

ผลของอายุการเก็บเกี่ยวต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาต่อปริมาณ สารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเพื่อใช้ใน การแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชา

Effect of Harvesting Times of the HomKradung-Nga Cultivar Rice Seedlings on Active Substance Contents and Antioxidant Activity to be Used for Processing into Tea Products

นุรามาเล่ ดีนามอ^{1*}, ซาวาตี ตาเล¹, คอรีเยาะ อูมา¹, นูซีลา อาแว¹,
อภิชัย มาลีกัน² และ ธานี ศิริโสม³
Nuramalee Deenamo^{1*}, Sawatee Taleh¹, Khoreeyoh Auma¹,
Nusila Awae¹, Aphichai Maleekan² and Thanee Sirisom³

Received: 3 January 2024

Revised: 19 August 2024

Accepted: 27 August 2024

บทคัดย่อ

การศึกษานี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณสารสำคัญ ได้แก่ สารฟีนอลิกรวม สารฟลาโวนอยด์และเพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่อายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน ได้แก่ 5 10 15 20 25 และ 30 วันหลังย้ายปลูก จากนั้นนำต้นอ่อนข้าวมาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมงแล้วนำมาบดให้ละเอียดและสกัดสารตัวอย่างแบบแช่เพียงครั้งเดียวในตัวทำละลายต่างกัน 2 ชนิดคือน้ำร้อน (อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส) และเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 80 โดยปริมาตร (อุณหภูมิห้อง) วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำ เมื่อวิเคราะห์

¹สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวราชนครินทร์ นครฉะเชิงเทรา ประเทศไทย 96000

¹Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas University, Narathiwat, Thailand 96000

²สำนักงานสภาเกษตรกรจังหวัดนราธิวาส นราธิวาส ประเทศไทย 96000

²Office of Narathiwat Provincial Farmers Council, Narathiwat, Thailand 96000

³สาขาวิศวกรรมบูรณาการ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีปทุมวัน กรุงเทพฯ ประเทศไทย 10330

³Department of Integrated Engineering, Faculty of Engineering, Pathumwan Institute of Technology, Bangkok, Thailand 10330

*ผู้ติดต่อประสานงาน (Corresponding author) e-mail: nuramalee.d@pnu.ac.th

การทดลองด้วยเทคนิคสเปกโทรโฟโตเมตรี พบว่าอายุการเก็บเกี่ยวของต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาและชนิดของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัดมีผลต่อปริมาณสารสำคัญอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่อายุการเก็บเกี่ยว 10 วันและสกัดด้วยเอทานอล ความเข้มข้น 80% (v/v) มีปริมาณสารฟีนอลิกรวมและฟลาโวนอยด์สูงสุดเท่ากับ 13.82 ± 0.06 mg of GAE/g.dw และ 17.50 ± 0.11 mg of quercetin equivalent/g.dw ตามลำดับ ส่วนความสามารถในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity มีค่า IC_{50} เท่ากับ 226.07 mg/mL ดังนั้นจากผลการวิจัยนี้พบว่าการเลือกต้นอ่อนข้าวที่มีอายุการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมมีผลต่อปริมาณสารฟีนอลิกรวมฟลาโวนอยด์และประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระซึ่งสามารถนำข้อมูลนี้ไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ชาต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาเพื่อสุขภาพต่อไป

คำสำคัญ: ต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงา สารฟีนอลิกรวม ฟลาโวนอยด์ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ABSTRACT

The objectives of this study were to determine the active substance contents including total phenolic, flavonoid, and to analyze the antioxidant activity of HomKradung-Nga rice seedlings at different harvesting times such as 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days after planting. Then, the rice seedlings were dried at 60°C for 24 h, ground to fine powder and extracted the samples with a single immersion in two different solvents: hot distilled water (100 °C) and 80% (v/v) ethanol (room temperature). The experiment was conducted using a completely randomized design (CRD) with three replications. It was analyzed by spectrophotometric technique. The results showed that the harvesting times of HomKradung-Nga rice seedlings and the type of solvent used for extraction had a statistically significant effect on the active substance contents ($p < 0.05$). The seedlings were planted at 10 days and were extracted with 80% (v/v) ethanol had the highest value of total phenolic and flavonoid contents as 13.82 ± 0.06 mg of GAE/g.dw and 17.50 ± 0.11 mg of quercetin equivalent/g.dw, respectively. As for antioxidant capacity assay with 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity method, the IC_{50} value was 226.07 mg/mL. Therefore, in this research, the selecting rice seedlings with the appropriate harvesting period affected on the contents of total phenolic, flavonoid, and antioxidant efficiency. It can be used to further develop HomKradung-Nga rice seedlings tea product for health care.

Keywords: HomKradung-Nga rice seedlings; Total phenolic; Flavonoid; Antioxidant activity

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวตระกูลหญ้าจำพวกธัญพืชที่สามารถกินเมล็ดได้ เป็นอาหารหลักของประชากรโลกโดยเฉพาะอย่างยิ่งกลุ่มประเทศในทวีปเอเชีย เนื่องจากเป็นแหล่งของ

