสารสกัดข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด เท่ากับ 9.128 มิลลิกรัมต่อลิตร ในการตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่า วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 12.091 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร แตกต่างกับกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 ในการตรวจหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธี Folin–Ciocalteu colorimetric พบว่า วิธีการสกัดแบบดั้งเดิมในสารสกัดข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุด เท่ากับ 149.98 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด แตกต่างกับกลุ่มอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 0.05 การศึกษาครั้งนี้อาจช่วยในการพิจารณาเลือกเทคนิคในการสกัดสาร เพื่อจะให้ได้สารสำคัญ เช่น สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกรวม สารแอนโทไซยานิน และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่างๆ เพื่อใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์อาหารเสริมและผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพสามารถนำไปใช้ในการเป็นข้อมูลทางโภชนาการ

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ที่เอื้อเฟื้อสถานที่ในการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

กิตติพัฒน์ โสภิตธรรมคุณ, และปานทิพย์ รัตนศิลป์กัลชาญ. (2560). การสกัดและวิธีวัดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระในพืชสมุนไพร. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ, 3**(1), 86-94.

เฉลิม จันทร์สม, สกุล มูลคำ, วนิดา จันทร์สม, เอกสิทธิ์ สกุลคู, และกรณ์กาญจน์ ภมรประวัติธนะ. (2553). ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและองค์ประกอบทางเคมีของข้าวเหนียวก่ำพันธุ์พื้นเมือง. **ธรรมศาสตร์เวชสาร, 12**(2), 136-143.

ดวงกมล เรือนงาม. (2557). การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ. **วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง, 23**(2), 120-139.

นพวรรณ ชิราวัธน์, วิภาพร เกิดช่าง, สิบสองเมษา สามงามเขียว, และธิดารัตน์ พรหมมา. (2560). การศึกษาปริมาณแอนโทไซยานินในข้าวกล้องหอมดำสุโขทัย2 ข้าวกล้องหอมแดงสุโขทัย1 และข้าวดอกข่า. ใน **การประชุมทางวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 4** (น. 1031-1034) กำแพงเพชร: มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร.

พิชญอร ไหมสุทธิสกุล, และลดาวัลย์ ช่างชุบ. (2555). ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด แอนโธไซยานิน กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระ สีและสเปกตรัมในช่วงที่สามารถมองเห็นได้ของข้าวไทย 9 สายพันธุ์และความสัมพันธ์. ใน **การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 50** (น. 113-121) กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รัตนา ม่วงรัตน์, กรรณิการ์ เรือนหล้า, และธัญชนก กันทวงศ์. (2560). ปัจจัยที่มีผลต่อสารแอนโธไซยานินที่สกัดได้จากเมล็ดแห้งข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงด้วยเทคนิคการสกัดด้วยน้ำที่สภาวะต่ำกว่าจุดวิกฤติและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัด. **วารสารเกษตร, 33**(1), 141–151.

ราตรี พุฒิสาร, และประภาศรี ภูวเสถียร. (2536). **ข้าวกล้อง.** สืบค้น 13 พฤศจิกายน 2562, จาก https://www.doctor.or.th/article/detail/3525?fbclid

วโรทัย โกศลพิศิษฐ์กุล. (2551). **ปีทองของข้าวไทย.** สืบค้น 13 พฤศจิกายน 2562, จาก http://www2.fpo.go.th/S-I/Source/Article/Article79

วิลัดดา สินทร, วรัญญา จตุพรประเสริฐ, มาลิน จุลศิริ, และกนกวรรณ จารุกำจร. (2557). ศักยภาพการต้านอนุมูลอิสระในหลอดทดลองของข้าวสีพันธุ์ไทย. **วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน, 9** (ฉบับพิเศษ), 164.

ศิรินาถ เที่ยงธรรม. (2556). **การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากกากองุ่นแดงด้วยวิธีการช่วยสกัดด้วยอัลตร้าโซนิก.** (วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต), สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

อรัญญา พรหมกูล, วรัญญา วงศ์ไชยสิทธิ์, ไอรดา อักษ์เสน, และเกรียงไกร พัทยากร. (2558). การใช้คลื่นอัลตร้าโซนิคในการสกัดแอนโทไซยานินจากกากเม่า. **แก่นเกษตร, 43**(1), 830-835.

อเนก หาลี, และบุณยกฤต รัตนพันธ์. (2560). การศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด. **วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ, 40**(2), 283-293.

อารีรัตน์ ซื่อดี. (2560). การใช้คลื่นไมโครเวฟสกัดสารสำคัญจากพืชสมุนไพร. **วารสารวิชาการมหาวิทยาลัยอีสเทิร์นเอเชีย ฉบับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี, 11**(1), 1-14.

Carla, D.P., Erica, P., & Deborha, D. (2012). Comparison of ultrasound-assisted extraction with conventional extraction methods of oil and polyphenols from grape (*Vitis vinifera* L.) seeds. **Ultrasonics Sonochemistry, 20**(4), 1076-1080.

Hielscher ultrasonics gmbh. (2019). **เทคโนโลยีอัลตราซาวนด์ Hielscher.** สืบค้น 13 พฤศจิกายน 2562, จาก https://www.hielscher.com/th/ultrasonic-extraction-of-ayurvedic-herbs.htm

Peanparkdee, M., Patrawart, J., & Iwamoto, S. (2019). Effect of extraction conditions on phenolic content, anthocyanin content and antioxidant activity of bran extracts from Thai rice cultivars. **Journal of Cereal Science, 86**(1), 86-91.

Porto, C.D., & Decorti, D. (2009). Ultrasound-assisted extraction coupled with under vacuum distillation of flavor compounds from spearmint (carvone-rich) plants: Comparison with conventional hydrodistallation. **Ultrasonics Sonochemistry, 16**(1), 795-799.

Shao, Y., Xu, F., Sun, X., Bao, J., & Beta, T. (2014). Phenolic acids, anthocyanin, and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering. **Food Chemistry, 143**(1), 90-96.

Shuang Ma., Xu Yang., Cuin Wang., & Mingruo Guo. (2018). Effect of ultrasound treatment on antioxidant activity and structure of β-Lactoglobulin using the Box-Behnken design. **CyTA-Journal of Food, 16**(1), 596-606.

Tao, Y., Wu, D., Zhang, Q.A., & Sun, D.W. (2014). Ultrasound-assisted Extraction of Phenolics from Wine Lees: Modeling Optimization and Stability of Extracts during Storage. **Ultrasonics Sonochemistry, 21**(2), 706-715.

Valero, M., Recrosio, N., Saura, D., Martic, N., & Lizama, V. (2007). Effects of ultrasonic treatments in orange juice processing. **Journal of Food Engineering, 80**(1), 509-516.

Vitkhu, K., Mawson, R., Simons, L., & Bates, D. (2008). Applications and opportunities for ultrasound assisted extraction in the food industry – A review. **Innovative Food Science and Emerging Technologies, 9**(1), 161-169.

Yaqin, M., Xingqian, Ye., Yunbin,Hao., Guoneng, Xu., Guihua, Xu., & Donghong, Liu. (2008). Ultrasound-assisted extraction of hesperidin from Penggan (*Citrus reticulata*) peel. **Ultrasonics Sonochemistry, 15**(1), 227-232.