ภาคผนวก

1. การคำนวณปริมาณสารสกัดที่ใช้เสริมลงในอาหารทดลอง

คำนวณจาก คนมีน้ำหนักเฉลี่ย 70 กก. น้ำหนักเฉลี่ยของลูกสุกรตลอดการทดลองเท่ากับ 16 กก. และปริมาณอาหารตลอดช่วงของการทดลองที่สุกรกินโดยเฉลี่ยเท่ากับ 700 กรัม/ตัว/วัน

1.1 การคำนวณปริมาณแกมมา-โอไรซานอลที่ใช้เสริมลงในอาหารทดลองสูตรที่ 2 อ้างอิงจากปริมาณที่แนะนำให้ใช้ในคน ในลักษณะให้ผล ช่วยลดโอกาสเกิดโรคมะเร็ง โรคหัวใจ และโรคความดัน ที่ระดับ 450 มก./วัน (cited by Teltathum, 2004)

คนมีน้ำหนักเฉลี่ย	70	กก. ได้รับแกมมา-โอไรซานอล	9,000	มก./วัน
ลูกสุกรน้ำหนักเฉลี่ย	16	กก. จะได้รับแกมมา-โอไรซานอล	2057.14	มก./วัน
ลูกสุกรกินอาหารโดยเฉลี่ย	700 ก.	ได้รับแกมมา-โอไรซานอล	2,057.14	มก.
ถ้าอาหาร	1,000 ก.	ได้รับแกมมา-โอไรซวนอล	2,943	มก.
		ประมาณ	3,000	มก./อาหาร 1 กก.

1.2 การคำนวณปริมาณสารสกัดโดยรวมโปรแอนโธไซยานิดินที่ใช้เสริมลงในอาหารทดลองสูตรที่ 3 โดยอ้างอิงจากระดับที่แนะนำให้ใช้ในคน 250 มก./วัน (Hertog *et al.*, 1993)

คนมีน้ำหนักเฉลี่ย	70	กก. ได้รับโปรแอนโธไซยานิดิน	250	มก./วัน
ลูกสุกรน้ำหนักเฉลี่ย	16	กก. จะได้รับโปรแอนโธไซยานิดิน	57.14	มก./วัน
ลูกสุกรกินอาหารโดยเฉลี่ย	700 ก.	ได้รับโปรแอนโธไซยานิดิน	57.14	มก.
ถ้าอาหาร	1,000 ก.	ได้รับโปรแอนโธไซยานิดิน	81.6	มก.
		ประมาณ	82	มก./อาหาร 1 กก.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

1.3 การคำนวณปริมาณสารสกัดโดยรวมโปรแอนโธไซยานิดินที่ใช้เสริมลงในอาหารทดลองสูตรที่ 4 โดยอ้างอิงจากระดับที่แนะนำให้ใช้ในคน 250 มก./วัน (Hertog *et al.*, 1993)

คนมีน้ำหนักเฉลี่ย	70	กก. ได้รับแกมมา-โอไรซานอล	300	มก./วัน
ลูกสุกรน้ำหนักเฉลี่ย	16	กก. จะได้รับแกมมา-โอไรซานอล	68.57	มก./วัน
ลูกสุกรกินอาหารโดยเฉลี่ย	700 ก.	ได้รับแกมมา-โอไรซานอล	68.57	มก.
ถ้าอาหาร	1,000 ก.	ได้รับแกมมา-โอไรซานอล	97.9	มก.
		ประมาณ	100 มก./อาหาร 1 กก.	
คนมีน้ำหนักเฉลี่ย	70	กก. ได้รับโปรแอนโธไซยานิดิน	200	มก./วัน
ลูกสุกรน้ำหนักเฉลี่ย	16	กก. จะได้รับโปรแอนโธไซยานิดิน	45.46	มก./วัน
ลูกสุกรกินอาหารโดยเฉลี่ย	700	ก. ได้รับโปรแอนโธไซยานิดิน	45.46	มก.
ถ้าอาหาร	1,000	ก. ได้รับโปรแอนโธไซยานิดิน	64.3	มก.
		ประมาณ	65	มก./อาหาร 1 กก.