คาร์โบไฮเดรตที่ให้พลังงานและมีคุณค่าทางโภชนาการ ตลอดจนมีความผูกพันกับวิถีชีวิตของคนไทยมา ยาวนานทั้งในแง่การผลิตและบริโภค จนก่อให้เกิดเป็นขนบธรรมเนียมประเพณีและวัฒนธรรมไทยขึ้น [1] และจัดเป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญที่สร้างรายได้หลักเข้าสู่ประเทศ ซึ่งไทยจัดอยู่ในกลุ่มประเทศส่งออกข้าวสูงสุด 5 อันดับแรกของโลก [2] การบริโภคข้าวของคนไทยส่วนใหญ่อยู่ในรูปแบบข้าวหุงสุกและผลิตภัณฑ์แปรรูป ต่างๆ เช่น แป้งสำเร็จรูปสำหรับประกอบอาหาร ขนมอบกรอบและเครื่องดื่ม เป็นต้น นอกจากการบริโภค เมล็ดข้าวแล้วต้นอ่อนข้าวยังสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตชาที่มีกลิ่นหอมและรสชาติที่เป็น เอกลักษณ์เป็นเครื่องดื่มทางเลือกใหม่เชิงสุขภาพจาก รายงานวิจัยชาเขียวต้นอ่อนข้าวหอมพบว่ามีธาตุอาหาร วิตามินและสารสำคัญที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย ได้แก่ แคลเซียม โซเดียม โพแทสเซียม แมกนีเซียม วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินซี วิตามินอี คลอโรฟิลล์และเบต้ากลูแคน [3] ซึ่งคลอโรฟิลล์มีคุณสมบัติช่วยปลดปล่อย ธาตุที่มีประโยชน์ต่อขบวนการเมตาบอลิซึมในร่างกาย ช่วยกระตุ้นการเจริญและซ่อมแซมเนื้อเยื่อและช่วย สร้างเม็ดเลือดแดง ส่วนเบต้ากลูแคนมีคุณสมบัติช่วยลดโคเลสเตอรอล ช่วยปรับระดับน้ำตาลในเลือดและลด ความดันโลหิต [4] นอกจากนี้ยังพบกลุ่มสารที่มีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระหลายชนิด ได้แก่ กรดฟีนอลิก (phenolic acids), ฟลาโวนอยด์ (flavonoids), แอนโทไซยานิน (anthocyanins), โปรแอนโทไซยานิน (proanthocyanidins), โทโคเฟอรอล (tocopherols), โทโคไตรอีนอล (tocotrienols), แกมมา-ออไรซานอล (γ -oryzanol) และกรดไฟติก (phytic acid) [5] อีกด้วย ส่วนของพืชโดยเฉพาะใบอ่อนหรือส่วนเหนือ ดิน (shoot) เช่น ยอดใบชา [6] ยอดใบข้าวบาร์เลย์ [7] และยอดใบอ่อนข้าว [8] มีการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ แบบผงพร้อมดื่มเพื่อสุขภาพให้สารอาหารและกำจัดสารพิษในตับ ตลอดจนช่วยเสริมสร้างความแข็งแรงใน ระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ได้ส่งผลให้ในปัจจุบันเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจึงได้รับความนิยมและเป็นที่สนใจจาก ผู้บริโภคเป็นอย่างมาก [9]

ข้าวหอมกระดังงา (HomKradung-Nga Rice) เป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดนราธิวาสมีพื้นที่ปลูก ส่วนใหญ่ในอำเภอตากใบ ได้รับขึ้นทะเบียนสิ่งบ่งชี้ทางภูมิศาสตร์หรือเป็นสินค้า Thai Geographical Indications (GI) 1 ใน 3 ของจังหวัดนราธิวาส คุณลักษณะเด่นเฉพาะของข้าวพันธุ์นี้คือจำนวนต้นตอกอมี น้อย ลำต้นทรงตั้ง มีสีม่วง เมล็ดข้าวมีสีน้ำตาลเข้ม รูปร่างยาวรี สามารถผลิตเป็นข้าวกล้องที่มีสีแดง เมื่อหุง สุกแล้วข้าวจะมีความนุ่มมีกลิ่นหอมคล้ายดอกกระดังงา มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและมีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ โปรตีน ไขมัน ธาตุเหล็ก สังกะสี แคลเซียม วิตามินบี 1 วิตามินอี สารกาบา (GABA) สารแอนโทไซยา- นิน (anthocyanin) และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง [10] จึงถือได้ว่าเป็นข้าวสายพันธุ์หนึ่งของภาคใต้ที่ได้รับความ นิยมในกลุ่มผู้บริโภค ส่วนใหญ่รายงานวิจัยก่อนหน้านี้มักจะใช้เมล็ดข้าวเพื่อประโยชน์สำหรับงานวิจัย ด้านต่างๆ เช่น สรีระเทคโนโลยีเมล็ดพันธุ์ การเจริญเติบโตทางสรีระวิทยาของข้าว รวมถึงการแปรรูปเมล็ด ข้าวเป็นผลิตภัณฑ์หลากหลายชนิด อย่างไรก็ตามการใช้ประโยชน์ต้นอ่อนข้าวในระยะกล้ายังมีการศึกษาน้อย มาก ดังนั้นในการวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาสารสำคัญและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงา ที่อายุการเก็บเกี่ยวต่างกันเพื่อใช้เป็นข้อมูลในการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ชาเชิงสุขภาพ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเจริญเติบโตของต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาและการสกัดสารจากต้นอ่อน

นำเมล็ดข้าวพันธุ์หอมกระดังงามาล้างน้ำทำความสะอาดและแช่เมล็ดข้าวด้วยน้ำ reverse osmosis (RO) เป็นเวลา 2 วัน แล้วห่อเมล็ดข้าวด้วยผ้าชุมน้ำเพื่อรักษาความชื้นและวางไว้ในที่มืดเป็นเวลา 2 วันหรือ จนกว่ารากงอก เมื่อเมล็ดข้าวงอกรากแรกเกิด (radicle emerge) แล้วทำการย้ายปลูกโดยใช้ดินปลูกสำเร็จ

