



รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการสกัดสีธรรมชาติจากรำข้าวสีด้วยสแนมไฟฟ้าแบบปาน
กลางภายใต้ความดัน

โดย

ผศ.ดร.ปิตียา กมลพัฒนะ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ตุลาคม พ.ศ. 2562

สัญญาเลขที่ MRG6080250

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

โครงการการสกัดสีธรรมชาติจากรำข้าวสีด้วยสนามไฟฟ้าแบบปาน
กลางภายใต้ความดัน

ผศ.ดร.ปิตุยา กมลพัฒนะ
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

สนับสนุนโดยสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและต้นสังกัด

(ความเห็นในรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย
สกว.และต้นสังกัดไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

บทคัดย่อ

รหัสโครงการ : MRG6080250

ชื่อโครงการ : โครงการการสกัดสีธรรมชาติจากรำข้าวสีด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดัน

ชื่อนักวิจัย : ผศ.ดร.ปิติยา กมลพัฒนะ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

E-mail Address : pitiya.k@ku.ac.th, fagipyk@ku.ac.th

ระยะเวลาโครงการ : 2.5 ปี

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารสีธรรมชาติจากรำข้าวสีด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันและหาผลกระทบของการสกัดต่อการออกฤทธิ์ทางชีวภาพ แอนโทไซยานิน และคุณภาพทางกายภาพของผงสีจากรำข้าว ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าอัตราส่วนรำข้าวต่อปริมาณสารสกัดเอทานอล 1:200 มีปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและสารแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงที่สุด ซึ่งการสกัดด้วยการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 120 นาที ภายใต้ความดัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด ($p < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตรภายใต้ความดัน เป็นเวลา 30 นาที ($p < 0.05$) เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแอนโทไซยานิน นอกจากนี้ การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 60 นาที และที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงที่สุดและไม่แตกต่างกัน ($p < 0.05$) ในขณะที่ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดไม่ส่งผลกับร้อยละของสีของพอลิเมอร์ และเมื่อทำการสำรวจผนังเซลล์รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดพบว่า การใช้สนามไฟฟ้าร่วมกับความดันมีประสิทธิภาพในการทำลายผนังเซลล์ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ได้ดีและผิวของเซลล์รำข้าวมีความเรียบขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ดังนั้นสภาวะที่มีประสิทธิภาพในการสกัดสารแอนโทไซยานินสูงจึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารสีจากรำข้าวเพื่อนำมาใช้ในการเตรียมผงสี คือการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที ซึ่งเป็นความแรงสนามไฟฟ้าต่ำ และเวลาสกัดน้อย ในส่วนผลกระทบของผงสีที่สกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที พบว่าผงสีที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด ร้อยละของสีของพอลิเมอร์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และมีความสามารถในการละลายสูงที่สุด ($p < 0.05$) และเมื่อวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิก พบว่าในผงสีประกอบด้วยกรดวานิลลิก 229.42 ถึง 288.74 ไมโครกรัมกรดวานิลลิกต่อผงสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม ในขณะที่การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันไม่พบกรดวานิลลิก สำหรับชนิดและปริมาณสารแอนโทไซยานิน พบว่าการสกัดแอนโทไซยานินด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันมีปริมาณ C3G และ P3G สูงที่สุด ($p < 0.05$) อาจเป็นสาเหตุให้ความสว่างของสีเข้มกว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันและการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน ($p < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตาม ผลทางกายภาพของผงสีทุกสภาวะการสกัดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) จากผลการทดลองจะเห็นว่า การสกัดด้วย MEF ร่วมกับความดัน ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพและประหยัดเวลาในการสกัดสารสีธรรมชาติจากรำข้าวสีได้เป็นอย่างดีและแสดงศักยภาพในการต่อยอดงานวิจัยด้านการสกัดสารสำคัญต่อไป

คำสำคัญ : การสกัด, สนามไฟฟ้าแบบปานกลาง, แอนโทไซยานิน, ความดัน

Abstract

Project Code : MRG6080250

Project Title : Moderate-electric-field-assisted extraction under pressure for natural food colorant from pigmented rice bran

Investigator : Pitiya Kamonpatana, Ph.D. Kasetsart University

E-mail Address : pitiya.k@ku.ac.th, fagipyk@ku.ac.th

Project Period : 2.5 Years

The aim of this study was to determine the optimum extraction condition of natural colorant from Riceberry bran and to investigate the effect of the extraction on bioactive compounds, physical quality and anthocyanin contents of color powder from Riceberry bran. The ratio of rice bran and solvent of 1:200 was selected for the further extraction since it contained the high total phenolic contents (TPC) and Total monomeric anthocyanin (TMA) contents. Moderate-electric-field (MEF) assisted extraction under pressure with electric field strengths (E) of 2.92 V cm^{-1} at the extraction time of 120 min provided higher TPC and DPPH radical scavenging activities ($p < 0.05$). However, E of 2.92 V cm^{-1} under pressure at the extraction time 30 min was suitable for the extraction of TMA ($p < 0.05$). In addition, MEF under pressure with E of 2.92 V cm^{-1} for 60 min and 11.54 V cm^{-1} for 120 min had higher Ferric reducing antioxidant power (FRAP) and not significantly different ($p < 0.05$). On the other hand electric field and extraction time did not affect percent polymeric color (PPC). Microscopic examination using scanning electron micrograph (SEM) showed that MEF assisted extraction under pressure could increase the degree of destruction of cell wall of rice bran and its surface was obviously smooth. Therefore, optimum extraction condition of natural colorant from Riceberry bran was 2.92 V cm^{-1} for 30 min which was the short electric field and time. For the colorant powder, MEF under pressure at 2.92 V cm^{-1} with extraction time 30 min had highest TPC, TMA, PPC, DPPH, FRAP and solubility of powder ($p < 0.05$). The powder presented vanillic acid (VA) of 229.42 to 288.74 $\mu\text{g VA/g}$ colourant powder while VA did not show up in conventional extraction. For anthocyanins, the colourant powder from conventional extraction showed the highest anthocyanin form of C3G and P3G ($p < 0.05$) in corresponding to the darker color. However, the physical properties was not significantly different among every condition. Consider the solubility, the powder from MEF under pressure showed the high value. In conclusion, the MEF extraction under pressure increased the extraction efficiency and saved the extraction time for the colourant powder and show the potential for the future research for the extraction of other active compounds.

Keywords : Extraction, Moderate electric field, Anthocyanins, Pressure

Executive summary

ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมอาหารมีความต้องการในการใช้สารสีจากธรรมชาติเป็นส่วนผสมในอาหารมากขึ้น เพื่อเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ ช่วยในการส่งเสริมสุขภาพแทนสารสีสังเคราะห์ แอนโทไซยานินเป็นกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิกและเป็นรงควัตถุหลักที่ให้สีแดง ม่วง และน้ำเงินในพืช ผัก และ ผลไม้ งานวิจัยแสดงให้เห็นว่า แอนโทไซยานินนั้นจัดเป็นองค์ประกอบหลักที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพสูง มีคุณสมบัติช่วยส่งเสริมสุขภาพรวมถึง ช่วยต้านสารอนุมูลอิสระซึ่งมีบทบาทสำคัญในการป้องกันการอักเสบ ป้องกันการเกิดกิจกรรมของมะเร็งและลด oxidative stress ของอวัยวะ เป็นต้น (Posuwan *et al.*, 2013) ในกระบวนการสีข้าวผลิตผลพลอยได้ที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการ ได้แก่ เปลือกข้าว, จมูกข้าว และ เยื่อหุ้มเมล็ดหรือที่เรียกว่า รำข้าว ซึ่งส่วนประกอบของรำข้าวนี้ประกอบไปด้วยสารอาหารที่อุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) รวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) หลายชนิด ได้แก่ กรดไขมันจำเป็น กรดอะมิโน สารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน ฟลาโวนแทนนิน สเตอรอล และ แกมมา-ออโรซานอล สารให้สีจากรำข้าวจัดเป็น Functional food ที่ถูกนำไปใช้ในอาหาร เช่น เครื่องดื่ม ไอศกรีม และ ผลิตภัณฑ์นม เป็นต้น

กระบวนการสกัดเป็นกระบวนการที่สำคัญในการแยกสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพรวมถึงสารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานิน อย่างไรก็ตาม วิธีการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมด้วยตัวทำละลายนั้นยังมีข้อด้อยคือได้ผลผลิตจากการสกัดน้อย ใช้เวลาในการสกัดค่อนข้างนาน และใช้สัดส่วนตัวทำละลายอินทรีย์ที่สูงอาจก่อให้เกิดปัญหาสิ่งแวดล้อมและเป็นอันตรายต่อสุขภาพ งานวิจัยนี้จึงมีแนวคิดเพื่อลดข้อด้อยดังกล่าวด้วยวิธีสกัดโดยใช้สนามไฟฟ้าแบบปานกลาง (moderate electric field, MEF) ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ซึ่งเป็นกระบวนการให้สนามไฟฟ้าที่ต่ำกว่า 1000 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นกระบวนการที่อาจจะเกิดความร้อนหรือไม่เกิดก็ได้ ขึ้นกับจุดประสงค์การใช้งาน ซึ่งในระหว่างการสกัดจะเกิดการเหนี่ยวนำทำให้เกิดความต่างศักย์ระหว่างผนังเซลล์ก่อให้เกิดความสามารถการซึมผ่านของเซลล์โดยกระบวนการอิเล็กโตโพรเซชัน เกิดการก่อตัวของรูในเยื่อหุ้มเซลล์ ส่วนการสกัดโดยใช้ความดัน (Sastry, 2008) สามารถเพิ่มผลผลิตจากการสกัดได้สูงขึ้นที่อุณหภูมิการสกัดที่ต่ำในระยะเวลาการสกัดที่สั้นและใช้สารสกัดอินทรีย์ที่น้อยลง

มีการศึกษาจำนวนมากรายงานเกี่ยวกับวิธีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากพืช แต่อย่างไรก็ตาม ไม่พบรายงานที่มีการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ MEF ภายใต้ความดันช่วยในการสกัดโดยเฉพาะอย่างยิ่งในรงควัตถุสารสีในข้าว ดังนั้นวัตถุประสงค์สำคัญของการวิจัยนี้คือการพัฒนากระบวนการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน และศึกษาอิทธิพลของการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันกับคุณภาพทางกายภาพ, สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและองค์ประกอบของแอนโทไซยานินของสารสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สภาวะการสกัดที่ความถี่, สนามไฟฟ้า และ ระยะเวลาที่แตกต่างกัน

วัตถุประสงค์

1. เพื่อพัฒนาระบบของกระบวนการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ระบบความดัน
2. เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมการสกัดสารสีธรรมชาติจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่
3. เพื่อหาผลกระทบของการสกัดต่อคุณภาพทางกายภาพ การออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และแอนโทไซยานินของผงสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่

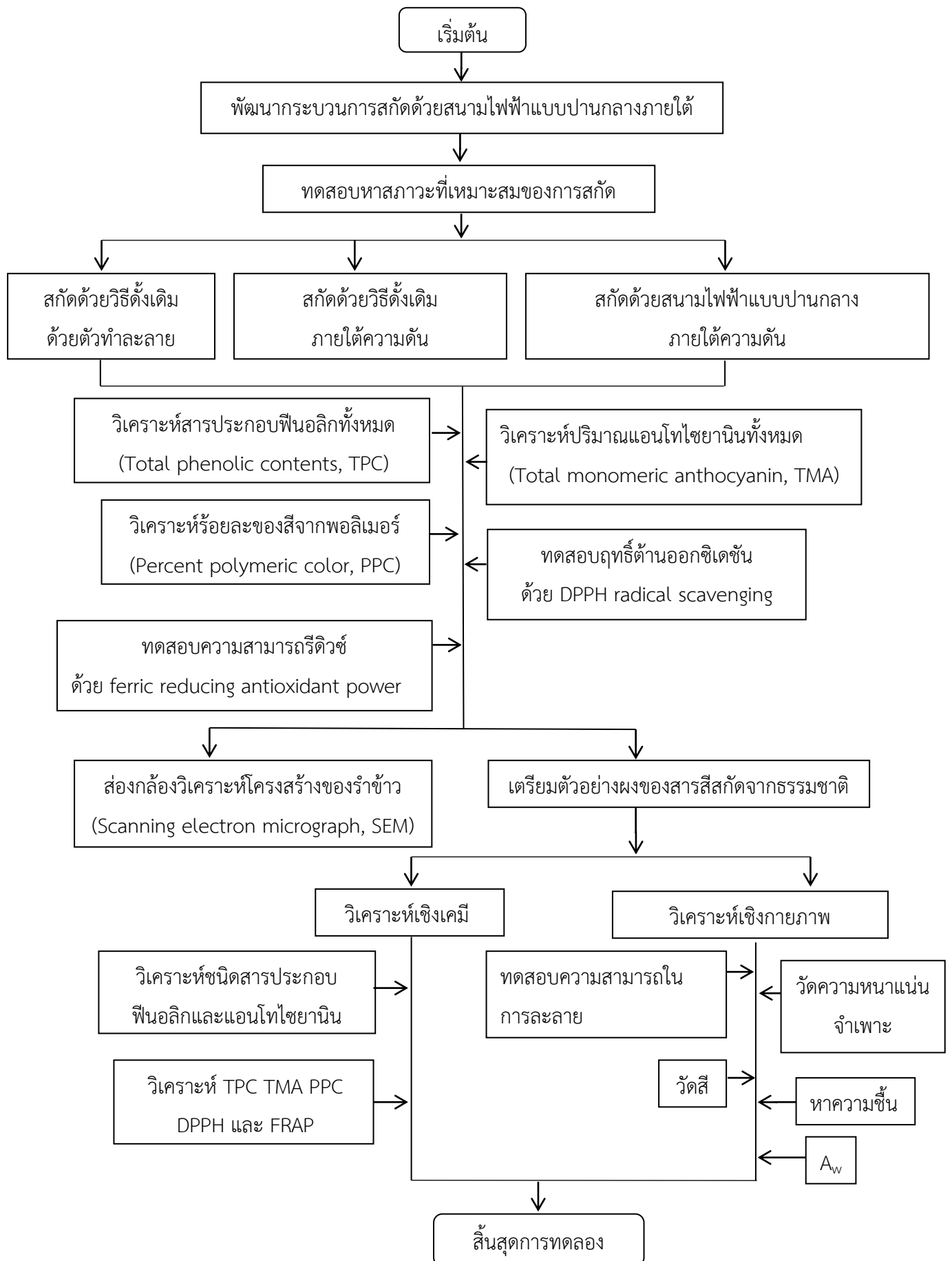
อุปกรณ์และวิธีการ

การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่

งานวิจัยนี้เป็นการพัฒนาการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันโดยใช้รำข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นต้นแบบงานวิจัย โดยการนำสนามไฟฟ้าแบบปานกลางและระบบความดันมาใช้ร่วมกันในการสกัดกระบวนการที่ใช้สนามไฟฟ้านี้ส่งผลกระทบอย่างมีนัยสำคัญกับโครงสร้างเซลล์ของอาหารและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ ก่อให้เกิดความสามารถการซึมผ่านสารสำคัญของรำข้าวโดยกระบวนการอิเล็กโตโพรเซชันผ่านรูที่เกิดจากแรงของสนามไฟฟ้าในเยื่อหุ้มเซลล์ ส่วนความดันอาจมีส่วนเพิ่มผลผลิตจากการสกัดได้สูงขึ้น

ขั้นตอนการดำเนินงานโดยรวม

ขั้นตอนการดำเนินงานเริ่มจากนำข้าวกล้องไรซ์เบอร์รี่มาผ่านกระบวนการขัดสีแยกข้าวขาวและรำข้าวออกจากกัน รำข้าวที่ได้จะถูกนำมาร่อนผ่านตะแกรกร่อน 60 mesh แล้วเก็บไว้ในถุงอะลูมิเนียมฟอยล์ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียสเพื่อเตรียมเป็นตัวอย่างในการทดลองขั้นต่อไป แผนผังแสดงขั้นตอนการดำเนินงานโดยรวม (รูปที่ 1)



ภาพที่ 1 แผนผังแสดงขั้นตอนการดำเนินงานโดยรวม

การพัฒนากระบวนการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดัน

เครื่องสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันถูกออกแบบโดยให้หลอดแก้วทรงกระบอก (treatment chamber) ปิดด้วยแท่นอิเล็กโทรดสองด้านที่ยึดแท่นอิเล็กโทรดกับตัวแก้วด้วยแผ่นเหล็ก และควบคุมระบบสกัดให้อุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส ด้วยกล่องหล่อเย็นสำหรับหล่อเย็นให้กับระบบด้วยน้ำเย็น และควบคุมระบบให้เป็นระบบปิดโดยทำการติดตั้งระบบความดันกับฝาปิดแก้วด้านบนและติดตั้งระบบไฟฟ้า จากนั้น ทำการเสียบสายไฟที่เชื่อมกับหัวอิเล็กโทรดเข้ากับแหล่งจ่ายไฟฟ้าโดยสนามไฟฟ้า 16.67 โวลต์ต่อเซนติเมตร ซึ่งทำการวัดกระแสไฟฟ้าโดย Pearson current transformer (Person Electronics Inc., Palo Alto, CA, USA) และทำการวัดและบันทึกอุณหภูมิในระหว่างสกัด ความต่างศักย์ไฟฟ้า (voltage) และกระแสไฟฟ้า โดยใช้ data acquisition/switch unit

การศึกษาทดลองหาสัดส่วนที่เหมาะสม

เริ่มจากการปรับอัตราส่วนรำข้าวเบอร์รี่ ซึ่งใช้อัตราส่วนรำข้าวต่อสารสกัดเอทานอลที่ 1:200 1:100 1:50 และ 1:33 (ปริมาณของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.05 0.1 0.2 และ 0.3 กรัมต่อสารละลายเอทานอล 10 มิลลิลิตร ตามลำดับ) โดยนำตัวอย่างรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ลงไปหลอดแก้วทรงกระบอกแล้วปั่นผสมให้เป็นเนื้อเดียวกันด้วยเครื่องกวนสารระบบแม่เหล็กที่ด้านล่างหลอดแก้ว และทำการสกัดด้วยกระบวนการสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดัน 1 บาร์ ที่ความแรงสนามไฟฟ้า 16.67 โวลต์ต่อเซนติเมตร ความถี่ 30 เฮิร์ตซ์ เวลาการสกัด 30 นาที จากนั้นนำสารสกัดที่ได้ไปเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5,000 g ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และนำมากรองแบบสุญญากาศด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 หลังจากนั้น นำสารสกัดรำข้าวที่ได้ไปวิเคราะห์ทางเคมีโดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด วิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันและวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