1.4 รำข้าวขาวมีแกมมา-โอไรซานอลเป็นองค์ประกอบประมาณ 1.12% ดังนั้นในรำข้าวขาว 2% (ในอาหารสูตรที่ 1-4) ซึ่งใช้รำข้าวขาว 2% จะมีแกมมา-โอไรซานอล 224 มก./อาหาร 1 กก. ส่วนปริมาณแกมมา-โอไรซานอลและสารสกัดโปรแอนโธไซยานิดินที่มีในรำข้าวเหนียวก่ำในอาหารสูตรที่ 5-7 (รำข้าวเหนียวก่ำมีแกมมา-โอไรซานอล 2.69% และมีสารสกัดโปรแอนโธไซยานิดิน 1.02%) สามารถคำนวณได้ ดังนี้

รำข้าวเหนียวก่ำในอาหาร 1 กก.	แกมมา-โอไรซานอล (มก.)	โปรแอนโธไซยานิดิน (มก.)
2%	540	204
4%	1,080	408
6%	1,600	612

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ศึกษาการยับยั้งการออกซิเดชันของกรดไขมัน และปริมาณกลูตาไธโอนในเม็ดเลือดแดง

1. กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร ของสารละลาย MDA มาตรฐาน ที่ความเข้มข้น10, 20, 30, 40 และ 50 ไมโครโมลาร์

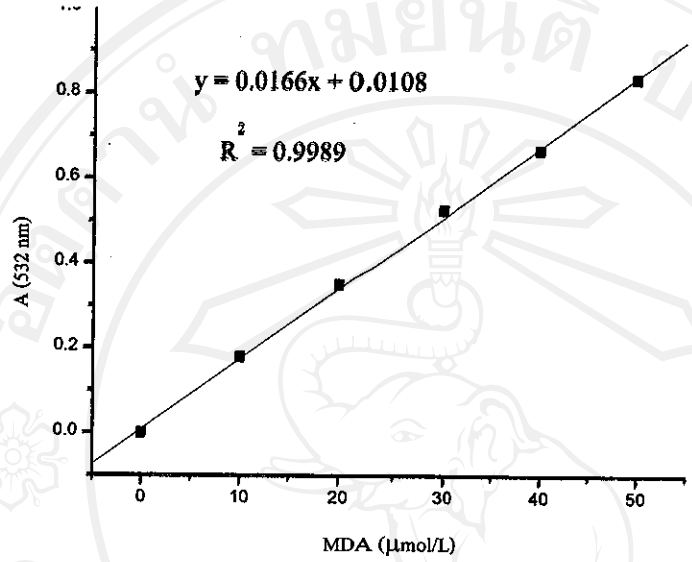

Figure A.1 standard curve of MDA.

2. กราฟแสดงค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 412 นาโนเมตร ของสารละลายกลูตาไธโอนมาตรฐานที่ความเข้มข้น 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 60 ไมโครโมล/ลิตร

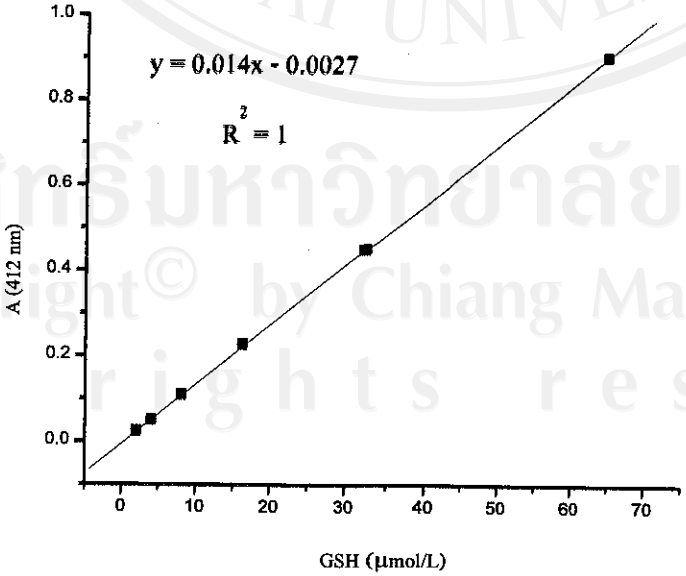

Figure A.2 standard curve of GSH.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

3. การวิเคราะห์หาปริมาณวัตถุแห้ง (dry matter) (AOAC, 1998 และพันทิพา 2546)

วิธีการ

1. นำถ้วยชั่งน้ำหนัก (weighing bottle) ที่ล้างทำความสะอาดแล้วไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 100-105^{0}C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดแล้วนำไปไว้ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_1)