และดินมูลไส้เดือนเป็นวัสดุปลูกในอัตราส่วน 2:1 ผสมคลุกเคล้าให้เข้ากันลงในกระถางพลาสติกสีขาวมีรูระบายน้ำได้ขนาด 80 x 21 x 17 เซนติเมตร วางไว้ในพื้นที่ที่มีแสงธรรมชาติส่องถึงและคลุมด้วยมุ้งพลาสติกป้องกันแมลงศัตรูพืช สถานที่ปลูกพืช ณ บริเวณแปลงปลูกพืช สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวราชนครินทร์ ระยะเวลาการทดลองตั้งแต่เดือนมกราคมจนถึงเดือนตุลาคม พ.ศ. 2566 โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (completely randomized design, CRD) จำนวน 3 ซ้ำ ประกอบด้วย 6 สิ่งการทดลอง (treatments) คือ เพาะต้นอ่อนให้เจริญเติบโตและเก็บเกี่ยวเมื่อถึงกำหนดอายุต่างๆกัน ได้แก่ 5 10 15 20 25 และ 30 วัน หลังย้ายปลูกโดยในระหว่างปลูกให้น้ำวันละ 2 ครั้งปริมาณเท่าๆกัน จากนั้นแบ่งต้นอ่อนข้าวที่ได้เป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 และ 2 นำไปสกัดด้วยตัวทำละลาย 2 ชนิดคือน้ำและเอทานอลความเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (%v/v) ตามลำดับ นำต้นอ่อนทั้งสองส่วนมาล้างด้วยน้ำสะอาดผึ่งให้แห้งตัดเป็นชิ้นเล็กมีความยาวไม่เกิน 0.5 เซนติเมตร อบโดยตู้อบลมร้อน (hot air oven) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง พักให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วนำไปบดด้วยเครื่องบดละเอียดยี่ห้อ Siam wealth food รุ่น WF-10 (ผลิตโดยประเทศไทย) จากนั้นทำการร่อนด้วยตะแกรงขนาด 80 เมช เก็บผงชาต้นอ่อนข้าวในถุงพลาสติกซิปล็อคให้มิดชิดห่อด้วยอะลูมิเนียมฟอยด์ให้พ้นแสงและเก็บไว้ในโถดูดความชื้น (desicator)

การเตรียมสารสกัดต้นอ่อนข้าวทำได้โดยชั่งและบรรจุผงชาต้นอ่อนข้าวในซองชาตัวอย่างละ 1 กรัมตามขั้นตอนต่างๆ ดังภาพที่ 1 (1) - (6) แช่ในตัวทำละลาย 2 ชนิด ได้แก่ น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสและเอทานอลความเข้มข้น 80% (v/v) ปริมาตร 50 มิลลิลิตรเป็นเวลา 10 นาทีแล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 ซึ่งจะเตรียมสารสกัดต้นอ่อนข้าวนี้จำนวน 3 ซ้ำ และใช้เป็นสารสกัดตัวอย่างเพื่อใช้ในการวิเคราะห์สารสำคัญต่างๆ ในขั้นตอนต่อไป



Figure 1 Preparation steps of HomKradung-Nga rice seedlings powder: (1) rice seedlings, (2) leaf rice seedlings, (3) pieces of rice seedling leaf (4) before drying (5) after drying, and (6) rice seedling powder in tea bag.

2.การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

นำสารสกัดต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่อายุการเก็บเกี่ยวต่าง ๆ มาวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยดัดแปลงตามวิธีของ Torres และคณะ [11] ปิเปตสารสกัดนี้ปริมาตร 50 ไมโครลิตร เติมสารละลายฟอลิน (folin-ciocalteu phenol reagent) ซึ่งเจือจางด้วยอัตราส่วนเท่ากับ 1 : 2 ปริมาตร 200 ไมโครลิตร เขย่าเบาๆ และบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที แล้วเติมสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 20% (w/v) ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 10 นาทีเพื่อให้เกิดสี หลังจากนั้นนำไปป่น

เหรียญที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที นำสารละลายใส่ที่ได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-vis-spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เทียบหาปริมาณสารฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) ปริมาณสารฟีนอลิกรวมที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักแห้งของผงต้นอ่อนข้าว (mg of gallic acid equivalent/g.d.w)

3.การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวม

การวิเคราะห์ปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดต้นอ่อนข้าวที่อายุการเก็บเกี่ยวต่างๆ ด้วยวิธี aluminium chloride colorimetry ซึ่งดัดแปลงจากวิธีการของ Zhishen และคณะ [12] นำสารสกัดตัวอย่าง 500 ไมโครลิตรผสมกับสารละลายอะลูมิเนียมคลอไรด์ความเข้มข้น 2.5% (w/v) ปริมาตร 500 ไมโครลิตรและสารละลายโซเดียมอะซิเตทความเข้มข้น 10% (w/v) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที จากนั้นไปหมุนเหรียญที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 5 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เทียบหาปริมาณฟลาโวนอยด์จากกราฟมาตรฐานของสารละลายเคอควิติน (quercetin) ปริมาณฟลาโวนอยด์ที่ได้แสดงในหน่วยมิลลิกรัมของเคอควิตินต่อน้ำหนักแห้งของผงต้นอ่อนข้าว (mg of quercetin equivalent/g.d.w)

4.การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH โดยดัดแปลงจากวิธีของ Singh และคณะ [13] นำสารสกัด 0 10 20 30 40 และ 50 ไมโครลิตรเติมเอทานอล 100 90 80 60 และ 50 ไมโครลิตรผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 mM ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร ตั้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 20 นาทีและนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร เปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงที่ได้กับกราฟมาตรฐานของสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง %scavenging activity กับความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างตามสมการ (1) ดังนี้

$$\%scavenging\ activity = \frac{(A_0 - A_s)}{A_0} \times 100 \quad (1)$$

โดยที่ A_0 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม (ใช้เอทานอลแทนสารตัวอย่าง)

A_s คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ทำปฏิกิริยากับสารละลายDPPH