การศึกษาการสกัด

ศึกษาการสกัดโดยการเปรียบเทียบ 1) วิธีการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดัน 2) วิธีการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางปราศจากความดัน 3) การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน และ 4) การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ วิธีการสกัดทั้ง 4 วิธีดัดแปลงวิธีจาก Chen *et al.* (2012) สำหรับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ เริ่มต้นด้วยการผสมตัวอย่างกับสารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 ในที่ปราศจากแสงโดยใช้เวลาในการสกัด 30 60 และ 120 นาที ที่อุณหภูมิห้อง ส่วนวิธีการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดัน และการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางปราศจากความดัน จะให้สนามไฟฟ้ากับสารผสมในหลอดแก้วทรงกระบอกที่ห่อหุ้มด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์เพื่อป้องกันการแสงจากภายนอก โดยให้ความแรงสนามไฟฟ้า (2.92 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร) ความถี่ (50 เฮิร์ตซ์) และ เวลาในการสกัด (30 60 และ 120 นาที) ที่แตกต่างกันและควบคุมอุณหภูมิระหว่างสกัดในช่วง 25-30 องศาเซลเซียสภายใต้ความดัน

1 บาร์ นำสารสกัดที่ได้ไปเหวี่ยงแยกตะกอนโดยเครื่องเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 5000 g อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และนำมากรองแบบสุญญากาศด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 เก็บสารสกัดในขวดแก้วสีชาที่ -18 องศาเซลเซียส

การออกแบบการทดลอง

การทดลองถูกออกแบบแผนการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) 2 ปัจจัย ซึ่งจะนำมาใช้ในการหาสภาวะการสกัดที่เหมาะสมของการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันที่เวลาในการสกัด และ ความเข้มสนามไฟฟ้าที่แตกต่างกัน แสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แสดงตัวแปรต้นที่ใช้สำหรับการหาสภาวะที่เหมาะสมที่ความดันคงที่ 1 บาร์

ตัวแปรต้น	หน่วย	สัญลักษณ์	ระดับ		
			-1	0	1
เวลา	นาที่	X_1	30.00	60.00	120.00
ความเข้มสนามไฟฟ้า	โวลต์/เซนติเมตร	X_2	2.92	5.85	11.54

การเตรียมสารสีสกัดแบบผง (color powder)

กระบวนการทำสารสีธรรมชาติแบบผง (Duangmal *et al.*, 2008) เติมน้ำให้ความคงตัว (มอลโทเดกซ์ทริน 2 กรัมต่อสารสกัด 100 มิลลิลิตร) ลงในสารสกัดและแช่เยือกแข็งที่ -50 องศาเซลเซียสก่อนนำไปเข้าเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งภายใต้สุญญากาศ 200-250 mT ที่อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 20 ชั่วโมง สารสกัดจะเกิดการแห้งจนกลายเป็นผงและเก็บในขวดแก้วสีชาที่ 4 องศาเซลเซียส

การวิเคราะห์ทางเคมี

การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (total phenolic content, TPC)

วิเคราะห์โดยใช้วิธี โพลิน-ไซโอแคลทู (Singleton *et al.*, 1999) โดยผสมสารสกัดตัวอย่าง 250.0 ไมโครลิตรกับ สารประกอบโพลิน-ไซโอแคลทูฟีนอล 500.0 ไมโครลิตร และน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและเติมโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 15 ปริมาตร 2 มิลลิลิตร หลังจากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนมีปริมาตร 10.0 มิลลิลิตร และบ่มทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง ตรวจวัดการดูดกลืนแสงโดย UV- spectrophotometer ที่ 750 นาโนเมตร

การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (total monomeric anthocyanin, TMA)

วิเคราะห์โดยใช้วิธีวิธีพีเอช-ดิฟเฟอเรนเชียล (pH-differential) (Giusti and Wrolstad, 2005) โดยเจือจางสารสกัด 10 ครั้งกับ สารละลายบัฟเฟอร์ของโพแทสเซียมคลอไรด์ pH 1.0 และสารละลายบัฟเฟอร์ของโซเดียมอะซิเตท pH 4.5 บ่มที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที แล้วนำมาวัดการดูดกลืนแสงโดย UV-spectrophotometer ที่ 513 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร โดยปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด จะคำนวณจากเทอมของ cyanidin-3-glucoside ความเข้มข้นของ monomeric anthocyanins contents คำนวณโดยสมการ (1):

$$\text{Monomeric anthocyanins content (mg/L)} = [A_{\text{diff}} \times M_w \times DF \times 1000] / \epsilon \quad (1)$$

เมื่อ M_w คือน้ำหนักโมเลกุลของ Cyanidin-3-glucoside (449.2)

DF คือ dilution factor (10)

ϵ คือ molar absorptivity of Cyanidin-3-glucoside (26,900 L/mol cm)

และ A_{diff} คำนวณจากสมการ (2):

$$A_{\text{diff}} = (A_{513} - A_{700})_{\text{pH}1.0} - (A_{513} - A_{700})_{\text{pH}4.5} \quad (2)$$

โดย A_{513} คือค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดราข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ความยาวคลื่น 513 นาโนเมตร

A_{700} คือค่าดูดกลืนแสงของสารสกัดราข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร

เพื่อลดผลกระทบจากความขุ่นหรือการตกตะกอนของสารสกัด

การวัด Polymerized anthocyanin และร้อยละของสีจากพอลิเมอร์ (percent polymeric color, PPC)

การวัด Polymerized anthocyanin และร้อยละของสีจากพอลิเมอร์ (Wang *et al.*, 2016) คืออัตราส่วนของสารประกอบแอนโทไซยานินในรูปพอลิเมอร์และโมโนเมอร์แอนโทไซยานิน โดยสามารถคำนวณได้โดยอัตราส่วนระหว่างสีของพอลิเมอร์ต่อความหนาแน่นของสีทั้งหมดคูณด้วย 100 ในสมการที่ (3)

$$PPC = \frac{\text{polymeric color}}{\text{color density}} \times 100 \quad (3)$$

การวัด Polymerized anthocyanin ใช้วิธีจาก Wang *et al.* (2016) โดยการผสมตัวอย่างสารสกัดราข้าวไรซ์เบอร์รี่ 2.8 มิลลิลิตรกับ 0.2 กรัมต่อมิลลิลิตร โพแทสเซียมเมทอะไบซัลไฟต์ 0.2 มิลลิลิตร บ่มสารผสมไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที และวัดค่าการดูดกลืนแสงโดย UV-spectrophotometer ที่ 420 นาโนเมตร 700 นาโนเมตร และ $\lambda_{\text{vis max}}$ 529 นาโนเมตร นำค่าสีของพอลิเมอร์และความหนาแน่นของสีที่ได้คำนวณตามสมการที่ (4)

$$[(A_{420} - A_{700 \text{ nm}}) + (A_{\lambda_{\text{vis max}}} - A_{700 \text{ nm}})] \times \text{dilution factor} \quad (4)$$

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging activity ดัดแปลงวิธีจาก Brand-Williams *et al.* (1995) สารสกัดเจือจาง 2.0 มิลลิลิตรผสมกับสารละลาย DPPH radical ในเมทานอล 2.0 มิลลิลิตร เก็บสารผสมในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง 30 นาที วัดการดูดกลืนแสงโดยใช้ UV- spectrophotometer ที่ 517 รายงานผลเป็น มิลลิกรัมของ BHT เทียบกับกรัมของน้ำหนักแห้งตัวอย่าง

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย ferric reducing antioxidant power (FRAP)

การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วย FRAP ดัดแปลงวิธีการจาก Benzie และ Strain (1999) และ Sutharut และ Sudarat (2012). โดยการผสมสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 200 ไมโครลิตร กับ 1.3 มิลลิลิตรสารประกอบ FRAP ที่เตรียมไว้ (สารละลายบัฟเฟอร์ของอะซิเตด 0.3 โมลลาร์ pH 3.6 : 10 มิลลิโมล TPTZ ใน 40 มิลลิโมล ไฮโดรคลอริก : 20 มิลลิโมล FeCl₃ ในอัตราส่วน 10:1:1 (v/v/v)) และบ่มเป็นเวลา 30 นาที ที่ 37 องศาเซลเซียสวัดการดูดกลืนแสงโดย UV-spectrophotometer ที่ 595 นาโนเมตร รายงานค่าของ FRAP เป็นโมลของ Fe(II) equivalent ต่อกรัมของน้ำหนักแห้งตัวอย่าง

การวิเคราะห์ชนิดสารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยเทคนิค HPLC

การวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิกจะใช้สารละลายเอทานอลร้อยละ 30 เป็นสารละลายในการสกัด และใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 เป็นสารละลายในการสกัด แอนโทไซยานิน โดยใช้เวลาในการสกัด 30 นาที เพื่อจำแนกชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ ซึ่งวิธีในการวิเคราะห์นั้น ใช้การวิเคราะห์ด้วย HPLC ที่ประกอบด้วย เครื่องกำจัดอากาศ (Waters, U.S.A.) เครื่องตรวจจับสัญญาณแบบ Photodiode array (Waters, รุ่น 2998, U.S.A.) เครื่องควบคุม (Waters, รุ่น 600, U.S.A.) เครื่องสูบล้างตัวอย่างอัตโนมัติ (Waters, รุ่น 2707, U.S.A.) คอลัมน์ C18 (5 mm, 4.6 mm x 250 mm) (Waters, Symmetry, U.S.A.) และโปรแกรม Empower chromatography data (Waters, version Empower 2, U.S.A.) ในการวิเคราะห์ผลการทดลอง

สารสกัด 20 ไมโครลิตรจะถูกชะเข้าสู่ระบบแบบ gradient ด้วยอะซิโตนไตรัท (A) และกรดฟอสฟอริก ความเข้มข้นร้อยละ 1 (B) โดยมีอัตราการไหล 1 มิลลิลิตรต่อนาที ดังตารางต่อไปนี้

ตารางที่ 2 อัตราส่วนของภูมิภาคเคลื่อนที่

เวลา (นาทื)	อะซิโตไนไตรท์ (A) (ร้อยละ)	กรดฟอร์มิกร้อยละ 1 (B) (ร้อยละ)
0	5	95
5	10	90
10	15	85
30	25	75
40	50	50
45	5	95
60	5	95

สารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินจะถูกวิเคราะห์โดยเปรียบเทียบจาก retention time และ สเปกตรัม UV จากสารมาตรฐาน สารประกอบฟีนอลิกวิเคราะห์ที่ 260 นาโนเมตร สำหรับกรดวานิลลิก 270 นาโนเมตร สำหรับกรดแกลลิก และ 320 นาโนเมตรสำหรับกรดเฟอรูลิก แอนโทไซยานินวิเคราะห์ที่ 520 นาโนเมตรสำหรับทั้ง C3G และ P3G ความแปรปรวนของผลการทดลองมีค่าคงที่ในระดับต่ำกว่าร้อยละ 10

การวิเคราะห์ทางกายภาพ

การทดสอบความสามารถในการละลาย

การทดสอบความสามารถในการละลายของผงดัดแปลงวิธีจาก Anema *et al.* (2006) โดยผสมผง สารสกัดน้ำกลั่นและปั่นกวนด้วยเครื่องกวนระบบแม่เหล็ก และแยกส่วนที่ไม่ละลายโดยเครื่องเหวี่ยงแยก นำ ส่วนใสซึ่งน้ำหนักในจานระเหยและนำไปทำแห้งโดยตู้อบลมร้อน คำนวณร้อยละความสามารถในการละลาย ตามสมการ (5):

$$\% \text{ solubility} = \frac{\text{Weight of dried sample}}{\text{Weight of sample}} \times 100 \quad (5)$$

การหาค่าความหนาแน่นจำเพาะ, water activity (A_w) และ ความชื้นของผงลี

ความหนาแน่นจำเพาะของตัวอย่างคำนวณจากอัตราส่วนของมวลและปริมาตรของตัวอย่างและ Water activity ดัดแปลงวิธีจาก Loypimai *et al.* (2015) วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง water activity analyzer ส่วนความชื้นสามารถคำนวณจากสมการ (6)

$$MC = \frac{\text{Initial weight} - \text{Oven dry weight}}{\text{Oven dry weight}} \times 100 \quad (6)$$

การวัดสีของตัวอย่าง

สีของผงตัวอย่างวัดโดยเครื่อง minolta colorimeter.ทำตามวิธีของ Loypimai *et al.* (2015) อธิบายผลด้วยระบบ CIELAB (L^* , a^* , b^*) โดย L^* แสดงถึงความสว่าง (lightness) จากค่า $+L^*$ แสดงถึงสีขาว จนถึง $-L^*$ แสดงถึงสีดำ โดย Chroma แสดงถึงความมันวาวหรือความเข้มของโทนสี ($a^*=b^*=0$)

การวิเคราะห์พื้นผิวของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

การวิเคราะห์พื้นผิวของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscopy, SEM) ทำตามวิธีของ Loypimai *et al.* (2015) เพื่อสังเกตการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างพื้นผิวระหว่างรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านกระบวนการการสกัดแบบดั้งเดิมด้วยตัวทำละลายภายใต้ความดัน และการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันเทียบกับการสกัดแบบดั้งเดิมด้วยตัวทำละลายปราศจากความดัน

การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ทางสถิติทั้งหมดจะดำเนินการโดยใช้โปรแกรม Minitab วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และ จำแนกความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดย Tukey's multiple range test ระหว่างการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันและวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันเพื่อหาความสัมพันธ์ของปัจจัยและหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดที่มีประสิทธิภาพการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่มากที่สุด

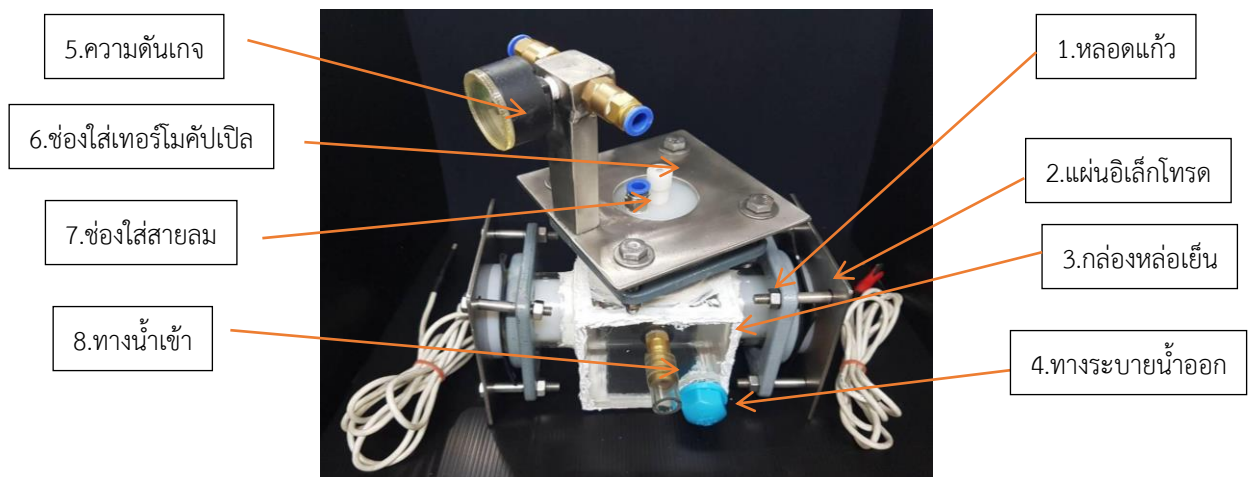
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

กระบวนการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดัน

เครื่องสกัดโดยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันที่พัฒนาขึ้นสามารถใช้สกัดตัวอย่างโดยใช้สนามไฟฟ้าต่ำกว่า 1,000 โวลต์ต่อเซนติเมตรซึ่งเป็นสนามไฟฟ้าที่ค่อนข้างอ่อน แต่ส่งผลกระทบต่อโครงสร้างเซลล์ของอาหารและวัสดุชีวภาพอื่นๆ เพื่อวัตถุประสงค์ที่เฉพาะเจาะจง นอกจากนี้ การประยุกต์ใช้ภายใต้ความดันหรือความดันเป็นบวก (positive pressure) อาจสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดได้

ตัวเครื่องประกอบด้วย (1) หลอดแก้วเส้นผ่านศูนย์กลางภายในขนาด 50 มิลลิเมตร ใช้สำหรับบรรจุตัวอย่าง (2) แผ่นอิเล็กทรอนิกส์ทำหน้าที่ส่งผ่านกระแสไฟฟ้า (3) ถังหล่อเย็น สำหรับหล่อเย็นให้กับระบบด้วยน้ำหล่อเย็น (4) ทางระบายน้ำออก สำหรับระบายน้ำหล่อเย็นที่ค้างในถังหล่อเย็น (5) ความดันเกจ สำหรับวัดความดันในระบบ (6) ช่องใส่เทอร์โมคัปเปิล (Thermocouple) สำหรับเสียบเทอร์โมมิเตอร์วัดอุณหภูมิ (7) ช่องใส่สายลม สำหรับเสียบสายลมเพื่อให้ความดันแก่ระบบ (8) ทางน้ำเข้า สำหรับนำน้ำหล่อเย็นเข้าถังหล่อเย็น (9) ทางน้ำออก สำหรับน้ำหล่อเย็น และ (10) แผ่นเหล็กยึดแก้ว สำหรับยึดแท่นอิเล็กทรอนิกส์กับหลอดแก้ว ลักษณะการประกอบเครื่องสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันแสดงในภาพที่ 2