2. ชั่งตัวอย่างอาหาร 3 กรัม (W_s) ใส่ในถ้วยชั่งน้ำหนัก

3. นำไปอบที่อุณหภูมิ 100-105^{0}C เป็นเวลา 8-10 ชั่วโมง โดยเปิดฝาถ้วย และปิดฝาถ้วยเมื่อครบกำหนด แล้วนำไปวางไว้ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

วิธีคำนวณ

$$\text{dry matter (\%)} = \frac{(W_2 - W_1) \times 100}{Ws}$$

4. การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนโดยรวม (crude protein) (AOAC, 1998 และพันทิพา 2546)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนัก 1 กรัมใส่ในหลอดย่อย ใส่ selenium reagent mixture ลงไป แล้วเติม sulfuric acid 25 มล. พร้อมทำ blank ควบคู่ไปด้วย

2. นำไปใส่เครื่องย่อย แล้วย่อยจนได้สารละลายใส ใช้เวลาประมาณ 2-3 ชั่วโมง แล้วทิ้งไว้ให้เย็น ก่อนที่จะนำไปกลั่นต่อไป

3. เติมน้ำกลั่นลงไปประมาณ 200 มล.และหยด tashiro indicator ลงไป 2-3 หยด แล้วต่อเข้ากับเครื่องกลั่น โดยใช้ 4% boric acid 40 มล. ในขวดรูปชมพู่เป็นตัวจับแอมโมเนีย

4. เติม sodium hydroxide ลงในขวดย่อย แล้วต่อเข้ากับเครื่องกลั่นทันที

5. การไตเตรทใช้ 0.1N HCl เป็น titrant แล้วอ่านค่า titrant ที่ end point โดยดูจากจุดที่สารละลายสีเขียวเปลี่ยนเป็นสีม่วง (ควรไตเตรททันทีที่กลั่นเสร็จ หากไม่สามารถทำได้ต้องเก็บสารละลายที่กลั่นได้ไว้ภายใต้อุณหภูมิไม่เกิน 25^{0}C เพื่อป้องกันการระเหยของแอมโมเนีย)

วิธีคำนวณ

$$\text{N (\%)} = \frac{\{(\text{ml HCl (s)} - \text{ml HCl (b)} \times \text{N HCl} \times 0.014\} \times 100}{Ws}$$

$$CP = N\,(\%) \times 6.25$$

โดย N = ปริมาณไนโตรเจนคิดเป็นเปอร์เซนต์

HCl (s) = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้ไตเตรทสารละลายของตัวอย่าง

HCl (b) = ปริมาณกรดไฮโดรคลอริคที่ใช้ไตเตรทสารละลายของแบลงค์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

N HCl = ความเข้มข้นของกรดไฮโดรคลอริดที่ใช้ไตเตรท

Ws = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

CP = โปรตีนรวมคิดเป็นเปอร์เซนต์

5. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมันโดยรวม (ether extract) (AOAC, 1998 และพันทิพา 2546)

สารเคมี

วิธีการ

1. ใส่หินพัมมิช 2-3 เม็ด ลงในขวดก้นกลม (round bottom flask) นำไปอบที่อุณหภูมิ 100°C จนน้ำหนักคงที่ หรืออบเป็นเวลา 1 ชม

2. นำไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น ชั่งน้ำหนัก (W_1)

3. ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 3 กรัม (W_s) แล้วนำไปห่อด้วยกระดาษกรองหรือกระดาษที่ปราศจากไขมัน เสร็จแล้วนำไปใส่ในทิมเบิล (thimble)

4. นำทิมเบิลใส่ในซอคท์เล็ท (soxhlet)

5.นำซอคท์เลทต่อเข้ากับปลายคอนเดนเซอร์ (condenser) เสร็จแล้วนำขวดก้นกลมมาต่อเข้ากับปลายของซอคท์เล็ท โดยให้ขวดตั้งอยู่บนเตาให้ความร้อน

6.เติมไดคลอโรมีเทนลงในขวดก้นกลมจำนวน 2 ไซฟอน (siphon) โดยผ่านทางปลายคอนเดนเซอร์

7.เปิดเครื่องทำความเย็นของน้ำและเตาให้ความร้อน

8.ปรับตั้งความร้อนของเตา โดยให้จำนวนหยดของสารละลายที่กลั่นได้จากปลายคอนเดนเซอร์เท่ากับ 5-6 หยดต่อวินาที ใช้เวลากลั่นประมาณ 16 ชั่วโมง