จากนั้นนำมาหาค่า inhibitory concentration ที่ 50% (IC_{50}) จากการสร้างกราฟมาตรฐานระหว่าง %scavenging activity ที่ระดับความเข้มข้นต่างๆของสารสกัดเมื่อค่า IC_{50} คือความเข้มข้นของสารสกัดที่ทำให้ค่า %scavenging activity ลดลงร้อยละ 50 ซึ่งคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานระหว่าง %scavenging activity และความเข้มข้นของสารสกัด

5.การวิเคราะห์ทางสถิติ

ประมวลผลข้อมูลทั้งหมดด้วยโปรแกรม SPSS โดยวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยวิธี One-way ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยตามวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ผลการวิจัยและการอภิปรายผล

1. ผลการเจริญเติบโตทางสรีระวิทยาของต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงา

ผลการศึกษาการเจริญเติบโตของต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่อายุการเก็บเกี่ยว 5 10 15 20 25 และ 30 วัน โดยการวัดความสูงของต้นอ่อนจากเมล็ดหรือโคนต้นจนถึงปลายใบการนับจำนวนใบและลักษณะสีของใบอ่อนพบว่าต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาอายุ 5 วันหลังย้ายปลูกให้มีความสูงเฉลี่ย 10.30 เซนติเมตร เมื่อต้นอ่อนอายุ 10 -25 วันหลังย้ายปลูก ต้นอ่อนให้มีความสูงเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องมีความสูงเฉลี่ย 21.80-26.80 เซนติเมตร และเมื่อต้นอ่อนข้าวมีอายุ 30 วันหลังย้ายปลูกให้มีความสูงเพิ่มขึ้นอย่างชัดเจนเฉลี่ย 36.60 เซนติเมตร สอดคล้องกับจำนวนการแตกของใบอ่อนพบว่าเมื่อต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาอายุ 5-15 วันหลังปลูกใบอ่อนจะแตกจาก 1 ใบ พัฒนาแตกใบเพิ่มเป็นใบที่ 2 และ 3 ตามลำดับ แต่เมื่อต้นอ่อนอายุ 20-30 วันหลังย้ายปลูกต้นกล้าจะแตกใบเพิ่มเป็น 4 ใบ ส่วนสีของใบในต้นอ่อนอายุ 5-10 วันหลังย้ายปลูก การเจริญเติบโตในระยะเยาว์วัยของพืชจะมีสีเขียวและมีแนวโน้มเป็นสีเขียวอมเหลืองเพิ่มขึ้นเมื่อต้นอ่อนข้าวมีอายุเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญปริมาณรงควัตถุ (pigment) สารสีเขียวยจะลดลงเมื่อต้นอ่อนอายุ 15-30 วัน เนื่องจากใบข้าวเสื่อมสภาพ ส่งผลทำให้ปริมาณคลอโรพลาสต์ลดลงและใบพืชไม่สามารถสังเคราะห์ด้วยแสงได้ เพราะไม่มีสารคลอโรฟิลล์ที่ใช้ในกระบวนการสังเคราะห์ด้วยแสงจึงทำให้สีเขียวของใบพืชลดลง [14] ดังข้อมูลในตารางที่ 1 และภาพที่ 2 (1)-(6)

Table 1 The shoot growth (above-ground part) of HomKradung-Nga rice seedlings

Harvesting times after planting (days)	Plant growth and development		
	Height (cm)	Leaf number/plant	Leaf color appearance
5	10.30 ± 0.45 ^f	1	green
10	21.80 ± 0.84 ^e	2	green
15	24.60 ± 0.89 ^d	3	slightly yellowish green
20	25.60 ± 0.55 ^c	4	green yellowish
25	26.80 ± 0.45 ^b	4	green yellowish
30	36.60 ± 0.55 ^a	4	green-yellow and the leaf edges begin to turn brown

Values are represented mean ± standard errors (SE) of three independent replicates of 10 seedlings. Different superscript letters (a to f) are represented significantly different, according to Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at $p < 0.05$.