ขั้นตอนกระบวนการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันเริ่มจากการนำตัวอย่างใส่ลงไปในหลอดแก้วและปิดด้วยแท่นอิเล็กทรอนิกส์ทั้งสองด้าน จากนั้นยึดแท่นอิเล็กทรอนิกส์กับตัวแก้วด้วยแผ่นเหล็ก แล้วควบคุมระบบสกัดให้อุณหภูมิอยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส ด้วยระบบน้ำหล่อเย็นและปิดระบบให้เป็นระบบปิดโดยทำการติดตั้งระบบความดันกับฝาปิดแก้วด้านบน หลังจากนั้นทำการติดตั้งระบบไฟฟ้าโดยการเสียบสายไฟที่เชื่อมกับหัวอิเล็กทรอนิกส์เข้ากับแหล่งจ่ายไฟฟ้าโดยใช้สนามไฟฟ้า 16.67 โวลต์ต่อเซนติเมตรที่ความถี่ 30 เฮิร์ตซ์ และใช้เวลาการสกัด 30 นาที



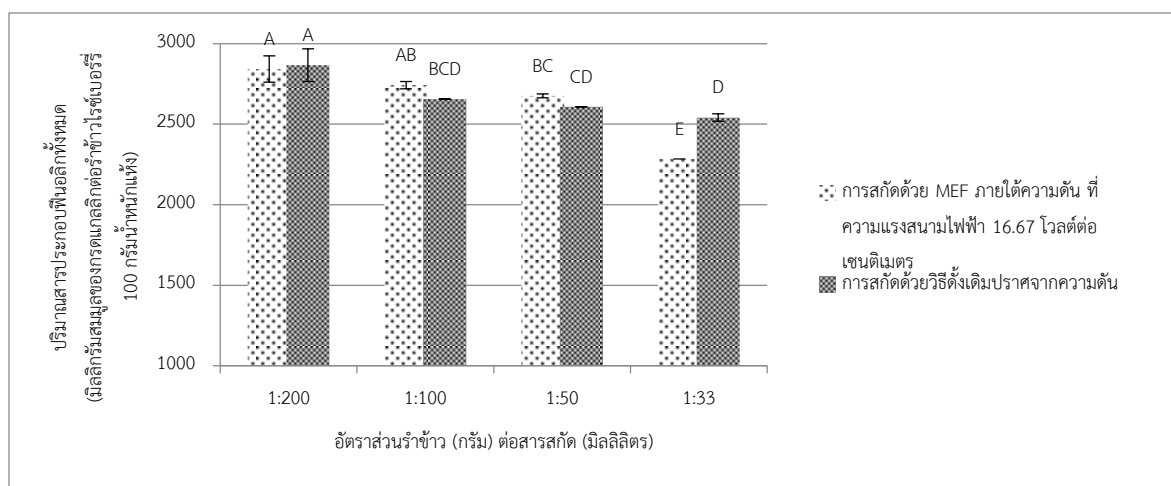


ภาพที่ 2 เครื่องสกัดโดยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดัน

จากการทดลองเบื้องต้น (preliminary study) เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายเอทานอล (ร้อยละ 0 30 50 และ 70) และเวลาที่แตกต่างกัน ในการสกัดต้านอนุมูลอิสระในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ (30 60 120 และ 180 นาที) พบว่าผลการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีประสิทธิภาพมากที่สุด โดยใช้ความเข้มข้นสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 เป็นเวลา 30 นาที และเมื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด โดยเพิ่มสารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอล เพื่อป้องกันการสลายตัวของแอนโทไซยานินและคงสภาพในแอนโทไซยานินอยู่ในรูปที่เสถียร (Puértolas *et al.*, 2013) พบว่าที่สารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 มีประสิทธิภาพในการสกัดไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (cyanindin-3-O-glucoside, C3G) และพีโอนิดิน-3-กลูโคไซด์ (peonidin-3-O-glucoside, P3G) ได้ดีที่สุด ดังนั้น จึงทำการเลือกใช้ความเข้มข้นสารละลายเอทานอล 2 ระดับความเข้มข้นคือ สารละลายเอทานอลร้อยละ 30 และสารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 ในการทดลองเพื่อหาอัตราส่วนรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อสารละลายในขั้นตอนต่อไป

ผลของการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีมาตรฐานปราศจากความดันและวิธี MEF ภายใต้ความดัน ที่ความแรงสนามไฟฟ้า 16.67 โวลต์ต่อเซนติเมตร ความถี่ 30 เฮิร์ตซ์ เป็นเวลา 30 นาที โดยใช้สารละลายเอทานอลร้อยละ 30 แสดงดังภาพที่ 2 จะเห็นว่าอัตราส่วนของรำข้าว 0.05 กรัมต่อสารละลายเอทานอล 10 มิลลิลิตร หรืออัตราส่วนรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1:200 ด้วยวิธีการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันกับวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน มีผลในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดดีที่สุด และไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) แต่เมื่อเพิ่มปริมาณของรำข้าวให้สูงขึ้น พบว่าประสิทธิภาพในการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมีแนวโน้มลดลง อาจเกิดจากผนังเซลล์สูญเสียความสามารถในการเลือกผ่าน โครงสร้างผนังเซลล์เกิดความเสียหายจากกระบวนการสกัดทำให้อัตราการถ่ายโอนมวลสารเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิก ต่าง ๆ ภายในเซลล์ ซึ่งจะถูกละลายด้วยสารตัวทำละลายและเคลื่อนที่จากความเข้มข้นมาก (ภายในเซลล์) ไปยังความเข้มข้นน้อย (ภายนอกเซลล์) เพื่อให้เกิดความสมดุลของโมเลกุลในระบบ และเกิดความอึดตัวของสารประกอบฟีนอลิก ส่งผลให้เมื่อเพิ่มปริมาณของรำข้าวให้สูงขึ้น ความสามารถในการละลายมีจำกัดกว่า 1:200 (Aleixandre *et al.*, 2018) จึงทำให้อัตราส่วนรำข้าว

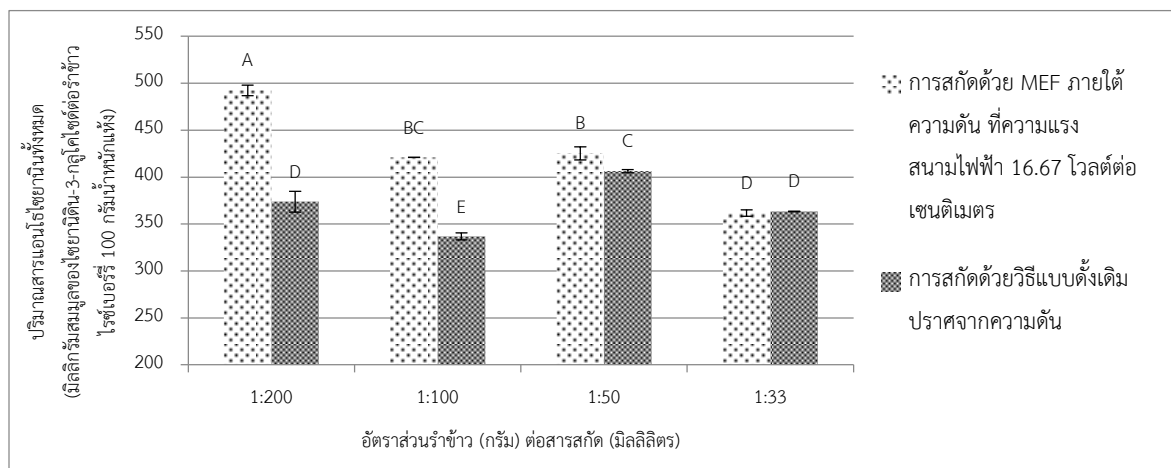
ไรซ์เบอร์รี 1:200 มีความเหมาะสมที่จะทำให้สารสกัดมีประสิทธิภาพการสกัดสูงกว่าอัตราส่วนที่มีรำข้าวไรซ์เบอร์รี 1:100 1:50 และ 1:33



ภาพที่ 3 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 สกัดด้วยสนามแม่เหล็กไฟฟ้าแบบปานกลาง ภายใต้ความดัน 1 บาร์ เทียบกับวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน
หมายเหตุ ตัวอักษร A-E ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ผลของวิธีสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รีด้วยวิธีมาตรฐานปราศจากความดันและวิธี MEF ภายใต้ความดันต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดโดยใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 แสดงในภาพที่ 3 จะเห็นว่าที่อัตราส่วนรำข้าว 1:200 เป็นอัตราส่วนที่มีผลในการสกัดสารแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงที่สุด นอกจากนี้ การสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดันมีประสิทธิภาพสูงกว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน ($p < 0.05$) ในช่วงอัตราส่วนของรำข้าว 1:200 1:100 และ 1:50 โดยการสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดัน ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากปฏิกิริยาอิเล็กโทรพอลิเมอร์ระหว่างการสกัดด้วย MEF โดยที่ความแรงสนามไฟฟ้าทำให้เกิดการเหนี่ยวนำประจุไฟฟ้ามาสะสมที่ผนังเซลล์รำข้าวไรซ์เบอร์รีจนทำให้ค่าความเข้มข้นไฟฟ้ามากกว่าค่าความเข้มข้นไฟฟ้าวิกฤตส่งผลให้เซลล์เกิดการแตกและเกิดรูพรุนเล็ก ๆ จำนวนมากที่ผนังเซลล์ จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการแพร่ของสารผ่านการเกิดรูที่ผนังเซลล์ทำให้ผนังเซลล์สูญเสียสภาพการแลกเปลี่ยนสารผ่านเข้าออกระหว่างเซลล์ (Kulshrestha and Sastry, 2010; Sensoy and Sastry, 2004) นอกจากนี้ยังเป็นผลมาจากสารแอนโทไซยานินที่อยู่ในรำข้าวส่วนใหญ่มีโครงสร้างอยู่ในรูปของไกลโคไซด์ (glycoside) ทำให้มีคุณสมบัติการเข้ากันได้ (compatibility) ระหว่างสารแอนโทไซยานินกับสารสกัดเอทานอล (Silva *et al.*, 2007) และอาจเป็นผลมาจากสารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลที่ใช้สกัดช่วยป้องกันการสลายตัวและคงสภาพของสารแอนโทไซยานินให้อยู่ในรูปที่เสถียร (Puértolas *et al.*, 2013) จึงทำให้ผลของการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันมีค่าสูงกว่าวิธีมาตรฐานปราศจากความดัน ($p < 0.05$) นอกจากนี้วิธี MEF ยังมีการประยุกต์ใช้ความดันเพื่อช่วยเพิ่มประสิทธิภาพใน

การสกัด ซึ่งความดันอาจส่งผลให้เซลล์เกิดการเสียรูปทรง ทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อเซลล์ สารตัวทำลายจึงสามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ดีขึ้นในระหว่างกระบวนการสกัด (Kotovicz and Zanoelo, 2013)



ภาพที่ 4 ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 สกัดด้วยสนามแม่เหล็กไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันเทียบกับวิธีมาตรฐานปราศจากความดัน

หมายเหตุ ตัวอักษร A-E ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

จากการทดลองหาอัตราส่วนรำข้าวต่อปริมาณสารสกัดเอทานอลภายใต้ความดันข้างต้น หลังจากวิเคราะห์ทางเคมีและวัดค่าการดูดกลืนแสงเพื่อหาปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดด้วยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงและวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่างการสกัดด้วยสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันและวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ พบว่าปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในสารละลายเอทานอลร้อยละ 30 ซึ่งสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันและปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 ซึ่งสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน สารทั้งสองชนิดมีค่าสูงที่สุดเมื่อใช้อัตราส่วนของรำข้าว 1:200 ดังนั้นจึงใช้อัตราส่วนดังกล่าวในการทำการทดลองขั้นต่อไป แต่เนื่องจากสารแอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุหลักที่ให้สีกับข้าวไรซ์เบอร์รี่ ดังนั้นในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดสารสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ขั้นต่อไปจึงเลือกใช้สารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 เป็นสารตัวทำลายในกระบวนการสกัดต่อไป

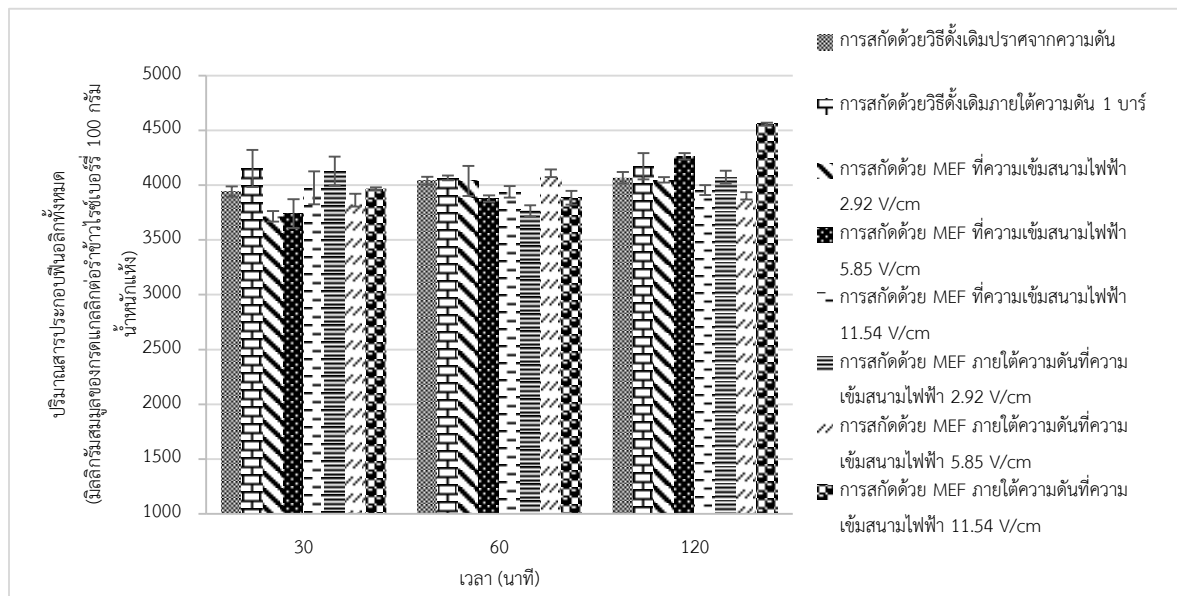
ผลของสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณฟีนอลิกที่ทำการสกัดด้วย 1) วิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน 2) วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน 3) การสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน และ 4) การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ที่ระดับนัยสำคัญที่ $p < 0.05$ **ภาพที่ 5** แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีผลจากความแรงสนามไฟฟ้า (2.92, 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร), ความดัน (0 และ 1 บาร์) และเวลา (30, 60 และ 120 นาที) ในสภาวะการสกัดที่แตกต่างกัน ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 3,715.1 ถึง 4,557.9 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที พบว่าสารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ($p < 0.05$)

เมื่อศึกษาผลของความดันต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน วิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน และการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อพิจารณาผลของความดันและเวลา จะเห็นได้ว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันเป็นเวลา 30, 60 และ 120 นาที ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังนั้นความดันและระยะเวลาไม่ส่งผลกับการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการประยุกต์ใช้ความดันร่วมกับ MEF จะเห็นได้ว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ($p < 0.05$) ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากความดันส่งผลให้เซลล์เกิดการเสียรูปทรงจึงทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อเซลล์เพิ่มขึ้น (Kotovicz and Zanoelo, 2013) อีกทั้งความดันสามารถทำให้เกิดการ deprotonation ของกลุ่มประจุ เกิดการทำลายสะพานไอออน (salt bridges) และพันธะไฮโดรโฟบิก (hydrophobic bond) เป็นผลให้โครงสร้างประจุและเกิดการเสียสภาพเป็นเหตุให้ผนังเซลล์สูญเสียความสามารถในการเลือกผ่าน ซึ่งความสามารถในการละลายของสารประกอบภายในเซลล์จะเพิ่มขึ้นเมื่อความดันเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ความดันยังช่วยเพิ่มอัตราการถ่ายโอนมวลสารซึ่งเกิดจากโครงสร้างผนังเซลล์เกิดความเสียหายทำให้ความสามารถการแทรกซึมผ่านเซลล์ของสารตัวทำละลายเพิ่มขึ้น โดยสารประกอบต่าง ๆ ภายในเซลล์จะถูกละลายด้วยสารตัวทำละลายและเคลื่อนที่จากความเข้มข้นมาก (ภายในเซลล์) ไปยังความเข้มข้นน้อย (ภายนอกเซลล์) เพื่อให้เกิดความสมดุลของโมเลกุลในระบบระหว่างกระบวนการให้ความดันในระยะเวลาอันสั้น (Briones-Labarca *et al.*, 2015)

