บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ความรู้ทั่วไปของข้าวเหนียว

ข้าวเหนียว

ข้าวเหนียวตามมาตรฐานสินค้าเกษตรข้าวเหนียว (glutinous rice or waxy rice) หมายถึง ข้าวซึ่งเป็นพันธุ์ที่เมล็ดมีลักษณะขุ่นขาวทั้งเมล็ด เมื่อนึ่งสุกเมล็ดจะเหนียวและจับติดกัน และมีลักษณะใส ข้าวเหนียวมี 2 สี คือ สีขาวและสีดำ (คนภาคเหนือเรียกว่า ข้าวเหนียวก่ำ หรือข้าวเหนียวดำ) ซึ่งในข้าวเหนียวก่ำมีรงควัตถุที่ทำให้เกิดสี คือ แอนโทไซยานิน ซึ่งมีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ข้าวเหนียวเป็นพืชเศรษฐกิจของไทย และเป็นอาหารหลักของคนไทยโดยเฉพาะภาคเหนือและภาคอีสาน นอกจากเป็นอาหารหลักแล้วข้าวเหนียวยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นขนมหวานและผลิตภัณฑ์อื่น เช่น เครื่องดื่มหมักพื้นบ้านได้แก่ เหล้าสาโท กระแช่ น้ำขาว อุ และผลิตภัณฑ์ที่ไม่ใช่เครื่องดื่ม ได้แก่ ข้าวหมาก ซึ่งผลิตภัณฑ์เหล่านี้จะใช้ลูกแป้งซึ่งมีเชื้อจุลินทรีย์ที่เกิดขึ้นเองตามธรรมชาติเป็นแหล่งให้จุลินทรีย์ในการหมัก ข้าวเหนียวจึงเป็นวัตถุดิบหลักในการทำข้าวหมาก

ข้าวเหนียวดำ (น้ำทิพย์ เรืองดี, 2555)

ข้าวเหนียวดำ หรือข้าวเหนียวก่ำเป็นภาษาพื้นเมืองของทางภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือ ตามลักษณะสีของเมล็ดที่มีสีแดงเข้มหรือสีแดงก่ำหรือสีม่วง ข้าวเหนียวก่ำ นิยมปลูกในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ด้วยลักษณะเมล็ดข้าวมีสีม่วงดำ หรือแดงก่ำ เป็นพันธุ์ข้าวที่ไวต่อแสง ปลูกได้เฉพาะฤดูนาปี มีความสามารถในการทนแล้งโดยทั่วไปมักพบว่ามีการปลูกข้าวก่ำทั้งข้าวไร่และข้าวนาดำ เกษตรกรมักปลูกร่วมกับข้าวขาวเพราะเชื่อว่าข้าวก่ำเป็นพญา (พระยา) ของข้าวทั้งหลายสามารถปกป้องนาผืนนั้นให้ปราศจากโรครบกวนได้ ข้าวเหนียวดำมีลักษณะเฉพาะที่แตกต่างไปจากข้าวทั่วไปที่เห็นอย่างชัดเจน คือ การปรากฏของสีม่วงบนส่วนต่างๆ ของต้น เช่น กาบใบ แผ่นใบ กลีบดอก เปลือกเมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ด เป็นต้น ความเข้มของสีจะแตกต่างกันไปตามลักษณะเฉพาะประจำพันธุ์ข้าวเหนียวดำไร่จะมีลักษณะสีม่วงเฉพาะส่วนของเยื่อหุ้มเมล็ดเท่านั้นเมื่อนำข้าวเหนียวดำ

มากะเทาะนำเอาส่วนของเปลือกออกจะทำให้มองเห็นเป็นเมล็ดข้าวเหนียวที่มีเยื้อหุ้มสีดำๆ ปกคลุมอยู่ ซึ่งส่วนของเนื้อเยื่อที่มีลักษณะสีดำจะอุดมไปด้วยสารประกอบต่างๆ ที่มีคุณค่าทางโภชนาการที่จำเป็นต่อร่างกาย ข้าวเหนียวดำมีปริมาณโปรตีนโดยรวมสูงกว่าข้าวขาว และยังมีวิตามินอี แคโรทีน ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

คุณค่าทางโภชนาการของข้าวเหนียวดำ

เมล็ดข้าวเหนียวดำ มีสาระสำคัญชื่อ แกมมา โอไรซานอล (gamma oryzanol) ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) สามารถลด cholesterol, triglyceride และเพิ่มระดับของ high density lipoprotien (HDL) ในเลือด มีผลต่อการทำงานของต่อมใต้สมอง ยับยั้งการหลั่งกรดในกระเพาะอาหารและการรวมตัวของเกล็ดเลือด ลดน้ำตาลในเลือดและเพิ่มระดับของฮอร์โมนอินซูลิน ของคนเป็นโรคเบาหวานชนิดที่ 2 และแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยการหมุนเวียนของกระแสโลหิต ชะลอการเสื่อมของเซลล์ร่างกาย โดยเฉพาะแอนโทไซยานิน ชนิดที่พบในข้าวสีม่วงกลุ่มอินดิก้า ซึ่งรวมถึงข้าวก่ำไทย คือ cyanindin 3-glucoside มีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งปอด สารสกัดในข้าวเหนียวดำ ยังมีคุณสมบัติช่วยสร้างเม็ดเลือดแดง สร้าง "วิลไล" ในผนังลำไส้เล็กซึ่งเป็นส่วนที่ยื่นออกมาเพื่อดูดซึมสารอาหาร ทำให้ร่างกายสามารถดูดซับสารอาหารได้มากขึ้น ส่งผลให้ร่างกายเจริญเติบโตและแข็งแรงยิ่งขึ้น นอกจากนี้ยังพบสารประกอบอื่นๆ ในเมล็ดข้าวเหนียวดำที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีเข้ม ได้แก่ 1) โปรตีน ซึ่งในข้าวกล้องมีปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนที่สำคัญ คือ ไลซีน (lysine) สูงกว่าข้าวสาร 2) ธาตุเหล็ก ในเมล็ดข้าวโดยทั่วไปแล้วมีแนวโน้มว่าพันธุ์ข้าวที่มีกลิ่นหอมและมีสี (แดงและดำ) จะมีปริมาณธาตุเหล็กสูงกว่าพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง แต่ไม่มีกลิ่นหอมและไม่มีสี และพบว่า พันธุ์ข้าวของจีนที่มีเมล็ดยาวสีแดงมีปริมาณธาตุเหล็กสูงสุดถึง 64 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม 3) สังกะสี โดยที่ข้าวต่างสีและมีกลิ่นหอมมีแนวโน้มที่มีธาตุสังกะสีในปริมาณสูง 4) วิตามิน เป็นสารอาหารที่ร่างกายไม่สามารถสร้างขึ้นเองได้ แต่มีความสำคัญช่วยให้ร่างกายทำงานเป็นปกติ เช่น วิตามินเอ ช่วยในการเจริญเติบโต บำรุงสายตาและซ่อมแซมเนื้อเยื่อ ช่วยพัฒนากระดูกและฟัน และช่วยสร้างภูมิคุ้มกันโรค 5) สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) เป็นสารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน หยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ของอนุมูลอิสระ ป้องกันไม่ให้อนุมูลอิสระไปมีผลทำลายเซลล์ ในเมล็ดข้าวเหนียวดำมีสารสำคัญชื่อแกมมา-โอไรซานอล (gamma oryzanol) ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน (antioxidant) สามารถลด cholesterol, triglyceride และเพิ่มระดับของ high density lipoprotien (HDL)

ในเลือด และแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ซึ่งมีคุณสมบัติในการต้านการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันช่วยการหมุนเวียนของระบบโลหิต (จรัญจิต เพ็งรัตน์ และ สุวัฒน์ เจียระคงมั่น, 2552) ดังนั้นจึงสามารถอธิบายคุณค่าทางโภชนาการของข้าวแต่ละชนิดได้ ดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 **องค์ประกอบทางโภชนาการของข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ข้าวหอมแดงและข้าวหอมดำ**

สารอาหาร	ข้าวดอกมะลิ 105	ข้าวหอมแดง	ข้าวหอมดำ
ใยอาหาร (mg/100g)	3.31	7.90	6.41
เหล็ก (Fe) (mg/kg)	9.91	8.16	9.66
แคลเซียม (Ca) (mg/kg)	85.91	92.25	114.80
สังกะสี (Zn) (mg/kg)	26.64	22.62	20.94
วิตามินบี 1 (mg/100g)	0.32	0.19	0.39
วิตามินบี 2 (mg/100g)	0.00	0.00	0.10
วิตามินบี 6 (mg/100g)	0.26	0.10	0.07
วิตามินอี (mga-TE/100g)	0.58	0.37	1.22
โปรตีน (g/100g)	7.06	6.31	7.81
สารต้านอนุมูลอิสระ (mg/g)	0.42	2.79	1.49
Trolox equivalent antioxidant capacity (TEAC)	0.62	2.59	1.58

ที่มา : จรัญจิต เพ็งรัตน์ และ สุวัฒน์ เจียระคงมั่น (2552)

ข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก

ข้าวกล้อง คือ ข้าวที่สีเอาเปลือกออกโดยที่ยังมีจมูกข้าว และเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวอยู่ข้าวกล้องจะมีสีน้ำตาลอ่อน ซึ่งจมูกข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวนี้มีคุณค่าอาหารที่มีประโยชน์มากสำหรับข้าวขาวที่รับประทานอยู่ เป็นข้าวที่เกิดจากการขัดสีหลาย ๆ ครั้งจนเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวและจมูกข้าวหลุดออกไปเหลือแต่เนื้อในของข้าว ข้าวกล้องบ้างว่าข้าวซ้อมมือหรือข้าวแดงเนื่องจากในสมัยโบราณชาวบ้านใช้วิธี

ตำข้าวรับประทานกันเอง จึงเรียกว่าข้าวซ้อมมือแต่ปัจจุบันมีการใช้เครื่องจักรสีข้าวแทน จึงเรียกข้าวที่สีเอาเปลือกออกนี้ว่า "ข้าวกล้อง" ข้าวกล้องมีโปรตีนประมาณ 7-12 % แล้วแต่พันธุ์ข้าว นักวิทยาศาสตร์ได้วิเคราะห์ว่าการขัดสีข้าวกล้องจนมีสีขาวจะทำให้โปรตีนสูญหายไปประมาณ 30 % (คมสัน คงเอี่ยม, 2554)

ข้าวกล้องงอก (สุนัน ปานสาคร และจตุรงค์ ลังกาพินธุ์, 2556) กล่าวไว้ว่า ข้าวกล้องงอก (germinated brown rice หรือ GABA-Rice) ข้าวกล้องงอก เป็นข้าวกล้องที่นำมาผ่านกระบวนการแช่น้ำ ทำให้งอกเป็นตุ่มงอกสีขาวขึ้นมาที่เมล็ดข้าว โดยการเปลี่ยนแปลงจะเริ่มเกิดขึ้นเมื่อน้ำแทรกเข้าไปในเมล็ดข้าว โดยน้ำจะกระตุ้นให้เอนไซม์ภายในเมล็ดข้าวเกิดการทำงาน เมื่อเมล็ดข้าวเริ่มงอก (Malting) สารอาหารที่ถูกเก็บไว้ในเมล็ดข้าวก็จะถูกย่อยสลายไปตามกระบวนการชีวเคมี จนเกิดเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่มีโมเลกุลเล็กลง (oligosaccharide) และน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) นอกจากนี้โปรตีนภายในเมล็ดข้าวก็จะถูกย่อยให้เกิดเป็นกรดอะมิโน และเปปไทด์ รวมทั้งยังพบการสะสมสารเคมีสำคัญต่างๆ เช่น แกมมาออริซานอล (gamma-oryzanol) ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล ลดการตีบตันของหลอดเลือด และต้านการอักเสบ โทโคฟีรอล (tocopherol) เป็นสารต้านออกซิเดชันให้แก่ร่างกาย และป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง และมีสาร โทโคไตรอีนอล (tocotrienol) ใยอาหาร (dietary fiber) เป็นต้น และโดยเฉพาะอย่างยิ่งสาระสำคัญที่ได้จากกระบวนการงอกของข้าวกล้องก็คือ GABA (gamma amino butyric acid) เป็นกรดอะมิโนจากกระบวนการ decarboxylation ของกรดกลูตามิก (glutamic acid) กรดนี้มีความสำคัญในการทำหน้าที่สารสื่อประสาทในระบบประสาทส่วนกลาง และสารกาบายังเป็นสารสื่อประสาทประเภทยับยั้งโดยทำหน้าที่รักษาสมดุลสมอง อีกทั้งยังช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อ ซึ่งทำให้ที่ผลิตฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโตสร้างกล้ามเนื้อ ทำให้กล้ามเนื้อกระชับ ดังนั้นในวงการแพทย์จึงนำสารกาบามารักษาโรคหลายชนิด เช่น โรควิตกกังกล โรคนอนไม่หลับ โรคลมชัก เป็นต้น

ข้าวพันธุ์ท้องถิ่น

ข้าวพันธุ์ท้องถิ่น (minor varieties) หมายถึง พันธุ์ข้าวพื้นเมืองที่ยังไม่ได้รับการปรับปรุงแต่มีปลูกมากในท้องถิ่นนั้นๆ พันธุ์ข้าวเหล่านี้ยังมีความผันแปรมาก เกษตรกรอาจปลูกไว้ตามความต้องการของตนอาจมี อายุเหมาะสม คุณภาพเมล็ดดีหรือทนทานต่อสภาพแวดล้อม ดังนั้นข้าวพื้นเมืองกำเนิดจากการเพาะพันธุ์และคัดเลือกพันธุ์ข้าวที่ทรหดต่อแดดฝน เหมาะสมกับดินในท้องที่โดยฝีไม้ลายมือการคัดเลือกของชาวนาในท้องถิ่น ปลูกแล้วจึงเก็บเมล็ดพันธุ์ไว้ส่งต่อจากลูกสืบหลาน อีกส่วนหนึ่งเกิดจากการกลายพันธุ์ของข้าวตามธรรมชาติ เมื่อเพาะปลูกข้าวหลายๆ พันธุ์ในท้องนาเดียวกัน

ข้าวสายพันธุ์เดิมก็ผสมปนกันเป็นข้าวพันธุ์ใหม่ ข้าวพันธุ์ใหม่ที่เกิดมาจะถูกเก็บรักษาพันธุ์ไว้หว่านนาในฤดูต่อไป ชื่อเรียกพันธุ์ข้าวที่ชาวนาค้นพบ