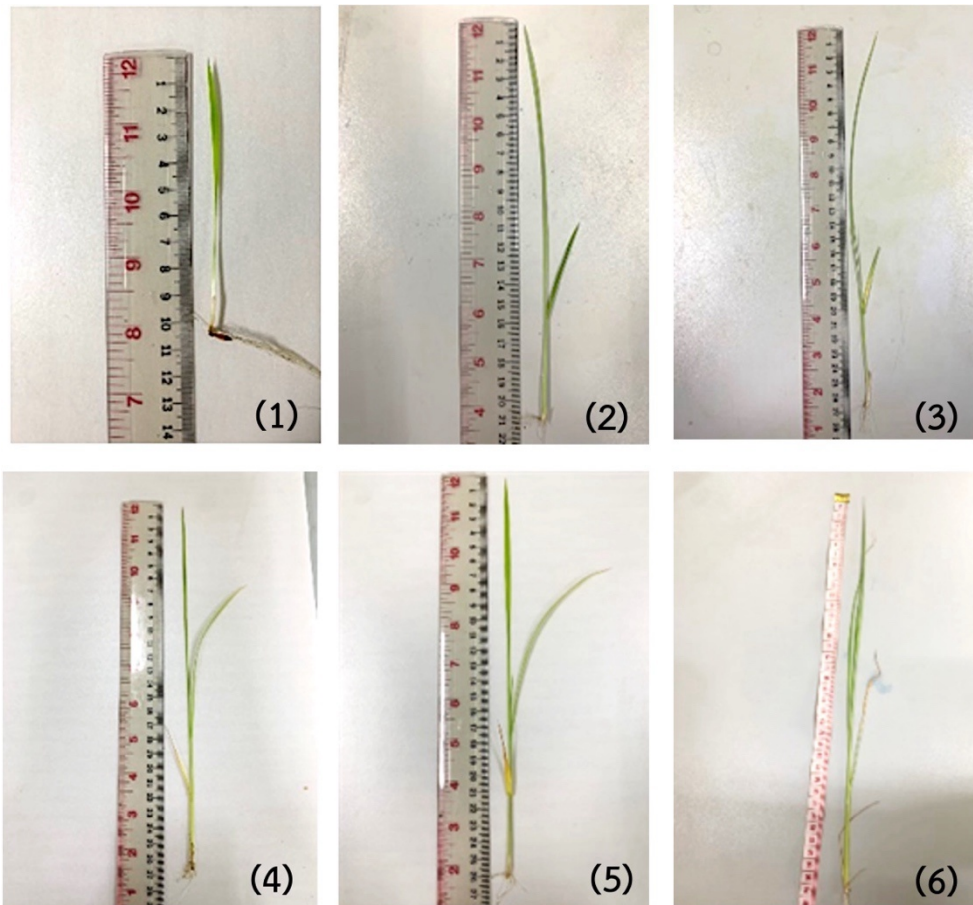


Figure 2 Growth of HomKradung-Nga rice seedlings at different harvesting times such as 5 (1), 10 (2), 15 (3), 20 (4), 25 (5) and 30 (6) days after planting.

2.ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญจากสารสกัดต้นอ่อนข้าวหอมกระดังงา

2.1 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม

นำผงต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่มีอายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน ได้แก่ 5 10 15 20 25 และ 30 วัน หลังย้ายปลูกตัวอย่างละ 1 กรัมมาแช่ในตัวทำละลาย 2 ชนิด คือ น้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสและ 80% เอทานอลปริมาตร 50 mL เป็นเวลา 10 นาที ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวมด้วยวิธีโฟลีน-ซีโอแอลพบว่า สารสกัดจากต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่อายุต่างกันให้ปริมาณสารฟีนอลิกที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยที่สารสกัดของต้นอ่อนข้าวอายุ 10 วันหลังย้ายปลูกให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมสูงที่สุดซึ่งสารสกัดจากตัวทำละลายน้ำกลั่นและ 80% เอทานอลมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 11.55 และ 13.82 mg of GAE/g.dw ตามลำดับ รองลงมาคือสารสกัดจากต้นอ่อนข้าวที่อายุ 5 วันหลังย้ายปลูกและมีปริมาณลดลงจนน้อยที่สุดในต้นอ่อนข้าวที่มีอายุ 15-30 วันหลังย้ายปลูก ซึ่งสารสกัดจากตัวทำ

ละลายน้ำกลั่นและ 80% เอทานอลมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมเท่ากับ 4.97 และ 6.82 mg of GAE/g.dw ตามลำดับดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 2 และกราฟในภาพที่ 3 ทั้งนี้จากรายงานวิจัยในต้นอ่อนข้าว 3 สายพันธุ์ คือพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 พันธุ์ไรซ์เบอร์รี่และพันธุ์สินเหล็กพบว่า ข้าวไรซ์เบอร์รี่มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงกว่า พันธุ์สินเหล็กและพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ตามลำดับ ในทุกช่วงอายุโดยที่อายุ 21 วันพบปริมาณฟีนอลิกรวม สูงที่สุดซึ่งไม่สัมพันธ์กับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่มีแนวโน้มลดลงเมื่อต้นอ่อนข้าวมีอายุ เพิ่มขึ้น [15] นอกจากสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชันแล้วยังมีบทบาทสำคัญต่อพืชทั้ง ในกระบวนการเจริญเติบโตและพัฒนาของพืชและช่วยปกป้องพืชจากผลกระทบจากสภาวะแวดล้อมภายใน และภายนอกอีกด้วย [16] สารประกอบฟีนอลิกเป็นกลุ่มสารทุติยภูมิที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (secondary metabolite) ซึ่งในพืชสังเคราะห์ผ่านทางปฏิกิริยาในวิถีชิกิเมต (shikimic acid pathway) และวิถีมาโลเนต (malonic acid pathway) [17] จากรายงานในต้นกล้าข้าวโพดพบว่าช่วงใบอ่อนจะสังเคราะห์สารประกอบ พอลิฟีนอลที่สามารถละลายน้ำได้ แต่เมื่อเข้าสู่การเจริญเติบโตมากขึ้นพืชจะตรึงสารประกอบพอลิฟีนอล ดังกล่าวไปเป็นสารตั้งต้นในการสร้างเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ [18]

Table 2 Total phenolic content of HomKradung-Nga rice seedlings at different harvesting times and extracted by soaking in 2 types of solvents: distilled water and 80% ethanol

Harvesting times after planting (days)	Average total phenolic content (mg of GAE/g.dw)	
	Hot distilled water extraction	80% Ethanol extraction
5	9.91 ± 0.07 ^{ab}	12.78 ± 0.09 ^{ab}
10	11.55 ± 0.17 ^a	13.82 ± 0.06 ^a
15	9.40 ± 0.36 ^{ab}	11.43 ± 0.02 ^{ab}
20	8.25 ± 0.01 ^{ab}	10.21 ± 0.23 ^{ab}
25	7.31 ± 0.05 ^{ab}	8.54 ± 0.04 ^{ab}
30	4.97 ± 0.02 ^b	6.82 ± 0.09 ^b

All data of total phenolic content are represented the mean ± standard errors (SE) of three replicates. Different superscript letters (a,ab and b) are represented significantly different, according to Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at $p < 0.05$.