เมื่อศึกษาผลของความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดที่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธี MEF ปราศจากความดัน ที่ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังนั้นความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดันไม่ส่งผลต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดัน ที่ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาสกัดแตกต่างกันนาน 30 และ 60 นาที พบว่าความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาสกัด มีผลกับปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) แต่อย่างไรก็ตามที่ระยะเวลาสกัด 120 นาที การเพิ่มความแรงสนามไฟฟ้าส่งผลให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยสภาวะการสกัดที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 120 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกดีที่สุดใน ($p<0.05$) ซึ่งเป็นไปได้ว่าเมื่อใช้ความแรงสนามไฟฟ้าที่สูงที่ร่วมกับความดันและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น การสกัดด้วย MEF จะทำโดยให้กระแสไฟฟ้าสลับผ่านอิเล็กโทรดไปยังรำข้าว ส่งผลให้เกิดการวิ่งไปมาของประจุไฟฟ้าทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ ความแรงสนามไฟฟ้าที่ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำประจุไฟฟ้าทั้งภายในและภายนอกเซลล์มาสะสมที่ผนังเซลล์รำข้าว มีผลทำให้ค่าความแรงสนามไฟฟ้าที่บนผนังเซลล์มากกว่าค่าความแรงสนามไฟฟ้าวิกฤต ส่งผลให้ผนังเซลล์เกิดรูพรุนเป็นจำนวนมากจนทำให้ผนังเซลล์สูญเสียสภาพการแลกเปลี่ยนสารผ่านเข้าออกระหว่างเซลล์จึงส่งผลให้ตัวทำละลายสามารถแพร่เข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้นและนอกจากนี้ผนังเซลล์ของรำข้าวอาจเกิดความเสียหายจากความร้อนที่เกิดจากคุณสมบัติต้านทานไฟฟ้าของรำข้าวกระบวนการของ MEF จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด (Sensoy and Sastry, 2004) อีกทั้งยังมีความดันที่ช่วยสร้างความเสียหายต่อเนื้อเยื่อเซลล์ทำให้เซลล์เกิดการเสียรูปร่างและช่วยผลักดันสารตัวทำละลายเข้าออกเซลล์ (Kotovicz and Zanoelo, 2013) จากผลของการสกัดโดยการประยุกต์ MEF ร่วมกับความดันข้างต้นเมื่อใช้ระยะเวลาสกัดที่เพิ่มขึ้น อาจทำให้เซลล์เกิดความเสียหายมากกว่าการใช้ระยะเวลาสกัดที่สั้นและช่วยเพิ่มระยะเวลาการแพร่ของสารประกอบฟีนอลิกต่าง ๆ ภายในเซลล์ได้มากขึ้น ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่นั้นมีหลากหลายชนิด เช่น แอนโทไซยานิน กรดเฟอร์รูลิก (ferulic acid) กรดคูมาริก (coumaric acid) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) เป็นต้น (Shao *et al.*, 2014) ดังนั้นโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกในแต่ละชนิดจะส่งผลกับคุณสมบัติที่ไม่เหมือนกัน อาจเป็นไปได้ว่า ยิ่งใช้ระยะเวลาในการสกัดนาน ยิ่งสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนและมีความสามารถทนต่อสภาวะที่ส่งผลต่อการสลายตัวได้มากขึ้น จึงส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสภาวะดังกล่าวสูงที่สุด ($p<0.05$) จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ($p<0.05$) จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารฟีนอลิก



ภาพที่ 5 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีผลจากความแรงสนามไฟฟ้า (2.92, 5.85, 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร) ความดัน (0, 1 บาร์) และเวลา (30, 60, 120 นาที) ในการสกัดที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

P (บาร์)	EF (โวลต์ต่อ เซนติเมตร)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)		
		30 (นาที)	60 (นาที)	120 (นาที)
0	0	3,941.39±46.07 (D E F G H I)	4,039.36±35.78 (C D E F G)	4,066.70±53.25 (B C D E F G)
	2.92	3,715.07±48.09 (J)	4,037.91±138.30 (C D E F G)	4,048.07±25.12 (C D E F G)
	5.85	3,739.24±131.38 (I J)	3,877.12±30.02 (G H I J)	4,262.97±28.42 (B)
	11.54	3,975.13±150.53 (C D E F G H)	3,939.00±52.17 (E F G H I)	3,954.99±44.09 (D E F G H)
1	0	4,151.88±169.67 (B C D)	4,065.42±22.27 (B C D E F G)	4,172.16±120.17 (B C)
	2.92	4,129.36±131.67 (B C D E)	3,765.13±51.39 (H I J)	4,073.98±58.17 (B C D E F G)
	5.85	3,863.20±57.52 (G H I J)	4,108.44±33.82 (B C D E F)	3,901.72±33.10 (F G H I J)
	11.54	3,967.33±11.11 (C D E F G H)	3,883.87±63.14 (G H I J)	4,557.85±11.47 (A)

หมายเหตุ ตัวอักษร A-J ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

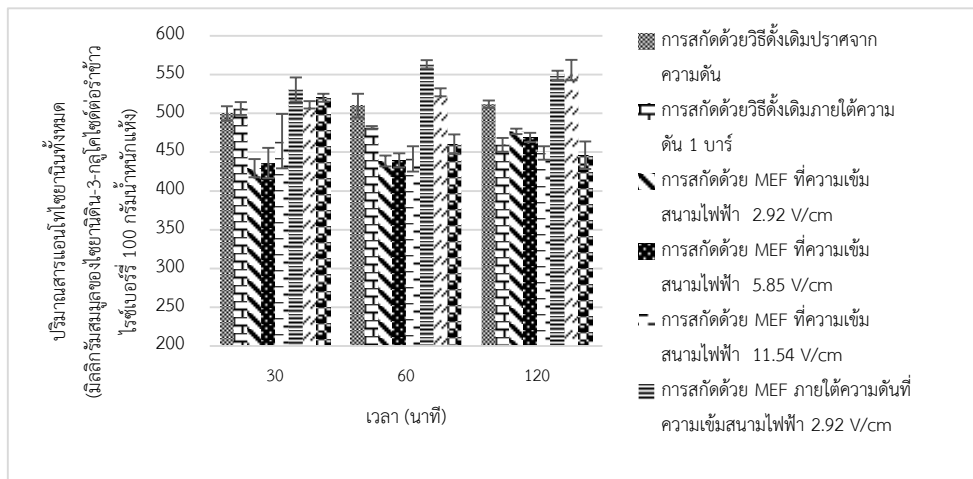
ผลของสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยระหว่าง 1) การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน 2) วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน 3) การสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน และ 4) การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ (ภาพที่ 6) พบว่า ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดมีผลจากความแรงสนามไฟฟ้า (2.92 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร) ความดัน (0 และ 1 บาร์) และเวลา (30 60 และ 120 นาที) ในการสกัดที่แตกต่างกัน ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 429.2 ถึง 563.2 มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง เมื่อสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 60 นาที, 5.85 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที, ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที และความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที สามารถสกัดแอนโทไซยานินทั้งหมดได้ดีที่สุดและไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$)

เมื่อศึกษาผลของความดันต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดในการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันที่ระยะเวลาสกัด 30, 60 และ 120 นาที และการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันที่ระยะเวลาสกัด 30 และ 60 นาที มีปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันและวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันที่ระยะเวลาสกัดดังกล่าว ไม่มีผลกับการสกัดสารแอนโทไซยานินทั้งหมด แต่เมื่อสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน เป็นเวลา 120 นาที พบว่ามีปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แสดงให้เห็นว่าความดันและระยะเวลา 120 นาที มีผลต่อการสกัดสารแอนโทไซยานินทั้งหมด อาจเป็นไปได้ว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการสกัดที่นานจึงส่งผลให้เกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินทั้งปัจจัยภายนอกและปัจจัยภายในระบบ ซึ่งการสลายตัวของแอนโทไซยานินนั้นเกิดขึ้นได้หลายปัจจัยด้วยกัน เช่น โครงสร้างของแอนโทไซยานิน ชนิดของน้ำตาล ความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิออกซิเจน แสง เป็นต้น (Tananuwong and Tewaruth, 2010. Sui *et al.*, 2016. Martynenko and Chen, 2016) นอกจากนี้ ความดันยังช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดโดยเพิ่มอัตราการถ่ายโอนมวลสารซึ่งเกิดจากโครงสร้างผนังเซลล์เกิดความเสียหายทำให้ความสามารถการแทรกซึมผ่านเซลล์ของสารตัวทำละลายเพิ่มขึ้น โดยสารประกอบ ต่าง ๆ ภายในเซลล์จะถูกละลายด้วยสารตัวทำละลายและเคลื่อนที่จากภายในเซลล์ไปยังภายนอกเซลล์ เพื่อให้เกิดความสมดุลของโมเลกุลในระบบ (Briones-Labarca *et al.*, 2015) จากผลการเพิ่มประสิทธิภาพในการสกัดดังกล่าว อาจทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ที่ยังหลงเหลืออยู่ในสารสกัดเพิ่มสูงขึ้นและเมื่อมีกิจกรรมเอนไซม์เพิ่มขึ้นจึงอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการสลายตัวของสารแอนโทไซยานิน (Vega-Gálvez *et al.*, 2014) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อประยุกต์ใช้ความดันกับวิธี MEF จะเห็นได้ว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 และ 5.85 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30, 60 และ 120 นาที และความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดที่สกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน ($p < 0.05$) ซึ่งการประยุกต์ใช้ความดันกับวิธี MEF ที่ความแรงสนามไฟฟ้าต่ำ (2.92 และ 5.85 โวลต์ต่อเซนติเมตร) จะเห็นได้ว่าสามารถสกัดสารแอนโทไซยานินทั้งหมดได้มากกว่าการใช้การสกัดด้วย MEF

ปราศจากความดัน อาจเป็นผลมาจากความดันช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการแทรกซึมผ่านของสารตัวทำละลายสู่โครงสร้างเซลล์รากขาวและช่วยเพิ่มความแตกต่างระหว่างความดันภายในและภายนอกเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุทำให้เกิดความเสียหายของผนังเซลล์และเนื้อเยื่อเซลล์จึงทำให้สามารถสกัดสารแอนโทไซยานินได้มากขึ้น (Liu *et al.* 2016)

เมื่อศึกษาผลของความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดที่ส่งผลต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดในรากขาวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธี MEF ปราศจากความดัน ที่ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 และ 5.85 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที และ 11.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณสารแอนโทไซยานินมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณแอนโทไซยานินที่สกัดด้วยความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 และ 5.85 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที และ 2.92 และ 5.85 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 60 นาที จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน ถ้าใช้ความแรงสนามไฟฟ้าที่ต่ำ (2.92 และ 5.85 โวลต์ต่อเซนติเมตร) จะต้องใช้ระยะเวลาในการสกัดเพิ่มขึ้นและถ้าใช้ความแรงสนามไฟฟ้าที่สูง (11.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร) จะต้องใช้ระยะเวลาในการสกัดน้อยลง ซึ่งการใช้สนามไฟฟ้าที่สูงในการสกัดด้วย MEF อาจส่งผลให้เกิดการสลายตัวของสารแอนโทไซยานินภายในสารสกัดระหว่างการสกัดด้วย MEF ด้วยปฏิกิริยา electrochemical reaction ซึ่งเกิดขึ้นได้ 3 กลไก ได้แก่ การกัดกร่อนของอิเล็กโทรด การสลายตัวของน้ำ และการเกิดอนุมูลอิสระในระบบ (Sarkis *et al.* 2013) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลของความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดที่ส่งผลต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดในรากขาวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดัน พบว่าที่ความแรงสนามไฟฟ้าที่แตกต่างกันคือ 2.92 และความแรงสนามไฟฟ้า 5.85 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30, 60, และ 120 นาที และความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณแอนโทไซยานิน ที่สกัด MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 60 และ 120 นาที และการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดันในทุกสภาวะการสกัด ($p < 0.05$) จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดส่งผลต่อการสกัดสารแอนโทไซยานินทั้งหมด เมื่อใช้ความแรงสนามไฟฟ้าที่สูงเป็นเวลานาน อาจเป็นไปได้ว่าสารแอนโทไซยานินที่สกัดได้เกิดการสลายตัวระหว่างการสกัดด้วยปฏิกิริยา electrochemical reaction (Sarkis *et al.* 2013) เช่นเดียวกับการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน แต่อย่างไรก็ตามการสกัดด้วย MEF นั้นก็สามารถช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัดหากใช้ความแรงสนามไฟฟ้าที่ต่ำ (2.92 และ 5.85 โวลต์ต่อเซนติเมตร) หรือใช้ความแรงสนามไฟฟ้าสูงในระยะเวลาสกัดที่สั้น ซึ่ง MEF นั้นจะส่งผลให้เซลล์เกิดรูพรุนเล็กๆ เป็นจำนวนมากที่ผนังเซลล์ (Sensoy and Sastry, 2004) นอกจากนี้ยังมีความดันช่วยทำให้เซลล์เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อเซลล์เพิ่มขึ้น (Kotovicz and Zanoelo, 2013) ซึ่งผลของการประยุกต์ใช้ MEF ร่วมกับความดันทำให้สารเอทานอลที่ใช้เป็นตัวทำละลายสามารถแพร่เข้าสู่เซลล์ได้มากขึ้นในระหว่างกระบวนการสกัด ดังนั้นการสกัดด้วยการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที ($p < 0.05$) จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแอนโทไซยานิน



ภาพที่ 6 แสดงปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดที่มีผลจากความแรงสนามไฟฟ้า (2.92 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร), ความดัน (0 และ 1 บาร์) และเวลา (30 60 และ 120 นาที) ในการสกัดที่ แตกต่างกัน

ตารางที่ 4 ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

P (บาร์)	EF (โวลต์ต่อ เซนติเมตร)	ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)		
		30 (นาที)	60 (นาที)	120 (นาที)
0	0	499.94±9.18 (D E F G)	509.96±15.27 (D E F)	511.78±4.71 (D E)
	2.92	429.38±11.85 (K)	438.53±6.92 (J K)	476.98±3.50 (F G H I)
	5.85	435.76±19.61 (J K)	439.40±8.95 (J K)	468.93±5.96 (G H I J)
	11.54	464.18±35.14 (H I J)	441.34±16.30 (J K)	448.87±8.67 (H I J K)
1	0	506.27±8.11 (D E F)	481.56±2.11 (E F G H)	459.54±8.75 (H I J K)
	2.92	530.89±15.54 (A B C D)	563.22±5.31 (A)	548.54±6.40 (A B C)
	5.85	511.08±4.73 (D E)	527.32±5.14 (B C D)	555.88±13.07 (A B)
	11.54	520.03±5.13 (C D)	460.50±12.46 (H I J K)	445.99±17.81 (I J K)

หมายเหตุ ตัวอักษร A-K ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

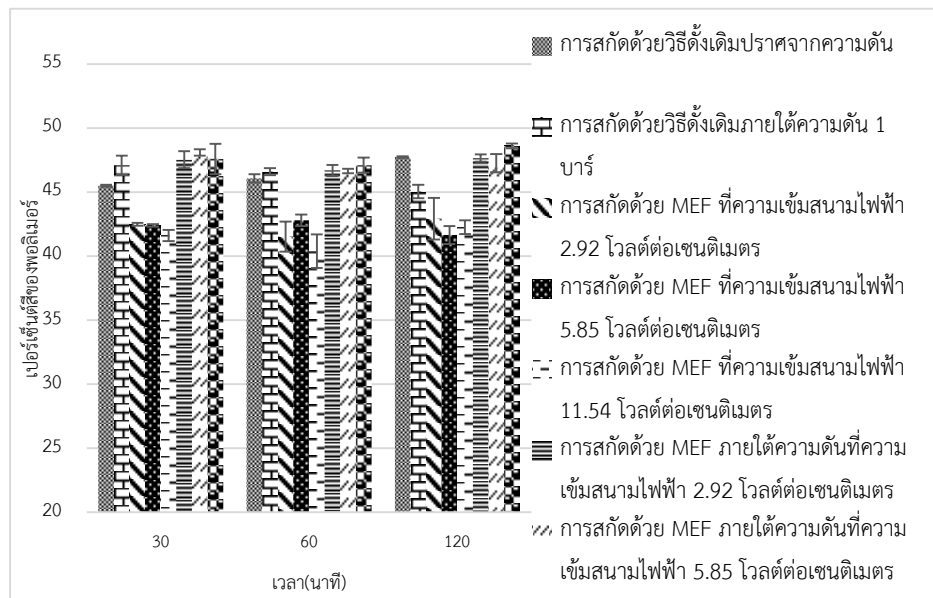
ผลของสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันต่อร้อยละของสีของพอลิเมอร์

จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยร้อยละของสีของพอลิเมอร์ที่ทำ 1) การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน 2) วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน 3) การสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน และ 4) การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ ร้อยละของสีของพอลิเมอร์มีผลจากความแรงสนามไฟฟ้า (2.92 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร) ความดัน (0 และ 1 บาร์) และเวลา (30 60 และ 120 นาที) ในสภาวะการสกัดที่แตกต่างกัน ค่าที่ได้อยู่ในช่วงร้อยละ 40.4 ถึง 48.7 (ภาพที่ 7)

เมื่อศึกษาผลของความดันต่อร้อยละของสีของพอลิเมอร์โดยการสกัดแบบดั้งเดิม พบว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน เป็นเวลา 120 นาที และการสกัดแบบดั้งเดิมภายใต้ความดัน เวลา 30 และ 60 นาที มีร้อยละของสีของพอลิเมอร์มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน เป็นเวลา 30 นาที และวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันที่ระยะเวลาสกัด 60 และ 120 นาที ($p < 0.05$) จะเห็นได้ว่าความดันมีผลต่อการสกัดแอนโทไซยานินที่อยู่ในรูปของพอลิเมอร์ โดยหลักการหาร้อยละของสีของพอลิเมอร์คือแอนโทไซยานินจะจับกับ Bisulfite ซึ่งเกิดเป็นสารไม่มีสี สารประกอบเช่น Polymerized colored anthocyanin-tannin complexes จะสามารถต้านทานการฟอกสีของ Bisulfite ได้ แต่ทว่าปฏิกิริยาการฟอกสีจะเกิดได้สมบูรณ์กับ monomeric anthocyanin จากผลการทดลองของการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน พบว่าเมื่อเพิ่มระยะเวลาในการสกัดส่งผลให้ร้อยละของสีของพอลิเมอร์เพิ่มขึ้น เนื่องจากสารประกอบฟีนอลิกภายในเซลล์รำข้าวนั้นมีหลายรูป ซึ่งสารสำคัญที่พบในรำข้าวคือ proanthocyanidins ซึ่งจัดอยู่ในกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยรูปแบบโครงสร้างของ proanthocyanidins ที่หลากหลาย เช่น monomeric oligomeric และ polymeric เป็นต้น ซึ่งจะส่งผลให้มีขนาดโมเลกุลที่แตกต่างกัน และนอกจากนี้ proanthocyanidins สามารถสร้างพันธะกับสารต่างๆ ที่ผนังเซลล์ได้ เช่น polysaccharides โปรตีน เป็นต้น ซึ่งเมื่อใช้ระยะเวลาการสกัดมากขึ้นจะทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลายมากกว่าระยะเวลาสกัดที่สั้น จึงช่วยเพิ่มความสามารถให้การแทรกซึมของสารตัวทำละลายส่งผลให้สามารถสกัดสารกลุ่ม polymeric ได้มากกว่าการใช้ระยะเวลาสั้นที่สั้น (Aleixandre-Tudo and Toit, 2018) แต่อย่างไรก็ตาม เมื่อสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันที่ระยะเวลา 30 และ 60 นาที ร้อยละของสีของพอลิเมอร์มีปริมาณไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน เป็นเวลา 120 นาที ($p > 0.05$) ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากความดันส่งผลให้เซลล์เกิดการเสียรูปทรงจึงทำให้โครงสร้างผนังเซลล์หรือส่วนประกอบอื่น ๆ ของเนื้อเยื่อเซลล์เกิดความเสียหายเพิ่มขึ้น (Kotovicz and Zanoelo, 2013) อีกทั้งความดันยังส่งผลให้โปรตีนเกิดการเสียสภาพซึ่งเป็นเหตุให้ผนังเซลล์สูญเสียความสามารถในการเลือกผ่าน โครงสร้างผนังเซลล์เกิดความเสียหายทำให้อัตราการถ่ายโอนมวลสารเพิ่มขึ้นและความสามารถในการแทรกซึมผ่านผนังเซลล์ของสารตัวทำละลายเพิ่มขึ้น ส่งผลให้สามารถสกัดสารแอนโทไซยานินและสารประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ ซึ่งจะถูกละลายด้วยสารตัวทำละลายและเคลื่อนที่จากความเข้มข้นมาก (ภายในเซลล์) ไปยังความเข้มข้นน้อย (ภายนอกเซลล์) เพื่อให้เกิดความสมดุลของโมเลกุลในระบบ ความดันนั้นจึงช่วยทำให้ระบบเกิดความสมดุลในระยะเวลาอันสั้น (Briones-Labarca *et al.*, 2015) และเมื่อทำการประยุกต์ใช้ความดันกับวิธี MEF จะเห็นได้ว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ใช้ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดที่แตกต่างกันนั้น พบว่ามีร้อยละของ

สีของพอลิเมอร์มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับร้อยละของสีของพอลิเมอร์ที่สกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน ($p < 0.05$) ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากความดันส่งผลให้เซลล์เกิดการเสียรูปทรงทำให้เกิดความเสียหายและถูกทำลาย จึงทำให้ความสามารถในการแทรกซึมผ่านผนังเซลล์ของตัวทำละลายเพิ่มขึ้นและนอกจากนี้ยังมีการประยุกต์การสกัดร่วมกับ MEF จึงส่งผลให้การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันมีร้อยละของสีของพอลิเมอร์มากกว่าการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน ดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น

เมื่อศึกษาผลของความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดที่ส่งผลต่อร้อยละของสีของพอลิเมอร์ในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วยวิธี MEF ปราศจากความดันและการสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้าที่แตกต่างกันคือ 2.92 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรพบว่าระยะเวลา 30 60 และ 120 นาที พบว่าความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดไม่ส่งผลกับร้อยละของสีของพอลิเมอร์เมื่อสกัดด้วยวิธี MEF ปราศจากความดันและสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดัน ($p > 0.05$) แอนโทไซยานินจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าส่วนใหญ่จะพบสารประกอบฟีนอลิกในธัญพืชทั้งเมล็ด ได้ 3 รูปแบบคือ สารฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอิสระ (free phenolics) รูปแบบ soluble-conjugated phenolics และรูปแบบเกาะตรึง insoluble-bound phenolics (Shao *et al.*, 2014) ซึ่งจากการศึกษาของ Madhujith และ Shahidi (2009) พบว่าสารฟีนอลิกส่วนใหญ่อยู่ในรูป insoluble-bound fractions รองลงมาคือสารฟีนอลิกที่อยู่ในรูป soluble conjugate และสารฟีนอลิกที่อยู่ในรูปอิสระตามลำดับ จากภาพที่ 7 แสดงให้เห็นว่าร้อยละของสีของพอลิเมอร์ทั้งการสกัดด้วยวิธี MEF ปราศจากความดันและวิธี MEF ภายใต้ความดัน ที่ใช้ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาที่แตกต่างกัน มีร้อยละของสีของพอลิเมอร์ไม่แตกต่างกัน ($p > 0.05$) มีความเป็นไปได้ว่าสารประกอบในสารสกัดรำข้าวอยู่ในรูป insoluble-bound fractions ในปริมาณมาก ซึ่งอาจส่งผลให้มีความต้านทานสภาวะในการสกัดที่ไม่เหมาะสมได้มากกว่าในรูปอิสระ



ภาพที่ 7 แสดงร้อยละของสปีดของพอลิเมอร์ที่มีผลจากความแรงสนามไฟฟ้า (2.92 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร) ความดัน (0 และ 1 บาร์) และเวลา (30 60 และ 120 นาที) ในสภาวะการสกัดที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 5 ร้อยละของสีของพอลิเมอร์

P (บาร์)	EF (โวลต์ต่อ เซนติเมตร)	ร้อยละของสีของพอลิเมอร์		
		30 (นาทีก)	60 (นาทีก)	120 (นาทีก)
0	0	45.51±0.08(D E)	46.08±0.32(C D E)	47.75±0.06 (A B C)
	2.92	42.50±0.10 (F)	41.54±1.17 (F G)	42.93±1.62 (F)
	5.85	42.41±0.10(F)	42.80±0.45(F)	41.65±0.70(F G)
	11.54	41.63±0.43(F G)	40.40±1.31(G)	42.27±0.54(F)
1	0	47.11±0.75(A B C D)	46.61±0.27(B C D E)	45.06±0.52(E)
	2.92	47.56±0.66(A B C)	46.70±0.44(B C D E)	47.67±0.28(A B C)
	5.85	48.12±0.26(A B)	46.66±0.17(B C D E)	47.27±0.72(A B C D)
	11.54	47.61±1.19(A B C)	47.12±0.60(A B C D)	48.62±0.18(A)

หมายเหตุ ตัวอักษร A-G ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยร้อยละของสีของพอลิเมอร์แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

ผลของการสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

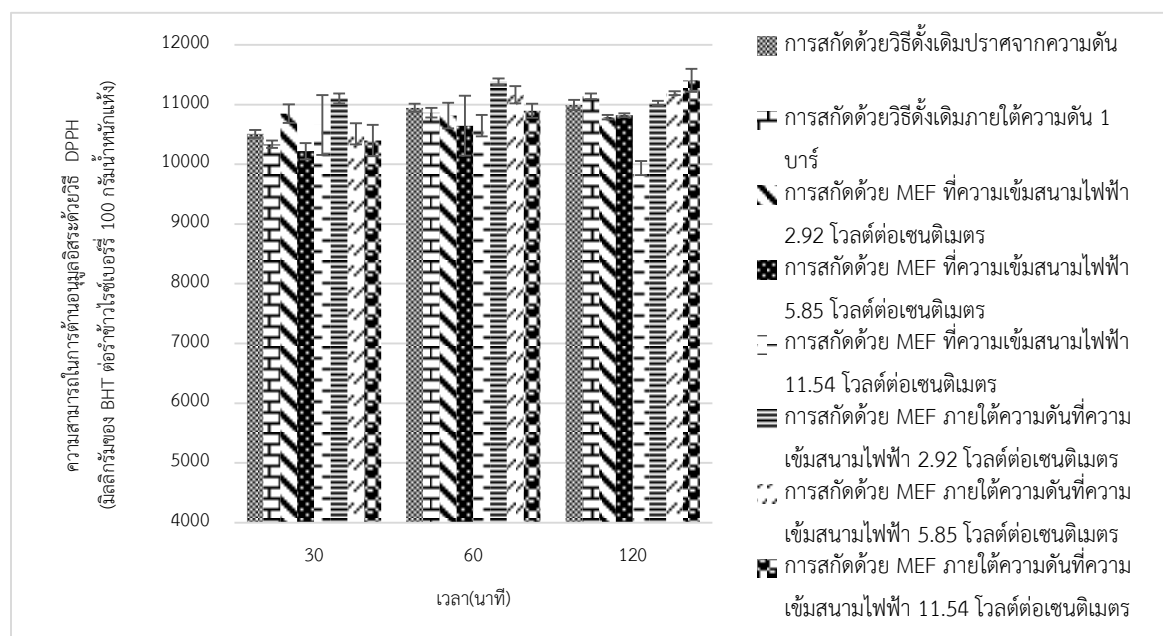
จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ทำ 1) การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน 2) วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน 3) การสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน และ 4) การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ **ภาพที่ 8** แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีผลจากความแรงสนามไฟฟ้า (2.92 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร) ความดัน (0 และ 1 บาร์) และเวลา (30 60 และ 120 นาที) ในสภาวะการสกัดที่แตกต่างกัน ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 10,511.0 ถึง 11,406.4 มิลลิกรัมของ BHT ต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง

เมื่อศึกษาผลของความดันต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH พบว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน วิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน และการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) เมื่อพิจารณาผลของความดันและเวลาจะเห็นได้ว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันเป็นเวลา 30 60 และ 120 นาที ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังนั้นความดันและระยะเวลาไม่ส่งผลกับการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการประยุกต์ใช้ความดันร่วมกับ MEF จะเห็นได้ว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มากที่สุด ($p < 0.05$) ซึ่งผลเป็นไปในทางเดียวกับการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

เมื่อศึกษาผลของความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดที่ส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธี MEF ปราศจากความดัน ที่ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังนั้นความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดันไม่ส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH แต่อย่างไรก็ตามเมื่อสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดัน ที่ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาสกัดที่แตกต่างกัน ที่ระยะเวลาสกัด 30 และ 60 นาที พบว่าความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาสกัดมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่ที่ระยะเวลาสกัด 120 นาที การเพิ่มความแรงสนามไฟฟ้าส่งผลให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น โดยสภาวะการสกัดที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 120 นาทีที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด ($p < 0.05$) จากผลของการสกัดโดยการประยุกต์ MEF ร่วมกับความดันข้างต้นเมื่อใช้ระยะเวลาสกัดที่เพิ่มขึ้นอาจทำให้เซลล์เกิดความเสียหายมากกว่าการใช้ระยะเวลาสกัดที่สั้นและช่วยเพิ่มระยะเวลาการแพร่ของสารต้านอนุมูลอิสระต่าง ๆ ภายในเซลล์ได้มาก ซึ่งโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกในแต่ละชนิดจะส่งผลกับคุณสมบัติที่ไม่เหมือนกันเช่นความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของแอนโทไซยานินจะเพิ่มขึ้นเมื่อโครงสร้างมีจำนวนหมู่ไฮดรอกซิลเพิ่มขึ้นแต่ความสามารถต้านอนุมูลอิสระจะลดลงเมื่อเกิด glycosylation แต่อย่างไรก็ตามแอนโทไซยานินที่

มี glycosyl บางชนิดมีผลต่อการต้านอนุมูลอิสระของแอนโทไซยานิน เช่น น้ำตาลกลูโคส (Glucose) หรือน้ำตาลแรมนโนส (Rhamnose) บนคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของไซยานิดิน สามารถเพิ่มความสามารถการต้านอนุมูลอิสระแต่น้ำตาลกาแลคโตส (Galactose) จะลดความสามารถการต้านอนุมูลอิสระ (Briones-Labarca *et al.*, 2015) อาจเป็นไปได้ว่ายิ่งใช้ระยะเวลาในการสกัดนานยิ่งสามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนและมีความสามารถทนต่อสภาวะที่ส่งผลต่อการสลายตัวได้มากขึ้นจึงส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสภาวะดังกล่าวสูงที่สุด ($p < 0.05$) จากผลการทดลองสามารถสรุปได้ว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากที่สุด ($p < 0.05$) จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ

โดยสามารถสรุปได้ว่าเมื่อเพิ่มความแรงสนามไฟฟ้า ระยะเวลาสกัดและความดันในการสกัด มีผลให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นคือการสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 60 นาที และ ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 120 นาที พบว่าสารสกัดที่ได้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูง ($p > 0.05$) จึงเป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 8 แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่มีผลจากความแรงสนามไฟฟ้า (2.92 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร) ความดัน (0 และ 1 บาร์) และเวลา (30 60 และ 120 นาที) ในสภาวะการสกัดที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 6 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (มิลลิกรัมสมมูลของ BHT ต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

P (บาร์)	EF (โวลต์ต่อ เซนติเมตร)	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH (มิลลิกรัมสมมูลของ BHT ต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)		
		30 (นาทีก)	60 (นาทีก)	120 (นาทีก)
0	0	10,509.58±66.76(F G)	10,947.16±69.12(A B C D E)	10,992.86±84.52(A B C D E)
	2.92	10,847.26±154.28 (C D E F)	10,817.36±214.08 (C D E F G)	10,787.45±37.99(C D E F G)
	5.85	10,218.76±134.22 (D E)	10,646.86±500.02 (D E F G H)	10,821.66±33.01(C D E F G)
	11.54	10,658.27±499.79 (D E F G H)	10,649.53±180.07 (D E F G H)	9,936.11±117.65 (E)
1	0	10,335.43±62.93(G H)	10,865.44±79.35(C D E F)	11,137.39±47.33(A B C D)
	2.92	11,103.34±81.63(A B C D)	11,386.37±54.08(A B)	11,027.44±33.16(A B C D)
	5.85	10,511.03±179.05 (E F G H)	11,165.35±146.81 (A B C)	11,191.42±33.50(A B C)
	11.54	10,397.19±263.67 (C D E)	10,894.55±117.97 (B C D E F)	11,406.40±192.15 (A)

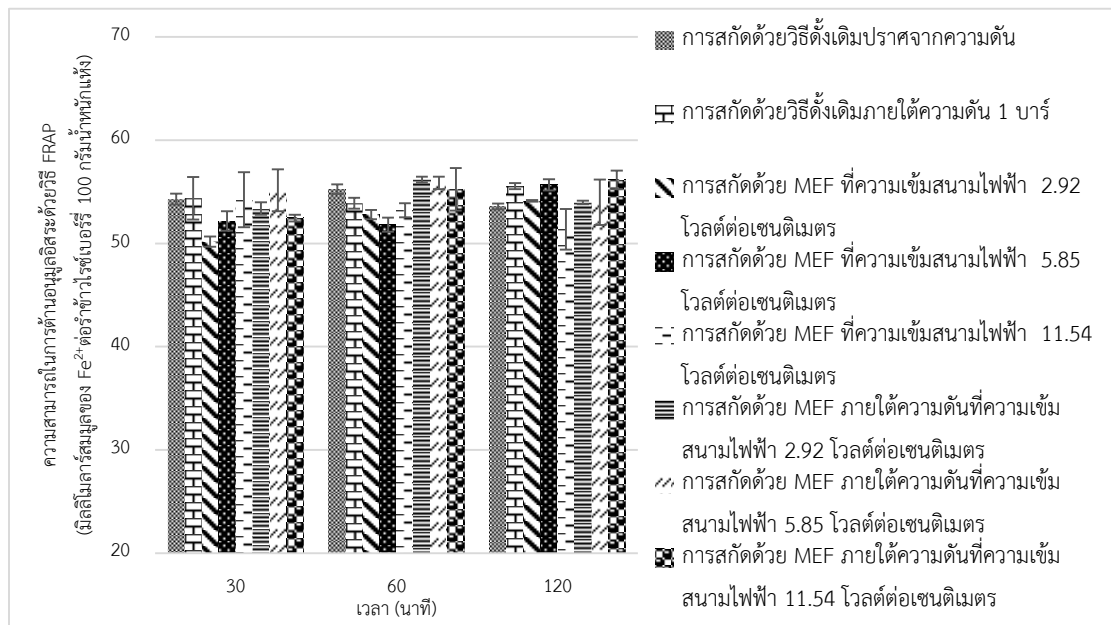
หมายเหตุ ตัวอักษร A-H ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

ผลของสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ทำการสกัดด้วย 1) วิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน 2) วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน 3) การสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน และ 4) การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ **ภาพที่ 9** แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ที่มีผลจากความแรงสนามไฟฟ้า (2.92 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร) ความดัน (0 และ 1 บาร์) และเวลา (30 60 และ 120 นาที) ในสภาวะการสกัดที่แตกต่างกัน ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 3,715.1 ถึง 4,557.9 มิลลิโมลาร์สมมูลของ Fe^{2+} ต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง

เมื่อศึกษาผลของความดันต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP พบว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันและการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังนั้นความดันและระยะเวลาไม่ส่งผลกับการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระแต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการประยุกต์ใช้ความดันร่วมกับ MEF จะเห็นได้ว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 60 นาที และที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดและไม่แตกต่างกัน ($p < 0.05$) ซึ่งแสดงผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดข้างต้น ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากความดันส่งผลให้เซลล์เกิดการเสียรูปทรงจึงทำให้เกิดความเสียหายต่อเนื้อเยื่อเซลล์เพิ่มขึ้น สารตัวทำลายจึงสามารถแพร่ผ่านผนังเซลล์เข้าสู่ภายในเซลล์ได้ดีขึ้นในระหว่างกระบวนการสกัด (Kotovicz and Zanoelo, 2013)

เมื่อศึกษาผลของความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดที่ส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธี MEF ปราศจากความดัน ที่ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาที่แตกต่างกัน พบว่าการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังนั้น ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดันไม่ส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP และเมื่อสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดัน ที่ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาสกัดที่แตกต่างกัน พบว่าความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาสกัดความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน ($p < 0.05$) จากผลของการสกัดโดยการประยุกต์ MEF ร่วมกับความดันข้างต้นเมื่อใช้ระยะเวลาสกัดที่เพิ่มขึ้นอาจทำให้เซลล์เกิดความเสียหายมากกว่าการใช้ระยะเวลาสกัดที่สั้นและช่วยเพิ่มระยะเวลาการแพร่ของสารต้านอนุมูลอิสระต่าง ๆ ภายในเซลล์ได้มากขึ้น จึงส่งผลให้การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ได้มากกว่าการสกัดด้วย MEF ปราศจากความดัน ($p < 0.05$)



ภาพที่ 9 แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ที่มีผลจากความแรงสนามไฟฟ้า (2.92 5.85 และ 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร) ความดัน (0 และ 1 บาร์) และเวลา (30 60 และ 120 นาที) ในสภาวะการสกัดที่แตกต่างกัน

ตารางที่ 7 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (มิลลิโมลาร์สมมูลของ Fe²⁺ ต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)

P (บาร์)	EF (โวลต์ต่อ เซนติเมตร)	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (มิลลิโมลาร์สมมูลของ Fe ²⁺ ต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง)		
		30 (นาทีก)	60 (นาทีก)	120 (นาทีก)
0	0	54.29±0.53 (A B C D E)	55.26±0.47 (A B C D)	53.59±0.28 (A B C D E)
	2.92	50.17±0.50 (F)	52.81±0.45 (B C D E F)	54.12±0.07 (A B C D E)
	5.85	52.17±0.94 (D E F)	51.81±0.68 (E F)	55.68±0.54 (A B)
	1154	54.23±2.66 (A B C D E)	53.21±0.67 (A B C D E F)	51.37±1.98 (E F)
1	0	54.38±2.05 (A B C D E)	53.89±0.52 (A B C D E)	55.54±0.29 (A B C)
	2.92	53.38±0.60 (A B C D E)	56.19±0.29 (A)	53.97±0.17 (A B C D E)
	5.85	55.16±2.03 (A B C D)	55.86±0.61 (A B)	54.00±2.19 (A B C D E)
	11.54	52.47±0.32 (C D E F)	55.26±2.06 (A B C D)	56.16±0.91 (A)

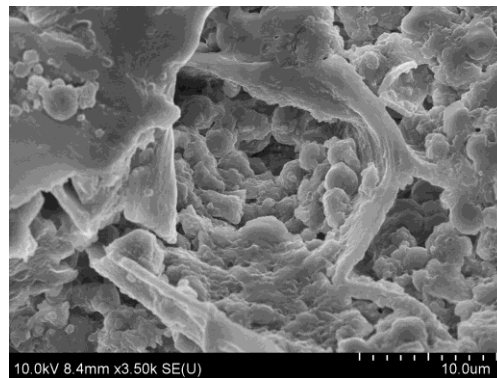
หมายเหตุ ตัวอักษร A-F ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

การวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron micrograph, SEM)

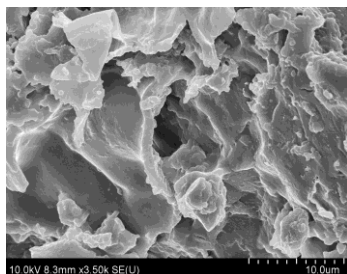
จากการสำรวจผนังเซลล์รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยใช้อัตราส่วนของรำข้าวต่อปริมาณสารตัวทำละลายที่ (สารละลายสารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70) 1:200 และใช้ระยะเวลาสกัด 30 นาที ในทุกสภาวะการสกัด เพื่อวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงผิวของผนังเซลล์รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ภายหลังผ่านการสกัดด้วยสภาวะที่แตกต่างกัน (ภาพที่ 10A-10D) ผนังเซลล์ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่สดที่ยังไม่ผ่านการสกัด แสดงให้เห็นถึงโครงสร้างภายใน aleurone cell อันประกอบด้วย ผนังเซลล์ และเม็ดสตาร์ช (ภาพที่ 10A) เมื่อรำข้าวผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน พบว่า ผนังเซลล์ยังคงสภาพใกล้เคียงรำข้าวสด แต่อย่างไรก็ตาม โครงสร้างภายในบางส่วนถูกทำลายซึ่งจะเห็นได้ว่าเม็ดสตาร์ชและสารประกอบอื่น ๆ ภายในเซลล์ถูกทำลาย (ภาพที่ 10B) เมื่อพิจารณารำข้าวไรซ์เบอร์รี่ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน จะเห็นได้ว่าผิวของเซลล์รำข้าวมีความเรียบขึ้นกว่ารำข้าวผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันแต่ยังคงหลงเหลือผนังเซลล์อยู่บางส่วน (ภาพที่ 10C) สำหรับรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ผ่านการสกัดด้วย MEF ที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตรภายใต้ความดัน พบว่าผิวของเซลล์รำข้าวมีเรียบขึ้นอย่างเห็นได้ชัด แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพของสนามไฟฟ้าร่วมกับความดันในการทำลายผนังเซลล์ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ (ภาพที่ 10D) ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าเกิดการอัตราการถ่ายเทความร้อนและถ่ายโอนความร้อนไปในรำข้าว โดยความร้อนจากการสกัดด้วย MEF จะเกิดขึ้นได้อย่างรวดเร็วและสม่ำเสมอภายในรำข้าว ซึ่งเกิดจากสารตัวทำละลายที่มีส่วนผสมของกรดเป็นตัวนำกระแสไฟฟ้าผ่านรำข้าวเข้าสู่เนื้อเยื่อเซลล์ของรำข้าว ความร้อนจะเกิดจากการแปลงพลังงานไฟฟ้าเป็นพลังงานความร้อนภายในรำข้าว นอกจากนี้พลังงานไฟฟ้าของ MEF ยังช่วยในการสลายเยื่อหุ้มเซลล์รำข้าวโดยความแรงสนามไฟฟ้าทำให้เกิดการเหนี่ยวนำประจุไฟฟ้าทั้งภายในและภายนอกเซลล์มาสะสมที่ผนังเซลล์รำข้าว ทำให้ค่าความแรงสนามไฟฟ้าที่บนผนังเซลล์มากกว่าค่าวิกฤต ส่งผลให้ผนังเซลล์เกิดรูพรุนเป็นจำนวนมากจนทำให้ผนังเซลล์สูญเสียสภาพหรือเกิดการสลายของผนังเซลล์ได้ (Sensoy and Sastry, 2004) จากผลการเปลี่ยนแปลงพื้นผิวของผนังเซลล์รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ภายหลังผ่านการสกัดทั้ง 3 วิธีจะเห็นได้ว่าที่สภาวะการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน ที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 30 นาที เมื่อวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและร้อยละของสีของพอลิเมอร์ พบว่าการใช้สภาวะการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน ที่ความเข้มสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 120 นาที มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ($p < 0.05$) เป็นไปได้ว่าเมื่อใช้ความแรงสนามไฟฟ้าที่สูงร่วมกับความดันและระยะเวลาที่เพิ่มขึ้น

อาจทำให้เซลล์เกิดความเสียหายมากกว่าการใช้ระยะเวลาสัปดาห์ที่สั้นและช่วยเพิ่มระยะเวลาการแพร่ของสารประกอบฟีนอลิกต่าง ๆ ภายในเซลล์ได้มากขึ้น ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่นั้นมีหลากหลายชนิด เช่น แอนโทไซยานิน กรดเฟอร์รูลิก (ferulic Acid) กรดคูมาริก (coumaric Acid) แคโรทีนอยด์ (carotenoid) เป็นต้น (Shao *et al.*, 2014) ดังนั้นโครงสร้างทางเคมีของสารประกอบฟีนอลิกในแต่ละชนิดจะส่งผลกับคุณสมบัติที่ไม่เหมือนกัน อาจเป็นไปได้ว่าเมื่อใช้ระยะเวลาในการสัปดาห์ที่นานขึ้นสามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนและมีความสามารถทนต่อสภาวะที่ส่งผลต่อการสลายตัวได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ร้อยละของสีของพอลิเมอร์พบว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน ที่ความเข้มข้นสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 120 นาที มีร้อยละของสีของพอลิเมอร์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน ที่ความเข้มข้นสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 30 นาที ($p>0.05$) ซึ่งการวิเคราะห์ร้อยละของสีของพอลิเมอร์เป็นการวิเคราะห์ที่เกี่ยวข้องกับสารแอนโทไซยานิน ซึ่งแอนโทไซยานินจัดอยู่ในกลุ่มสารประกอบฟีนอล (phenolic compounds) อาจเป็นไปได้ว่าส่วนใหญ่จะพบสารประกอบฟีนอลิกในธัญพืชทั้งหมด ได้ 3 รูปแบบคือ สารฟีนอลิกที่อยู่ในรูปแบบ free phenolics soluble-conjugated phenolics และ insoluble-bound phenolics (Shao *et al.*, 2014) โดยรูปแบบโครงสร้างของแอนโทไซยานินที่หลากหลายอย่างเช่น monomeric oligomeric และ polymeric เป็นต้น จะส่งผลให้มีขนาดโมเลกุลที่แตกต่างกัน และนอกจากนี้ภายในรำข้าวยังมีสารจำพวกแอนโทไซยานินที่สามารถสร้างพันธะกับสารต่างๆ ที่ผนังเซลล์ได้ เมื่อใช้ระยะเวลาการสกัดมากขึ้นจึงทำให้ผนังเซลล์ถูกทำลายมากกว่าระยะเวลาสัปดาห์ที่สั้นจึงช่วยเพิ่มความสามารถให้การแทรกซึมของสารตัวทำละลาย ส่งผลให้สามารถสกัดสารกลุ่ม polymeric ได้ปริมาณมากกว่าการใช้ระยะเวลาสั้นที่สั้น (Aleixandre-Tudo and Toit, 2018) และเมื่อมีการสกัดโดยการประยุกต์ MEF ร่วมกับความดันจึงส่งผลให้ผนังเซลล์ถูกทำลายมากขึ้น แต่อย่างไรก็ตามการสกัดแอนโทไซยานินด้วย MEF ภายใต้ความดัน ที่ความเข้มข้นสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 120 นาที เป็นการใช้น้ำสนามไฟฟ้าที่สูงและมีระยะในการเวลาสัปดาห์ที่นาน ในการสกัดด้วย MEF อาจส่งผลให้เกิดการสลายตัวของสารแอนโทไซยานินภายในสารสกัดระหว่างการสกัดด้วย MEF ด้วยปฏิกิริยา electrochemical reaction ซึ่งเกิดขึ้นได้ 3 กลไก ได้แก่ การกัดกร่อนของอิเล็กโทรด การสลายตัวของน้ำ และการเกิดอนุมูลอิสระในระบบ (Sarkis *et al.* 2013) จึงอาจเป็นสาเหตุให้การวิเคราะห์ร้อยละของสีของพอลิเมอร์ที่สกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน ที่ความเข้มข้นสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 120 นาที มีร้อยละของสีของพอลิเมอร์ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน ที่ความเข้มข้นสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 30 นาที ($p>0.05$) ในทิศทางเดียวกัน

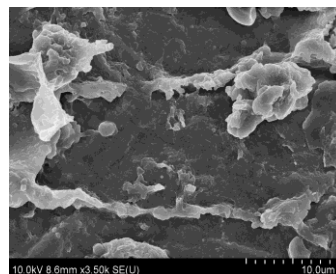
เมื่อวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด พบว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้อุณหภูมิและความเข้มข้นไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 30 นาที มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่สกัดด้วย MEF ภายใต้อุณหภูมิและความเข้มข้นไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 120 นาที ($p < 0.05$) ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระในรำข้าวเพื่อทำผงสีต่อไปคือ การสกัดด้วย MEF ภายใต้อุณหภูมิและความเข้มข้นไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 30 นาที



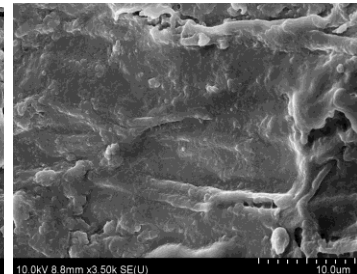
A



B



C



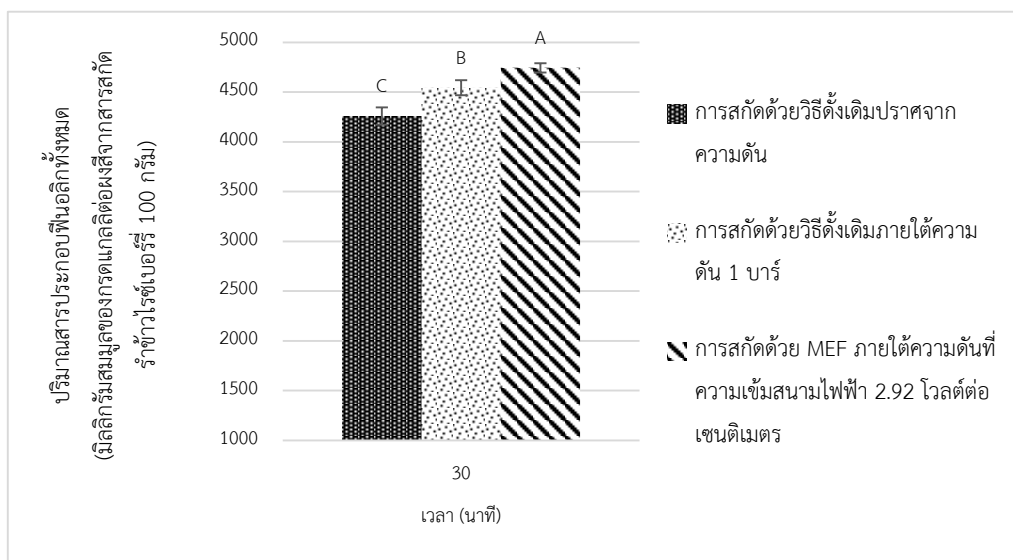
D

ภาพที่ 10 แสดงการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด: (A) ผนังเซลล์ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่สดที่ยังไม่ผ่านการสกัด (B) ผนังเซลล์ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน (C) ผนังเซลล์ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน (D) ผนังเซลล์ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านการสกัดด้วย MEF ที่ความเข้มข้นไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตรภายใต้ความดัน

ผลของการวิเคราะห์ทางเคมีของผงสีจากสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่

ผลของผงสีจากสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดที่ทำการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันและการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร โดยทุกสภาวะใช้ระยะเวลาสกัด 30 นาทีที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 4,259.56 ถึง 4,744.55 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อผงสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม ซึ่งการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที พบว่าสารสกัดที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด ($p < 0.05$)



ภาพที่ 11 แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีผลจากการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน และการสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร ความดัน 1 บาร์ และเวลาการสกัด 30 นาที
หมายเหตุ ตัวอักษร A-C ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดแตกต่างกันมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

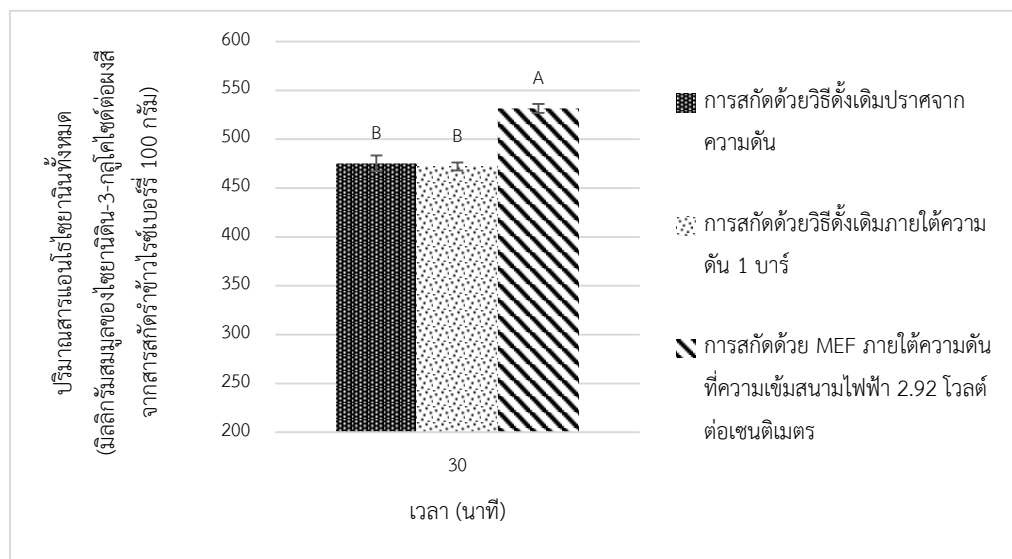
ตารางที่ 8 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อผงสีจากสารสกัด
 รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

ความ ดัน (บาร์)	ความแรง สนามไฟฟ้า (โวลต์ต่อ เซนติเมตร)	ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อผงสีจากสารสกัดรำข้าวไรซ์ เบอร์รี่ 100 กรัม)
		30 (นาที)
0	0	4,259.56±85.71 (C)
1	0	4,544.47±77.05 (B)
	2.92	4,744.55±45.77 (A)

หมายเหตุ ตัวอักษร A-C ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด
 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

ผลของผงสีจากสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด

จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดที่ทำการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันและการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร โดยทุกสภาวะใช้ระยะเวลาสกัด 30 นาที ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$ ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 475.29 ถึง 531.49 มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อผงสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม ซึ่งการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที พบว่าสารสกัดที่ได้มีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดสูงที่สุด ($p < 0.05$) นอกจากนี้การเติมสารมอลโตเดกซ์ตรินในสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ ก่อนผ่านกระบวนการทำแห้งโดยวิธีการ freeze drying กับทุกสภาวะการสกัด สามารถช่วยเพิ่มความเสถียรกับสารแอนโทไซยานิน โดยทำให้เกิดการจับกันระหว่างเดกซ์ตรินและแอนโทไซยานินภายในสารสกัดรำข้าว โดยเดกซ์ตรินจะช่วยป้องกันการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของแอนโทไซยานินที่อยู่ในรูป flavylum cation ไปเป็นแอนโทไซยานินโครงสร้างอื่นที่มีความเสถียรน้อยกว่า ยิ่งไปกว่านั้นยังช่วยเพิ่มความหนาแน่นและป้องกันการซึมผ่านของออกซิเจน (oxygen impermeable) (Loypimai *et al.*, 2015) ซึ่งจากการศึกษาของ Duangmal *et al.* (2008) พบว่าการเติมมอลโตเดกซ์ตรินก่อนผ่านกระบวนการทำแห้งด้วยวิธีแช่เยือกแข็ง ส่งผลให้แอนโทไซยานินเกิดความเสถียรในระหว่างการเก็บได้



ภาพที่ 12 แสดงปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดที่มีผลจากการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจาก ความดัน วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน และการสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดันที่ความแรง สนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร ความดัน 1 บาร์ และเวลาการสกัด 30 นาที

หมายเหตุ ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

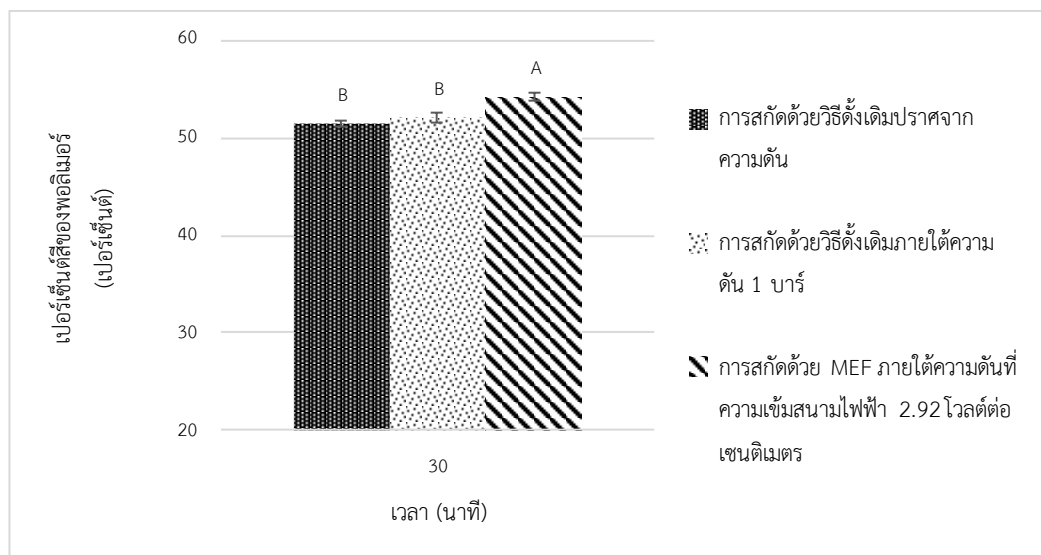
ตารางที่ 9 ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อผงสีจากสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม)

ความดัน (บาร์)	ความแรงสนามไฟฟ้า (โวลต์ต่อเซนติเมตร)	ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อผงสีจากสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม)
		30 (นาที)
0	0	475.29±8.10 (B)
1	0	472.10±4.23 (B)
	2.92	531.49±4.67 (A)

หมายเหตุ ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ผลของผงสีจากสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อร้อยละของสีของพอลิเมอร์

จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของร้อยละของสีของพอลิเมอร์ ค่าที่ได้อยู่ในช่วงร้อยละ 51.43 ถึง 54.19 ซึ่งการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที พบว่าสารสกัดที่ได้มีร้อยละของสีของพอลิเมอร์สูงที่สุด ($p < 0.05$)



ภาพที่ 13 แสดงร้อยละของสีของพอลิเมอร์ที่มีผลจากการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน และการสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร ความดัน 1 บาร์ และเวลาการสกัด 30 นาที

หมายเหตุ ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

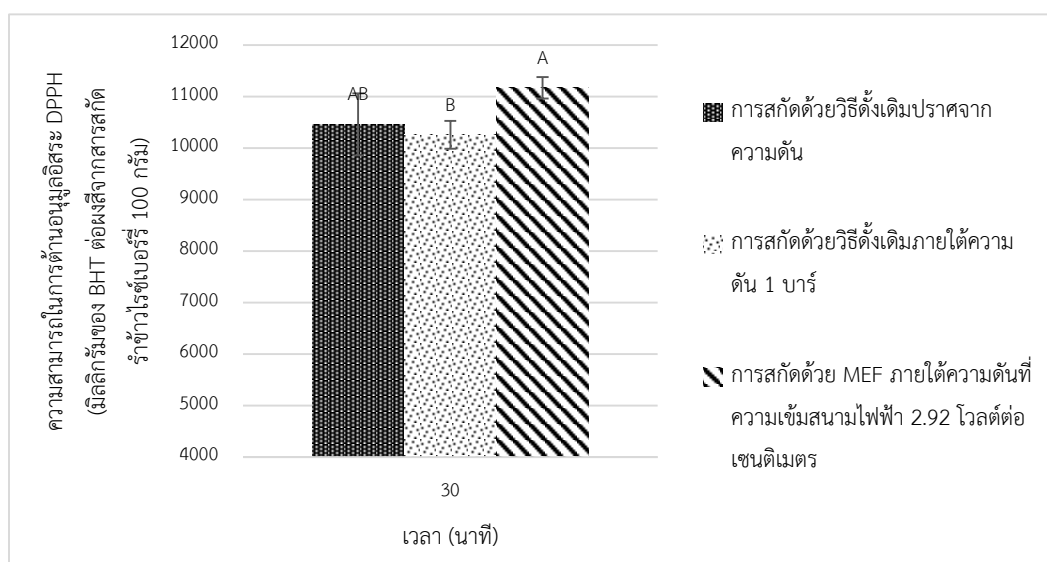
ตารางที่ 10 ร้อยละของสีของพอลิเมอร์

ความ ดัน (บาร์)	ความแรง สนามไฟฟ้า (โวลต์ต่อ เซนติเมตร)	ร้อยละของสีของพอลิเมอร์
		30 (นาทีก)
0	0	51.43±0.31 (B)
1	0	52.05±0.49 (B)
	2.92	54.19±0.44 (A)

หมายเหตุ ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

ผลของผงสีจากสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 10,458.61 ถึง 11,170.58 มิลลิกรัมของ BHT ต่อผงสีจากสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม จากผลการวิเคราะห์ค่าเฉลี่ยพบว่า การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH มากที่สุด ($p < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน ($p > 0.05$) จากการศึกษาของ Peanparkdee *et al.*, 2019 พบว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินในรำข้าว ซึ่งอาจเป็นไปได้ว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันและการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันและการสกัดด้วย MEF ร่วมกับความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร ใช้ระยะเวลาในการสกัดเพียง 30 นาทีในการสกัดเพื่อเตรียมผงสี ซึ่งจากการทดลองก่อนหน้านี้ (ตารางที่ 3) พบว่าระยะเวลาที่เหมาะสมกับการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่คือ 60 นาที และ 120 นาที จะเห็นได้ว่าเมื่อใช้ระยะเวลาสกัดที่เพิ่มขึ้น อาจเป็นไปได้ว่ายิ่งใช้ระยะเวลาในการสกัดนานยิ่งสามารถสกัดสารต้านอนุมูลอิสระที่มีโครงสร้างที่ซับซ้อนและมีความสามารถทนต่อสภาวะที่ส่งผลต่อการสลายตัวได้มากขึ้นจึงส่งผลให้ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดในสภาวะดังกล่าวสูงที่สุด ($p < 0.05$)



ภาพที่ 14 แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ที่มีผลจากการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม ปราศจากความดัน วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน และการสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร ความดัน 1 บาร์ และเวลาการสกัด 30 นาที
หมายเหตุ ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

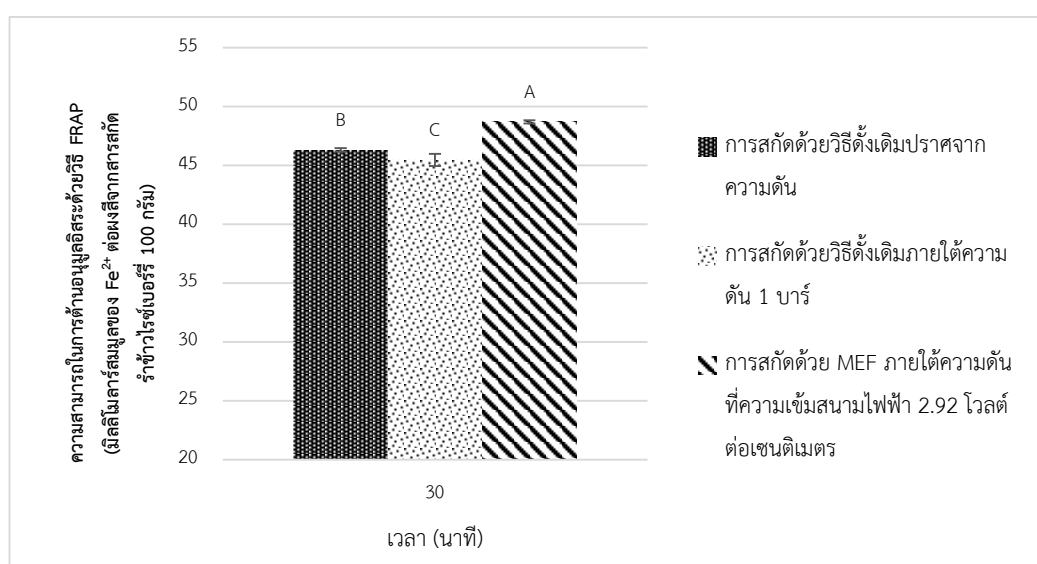
ตารางที่ 11 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (มิลลิกรัมสมมูลของ BHT ต่อผงสีจากสารสกัด
รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม)

ความ ดัน (บาร์)	ความแรง สนามไฟฟ้า (โวลต์ต่อ เซนติเมตร)	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (มิลลิกรัมสมมูลของ BHT ต่อผงสีจากสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม)
		30 (นาทีก)
0	0	10,458.61±601.88 (AB)
1	0	10,257.62±271.58 (B)
	2.92	11,170.58±205.51 (A)

หมายเหตุ ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH
แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ผลของผงสีจากสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP

จากการวิเคราะห์หาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยของความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ทำการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน และการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ค่าที่ได้อยู่ในช่วง 46.32 ถึง 48.70 มิลลิโมลาร์สมมูลของ Fe^{2+} ต่อผงสีจากสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม พบว่าเมื่อทำการประยุกต์ใช้ความดันร่วมกับ MEF จะเห็นได้ว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ($p < 0.05$) ซึ่งแสดงผลเป็นไปในทิศทางเดียวกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจากผงสีจากสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ทั้งหมดข้างต้น



ภาพที่ 15 แสดงความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ที่มีผลจากการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม ปราศจากความดัน วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน และการสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร ความดัน 1 บาร์ และเวลาการสกัด 30 นาที
หมายเหตุ ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยปริมาณแอนโทไซยานินแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 12 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (มิลลิกรัมสมมูลของ Fe^{2+} ต่อผงสีจากสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม)

ความ ดัน (บาร์)	ความแรง สนามไฟฟ้า (โวลต์ต่อ เซนติเมตร)	ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP (มิลลิกรัมสมมูล ของ Fe^{2+} ต่อผงสีจากสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 100 กรัม)
		30 (นาทีก)
0	0	46.32±0.16 (B)
1	0	45.46±0.52 (C)
	2.92	48.70±0.13 (A)

หมายเหตุ ตัวอักษร A-C ที่แตกต่างกัน หมายถึง ค่าเฉลี่ยความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแอนโธไซยานินในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ผ่านกระบวนการสกัดด้วย MEF ตรวจวัดโดยวิธี HPLC

สารประกอบฟีนอลิก

ผลของการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ กรดเพอรูลิก กรดวานิลลิก และ กรดแกลลิก จากผงสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน และการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ด้วยวิธี HPLC พบว่าผงสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ประกอบด้วย สารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ กรดวานิลลิก พบที่เวลา 11.94 นาที ณ ความยาวคลื่น 260 นาโนเมตร จากการ วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (ตารางที่ 13) แสดงให้เห็นว่าไม่พบสารกรดเพอรูลิก กรดวานิลลิก และ กรดแกลลิก ภายใต้การสกัดรำข้าวด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน แต่อย่างไรก็ตามเมื่อทำการประยุกต์ใช้ ความดันร่วมกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและ MEF จะเห็นได้ว่าการสกัดด้วยวิธีทั้ง 2 วิธีส่งผลต่อการสกัด สารประกอบฟีนอลิก คือ กรดวานิลลิก ซึ่งค่าที่ได้อยู่ในช่วง 229.42 ถึง 288.74 ไมโครกรัมกรดวานิลลิกต่อผงสี จากสารรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม อาจเกิดจากการประยุกต์ใช้ความดันร่วมกับวิธีการสกัดแบบดั้งเดิมและ MEF ช่วยเพิ่มประสิทธิภาพต่อการสกัดสารฟีนอลิกได้มากขึ้น ซึ่งความดันนี้อาจทำให้เซลล์เสียรูปร่างและโครงสร้าง ที่ผนังเซลล์ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่เกิดการเสียหายหรือถูกทำลาย ส่งผลให้สารตัวทำละลายสามารถแทรกซึม ผ่านผนังเซลล์ได้มากขึ้น (Kotovicz and Zanoelo, 2013) จะเห็นได้ว่าผลการวิเคราะห์ปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกดังที่กล่าวข้างต้นมีความสอดคล้องกับการวิเคราะห์ความเปลี่ยนแปลงของผนังเซลล์รำ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (ภาพที่ 9) จึงทำให้การสกัดผงสีจากสารสกัดรำ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วย MEF ภายใต้ความดัน และการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน มีประสิทธิภาพในการ สกัดสารประกอบฟีนอลิกได้มากกว่าการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน ($p < 0.05$) แต่อย่างไรก็ตามการ สกัดกรดวานิลลิกด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดันมีปริมาณไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร ($p > 0.05$) อาจเนื่องมาจากผลของปฏิกิริยา electrochemical reaction ต่อการสลายตัวของสารประกอบฟีนอลิกบางตัว (Sarkis *et al.* 2013) ดังที่ กล่าวมาแล้วในผลการทดลองก่อนหน้านี้ แต่เมื่อพิจารณาผลของการสกัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (ตารางที่ 8) จะเห็นได้ว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของผงสีจากสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับปริมาณ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน ($p < 0.05$)

ตารางที่ 13 ปริมาณกรดวานิลลิก (ไมโครกรัมกรดวานิลลิกต่อผงสีจากสารรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม) ปริมาณกรดแกลลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อผงสีจากสารรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม) และปริมาณกรดเฟอรูลิก (ไมโครกรัมกรดเฟอรูลิกต่อผงสีจากสารรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม) ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 ณ ความแรงสนามไฟฟ้าที่แตกต่างกัน (0 และ 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร) และ ณ ความดันที่แตกต่างกัน (0 และ 1 บาร์) ในช่วงระยะเวลาสกัดที่ 30 นาที

ความดัน (บาร์)	ความแรงสนามไฟฟ้า (โวลต์ต่อเซนติเมตร)	ปริมาณกรดวานิลลิก (ไมโครกรัมกรดวานิลลิกต่อผงสีจากสารรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม)	ปริมาณกรดแกลลิก (ไมโครกรัมกรดแกลลิกต่อผงสีจากสารรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม)	ปริมาณกรดเฟอรูลิก (ไมโครกรัมกรดเฟอรูลิกต่อผงสีจากสารรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม)
0	0 ¹	0	0	0
1	0 ¹	229.42±30.36 (A)	0	0
	2.92	288.74±75.76 (A)	0	0

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)
¹ หมายถึง การสกัดด้วยดั้งเดิม
 ค่าเฉลี่ยไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p>0.05)

แอนโทไซยานิน

ผลของการวิเคราะห์หาชนิดและปริมาณสารแอนโทไซยานิน ได้แก่ ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (cyanidin-3-O-glucoside, C3G) และ พีโอนิดิน-3-กลูโคไซด์ (peonidin-3-O-glucoside, P3G) จากผงสีจากสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดัน วิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน และการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน 1 บาร์ ด้วยวิธี HPLC ณ ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร พบการปรากฏ C3G ที่เวลา 14.35 นาที และ P3G ที่เวลา 15.86 นาที จากการวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน (ตารางที่ 14) พบว่าการสกัดแอนโทไซยานินด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันมีปริมาณ C3G และ P3G สูงที่สุด ($p<0.05$)

ตารางที่ 14 ปริมาณ C3G (ไมโครกรัม C3G ต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัมน้ำหนักแห้ง)และปริมาณ P3G (ไมโครกรัม P3G ต่อรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัมน้ำหนักแห้ง) ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่สกัดด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริกร้อยละ 0.1 ในสารละลายเอทานอลร้อยละ 70 ณ ความแรงสนามไฟฟ้าที่แตกต่างกัน (0 และ 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร) และ ณ ความดันที่แตกต่างกัน (0 และ 1 บาร์) ในช่วงระยะเวลาสกัดที่ 30 นาที

ความดัน (บาร์)	ความแรงสนามไฟฟ้า (โวลต์ต่อเซนติเมตร)	ปริมาณ C3G (ไมโครกรัม C3G ต่อผงสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม)	ปริมาณ P3G (ไมโครกรัม P3G ต่อผงสีจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม)
0	0 ¹	2,369.40±142.72 (A)	477.32±19.64 (A)
1	0 ¹	1,218.51±31.98 (B)	251.06±6.84 (B)
	2.92	1,185.75±80.33 (B)	240.24±12.37 (B)

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

¹ หมายถึง การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม

ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p<0.05$)

การวิเคราะห์เชิงกายภาพของผงสีจากสารสกัดจากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่

การทดสอบความสามารถในการละลาย ความหนาแน่นจำเพาะ ความชื้น ปริมาณน้ำอิสระ และค่าวัดสี

จากผลการวิเคราะห์เชิงกายภาพของผงสีจากสารสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ (ตารางที่ 15) พบว่าความหนาแน่นโดยรวม ความชื้น และปริมาณน้ำอิสระ ทุกสภาวะการสกัดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และเมื่อพิจารณาสมบัติความสามารถในการละลายพบว่าผงสีจากการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วย MEF ภายใต้ความดันมีความสามารถในการละลายมากที่สุด ($p<0.05$) อาจเป็นไปได้ว่าการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันเป็นการสกัดที่ทำให้โครงสร้างผนังเซลล์ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ได้รับความเสียหายหรือโดนทำลายจากผลของความแรงสนามไฟฟ้าและผลของความดันดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้น จึงส่งผลมีประสิทธิภาพในการสกัดสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดและแอนโทไซยานินทั้งหมด (ตารางที่ 8 และ 9) ที่มีคุณสมบัติชอบน้ำ (hydrophilic compound) ออกจากเซลล์รำข้าวได้มากกว่าอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดรำข้าวด้วยวิธีดั้งเดิมทั้งปราศจากความดันและภายใต้ความดัน ($p<0.05$) และภายในรำข้าวส่วนใหญ่ประกอบไปด้วยแอนโทไซยานิน (anthocyanidin) ที่อยู่ในรูป glycosidic (แอนโทไซยานิน) ซึ่งการเกิด Glycosylation ของแอนโทไซยานินนี้ส่งผลให้มีความเสถียรมากขึ้นและเพิ่มคุณสมบัติการละลายน้ำของแอนโทไซยานิน (Celli *et al.*, 2019) จึงทำให้ผงสีที่สกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดันมีความสามารถละลายน้ำได้สูง ($p<0.05$) แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาผลของการวัดค่าสี (ตารางที่ 16) พบว่าผงสีจากการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วย MEF ภายใต้ความดัน มี L^* ค่าความสว่างมากที่สุด ($p<0.05$) ส่วนผงสีจากการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน ($p>0.05$) ส่วน a^* ค่าสีแดง พบว่าทุกสภาวะการสกัดไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และ b^* ค่าสีเหลืองพบว่าผงสีจากการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วย MEF ภายใต้ความดันมีค่าความเหลืองมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนผงสีจากการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน ($p>0.05$) ซึ่งสารแอนโทไซยานินในรำข้าวนี้เป็นรงควัตถุสารสีม่วงภายในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Li *et al.*, 2012) อาจเป็นไปได้ว่าเกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินบางส่วนในระหว่างการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดัน ดังที่กล่าวในผลการทดลองข้างต้น จึงส่งผลให้มีความสว่างของสีมากกว่าการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันและภายใต้ความดัน