ข้าวเหนียวก่ำล้านนา หมายถึงข้าวเหนียวที่มีเมล็ดสีดำ ที่ได้จากข้าวก่ำพันธุ์ดอยสะเก็ด ข้าวก่ำอมก๋อย ข้าวก่ำพะเยา หรือข้าวก่ำพื้นเมืองที่มีคุณภาพดี ซึ่งเป็นข้าวเหนียวดำไวต่อช่วงแสง ปลูกในฤดูนาปี ในพื้นที่ภาคเหนือตอนบน 8 จังหวัดคือ เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แพร่ น่าน พะเยา แม่ฮ่องสอน พื้นที่เพาะปลูกต้องอยู่ในเขตพื้นที่ภาคเหนือตอนบน 8 จังหวัด คือ เชียงใหม่ เชียงราย ลำปาง ลำพูน แพร่ น่าน พะเยา แม่ฮ่องสอน เมล็ดพันธุ์ต้องเป็นเมล็ดพันธุ์ข้าวก่ำดอยสะเก็ด ข้าวก่ำอมก๋อย ข้าวก่ำพะเยา หรือข้าวก่ำพื้นเมืองที่มีคุณภาพดี ไม่มีสิ่งเจือปน ได้จากแหล่งผลิตเมล็ดพันธุ์หน่วยวิจัยข้าวก่ำ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ศูนย์เมล็ดพันธุ์ข้าวเชียงใหม่

ลักษณะทางกายภาพ ต้องเป็นข้าวที่เมล็ดข้าวมีสีม่วงหรือสีดำ มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มี gamma oryzanol, anthocyanin, vitamin E ในปริมาณสูง ซึ่งแตกต่างกันไปตามลักษณะแต่ละสายพันธุ์ของข้าวก่ำ โดยแบ่งชนิดคือ

ข้าวก่ำดอยสะเก็ด ลำต้นมีลักษณะเป็นสีม่วงเข้มหรือสีดำ เปลือกเมล็ดสีม่วง เมล็ดข้าวกล้องมีสีม่วง ขนาดเมล็ดกว้างประมาณ 3.3 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 9.7 มิลลิเมตร หนาประมาณ 1.91 มิลลิเมตร

ข้าวก่ำอมก๋อย ลำต้นมีลักษณะเป็นสีม่วงปนเขียว เมล็ดข้าวกล้องและเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง ขนาดเมล็ดกว้างประมาณ 3 มิลลิเมตร ยาวประมาณ 8.9 มิลลิเมตร

ข้าวก่ำพะเยา ลำต้นมีลักษณะเป็นสีม่วง เมล็ดข้าวกล้องมีสีม่วง ขนาดเมล็ดกว้างประมาณ 2.93มิลลิเมตร ยาวประมาณ 7.7 มิลลิเมตร หนาประมาณ 1.91 มิลลิเมตร

ข้าวก่ำพันธุ์พื้นเมือง ลำต้นมีลักษณะเป็นสีม่วง สีม่วงปนเขียว หรือสีเขียว เมล็ดข้าวเปลือกมีสีดำอมม่วงดังภาพที่ 2.1

(ก)

(ข)

ภาพที่ 2.1 ลักษณะข้าวพันธุ์พื้นเมือง ข้าวก่ำดอยสะเก็ด

(ก) คือ ต้นข้าวพันธุ์พื้นเมือง ข้าวก่ำดอยสะเก็ด

(ข) คือ เมล็ดข้าวพันธุ์พื้นเมือง ข้าวก่ำดอยสะเก็ด

ที่มา : ดำเนิน กาละดี (2554)

พันธุ์ข้าวที่ใช้ในการวิจัย

ข้าวก่ำดอยมูเซอ เป็นการนำข้าวพื้นเมืองท้องถิ่นของชาวเขาเผ่ามูเซอที่อาศัยและทำการเพาะปลูกข้าวอยู่บริเวณพื้นที่ราบสูงในหุบเขาที่เหนือระดับน้ำทะเล 900 –1,000 เมตร พบมากในจังหวัดตาก จังหวัดเชียงใหม่ และจังหวัดเชียงราย ซึ่งคุณหญิงพรรณทอง มณีศิลป์ ได้ค้นพบและศึกษาคุณสมบัติของข้าวก่ำดังกล่าว ซึ่งพบว่า ข้าวก่ำดอยมูเซอ เป็นพันธุ์ข้าวที่มีเอกลักษณ์ คือ เป็นข้าวพันธุ์เมล็ดข้าวใหญ่ สีม่วงเข้ม ที่มีความทนทานต่ออากาศแล้งสูง ซึ่งทำให้ได้ข้าวมีคุณค่าทางอาหารสูงกว่าข้าวที่ปลูกในพื้นที่ราบลุ่ม และได้ทำการสนับสนุนให้ชาวเขาท้องถิ่น ได้เพาะปลูกข้าวพันธุ์ดังกล่าวจากการตรวจโภชนาการของข้าวก่ำดอยมูเซอเพาะงอกของโครงการพระราชดำริของสมเด็จพระราชินี พบว่าข้าวก่ำดอยมูเซอเพาะงอก 100 กรัม มีคุณค่าทางโภชนาการ ดังตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.2 คุณค่าทางโภชนาการต่อข้าวก่ำดอยมูเซอเพาะงอก 100 กรัม

คุณค่าทางโภชนาการ	ข้าวก่ำดอยมูเซอเพาะงอก 100 กรัม
โปรตีน	11.75 %
ใยอาหาร	1.39 %
ไขมัน	3.84 %
คาร์โบไฮเดรทที่ละลายได้	84.28 %
แทนนิน	0.00 %
วิตามิน อี	1.42 มิลลิกรัม
เบตาแคโรทีน	48.00 มิลลิกรัม
เหล็ก	3.90 มิลลิกรัม
สังกะสี	2.20 มิลลิกรัม
Gamma amino butyric Acid	14.00 มิลลิกรัม

ที่มา : วิชิต วิญญกุล และ วิศาล บุญประกอบ (2552)

ลักษณะของเมล็ดข้าวเหนียวดำดอยมูเซอของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกมีลักษณะแตกต่างกันในภาพที่ 2.2

(ก) (ข)

ภาพที่ 2.2 ลักษณะเมล็ดข้าวเหนียวดำดอยมูเซอกล้องและข้าวเหนียวดำดอยมูเซอกล้องงอก
(ก) คือ ข้าวเหนียวดำดอยมูเซอกล้อง
(ข) คือ ข้าวเหนียวดำดอยมูเซอกล้องงอก

พันธุ์ข้าว กข6 (ศูนย์บริการฉายรังสีแกมมาและวิจัยนิวเคลียร์เทคโนโลยี, 2545)

ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Oryza sativa* L.
ชื่อสามัญ : ข้าวเหนียว
ชื่อพันธุ์กลาย : กข 6 (RD6)
ชื่อพันธุ์เดิม : ข้าวเจ้าขาวดอกมะลิ 105 (KDML105)

แหล่งที่มาและประวัติ

ข้าวพันธุ์ กข6 เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวหอม ไวต่อช่วงแสง เป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์ข้าวเจ้าพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 โดยใช้รังสีแกมมาที่ 20 กิโลแรด ที่สำนักงานพลังงานปรมาณูเพื่อสันติแห่งประเทศไทย ในปี พ.ศ. 2508 ปลูกและคัดเลือกข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ฉายรังสีช่วงที่ 2 ที่สถานีทดลองข้าวบางเขน ปลูกชั่วที่ 3 ที่สถานีทดลองข้าวพิมาย จังหวัดนครราชสีมา ฯลฯ คัดเลือกได้ข้าวสายพันธุ์ดีทั้งสายพันธุ์ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว ปลูกทดสอบผลผลิตระหว่างสถานี และในนาเกษตรกรในภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือระหว่างปี พ.ศ. 2514 - พ.ศ. 2519 ผลปรากฏว่า สายพันธุ์ KDML 105'65-G3U-68-254 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ข้าวเหนียว นุ่ม มีกลิ่นหอม ทนแล้ง และมีคุณภาพการหุงต้มรับประทานดี ให้ผลผลิตเฉลี่ย

สูงสุดเป็นอันดับหนึ่งและให้ผลผลิตสูงกว่าพันธุ์เหนียวสันป่าตอง ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวเหนียวที่นิยมปลูกกันแพร่หลายในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

กรมวิชาการเกษตรจึงพิจารณาให้เป็นพันธุ์รับรอง และแนะนำให้เกษตรกรปลูก เมื่อวันที่ 4 พฤษภาคม พ.ศ. 2520 ภาพที่ 2.3 เป็นการเปรียบเทียบลักษณะเมล็ดข้าวของข้าวเหนียว กข6 กล้องธรรมดาและเมล็ดข้าว กข6 แบบเพาะงอก ดังภาพที่ 2.3

(ก) (ข)

ภาพที่ 2.3 ลักษณะเมล็ดข้าวเหนียว กข6 กล้อง และข้าวเหนียว กข6 กล้องงอก

(ก) คือ ข้าวเหนียว กข6 กล้อง

(ข) คือ ข้าวเหนียว กข6 กล้องงอก

พันธุ์ข้าวสันกำแพง ถือว่าเป็นพันธุ์ข้าวสายพันธุ์ท้องถิ่นของอำเภอสันกำแพงโดยการนำสายพันธุ์มาจากบรรพบุรุษซึ่งเป็นพันธุ์พื้นเมืองที่นิยมปลูกกันถ่ายทอดมาเป็นรุ่นๆและได้ถูกพัฒนาโดยกลุ่มวิสาหกิจชุมชนเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เกษตรอินทรีย์โดยผลิตข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกซึ่งลักษณะของข้าวเหนียวดำสันกำแพงมีลักษณะ ดังภาพที่ 2.4

(ก) (ข)

ภาพที่ 2.4 ลักษณะเมล็ดข้าวเหนียวดำสันกำแพง

(ก) คือ ข้าวเหนียวดำสันกำแพงกล้อง

(ข) คือ ข้าวเหนียวดำสันกำแพงกล้องงอก

ความรู้ทั่วไปของข้าวหมาก

ข้าวหมากตามมาตรฐานชุมชน "ข้าวหมาก" หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ทำจากข้าวเหนียวขาวหรือข้าวเหนียวดำ ที่ผ่านการล้าง นำมานึ่ง และล้างอีกครั้ง แล้วหมักกับลูกแป้งข้าวหมากในระยะเวลา 2 วัน ถึง 3 วัน เพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล และยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ข้าวหมากจึงเป็นอาหารไทยที่มีมาแต่โบราณ เป็นอาหารที่เกิดจากการหมักข้าวเหนียวในวิถีแบบพื้นบ้าน โดยการผลิตข้าวหมากจะใช้ข้าวเหนียวนึ่งสุกล้างด้วยน้ำสะอาด ผึ่งให้แห้งแล้วผสมด้วยลูกแป้ง หมักทิ้งไว้ 2-3 วัน เมื่อจุลินทรีย์ในลูกแป้งเจริญบนข้าว ข้าวจะถูกย่อยด้วยเอนไซม์ของราที่เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล จากนั้นยีสต์จะทำหน้าที่หมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ทำให้ข้าวหมากที่ได้มีรสหวานอมเปรี้ยว (มณชัย เดชสังกรานนท์, 2546) และยีสต์จะผลิตสารสำคัญที่ก่อให้เกิดประโยชน์ต่อสุขภาพโดยเฉพาะการเป็นสารโปรไบโอติกและสารต้านอนุมูลอิสระ สารกลุ่มนี้ถูกนำมาใช้ในการส่งเสริมและป้องกันโรคต่างๆทั้งในรูปของอาหารและสมุนไพรเพราะสารต้านอนุมูลอิสระจะหน้าที่ในการขจัดอนุมูลอิสระได้ดี ซึ่งสอดคล้องกับแนวทางในการดูแลสุขภาพในปัจจุบันที่สนใจบริโภคอาหารโปรไบโอติกที่ช่วยปรับสมดุลของจุลินทรีย์ในร่างกาย เพราะยีสต์ในข้าวหมากเป็นโปรไบโอติกชนิดหนึ่ง ที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายโดยการปรับสมดุลจุลินทรีย์ในร่างกาย กระตุ้นการสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ ภูมิคุ้มกันมะเร็ง ช่วยระบบทางเดินอาหารให้เป็นปกติและดูดซึมวิตามินซีดีขึ้น ผลิตเม็ดเลือดแดงดีขึ้น ยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียก่อโรค และช่วยให้ดูดซึมแคลเซียมได้ดี ทั้งยังรักษาแผลในลำไส้จากการอักเสบเรื้อรัง (ทองจุล ขันขาว, 2554)

การทำข้าวหมาก

สมพักตร์ เอี่ยมสะอาด (2546) กล่าวไว้ว่า การทำข้าวหมากมีส่วนประกอบหลักได้แก่ ข้าว ลูกแป้งข้าวหมากและน้ำ ดังนี้

1. ข้าว นิยมใช้ข้าวเหนียวอย่างดีไม่มีเมล็ดข้าวหักปน เพราะถ้าเมล็ดข้าวหัก จะทำให้ข้าวหมากไม่สวยงาม

2. ลูกแป้งข้าวหมาก เป็นปัจจัยสำคัญในการทำข้าวหมาก ลักษณะของลูกแป้งข้าวหมากเป็นก้อนครึ่งวงกลม สีขาวนวล น้ำหนักเบา เห็นเส้นใยราเกาะที่แป้ง ควรเลือกใช้ลูกแป้งที่ทำเสร็จ

ใหม่ๆเพราะถ้าใช้ลูกแป้งเก่าลูกแป้งอาจจะมีเชื้ออื่นที่ไม่ต้องการปะปนได้ ทำให้ข้าวหมากที่ได้ไม่มีคุณภาพ ซึ่งสามารถสังเกตได้จากสีของลูกแป้งเริ่มเป็นสีเหลืองออกน้ำตาล บางครั้งอาจเห็นราดำขึ้นเป็นจุดๆ

3. น้ำ ต้องเป็นน้ำสะอาด ที่ใช้ในการประกอบอาหารและภาชนะสำหรับใส่ข้าวหมาก อาจเป็นโหลแก้ว ไห หรือกล่องพลาสติก

วิธีการหมักข้าวหมากมีดังนี้ นำข้าวเหนียวแช่น้ำค้างคืน หรืออย่างน้อย 3 ชั่วโมง นึ่งข้าวเหนียวให้สุกพอดี อย่าให้เมล็ดข้าวบาน เพราะเมื่อนำไปทำข้าวหมากจะเละและไม่สวยงาม ผึ่งข้าวเหนียวที่นึ่งเสร็จให้เย็นในภาชนะที่สะอาด ล้างเมล็ดข้าวด้วยน้ำสะอาดหลายๆครั้ง จนกว่าจะหมดยางข้าว (อาจใช้สารส้มหรือน้ำปูนใส เพื่อช่วยให้เมล็ดข้าวรัดตัว ร่วนไม่เกาะกัน) จากนั้นเกลี่ยข้าวให้กระจายทิ้งให้สะเด็ดน้ำแล้วโรยแป้งข้าวหมากที่บดละเอียดบนข้าวให้สม่ำเสมอ โดยใช้ลูกแป้ง 1 ลูก ต่อข้าวเหนียว 1 กิโลกรัม คลุกเคล้าให้เข้ากันเบาๆ นำไปใส่ภาชนะที่เตรียมไว้ อย่ากดข้าวให้แน่น ควรใส่แบบโหย่ง เพราะเชื้อจะขึ้นไม่ดี ปิดภาชนะให้มิดชิด จากนั้นตั้งทิ้งไว้ในที่เย็นและไม่ควรโดนแดด หมักทิ้งไว้ 2-3 วัน จะได้ข้าวหมากที่มีเมล็ดข้าวนุ่ม หอม มีน้ำซึม ออกมา พร้อมรับประทาน

