ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรำข้าวพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 จังหวัดบุรีรัมย์
The Antioxidant Activity of Rice Bran Extract of Khao Dawk Mali 105, Buriram Province

ชุลีกานต์ สายเนตร
Chuleekant Sainate
อาจารย์ประจำ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์
Chemistry Program, Faculty of Science, Buriram Rajabhat University
*Email: Chuleekarn.sn@bru.ac.th

Received : June 20, 2023
Revised : November 1, 2023
Accepted : December 11, 2023

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรำข้าวพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ประชากร คือ รำข้าวพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 กลุ่มตัวอย่าง คือ รำข้าวจากบ้านสวายจีก บ้านสนวนนอก อำเภอเมือง และบ้านโคกเมือง อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ โดยทำการศึกษาตัวทำละลายที่เหมาะสมในการสกัด ปริมาณสารโปลีฟีนอลรวม ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (DPPH) และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางคอมพิวเตอร์ (SPSS) พบว่าตัวทำละลายเมทานอลสามารถสกัดรำข้าวให้ระดับร้อยละผลผลิต (%yield) สูงที่สุดส่วนปริมาณสารโปลีฟีนอลรวมจะพบในสารสกัดรำข้าวจากบ้านสวายจีกมากที่สุด เท่ากับ 58.67 บ้านสนวนนอก เท่ากับ 39.70 และบ้านโคกเมือง เท่ากับ 32.70 mg GAE/g DW เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช(DPPH) โดยคิดเป็นร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%Inhibition) พบว่าบ้านสนวนนอก เท่ากับ 95.17% บ้านสวายจีก เท่ากับ 85.96% และบ้านโคกเมือง เท่ากับ 50.98% ค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) พบว่าบ้านสนวนนอก เท่ากับ 61.91 บ้านสวายจีก เท่ากับ 57.35 และบ้านโคกเมือง เท่ากับ 34.65 mg Vitamin C/g DW และเมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติ (One way analysis of variance : One way ANOVA) ของค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) พบว่าสารสกัดรำข้าวของ 3 ชุมชน มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

คำสำคัญ: ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ รำข้าว ข้าวขาวดอกมะลิ105 สารสกัดรำข้าว โปลีฟีนอล

ABSTRACT

The purpose of this research was to study the antioxidant activity of rice bran extracts from Khao Dawk Mali 105. The population under investigation was the rice bran of Khao Dawk Mali 105 in Buriram province. The samples were obtained from Ban Sawai Jeek, Ban Sa Nuan Nok, Muang District, and Ban Khok Muang, Pra Khon Chai District, Buriram Province. The research procedures were as follows: the selection of a suitable solvent for extraction, determination of the total polyphenol content, antioxidant activity using DPPH, and statistical analysis conducted using the SPSS computer program. It was observed that the highest percentage yield (%yield) was obtained from rice bran extracted with methanol solvent. The total polyphenol content varied among the rice bran extracts, with Ban Sawai Jeek at 58.67 mg GAE/g DW, Ban Sa Nuan Nok at 39.70 mg GAE/g DW, and Ban Khok Muang at 32.70 mg GAE/g DW. Assessing the antioxidant activity using DPPH as a percentage inhibition of free radicals (%Inhibition), Ban Sa Nuan Nok exhibited 95.17%, Ban Sawai Jeek showed 85.96%, and Ban Khok Muang displayed 50.98%. The DPPH antioxidant activity was quantified in terms of vitamin C equivalence (mg Vitamin C/g DW), with Ban Sa Nuan Nok at 61.91 mg Vitamin C/g DW, Ban Sawai Jeek at 57.35 mg Vitamin C/g DW, and Ban Khok Muang at 34.65 mg Vitamin C/g DW. Upon performing statistical analysis (One-way analysis of variance: One-way ANOVA) on the antioxidant activity values equivalent to vitamin C (mg Vitamin C/g DW), it was determined that the rice bran extracts from the three communities significantly differed at the 0.05 level.

Keywords: Antioxidant, Rice Bran, Khao Dawk Mali 105, Rice Bran Extract, Polyphenol

บทนำ

รำข้าว (Rice bran) คือ ส่วนที่ได้จากการขัดข้าวกล้องให้เป็นข้าวขาวหรือข้าวสารที่รับประทานในครัวเรือน ได้จากกระบวนการสีข้าว โดยส่วนใหญ่รำข้าวจะถูกนำใช้เป็นอาหารของสัตว์ (Saunders. R. M., 1990) แต่ในปัจจุบันรำข้าวถูกแปรรูปเพื่อเพิ่มมูลค่าเป็นน้ำมันรำข้าว มีรายงานว่าในรำข้าวประกอบด้วยไขมัน พบร้อยละ 12.45 โปรตีน พบร้อยละ 10.90 คาร์โบไฮเดรต พบร้อยละ

45.31 และไฟเบอร์ พบร้อยละ 13.51 ของน้ำหนัก (Anuchita Moongngarm, et al., 2012) นอกจากนี้ ยังพบสารกลุ่มโปลีฟีนอล ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินอี และแกมมาออริซานอล (γ-oryzanol) ในรำข้าวมากกว่าพืช ผัก ผลไม้ ถั่ว และผลไม้แห้งชนิดอื่น ๆ (Xianli Wu, et al., 2004) จากรายงานวิจัยของ Thunnop Laokuldilok, et al., (2011) ซึ่งได้ทำการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของรำข้าวหลากสี พบว่าในรำข้าวมีสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH แสดงให้เห็นว่าในรำข้าวมีสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติที่มีคุณค่าและจากงานวิจัยของ F. Arab, et al., 2011 ได้ทำการศึกษาสารสกัดจากรำข้าวในประเทศอิหร่าน 2 สายพันธุ์ คือ Fajr และ Tarem โดยใช้ตัวทำละลายที่แตกต่างกัน 3 ชนิด (เมทานอล เอทานอล และเอทิลอะซิเตต) เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว พบว่าส่วนประกอบเมทานอลของสารสกัดจากรำข้าวอาจเป็นสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ Saunders. R. M. (1990) และ Sible Irmak กับ Nurhan Turgut Dunford. (2005) ได้ยืนยันว่ารำข้าวและจมูกข้าวมีสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมนุษย์จริง ดังนั้นการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่เป็นสาระสำคัญจากรำข้าว เพื่อนำไปใช้ประโยชน์เป็นอาหารเสริมหรือใช้ทางด้านการแพทย์จึงเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าแก่รำข้าว (อัครเกียรติ พวงแสง และศุภกาญจน์ รัตนกร, 2563)