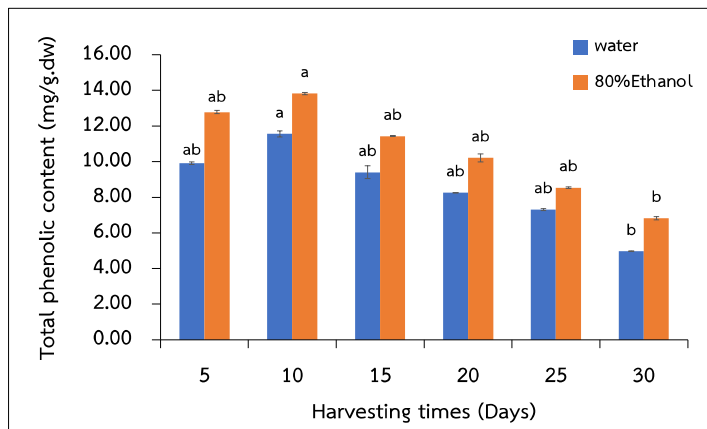


Figure 3 Total phenolic content of HomKradung-Nga rice seedlings at different harvesting times such as 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days and extracted by soaking in 2 types of solvents: distilled water and 80% ethanol. The columns and vertical bars are represented the mean $\pm$ standard errors (SE) of three replicates. Different superscript letters (a, ab and b) are represented significantly different, according to Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at $p < 0.05$.

2.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์

ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมด้วยวิธี aluminium chloride colorimetry ของต้นอ่อนข้าวหอมกระดังงาที่อายุต่าง ๆ กัน ได้แก่ 5 10 15 20 25 และ 30 วัน เมื่อสกัดผงต้นอ่อนข้าว 1 กรัมด้วยตัวทำละลายต่างกัน 2 ชนิดคือแช่ในน้ำร้อนอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสและ 80% เอทานอลปริมาตร 50 mL เป็นเวลา 10 นาที พบว่าต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่อายุการเก็บเกี่ยวต่างกันมีปริมาณฟลาโวนอยด์ที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) พบว่าที่อายุการเก็บเกี่ยว 10 วันหลังย้ายปลูกมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงที่สุดซึ่งสารสกัดที่ได้จากการใช้ตัวทำละลายน้ำกลั่นและ 80% เอทานอลเท่ากับ 14.58 และ 17.50 mg of quercetin equivalent/g.dw ดังแสดงข้อมูลในตารางที่ 3 และภาพที่ 4 รองลงมาที่อายุการเก็บเกี่ยว 5 วันหลังย้ายปลูกเท่ากับ 12.00 และ 13.04 mg of quercetin equivalent/g.dw ตามลำดับ และปริมาณฟลาโวนอยด์จะลดลงสัมพันธ์กับอายุการเก็บเกี่ยวที่มากขึ้นตั้งแต่ที่อายุการเก็บเกี่ยว 15-30 วัน หลังย้ายปลูก ฟลาโวนอยด์เป็นสารประกอบฟีนอลิกที่พบมากในพืชแบ่งได้เป็น 2 กลุ่มคือแอนโทแซนทีนส์ (anthoxanthins) เป็นกลุ่มสารไม่มีสีและแอนโทไซยานินส์ (anthocyanins) ซึ่งอยู่ในรูปของอนุพันธ์ต่างๆ มีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) พบมากในสีของดอกไม้ผักและผลไม้ เช่น สารที่ให้สีแดง น้ำเงินและม่วง พบสะสมอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดของข้าว [19] และใบข้าว [20] ข้าวที่มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงจะมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงด้วย ซึ่งสามารถพบฟลาโวนอยด์ในเมล็ดและในเอนโดสเปิร์ม [21] จึงพบในปริมาณสูงในระยะกล้าที่อายุ 10 วัน หลังย้ายปลูกและเมื่อต้นกล้าข้าวเจริญเติบโตจะใช้ฟลาโวนอยด์ในการสร้างเนื้อเยื่อในการแบ่งเซลล์ในการเจริญเติบโตของพืช

Table 3 Flavanoid content of HomKradung-Nga rice seedlings at different harvesting times and extracted by soaking in 2 types of solvents: distilled water and 80% ethanol

Harvesting times after planting (days)	Average flavonoid content (mg of quercetin/g.dw)	
	Hot distilled water extraction	80% Ethanol extraction
5	12.00 ± 0.19 ^{ab}	13.04 ± 0.22 ^{ab}
10	14.58 ± 0.09 ^a	17.50 ± 0.11 ^a
15	11.27 ± 0.10 ^{abc}	12.47 ± 0.04 ^{abc}
20	10.89 ± 0.02 ^{abc}	11.18 ± 0.06 ^{abc}
25	5.73 ± 0.05 ^{abc}	6.92 ± 0.03 ^{abc}
30	5.66 ± 0.03 ^c	5.89 ± 0.03 ^c

All data of flavonoid content are represented the mean ± standard errors (SE) of three replicates. Different superscript letters (a to c) are represented significantly different, according to Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at $p < 0.05$.

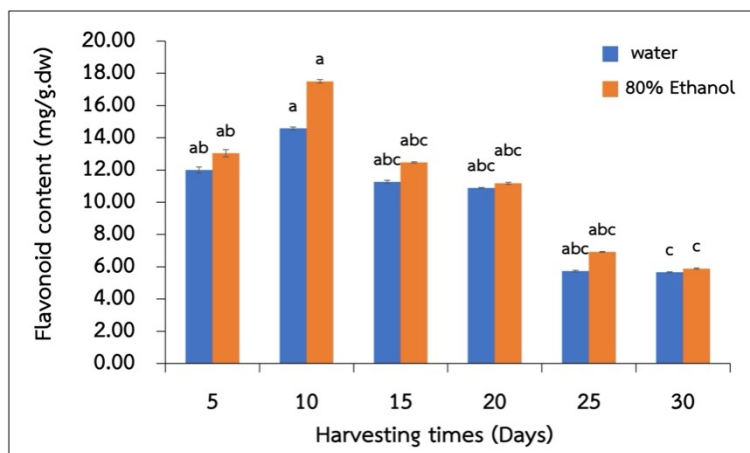


Figure 4 Flavonoid content of HomKradung-Nga rice seedlings at different harvesting times such as 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days and extracted by soaking in 2 types of solvents: distilled water and 80% ethanol. The columns and vertical bars are represented the mean ± standard errors (SE) of three replicates. Different superscript letters (a to c) are represented significantly different, according to Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at $p < 0.05$.

2.3 ผลของการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่มีอายุการเก็บเกี่ยวต่างกัน

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH ในสารสกัดจากต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่มีอายุเก็บเกี่ยวต่างกัน ได้แก่ 5 10 15 20 25 และ 30 วันหลังย้ายปลูกแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) พบว่าต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่มีอายุการเก็บเกี่ยว 10 วันหลังย้ายปลูกให้ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ซึ่งสารสกัดที่ได้จากการใช้ตัวทำละลายน้ำและสกัดด้วย 80% เอทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH เท่ากับ 30.60% และ 29.99% ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และภาพที่ 5) ส่วนผลวิเคราะห์ค่าความเข้มข้นของสารละลายตัวอย่างที่สามารถยับยั้งสารต้านอนุมูลอิสระที่ร้อยละ 50 (IC_{50}) เมื่อใช้ตัวทำละลายน้ำและสกัดด้วย 80% เอทานอลค่า IC_{50} เท่ากับ 269.69 mg/ml และ 226.07 mg/ml ตามลำดับ (ตารางที่ 4 และภาพที่ 6) สอดคล้องกับการศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของชาเขียวจากต้นอ่อนข้าว 3 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ข้าวเหนียวγάใหญ่และข้าวหอมนิลที่เก็บเกี่ยวเมื่ออายุต้นอ่อน 10 วัน และสกัดด้วย 80% เอทานอล พบว่าในใบสดของต้นอ่อนข้าวมีปริมาณการยับยั้งอนุมูลอิสระ DPPH สูงกว่าใบที่ผ่านการอบแห้ง [22] เช่นเดียวกับต้นอ่อนข้าวที่มีช่วงอายุ 5-20 เมื่อได้รับสภาวะเครียดจากตะกั่ว (Pb) พบว่าเซลล์จะกระตุ้นให้มีการสร้างสารและเอนไซม์ในระบบต้านออกซิเดชันเพื่อใช้ต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันและทำลายอนุมูลอิสระพวกออกซิเจนที่ว่องไวต่อปฏิกิริยา (reactive oxygen species; ROS) ที่เกิดขึ้น ซึ่งถือเป็นกลไกการป้องกันตนเองของต้นอ่อนข้าวต่อสภาวะที่เป็นอันตรายจากตะกั่วนั่นเอง [23] ส่วนต้นอ่อนข้าวสาเลีในระยะแตกใบอ่อน (jointing stage) พบการผลิตสารต้านออกซิเดชันในปริมาณสูงกว่าระยะการเจริญเติบโตอื่นๆผ่านทางการทำงานของเอนไซม์ในระบบต้านออกซิเดชันเช่น catalase superoxide dismutase [24]

Table 4 Antioxidant activity by using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging activity and IC_{50} values

Harvesting times after planting (days)	DPPH free radical scavenging activity (%Inhibition)		IC_{50} (mg/mL)	
	Hot distilled water extraction	80% ethanol extraction	Hot distilled water extraction	80% ethanol extraction
5	30.40 ± 0.05 ^a	21.69 ± 1.21 ^c	270.92 ± 0.73 ^d	277.18 ± 1.53 ^d
10	30.60 ± 0.09 ^a	29.99 ± 0.71 ^a	269.69 ± 0.90 ^d	226.07 ± 3.58 ^e
15	21.63 ± 0.65 ^b	21.80 ± 0.20 ^c	271.12 ± 0.67 ^d	270.12 ± 1.49 ^d
20	19.23 ± 0.38 ^c	21.51 ± 0.28 ^c	347.83 ± 4.92 ^c	328.00 ± 4.32 ^c
25	16.79 ± 0.42 ^d	17.61 ± 2.13 ^d	490.44 ± 6.94 ^b	493.75 ± 4.66 ^b
30	14.60 ± 0.84 ^e	14.22 ± 0.50 ^e	513.89 ± 8.43 ^a	503.33 ± 10.49 ^a

All data of antioxidant activity and IC_{50} values are represented the mean ± standard errors (SE) of three replicates. Different superscript letters (a to e) are represented significantly different, according to Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at $p < 0.05$.

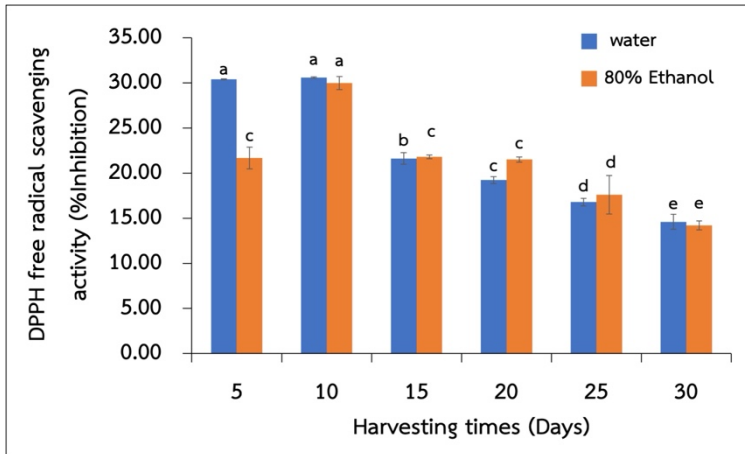


Figure 5 Antioxidant activity of HomKradung-Nga rice seedlings at different harvesting times such as 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days and extracted by soaking in 2 types of solvents: distilled water and 80% ethanol. The columns and vertical bars are represented the mean $\pm$ standard errors (SE) of three replicates. Different superscript letters (a to e) are represented significantly different, according to Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at $p < 0.05$.