9.เมื่อครบกำหนด นำทิมเบิลออกจากซอคท์เล็ท กลั่นต่อเพื่อเก็บไดคลอโรมีเทนไว้ใช้ต่อไป โดยเมื่อกลั่นได้สารละลายปริมาณ ½ ของซอคท์เล็ท เทสารละลายที่กลั่นได้ออก กลั่นต่อจนเหลือไดคลอโรมีเทนในก้นขวดเพียงเล็กน้อย (อย่าให้แห้ง) ปิดเครื่องทำความเย็นและเตาให้ความร้อน

10.นำขวดก้นกลมไปอบที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

11.นำขวดก้นกลมไปใส่ในโถดูดความชื้น ทิ้งไว้ให้เย็น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

การคำนวณ

$$\text{Ether extract (\%)} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_s}\right) \times 100$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

6. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (ash), AOAC (1998) และพันทิพา (2546)

วิธีการ

1. นำถ้วยกระเบื้องเคลือบ (porcelain crucible) เปล่าที่ล้างทำความสะอาดแล้วไปอบที่อุณหภูมิ 100°C หรือเผาที่อุณหภูมิ 600° C ประมาณ 1 ชั่วโมง แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งน้ำหนักถ้วยเปล่า (W_1)

2. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างอาหาร 2 กรัม (W_s) ใส่ในถ้วยกระเบื้องเคลือบ

3. นำไปเผาบนแผ่นให้ความร้อน (hot plate) หรือ ตะเกียงบุนเซน ในตู้ดูดควันจนหมดควัน

4. นำไปเผาต่อในเตาเผา (muffle furnace) ที่อุณหภูมิ 600°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง

5. ปิดไฟ รอให้อุณหภูมิเตาเผาลดลงเหลือประมาณ 200°C จึงนำถ้วยออกมา และทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งน้ำหนัก (W_2)

วิธีคำนวณ

$$\text{Ash (\%)} = \left(\frac{W_2 - W_1}{W_s}\right) \times 100$$

7. การวิเคราะห์หาปริมาณเยื่อใยโดยรวม (Crude fiber) (AOAC, 1998 และพันทิพา 2546)

วิธีการ

1. ชั่งตัวอย่างอาหาร 3 กรัม (Ws) ใส่ในบีกเกอร์ขนาด 600 มล.

2. เติมกรดซัลฟูริก 1.25% ลงไป 200 มล. นำไปย่อยบนเตาที่มีเครื่องควบแน่น โดยต้มให้เดือด 30นาที ระวังอย่าให้ตัวอย่างติดข้างบีกเกอร์

3. นำไปกรองด้วยบูชเนอร์ฟันเนล (buchner funnel) โดยใส่กระดาษกรองซึ่งเคลือบด้วย keselgurแล้ว แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นร้อน 3 ครั้ง จนมั่นในว่ากรดหมด ดูดจนตัวอย่างแห้ง

4. ถ่ายตะกอนทั้งหมดใส่บีกเกอร์ใบเดิม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.25% ลงไป 200 มล. นำไปย่อยอีก 30 นาทีเช่นกัน แล้วทำซ้ำกับข้อ 3

5. ล้างตะกอนอีกครั้งด้วยอะซีโตน จากนั้นถ่ายตะกอนทั้งหมดลงถ้วยกระเบื้อง แล้วนำไปอบที่ 100 °C เป็นเวลา 8 ชั่วโมง

6. นำมาทำให้เย็นในโถอบแห้ง แล้วชั่งน้ำหนัก (W_1)

7. นำไปเผาที่ 600 °C เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งให้เย็นในโถอบแห้ง แล้วนำไปชั่ง (W_2)

การคำนวณ

$$\text{Crude fiber} = \frac{(W1-W2) \times 100}{Ws}$$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

8. การวัดปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ ด้วยวิธี Thiobarbituric acid – reactive substances ; TBARs assay

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลาย Trichloroacetic acid (TCA)

ชั่ง TCA 100 กรัม เติมกรด 0.6 M HCl 10 มล. และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask ขนาด 100 มล.

2. สารละลาย Thiobarbituric acid (TBA)

ชั่ง TBA 17.298 กรัม เติมลงใน 0.26 M 2-amino-2-hydroxy methyl-1,3-propanedial (tris) จำนวน 100 มล. จากนั้นเติมน้ำกลั่น เพื่อปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มล.