ตารางที่15 ผลการวิเคราะห์เชิงกายภาพโดยการทดสอบความสามารถในการละลาย ความหนาแน่นจำเพาะ ความชื้น และปริมาณน้ำอิสระ

ความดัน (บาร์)	ความแรง สนามไฟฟ้า (โวลต์ต่อเซนติเมตร)	ความสามารถ ในการละลาย	ความหนาแน่น โดยรวม (กรัมต่อมิลลิตร)	ความชื้น	ปริมาณน้ำอิสระ (A _w)
0	0 ¹	92.24±0.34 (B)	0.66± 0.05 (A)	17.12±0.27 (A)	0.49±0.03 (A)
1	0 ¹	92.70±0.04 (AB)	0.63± 0.00 (A)	17.34±0.90 (A)	0.52±0.00 (A)
	2.92	93.40±0.27(A)	0.63±0.00 (A)	16.71±0.06 (A)	0.52±0.01 (A)

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

¹ หมายถึง การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม

ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

ตารางที่ 16 ผลการวิเคราะห์เชิงกายภาพโดยการวัดค่าสี

ความดัน (บาร์)	ความแรงสนามไฟฟ้า (โวลต์ต่อเซนติเมตร)	L*	a*	b*
0	0 ¹	24.52±0.16 (B)	1.55±0.48 (A)	-2.71±0.12 (B)
1	0 ¹	24.71±0.25 (B)	0.38±0.03 (A)	-2.83±0.23 (B)
	2.92	28.48±0.04 (A)	1.71±1.22 (A)	-1.95±0.16 (A)

หมายเหตุ ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=2)

¹ หมายถึง การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิม

ตัวอักษร A-B ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p<0.05)

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

สารฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดมีปริมาณสูงที่สุด เมื่อใช้อัตราส่วนรำข้าวต่อปริมาณสารสกัดเอทานอล 1:200 (0.05 กรัม ต่อสารละลายเอทานอล 10 มิลลิลิตร) การสกัดด้วยการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตรเป็นเวลา 120 นาที ภายใต้ความดัน มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด ($p < 0.05$) ในขณะที่ การสกัดภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที ($p < 0.05$) เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสกัดสารแอนโทไซยานิน แต่อย่างไรก็ตาม ความแรงสนามไฟฟ้าและระยะเวลาในการสกัดไม่ส่งผลกับร้อยละของสีของพอลิเมอร์ เมื่อสกัดด้วยวิธี MEF ปราศจากความดันและสกัดด้วยวิธี MEF ภายใต้ความดัน นอกจากนี้ การสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 60 นาที และที่ความแรงสนามไฟฟ้า 11.54 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 120 นาที มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดและไม่แตกต่างกัน ($p < 0.05$)

เมื่อทำการสำรวจผนังเซลล์รำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด พบว่าการใช้สนามไฟฟ้าร่วมกับความดันมีประสิทธิภาพในการทำลายผนังเซลล์ของรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ได้ดี พบว่าผิวของเซลล์รำข้าวมีเรียบขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ซึ่งอาจเกิดจากพลังงานไฟฟ้าของ MEF ทำให้เกิดการวิ่งไปมาของประจุไฟฟ้าทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ ซึ่งมีความแรงสนามไฟฟ้าที่ทำให้เกิดการเหนี่ยวนำประจุไฟฟ้าทั้งภายในและภายนอกเซลล์มาสะสมที่ผนังเซลล์ของรำข้าวส่งผลให้ผนังเซลล์เกิดรูพรุนและสูญเสียสภาพการแลกเปลี่ยนสารผ่านเข้าออกระหว่างเซลล์ นอกจากนี้ความเสียหายของผนังเซลล์รำข้าวอาจเกิดจากความร้อนที่เกิดจากคุณสมบัติการต้านทานไฟฟ้าของรำข้าวในระหว่างกระบวนการของ MEF จึงช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการสกัด อีกทั้งยังมีความดันที่ช่วยสร้างความเสียหายต่อเนื้อเยื่อเซลล์และช่วยผลักดันสารตัวทำละลายเข้าออกเซลล์ที่ช่วยในการสลายเยื่อหุ้มเซลล์รำข้าว ส่งผลให้ผนังเซลล์เกิดรูพรุนเป็นจำนวนมาก จนทำให้ผนังเซลล์สูญเสียสภาพหรือเกิดการสลายของผนังเซลล์ได้

เนื่องจากการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที มีประสิทธิภาพในการสกัดสารแอนโทไซยานินสูงสุด รวมถึงใช้ความแรงสนามไฟฟ้าต่ำ และเวลาน้อย ดังนั้น จึงนำสภาวะนี้มาใช้ในการสกัดเพื่อได้ผลดีที่สุดต่อไป

สำหรับผล จากการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันที่ความแรงสนามไฟฟ้า 2.92 โวลต์ต่อเซนติเมตร เป็นเวลา 30 นาที พบว่าผลที่ได้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมด ร้อยละของสีของพอลิเมอร์ ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงที่สุด ($p < 0.05$) เมื่อวิเคราะห์สารประกอบฟีนอลิก พบว่าในผลที่ประกอบด้วยกรดวานิลิก 229.42 ถึง 288.74 ไมโครกรัมกรดวานิลิกต่อผลจากสารรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 กรัม ในขณะที่การสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันไม่พบกรดวานิลิก สำหรับชนิดและปริมาณสารแอนโทไซยานิน พบว่าการสกัดแอนโทไซยานินด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันมีปริมาณ C3G และ P3G สูงที่สุด ($p < 0.05$) เป็นไปได้ว่าระหว่างกระบวนการสกัดอาจเกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินบางส่วนระหว่างการสกัดด้วย MEF ภายใต้ความดันและการสกัดด้วยวิธีดั้งเดิมภายใต้ความดัน นอกจากนี้ ความหนาแน่นโดยรวม ความชื้น

และปริมาณน้ำอิสระของผงสีที่ทุกสภาวะการสกัดไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) และเมื่อพิจารณาสมบัติความสามารถในการละลายพบว่าผงสีจากการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วย MEF ภายใต้อุณหภูมิความสามารถในการละลายมากที่สุด ($p<0.05$) ซึ่งสารแอนโทไซยานินในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่เป็นรงควัตถุสารสีม่วงภายในรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Li et al., 2012) อาจเป็นไปได้ว่าเกิดการสลายตัวของแอนโทไซยานินบางส่วนในระหว่างการสกัดด้วย MEF ภายใต้อุณหภูมิเนื่องจากผลของปฏิกิริยา electrochemical reaction ในระหว่างกระบวนการสกัดด้วย MEF และผลของความดันดังที่กล่าวมาแล้วข้างต้นอาจเป็นสาเหตุให้เกิดการสลายตัวของสารแอนโทไซยานิน จึงส่งผลให้มีความสว่างของสีมากกว่าการสกัดรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ด้วยวิธีดั้งเดิมปราศจากความดันและภายใต้อุณหภูมิ

ข้อเสนอแนะสำหรับงานวิจัยในอนาคต

ระหว่างการให้ MEF เป็นไปได้ว่าเกิดการสลายของของแอนโทไซยานิน อันเนื่องมาจากเนื่องมาจากผลของปฏิกิริยา electrochemical reaction ที่อิเล็กโทรด ดังนั้น หากพัฒนาระบบต่อโดยการนำฟิล์มนำไฟฟ้าติดตั้งที่อิเล็กโทรด ไม่ให้สารละลายสัมผัสอิเล็กโทรด อาจช่วยลดปฏิกิริยาที่อาจเกิดขึ้นได้ และเพิ่มปริมาณแอนโทไซยานินระหว่างการสกัดได้

เอกสารอ้างอิง

- Aleixandre-Tudo, J.L. and W.D. Toit. 2018. Cold maceration application in red wine production and its effects on phenolic compounds: A review. **LWT-Food Science and Technology** 95: 200–208.
- Anema, S.G., D.N. Pinder, R.J. Hunter and Y. Hemar. 2006. Effects of storage temperature on the solubility of milk protein concentrate (MPC85). **Food Hydrocolloids** 20: 386–393.
- Benzie, I.F.F. and J.J. Strain. 1999. Ferric reducing/antioxidant power assay: direct measure of total antioxidant activity of biological fluids and modified version for simultaneous measurement of total antioxidant power and ascorbic acid concentration, pp. 15-27. *In* Abelson, J.N. and M.I. Simon, eds. **Methods in Enzymology**. Academic Press, Orlando, Florida.
- Brand-Williams, W., M.E. Cuvelier and C. Berset. 1995. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie** 28: 25–30.
- Briones-Labarca, V., M. Plaza-Morales, C. Giovagnoli-Vicuna and F. Jamett. 2015. High hydrostatic pressure and ultrasound extractions of antioxidant compounds, sulforaphane and fatty acids from Chilean papaya (*Vasconcellea pubescens*) seeds: Effects of extraction conditions and methods. **LWT-Food Science and Technology** 60: 525-534.
- Celli, G.B., C. Tan and M.J Selig. 2019. Anthocyanidins and Anthocyanins. **Encyclopedia of Food Chemistry** 3: 218-223.
- Chen, X.Q., N. Nagao, T. Itani and K. Irifune. 2012. Anti-oxidative analysis, and identification and quantification of anthocyanin pigments in different coloured rice. **Food Chemistry** 135: 2783-2788.
- Duangmal, K., B. Saicheua and S. Sueeprasan. 2008. Colour evaluation of freeze-dried roselle extract as a natural food colorant in a model system of a drink. **LWT-Food Science and Technology** 1437-1445.
- Giusti, M.M. and R.E. Wrolstad. 2005. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy, pp. 19-31. *In* R. E. Wrolstad, T. E. Acree, E. A. Decker, M. H. Penner, D. S. Reid, S. J. Schwartz, C. F. Shoemaker, D. Smith and P. Sporns, eds. *Handbook of food analytical chemistry: Pigments, colorants, flavors, texture, and bioactive food components*. Wiley-Interscience, Hoboken, New Jersey.

- Jiang, T., Y. Mao, L. Sui, N. Yanga, S. Lia, Z. Zhua, C. Wangb, S. Yinc, J. Hea and Y. Hea. 2019. Degradation of anthocyanins and polymeric color formation during heat treatment of purple sweet potato extract at different pH. **Food Chemistry** 274: 460–470.
- Kulshrestha, S. and S. Sastry. 2003. Frequency and voltage effects on enhanced diffusion during moderate electric field (MEF) treatment. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 4: 189-194.
- Kulshrestha, S.A. and S.K. Sastry. 2010. Changes in permeability of moderate electric field (MEF) treated vegetable tissue over time. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 11: 78-83.
- Kotovicz, V. and E.F. Zanoelo. 2013. Hydrostatic pressure cycling extraction of soluble matter from mate leaves. **Journal of Food Engineering** 116: 656-665.
- Li, H., Z. Deng, H. Zhu, C. Hu, R. Liu, J.C. Young and R. Tsao. 2012. Highly pigmented vegetables: Anthocyanin compositions and their role in antioxidant activities. **Food Research International** 46: 250–259.
- Liu, S., Q. Xu, X. Li, Y. Wang, J. Zhu, C. Ning, X. Chang and X. Meng. 2016. Effects of high hydrostatic pressure on physicochemical properties, enzymes activity, and antioxidant capacities of anthocyanins extracts of wild *Lonicera caerulea* berry. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 36: 48–58.
- Loypimai, P., A. Moongngarm, P. Chottanom and T. Moontree. 2015. Ohmic heating-assisted extraction of anthocyanins from black rice bran to prepare a natural food colourant. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 27: 102-110.
- Madhujith, T. and F. Shahidi. 2009. Antioxidant potential of barley as affected by alkaline hydrolysis and release of insoluble-bound phenolics. **Food Chemistry** 117: 615–620.
- Martynenko, A. and Y. Chen. 2016. Degradation kinetics of total anthocyanins and formation of polymeric color in blueberry hydrothermodynamic (HTD) processing. **Journal of Food Engineering** 171: 44-51.
- Peanparkdee, M., J. Patrawart and S. Iwamoto. 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: 86–91.

- Posuwan, J., P. Prangthip, V. Leardkamolkarn, U. Yamborisut, R. Surasiang, R. Charoensiri and R. Kongkachuichai. 2013. Long-term supplementation of high pigmented rice bran oil (*Oryza sativa* L.) on amelioration of oxidative stress and histological changes in streptozotocin-induced diabetic rats fed a high fat diet; Riceberry bran oil. **Food Chemistry** 138: 501–508.
- Puértolas, E., N. López, G. Saldaña, I. Álvarez and J. Raso. 2013. Pulsed-electric-field-assisted extraction of anthocyanins from purple-fleshed potato. **Food Chemistry** 136: 1330–1336.
- Samaranayake, C.P., and S.K. Sastry. 2005. Electrode and pH effects on electrochemical reactions during ohmic heating. **Journal of Electroanalytical Chemistry** 577: 125–135.
- Sastry, S. 2008. Ohmic heating and moderate electric field processing. **International Journal of Food Science and Technology** 14(5): 419-422.
- Sarkis, J.R., D.P. Jaeschke, I.C. Tessaro and L.D.F. Marczak. 2013. Effects of ohmic and conventional heating on anthocyanin degradation during the processing of blueberry pulp. **LWT - Food Science and Technology** 51: 79-85.
- Sensoy and S.K. Sastry. 2004. Extraction using moderate electric fields. **Journal of Food Engineering and Physical Properties** 69(1): 7-13.
- Shao, Y., F. Xu, X. Sun, J. Bao and T. Bet. 2014. Phenolic acids, anthocyanins, and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering. **Food Chemistry** 143: 90–96.
- Singleton, V.L., R. Orthofer and R.M. Lamuela-Raventos. 1999. Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidant by means of Folin–Ciocalteu reagent. **Method in Enzymology** 299: 152–178.
- Silva, E.M., H. Rogez and Y. Larondelle. 2007. Optimization of extraction of phenolics from *Inga edulis* leaves using response surface methodology. **Separation and Purification Technology** 55: 381–387.
- Sui, X., S. Bary, and W. Zhou. 2016. Changes in the color, chemical stability and antioxidant capacity of thermally treated anthocyanin aqueous solution over storage. **Food Chemistry** 192: 516–524.
- Sutharut, J. and Sudarat, J. 2012. Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice. **International Food Research Journal** 19(1): 215-221.

- Tananuwong, K., and W. Tewaruth. 2010. Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. **LWT-Food Science and Technology** 43: 476–481.
- Vega-Gálvez, A., J. López, M.J. Torres-Ossandón, M.J. Galotto, L. Puente-Díaz, I. Quispe-Fuentes, and K.D. Scala. 2014. High hydrostatic pressure effect on chemical composition, color, phenolic acids and antioxidant capacity of Cape gooseberry pulp (*Physalis peruviana* L.). **LWT - Food Science and Technology** 58: 519-526.
- Wang, W., J. Jung, E. Tomasino and Y. Zhao. 2016. Optimization of solvent and ultrasound-assisted extraction for different anthocyanin rich fruit and their effects on anthocyanin compositions. **Food Science and Technology** 72: 229-238.

Output จากโครงการวิจัยที่ได้รับทุนจาก สกว.

1. ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการนานาชาติ (ระบุชื่อผู้แต่ง ชื่อเรื่อง ชื่อวารสาร ปี เล่มที่ เลขที่ และหน้า) หรือผลงานตามที่คาดไว้ในสัญญาโครงการ
- ผลงานตามที่คาดไว้ในสัญญาโครงการ
 - คาดว่าจะส่งผลงานตีพิมพ์
 - ชื่อเรื่อง: Moderate-electric-field-assisted extraction under pressure for a natural food colorant from pigmented rice bran
 - ชื่อวารสาร: Journal of Food Engineering
 - Impact factor: 2.771
2. การนำผลงานวิจัยไปใช้ประโยชน์
 - เชิงวิชาการ (มีการพัฒนาการเรียนการสอน/สร้างนักวิจัยใหม่)
 - ใช้เป็นความรู้พื้นฐานในการประยุกต์ใช้กับงานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการพัฒนาการสกัดสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ ในผักและผลไม้
3. อื่นๆ (เช่น ผลงานตีพิมพ์ในวารสารวิชาการในประเทศ การเสนอผลงานในที่ประชุมวิชาการ หนังสือ การจดสิทธิบัตร)
 - การเสนอผลงานในที่งานประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 57 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ The Proceedings of the 57th Kasetsart University Annual Conference วันที่ 29 มกราคม ถึง 1 กุมภาพันธ์ 2562
ในชื่อเรื่อง ผลของสนามไฟฟ้าแบบปานกลางภายใต้ความดันต่อการสกัดสารฟีนอลิกทั้งหมด แอนโทไซยานินทั้งหมด และเปอร์เซ็นต์สีของพอลิเมอร์จากรำข้าวไรซ์เบอร์รี่ (Effect of Moderate Electric Field with Overriding Pressure on Extraction of Total Phenolics, Total Anthocyanins and Percent Polymeric Color from Riceberry Bran) ตามเอกสารแนบ