การเสียของข้าวหมาก

สมพักตร์ เอี่ยมสะอาด (2546) กล่าวไว้ว่า การทำข้าวหมากเป็นวิธีที่ง่าย แต่การทำข้าวหมากให้มีคุณภาพดีทำได้ไม่ง่ายนัก เพราะข้าวหมากที่ได้บางครั้ง มีกลิ่นรสไม่ดี มีรสเปรี้ยวมาก ข้าวหมากมีน้ำมากเกินไป เมล็ดข้าวไม่สวย บางครั้งมีสีแดง หรือมีสปอร์ราสีดำหรือสีน้ำตาลเกิดขึ้น สาเหตุของการเสียของข้าวหมากได้แก่

1. สาเหตุจากข้าวและวิธีการเตรียมข้าวสำหรับหมักไม่เหมาะสม ทำให้ข้าวหมากรสไม่หวานเท่าที่ควร และมีรสเปรี้ยวอยู่มากและข้าวแฉะเมล็ดไม่สวย สาเหตุต่างๆ เหล่านี้ได้แก่

1.1 พันธุ์ข้าวที่ใช้และคุณภาพของข้าวไม่ดี

1.2 ข้าวนึ่งนานเกินไปทำให้ข้าวนึ่งเละ เมื่อล้างข้าวทำให้ข้าวเหนียวแฉะ

1.3 ข้าวที่นึ่งสุกไม่ทั่วถึงทำให้ข้าวหมากแข็งเป็นไตภายในเมล็ดข้าวเนื่องจากแช่ข้าวเหนียวไม่นานพอหรือนึ่งเร็วเกินไป

1.4 ล้างข้าวขณะที่ข้าวยังร้อนอยู่ทำให้ข้าวเหนียวแฉะ

1.5 คลุกลูกแป้งกับข้าวเหนียวขณะที่ยังไม่สะเด็ดน้ำ ทำให้ความชื้นของข้าวสูง เกิดการเปรี้ยวของเชื้อแบคทีเรียได้ง่าย

2. สาเหตุจากลูกแป้งข้าวหมาก ได้แก่

2.1 ลูกแป้งเก่าเกินไป เชื้อข้าวหมากส่วนใหญ่ตายไปแล้ว ทำให้ใช้เวลาหมักนานขึ้น ข้าวหมากมีกลิ่นไม่ค่อยดี รสหวานน้อย และเสียง่าย

2.2 ลูกแป้งไม่ดี ลูกแป้งเสีย มีเชื้อรา และยีสต์ปนเปื้อนมาก ทำให้ข้าวหมากเปรี้ยวหรือมีกลิ่นรสผิดไปจากปกติ

2.3 ใช้ลูกแป้งน้อยเกินไป ได้ข้าวหมากช้า เนื้อข้าวไม่ฟูนิ่มตลอด เม็ดข้าวมีสีไม่น่ารับประทาน ออกสีน้ำตาลมาก

3. สาเหตุจากน้ำและภาชนะที่ใช้ไม่สะอาด ถ้าน้ำที่ใช้และภาชนะที่ใช้ไม่สะอาด จะทำให้เกิดการเสียของข้าวหมากขึ้นได้ นอกจากนี้ การเลือกใช้น้ำคุณภาพไม่ดี จะมีผลต่อคุณภาพของข้าวหมากที่ได้ เพราะคุณสมบัติและองค์ประกอบทางเคมีของน้ำ มีผลต่อรสชาติและคุณภาพของข้าวหมาก

ลูกแป้งข้าวหมาก

สมพร สินธารา (2554) ได้กล่าวไว้ว่า ลูกแป้งข้าวหมากที่เรียกกันในปัจจุบันว่าแป้งข้าวหมักตามระเบียบกรมสรรพสามิต ว่าด้วยการทำและขายแป้งข้าวหมัก พ.ศ. 2524 ซึ่งในระเบียบนี้ “แป้งข้าวหมัก” หมายความว่าเชื้อสุราตามมาตรตรา 4 แห่งพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 และเมื่อหมักกับวัตถุหรือของเหลวอย่างอื่นจะทำให้เกิดแอลกอฮอล์ ไม่เกิน 5 ดีกรี ส่วนลูกแป้งเหล้าตามพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 มาตรา 4 จัดเป็นเชื้อสุราอย่างหนึ่ง มีนิยามดังนี้ “เชื้อสุรา” หมายความว่า แป้งเชื้อสุรา แป้งข้าวหมักหรือเชื้อใดๆ เมื่อหมักกับวัตถุหรือของเหลวอื่นๆแล้ว สามารถทำให้เกิดแอลกอฮอล์ที่ทำสุราได้ อย่างไรก็ตามแม้ลูกแป้งทั้ง 2 ชนิด จะต่างกันในแง่การนำไปใช้ผลิตภัณฑ์ที่ต่างกัน แต่ก็มีส่วนคล้ายกันอยู่มาก คือ

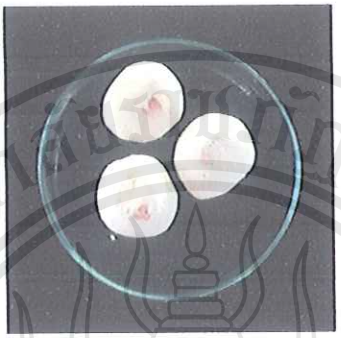
1. เป็นแหล่งของกล้าเชื้อประเภทยีสต์และรา

2. จุลินทรีย์ทั้งสองชนิดที่อยู่ในลูกแป้ง มีกิจกรรมคล้ายกันคือ ใช้ในการหมักที่มีกิจกรรมการเปลี่ยนแปลงแป้งในวัตถุดิบประเภทธัญพืชและพืชหัวให้เป็นน้ำตาล

3. มีองค์ประกอบของลูกแป้งที่คล้ายกัน

4. ลักษณะทั่วไปที่พบเห็นคือ มักเป็นลูกครึ่งวงกลม สีเนื้อหรือสีขาวนวลหรือเทาอ่อนๆ ไม่แตกหรือหักเปราะง่าย ลูกแป้งบางท้องถิ่นมีสีเหลืองจนถึงสีน้ำตาลอ่อน รูปร่างกลมแบน บางครั้งเป็นรูปครึ่งวงกลมและมีรอยบุ๋มตรงกลางเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-5 เซนติเมตร

ตัวอย่าง ลูกแป้งข้าวหมากแสดงในภาพที่ 2.5 ซึ่งเป็นลูกแป้งที่ผลิตจากพื้นที่ในอำเภอไชยปราการ จังหวัดเชียงใหม่



ภาพที่ 2.5 ลักษณะลูกแป้งข้าวหมากจาก อำเภอไชยปราการ

องค์ประกอบของลูกแป้ง

เนื่องจากกรรมวิธีการทำลูกแป้งต้องอาศัยความชำนาญประกอบกับผู้ที่มีความรู้ทางด้านนี้ในสมัยก่อนมักปิดบังวิชาไม่ค่อยถ่ายทอดมากนัก โดยมักถ่ายทอดให้เฉพาะทายาทหรือผู้ใกล้ชิดเท่านั้น ทำให้เชื้อดีๆและสูตรลูกแป้งดี ๆ สูญหายไปอย่างน่าเสียดาย องค์ประกอบที่สำคัญในการทำลูกแป้ง (สมพร สินธารา, 2544) คือ

1. แป้ง พบว่าลูกแป้งที่ผลิตโดยใช้ข้าวจ้าวล้วน ๆ จะมีคุณภาพดีกว่าที่ผลิตด้วยแป้งข้าวเหนียว หรือแป้งข้าวจ้าวผสมแป้งข้างเหนียว ตามตำหรับเดิมผู้ผลิตจะบดแป้งใช้เป็นคราวๆไป และข้าวที่ใช้ผลิตแป้งต้องไม่เก่าหรือไม่อับรา ไม่นิยมใช้แป้งสำเร็จทั้งนี้เพื่อลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์และหลีกเหลี่ยงกรดโพรพิโอนิกเป็นสารยับยั้งเชื้อราใส่ลงไปในแป้งสำเร็จ

2. เครื่องเทศหรือสมุนไพร เป็นส่วนผสมสำคัญที่ทำหน้าที่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่ไม่ต้องการในลูกแป้ง เนื่องจากที่เครื่องเทศมีน้ำมันหอมระเหย ซึ่งประกอบด้วยองค์ประกอบหลายชนิด ได้แก่ แอลกอฮอล์ เอสเตอร์ เทอร์ปีน ฟีนอล อัลคาลอยด์ เรซิน กรดอินทรีย์ สารประกอบที่มีกำมะถัน และสารอื่น ๆ ซึ่งโดยทั่วไปนั้นมันหอมระเหยเหล่านี้จะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์มากกว่าการฆ่า เนื่องจากมีปริมาณไม่เพียงพอที่จะไปทำลายจุลินทรีย์ได้ (ชัยวัฒน์ จาติเสถียร, 2520) ดังนั้นถ้าใช้สมุนไพรในปริมาณที่พอเหมาะจะมีผลในการยับยั้งไม่ให้ให้จุลินทรีย์บางชนิดนั้นเจริญแต่จะไม่มีผลในการยับยั้งการเจริญของยีสต์และราเลย ในขณะเดียวกันถ้าใช้สมุนไพรปริมาณมากเกินไปยีสต์และราอาจจะไม่เจริญทำให้ลูกแป้งนั้นใช้ไม่ได้เครื่องเทศและสมุนไพรแต่ละชนิดมีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้แตกต่างกัน (พิไลพรรณ พงษ์บูล, 2522) การใส่เครื่องเทศและสมุนไพร

ที่ต่างกันทั้งชนิดและปริมาณจะทำให้เกิดความแตกต่างของลูกแป้ง ซึ่งเป็นผลให้เกิดความหลากหลายของจุลินทรีย์ในลูกแป้ง แต่อย่างไรก็ตามการนำเครื่องเทศและสมุนไพรมาใช้ต้องคำนึงถึงความสะอาด ความสด และความใหม่ รวมถึงควรบดเครื่องเทศก่อนใช้งานนานๆ เพราะสิ่งเหล่านั้นจะมีผลต่อประสิทธิภาพในการยับยั้งจุลินทรีย์

3. น้ำ ปริมาณน้ำที่ใช้มีความสำคัญมากในการควบคุมความชื้นของลูกแป้ง ผู้ทำต้องคำนวณปริมาณน้ำให้พอเหมาะไม่แฉะจนเกินไป ซึ่งจะทำให้ลูกแป้งเหม็นเปรี้ยวและเสียได้ และไม่ควรแห้งจนเกินไปจนลูกแป้งแตกหรือราเจริญในลูกแป้งได้ไม่ดี นอกจากนี้ความชื้นที่พอเหมาะยังมีผลต่อการเก็บรักษาจุลินทรีย์ในลูกแป้งให้อยู่นานอย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย (สมพร สินธารา, 2544)

4. ลูกแป้งเดิม ซึ่งใช้เป็นแหล่งจุลินทรีย์จะต้องเป็นลูกแป้งที่ไม่เก็บไว้นานจนเกินไปหรือลูกมอดกินหรือ ใช้ลูกแป้งซึ่งมีเชื้อราอื่นปนเปื้อนอยู่ภายนอกจนเห็นได้ชัดเจน (พิไลพรรณ พงษ์บูล, 2522)

5. รำหยาบหรือแกลบ ใส่เพื่อให้ลูกแป้งโปร่งมีอากาศเข้าได้มาก ทำให้จุลินทรีย์ที่สำคัญสามารถเจริญได้ดี (ในบางสูตรไม่ใช้)

คุณภาพของลูกแป้งขึ้นอยู่กับคุณภาพของข้าว เครื่องเทศ ลูกแป้งที่ใช้เป็นกล้าเชื้อ ตลอดจนกรรมวิธีในการผลิตลูกแป้งควรมีสีขาวนวล น้ำหนักเบา ข้างในโปร่ง ก้อนแป้งเป็นรูพรุน ซึ่งเกิดจากการฟูของแป้งขณะบ่ม ไม่มีรอยแตกร้าว เมื่อบี้จะร่วนเป็นผงละเอียด ภายในเป็นเส้นใยมีราขึ้นอยู่สม่ำเสมอ มีกลิ่นหอมไม่เหม็นเปรี้ยว และที่สำคัญคือให้ผลดีเมื่อนำไปหมัก ตัวอย่างสูตรลูกแป้งข้าวหมากมี ดังตารางที่ 2.2 แสดงส่วนประกอบของลูกแป้งข้าวหมาก สูตร ส.ก.ศ ซึ่งแตกต่างกับลูกแป้งข้าวหมากของของขุนกฤษณามรวิสิฐ ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 ส่วนประกอบของลูกแป้งข้าวหมาก ส.ก.ศ

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (น้ำหนัก)
แป้งข้าวเจ้า	15.0 กิโลกรัม
ข่าแห้งบด	1.0 กิโลกรัม
ชะเอม	0.5 กิโลกรัม
กระเทียมบด	1.0 กิโลกรัม
ผงฟูยีสต์	ไม่ระบุปริมาณ

ที่มา : สมพร สินธารา (2544)

ตารางที่ 2.4 สูตรลูกแป้งข้าวหมากของขุนกฤษณามรวิสิฐ

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (น้ำหนัก)
ชะเอม	180.00 กรัม
พริกไทย	60.00 กรัม
ดีปลี	120.00 กรัม
กระเทียม	420.00 กรัม
ขิง	120.00 กรัม
ข่า	60.00 กรัม
ข้าวจ้าว	1200.00 กรัม

ที่มา : สมพร สินธารา (2544)

วิธีทำลูกแป้งข้าวหมาก สามารถทำได้ดังนี้ ผสมแป้งกับน้ำ หรือตำข้าวกับน้ำจนละเอียด นวดน้ำให้ซึมไปทุกส่วนของแป้ง ผสมเครื่องเทศตามสูตร โรยแป้งเชื้อหรือลูกแป้งเก่าที่บดละเอียดแล้ว นวดให้ส่วนผสมและแป้งเชื้อเข้ากันทิ้งไว้ให้แป้งชื้นสักครู่ปั้นเป็นก้อนวางบนกระด้งที่โรยด้วยแป้งเชื้อทับอีกครั้งเมื่อวางลูกแป้งเต็มแล้วโรยแป้งเชื้อทับอีกครั้งไว้ประมาณ 24 ชั่วโมง จนเส้นใยราขึ้นเต็มก้อนแป้ง เปิดผ้าคลุมออกผึ่งให้แห้งในที่ร่ม นำไปตากแดดจนแห้งสนิท แล้วเก็บในภาชนะที่เก็บมิดชิด (สมพักตร์ เอี่ยมสะอาด, 2546)

จุลินทรีย์ในลูกแป้ง

ลูกแป้งเป็น "กล้าเชื้อผสม" ที่มีทั้งเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย เนื่องจากเครื่องเทศและสมุนไพรมีผลต่อชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ จึงทำให้ที่พบในลูกแป้งมีไม่กี่ชนิด โดยจะพบจุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในลูกแป้งข้าวหมากเป็นส่วนใหญ่ จุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้ง สามารถจำแนกได้ดังนี้

1. เชื้อรา เชื้อราที่พบเสมอ ได้แก่ *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus* sp. ปริมาณมากน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของลูกแป้ง ราที่พบมากในลูกแป้งข้าวหมากคือ *A. rouxii* อยู่ในพวก Mucorales ทุกสายพันธุ์สร้าง chlamydospore รูปร่างทรงกระบอกสั้นๆจนกระทั่งกลม เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

ชัยวัฒน์ จาติเสถียร (2520) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้งข้าวหมากมีทั้งราและยีสต์ ราส่วนใหญ่อยู่ใน order Mucorales ได้แก่ *Amylomyces* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp., *Absidia* sp. นอกจากนี้ยังพบ Imperfect fungi เช่น *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp. และ *Hyalodendion* sp.