3. สารละลาย Normal saline (NSS)

ชั่ง sodium chloride 0.85 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask ขนาด 100 มล.

4. สารละลาย stock MDA มาตรฐาน

เตรียมสารละลายมาตรฐาน tetramethoxy propane (TMP) ให้ได้ความเข้มข้น 10 mM ปิเปตมา 20.8 ไมโครลิตร และหยดกรดไฮโดรคอริกเข้มข้น ลงไป 6-8 หยด ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask ขนาด 10 มล. จากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ความเข้มข้น 100 µM และเตรียมให้ได้ 10, 20, 30, 40 และ 50 µM

การวัดปริมาณกลูตาไธโอน ด้วยวิธี DTNB

การเตรียมสารเคมี

1. สารละลายเพื่อใช้ในการตกตะกอนโปรตีน (Precipitation solution)

ชั่ง metaphosphoric acid 1.67 กรัม , EDTA 0.2 กรัม และ sodium chloride 30 กรัม ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มล. และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

2. สารละลายฟอสเฟต (Phosphate solution)

ชั่ง Na_2PO_4 42.59 กรัม ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มล. และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

3. สารละลาย DTNB

เตรียมสารละลาย 0.1% sodium citrate ปรับปริมาตรใน volumetric flask ขนาด 100 มล. และใส่ DTNB ลงไป 40 มก. ผสมให้เข้ากัน

4. สารละลายกลูตาไธโอนมาตรฐาน (เตรียมใหม่ทุกครั้งก่อนใช้)

เตรียม stock 100 µg/ml โดยชั่ง GSH 0.001 กรัม และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นใน volumetric flask ขนาด 10 มล. จากนั้นเจือจางให้ได้ 3.125, 6.25, 12.5, 25, 50 และ 10 µg/ml

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นางสาววิไลวรรณ แทนธานี

วัน เดือน ปี เกิด 2 มกราคม 2523

ประวัติการศึกษา สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี (วิทยาศาสตรบัณฑิต) มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ (ศูนย์รังสิต) ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร สาขาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์ ปีการศึกษา 2545

ผลงานวิจัยตีพิมพ์

วิไลวรรณ แทนธานี, พันทิพา พงษ์เพียจันทร์, เพทาย พงษ์เพียจันทร์ และ ดำเนิน กาละดี. 2549.การใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวเหนียวก่ำ (*Oryza sativa* L.) เพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันและเพิ่มสมรรถภาพการผลิตในลูกสุกรหลังหย่านม. รายงานการสัมมนาวิชาการบัณฑิตศึกษาเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 4 "บัณฑิตเกษตรก้าวไกลด้วยแนวคิดเศรษฐกิจพอเพียง" วันที่ 25 – 26 ธันวาคม 2549 คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

วิไลวรรณ แทนธานี, พันทิพา พงษ์เพียจันทร์, เพทาย พงษ์เพียจันทร์ และ ดำเนิน กาละดี. 2549.การใช้สารต้านอนุมูลอิสระจากรำข้าวเหนียวก่ำ (*Oryza sativa* L.) เพื่อยับยั้งการเกิดออกซิเดชันและเพิ่มสมรรถภาพการผลิตในลูกสุกรหลังหย่านม. การประชุมเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ (Grad-research) ครั้งที่ 6 . วันที่ 13-14 ตุลาคม 2549. บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วิไลวรรณ แทนธานี ขวัญชัย เดโชสว่าง และ พันทิพา พงษ์เพียจันทร์. 2549. การวัดความดิบของถั่วเหลืองด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์. วิทยาสารกำแพงแสน ปีที่ 4, ฉบับที่ 1, มกราคม - เมษายน 2549, หน้า 8 – 14.

วิไลวรรณ แทนธานี. 2547. ความเป็นไปได้ของการวัดความดิบของถั่วเหลืองด้วยเครื่อง Spectrophotometer. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ผลงานนำเสนอภาคนิทัศน์

Wilaiwan Thaenthanee, Puntipa Pongpiachan, Petai Pongpiachan and Damnern Karladee. 2006. The Use of Antioxidants from Purple Glutinous Rice Bran (*Oryza sativa* L.) for Oxidative Inhibition and Increasing Production Performance in Weaned Pigs. The 18th Annual Meeting of the Thai Society for Biotechnology "Biotechnology: Benefits & Bioethics" November 2-3, 2006. The Montien Riverside Hotel Bangkok, Thailand.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved