การพัฒนาสารสกัดมาตรฐานจากเศษข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105 เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Development of Standardized Jasmine Rice 105 for Antioxidant Application

สุพัทธยา กันภัย

อีเมล์: jikkykittyjung.jk@gmail.com

หลักสูตร วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชา วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง

สำนักวิชา วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

ดร. ณัตฐาวุฒิ ฐิติปราโมทย์ อาจารย์ที่ปรึกษา

อีเมล์: nthitipramote@hotmail.com

สำนักวิชา วิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มุ่งศึกษาพัฒนาสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105 ที่มีมาตรฐาน เพื่อประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง โดยทำการสกัดเศษข้าวหอมมะลิด้วยวิธี การเขย่า ที่ 150 รอบต่อนาที ที่อัตราส่วน ตัวอย่างต่อตัวทำละลาย (70% เอทานอล) 1:10 w/v เป็นระยะเวลา 16 ชั่วโมง ที่ 30 องศาเซลเซียส โดยทำการสกัด 3 ครั้ง เพื่อเทียบมาตรฐาน จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ พร้อมทั้งศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดเพื่อหาเอกลักษณ์ด้วยเครื่องโครมาโทกราฟฟีของเหลวสมรรถนะสูง (HPLC) ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ร้อยละผลผลิตของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิอยู่ระหว่าง 0.510-0.563 และสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ชุดมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใกล้เคียงกัน โดยปริมาณรวมสารกลุ่มฟีนอลิกมีค่าอยู่ระหว่าง 0.121-0.127 mg GAE/g sample และมีปริมาณสารกลุ่มฟลาโวนอยล์ มีค่าระหว่าง 0.033-0.034 mg QE/g sample และสารกลุ่มโปรแอนโทไซยานิดิน อยู่ระหว่าง 12.828-12.966 mg CE/g sample ประกอบกับผลการศึกษาโครมาโตแกรมของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ชุดพบว่ามีลักษณะโครมาโตแกรม คล้ายคลึงกัน ดังนั้นสารสกัดทั้ง 3 ชุดจึงมีองค์ประกอบสารและปริมาณสารที่คล้ายคลึงกัน นอกจากนี้ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ชุด พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชุดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน โดยฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ วิธี DPPH radical scavenging activity มีค่าระหว่าง 0.287-0.320 mg TEAC/g sample และ ABTS activity มีค่าระหว่าง 1.937-2.051 mg TEAC/g sample และ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี FRAP อยู่ระหว่าง 0.415-0.452 mg TEAC/g sample ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดเศษข้าวหอมมะลิ

105 มีมาตรฐาน โดยให้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในเครื่องสำอางได้และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าของเศษข้าวให้แก่เกษตรกรอีกด้วย

คำสำคัญ: ข้าวหอมมะลิ 105/ฟลาโวนอย/ฟินอลิก/ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ/สารสกัด

Abstract

The purpose of this study was to develop the standard extract from broken Jasmine 105 Rice by using the shaking method with 70% ethanol at ratio sample: solvent 1:10 w/v at 150, 30 degree celsius for 16 hours. Extract was repeated three times at the same condition for standardized the extraction method. All extracts were determined the bioactive compounds (total of phenolic, flavonoid and proanthocyanidin contents) and investigated the chromatogram of these extracts by High Performance Liquid Chromatography (HPLC) as well as determined their antioxidant activity (DPPH, ABTS radical scavenging and FRAP activities). The results showed that the extractable yield ranged from 0.510 to 0.563 without different values from each extract. For the determination of bioactive compounds, the total of phenolic content of each extract was similar together that ranged from 0.121 to 0.127 mg GAE/g sample. Consistency, the total flavonoid (TFC) and proanthocyanidin (TPAC) contents of each extract did not differ that were 0.33±0.171 mg QE/g sample for TFC and 12.897±0.069 mg CE/g sample for TPAC. Moreover, the investigation on chromatograms of these extract by HPLC showed that chromatogram of these extracts was similar together with composed of little procyanidin B2. For anti-oxidant activity, DPPH radical scavenging activity of these three extract ranged from 0.287 to 0.320 mg TEAC/g sample and their ABTS were between 1.937 to 2.051 mgTEAC/g sample as well as FRAP of these extracts ranged from 0.415 to0.452 mg TEAC/g sample. The results suggested that the method of extraction for preparation the broken jasmine 105 rice extract can be used as standard method. It resulted the extract which composed of high bioactive compounds (phenolic, flavonoid and proanthocyanidin) and antioxidant capacity. It can be applied as active ingredient in cosmetic and other products.

Keywords: antioxidant/extraction/Jasmine 105 rice/phenolic/flavonoid

บทนำ

ตลาดผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางในประเทศไทยมีความหลากหลายและแข่งขันกันสูงมาก เนื่องจากส่วนแบ่งของตลาดมีมูลค่าสูงมหาศาล จากการเปิดเผยของสมาคมผู้ผลิตเครื่องสำอางไทย เปิดเผยว่า ในปี พ.ศ.2556 มีมูลค่าตลาดรวม 2.1 แสนล้านบาท แบ่งเป็นตลาดในประเทศ 60% คิดเป็นมูลค่า 1.2 แสนล้านบาท และตลาดส่งออก 40% คิดเป็นมูลค่ากว่า 9 หมื่นล้านบาท โดยรวมมีการเติบโตร้อยละ 10 จากปี 2555 (สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2015)จากการเจริญเติบโตอย่างรวดเร็วของตลาดเครื่องสำอางนี้ส่งผลให้เกิดการพัฒนา คิดค้น วัตกรรม และเทคโนโลยีใหม่ ๆ รวมไปถึงการนำสารชีวภาพจากธรรมชาติเข้ามาใช้ในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางมากยิ่งขึ้น ตัวอย่างที่พบมากในปัจจุบัน อาทิเช่น เครื่องสำอางออร์แกนิก นับว่าเครื่องสำอางออร์แกนิกนี้ สามารถดึงดูดความสนใจจากผู้บริโภคได้เป็นพิเศษ เนื่องจากให้ความรู้สึกปลอดภัย ไม่มีการใช้ยาปฏิชีวนะ ไม่มีการตัดต่อพันธุกรรม ไม่มีสารเจือปน ไม่มีการผสมสารซัลไฟด์, ไนเตรท หรือ ไนไตรท์ ในระหว่างขบวนการผลิตหรือจัดการ ทั้งนี้ยกเว้น ไวน์ที่มีการผสม Sulfites อาจจะระบุบนฉลากได้ว่า made with organic grapes (สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2014) ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากธรรมชาติ สามารถสกัดได้ทั้งจากพืช และ สัตว์ เช่น สารสกัดจากว่านหางจระเข้ มังคุด ชะเอมเทศ แตงกวาง ถั่วเหลือง รวมทั้งข้าว