โปลีฟีนอล (Polyphenol) คือ สารพฤกษเคมี ที่มีคุณสมบัติช่วยต้านอนุมูลอิสระ ลดอาการอักเสบ และช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ โดยส่วนมากแล้วจะพบได้ในพืชผักผลไม้ เมื่อรับประทานแล้วยังมีสรรพคุณช่วยลดความเสี่ยงของโรคหัวใจ ป้องกันโรคมะเร็ง บำรุงสมอง ลดระดับน้ำตาลในเลือดและยังช่วยปรับสมดุลของระบบย่อยอาหาร วิธีการสกัดสารโปลีฟีนอลจาก รำข้าวมีหลายเทคนิค ดังนี้ (1) การแยกของไหลคาร์บอนไดออกไซด์วิกฤตยิ่งยวด (2) ก๊าซปิโตรเลียมเหลวอัด (3) การสกัดด้วยน้ำโดยใช้อัลตราซาวนด์ (4) เทคนิคการสกัดน้ำย่อยวิกฤต (5) การสกัดด้วยเอนไซม์อัลตราโซนิก (6) การสกัดด้วยไมโครเวฟ (7) คาร์บอนไดออกไซด์ใต้วิกฤต (8) เทคนิคการสกัดด้วยตัวทำละลาย (Umar Garba, et al., 2017)

เมล็ดข้าวหอมมะลิดินภูเขาไฟในจังหวัดบุรีรัมย์ พันธุ์ข้าวขาวดอกกมะลิ 105 และพันธุ์ กข 15 นั้นอุดมไปด้วยแร่ธาตุและสารอาหารที่เด่นชัดมากมายโดยเฉพาะแร่ธาตุฟอสฟอรัส (P) และแคลเซียม (Ca) ที่สูงมากกว่าข้าวที่เพาะปลูกในเขตอื่น ๆ จนได้ขึ้นชื่อว่าเป็น “ข้าวสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์” หรือ “ข้าวจีไอ (GI, Geographical Indication)” ที่มีเฉพาะในเขตจังหวัดบุรีรัมย์เท่านั้น (รุ่งเรือง งาหอม และคณะ, 2562) แต่โดยทั่วไปองค์ประกอบของเมล็ดข้าวไม่ได้มีเพียงเฉพาะส่วนที่เป็นข้าวขาวที่สามารถรับประทานได้เท่านั้น เพราะยังประกอบไปด้วยส่วนอื่นๆที่สำคัญที่อุดมไปด้วยสารอาหารที่มีประโยชน์และควรค่าต่อการพัฒนาส่งเสริมด้านการบริโภคในอนาคตได้ เช่น รำข้าว (Rice bran)

ดังนั้นงานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากตัวอย่างรำข้าวพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ด้วยวิธี DPPH จากกลุ่มตัวอย่างรำข้าว บ้านสวายจีก และบ้านสนวนนอก อำเภอเมือง และบ้านโคกเมือง อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ โดยใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด เนื่องจากทั้ง 3 ชุมชนนั้นจัดเป็นหมู่บ้าน OTOP ที่มีชื่อเสียงของจังหวัดบุรีรัมย์ เป็นแหล่งท่องเที่ยวที่ผู้คนนิยมเดินทางมาเยี่ยมชมอย่างไม่ขาดสาย จึงมีความสนใจคัดเลือกรำข้าวจากพื้นที่ดังกล่าวเพื่อส่งเสริมการแปรรูปผลิตภัณฑ์รำข้าวในอนาคต

วัตถุประสงค์การวิจัย

เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) ของสารสกัดจากรำข้าว

วิธีการดำเนินการวิจัย

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาต้านฤทธิ์อนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) ของสารสกัดจากรำข้าวพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 กลุ่มประชากร คือ รำข้าวพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ กลุ่มตัวอย่าง คือ รำข้าวจากบ้านสวายจีก บ้านสนวนนอก อำเภอเมือง และบ้านโคกเมือง อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ ทำการทดสอบและศึกษาเกี่ยวกับ ความชื้น ตัวทำละลายในการสกัด ปริมาณสารโปลีฟีนอลรวมและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) จากนั้นทำการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางคอมพิวเตอร์ (SPSS)

ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

กลุ่มประชากร คือ รำข้าวพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ กลุ่มตัวอย่าง คือ รำข้าวจากบ้านสวายจีก บ้านสนวนนอก อำเภอเมือง และบ้านโคกเมือง อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์