สมพร สินธารา (2544) ได้แยกราจากตัวอย่างลูกแป้งข้าวหมาก 38 ตัวอย่างและลูกแป้งเหล้า 19 ตัวอย่าง พบว่ามีราจำนวน 10^4-10^5 CFU/g เมื่อทำการแยกราจากลูกแป้ง ได้ราจากลูกแป้งข้าวหมาก 91 ไอโซเลท และจากลูกแป้งเหล้า 35 ไอโซเลท โดยแบ่งราที่พบในลูกแป้งข้าวหมากซึ่งส่วนใหญ่เป็นราในสกุล *Amylomyces* และ *Rhizopus* ที่เหลือเป็น *Actinomucor*, *Aspergillus niger* group, *Monascus*, *Mucor* และ *Penicillium* ส่วนราที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้าพบว่า ส่วนใหญ่เป็น *Rizopus* sp.

2. ยีสต์ ยีสต์ที่พบในลูกแป้งข้าวหมากและข้าวหมากมีหลายชนิดส่วนใหญ่ ได้แก่ *Endomycopsis* เป็นยีสต์ที่ย่อยแป้งได้ นอกจากนี้ยังพบ *Hansenula* เป็นยีสต์ที่ให้กลิ่นเอสเทอร์ซึ่งเป็นกลิ่นที่ดีแก่ข้าวหมาก จากการศึกษาของ ชัยวัฒน์ จาติเสถียร (2520) ได้ศึกษาการทำข้าวหมากจากเชื้อบริสุทธิ์ *Amylomyces* ร่วมกับ *Hansenula* พบว่าให้รสชาติดีกว่าข้าวหมากที่ทำจาก *Amylomyces* เพียงอย่างเดียว และ *Amylomyces* ร่วมกับ *Endomycopsis* ในลูกแป้งข้าวหมากอาจพบ *Saccharomyces cerevisiae* ปนมาบ้าง ส่วนลูกแป้งเหล้าจะพบ *S. cerevisiae* ในปริมาณมากกว่า *Endomycopsis* sp.

เจริญ เจริญชัย (2548) กล่าวว่า *Saccharomyces* เป็นยีสต์ที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ดังนั้นจึงมีบทบาทหลังจากเป็นข้าวหมากแล้วจึงเป็นตัวเพิ่มรสชาติให้กับข้าวหมาก นอกจากนี้ยังพบยีสต์อื่นในลูกแป้งเฉพาะแหล่ง ได้แก่ *E. burtonii* ที่พบมากในลูกแป้ง Ragi ของอินโดนีเซีย *Candida* spp. *Torulopsis* spp., *Pichia anomala* ที่พบมากใน Murcha ลูกแป้งของประเทศอินเดีย และBanh men กล้าเชื้อของเวียดนามพบ *Hyphopichic burtornii*

สมพร สินธารา (2544) ได้แยกยีสต์จากตัวอย่างลูกแป้งข้าวหมาก 38 ตัวอย่าง และลูกแป้งเหล้า 19 ตัวอย่าง พบว่ามียีสต์ 105-106 CFU/g เมื่อทำการแยกยีสต์จากลูกแป้ง ได้ยีสต์จากลูกแป้งข้าวหมาก 43 ไอโซเลท และจากลูกแป้งเหล้า 49 ไอโซเลท โดยแบ่งเป็นยีสต์ที่พบในลูกแป้งข้าวหมากซึ่งส่วนใหญ่เป็นยีสต์ในสกุล *Sacharomycopsis fibuliger* และที่เหลือเป็น *C. rhagrii*, *Issatchenkia orientalis*, *P. anomala*, *P. burtonii*, *P. fabianaii*, *Rhaodotorula philyla*, *Tolulaspora delbrueckii* และ *T. globosa* ส่วนยีสต์ที่แยกได้จากแป้งเหล้า พบว่าส่วนใหญ่เป็น *S. fibuligera* ที่เหลือเป็น *C. glabrata*, *C. rhagii*, *Iorientalis*, *P. anomala*, *P. burtonii*, *P. fabianii*, *P. heiumii*, *P. mexicana*, *S. cerevisiae*, *T. globosa* และ *Trichosporon asahii*

3. แบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่ แบคทีเรียแลคติก *Pediococcus pentosaceus* ในลูกแป้งข้าวหมาก และลูกแป้งเหล้าของไทยบางท้องถิ่นอาจพบ *Lactobacillus* sp. และอาจพบแบคทีเรียกรดน้ำส้ม เช่น *Acetobacter* sp. และ *Gluconobacter* ซึ่งมีมากในส่าน้ำส้ม นอกจากนี้อาจพบ *Bacillus* sp. ในลูกแป้งจากการปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ เช่น แป้งสมุนไพร แต่ถ้าส่วนผสมของสมุนไพรเหมาะสมสามารถลดปริมาณจุลินทรีย์นี้ได้มาก

บทบาทของจุลินทรีย์ในลูกแป้งต่อกระบวนการหมัก

จุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้งมีหลายชนิด แต่มีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นมีบทบาทในกระบวนการหมัก บทบาทสำคัญของจุลินทรีย์ในลูกแป้งมี 2 ประเภท คือ 1) เปลี่ยนแป้งในเมล็ดข้าวให้เป็นน้ำตาล โดยจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์อะไมเลส 2) การหมักน้ำตาลที่เกิดขึ้นให้เป็นเอทานอลกับคาร์บอนไดออกไซด์โดยยีสต์ บทบาทของจุลินทรีย์ทั้งสองประเภทนี้ จะเกิดขึ้นต่อเนื่องตลอดระยะเวลาของการหมักข้าว โดยราที่พบในลูกแป้ง เช่น *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus* spp. ผลิตเอนไซม์อะไมเลส ชนิด แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ดังนั้นในกระบวนการหมักจึงมีบทบาทในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในข้าวหมากเอนไซม์ที่สำคัญ คือ อะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส ซึ่งได้จาก *Amylomyces* และ *Endomycopsis* ตามลำดับ บางส่วนของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งจะถูกยีสต์ *Hansenula* และ *Saccharomyces* นำไปใช้เพื่อให้เกิดเอสเทอร์ และแอลกอฮอล์ตามลำดับ ทำให้กลิ่นข้าวหมากดีขึ้น อย่างไรก็ตามเอสเทอร์อาจเกิดจากลิปิดในข้าวถูกย่อยเป็นกรดไขมัน โดยเอนไซม์ไลเปสและกรดไขมัน ที่ทำปฏิกิริยากับแอลกอฮอล์ให้สารประกอบเอสเทอร์ที่เกิดขึ้น ในส่วนลูกแป้งเหล้า *Rhizopus* spp. และ *A. rouxii* มีบทบาทเช่นเดียวกับในการหมักข้าวหมาก คือเปลี่ยนแปลงในข้าวให้เป็นน้ำตาล แต่ยีสต์เป็นตัวการสำคัญในการหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอล ได้แก่ *S. cerevisiae* ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอล (เจริญ เจริญชัย, 2548)

อนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

อนุมูลอิสระ (free radicals)

อนุมูลอิสระ (free radicals) หมายถึง สารที่มีอิเล็กตรอนโดดเดี่ยว (unpaired electrons) ในอะตอมหรือโมเลกุล พบได้ทุกแห่งทั้งในสิ่งแวดล้อม ในสิ่งมีชีวิต และในเซลล์ โดย เฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการผลิตพลังงานภายในเซลล์ หรือจากกระบวนการเมทาบอลิซึม (metabolism) โดยมีการเคลื่อนย้ายอิเล็กตรอนออกจากโมเลกุลของออกซิเจนทำให้อิเล็กตรอนในโมเลกุลออกซิเจนไม่สมดุล

กลายเป็นอนุมูลอิสระและว่องไวในการเข้าทำปฏิกิริยามาก และสามารถดึงอิเล็กตรอนจากโมเลกุลอื่นมาแทนที่อิเล็กตรอนที่ขาดหายไปเพื่อให้ตัวเองเกิดความสมดุลหรือเสถียร ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ และเกิดขึ้นในเซลล์ตลอดเวลา อนุมูลอิสระที่สำคัญที่สุดที่เกิดในเซลล์ที่ใช้ออกซิเจนได้แก่ oxygen radical, อนุพันธ์ของ oxygen radical (เช่น superoxide radical และ hydroxyl radical), hydrogen peroxide, transition metals (โลหะทรานซิชัน), carbonate radical, nitrate radical, methyl radical, superoxide radical, peroxyl radical, reactive oxygen species เป็นต้น นอกจากนี้อนุมูลอิสระสามารถทำลายชีวโมเลกุลทุกประเภท ทั้งในเซลล์และส่วนประกอบของเซลล์สิ่งมีชีวิต เช่น ลิพิด (lipid) โปรตีน (protein) เอนไซม์ (enzyme) ดีเอ็นเอ (DNA) อาร์เอ็นเอ (RNA) คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) เซลล์เมมเบรน (cell membrane) คอลลาเจน (collagen) ไมโตรคอนเดรีย (mitocondria) และเนื้อเยื่อเกี่ยวพัน (connective tissues) ซึ่งเป็นสาเหตุให้เซลล์ตาย การเกิดการกลายพันธุ์ของดีเอ็นเอในเซลล์ และก่อให้เกิดโรคต่าง ๆ ได้แก่ โรคชรา (aging) โรคมะเร็ง (cancer) โรคหัวใจขาดเลือด (coronary heart disease) โรคความจำเสื่อม (Alzheimer's disease) โรคข้ออักเสบ (arthritis) โรคภูมิแพ้ (allergies) โรคความดันโลหิต โรคเหงือก โรคเกี่ยวกับสายตา ความผิดปกติของปอดและระบบประสาท โรคเกี่ยวกับทางเดินหายใจ โรคเกี่ยวกับความผิดปกติของผิวหนัง และโรคลำไส้อักเสบเป็นต้น อนุมูลอิสระนอกจากจะเกิดภายในสิ่งมีชีวิตแล้วอนุมูลอิสระสามารถเกิดจากภายนอกสิ่งมีชีวิต หรือในสิ่งแวดล้อม ได้แก่ การได้รับเชื้อโรค เช่น การติดเชื้อโรคไวรัสหรือเชื้อแบคทีเรีย โรคเกี่ยวกับภูมิคุ้มกัน (immune diseases) เช่น ข้ออักเสบรูมาตอยด์ เป็นต้น จากรังสี เช่น รังสีอัลตราไวโอเลตรังสีเอ็กซ์ รังสีแกมมา จากมลภาวะ เช่น ควันบุหรี่แก๊สจากท่อไอเสีย เช่น ไนตรัสออกไซด์ ไนโตรเจนไดออกไซด์ เขม่าจากเครื่องยนต์ ฝุ่นจากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีส่วนประกอบของไขมันสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่มีอุณหภูมิสูง ๆ กลับมาใช้อีก การทำให้เกิดอาหารประเภทเกรียม ไหม้ หรือเกิดจากการปิ้งย่าง จากยาบางชนิด เช่น โดโซรูบิซิน (doxorubicin) เพนนิซิลลามิน (penicillamine) พาราเซตามอล (paracetamol)

สารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

สารต้านอนุมูลอิสระถือว่ามีความสำคัญต่อกระบวนการออกซิไดซ์อนุมูลอิสระ หรือสามารถยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชัน โดยในสิ่งมีชีวิตจะมีระบบการป้องกันการทำลายเซลล์และเนื้อเยื่อจากอนุมูลอิสระ ประกอบด้วยสารต้านอนุมูลอิสระมากมายหลายชนิดที่ทำหน้าที่แตกต่างกันไป ซึ่งมีทั้งที่เป็นเอนไซม์และไม่เป็นเอนไซม์สารประกอบที่ละลายในน้ำ และสารประกอบที่ละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้มีกลไกการทำงานต้านอนุมูลอิสระด้วยกันหลายแบบ เช่น ดักจับอนุมูลอิสระ

(radical scavenging) การยับยั้งการทำงานของออกซิเจนที่ขาดอิเล็กตรอน (singlet oxygen quenching) จับกับโลหะที่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันได้ (metal chelation) หยุดปฏิกิริยาการสร้างอนุมูลอิสระ (chain-breaking) เสริมฤทธิ์ (synergism) และยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (enzyme inhibition) ที่เร่งปฏิกิริยาอนุมูลอิสระเป็นต้น แหล่งที่มาของสารต้านอนุมูลอิสระมี 2 แหล่ง ได้แก่ สารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์ (synthetic antioxidants) และสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติ (natural antioxidants) ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระสังเคราะห์เกิดจากกระบวนการสังเคราะห์ทางเคมีโดยเป็นสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ propylgallate, 2-butylated hydroxyanisole, 3-butylatehydroxyanisole, BHT (butylated hydroxytoluene) และ tertiary butylhydroquinone สารสังเคราะห์ดังกล่าวนิยมนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันที่เป็นสาเหตุที่ทำให้อาหารมีกลิ่น สี และรสชาติเปลี่ยนแปลงไปสารสังเคราะห์นี้มีสภาพคงตัวกว่าสารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติแต่มีข้อจำกัดในด้านความปลอดภัยในการบริโภค ขณะที่สารต้านอนุมูลอิสระจากธรรมชาติสามารถพบได้ในสิ่งมีชีวิตทั้งพืชและสัตว์ ซึ่งเป็นได้ทั้งเอนไซม์ วิตามินและสารอื่นๆ ตัวอย่างของสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นวิตามิน เช่น vitamin C (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ไซโตพลาสซึม) vitamin E (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่เมมเบรน) และ glutathione (เป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ป้องกันอันตรายจากอนุมูลอิสระที่ไซโตพลาซึมและเมมเบรน) ส่วนสารต้านอนุมูลอิสระที่เป็นเอนไซม์ ได้แก่ glutathione peroxidase (GPX), glutathionereductase และ glutathione transferase ซึ่งทำหน้าที่ทำให้โมเลกุลของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นออกซิเจนและน้ำ ส่วนเอนไซม์ superoxid dismutasem (SOD) สามารถเปลี่ยน O_2 เป็น H_2O_2 สารต้านอนุมูลอิสระอื่น ๆ ได้แก่ carotenoids และ ubiquinones เป็นสารต้านอนุมูลอิสระสามารถป้องกันอนุมูลอิสระออกซิเจนทั้งภายในเซลล์และภายนอกเซลล์ ในภาวะปกติร่างกายของคนเราจะมีการป้องกันการสะสมสารอนุมูลอิสระโดยการสร้างเอนไซม์ต้านอนุมูลอิสระขึ้นมาควบคุมปริมาณสารอนุมูลอิสระให้อยู่ในภาวะที่สมดุล และอีกส่วนได้จากสารต้านอนุมูลอิสระที่ร่างกายรับประทานเข้าไปจำพวกวิตามินเบต้าแคโรทีน และแคโรทีนอยด์รวมทั้งสารประกอบโพลีฟีนอล ซึ่งสารดังกล่าวได้จากพืชผักและผลไม้ ตัวอย่างอาหารที่มีเบต้าแคโรทีนสูง ได้แก่ ผักใบเขียว เช่น ตำลึง และผักบุ้ง อาหารที่มีสีเหลือง เช่น แครอท มะละกอสุก มะม่วงสุก มะเขือเทศ ฟักทอง อาหารที่มีวิตามินซี (vitamin C หรือ ascorbic acid) สูง ได้แก่ พืช ผักสีเขียว และผลไม้รสเปรี้ยว เช่น ตำลึง ผักบุ้ง พริกหยวก ฝรั่งมะขามป้อม ส้ม มะนาว สับปะรด (วิตามินซีจากพืชผักดังกล่าวมีฤทธิ์ต่อต้านอนุมูลอิสระที่แรงมากและละลายน้ำได้ดี) วิตามินอี (vitamin E หรือ tocopherol) ละลายได้ดีในน้ำมัน โดยวิตามินอีมีในน้ำมันจากเมล็ดพืชชนิดต่าง ๆ เช่น

รำละเอียดในพวกธัญพืชที่ไม่ขัดขาว ข้าวโพด ข้าวกล้อง ถั่วแดง ถั่วเหลือง ผักกาดหอม เมล็ดทานตะวัน งา น้ำมันรำ เป็นต้น

สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compounds) (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

สารประกอบฟีนอลิกจัดเป็นสารต้านอนุมูลที่ได้รับจากภายนอกและพบได้มากในธรรมชาติ ได้แก่ พืช ผัก ผลไม้ ชาเขียว ชาดำ ช็อกโกแลต และไวน์แดง เป็นต้น ในปัจจุบันพบสารประกอบฟีนอลิกมากกว่า 8,000 ชนิดในธรรมชาติ ตั้งแต่โมเลกุลอย่างง่าย เช่น กรดฟีนอลิก ฟีนิลโปรพานอยด์ และฟลาโวนอยด์ ไปจนถึงโครงสร้างโพลิเมอร์ที่ซับซ้อน เช่น ลิกนิน เมลานิน และแทนนิน เป็นต้น แม้ว่าปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกในธรรมชาติจะมีปริมาณที่แตกต่างกัน แต่พบว่าปริมาณโดยเฉลี่ยที่คนได้รับต่อวันจะอยู่ในช่วงตั้งแต่ 20 มิลลิกรัม-1 กรัม ซึ่งเป็นปริมาณที่สูงกว่าปริมาณวิตามินอีที่ได้รับต่อวัน สารโพลีฟีนอลิกเป็นสารที่บทบาทสำคัญเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านแบคทีเรีย ต้านไวรัส ต้านการอักเสบ ต้านการแพ้และมีคุณสมบัติในการสลายลิ่มเลือดรวมเป็นสารต้านการก่อมะเร็งและสามารถลดความดันโลหิตในการสลายลิ่มเลือด เหล่านี้เป็นต้นซึ่งคุณสมบัติดังกล่าวนี้มีความสัมพันธ์กับคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ โครงสร้างทั่วไปของสารประกอบฟีนอลิก ประกอบด้วยโครงสร้างที่เป็นวงอะโรมาติกและมีหมู่แทนที่เป็นหมู่ไฮดรอกซีอย่างน้อย 1 หมู่ในที่นี้จะกล่าวถึงสารกลุ่มที่สำคัญ ได้แก่ ฟลาโวนอยด์ สารกลุ่มฟลาโวนอยด (flavonoids) แบ่งเป็นกลุ่มย่อยได้หลายกลุ่ม ตามความแตกต่างของสูตรโครงสร้างโดยเฉพาะที่วงที่มีอะตอมออกซิเจนอยู่ในรูปแบบต่าง ๆ เช่น อีเทอร์คีโตน รวมทั้งการมีหมู่ไฮดรอกซีแทนที่บนวงอะโรมาติกในโมเลกุลตัวอย่างของสารกลุ่ม ฟลาโวนอยด์ ได้แก่ ฟลาแวน (flanvanes) ฟลาวาโนน (flavanols) ฟลาโวน (flavonoes) และแอนโทไซยานิดิน (anthocyanidins) เป็นต้น (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

กลไกการต้านอนุมูลอิสระ (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

สารต้านอนุมูลอิสระจะทำลายอนุมูลอิสระโดยการให้หรือรับอิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระทำให้ปฏิกิริยาลูกโซ่สิ้นสุดลง ซึ่งตัวสารต้านอนุมูลอิสระเองจะไม่กลายเป็นสารอนุมูลอิสระตัวใหม่จากการทำปฏิกิริยาขึ้นมา เนื่องจากตัวมันเองมีความคงตัวทั้งในรูปอิเล็กตรอนครบและรูปที่อิเล็กตรอนขาดหรือเกิน กลไกการต้านอนุมูลอิสระสามารถแบ่งได้เป็น 2 กลไกตามลักษณะการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ ได้แก่

413940

1. ฤทธิ์ป้องกันอนุมูลอิสระ (Preventive antioxidant activity) สารต้านอนุมูลอิสระประเภทนี้ออกฤทธิ์ป้องกันไม่ให้เกิดอนุมูลอิสระตั้งแต่เริ่มต้น ได้แก่ การยับยั้งไม่ให้เกิดอนุมูลที่เหนี่ยวนำให้เกิดอนุมูลอิสระ เช่น ไฮโดรเจนเพอร์ออกไซด์ การคีเลต โลหะทรานสิชัน และการระงับไม่ให้เกิดสารความไวสูง (Reactive species: RS) โดยสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้ได้แก่ เอนไซม์ และโปรตีนในร่างกายที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ตัวอย่างสารในกลุ่มนี้ เช่น CAT, GPx, GSH รวมทั้งวิตามินอี และสารกลุ่มคาโรทีน

2. ฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ (free-radical scavenging antioxidant activity) สารอนุมูลอิสระจะมีกลไกในการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ 3 ขั้นตอน คือ Initiation, Propagation และTermination ซึ่งในส่วนของสารต้านอนุมูลอิสระในกลุ่มนี้ จะออกฤทธิ์กำจัดอนุมูลอิสระ โดยการยังยั้งปฏิกิริยาลูกโซ่ในขั้น Initiation และ Propagation โดยสารในกลุ่มนี้ ได้แก่ วิตามินอี วิตามินซี แอลบูมินบิลิรูบิน แคโรทีนอยด์ ยูบิควิโนน (Co-Q10) และฟลาโวนอยด์ จะเห็นได้ว่าถ้ามีอนุมูลอิสระในปริมาณที่มากเกินสมดุลในร่างกายจะก่อให้เกิดโทษที่ร้ายแรง ในร่างกายมนุษย์มีสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำหน้าที่ควบคุมสมดุลปริมาณของอนุมูลอิสระ หากสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระในร่างกายเสียไป ร่างกายจำเป็นต้องได้รับจากจากภายนอก เช่น จากพวกผัก ผลไม้ และสมุนไพร การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส่วนต่างๆ ของพืชและสมุนไพรต่างๆ ทำให้ได้แหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระมากขึ้น เป็นต้น สารต้านอนุมูลอิสระที่ใช้ในผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น

2.1 Butylated hydroxyanisole (BHA) เป็นของผสมระหว่า 2-t-butyl-4-hydroxyanisole

2.2 Butylated hydroxytoluene (BHT) เป็นของผสมระหว่าง 2, 6-di-t-butyl-4-methylphenol

2.3 เอสเตอร์ของ Gallic acid

2.4 Di-tert-butyl hydroquinone

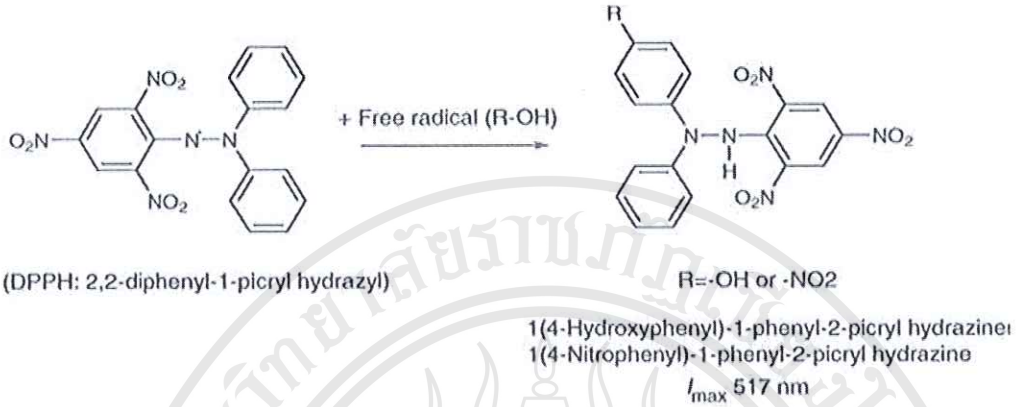
สารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้เป็นสารสังเคราะห์ที่มีประสิทธิภาพในการป้องกันการหืนได้ดี และมีความปลอดภัย ตามที่ Federal Food and Drug Administration (FDA) ของประเทศสหรัฐอเมริกาได้รับรองไว้

การสกัดและการตรวจสอบฤทธิ์ของสารในอนุมูลอิสระ

สารต้านอนุมูลอิสระส่วนใหญ่เป็นสารประกอบฟีนอลิก สารกลุ่มนี้มีหลากหลายชนิด เช่น tocopherol, tocotrienol, beta- oryzanol, oryzanols, caffeic acid, syring acid, rutin, (-)-epicatechin, (+)-catechin, gallic acid, vanilic acid, p-coumaric acid, feruric acid และ quercetin รวมทั้งสารจำพวกฟลาโวนอยด์ โดยทั่วไปการสกัดสารประกอบฟีนอลิกมักใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ ซึ่งมีความแตกต่างกันตามแต่ลักษณะและองค์ประกอบของสาร ตัวทำละลายอินทรีย์ที่นิยมใช้สำหรับสกัดสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ น้ำ เมทานอล เอทานอล เอธิลอะซิเตด และตัวทำละลายที่มีขั้วต่ำ เช่น เฮกเซน (C_6H_{14}) อะซีโตน (C_3H_6O) คลอโรฟอร์ม ($CHCl_3$) ปิโตรเลียมไรด์ (CCl_4) ผลการทดลองชี้ให้เห็นว่าสารต้านอนุมูลอิสระมักประกอบด้วยสารหลายชนิดที่ทำงานเสริมอีเทอร์ หรือ คาร์บอนเตตระคลอกัน จึงจะมีประสิทธิภาพสูงในการทำงาน ปัจจุบันพบว่า พืชผักและผลไม้ที่มีสี เช่น สีแดง ดำ หรือ ม่วง จะมีสารต้านอนุมูลอิสระในปริมาณสูง วิธีการที่นิยมนำมาใช้ในการตรวจสอบฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระมีหลายวิธี แต่ละวิธีมีความจำเพาะต่อสารแตกต่างกัน โดยปกติแล้วการตรวจสอบมักจะสรุปผลจากหลายวิธีร่วมกัน เพื่อทำให้ผลการทดสอบมีความถูกต้องยิ่งขึ้น วิธีที่ใช้ทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่นิยม ได้แก่ 2, 2-Diphenyl-1-picryhydrazyl (DPPH), Ferric reducing /antioxidant power (FRAP), Trolox equivalents antioxidant capacity (TEAC), lipid peroxidation reducing power และ metal chelating ability ส่วนเครื่องมือที่นิยมใช้ในการตรวจหาชนิดของสารต้านอนุมูลอิสระที่ได้รับความนิยมคือ High Performance Liquid Chromatography (HPLC) (เจนจิรา จิรัมย์ และประสงค์ สีหานาม , 2554)

DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl)

DPPH (2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) เป็นสารที่มีสีม่วงคล้ายด่างทับทิม สารนี้มีโครงสร้างผลึกได้หลายแบบ เช่น DPPH-I, DPPH-II เป็นต้น (ภาพที่ 2.6) พบว่า DPPH สามารถทำปฏิกิริยากับ Tocopherol ได้ ต่อมาได้มีการพัฒนาโดยนำ DPPH ไปใช้พัฒนาเป็นสารประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารที่มาจากสิ่งมีชีวิต โดยการเปลี่ยนจากสารละลายสีม่วงเป็นสีเหลืองอ่อน โดยธรรมชาติ DPPH เกิดการสลายตัวน้อยและสามารถต้านการเกิดการรวมตัวกันเองได้ (วันเพ็ญ วสุพงศ์พันธ์ และพรชัย เปรมไกรสร, 2555)



ภาพที่ 2.6 สูตรโครงสร้างของ DPPH

ที่มา : (Sherif S Ebada et al., 2008)

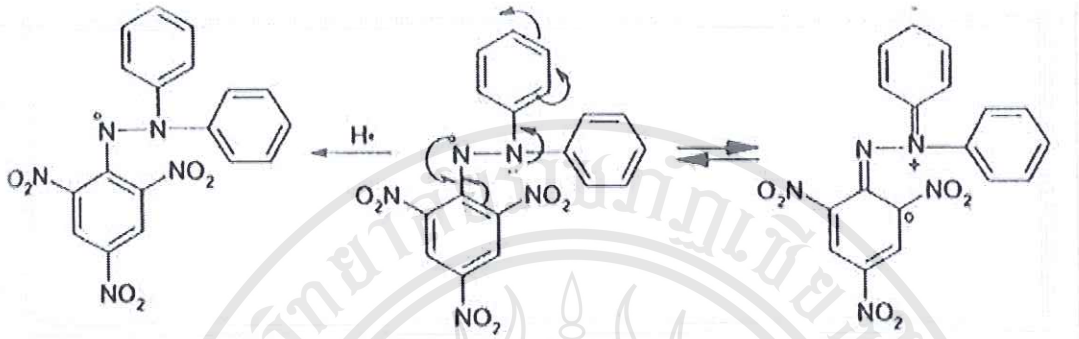
การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระ

อัครสิทธิ์ บุญส่งแท้ และ สุกิจ ทองแบน (2554) กล่าวไว้ว่า การวิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระมีวิธีที่นิยมทั่วไปมี 3 วิธี คือ 1) Antioxidant Activity เป็นการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีอิค 2) Reducing Power เป็นการวิเคราะห์หาความสามารถในการลดสารต้านอนุมูลอิสระ และ 3) Scavenging Effect on 1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl Radicals (DPPH) เป็นการวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการกำจัดสาร DPPH ซึ่งเป็นอนุมูลอิสระชนิดหนึ่ง โดยได้อธิบายรายละเอียดของแต่ละวิธีดังนี้

วิธีที่ 1 Antioxidant Activity เป็นการวิเคราะห์หาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ ของกรดลิโนลีอิค โดยกรดลิโนลีอิคเป็นกรดไขมันชนิดหนึ่งที่มีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ซึ่งสามารถจับกับอนุมูลอิสระที่มีอยู่ในระบบเป็นอนุมูลอิสระอื่น จากนั้นจึงทำกิริยากับออกซิเจนในอากาศได้ไฮโดรเปอร์ออกไซด์ซึ่งเป็น Conjugated Diene ที่เสถียร สารต้านอนุมูลอิสระมีพันธะคู่เป็นส่วนประกอบ ทาให้สารต้านนี้สามารถให้อิเล็กตรอนกับอนุมูลอิสระได้ จึงสามารถลดการเกิดเป็นอนุมูลอิสระของกรดลีโนลีอิกได้ ด้วยเหตุนี้ประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระของกรดลิโนลีอิค จึงวัดโดยเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงในสารละลายที่มีกรดลิโนลีอิคผสมอยู่ ทิ้งไว้ระยะหนึ่ง จากนั้นใช้เครื่อง UV Spectrophotometer วัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ความยาวคลื่น 234 นาโนเมตร ค่าที่ได้นี้แปรผันกับความเข้มข้นของไฮโดรเปอร์ออกไซด์ที่เกิดขึ้น ดังนั้นการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระในการต่อต้านการเกิดไฮโดรเปอร์ออกไซด์ได้

วิธีที่ 2 Reducing Power การวิเคราะห์หาความสามารถในการรีดิวซ์ของสารต้านอนุมูลอิสระ โดยสารที่เป็นรีดิวซิงเอเจนต์สามารถจ่ายอิเล็กตรอนให้กับอะตอม หรือ โมเลกุลในตระกูลของโลหะที่สามารถแตกตัวเป็นไอออนได้ เช่น เหล็ก ทองแดง เป็นต้น เหล็กที่อยู่ในรูปเฟอร์ริค ไอออน (Fe3+) มีความสามารถในการดึงอิล็กตรอนจากสารอื่นได้ดี ในด้านชีวเคมีอนุมูลอิสระที่พบมากที่สุดเป็นสารที่มีออกซิเจนและไวต่อปฏิกิริยา (ROS) ไอออนอิสระของเหล็กสามารถเป็นตัวเร่งการเกิด ROS เช่น อนุมูลซูเปอร์ออกไซด์แอนไอออน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และอนุมูลไฮดรอกซิล เป็นต้น เพื่อเปรียบเทียบความสามารถในการให้อิเล็กตรอนของแต่ละสารที่สกัดได้ ระยะเวลาในการทำปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริคไอออนกับสารสกัดแต่ละชนิดมีค่าคงที่ และค่าของการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 700 นาโนเมตร จากเครื่องมือวิเคราะห์สาร โดยใช้หลักการ UV Spectrophotometer จะมีค่าแปรผันตามความเข้มข้นของเฟอร์รัสไอออนที่เกิดขึ้น ดังนั้นการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงจึงบ่งบอกได้ถึงความสามารถของการเป็นรีดิวซิงเอเจนต์

วิธีที่ 3 Scavenging Effect on DPPH การวิเคราะห์ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระด้วยสาร 1,1- Diphenyl-2-Picrylhydrazyl Radicals (DPPH) DPPH คือ อนุภาคอิสระที่เสถียร และสามารถรับอิเลคตรอนได้อีก เพื่อเปลี่ยนเป็นโมเลกุลที่ไม่เป็นอนุมูลอิสระ และเมื่อได้รับอะตอมไฮโดเจนจากโมเลกุลอื่นจะทาให้สารดังกล่าวไม่เป็นอนุมูลอิสระ ดังนั้นความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่ศึกษานี้เป็นการศึกษาประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระในการรวมตัวกับ DPPH อยู่ในรูปอนุมูลอิสระเสถียรอยู่ในสารละลาย(นิยมใช้ DPPH อยู่ในรูปอนุมูลอิสระมาก เพราะใช้งานง่าย) โดยในการทดสอบนี้จะให้ DPPH (มีสีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระในระยะเวลาที่กำหนด ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดได้ที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นการลดลงของความเข้มข้นของ DPPH (สีอ่อนลง) ดังภาพที่ 2.7 แสดงกลไกลการเกิดสีของ DPPH ซึ่งบ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระวิธีการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant) ด้วยวิธี TLC Screening for DPPH Radical วิธีนี้เป็นการทดสอบสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยการพ่นสารละลาย DPPH ลงไปที่แผ่น TLC ตำแหน่งของสารที่ทำปฏิกิริยากับ DPPH Radical จะทำให้สีม่วงของ DPPH หายไปจึงปรากฏการฟอกจางสีของสารบนพื้น Silica Gel บนแผ่น TLC และควรมองเห็นสีที่ตำแหน่งเดิมของสารนั้น ๆ



ภาพที่ 2.7 กลไกการเกิดสีของ 2,2-Diphenyl-1-Picrylhydrazyl (DPPH) Radical
ที่มา : (Sherif S Ebada et al., 2008)

วิธีการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณ (บุหรัน พันธุ์สวรรค์, 2556)

วิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณเป็นการวิเคราะห์เพื่อหาปริมาณของสารต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างประเภทต่าง ๆ วิธีที่นิยมได้แก่ การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH•) วิธีการฟอกสีอนุมูลอิสระเอบีทีเอส (ABTS•+) และการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) ซึ่งวิธีการดังกล่าวข้างต้นจะมีการสร้างอนุมูลอิสระที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนและวิเคราะห์ความสามารถในการยับยั้งหรือกำจัดอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างที่สนใจ โดยวัดปริมาณอนุมูลอิสระที่ลดลงหรือที่เหลือจากค่าการดูดกลืนแสง สารอนุมูลอิสระที่นิยมใช้ เช่น ABTS•+ และDPPH• การคำนวณหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระหาได้จากอัตราส่วนของการลดลงของค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างกับสารมาตรฐาน (เช่น trolox, vitamin C และ ferrous sulfate) หน่วยของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเชิงปริมาณแสดงได้ 2 แบบ คือ 1) แบบปริมาณความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่มีในตัวอย่าง ซึ่งค่าตัวเลขสูงก็แสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง และ 2) แบบปริมาณความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่ทำให้สารอนุมูลอิสระลดลง 50 % (IC_{50}, 50 % of inhibitory concentration) โดยค่าตัวเลข IC_{50}ต่ำแสดงว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง ทั้งสองแบบสามารถแสดงหน่วยได้หลากหลายได้แก่ μM/mg, mM/mg, μM/mL, mM/mL, ppm เป็นต้น

การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการทำลายอนุมูลอิสระดีพีพีเอช (diphenylpicryhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay) เป็นการทดสอบด้วยวิธีทางเคมีโดยใช้สารที่มีคุณสมบัติเป็นอนุมูลอิสระในที่นี้ก็คืออนุมูลอิสระดีพีพีเอช (DPPH•, diphenylpicryhydrazyl radical) ซึ่งเป็นสารสังเคราะห์ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระที่คงตัว และมีสีม่วงสามารถดูดกลืนแสงได้สูงสุดโดยใช้ เครื่องสเปกโตโฟโตรมิเตอร์ (spectrophotometer) ที่ความยาวคลื่น 518 นาโนเมตร เมื่อ DPPH• ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายด้วยเอทานอล (สารที่ให้อิเล็กตรอน) จะทำให้สีม่วงจางลงๆจนเป็นสีเหลืองซึ่งก่อนนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสงต้องตั้งทิ้งไว้ที่มืดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อให้เกิดปฏิกิริยา ทำให้สามารถหาการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระของสารตัวอย่างได้จากการคำนวณสีที่จางลงของการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูตรคำนวณได้จากการนำค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงจากการใส่ตัวอย่างเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น (ก่อนใส่สารตัวอย่าง) ดังสมการ

$$DPPH\bullet + AH \rightarrow DPPH\text{-}H + A\bullet$$

$$\% \text{ inhibition} = [(A_0\text{-}A_s)/A_0] \times 100$$

โดย A_0 = ค่าการดูดกลืนแสงตั้งต้น

A_s = ค่าการดูดกลืนแสงหลังจากเติมสารตัวอย่าง

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

วาริน แสงกิติโกมล และคณะ (2551) ได้ศึกษาข้าวที่มีสารแอนโทไซยานินส์ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีประโยชน์ในการส่งเสริมสุขภาพ โดยเลือกซื้อข้าว 3 ประเภทได้แก่ ข้าวดำ ข้าวแดง และข้าวเหนียวดำ กลุ่มละ 7 ชนิดรวม 21 ชนิด ซื้อมาจากตลาดในกรุงเทพ มาตรวจหาปริมาณรวมสารต้านอนุมูลอิสระ 4 วิธี ได้แก่ Oxygen Radical Absorbance Capacity assay (ORAC), Folin Ciocalteu Phenol Reagent assay (FCP), Vanillin assay (VA) และ Total Anthocyanins Content assay (TAC) พบว่าสารต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดจากข้าวที่ตรวจ 3 วิธีแรก โดยมีความสอดคล้องกันดีมาก ($r>0.9$) ข้าวเหนียวดำมีค่าสูงสุด รองลงมาคือข้าวแดง และข้าวดำ แต่วิธี TAC assay ให้ผลแตกต่างโดยข้าวดำมีสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวแดง โดยที่ข้าวเหนียวดำมีค่าสูงสุด คือ 1368.34 ± 41.27 TE mg/kg dry wt., 922.03 ± 9.42 GE mM/kg dry wt., 218.97 ± 1.82 CE mM/kg dry wt. และ 690 mM/kg dry wt. ตามลำดับ จากนั้นนำสารสกัดข้าว

เหนียวดำมาทดสอบกับเซลล์ พบว่าสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระในการทำลาย DNA ของเม็ดเลือดขาวเมื่อตรวจด้วยวิธี Comet Assay ซึ่งผลการยับยั้งแปรผันตามความเข้มข้นของสารสกัดข้าวเหนียวดำ และตรวจพบการยับยั้งอนุมูลอิสระในการทำลายโปรตีนและไขมันของเม็ดเลือดแดงโดยสารสกัดข้าวเหนียวดำ 100-600 μg/ml ยับยั้ง hemolysis และที่ความเข้มข้น 600 μg/ml ยับยั้งการเกิด Heinz bodies ได้ แต่สารสกัดข้าวเหนียวดำ 700-1000 μg/ml ทำให้เม็ดเลือดแดงแตกเอง อีกทั้งสามารถยับยั้งการอยู่รอดของเซลล์มะเร็งเพาะเลี้ยง HepG2 และ Jurkat โดยมีผลต่อเซลล์เพาะเลี้ยงแปรผันตามระดับความเข้มข้นและเวลาที่เพิ่มขึ้นที่ใช้ในการทดสอบ (Dose and Time dependent manner) นอกจากนี้สารสกัดข้าวเหนียวดำ 600-1000 μg/ml ลดระดับ Oxidative stress ภายในเซลล์ HepG2 พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และสารสกัดข้าวเหนียวดำ 200 μg/ml เพิ่มการแสดงออกของยีน LDLR พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % ของเซลล์ HepG2 ซึ่งเป็นยีนที่ทำหน้าที่ควบคุมการสร้าง LDL receptor บนผนังเซลล์ในการนำ LDL-cholesterol เข้าเซลล์

อาทิตย์ กุคำอู และคณะ (2551) ศึกษาและวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดข้าวกล้องที่ปลูกในจังหวัดพิษณุโลกด้วยวิธี ABTS (2,2′-azinbis -(3-ethylbenzothaizoline -b-sulfonic acid) free radical decolorizing assay ซึ่งเป็นวิธีประเมินฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยอาศัยความสามารถในการขจัดอนุมูลอิสระโดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน Trolox (วิตามินอีที่ละลายน้ำได้) แปลผลเป็นค่า TEAC (Trolox Equivalent Antioxidant Capacity) พบว่าสารสกัดจากเมล็ดข้าวกล้องสายพันธุ์ PSL00255-14-9-2-5R (เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง) และ PSL00284-8-2-5R (เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงเข้มจนถึงดำ) มีค่า TEAC สูงที่สุดถึง 4.451 และ 4.206 มิลลิกรัมต่อกรัมคือมีประสิทธิภาพในการขจัดอนุมูลอิสระได้สูงมากรองลงมาคือสารสกัดจากเมล็ดข้าวกล้องสายพันธุ์ PSL00255-4-4-5R (เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง), PSL00284-17-5-5R (เยื่อหุ้มเมล็ดสีดำแดง) และ PSL00247-18-2-5R (เยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง) มีค่า TEAC 3.834, 3.609 และ 3.388 มิลลิกรัมต่อกรัมในขณะที่สารสกัดจากเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์ชัยนาท 2 (เยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว (พันธุ์เปรียบเทียบ)) และพิษณุโลก 2 (เยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว (พันธุ์เปรียบเทียบ)) มีค่า TEAC ต่ำสุดคือ 0.538 และ 0.548 มิลลิกรัมต่อกรัมส่วนผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดข้าวกล้องที่ปลูกในจังหวัดสุโขทัยพบว่าข้าวสายพันธุ์ PSL00255-4-4-5R และ PSL00284-8-2-5R มีค่า TEAC มากที่สุด 4.397 และ 3.604 มิลลิกรัมต่อกรัมรองลงมาคือข้าวสายพันธุ์ PSL00284-17-5-5R มีค่า TEAC 3.447 มิลลิกรัมต่อกรัมส่วนข้าวพันธุ์พิษณุโลก 2 (พันธุ์เปรียบเทียบ) และชัยนาท 2 (พันธุ์เปรียบเทียบ) มีค่า TEAC น้อยที่สุด 0.391 และ 0.489 มิลลิกรัมต่อกรัม จากผลการวิเคราะห์ข้าว

ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีเข้ม (สีแดงถึงสีแดงเข้มเกือบดำ) มีสารออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (antioxidants) สูงกว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีอ่อน (สีขาว เหลือง ถึงสีแดงอ่อน) แต่วิตามินบี 6 ในข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีอ่อนกลับมีปริมาณสูงกว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีเข้ม ส่วนลักษณะคุณค่าทางโภชนาการอื่นๆในสายพันธุ์ต่างๆ มีความแตกต่างกัน สายพันธุ์ที่มีลักษณะคุณค่าทางโภชนาการในระดับสูงมีเมล็ดสีแดงเข้มเกือบดำ โดยมีธาตุเหล็ก สารโพลีฟีนอล และฤทธิ์ต้านทานอนุมูลอิสระค่อนข้างสูงกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ

กุลธิดา เทพรักษ์ (2555) ศึกษาการตรวจหาสารต้านอนุมูลอิสระในน้ำมันหอมระเหยจากส้มโอ โดยนำส้มโอ 2 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ขาวแป้นและขาวใหญ่ โดยแต่ละสายพันธุ์แบ่งเป็น 3 ส่วน ได้แก่ เปลือกนอก เปลือกใน และเนื้อ มาทำการสกัดโดยวิธีการกลั่นโดยต้มรวมกับน้ำและสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทน พบว่าในการสกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนจะให้เปอร์เซ็นต์ สารสกัดหยาบสูงกว่าวิธีการกลั่นโดยต้มรวมกับน้ำ และส่วนของเปลือกนอกจะให้เปอร์เซ็นต์สารสกัดหยาบสูงสุดในทั้ง 2 พันธุ์ นำสารสกัดหยาบมาทดสอบการต้านอนุมูลอิสระ และหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด ในการทดสอบการต้านอนุมูลอิสระจะใช้วิธี DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก จากการทดสอบพบว่า การต้านอนุมูลอิสระ DPPH สารที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนจะให้ เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าวิธีการกลั่นโดยต้มรวมกับน้ำ เปลือกในมีเปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุดในทั้ง 2 วิธีการสกัด ส้มโอพันธุ์ขาวแป้นจะให้เปอร์เซ็นต์ในการต้านอนุมูลอิสระ สูงกว่าพันธุ์ขาวใหญ่ ความสามารถในการรีดิวซ์เหล็กพบว่าสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนจะให้เปอร์เซ็นต์ความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าวิธีการกลั่นโดยต้มรวมกับน้ำ เปลือกในจะมีความสามารถในการรีดิวซ์สูง และส้มโอพันธุ์ขาวใหญ่จะมีความสามารถในการรีดิวซ์สูงกว่าพันธุ์ขาวแป้น จากการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่า สารที่สกัดด้วยตัวทำละลายไดคลอโรมีเทนจะมี สารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าวิธีการกลั่นโดยต้ม

สุกัญญา เตชกิตติรุ่งโรจน์ (2552) นำใบฝรั่งมาศึกษาโดยการสกัดแยกส่วนด้วยสารละลายที่มีขั้วต่ำไปจนถึงสารละลายที่มีขั้วสูง คือ เฮกเซนเอทิลอะซิเตตบิวทานอล และเมทานอลตามลำดับพร้อมทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu reaction ผลการทดสอบพบว่าสารสกัดจากใบฝรั่งที่สกัดด้วยเมทานอลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุดและตามด้วยสารสกัดจากบิวทานอล เอทิลอะซิเตต และเฮกเซนตามลำดับ สารสกัดเมทานอลจากใบฝรั่งได้ถูกนำมาทำให้บริสุทธิ์ด้วยวิธีการทางคอลัมน์โครมาโตร- กราฟฟี, RP-18 silica gel, Sephadex LH-20, MCI-gel และ Toyopearl HW-40C สารบริสุทธิ์ทั้งสามตัวที่แยกได้ถูก

พิสูจน์โครงสร้างทางเคมีด้วยเทคนิคทางสเปคโตรเมตรี (IR, MS, 1H-NMR, และ 13C-NMR) พบว่าสารประกอบทั้งสามคือ เคอซิติน เคอซิตินไกล์โคไซด์ และมอริน เมื่อนำสารบริสุทธิ์ทั้งสามมาทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่าเคอซิตินให้ฤทธิ์สูงที่สุดด้วยค่า IC_{50}, TEAC, และ EC เท่ากับ 1.20 ± 0.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร, 57.54 ± 0.07 มิลลิโมลต่อมิลลิกรัม, และ 72.69 ± 0.06 มิลลิโมลต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ส่วนเคอซิตินไกล์โคไซด์และมอรินมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระต่ำกว่าเคอซิตินอย่างมีนัยสำคัญ

จรัญจิต เพ็งรัตน์ และสุวัตน์ เจียระคงมั่น (2552) ศึกษาและวิเคราะห์หาปริมาณสารอาหารและแร่ธาตุที่สำคัญในเมล็ดข้าว พบว่า เมล็ดข้าวกล้องสีดำและแดงมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระสูงมากเมื่อเทียบกับเมล็ดข้าวกล้องสีขาว โดยที่ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระขึ้นอยู่กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในเมล็ดข้าว เนื่องจากในข้าวกล้องของข้าวเหนียวดำ มีปริมาณสารแกมมา-โอไรซานอล และสามารถสังเคราะห์สารแอนโทไซยานินได้มากกว่าข้าวขาว ในต่างประเทศได้มีการนำสาร GABA (gamma-aminobutyric acid) ที่พบในข้าวกล้องงอก มาใช้ในวงการแพทย์ เพื่อรักษาโรคเกี่ยวกับประสาท เช่น โรควิตกกังวล โรคนอนไม่หลับ และโรคลมชัก เพราะสาร GABA หรือกรดแกมมามิโนบิวทิริก จัดอยู่ในกลุ่มกรดโปรตีนที่ช่วยบำรุงเซลล์ประสาท ทำให้สมองเกิดการผ่อนคลาย ป้องกันการทำลายสมอง ซึ่งเป็นสาเหตุของโรคสูญเสียความทรงจำ หรืออัลไซเมอร์ ซึ่งพบวิธีการเตรียมข้าวกล้องงอกแบบใหม่ คืองอกทั้งเปลือก ทำให้ได้สาร GABA สูงขึ้น โดยพันธุ์ข้าวมะลิแดง ให้สาร GABA สูงที่สุด (12 มิลลิกรัม ต่อ 100 กรัมของน้ำหนักแห้ง)

สมหมาย ปะติตังโข (2553) ศึกษาการสกัดและการทดสอบฤทธิ์ทางชีวภาพของสมุนไพรพญาวานร มาสกัดด้วยการทำละลายอินทรีย์เฮกเซน (hexane) ไดคลอโรมีเทน (dichloromethane) เอทิลแอซิเตต (ethyl acetate) เมทานอล (methanol) และเอทานอล (ethanol) ปริมาตร 600 mL ต่อครั้ง จำนวน 3 ซ้ำ แล้วนำสารสกัดที่ได้มาทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH และ FRAP พบว่า สารสกัดหยาบจากใบพญาวานรด้วยตัวทำละลายเอทานอล ซึ่งมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH. สูงสุดด้วยค่า IC_{50} เท่ากับ 656.27 ppm ส่วนความสามารถในการรีดิวซ์ (reduce) เหล็ก (วิธี FRAP) สารสกัดทั้งหมดมีความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก และมีฤทธิ์เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นที่ใช้ โดยสารสกัดด้วยไดคลอโรมีเทนและเอทิลแอซิเตตมีความสามารถในการรีดิวซ์ดีที่สุด รองลงมาคือ สารสกัดของเมทานอล ส่วนสารสกัดของเอทานอลและเฮกเซน เป็นตัวรีดิวซ์อย่างอ่อน ดังนั้น สารประกอบทุติยภูมิจากใบพญาวานร จึงน่าจะได้รับการรักษาโรคที่มีสาเหตุมาจากอนุมูลอิสระได้

ธนพัฒน์ รุ่งนพงษ์ (2554) ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างแอนโธไซยานิน ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวเหนียวก่ำพื้นเมือง จำนวน 31 พันธุ์ สำหรับปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด พบความแตกต่างในเมล็ดข้าวกล้องของข้าวเหนียวก่ำ ตั้งแต่ 250.57 – 1,085.81 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคสมมูล/100 กรัม ในปี พ.ศ. 2552 ซึ่งสูงกว่าในเมล็ดพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (74.86 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคสมมูล/100 กรัม) และ กข6 (64.86 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคสมมูล/100 กรัม) ใน ปี พ.ศ. 2553 ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในเมล็ดข้าวกล้องของข้าวเหนียวก่ำมีค่าเพิ่มขึ้น (288.00 – 1,921.33 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคสมมูล/ 100 กรัม) และสูงกว่าของพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (126.67 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคสมมูล/100 กรัม) และ กข6 (116.67 มิลลิกรัมของกรดแกลลิคสมมูล/100 กรัม) ส่วนความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าข้าวเหนียวก่ำมีค่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเท่ากับ 4,381.974 ไมโครโมลาร์ Trolox/100 กรัม โดยเฉลี่ย สูงเป็น 26 เท่าของข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ กข6 (113.46 และ 167.56 ไมโครโมลาร์ Trolox/100 กรัม ตามลำดับ) ทั้งนี้เนื่องจากมีสารแอนโธไซยานินและสารฟีนอลิกทั้งหมด และปริมาณสารแอนโธไซยานินสูงมีผลให้ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเช่นกัน

น้ำทิพย์ เรืองดี (2555) ศึกษาการผลิตเครื่องดื่มผงชงพร้อมดื่มจากแป้งข้าวเหนียวดำกล้องงอกโดยใช้เทคโนโลยีเอ็กซ์ทรูชัน ใช้ข้าวเหนียวก่ำกล้อง 2 พันธุ์ คือ ก่ำดอยสะเก็ด และก่ำพะเยา นำไปเพาะให้งอกโดยแช่น้ำนาน 3 ชั่วโมง แล้วเพาะที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส พบว่า หลังการเพาะนาน 40 ชั่วโมง ข้าวเหนียวก่ำกล้องทั้ง 2 พันธุ์มีปริมาณกรดแกมมา-แอมิโนบิวทีริก (gamma-aminobutyric acid) เพิ่มขึ้นสูงสุดที่ระยะเวลาการเพาะ 40 ชั่วโมงเหมือนกัน โดยที่ข้าวเหนียวก่ำกล้องงอกพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดมีปริมาณ GABA มากกว่าพันธุ์ก่ำพะเยาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (16.31±0.34 และ 12.83±0.13 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ) อีกทั้งยังพบว่าข้าวเหนียวก่ำกล้องงอกพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดมีคุณภาพอื่นสูงกว่า ซึ่งได้แก่ แกมมา-โอรีซานอล (gamma-oryzanol) แอนโทไซยานิน (anthocyanins) และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) ดังนี้ ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงชงที่ได้มีปริมาณ GABA 6.10±0.52 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง แกมมา-โอรีซานอล 8.09±0.04 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง แอนโทไซยานิน 6.07±0.25 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง และกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 20.20 เมื่อนำผลิตภัณฑ์ที่ได้ไปทดสอบทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบคุณภาพกับผลิตภัณฑ์ทางการค้า 2 ชนิด พบว่าผู้ทดสอบชิมให้การยอมรับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มผงชงที่ผลิตได้อยู่ในเกณฑ์ดีใกล้เคียงกับผลิตภัณฑ์ทางการค้า ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่พัฒนาขึ้นมานี้มีศักยภาพที่จะใช้เป็นเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพได้

อนุสรณ์ ทองใหญ่ (2555) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงคุณลักษณะทางเคมีฟิสิกส์และประสาทสัมผัสระหว่างการหมักของข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำ ระหว่างการหมักมีการลดลงของค่า pH และปริมาณแอนโธไซยานิน พร้อมกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% และองค์ประกอบทางเคมีของข้าวหมากที่ผ่านการหมักแล้ว ประกอบด้วย ความชื้นร้อยละ58.57โปรตีนร้อยละ 10.55 ไขมันร้อยละ 0.81 เถ้าร้อยละ 0.44 ใยอาหารหยาบร้อยละ 1.84 คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 27.90 และเอธิลแอลกอฮอล์ ร้อยละ 2.28 ข้าวหมากได้รับการยอมรับด้านลักษณะ ปรากฏ สี และความชอบรวม แต่คะแนนความชอบด้านกลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และกลิ่นรสของข้าวหมากอยู่ในช่วง 6.63 ถึง 6.87 ดังนั้นข้าวเหนียวดำสามารถนำมาเป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตข้าวหมากที่มีแอนโธไซยานิน โปรตีนและใยอาหารหยาบ

อุไรวรรณ วัฒนกุล และคณะ (2555) ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการบางประการในข้าวหมากที่ผลิตจากส่วนผสมของข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุง และข้าวเหนียวดำ 5 อัตรา ได้แก่ 1:0, 3:1, 1:1, 1:3 และ 0:1 พบว่า สูตรที่ผสมข้าวเหนียวดำต่อข้าวสังข์หยดพัทลุง อัตรา 1:1 ให้ค่าโปรตีนและไขมันใกล้เคียงกับข้าวเหนียวดำพัทลุงที่สุด มีค่าเท่ากับ 3.6 และ 0.31 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ขณะที่ปริมาณความชื้นและค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในทุกสูตรทดลองไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อทำการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ พบว่าทุกสูตรการทดลองมีค่าอยู่ในช่วง 0.23 - 0.47 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการวัดปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธีการทดสอบความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging capacity assay) โดยสกัดตัวอย่างใน 80 % ethanol ทำปฏิกิริยากับสารละลาย 0.8 mM DPPH และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 nm ด้วย เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ พบว่าข้าวเหนียวดำและข้าวกล้องสังข์หยดพัทลุงให้เปอร์เซ็นต์การต้านอนุมูลอิสระไม่ต่างกัน โดยสูตรที่ใช้ข้าวเหนียวดำต่อข้าวสังข์หยดพัทลุงอัตรา 1:1 ให้ค่าการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด คือ 57.83±2.24% รองลงมาได้แก่ ข้าวเหนียวดำต่อข้าวสังข์หยดพัทลุงอัตรา 1:3 ข้าวสังข์หยดพัทลุงไม่และข้าวเหนียวดำตามลำดับแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนข้าวเหนียวดำต่อข้าวสังข์หยดพัทลุง

พัชราภรณ์ รัตนธรรม และคณะ (2556) ศึกษากระบวนการงอกข้าวกล้อง 3 พันธุ์ ได้แก่ ข้าวเหนียวดำ ข้าวหอมนิล และข้าวไรซ์เบอรี่ โดยแปรระยะเวลาการงอกที่ 0, 20, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่า ข้าวที่ผ่านกระบวนการงอกมีปริมาณสารอาหารเพิ่มขึ้น อย่างไรก็ตาม พบว่าข้าวเหนียวดำที่ผ่านการแช่น้ำ งอกเป็นระยะเวลา 20 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบแอนโทไซยานินสูงสุด (20.67 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) อีกทั้งข้าวเหนียวดำมีคุณสมบัติการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ด้วย2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl ($DPPH^{\cdot}$) และ 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzthiazoline-6-sulphonic acid) ($ABTS^{\cdot}+$) เท่ากับ 41.35 และ 54.83 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าข้าวหอมนิล มีค่าการต้านอนุมูลอิสระร้อยละ 40.14 และ 49.56 ตามลำดับ และข้าวไรซ์เบอรี่ที่ร้อยละ 35.47 และ 40.92 ตามลาดับ

ชนาธิป วารมนตรี (2556) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในสารสกัดหยาบเมล็ดข้าวพันธุ์ กข21 พันธุ์ขาวอากาศ และพันธุ์บือโป๊ะโละ โดยสกัดสารด้วยตัวทำละลายคือ Methanol, Hexane และ น้ำกลั่น พบว่าตัวทำละลายที่สกัดได้ปริมาณสารสกัดหยาบจากข้าวทั้ง 3 ชนิดมากที่สุดและแสดงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระจากการฟอกจางสีของสารละลาย DPPH บนแผ่น TLC คือ Methanol จากนั้นจึงนำสารสกัดหยาบจากตัวทำละลาย Methanol ไปทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay พบว่าข้าวพันธุ์ กข.21 พันธุ์ขาวอากาศ และพันธุ์บือโป๊ะโละมีค่า Half maximal Inhibitory concentration (IC_{50}) เท่ากับ 80,297.83, 98,062.00 และ 61,332.50 ตามลำดับ ซึ่งเมื่อเทียบกับสารละลาย Ascorbic acid แล้วพบว่าข้าวพันธุ์ กข.21 มีค่า IC_{50} น้อยกว่า 46.720 เท่า ข้าวพันธุ์ขาวอากาศ มีค่า IC_{50} น้อยกว่า 57.060 เท่า และข้าวพันธุ์บือโป๊ะโละ มีค่า IC_{50} น้อยกว่า 35.380 เท่า

ปวีณา รัตนเสนา และ ประภัสสร บุษหมั่น (2556) ศึกษาการแปรรูปเมล็ดข้าวไทยบางสายพันธุ์เพื่อเพิ่มคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ โดยข้าวไทย 4 ชนิด ได้แก่ ข้าวดอกมะลิ (กข105) ข้าวเหนียว (กข6) ข้าวเหนียวดำและข้าวแดง จะได้รับการแปรรูปเพื่อเป็นข้าวกล้องงอก ข้าวฮางและข้าวคั่ว แล้วนำมาสกัดด้วยเอทานอล 80 % จากนั้นจึงนำมาทดสอบหากิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging assay และ Ferric reducing ability of plasma (FRAP) assay และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดโดยวิธี Folin–Ciocalteu method โดยในงานวิจัยนี้พบว่าข้าวหอมมะลิและข้าวแดงที่ได้รับการแปรรูปเป็นข้าวฮางงอกและข้าวกล้องงอกแล้ว พบว่ามีกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวกล้องอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ คือมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด คือ 1.66± 0.33 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับ BHA ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของข้าว ข้าวที่ผ่านการแปรรูปเป็นข้าวกล้องงอกเท่านั้นที่มีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่สูงขึ้นอาจเป็นเพราะเปอร์เซ็นต์ของสารสกัดต่ำ นอกจากนี้พบว่าเฉพาะข้าวกล้องงอกของข้าวหอมมะลิแดงและข้าวฮางงอกของข้าวแดงเท่านั้นที่มีสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการแปรรูป คือ 116.07 ± 0.91 มิลลิกรัม เทียบเท่ากับ gallic acid ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของข้าว ส่วนการแปรรูปโดยวิธีการคั่วนั้นกลับถูกพบว่ามีผลต่อกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของข้าวทุกสายพันธุ์น้อยมาก ดังนั้นชนิดของข้าวและพันธุ์ข้าวมีบทบาทสำคัญต่อปริมาณการออกฤทธิ์สารทางชีวภาพของข้าวได้

จิราภรณ์ กระแสเทพ และคณะ (2557) ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารกาบ้า สารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging และ Ferric Reducing Power Assay (FRAP) ของผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากข้าว 6 ชนิด ได้แก่ ข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมจีน ขนมจีนข้าวกล้องงอก และขนมจีนข้าวกล้องงอกอบแห้ง โดยใช้สารละลายเมทานอลสกัด จากผลการทดลองพบว่า ในชั้นสารสกัดเมทานอล ข้าวกล้องมีปริมาณของสารประกอบฟีโนลิกสูงที่สุด (0.4352±0.03 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดสด) ข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารกาบ้าสูงที่สุดสุด (52.09±.52 มิลลิกรัมของกาบ้าต่อกรัมของสารสกัดสด) ขนมจีนข้าวกล้องงอกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด ซึ่งรายงานผลเป็นค่า IC_{50} (0.0043 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และข้าวกล้องมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริคของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) สูงที่สุด (6.695±44.49 มิลลิโมลของเหล็กต่อกรัมของสารสกัดสด)

Yilmaza and Toledo (2004) ศึกษาตัวทำละลายประเภทต่างๆคือ น้ำ Acetone Methanol และ Ethanol ในการสกัดโพลีฟีนอลจากเมล็ดองุ่น 3 พันธุ์ ผลการทดสอบพบว่าตัวทำละลายที่ผสมกับน้ำไม่ว่าจะเป็นทั้ง Methanol Ethanol หรือ Acetone นั้นล้วนให้ผลลัพธ์ที่ดีกว่าการใช้ตัวทำละลายเพียงชนิดเดียวที่ไม่ผสมน้ำในการสกัดปริมาณโพลิฟีนอล โดยได้ค่าการต้านอนุมูลอิสระคือ 638,345 และ 311 µmol ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% กับการใช้ตัวทำละลายเพียงชนิดเดียว

Iqbal et al. (2005) ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว คือ Rice brane-super kernel (RB-kr), super-2000 (RB-s2), super basmati (RB-bm), super-386 (RB-86) และ super fine (RB-sf) โดยการหาปริมาณฟีนอลิกด้วยวิธี DPPH และ ABTS และหาส่วนประกอบของสารด้วยวิธี HPLC จากการทดลองโดยส่วนมากสารที่พบคือ tocotrienols (343-478 ppm), tocopherols (378-503 ppm) และ oryzanol (511-802 ppm) ซึ่งผลดังกล่าวทำให้ทราบว่าในรำข้าวที่นำมาศึกษานั้น สารที่พบมากและมีส่วนในความสามารถต้านอนุมูลอิสระคือ oryzanol

Sun and Ho (2005) ศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในข้าวบัควีท (buck wheat) โดยนำสารสกัดจากข้าวบัควีทมาเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน butalatedhydroxytoluene (BHT) และ tertiary butylhydroquinone (TBHQ) สารสกัดจากข้าวบัควีทสกัดโดยตัวทำละลายที่มีความต่างขั้วกัน โดยมี methanol, acetone, butanol, ethanol, ethyl acetate พบว่า % yield ของ methanol ให้ปริมาณมากกว่าตัวทำละลายตัวอื่น โดยมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 % เมื่อดูการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH พบว่าที่ปริมาณสารสกัด 0.1 mg/ml ให้ผลจากมากเรียงลำดับไปน้อยดังนี้ acetone > ethanol = methanol >butanol = ethyl acetate

Hee, et al. (2007) วิเคราะห์สารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าว 3 สายพันธุ์ คือ Jakwangchalbyeo (ข้าวเหนียวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง) Hwasunchalbyeo (ข้าวเหนียวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว) และ Ilpumbyeo (ข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีขาว) ด้วยแอลกอฮล์โดยใช้เทคนิค HPLC พบว่าข้าวแต่ละสายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม มีร้อยละกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระที่วัดด้วยวิธี DPPH คือ 87.5 % (Jakwangchalbyeo) 45.0 % (Hwasunchalbyeo) และ 50.0 % (Ilpumbyeo) ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าข้าวเหนียวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงในเซลล์มีสารต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าสารสกัดของเมล็ดข้าวที่มีเยื่อหุ้มสีขาว

Eloff et al. (2008) ศึกษาสารชีวภาพสารเคมีต่าง ๆ ในพืชดอก วงศ์สมอ (Combretaceae) ทำการแยกสารสกัดหยาบโดยใช้แผ่น TLC และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยพ่นสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM ใน Methanol พบว่าสารสกัดที่สกัดด้วย Methanol และ Acetone เกิดการฟอกจางสีของสารละลาย DPPH มากกว่าสารสกัดที่สกัดด้วย Hexane และ Dichloromethane

Kannan et al. (2010) วิเคราะห์ส่วนประกอบของสารต้านอนุมูลอิสระโดยใช้ TLC (thin layer chromatography) ตามด้วย DPPH (2, 2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl) ใช้ความเข้มข้นของสารสกัดจากหญ้าทะเล 100 ไมโครกรัม ลงบนแผ่น TLC (Merck, 10 x 10 cm^2) แยกส่วนประกอบของสารสกัดบนแผ่น TLC โดยใช้ mobilephase สองอย่างคือ Methanol : Chloroform (9:1) และ Methanol : Chloroform : Hexane (7:2:1) หลังจากที่ทำการแยกสารด้วย mobile phase จนเสร็จจะนำไปสังเกตสีของสารต่างๆ ภายใต้แสง UV ที่ความยาวคลื่น 240 และ300 nm ซึ่งเมื่อนำไปส่องภายใต้แสง UV ตามความยาวคลื่นดังกล่าวพบว่าบริเวณที่มีสารต้านอนุมูลอิสระจะมีการเรืองแสงมากกว่าบริเวณอื่น

Kanitha Tananuwong and Wanida Tewaruth (2010) ศึกษาการสกัดและการประยุกต์ใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากข้าวเหนียวดำในมายองเนสที่มีน้ำมันปลามาก โดยนำข้าวเหนียวดำที่บดละเอียดมาสกัดด้วย อะซิโตนและน้ำในอัตราส่วน 70:30 (ปริมาตร /ปริมาตร) ที่ pH 2 และ pH 6.8 เป็นเวลา 2,4 และ 8 ชั่วโมง วัดปริมาณรวมของสารประกอบฟีนอลิก แอนโธไซยานิน และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระวัดโดยวิธี ferric reducing antioxidant power (FRAP) และ 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) พบว่าสารสกัดที่ pH 6.8 และใช้เวลาการสกัด 4 ชั่วโมง จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อนำสารสกัดที่ได้ไปเติมในน้ำมันปลาที่ผสมในมายองเนสที่ 500 มิลลิกรัม/กิโลกรัม และ 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม (เทียบกับน้ำหนักของน้ำมัน) เก็บที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน พบว่าตัวอย่างที่มีสารสกัดอยู่ 1000 มิลลิกรัม/กิโลกรัม มีอัตราต่ำสุดของ Conjugated diene hydroperoxides (CDH) และ thiobarbituric acid reactive substance (TBARs) เพิ่มขึ้นแต่สีจางที่สุด ซึ่งเป็นไปได้ว่าเกิดจากการสลายตัวของแอนโทไซยานินและปฏิกิริยา Maillard

Sompong et al. (2011) ศึกษาข้าวแดง 9 สายพันธุ์ และข้าวดำ 3 สายพันธุ์ จากประเทศไทย จีน และศรีลังกา พบว่าข้าวดำ มีปริมาณสารแอนโทไซยานินส์ชนิดไซยานิดิน 3 กลูโคไซด์ และ พีโอนิดีน สูงที่สุด

Melissa Walter and Enio Marchesan (2011) ศึกษาความเข้มข้นของฟีนอลิกในเมล็ดข้าว มีความสัมพันธ์ทางบวกกับสารต้านอนุมูลอิสระ ในชั้น pericarp ของเมล็ดข้าวสีแดงนั้นพบสาร Proanthocyanidins ซึ่งมีความสัมพันธ์เดียวกันกับที่กล่าวไปคือเป็นไปในทางบวกกับสารต้านอนุมูลอิสระ แต่ในเมล็ดข้าวสีดำนั้นความสัมพันธ์นี้จะขึ้นอยู่กับ anthocyanins จากผลการศึกษาชี้ให้เห็นว่าสารประกอบฟีนอลิกนั้นเป็นส่วนสำคัญของฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าว โดยปกติแล้วเมล็ดข้าวที่มีเปลือกชั้นนอกเป็นสีแดงและสีดำจะมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระที่สูงกว่าเมล็ดข้าวที่มีเปลือกชั้นนอกสีอ่อนกว่า

Saenkod et al. (2013) ศึกษาคุณสมบัติทางชีวเคมีในการต้านออกซิเดชันของสารสกัดจากข้าวสายพันธุ์จีนและข้าวไทย ซึ่งทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด (TPC) หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (TFC) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าวสายพันธุ์ของจีนและข้าวไทย จำนวน 8 สายพันธุ์ โดยการสกัดโดยใช้น้ำ (ที่อุณหภูมิ 25°C), น้ำอุ่น (อุณหภูมิ 50°C) และ 70% เอธานอล พบว่าข้าวสายพันธุ์ Heimi (เมล็ดข้าวสีดำ) ที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 70% เอธานอล ให้ปริมาณ TPC และTFC สูงสุด (634.และ 158.47 mg/kg) รองลงมาคือ Jing Nian (เมล็ดข้าวสีดำ) (462.45 และ 123.68 mg/kg) ข้าวไทยพันธุ์ Dok Kam และ Niaow Deang (เมล็ดข้าวสีแดง) (328.07 และ 89.38 mg/kg) และ (270.49 และ 66.71 mg/kg) ตามลำดับ และจากผลปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมดและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมพบว่า TPC และ TFC มีความสัมพันธ์กับสีของข้าวในแต่ละสายพันธุ์ คือ Heimi และ Jing Nian ซึ่งเป็นข้าวเมล็ดดำและ ข้าวไทยพันธุ์ Dok Kam และ Niaow Deang ซึ่งเป็นข้าวเมล็ดสีแดง ซึ่งให้ปริมาณ TPC และ TFC ที่สูง ส่วนข้าวเมล็ดสีขาวของข้าวจีนพบว่ามีปริมาณ TPC และ TFC ไม่ต่างกันทางสถิติ ส่วนฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระพบว่าข้าว Jing Nian, Dok Kam และ Niaow Deang ของข้าวไทยมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสสระสูงสุด มีความสัมพันธ์ เชิงบวกกับปริมาณ TPC และ TFC ของข้าวแต่ละสายพันธุ์ ซึ่งจากการทดลองพบว่าข้าวที่มีเมล็ดสีแดงและสีดำจะมีสาร TPC, TFC และ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสสระสูงสุด ที่สุงกว่าเมล็ดข้าวสีขาว