ข้าว เป็นพืชเศรษฐกิจของไทย เป็นแหล่งปลูกข้าวที่ผลิตออกสู่ตลาดของประเทศและตลาดโลกมากที่สุด และเป็นศูนย์กลางของการศึกษาวิจัยพันธุ์ข้าว ข้าวมีหลายพันธุ์ให้เลือกซื้อ สายพันธุ์ที่ได้รับความนิยม และมีมูลค่ามากที่สุดในตลาด โดยเฉพาะ ข้าวหอมมะลิ100% ชั้น1 (สมาคมผู้ส่งออกข้าวไทย, 2013-2014) นอกจากนี้ยังมีการศึกษาสารสำคัญและฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวมากมายทั้งข้าวเศรษฐกิจ (ข้าวหอมมะลิ) กลุ่มข้าวเหนียว (ทั้งมีสี และไม่มีสี) และกลุ่มข้าวท้องถิ่น (ข้าวมีสี) (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.), 2007) แต่อย่างไรก็ตาม ยังมีการศึกษาน้อยมากในสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากข้าวมูลค่าต่ำ เช่นข้าวหัก ปลายข้าว เศษข้าว ซึ่งข้าวมูลค่าต่ำเหล่านี้ไม่เป็นที่นิยมบริโภคของผู้บริโภค แต่นิยมนำไปเป็นอาหารสัตว์ นอกจากนี้การกำหนดมาตรฐานการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ เพื่อให้ได้ฤทธิ์และปริมาณสารดังข้างต้น จึงเป็นสิ่งสำคัญ เพื่อให้ได้สารสำคัญ ในการประยุกต์ใช้ในเครื่องสำอาง ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งกำหนดมาตรฐานการสกัดสารออกฤทธิ์ และฤทธิ์ทางชีวภาพจากข้าวที่มีมูลค่าต่ำ ได้แก่ ปลายข้าว เศษข้าว หรือข้าวหัก เพื่อเพิ่มมูลค่าข้าวดังกล่าว อีกทั้ง นำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง เป็นการส่งเสริมเกษตรกรสร้างอาชีพอีกด้วย

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. กำหนดมาตรฐานการสกัดสารออกฤทธิ์จากเศษข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105

2. ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเศษข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105

ขอบเขตการวิจัย

1. ค้นคว้าข้อมูล งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2. กำหนดมาตรฐานการสกัดสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพจากเศษข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105

3. ศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากเศษข้าวหอมมะลิพันธุ์ 105

การทบทวนวรรณกรรม

1. แนวคิดหลักการทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญของประเทศไทย เป็นแหล่งอาหารหลักที่ให้คาร์โบไฮเดรตที่สำคัญในการดำรงชีวิตของประชากร ใช้ทำเป็นขนมหวานชนิดต่างๆ ขนมปัง ในด้านอุสาหกรรมใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์สำหรับใช้ผลิตวิสกี้ ในปัจจุบันข้าวยังเป็นที่ต้องการของตลาดทั้งภายในประเทศ และต่างประเทศ อีกทั้งยังเป็นที่นิยมนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางแล้วในบางประเทศแถบเอเชีย ที่มีการปลูก และส่งออกข้าว (คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้, 2007)

ข้าวที่บริโภคจะอยู่ในรูปของข้าวสารขาวและข้าวกล้อง ซึ่งมีองค์ประกอบทางเคมีดังนี้ (สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.), 2008)

1) คาร์โบไฮเดรต ที่พบมากในข้าวจะอยู่ในรูปของแป้ง (starch) ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภท พอลิแซ็คคาไรด์จะพบมากที่สุดประมาณ 99 เปอร์เซ็นต์ จึงมีผลต่อคุณภาพข้าวมากที่สุด โมเลกุลของแป้งประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ชนิด คือ อะมิโลส และอะมิโลแพคติน ซึ่งโมเลกุลแป้งทั้ง 2 ชนิดรวมกันแน่นจนเป็นเม็ดแป้ง

2) โปรตีน ในข้าวมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว โดยโปรตีนจะเกิดขึ้นตามส่วนต่างๆของเมล็ดโปรตีนจะรวมตัวกันเป็นรูปร่างที่มี Glutelin เป็นองค์ประกอบหลักอยู่ภายในซึ่งมี 3 รูปแบบ คือ แบบผลึก (crystalline) แบบรูปร่างกลมขนาดเล็ก และรูปร่างกลมขนาดใหญ่ โดยโปรตีนที่แทรกอยู่ในเมล็ดจะแทรกอยู่ระหว่างเม็ดแป้งที่เชื่อมโยงกับเม็ดแป้ง โปรตีนในเมล็ด

ข้าวสามารถแบ่งเป็น 4 ชนิด ตามคุณสมบัติในการละลายได้แก่ อัลบูมิน (Alblumin) โกลบูลิน (Globulin) โปรลามิน (Prolamin) และ กลูเตลลิน (Glutelin)

3)ไขมัน ข้าวมีปริมาณไขมันประมาณ 3 เปอร์เซ็นต์ของข้าวทั้งเมล็ดประเภทไขมันในข้าวส่วนใหญ่คือ ไตรกลีเซอร์ไรด์ รองลงมาคือ ฟอสฟอลิพิด (phospholipids) ไกลโคลิพิด (glycolipids) และเทอร์พีนอยด์ (terpenoid)

3) แร่ธาตุ ในเมล็ดข้าวที่สำคัญมี 9 ชนิด ได้แก่ แคลเซียม (calcium) แมกนีเซียม (magnesium) ฟอสฟอรัส(phosphorus) โพแทสเซียม (potassium) เหล็ก (iron) สังกะสี (zinc) แมงกานีส (manganese) ซีเลเนียม (selenium) และกาบา หรือ GABA (gamma-amino butyric acid) ซึ่งเป็นสารที่เกิดขึ้นในเมล็ดข้าวขณะที่ข้าวเริ่มงอก

5) วิตามิน (vitamin) ในเมล็ดข้าวมีวิตามินที่สำคัญได้แก่ กลุ่มวิตามินที่ละลายในน้ำประกอบด้วย วิตามินบี 1(Thiamine) วิตามินบี 2(riboflavin) วิตามินบี 3 (Niacin) วิตามินบี 5 (Pathothenic acid) วิตามินบี 6 (Pyridoxine) วิตามินบี 9 (Folic acid)วิตามินบี 12 (Cyanocobalamin) โคลีน (Chlorine) และอีโนซิทอล (Inosital) และกลุ่มวิตามินที่ละลายในไขมัน ประกอบด้วยวิตามิน 4 ชนิด คือ วิตามินเอ (retinol) วิตามินอี (α-Tocopherol) วิตามินเอฟ หรือที่รู้จักกันในชื่อกรดไลโนเลอิค (linoleic acid) และแคโรทีน (Carotene)

สารกลุ่มวิตามิน ได้แก่ Tocopherol Tocotrienol วิตามินเอ เป็นต้น ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในเมล็ดข้าว ทำหน้าที่ช่วยปกป้องเซลล์ผิวในร่างกายให้ทำหน้าที่ได้อย่างสมบูรณ์ ยับยั้งการทำลาย หรือการเสื่อมสภาพของเซลล์ต่าง ๆ อันเนื่องมาจากการเกิดอนุมูลอิสระซึ่งเกิดจากขบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกาย หรือจากมลพิษในสิ่งแวดล้อม เช่น ไนโตรเจนไดออกไซด์ โลหะหนักต่าง ๆ เป็นต้น

γ-oryzanol (แกมม่า-ออไรซานอล) (Takagi C., 1963)เป็นสารธรรมชาติที่พบได้ในจมูกข้าวและรำข้าว ซึ่งประกอบด้วย Ferulic acid Sterol และ Triterpene alcohols ทำหน้าที่เป็น Antioxidant effects Whitening effect ซึ่งทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของ Trirosinase และการสร้าง Melanin เพิ่มความชุ่มชื้น ลดอาการระคายเคือง และต้านการอักเสบ อีกทั้งยังช่วยปกป้องผิวจากรังสียูวี

Felulic acid เป็นอุพันธุ์ของ Cinnamic acid มีส่วนช่วยในการต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการสร้างเม็ดสี (Melanin) เนื่องจากโครงสร้างของ Ferulic acid คล้ายคลึงกับ Tyrosine และปกป้องผิวจากรังสียูวี

Proanthocyanidin สามารถกระตุ้นการแบ่งตัวของ hair follicle cells ใน in-vitro และทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของ hair cycle จาก telogen phase ไปเป็น anagen phase ใน in-vivo

Procyanidin B-2 เป็น protein kinase C (PKC) inhibitors ซึ่งพบใน apple (Malus pumila) ทำหน้าที่เป็น growth promoting factor ใน murine hair epithelial cell และมี hair-growing activity เพราะไป modulation of the expression และ translocation of KPC isozymes (α, β_1, β_2 และ η) ใน hair epithelial cells (วรางคณา และคณะ, 2008)

2. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากผลงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า สารสกัดจากข้าวสามารถลดริ้วรอยบนผิวหนังได้ถึง 40 กว่าเปอร์เซ็นต์ภายใน 2 สัปดาห์ และเมื่อผ่านไป 6 สัปดาห์ ปรากฏว่าริ้วรอยลดลงได้ถึง 67% อีกทั้งยังช่วยเพิ่มความชุ่มชื้น ถนอมผิว ไม่ให้ผิวหนังแห้งกร้าน เนื่องจากในข้าวหอมมะลิประกอบไปด้วยสารสำคัญหลายชนิด เช่น แกมมา-ออริซานอล, กรดไฟติก, กรดเฟอรูลิค, โทโคฟีรอล, โทโคไตรอีนอล และกรดไขมันไม่อิ่มตัวอีกหลายชนิด ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชั่นอันเป็นสาเหตุที่ทำให้เนื้อเยื่อเสื่อมสภาพ ในส่วนของผลิตภัณฑ์ด้านเส้นผม ยังช่วยเพิ่มความนุ่มลื่นให้แก่เส้นผม และทำให้ผมนุ่มสลวย ทดสอบโดยการใช้อาสาสมัครหลายคน ผ่านกระบวนการวิจัยอย่างเป็นระบบ มีการใช้เครื่องมือวัดการเปลี่ยนแปลงของริ้วรอยบนผิวหนัง ซึ่งสามารถวัดออกมาเป็นเปอร์เซ็นต์การลดริ้วรอยได้ โดยไม่ได้ใช้การประมาณการโดยสายตา (จีรเดช , อรัญญา มโนสร้อย, 2011)

สถาบันวิจัยโภชนาการ ม.มหิดล ศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว ม.เกษตรศาสตร์ กำแพงแสน เล็งเห็นว่าประเทศไทยมีข้าวเป็นอาหารหลักที่ทุกคนต้องบริโภค การปรับปรุงพันธุ์ข้าวให้มีคุณค่าทางโภชนาการจักมีประโยชน์อย่างยิ่งต่อประชากรไทย และส่งเสริมการเกษตร จึงทำการศึกษาวิจัยข้าวจนพบว่าข้าวมี อัลฟาโทโคเฟอรอล ทำหน้าที่เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ยับยั้งการทำงานของ protein kinase C ซึ่งเกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันและการเกิดการอักเสบของเซลล์ สาร Gamma Oryzanol ประกอบด้วย Sterol และ Furulic Acid Rosenbloom สารโพลีฟีนอล สารแอนโทไซยานิดิน (รัชนี คงคาฉุยฉาย และคณะ, 2011)

งานวิจัยของภาคเอกชน ระหว่าง Thann-Oryza CO.,LTD ผู้สนับสนุน กับ Spincontrol Asia CO.,LTD ศึกษาประสิทธิภาพของ สารสกัดจากข้าว ในผิวหนังผู้หญิงเอเชียที่มีอายุระหว่าง 18-65 ปี ที่มีผิวแห้ง หยาบ ในทุกประเภทของสภาพผิวได้ ผิวมัน ผิวผสม ผิวแห้ง และผิวธรรมดา โดยใช้เครื่อง Corneometer ในการวัดความชุ่มชื้นของผิวหนัง Chromametry เพื่อประเมินสภาพสีผิว วัดค่าหลังทาผิวไปแล้วที่ 2 4 และ 6 ชั่วโมง ตามลำดับ และ Sensory evaluation of the radiance of skin complexion (C.L.B.T. Method Asian Version) ประเมินที่ สัปดาห์ที่ 4 โดยมีผู้เชี่ยวชาญ 3

ท่านในการสรุปผล โดยวัดค่าความชุ่มชื้นจากเครื่อง Corneometer และวัดค่าสีผิวจากเครื่อง Chromametry และ Sensory evaluation of the radiance of skin complexion (C.L.B.T. Method)

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมข้าว

นำเศษข้าวหอมมะลิที่ไม่ใช้แล้วจากการสีข้าวมาทำการคัดเลือกเอาสิ่งสกปรกและ ฝุ่นออก แล้วนำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 18 ชั่วโมง

2. ขั้นตอนการวิจัย

2.1 วิธีการสกัด

นำเศษข้าวหอมมะลิที่อบแล้วมาสกัดโดยชั่ง 100 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ เติม 70% Ethanol 1,000 ml ด้วยวิธี Shaking method ที่อุณหภูมิ 30 องศา ความเร็วในการหมุนที่ 150 รอบต่อนาที นาน 16 ชั่วโมง โดยทำการสกัด 3 ครั้ง เพื่อกำหนดมาตรฐานการสกัดสารจากเศษข้าวหอมมะลิ กรองสารสกัดด้วย เครื่องกรองสุญญากาศ ผ่านกระดาษ whatman no.1 จำนวน 2 รอบ จนได้สารละลายที่มีลักษณะใส ระเหยตัวทำละลายเอทานอลออกด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ที่ความเร็ว 4-6 อุณหภูมิที่ความร้อน 50 องศาเซลเซียส นำสารสกัดที่ได้ทำให้แห้งด้วยเครื่อง freeze dry เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.2.1 การวิเคราะห์หาปริมาณ Total Phenolic Compound

นำสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ครั้ง (Sample1, Sample 2, Sample 3) มาศึกษาโดยเตรียมที่ความเข้มข้น 5 mg/ml ปิเปตสารละลายปริมาตร 20 µl ผสมกับ Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 100 µl ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ 1 นาที จากนั้นเติม 7.5% (w/v) Sodium bicarbonate ปริมาตร 80 µl ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 nm. คำนวณปริมาณ Total Phenolic จากกราฟมาตรฐานของ Gallic acid และรายงานผลเป็นปริมาณ Gallic acid equivalent (mg GAE/g sample)

2.2.2 การวิเคราะห์หาปริมาณ Total Flavonoid Content

วิเคราะห์โดยการนำสารสกัดที่ได้ทั้ง 3 ครั้ง เตรียมที่ความเข้มข้น 5 mg/ml ปิเปตสารละลายปริมาตร 25 µl ผสมกับ 95% ethanol ปริมาตร 75 µl ผสมให้เข้ากัน จากนั้นเติม 10% Aluminium Chloride ปริมาตร 5 µl กับ 1M potassium acetate ปริมาตร 5 µl และน้ำกลั่นปริมาตร 140 µl ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่

ความยาวคลื่น 765 nm. นำค่าที่ได้มาคำนวณปริมาณ Total Phenolic จากกราฟมาตรฐานของ Quercetin และรายงานผลเป็นปริมาณ Quercetin equivalent (mg GE/g sample)

2.2.3 การวิเคราะห์หาปริมาณ Total Proanthocyanidin content

ทำได้โดยนำสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ครั้ง มาเตรียมที่ความเข้มข้น 5 mg/ml ปริมาตร 20 µl ผสมให้เข้ากันกับ 1% Vanillin ที่เตรียมไว้ ปริมาตร 50 µl และสารละลาย 25% H_2SO_4 ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด เป็นเวลา 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 nm. หลังจากนั้นนำมาคำนวณหาค่าการดูดกลืนแสงดังสมการ ค่าการดูดกลืนแสง = (D – C) – (A – B) โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของ control, B = ค่าการดูดกลืนแสงของ blank control, C = ค่าการดูดกลืนแสงของ blank sample และ D = ค่าการดูดกลืนแสงของ sample จากนั้นนำค่าที่ได้ มาคำนวณปริมาณ Proanthocyanidin จากกราฟมาตรฐานของ Catechin แล้วรายงานผลเป็น Catechin Equivalent (mg CE/g sample)

2.3 การวิเคราะห์หาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

2.3.1 การวิเคราะห์หาฤทธิ์ DPPH radical-scavenging activity

โดยปิเปตสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 5 mg/ml ปริมาตร 10 µl ผสมกับสารละลาย 2,2-Diphenyl-1-pykril-hydrazyl (DPPH) ปริมาตร 190 µl ในแผ่น Microplate ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 nm. ซึ่งความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระจักต้องนำมาคำนวณค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิด DPPH radical ดังสมการ % DPPH radical-scavenging activity = [(A – B)/A] x 100 โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม และ B = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ และรายงานผลเป็น Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (mg TEAC/g sample)

2.3.2 การวิเคราะห์หาฤทธิ์ ABTS radical-scavenging activity

โดยเตรียมสารละลาย 3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid (ABTS) กับสารละลาย Potassium persulphate ในอัตราส่วน 1:1 (v/v) ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้องในที่มืด นาน 15 ชั่วโมง จากนั้นนำมาเจือจางด้วยสารละลาย Phosphate buffer ในอัตราส่วน 1:20 (v/v) ให้มีค่าการดูดกลืนแสงไม่เกิน 1,000 จากนั้นปิเปตสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 5 mg/ml ปริมาตร 10 µl ผสมกับสารละลาย $ABTS^{•+}$ ปริมาตร 190 µl อย่างรวดเร็ว ทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด เป็นเวลา 15 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 nm. คำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการเกิด ABTS radical ดังสมการ % ABTS radical-scavenging activity = [(A – B)/A] x 100 โดยที่ A = ค่าการดูดกลืนแสงของชุดควบคุม และ B = ค่าการดูดกลืนแสงของ

สารละลายมาตรฐาน แล้วนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ และรายงานผลเป็น Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (mg TEAC/g sample)

2.3.3 การวิเคราะห์หาฤทธิ์ FRAP radical-scavenging activity

เตรียมสารละลาย Ferric tripyridylthaiazine โดยปิเปตสารละลาย 2,4,6-tripyridylpsptriazine (TPTZ) 1 ml ผสมกับสารละลาย $FeCl_3$ 1 ml และ sodium acetate buffer 10 ml ผสมให้เข้ากัน นำสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ครั้ง ที่ความเข้มข้น 5 mg/ml ปิเปตสารละลายปริมาตร 10 µl ผสมสารละลาย Ferric tripyridylthaiazine (FRAP) ปริมาตร 190 µl ผสมให้เข้ากันอย่างรวดเร็ว ในแผ่น Microplate ทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืด เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 nm. นำค่าที่ได้มาคำนวณหาความสามารถการต้านออกซิเดชันจากกราฟมาตรฐานของ Trolox และรายงานผลเป็นปริมาณ Trolox equivalent (mg TEAC/g sample)

2.4 ศึกษาองค์ประกอบของสารสกัดด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

นำสารสกัดหยาบเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ชุดมาวิเคราะห์หาโครมาโตแกรมด้วยเครื่อง HPLC โดยใช้สภาวะการศึกษา Column Platinum EPS C 18 (100A, 3 um, 53 mmx7 mm) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส Flow rate 2.0 ml/min และ detector 210 nm โดยใช้ 0.5% trifluoroacetic acid: acetonitrill (87:13)

ผลการวิจัย

1. ปริมาณสารสกัดหยาบ

จากการสกัดสารออกฤทธิ์จากเศษข้าวหอมมะลิด้วยเอทานอล ได้สารสกัดสีเหลืองอ่อนใส มีกลิ่นของข้าว เมื่อแยกตัวทำละลายออกด้วยเครื่อง rotatory evaporator ทำให้ได้สารสกัดที่มีสีน้ำตาล ไม่มีกลิ่น Ethanol เหลืออยู่ จากนั้นนำสารสกัดที่ได้เข้าเครื่อง freeze dry จะได้สารสกัดสีน้ำตาลเข้ม มีลักษณะข้นหนืด เมื่อนำสารสกัดทั้ง 3 ซ้ำที่ได้มาคำนวณหาร้อยละผลผลิต (Percent of extractable yield) มีค่าดังนี้ สารสกัดรอบที่ 1,2 และ 3 มีค่าร้อยละผลผลิต เท่ากับ 0.563, 0.510 และ 0.560 ตามลำดับ ได้ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ปริมาณสารสกัดจากเศษข้าวหอมมะลิ

ตัวอย่างที่	ร้อยละผลผลิต (w/w)	ค่าเฉลี่ยของร้อยละผลผลิต
สารสกัดรอบที่ 1	0.563	
สารสกัดรอบที่ 2	0.510	0.544 ± 0.03
สารสกัดรอบที่ 3	0.560	

2. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.1 การวิเคราะห์หา Total Phenolic Content (TPC)

นำสารสกัดที่ได้จากเศษข้าวหอมมะลิในแต่ละรอบ มาทำการทดสอบหาปริมาณ total phenolic compoundโดยใช้ สารละลาย Gallic acid เป็นมาตรฐาน พบว่า สารสกัดรอบที่ 1, 2 และ 3 มีค่าปริมาณ total phenolic compound ใกล้เคียงกัน คือ 0.127 ± 0.006, 0.121 ± 0.006 และ 0.123 ± 0.006 mg GAE/g sample ตามลำดับ ปริมาณดังกล่าวไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) ดังนั้นวิธีการสกัดดังกล่าวมีมาตรฐานโดยให้ปริมาณสาร TPC ใกล้เคียงกัน โดยผลการวิจัยนี้แตกต่างกันกับงานวิจัยก่อนหน้าที่ศึกษาปริมาณสาร Phenolic ในข้าวหอมมะลิขัดสี พบว่าข้าวหอมมะลิขัดสีแล้วมีปริมาณสาร Phenolic เท่ากับ 0.2638 ± 0.0055 mg GAE/g sample (Jitlada *et al.*, 2010)

2.2 การวิเคราะห์หา Total Flavonoid Content (TFC)

นำสารสกัดที่ได้จากเศษข้าวหอมมะลิในแต่ละรอบ มาทำการทดสอบหาปริมาณ Total Flavonoid Content โดยใช้สารละลาย Quercetin เป็นมาตรฐาน พบว่า สารสกัดรอบที่ 1, 2 และ 3 มีค่าปริมาณ total Flavonoid content ใกล้เคียงกัน คือ 0.033 ± 0.009, 0.034 ± 0.003 และ 0.034 ± 0.003 mg QE/g sample ตามลำดับ ซึ่งปริมาณดังกล่าวไม่แตกต่างกัน (ตารางที่ 2) ดังนั้นวิธีการสกัดดังกล่าวมีมาตรฐานโดยให้ปริมาณสาร TFC ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งผลการวิจัยนี้แตกต่างกันกับงานวิจัยก่อนหน้าที่ศึกษาปริมาณสาร Flavonoid ในข้าวหอมมะลิขัดสี พบว่าข้าวหอมมะลิขัดสีแล้วมีปริมาณสาร Flavonoid เท่ากับ 0.0774 ± 0.0023 mg QE/g sample ในรูปของ free from แต่มีปริมาณ Flavonoid ในรูป Bound form มีค่าเท่ากับ 0.0035 ± 0.0018 mg QE/g sample ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าในสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิ (Jitlada *et al.*, 2010)

2.3 การวิเคราะห์หา Proanthocyanidin

นำสารสกัดที่ได้จากเศษข้าวหอมมะลิในแต่ละรอบ มาทำการทดสอบหาปริมาณ Proanthocyanidin (Condensed Tannins Content) โดยใช้สารละลาย Catechin เป็นมาตรฐาน พบว่า สารสกัดรอบที่ 1, 2 และ 3 มีค่าปริมาณ Proanthocyanidin ใกล้เคียงกัน คือ 12.828 ± 0.948, 12.966 ± 0.431 และ 12.897 ± 1.685 mg CE/g sample ตามลำดับ ซึ่งปริมาณดังกล่าวไม่แตกต่างกัน (ตาราง

ที่ 2) ดังนั้นวิธีการสกัดสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิดังกล่าวมีมาตรฐาน ซึ่งผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยก่อนหน้า เรื่อง การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวมีสี พบว่ามีปริมาณสาร Proanthocyanidin ในสารสกัดเช่นกัน (Nisakorn *et al.*, 2014)

ตารางที่ 2 ปริมาณสารสกัดจากเศษข้าวหอมมะลิ และ ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

ตัวอย่างที่	ร้อยละผลผลิต (w/w)	ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ Phenolic mg GAE/g sample)	Flavonoid mg QE/g sample)	Proanthocyanidin (mg CE/g sample)
สารสกัดรอบที่ 1	0.563	0.127 ± 0.006[a]	0.033 ± 0.009[a]	12.828 ± 0.948[a]
สารสกัดรอบที่ 2	0.510	0.121 ± 0.006[a]	0.034 ± 0.003[a]	12.966 ± 0.431[a]
สารสกัดรอบที่ 3	0.560	0.123 ± 0.006[a]	0.034 ± 0.003[a]	12.897 ± 1.685[a]

(Mean ± SD; n = 5) ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

3. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิ

3.1 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH˙

นำสารสกัดที่ได้จากเศษข้าวหอมมะลิในแต่ละรอบ มาทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH˙ โดยใช้สารละลาย Trolox เป็นสารมาตรฐาน พบว่า สารสกัดรอบที่ 1, 2 และ 3 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน คือ 0.320 ± 0.039, 0.287 ± 0.083 และ 0.302 ± 0.073 mg TEAC/g sample ตามลำดับ ตารางที่ 4.3 ดังนั้นสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิที่ได้มีมาตรฐาน และมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH˙ ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งให้ผลแตกต่างจากงานวิจัยที่ผ่านมาเรื่อง การศึกษาความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระในข้าวหลากสี ว่าข้าวขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH˙ เฉลี่ย เท่ากับ 19.76 ± 3.62mg Trolox/ gram extract dry weight (Wipavadee *et al.*, 2014)

3.2 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{+}

นำสารสกัดที่ได้จากเศษข้าวหอมมะลิในแต่ละรอบ มาทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{+} โดยใช้สารละลาย Trolox เป็นมาตรฐาน พบว่า สารสกัดรอบที่ 1, 2 และ 3 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน คือ ตามลำดับ 1.975 ± 0.035, 1.983 ± 0.053 และ 2.051 ± 0.035 mg TEAC/g sample ตามลำดับ ตารางที่ 4.3 จึงกล่าวได้ว่าสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิที่ได้มีมาตรฐาน และมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ABTS^{+} ที่ใกล้เคียงกัน จาก

ผลการวิจัยนี้ พบว่าแตกต่างจากการศึกษาที่ผ่านมา เรื่องการศึกษาความสามารถในการต้านสารอนุมูลอิสระในข้าวหลากสี ว่าข้าวขาวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{+}$ เฉลี่ย เท่ากับ 47.34 ± 6.78 mg Trolox/ gram extract dry weight (Wipavadee *et al*., 2014)

3.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP

นำสารสกัดที่ได้จากเศษข้าวหอมมะลิในแต่ละรอบ มาทำการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP โดยใช้สารละลาย Trolox เป็นมาตรฐาน พบว่า สารสกัดรอบที่ 1, 2 และ 3 มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน คือ 0.452 ± 0.019, 0.415 ± 0.020 และ 0.440 ± 0.004 mg TEAC/g sample ตามลำดับ ตารางที่ 4.3 จึงกล่าวได้ว่าสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิที่ได้มีมาตรฐาน และมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ FRAP ที่ใกล้เคียงกัน ซึ่งได้ค่าที่สอดคล้องกันกับงานวิจัยก่อนหน้า เรื่องข้าวหอมนิล 2 สุโขทัย ที่ให้ค่าเท่ากับ 0.5137 ± 0.1400 mg TEAC/g sample (Vareeporn *et al*., 2011)

ตารางที่ 3 ตารางแสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ

ตัวอย่างที่	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ		
	DPPH assay (mg TEAC/g sample)	ABTS assay (mg TEAC/g sample)	FRAP assay (mg TEAC/g sample)
สารสกัดรอบที่ 1	0.320 ± 0.039 [a]	1.937 ± 0.035 [a]	0.452 ± 0.019 [a]
สารสกัดรอบที่ 2	0.287 ± 0.083 [a]	1.983 ± 0.053 [a]	0.415 ± 0.020 [a]
สารสกัดรอบที่ 3	0.302 ± 0.073 [a]	2.051 ± 0.035 [a]	0.440 ± 0.004 [a]

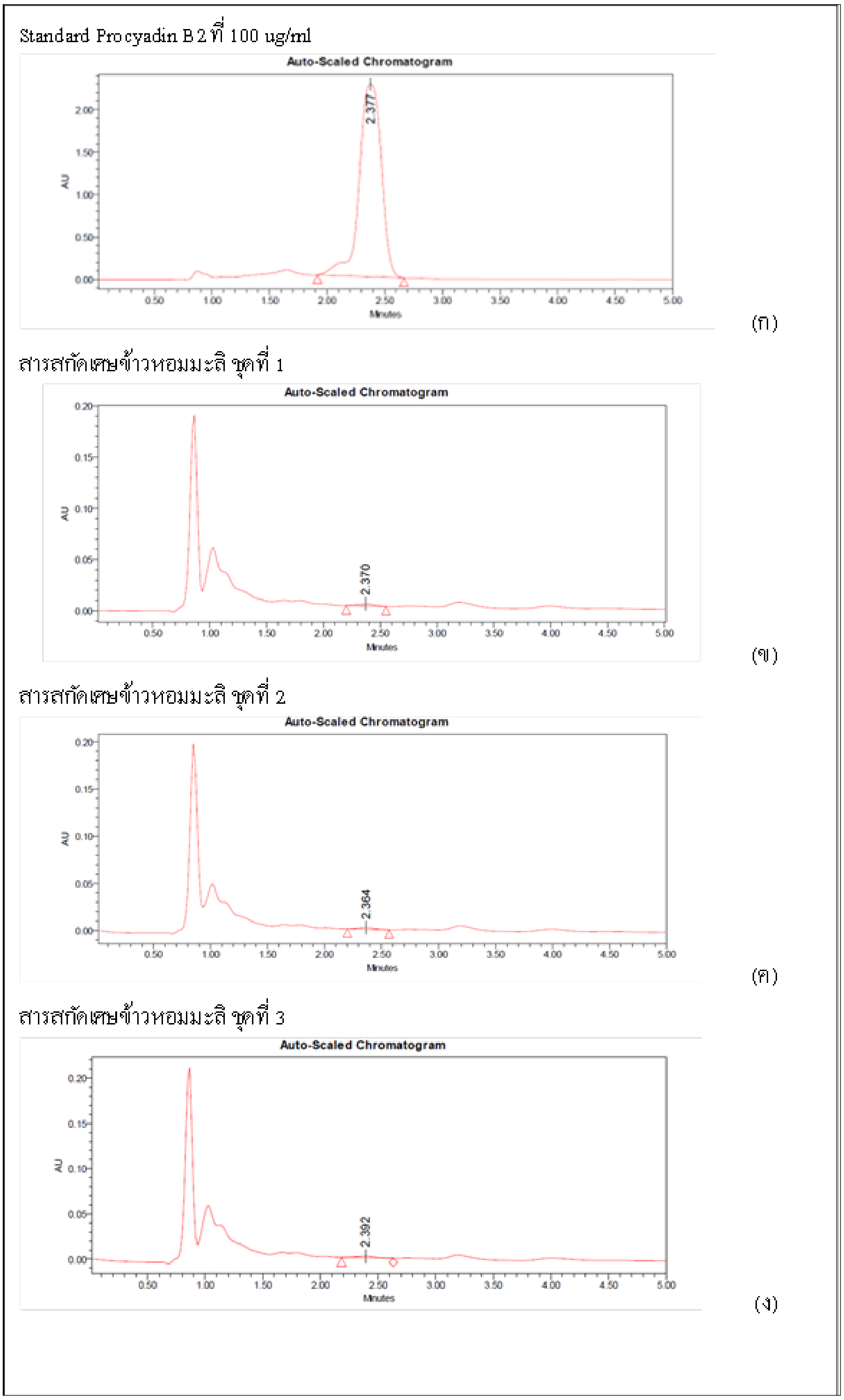
(Mean ± SD; n = 5) ตัวหนังสือยกที่แตกต่างกันในแต่ละคอลัมน์ แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

4 การวิเคราะห์ HPLC (High Performance Liquid Chromatography)

โดยใช้เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ภายใต้สภาวะที่กำหนด จากการวิเคราะห์สารสกัดเศษข้าวหอมมะลิที่สกัดได้ทั้ง 3 ชุด แล้วดูค่า Chromatogram พบว่า Chromatogram ที่ได้ มีลักษณะเหมือนกัน (ภาพที่ 1) ดังนั้นวิธีการสกัดที่ได้นำมาทำการสกัดนั้นทำให้ได้สารสกัดออกมาเหมือนกันในทุกการสกัด

เมื่อนำ Chromatogram ที่ได้ของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ชุดมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐาน พบว่าค่า Retention time ของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ชุด ใกล้เคียงกับ Retention time ของ Procyadin B2 (ภาพที่ 1) จึงถือได้ว่า การสกัดเศษข้าวหอมมะลิด้วยวิธีการ

สกัดนี้ เป็นวิธีสกัดที่ได้มาตรฐานและให้สารสกัดที่มีสาระสำคัญและมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วย



ภาพที่ 1 แสดงผล HPLC ของสารมาตรฐาน(ก) และสารสกัดจากเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ครั้ง (ข-ง)

อภิปรายผลการวิจัย

จากผลการศึกษาพบว่า ร้อยละผลผลิตของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิ (Percent of extractable yield) อยู่ระหว่าง 0.510-0.563 และสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชุดมีปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพใกล้เคียงกัน โดยมีปริมาณ Total phenolic compound อยู่ระหว่าง 0.121-0.127 mg GAE/g sample และมีปริมาณ Flavonoid content ระหว่าง 0.033-0.034 mg QE/g sample และมีสารกลุ่ม Proanthocyanidin อยู่ระหว่าง 12.828-12.966 mg CE/g sample ประกอบกับผลการศึกษาโครมาโตแกรมของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ชุดพบว่ามีลักษณะโครมาโตแกรมคล้ายคลึงกัน ดังนั้นสารสกัดทั้ง 3 ชุดจึงมีองค์ประกอบสารและปริมาณสารที่คล้ายคลึงกัน นอกจากนี้ผลการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิทั้ง 3 ชุด พบว่า สารสกัดทั้ง 3 ชุดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระใกล้เคียงกัน โดยฤทธิ์ DPPH radical scavenging มีค่าระหว่าง 0.287-0.320 mg TEAC/g sample และ ABTS activity มีค่าระหว่าง 1.937-2.051mgTEAC/g sample และ ฤทธิ์ FRAP อยู่ระหว่าง 0.415-0.452 mg TEAC/g sample

ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่า สารสกัดเศษข้าวหอมมะลิถูกสกัดด้วยวิธีมาตรฐาน ทำให้ได้สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถนำมาประยุกต์ใช้เป็นสารออกฤทธิ์ในเครื่องสำอางได้และยังเป็นการเพิ่มมูลค่าเศษข้าวอีกด้วย

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากสารสกัดจากเศษข้าวหอมมะลิมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ และราคาถูก (20 บาท/kg.) จึงเป็นการดีหากมีการนำเศษข้าวที่เหลือใช้จากการสีข้าวมาพัฒนาลงในตำรับเครื่องสำอาง

2. เนื่องจากในการทดลองนี้ได้ทำการศึกษาปฏิกิริยาต่าง ๆ ของสารสกัดเศษข้าวหอมมะลิที่ความเข้มข้น 5 mg/ml เพียงค่าเดียว ควรมีการทดลองที่ความเข้มข้นต่าง ๆ เพื่อเป็นแนวทางในการนำไปใช้ต่อไป

รายการอ้างอิง

กลุ่มควบคุมเครื่องสำอาง สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา. (2009). *กฎหมายใหม่เกี่ยวกับเครื่องสำอาง*. สืบค้นเมื่อ 30 ธันวาคม 2557, จาก http://www.oryor.com/oryor/admin/module/fda_pub_leaflet/file/f_17_1268808669.pdf

คณะผลิตกรรมการเกษตร มหาวิทยาลัยแม่โจ้. (2007). *familyข้าว*. สืบค้นเมื่อ 30 ธันวาคม 2557, จาก http://www.agric-prod.mju.ac.th/agronomy/%E0%B8%84%E0%B8%A7%E0%B8%B2%E0%B8%A1%E0%B8%AA%E0%B8%B3%E0%B8%84%E0%B8%B1%E0%B8%8D%E0%B8%82%E0%B9%89%E0%B8%B2%E0%B8%A7.html

ตลาดอุตสาหกรรมเครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์เวชสำอางจากธรรมชาติและสมุนไพรไทย. *สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ*. สืบค้นเมื่อ 11 มกราคม 2558, http://www.nstda.or.th/industry/cosmetics-industry

พีรเดช ทองอำไพ. (22013). *ผลงานวิจัยข้าวไทย(3)*. ความรู้เกษตรแบบง่าย. สืบค้นเมื่อ 14 ธันวาคม 2557, จาก http://www.arda.or.th/easyknowledge/easy-articles-detail.php?id=543

รัชนี คงคาฉุยฉาย, ริญ เจริญศิริ, อภิชาติ วรรณวิจิตร และศิริพัฒน์ เรืองพยัคฆ์. (2011). *วิจัยข้าว*. สืบค้นเมื่อ 11 มกราคม 2558, จาก http://dna.kps.ku.ac.th/index.php/article-rice-rsc-rgdu

วรางคณา จินตพัฒนากิจ และสาวิตรี อัมภา. (2008). *การพัฒนาสูตรตำหรับแชมพูป้องกันผมร่วงจากใบหมี่*. นครปฐม: โครงการพิเศษปริญญาเภสัชศาสตรบัณฑิต คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล.

สมาคมผู้ส่งออกข้าวไทย (Thai rice experts association). (2013-2014). *มูลค่า และข่าวเศรษฐกิจ*. สืบค้นเมื่อ 12 มกราคม 2558, จาก http://www.thairiceexporters.or.th/Rice_reports.htm

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ(วช.). (2008). *องค์ประกอบของข้าว*. สืบค้นเมื่อ 14 ธันวาคม 2557, จาก http://dric.nrct.go.th/direct_fulltext.php?bid=243091&file=%E0%B8%9A%E0%B8%97%E0%B8%97%E0%B8%B5%E0%B9%882.pdf

Jitlada Vichapong, Maliwan Sookserm, Voranuch Srijesdaruk, Prasan Swatsitang, Supalax Srijaranai. (2010). High performance liquid chromatographic analysis of phenolic compounds and their antioxidant activities in rice varieties, LWT - Food Science and Technology 43. 1325-1330

Nisakorn Seawan, Wannisa Vichit, Anongnuch Thagam, Natthawut Thitipramote, Phanuphong Chaiwut, Punyawatt Pintathong and Nont Thitilertdech. (2013). Antioxidant capacities, phenolic, anthocyanin and Proanthocyanidin contents of picmented rice extracts obtained by microwave-assisted. Suranaree J. Sci. Technol. 21(4). 301-306

ORYZA OIL & FAT CHEMICAL CO., LTD. (2012). *Oryaanol*. Retrieved Jan 10,2015, from http://www.oryza.co.jp/html/english/pdf/ORYZANOL%203.1TK.pdf

Vareeporn Pitiwiwattanakul, SuthayaPhimphilai, Surat Nuglor and Chiyawat Chiyasut. (2011). Effects of germinating conditions on antioxidant properties, total polyphenol and phytate contents in quick-cooking husked Hom Dam Sukhothai 2 rice. *Asian Journal of Food and Agro-Industry. 4*(05). 297-305

Wipavadee Daiponmak, Chadapon Senakun & Sirithon Siriamornpun. (2014). Antiglycation capacity and antioxidant activities of different pigmented Thai rice. *International Journal of Food Science and Technology 2014*, *49*, 1805–1810