สารเคมีที่ใช้ในการทำวิจัย

เมทานอล (Methanol : CH_3OH, ยี่ห้อ Kemaus, บริษัท Elago Enterprise Pty Ltd, Cherrybrook, N.S.W. 2126, ประเทศ Australia) เอทานอล (Ethanol : C_2H_5OH, ยี่ห้อ QRec, ประเทศ New Zealand) เอทิล อะซิเตท (Ethyl acetate : $C_4H_8O_2$, ยี่ห้อ Sigma-Aldrich® Solutions, บริษัท Merck, Darmstadt, ประเทศ Germany) กรดแกลิก (Gallic acid monohydrate, $C_7H_6O_5 \bullet H_2O$, ยี่ห้อ SRL, ประเทศ India) โซเดียมคาร์บอเนต (Sodium Carbonate : Na_2CO_3, ยี่ห้อ SRL, ประเทศ India) สารโฟลิน (Folin-Ciocalteau reagent, ยี่ห้อSRL, ประเทศ India) กรด

แอสคอบิค (Ascorbic Acid : $C_6H_8O_6$, ยี่ห้อ SRL, ประเทศ India) สารดีพีพีเอช (DPPH) (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl, ยี่ห้อ SRL, ประเทศ India) และน้ำกลั่น (Distilled water)

การเก็บตัวอย่างรำข้าว

ทำการเก็บตัวอย่างรำข้าวแบบสุ่ม CRD (Completely Randomized Design) โดยซื้อรำข้าวพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 จากโรงสีประจำชุมชนบ้านสวายจีก บ้านสนวนนอก อำเภอเมือง และบ้านโคกเมือง อำเภอประโคนชัย จังหวัดบุรีรัมย์ ในเดือนเมษายน ของปี พ.ศ. 2565

การเตรียมตัวอย่างรำข้าว

นำตัวอย่างรำข้าวจากทั้ง 3 ชุมชน มาร่อนด้วยตะแกรงขนาด 70 µm จากนั้นจึงชั่งน้ำหนักรำข้าวประมาณ 100 กรัม อบในเตาไมโครเวฟที่อุณหภูมิ 120 ºC เป็นเวลา 3 นาที ปล่อยให้เย็นตัวลงในอุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 คืน ทำการเก็บตัวอย่างรำข้าวไว้ในถุงซิปล็อคและเก็บที่อุณหภูมิ 4 ºC เพื่อใช้สำหรับการวิเคราะห์ต่อไป (F. Arab, et al., 2011)

การหาความชื้นของรำข้าว

อบครูซิเบิลและฝาที่อุณหภูมิ 105 ºC เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เพื่อหาน้ำหนักที่แน่นอนของครูซิเบิล จากนั้นปล่อยให้เย็นตัวลงในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 15 นาที จึงชั่งน้ำหนักครูซิเบิล พร้อมจดน้ำหนักที่คงที่ไว้ (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) จากนั้นชั่งตัวอย่างรำข้าวจำนวน 2 กรัมลงในครูซิเบิลพร้อมบันทึกน้ำหนักที่แน่นอน (ทศนิยม 4 ตำแหน่ง) แล้วนำไปอบอุณหภูมิ 105 ºC เป็นเวลา 4-8 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 15 นาที จึงชั่งน้ำหนักครูซิเบิลอีกครั้งพร้อมจดน้ำหนักรวมครั้งที่ 1 จากนั้นนำตัวอย่างไปอบต่อที่อุณหภูมิ 105 ºC เป็นเวลา 30 นาทีแล้วนำออกมาทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 15 นาที จึงชั่งน้ำหนักครูซิเบิล พร้อมจดน้ำหนักที่คงที่ไว้ครั้งที่ 2 และในขั้นตอนสุดท้ายนำตัวอย่างไปอบต่อที่อุณหภูมิ 105 ºC เป็นเวลา 30 นาที นำออกมาทิ้งให้เย็นที่โถดูดความชื้นเป็นเวลา 15 นาที ชั่งน้ำหนักครูซิเบิล พร้อมจดน้ำหนักที่คงที่ไว้ ครั้งที่ 3 (กษมา ชารีโคตร, 2559) ทำการทดลองซ้ำจนครบทั้ง 3 ชุมชน

การสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

ในการทดลองนี้ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ 3 ชนิด คือ เมธานอล เอธานอล และเอทิลแอซิเตต โดยมีขั้นตอนดังนี้ ชั่งตัวอย่างรำข้าวทั้ง 3 ชุมชน อย่างละ 10 กรัม เติมตัวทำละลายอินทรีย์ที่ใช้ในการสกัดปริมาตร 40 มิลลิลิตร แล้วเขย่าต่อด้วยเครื่องอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่าเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 25 ºC กรองด้วยกระดาษกรองและระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบหมุนที่อุณหภูมิ 50 ºC และชั่งน้ำหนักสารสกัดที่ได้โดยทันที (F. Arab, et al., 2011) นำสารสกัดรำข้าวทั้ง 3 ชุมชน มาสกัดซ้ำอีก 2 ครั้ง โดยใช้ตัวละลายต่างชนิดกัน เพื่อเปรียบเทียบระดับของร้อยละผลผลิต (%Yield) ที่ทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่าง ๆ

การศึกษาปริมาณสารโปลีฟีนอลรวมของสารสกัดจากรำข้าว

(Bancha Yingngam, et al., 2014)

การเตรียมสารละลายโฟลิน-ซิโอแคลทู

เตรียมสารโฟลิน-ซิโอแคลทู ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร ทำการปิเปตสารละลายโฟลิน-ซิโอแคลทู ปริมาตร 10 มิลลิลิตรผสมกับน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต

ชั่ง Na_2CO_3 หนัก 7.5 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร

การเตรียมสารละลายกรดแกลลิกสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน

ชั่งกรดแกลลิก หนัก 0.025 กรัม ละลายในเอทานอล95% และปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร จะได้ความเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นทำการเจือจางด้วยเอทานอล95% ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 0 50 100 150 และ 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ระดับความเข้มข้นต่างๆปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2,500 ไมโครลิตร เติมสารละลายโฟลิน–ซิโอแคลทู ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 2,000 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที จึงนำสารละลายผสมที่ระดับความเข้มข้นต่างๆมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

การเตรียมสารละลายจากสารสกัดหยาบของรำข้าว

ชั่งตัวอย่างสารสกัดรำข้าวจาก 3 ชุมชน หนัก 0.025 กรัม ละลายในเอทานอล 95% และปรับปริมาตรให้เป็น 25 มิลลิลิตรในขวดวัดปริมาตร จะได้สารสกัดรำข้าวเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นเจือจางด้วยเอทานอล 95 % ให้มีความเข้มข้นเป็น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร แล้วจึงทำการ ปิเปตสารละลายที่ได้ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปริมาตร 2,500 ไมโครลิตร เติมสารละลายโฟลิน–ซิโอแคลทู ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 2,000 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 90 นาที เมื่อครบเวลากำหนดจึงนำสารละลายผสมมาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร นำค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้แปลผลเทียบกับกราฟมาตรฐานแกลลิก ทำการคำนวณหาปริมาณสารโปลีฟีนอลรวมของสารสกัดจากรำข้าว ตามสมการที่ 1

สมการที่ 1

$$\text{mg GAE /gDW} = \left[\frac{\text{OD765-0.00004}}{\text{slop}}\right]\frac{\text{dilution}\times\text{volume}}{1{,}000\times W}$$

w คือ น้ำหนักของสารสกัดรำข้าว (g)
Slope คือ ความชันที่ได้จากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก
Volume คือ ปริมาตรของสารสกัดทั้งหมด (ml)
Dilution คือ ค่าการเจือจางตัวอย่างก่อนนำวิเคราะห์
OD765 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่าง

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดรำข้าวด้วยวิธีดีพีพีเอช(DPPH)
(Bancha Yingngam, et al., 2014)

การเตรียมสารละลายดีพีพีเอช (DPPH)

ชั่งสารดีพีพีเอช หนัก 0.0039 กรัม ละลายในเอทานอล 95% แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

การสารละลายกรดแอสคอร์บิกสำหรับสร้างกราฟมาตรฐาน

ชั่งสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก หนัก 0.025 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นและปรับปริมาตรด้วยขวดวัดปริมาตรขนาด 25 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1,000 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นทำการเจือจาง 10 เท่าด้วยน้ำกลั่นจะได้ความเข้มข้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จึงทำการเจือจางต่อที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ 10 30 50 70 และ 90 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำการปิเปตสารละลายที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเติมสารละลายดีพีพีเอช ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ไว้ในที่มืดเป็นเวลา 40 นาที นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ทำการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่างร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอช (%Inhibition) กับความเข้มข้นของกรดแอสคอร์บิกที่ระดับต่าง ๆ

การเตรียมสารละลายตัวอย่างสารสกัดรำข้าว

ชั่งสารตัวอย่างรำข้าว 0.01 กรัมละลายด้วยเอทานอลแล้วแล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายตัวอย่าง 100 มิลลิกรัมต่อลิตร จากนั้นปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 3 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายดีพีพีเอชปริมาตร 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 40 นาที หลังจากนั้นนำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้เทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก เพื่อหาค่าความสามารถการต้านอนุมูลอิสระ ดีพีพีเอชในรูปของค่าร้อยละของการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (%Inhibition) ตามสมการที่ 2 และคำนวณค่ากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอชเมื่อเทียบสารสกัดรำข้าวให้อยู่ในรูปของกรดแอสคอร์บิก ตามสมการที่ 3

สมการที่ 2

$$\text{Inhibition (\%)} = \left[\frac{(A_0-(A_1-A_2))}{A_0}\right] \times 100$$

โดยที่ A_0 = ethanol 3 มิลลิลิตร + DPPH 1 มิลลิลิตร

A_1 = sample 3 มิลลิลิตร + DPPH 1 มิลลิลิตร

A_2 = sample 3 มิลลิลิตร + ethanol 1 มิลลิลิตร

สมการที่ 3

$$\text{mg Vitamin C/g DW} = \left[\frac{(\%\text{Inhibition} + C)}{\text{slope}}\right] \frac{\text{dilution x volume}}{1{,}000 \text{ x w}}$$

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

งานวิจัยนี้ได้ทำการเก็บตัวอย่างรำข้าวแบบ CRD และวิเคราะห์ค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) ของสารสกัดจากรำข้าวทั้ง 3 ชุมชน โดยนำข้อมูลที่ได้มาวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One way analysis of variance : One way ANOVA) ทำการประมวลผลด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางคอมพิวเตอร์ (SPSS) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05

ผลการวิจัย

ความชื้นของรำข้าว

เนื่องด้วยความชื้นในรำข้าวจะส่งผลต่อปริมาณสารอาหารต่างๆ ที่มีอยู่ในตัวอย่างรำข้าว เนื่องจากการเก็บรำข้าวไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน จะส่งผลให้รำข้าวเกิดกลิ่นเหม็นหืน (rancidity) เพราะเกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของไขมัน จึงสามารถป้องกันได้โดยใช้ความร้อนเพื่อยับยั้งเอนไซม์ไลเพสและการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทั้งนี้เพื่อรักษาองค์ประกอบกรดไขมันและปริมาณสารสำคัญ (ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย, 2553) ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงได้ทำการวิเคราะห์ความชื้นโดยวิธีการอบแห้งด้วยตู้อบ (air dry oven) เพื่อเตรียมพร้อมรำข้าวสำหรับการวิเคราะห์ในขั้นตอนถัดไปซึ่งให้ผลแสดงในตารางที่ 1

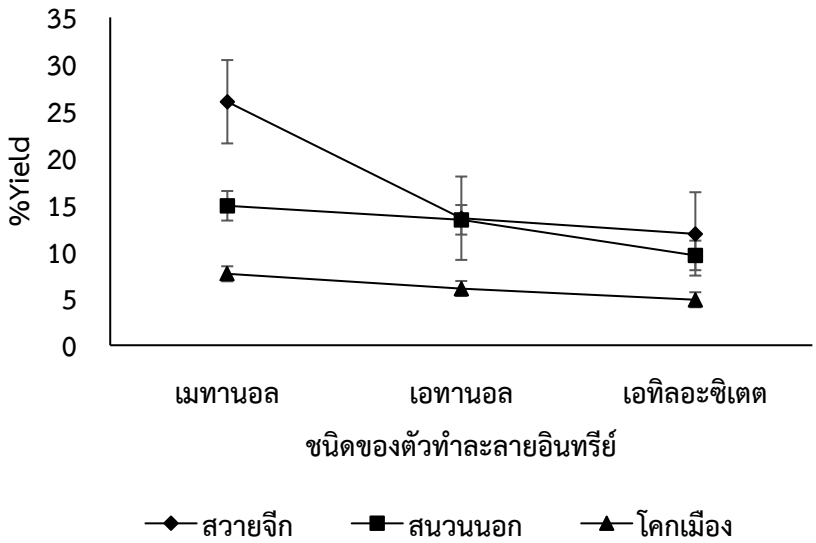
ตารางที่ 1 ค่าร้อยละความชื้นของรำข้าวทั้ง 3 ชุมชน

แหล่งที่มา	น้ำหนักตัวอย่าง(กรัม)	ค่าร้อยละ(%)ความชื้น
ชุมชนสวายจีก	2.0011	17.6736 ± 0.2653
ชุมชนสนวนนอก	2.0827	10.8657 ± 0.4258
ชุมชนโคกเมือง	2.0025	10.6866 ± 0.3436

จากผลการวิเคราะห์พบว่าค่าร้อยละ (%) หรือความชื้นรำข้าวบ้านสวายจีกจะมีระดับสูงที่สุด รองลงมาคือบ้านสนวนนอกและบ้านโคกเมือง แต่การที่จะทราบได้ว่าองค์ประกอบสารกลุ่มโปลีฟีนอลที่ออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจะสูญหายไปด้วยหรือไม่ในขณะที่อยู่ในตู้อบหรือในขณะที่ทิ้งไว้ในอุณหภูมิห้องก่อนทำการทดลองนั้น ยังไม่สามารถทราบได้จึงต้องทำการสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์และศึกษาหาปริมาณสารโปลีฟีนอลรวมรวมทั้งฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช ในขั้นตอนต่อไป

การสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

ตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมี 3 ชนิด คือ เมทานอล เอทานอล และเอทิลอะซิเตต ในขั้นตอนนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดของตัวทำละลายที่สามารถสกัดสารสำคัญในรำข้าวกลุ่มชนิดที่มีขั้วสูง ซึ่งอาจรวมถึงปริมาณของสารโปลีฟีนอลที่มีอยู่ในรำข้าวอีกด้วย จากการทดลองพบว่ารำข้าวจาก 3 ชุมชน ให้ระดับร้อยละของผลผลิต (%Yield) ของสารสกัดหยาบสูงเมื่อใช้ตัวทำละลายเมทานอล รองลงมา คือ เอทานอลและเอทิลอะซิเตต ตามลำดับ ดังแสดงในภาพประกอบ 1 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ F. Arab et.al., (2011) ที่ได้ศึกษาสารออกฤทธิ์และกลไกต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรำข้าวของประเทศอิหร่าน 2 สายพันธุ์ โดยใช้ตัวทำละลายทั้ง 3 ชนิดดังที่กล่าวมาข้างต้นและเห็นอย่างชัดเจนตรงกันว่าตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดเมทานอลจะให้ระดับร้อยละของผลผลิต (%Yield) ของสารสกัดหยาบมากที่สุดและตัวทำละลายอินทรีย์อื่น ๆ จะให้ผลรองลงมาตามลำดับเช่นกัน

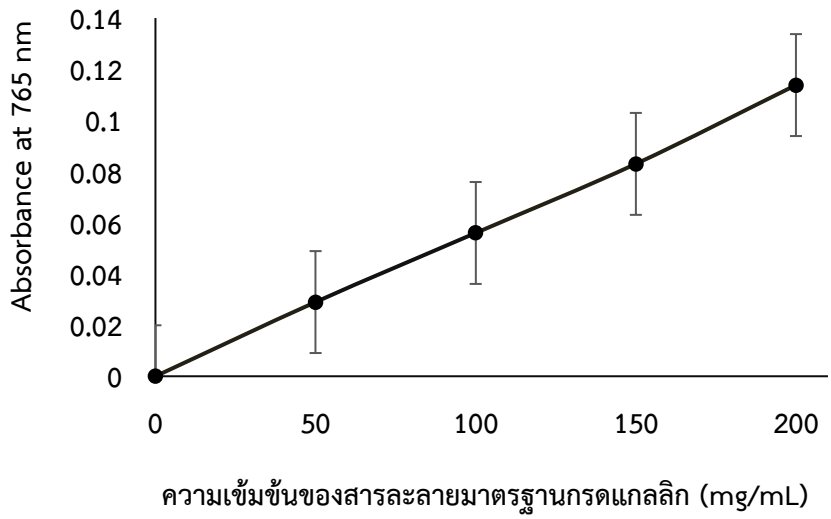


ภาพประกอบ 1 ระดับปริมาณของร้อยละผลผลิต (%Yield) ของสารสกัดหยาบจากรำข้าว ทั้ง 3 ชุมชนที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

ดังนั้นในขั้นตอนนี้จึงสามารถสรุปในเบื้องต้นได้ว่าสารสกัดที่ได้จากรำข้าวทั้ง 3 ชุมชนนั้นส่วนใหญ่คือสารที่มีขั้วสูงเนื่องจากสามารถละลายได้ดีในตัวทำละลายเมทานอล และสามารถเรียงลำดับร้อยละผลผลิต (%Yield) ของสารสกัดหยาบ จากมากไปน้อย ดังนี้ (1) สวายจีก (2) บ้านสนวนนอกและ (3) บ้านโคกเมือง แต่เนื่องด้วยวัตถุประสงค์หลักของงานวิจัยนี้คือสนใจที่จะศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (Bioactive compounds) กลุ่มกรดฟีนอลิก ซึ่งมีรายงานว่าในรำข้าวจะพบในปริมาณมากกว่าพืชผัก ผลไม้ ถั่ว และผลไม้แห้งชนิดอื่น ๆ (Xianli. Wu et al., 2004) จึงได้ทำการคัดเลือกสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายเมทานอลของรำข้าวทั้ง 3 ชุมชนศึกษาและทำการวิเคราะห์ต่อไป

การศึกษาปริมาณโปลีฟีนอลรวมของสารสกัดรำข้าว

สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐานกรดแกลลิกที่ระดับช่วงความเข้มข้น 0 50 100 150 และ 200 mg/L พบว่าให้ค่าสมการความเป็นเส้นตรง $y = 0.0006x + 0.00004$ มีค่าความชัน R^2 เท่ากับ 0.9995 แสดงดังภาพประกอบที่ 2 จากนั้นจึงแทนค่าลงในสมการที่ 1

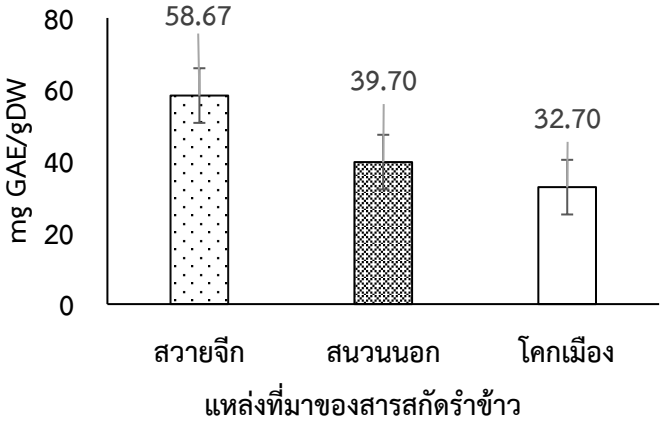


ภาพประกอบ 2 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกที่ระดับความเข้มข้น 0 50 100 150 และ 200 mg/L

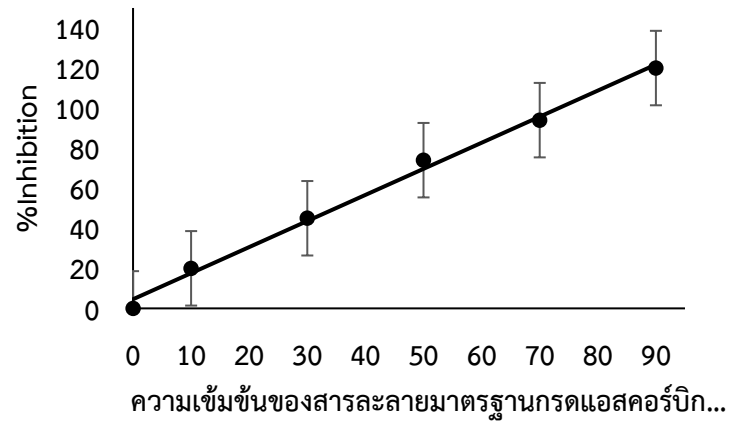
จากนั้นเมื่อทำการคำนวณหาค่าปริมาณสารโปลีฟีนอลรวมตามสมการที่ 1 โดยเทียบเท่าน้ำหนักกรดแกลลิก (mg GAE/g DW) ของสารสกัดรำข้าวจากตัวทำละลายเมทานอลทั้ง 3 ชุมชน ตามสมการที่ 1 พบว่าค่าปริมาณสารโปลีฟีนอลของบ้านสวายจีก บ้านสนวนนอกและบ้านโคกเมือง มีค่าเทียบเท่าน้ำหนักกรดแกลลิก (mg GAE/g DW) เท่ากับ 58.67 39.70 และ 32.70 แสดงดังภาพประกอบ 3 และให้ผลที่สอดคล้องกับระดับร้อยละผลผลิต (%Yield) ของสารสกัดหยาบในทิศทางเดียวกัน

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดรำข้าวด้วยวิธีดีพีพีเอช (DPPH)

สร้างกราฟมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิกที่ช่วงระดับความเข้มข้น 0 10 30 50 70 และ 90 mg/L พบว่าให้ค่าสมการความเป็นเส้นตรง $y = 1.3021x + 4.5756$ มีค่าความชัน R^2 เท่ากับ 0.9949 และคำนวณค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) %Inhibition ของสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ตามสมการที่ 2 แสดงดังภาพประกอบ 4

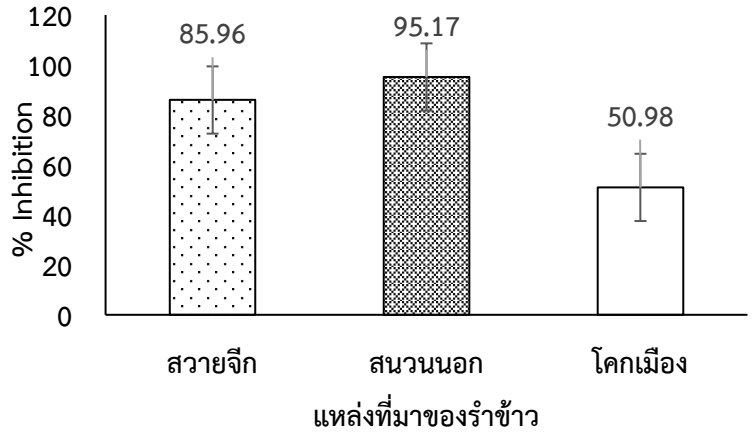


ภาพประกอบ 3 ปริมาณสารโปลีฟีนอลรวมโดยเทียบเท่าน้ำหนักกรดแกลลิกลิก (mg GAE/g DW) ต่อน้ำหนักแห้งของสารสกัดรำข้าว

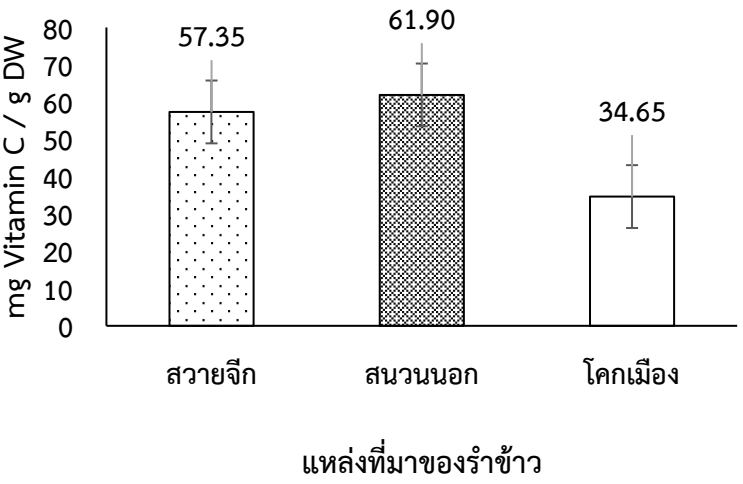


ภาพประกอบ 4 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแอสคอร์บิกที่ระดับความเข้มข้น 0 10 30 50 70 และ 90 mg/L

จากนั้นจึงคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) %Inhibition ของสารสกัดจากรำข้าวทั้ง 3 ชุมชน ตามสมการที่ 2 โดยเทียบกับกราฟมาตรฐาน พบว่าค่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) %Inhibition ของสารสกัดจากรำข้าวทั้ง 3 ชุมชน เรียงลำดับจากมากไปน้อยได้ดังนี้ บ้านสนวนนอก มีค่าเท่ากับ 95.17% บ้านสวายจีก มีค่าเท่ากับ 85.96% และบ้านโคกเมือง มีค่าเท่ากับ 50.98% แสดงดังภาพประกอบ 5



ภาพประกอบ 5 ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) หรือ %Inhibition ของสารสกัดจากรำข้าวทั้ง 3 แหล่ง



ภาพประกอบ 6 ค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) ของสารสกัดจากรำข้าวทั้ง 3 ชุมชน

และในขั้นตอนสุดท้ายจึงทำการคำนวณหาค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) ตามสมการที่ 3 พบว่าบ้านสวนนอกมีค่ามากที่สุด เท่ากับ 60.90 รองลงมาคือ บ้านสวายจีก เท่ากับ 57.35 และบ้านโคกเมือง เท่ากับ 34.65 ตามลำดับ แสดงดังภาพประกอบ 6

เมื่อสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) หรือ %Inhibition และค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) ของบ้านสวายจีกและบ้านสนวนนอกมีค่าที่ใกล้เคียงกันและแตกต่างจากบ้านโคกเมืองอย่างชัดเจน ดังนั้นเพื่อเป็นการพิสูจน์และยืนยันสมมติฐานดังกล่าวจึงได้ทำการทดสอบเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) ของสารสกัดจากรำข้าวทั้ง 3 ชุมชน โดยใช้สถิติ One Way ANOVA (F-test) ที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 ในขั้นตอนต่อไป

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One way analysis of variance : One way ANOVA) หรือใช้สถิติ F-test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางคอมพิวเตอร์ (SPSS) เพื่อเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) ของสารสกัดรำข้าวของบ้านสวายจีก บ้านสนวนนอกและบ้านโคกเมือง พบว่าให้ค่า sig. เท่ากับ 0.091 ซึ่งมากกว่าระดับนัยสำคัญ 0.05 ซึ่งหมายความว่าความแปรปรวนของกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่มเท่ากันไม่ฝ่าฝืนข้อตกลงเบื้องต้นของการใช้สถิติดังกล่าว จากนั้นจึงทำการเปรียบเทียบรายคู่ด้วยวิธีการของ Turkey เนื่องจากกลุ่มตัวอย่างแต่ละกลุ่มมีจำนวนเท่ากัน พบว่าค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) ของรำข้าวทั้ง 3 ชุมชน คือบ้านสวายจีก บ้านสนวนนอกและบ้านโคกเมืองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

อภิปรายผลการวิจัย

การสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มฟีนอลิกจากรำข้าวทั้ง 3 ชุมชน พบว่าเมทานอลสามารถสกัดรำข้าวให้ระดับของร้อยละผลผลิต(%Yield)สูงที่สุด (F. Arab et. al., 2011) จากนั้นจึงทำการศึกษาปริมาณของสารโปลีฟีนอลรวม พบว่าปริมาณของสารโปลีฟีนอลในสารสกัดจากรำข้าวบ้านสวายจีกมีมากที่สุด ตามมาด้วยบ้านสนวนนอกและบ้านโคกเมือง เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH) ของสารสกัดรำข้าวโดยคิดเป็นร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%Inhibition) พบว่าสามารถเรียงลำดับจากมากไปหาน้อยดังนี้ บ้านสนวนนอก บ้านสวายจีก และบ้านโคกเมือง และเมื่อคิดเป็นค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) พบว่าบ้านสนวนนอกมีค่าสูงที่สุด รองลงมาคือบ้านสวายจีกและบ้านโคกเมือง ซึ่งจากการสังเกตค่าการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%Inhibition) และค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) พบว่าบ้านสนวนนอกสูงกว่าบ้านสวายจีก แม้ว่าบ้านสวายจีก จะมีปริมาณรวมของสารโปลีฟีนอลสูงกว่านั้น อาจมีสาเหตุเนื่องจากในสารสกัดจากรำข้าวบ้านสนวนนอกสามารถยับยั้ง

อนุมูลอิสระชนิด DPPH แบบจำเพาะเจาะจงได้ดีกว่าสารสกัดจากรำข้าวบ้านสวายจีกและบ้านโคกเมือง สอดคล้องกับงานวิจัยของ เอนก หาลี และ บุณยกฤต รัตนพันธุ์, 2560 ที่ได้ทำการศึกษาประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระจากพืชผักสมุนไพรพื้นบ้าน 15 ชนิด ด้วยวิธี DPPH ABTS และ FRAP พบว่าปริมาณสารโปลีฟีนอลรวมของกระเจี๊ยบสูงกว่ามะตูม และเมื่อทำการทดสอบด้วยวิธี DPPH พบว่ากระเจี๊ยบจะออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงกว่ามะตูม และเมื่อทดสอบสารอนุมูลอิสระ ABTS กลับพบว่ามะตูมออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่ากระเจี๊ยบ ทั้งนี้เนื่องจากชนิดของอนุมูลอิสระมีมากมายหลากหลายชนิด ซึ่งการทดสอบประสิทธิภาพในการ ต้านอนุมูลอิสระแต่ละวิธีมีข้อแตกต่างกันในเรื่องของกลไกการทดสอบและกลุ่มของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีสมบัติที่แตกต่างกันทำให้มีผลการทดสอบประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระของสมุนไพรแต่ละวิธีมีผลการทดลองที่แตกต่างกันไป อีกทั้งสารประกอบฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของพืช พื้นที่การปลูก รวมถึงสภาพภูมิประเทศ

ในขั้นตอนสุดท้ายทำการวิเคราะห์ค่าทางสถิติ One way analysis of variance : One way ANOVA) หรือใช้สถิติ F-test ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูปทางคอมพิวเตอร์ (SPSS) พบว่าค่ากิจกรรมการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเทียบเท่าวิตามินซี (mg Vitamin C/g DW) ของรำข้าวทั้ง 3 ชุมชนคือ บ้านสวายจีก บ้านสนวนนอกและบ้านโคกเมืองแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่ารำข้าวมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพกลุ่มฟีนอลิกหรือสารโปลีฟีนอลที่สามารถนำมาพัฒนาทางด้านเภสัชวิทยาเพื่อทำเป็นยารักษาโรคหรือการพัฒนาทางด้านอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อใช้สำหรับเป็นอาหารเสริมในอนาคตได้

เอกสารอ้างอิง

กษมา ชารีโคตร. (2559). หลักการวิเคราะห์อาหาร. จาก http://portal5.udru.ac.th/ebook/pdf /upload/18A7jD007644B3RFF306.pdf.

ปฏิวิทย์ ลอยพิมาย. (2553). รำข้าว : การคงสภาพรำข้าว(Rice Bran: Rice Bran Stabilization). *ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์*, *10*(2), 78-83.

รุ่งเรือง งาหอม, จินดาพร สืบขำเพชร, ชลาวัล วรรณทอง, ชาติชาย ศรีษะนอก และเรวัชณ์ มัชฌิกะ (2562). *การศึกษาข้อมูลและกลไกเพื่อขึ้นทะเบียนสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์ข้าวหอมมะลิดินภูเขาไฟ*. กรุงเทพฯ: สำนักงานคณะกรรมการส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม (สกสว.).

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

อัครเกียรติ พวงแสง และศุภกาญจน์ รัตนกร. (2563). *การสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์*. จากhttps://app.gs.kku.ac.th/gs/th/publicationfile/item/21th-ngrc-2020/BMO6/BMO6.pdf

Moongngarm, A., Daomukda, N. & Khumpika, S. (2012). Chemical Compositions, Phytochemicals, and Antioxidant Capacity of Rice Bran, Rice Bran Layer, and Rice Germ. *APCBEE Procedia*, 2012(2), 73-79.

Yingngam, B., Monschein, M. & Brantner, A. (2014). Ultrasound-assisted extraction of phenolic compounds from Cratoxylum formosum ssp. formosum leaves using central composite design and evaluation of its protective ability against H2O2-induced cell death. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, *7*(1), S497-S505.

Arab, F., Alemzadeh, I. & Maghsoudi, V. (2011). Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract. *Scientia Iranica Transactions C: Chemistry and Chemical Engineering*, *18*(6), 1402-1406.

Saunders R. (1990). The properties of rice bran as a food stuff. *Cereal Food World 1990*, *35*(7), 633-662.

Irmak, S. & Dunford, N.T. (2005). Policosanol Contents and Compositions of Wheat Varieties. *J. Agric. Food Chem*, 2005(53), 5583-5586.

Laokuldilok, T., Shoemaker, C.F., Jongkaewwattana, S. & Tulyathan, V. (2011). Antioxidants and Antioxidant Activity of Several Pigmented Rice Brans. *J. Agric. Food Chem*, 2011(59), 193-199.

Garba, U.,Singanusong, R., Jiamyangyuen, S. & Thongsook, T. (2017). *Extraction and utilization of rice bran oil: A review*. จาก https://www.researchgate.net/publication/319354031.

Wu, X., Gu, L., Holden, J., Haytowitz, D.B., Gebhardt, S.E., Beecher, G. & Prior, R.L. (2004). Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2004(17), 407-422.