การสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอล ร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์

Extraction of Rice Bran Bioactive Compounds Using Hydrothermal Treatment with Ultrasonic-assisted Extraction

อัครเกียรติ พวงแสง (Akharagait Phaungseang)* ดร.ศุภกาญจน์ รัตนกร (Dr.Supakan Rattanakon)**

บทคัดย่อ

รำข้าวเป็นส่วนประกอบของเมล็ดข้าวที่ถูกขัดออกระหว่างกระบวนการขัดสี มักถูกนำไปเป็นอาหารสัตว์ แต่อย่างไรก็ตามพบว่าในรำข้าวมีสารที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และยับยั้งโรคมะเร็ง เนื่องจากในรำข้าวอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ชีวภาพ โดยเฉพาะในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก งานวิจัยนี้จึงสนใจเพิ่มมูลค่าให้รำข้าวด้วยการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลด้วยหม้อนึ่งแรงดันแก่รำข้าวและใช้คลื่นอัลตราซาวด์ในการช่วยสกัด นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัด ซึ่งใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล และเอทิลอะซิเตท จากนั้นสารสกัดจะถูกประเมินคุณสมบัติทางเคมีโดยการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธีโฟลิน-ซิโอคาตู และทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช โดยพบว่าสารสกัดที่ผ่านการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์และใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย มีปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพสูงที่สุด โดยมีประมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด 3.21 mg GAE/g และมีค่า EC_{50} ต่ำสุดอยู่ที่ 0.53 mg/mL เมื่อเทียบกับการใช้คลื่นอัลตราโซนิกหรือการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลเพียงอย่างเดียว ดังนั้นการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ จึงเป็นอีกวิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวที่มีประสิทธิภาพ

ABSTRACT

Rice bran is by-products from milling process, normally used for animal feed products. However, rice bran has been found to has antioxidant and anti-carcinogenic property. These properties of rice bran are due to bioactive compounds, especially, phenolic compounds. Therefore, this study aim is to increase value added of rice bran by using hydrothermal treatment with ultrasonic-assisted extraction. Moreover, the efficiency of the extraction by using 2 different organic solvents which were ethanol and ethyl acetate were compared. Subsequently, the extracts were evaluated chemical properties by Folin-ciocaltue assay and DPPH radical scavenging activities. The result showed that the extraction using hydrothermal treatment with ultrasonic-assisted and using ethanol as solvent had the highest content of bioactive compounds. The phenolic content was 3.21 mg GAE/g and the efficiency to inhibit DPPH radical EC_{50} was 0.53 mg/mL. Thus, the extraction using hydrothermal treatment with ultrasonic-assisted is the one of effective technique for extract rice bran bioactive compounds.

คำสำคัญ: สารออกฤทธิ์ชีวภาพ การให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอล การใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด

Keywords: Bioactive compound, Hydrothermal treatment, Ultrasonic-assisted extraction

** นิสิต หลักสูตรการศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

*** อาจารย์ สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ*

บทนำ

รำข้าว (rice bran) คือเยื่อหุ้มของผิวข้าวที่ถูกขัดออกระหว่างกระบวนการขัดสี เป็นผลพลอยได้ที่มักนำไปผลิตเป็นอาหารสัตว์และถูกนำไปเพิ่มมูลค่าทางเศรษฐกิจด้วยการนำไปผลิตเป็นน้ำมันบริโภค ซึ่งรำข้าวประกอบไปด้วยสารอาหารที่มีคุณประโยชน์ต่อร่างกาย ได้แก่ ไขมันร้อยละ 12.45 โปรตีนร้อยละ 10.90 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 45.31 และไฟเบอร์ร้อยละ 13.51 ของน้ำหนักรำข้าว (Moongngarm et al., 2012; Saunders, 1990; Suble, Nerhan, 2005; Laokuldilok, 2011) นอกจากนี้ในรำข้าวยังพบสารออกฤทธิ์ชีวภาพ (bioactive compounds) ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินอี และแกมมาออริซานอล (γ-oryzanol) ในปริมาณมากกว่าพืชผัก ผลไม้ ถั่ว และผลไม้แห้งชนิดอื่นๆ (Wu et al., 2004) ดังนั้นการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวเพื่อนำไปใช้ประโยชน์เป็นอาหารเสริมหรือใช้ทางด้านการแพทย์จึงเป็นการช่วยเพิ่มมูลค่าแก่รำข้าว

โดยทั่วไปกระบวนการสกัดเพื่อให้ได้มาซึ่งสารออกฤทธิ์ชีวภาพในรำข้าวมีด้วยกันหลายวิธี เช่น การสกัดโดยใช้ตัวทำละลาย (conventional solvent extraction) การสกัดแบบซอกเลท (soxhlet extraction) และการสกัดโดยใช้ของไหลยิ่งยวด (supercritical fluid extraction) เป็นต้น (Dunford, & King , 2000; Imsanguan et al., 2008; Wongwaiwech et al., 2019) แต่อย่างไรก็ตามวิธีที่นิยมใช้ในการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวคือการใช้ตัวทำละลายในการสกัดแบบดั้งเดิมเพราะเป็นวิธีที่ง่าย ไม่ยุ่งยาก แต่ข้อจำกัดของวิธีดังกล่าวคือร้อยละผลได้ของการสกัดน้อยเมื่อเทียบกับปริมาณของตัวทำละลายที่ใช้และใช้เวลานานในการสกัด นอกจากนี้ปริมาณของสารออกฤทธิ์ชีวภาพแต่ละชนิดที่ถูกสกัดออกมาขึ้นอยู่กับชนิดของตัวทำละลาย เพื่อช่วยลดข้อจำกัดที่ได้กล่าวมาข้างต้นจึงมีการศึกษาเกี่ยวกับการใช้ความร้อนในการช่วยสกัด (thermal treatment) โดยการให้ความร้อนแก่รำข้าว เช่น การอบด้วยลมร้อน การนึ่ง การอบด้วยหม้อนึ่งความดัน การให้ความร้อนแบบโอมมิง และการให้ความร้อนด้วยคลื่นไมโครเวฟ พบว่าสามารถเพิ่มร้อยละผลได้จากการสกัด และเพิ่มปริมาณของสารออกฤทธิ์ชีวภาพ (Min et al., 2014; Nair et al., 2014; Ozkaya et al., 2017; Ruen-ngam et al., 2016; Tabaraki et al., 2011) นอกจากนี้การให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลด้วยการใช้หม้อนึ่งความดัน (autoclave) เป็นการใช้ไอน้ำร้อนอุณหภูมิสูงเป็นตัวพาสารออกฤทธิ์ชีวภาพออกจากรำข้าว และไอน้ำที่มีความดันสูงยังช่วยทำให้ผนังเซลล์และเยื่อหุ้มเซลล์ของรำขาวแตกออกก่อนนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ จากการศึกษาพบว่าปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระชนิดละลายได้ในไขมันมีปริมาณมากกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยวิธีการใช้ตัวทำละลายแบบดั้งเดิม (Min et al., 2014) และยังมีรายงานว่าการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ร่วมกับการสกัดด้วยตัวทำละลายแบบดั้งเดิม สามารถเพิ่มปริมาณของสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าว ดังนั้นการให้ความร้อนแก่รำข้าวแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่น อัลตราซาวด์จะช่วยเพิ่มปริมาณของสารออกฤทธิ์ชีวภาพเมื่อเทียบกับการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว

วัตถุประสงค์การวิจัย

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแก่รำข้าวแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์

วิธีการวิจัย

วัตถุดิบ

รำข้าวพันธุ์ดอกมะลิ 105 (กข 105) ที่ได้จากโรงสีประจำตำบลนาใหญ่ อำเภอสุวรรณภูมิ จังหวัดร้อยเอ็ดจะถูกนำมาเตรียมเพื่อจัดเก็บตามวิธีของ Peanparkdee et al. (2017) รำข้าวจะถูกนำไปกรองด้วยตะแกรงเพื่อแยกรำข้าวละเอียดออกจากเมล็ดข้าว แกลบ และแมลงจำพวกมอด แล้วจึงเก็บรำข้าวละเอียดที่ถูกกรองในถุงซิบล็อคชนิดโพลิเอทิลีนในตู้เย็นภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

สารเคมี

ใช้ตัวทำละลายเอทานอลบริสุทธิ์ ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตท โซเดียมคาร์บอนเนท และสารผสมโฟลิน-ซโอคาตูจากบริษัท CARLO ERBA ใช้สารมาตรฐานแกลิกชนิดผงจากบริษัท ACROS ORGANIC และใช้อนุมูลอิสระดีพีพีเอช (1,1-diphenyl–2–picrylhydrazyl; DPPH) ชนิดผงจากบริษัท ALORICH

วิธีการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพ

ในการทดลองจะแบ่งวิธีการสกัดออกเป็น 4 แบบ ได้แก่

- การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว ไม่มีการให้ความร้อนระหว่างสกัด (ควบคุม)
- การสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์เพียงอย่างเดียว
- การสกัดโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลเพียงอย่างเดียว
- การสกัดโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใชคลื่นอัลตราซาวด์

ซึ่งวิธีการสกัดในแต่ละแบบจะใช้ตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ เอทานอล และเอทิลอะซิเตท โดยในแต่ละวิธก ารสกัดทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

การสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลืนอัลตราซาวด์ช่วยสกัด

ก่อนที่รำข้าวจะถูกนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ รำข้าวจะถูกนำไปให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลด้วยหม้อนึ่งความดันตามวิธีของ Min et al. (2014) โดยมีการปรับเปลี่ยนเพื่อความเหมาะสม ซึ่งจะใช้รำข้าวน้ำหนัก 10 กรัม ผสม น้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร จากนั้นจึงใช้หม้อนึ่งความดัน (ยี่ห้อ ZEALWAY รุ่น GI54TW) ในการให้ความร้อน ที่ภายใต้อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลาทั้งสิ้น 20 นาที จากนั้นจึงนำรำข้าวที่ผ่านการ ให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลมาอบในเตาอบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เพื่อให้ความชื้นในรำ ข้าวที่ผ่านการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลเท่ากับรำข้าวที่ไม่ถูกให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอล

เติมตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เอทานอล และเอทิลอะซิเตท ลงในรำข้าวที่ผ่านการให้ความร้อนในรูปแบบต่างๆ เพื่อ เปรียบเทียบประสิทธิภาพของตัวทำละลายในการสกัด จากนั้นจึงใช้อ่างอัลตราโซนิกในการสกัดตามวิธีของ Peanparkdee et al. (2017) ซึ่งปรับเปลี่ยนเพื่อความเหมาะสม โดยอ่างอัลตราโซนิก (ยี่ห้อ GT SONIC รุ่น D13) ที่มีความถี่ 40 กิโลเฮิร์ซ ใช้ เวลาในการสกัด 1 ชั่วโมง ภายใต้อุณหภูมิ 45 องศาสเซลเซียส จากนั้นจึงกรองสารสกัดเพื่อแยกตัวทำละลายอินทรีย์ออกจากรำ ข้าว แล้วจึงใช้เครื่องกลั่นระเหยแบบหมุนภายใต้สุญญากาศในการกำจัดตัวทำละลายอินทรีย์ออกจากสารสกัด แล้วจากนั้นจึง เก็บสารสกัดที่มีลักษณะเป็นน้ำมันในขวดแก้วภายใต้อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ก่อนนำสารสกัดไปทำการวิเคราะห์ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิก และทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

การทดสอบคุณสมบัติทางเคมี

- **การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก**

ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจะถูกวิเคราะห์โดยใช้การทดสอบโฟลิน-ซิโอคาตูตามวิธีการทดลองของ Ainsworth et al. (2007) โดยการเตรียมสารสกัดจากรำข้าวละลายในเอทานอล เข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารผสมโฟลิน-ซิโอคาตู 200 ไมโครลิตร แล้วเขย่าเป็นเวลาประมาณ 3 นาที แล้วจึงผสมกับสารละลายโซเดียมคาร์บอเนทเข้มข้นร้อยละ 7.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาตร 800 ไมโครลิตร เขย่าแล้วเก็บในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที ก่อนนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปคโตรโฟโตมิเตอร์ (บริษัท MAPADA รุ่น UV-1200 Spectrophotometer)

- **การทดสอบการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช**

สารสกัดจากรำข้าวจะถูกนำมาวัดการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช แล้วหาค่าอีซี 50 (EC_{50}) เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิ์ภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชตามวิธีของ Chen et al. (2013) ซึ่งทำการปรับเปลี่ยนเพื่อความเหมาะสม โดยทำการเตรียมสารสกัดจากรำข้าวในตัวทำละลายเอทานอลใน 96-เวลเพลท ช่วงความเข้มข้น 20 10 5 2.5 1.25 0.625 0.3125 และ 0.15625 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 100 ไมโครลิตร ผสมกับสารละลายดีพีพีเอชเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องอ่านไมโครเพลทเชิงแสง (บริษัท Thermo รุ่น 355 Multiskan EX) จากนั้นจึงใช้สมการด้านล่างในการประเมินร้อยละในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

$$\text{ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช} = \left[1 - \left(\frac{A_{sample} - A_{blank}}{A_{blank}}\right)\right] \times 100$$

ร้อยละการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชจะถูกนำไปสร้างเป็นกราฟเพื่อนำไปคำนวณค่าความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพการยับยั้งอนุมูลอิสระร้อยละ 50 (EC_{50}) ด้วยโปรแกรม Graphpad Prism8

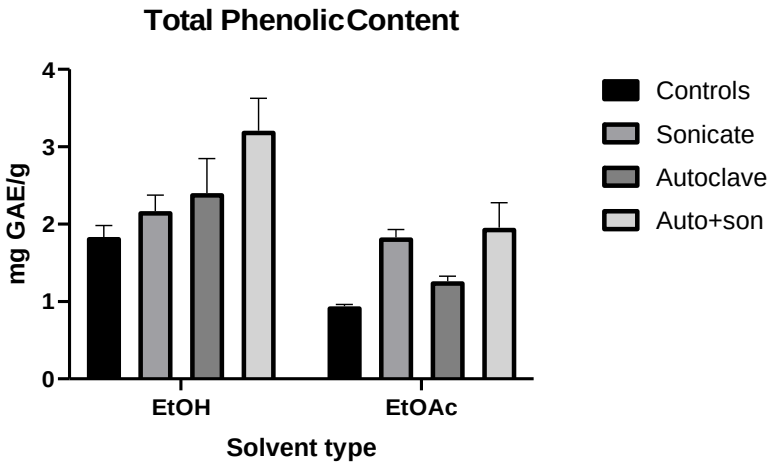
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ในการขั้นตอนของการสกัดจะทำการสกัด 3 ซ้ำต่อการทดลอง แล้วใช้โปรแกรม Graphpad Prism8 ในการวิเคราะห์ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและคำนวนค่า EC_{50} โดยปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจะใช้การวิเคราะห์แบบ two-way ANOVA และการคำนวนค่า EC_{50} จะใช้ฟังก์ชันการวิเคราะห์ [Agonist] vs. normalized response – Variable slope

ผลการวิจัย

ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก

จากการวัดปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกด้วยทดสอบโฟลน-ซิโอคาตูพบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกเป็นไปดังรูปที่ 1 และจากการวิเคราะห์ผลแบบ two-way ANOVA พบว่าปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลเปรียบเทียบกับการใช้เอทิลอะซิเตทในการสกัดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.0001$) และการให้ความร้อนแบบต่างๆ ทำให้ได้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.0001$) โดยพบว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะสูงที่สุดจากการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย ซึ่งสามารถสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกได้ 3.21 ± 0.42 mg GAE/g



รูปที่ 1 ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจากการทดสอบโฟลิน-ซิโอคาตู จากการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วย two-way ANOVA พบว่าการให้ความร้อนแบบต่างๆ (*p<0.0001*****) การใช้ตัวทำละลาย (*p<0.0001*****) และความสัมพันธ์ระหว่างการให้ความร้อนและชนิดของตัวทำละลาย (*p=0.039**) จะให้ปริมาณสารปะกอบฟีนอลิกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

ฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอช

ประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชจะใช้ค่าความเข้มข้นที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชร้อยละ 50 (EC_{50}) จากตารางที่ 1 พบว่าสารสกัดที่ใช้ตัวทำละลายเอทานอลในการสกัด ร่วมกับการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลและใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัด มีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชมากที่สุดโดยใช้ความเข้มข้นเพียง 0.53 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในการส่งผลยับยั้งได้ร้อยละ 50

ตารางที่ 1 ค่าความเข้มข้นที่สารสกัดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชร้อยละ 50 ของสารสกัดแต่ละชนิด

ตัวทำลาย	วิธีการสกัด	EC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
เอทานอล	ควบคุม	1.01
	ใช้คลื่นอัลตราซาวด์	0.84
	ให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอล	0.71
	ไฮโดรเทอร์มอลและคลื่นอัลตราซาวด์	0.53
เอทิลอะซิเตท	ควบคุม	1.25
	ใช้คลื่นอัลตราซาวด์	0.99
	ให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอล	1.05
	ไฮโดรเทอร์มอลและคลื่นอัลตราซาวด์	0.87

อภิปรายผลการทดลอง

ปริมาณสารออกฤทธิ์ชีวภาพประเภทสารประกอบฟีนอลิกจะถูกทดสอบด้วยวิธีโฟลิน-ซิโอคาตู ซึ่งจากการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกผลการทดลองเป็นดังรูปที่ 1 การให้ความร้อนแบบเดียวกัน โดยใช้ตัวทำละลายในการ สกัดต่างชนิดกัน ตัวทำละลายเอทานอลสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ในปริมาณที่สูงกว่าการใช้ตัวทำละลาย เอทิลอะซิเตท ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Su et al. (2014) ที่ศึกษาการสกัดสารประกอบ ฟีนอลิกจากพืชโดยใช้เนื้อ ลิ้นจี่โดยการใช้ตัวทำละลายชนิดต่างๆ พบว่าการใช้ตัวทำละลายเอทานอลร้อยละ 80 สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกได้ ในปริมาณที่สูงกว่าเมื่อเทียบกับการใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตตร้อยละ 80 เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกเป็น สารประกอบที่มีขั้วสูง จึงเกิดอันตรกิริยากับตัวทำละลายเอทานอลที่มีขั้วได้มากกว่าการใช้ตัวทำละลายเอทิลอะซิเตต

นอกจากนี้จากการศึกษาเกี่ยวกับการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลแก่รำข้าวยังพบว่าการให้ความร้อนแก่รำข้าวยังช่วยเพิ่มปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกที่สูงขึ้นเมื่อเทียบกับการสกัดโดยใช้ตัวทำละลายเพียงอย่างเดียว อีกทั้งการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลด้วยหม้อนึ่งความดันร่วมกับการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ยังให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่า เมื่อเทียบกับการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลหรือการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ด้วยตัวทำละลายเดียวกันเพียงอย่างเดียว และค่าความเข้มข้นที่มีประสิทธิ์ภาพในการยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชร้อยละ 50 (EC_{50}) ของสารสกัดจากการวัดฤทธิ์การยับยั้งอนุมูลอิสระดีพีพีเอชยังสอดคล้องกับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกภายใต้การให้ความร้อนและตัวทำละลายเดียวกัน โดยสารสกัดจากรำข้าวที่มีปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุดจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระดีพีพีเอชสูงทีสุดโดยจะมีค่า EC_{50} ต่ำสุด ซึ่งสารสกัดทีมีค่า EC_{50} ต่ำสุดคือสารสกัดทีผ่านการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์ โดยใช้ตัวทำละลายเอทานอล จากผลการทดลองในการศึกษาครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Tabaraki, Nateghi (2011) กล่าวว่าคลื่นอัลตราซาวด์มีผลในการสร้างฟองอากาศขนาดจุลภาค (micro bubble) เมื่อฟองอากาศขนาดจุลภาคเหล่านี้สัมผัสกับผิวของวัตถุดิบที่ถูกสกัดจะทำให้ผนังเซลล์แตกออกและปลดปล่อยสารที่อยู่ภายใต้ผิววัตถุดิบของพืชออกสู่ตัวทำละลาย และนอกจากนั้นในขั้นตอนของการสกัดด้วยตัวทำละลายโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ยังเป็นอีกขั้นตอนทีส่งเสริมให้การสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพมีปริมาณที่สูงขึ้น โดยในการศึกษาของ Min et al. (2014) พบว่าการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลแก่รำข้าวก่อนการสกัดช่วยทำให้ผนังเซลล์ของรำข้าวถูกทำลาย และยังนำพาสารที่มีขั้วสูงออกจากรำข้าวโดยใช้ไอน้ำ จึงทำให้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น นอกจากนี้ในการศึกษางานวิจัยของ Butsat, Siriamornpun (2010) พบว่าสารสกัดจากรำข้าวพันธ์ดอกมะลิ 105 ที่ถูกสกัดด้วยตัวทำละลายผสมน้ำต่อเมทานอลอัตราส่วน 1:10 ได้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกในช่วง 2.5-2.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งการสกัดด้วยวิธีดังกล่าวเป็นการใช้ตัวทำละลายเพียงอย่างเดียวและใช้เวลาในการสกัดสูงถึง 16 ชั่วโมง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยนี้พบว่าการให้ความรอนแบบไฮโดรเทอร์มอลและการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สามารถลดเวลาที่ใช้ในการสกัด และให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าการใช้ตัวทำละลายน้ำต่อเมทานอลอัตราส่วน 1:10 เพียงอย่างเดียว

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาครั้งนี้พบว่าการใช้ตัวทำละลายเอทานอลเป็นตัวทำละลายที่มีความเหมาะสมในการสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพประเภทสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าการใช้ตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ เพราะเอทานอลสามารถเกิดอันตรกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกได้มากกว่าตัวทำละลายขั้วต่ำ และนอกจากนี้การให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลแก่รำข้าว ยังสามารถนำไปใช้ร่วมกับการสกัดโดยใช้คลื่นอัลตราซาวด์ช่วยสกัดได้อีกด้วย ดังนั้นจากการศึกษาจึงมีข้อสรุปได้ว่าการให้

ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์สามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดโดยได้ปริมาณของสารออกฤทธิ์ชีวภาพที่เพิ่มขึ้นจากรำข้าว

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช.) สำหรับเงินทุนสนับสนุนนักวิจัยใหม่ วท.ประจำปี 2560 (FDA-CO-2561-6440-TH) เป็นอย่างสูง และตลอดจนผู้เอื้อเฟื้อห้องปฏิบัติการ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

เอกสารอ้างอิง

Ainsworth E, Gillespie K. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. Nature Protocols 2007; 2: 875.

Butsat S, Siriamornpun S. Antioxidant capacities and phenolic compounds of the husk, bran and endosperm of Thai rice. Food Chemistry 2010; 199(2): 606-613.

Chen Z, Bertin R, Froldi G. EC50 estimation of antioxidant activity in DPPH assay using several statistical programs. Food Chemistry 2013; 138(1): 414-420.

Dunford N, King J. Phytosterol Enrichment of Rice Bran Oil by a Supercritical Carbon Dioxide Fractionation Technique. Journal of Food Science 2000; 65(8): 1395-1399.

Imsanguan P, Roaysubtawee A, Borirak R. Pongamphai S, Douglas S, Douglas P. Extraction of α-tocopherol and γ-oryzanol from rice bran. LWT - Food Science and Technology 2008; 41(8): 1417-1424.

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

Min B, McClung A, Chen M. Effects of hydrothermal processes on antioxidants in brown, purple and red bran whole grain rice (Oryza sativa L.). Food Chemistry 2014; 159: 106-115.

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

Nair G, Divya V, Prasannan L, Habeeba V, Prince M, Raghavan G. Ohmic heating as a pre-treatment in solvent extraction of rice bran. Journal of Food Science and Technology 2014; 51(10): 2692-2698.

Özkaya B, Turksoy S, Özkaya H, Duman B. Dephytinization of wheat and rice brans by hydrothermal autoclaving process and the evaluation of consequences for dietary fiber content, antioxidant activity and phenolics. Innovative Food Science & Emerging Technologies 2017; 39: 209-215.

Peanparkdee M, Iwamoto S, Yamauchi R. Preparation and Release Behavior of Gelatin-Based Capsules of Antioxidants from Ethanolic Extracts of Thai Riceberry Bran. Food and Bioprocess Technology 2017; 10(9): 1737-1748.

Ruen-ngam D, Thawai C, Sukonthamut S. Pretreatment to increase yield and antioxidant activity of γ-oryzanol in rice bran oil. ScienceAsia 2016; 42: 75-82.

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

Su D, Zhang R, Hou F, Zhang M, Guo J, Huang F, Wei Z. Comparison of the free and bound phenolic profiles and cellular antioxidant activities of litchi pulp extracts from different solvents. BMC Complementary and Alternative Medicine 2014; 14(1): 9.

Suble I, Nerhan D. Policosanol content and composition of wheat varieties. J. Agric. Food Chem 2005; 53: 5583-5586.

Tabaraki R, Nateghi A. Optimization of ultrasonic-assisted extraction of natural antioxidants from rice bran using response surface methodology. Ultrasonics Sonochemistry 2011; 18(6): 1279-1286.

Wongwaiwech D, Weerawatanakorn M, Tharatha S, Ho CT. Comparative study on amount of nutraceuticals in by-products from solvent and cold pressing methods of rice bran oil processing. Journal of Food and Drug Analysis 2019; 27(1): 71-82.

Wu X, Gu L, Holden J, Haytowitz D, Gebhardt S, Beecher G, Prior R. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: a preliminary study. Journal of Food Composition and Analysis 2004; 17(3): 407-422.