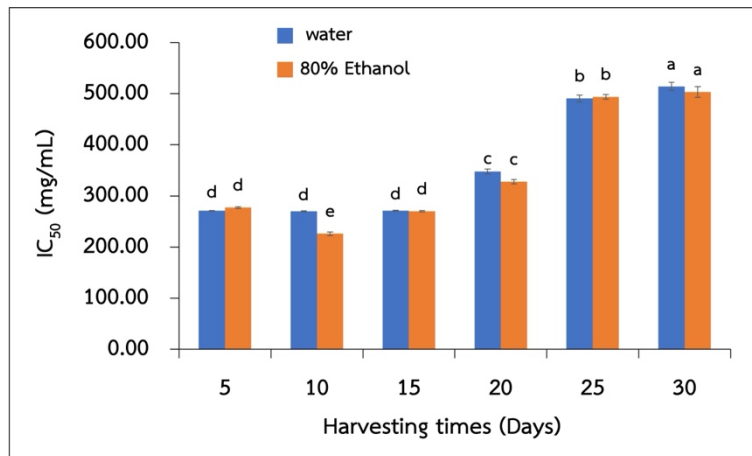


Figure 6 The IC_{50} values of ofHomKradung-Nga rice seedlings at different harvesting times such as 5, 10, 15, 20, 25 and 30 days and extracted by soaking in 2 types of solvents: distilled water and 80% ethanol. The columns and vertical bars are represented the mean $\pm$ standard errors (SE) of three replicates. Different superscript letters (a to e) are represented significantly different, according to Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) at $p < 0.05$.

สรุปผลการวิจัย

จากการศึกษาผลการเก็บเกี่ยวต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงา 6 ระยะ ได้แก่ 5 10 15 20 25 และ 30 วันหลังย้ายปลูก พบว่าที่อายุการเก็บเกี่ยววัน 10 หลังย้ายปลูกที่สกัดด้วย) %80v/v) เอทานอลมีปริมาณสารฟีนอลิกรวมฟลาโวนอยด์และสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด จากผลการวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการเลือกต้นอ่อนข้าวพันธุ์หอมกระดังงาที่มีอายุการเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมมีผลส่งเสริมต่อการเพิ่มปริมาณสารฟีนอลิกฟลาโวนอยด์และสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งสามารถนำข้อมูลนี้ไปใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นชาต้นอ่อนข้าวหอมกระดังงาเพื่อสุขภาพต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ที่สนับสนุนวัสดุอุปกรณ์และให้ความอนุเคราะห์สถานที่สำหรับการวิจัยในครั้งนี้

References

- [1] Crystal, E., & Whittlesey, P. (2004). The Role of Rice in Southeast Asia. *Education About Asia*, 9(3), 50-55.
- [2] USDA. (2024). *Grain: World Markets and Trade*. Available from <https://apps.fas.usda.gov/>

- hr/>
- psdonline/circulars/grain.pdf. Accessed date: 20 January 2024.
- [3] Sudtasarn, G., et al. (2008). Research and development of green tea from fragrant rice seedlings. In *Rice and Temperate Cereal Crops Annual Conference 2008* (p.398-406). 8 – 10 April, 2008, Chonburi, Thailand. (in Thai)
- [4] Shori, A. B. (2015). Screening of antidiabetic and antioxidant activities of medicinal plants. *Journal of Integrative Medicine*, 13(5), 297-305.
- [5] Goufo, P., & Trindade, H. (2014). Rice antioxidants: phenolic acids, flavonoids, anthocyanins, proanthocyanidins, tocopherols, tocotrienols, γ -oryzanol, and phytic acid. *Food science and nutrition*, 2(2), 75-104.
- [6] Sang, S., et al. (2011). The chemistry and biotransformation of tea constituents. *Pharmacological Research*, 64(2), 87-99.
- [7] Zeng, Y., et al. (2018). Preventive and therapeutic role of functional ingredients of barley grass for chronic diseases in human beings. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2018, 232080.
- [8] Du, S., et al. (2021). Differential antioxidant compounds and activities in seedlings of two rice cultivars under chilling treatments. *Frontiers in Plant Science*, 12, 631421.
- [9] Intellectual Property Office of Prince of Songkla University. (2017). *Production process of rice sprout powder supplemented with selenium minerals*. Available from <https://piti-ipop.psu.ac.th/portfolio/Detail.aspx?id=384>. Accessed date 11 August 2024. (in Thai)
- [10] Kaewnango, E., et al. (2014). Hawm Gra Dang Ngah, local rice promising lines in Narathiwat province. In *Rice and Temperate Cereal Crops Annual Conference 2014* (p.105-117). 21 – 23 May, 2014, Rayong, Thailand. (in Thai)
- [11] Torres, A. M., et al. (1987). Total phenolics and high performance liquid chromatography of phenolic acids of avocado. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 35, 921-925.
- [12] Zhishen J., et al. (1999). The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemistry*, 64(4), 555–559.
- [13] Singh, R.P., et al. (2002). Studies on the antioxidant activity of pomegranate (*Punica granatum*) peel and seed extracts using in vitro models. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(1), 81-86.
- [14] Siriphanich, J. (2006). *Postharvest biology and plant senescence*. Bangkok: Faculty of Agriculture, Kasetsart University. (in Thai)
- [15] Thongchuang, M., et al. (2022). Influence of harvesting period of three rice seedlings on DPPH radical scavenging activity. *PKRU SciTech Journal*, 6(1), 34-46. (in Thai)
- [16] Cevallos-Casals, B. A., & Cisneros-Zevallos, L. (2010). Impact of germination on phenolic content and antioxidant activity of 13 edible seed species. *Food Chemistry*, 119(4), 1485-1490.
- [17] Patra, B., et al. (2013). Transcriptional regulation of secondary metabolite biosynthesis

Research Article

Journal of Advanced Development in Engineering and Science

Vol. 14 • No. 41 • September – December 2024

- in plants. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1829(11), 1236-1247.
- [18] Randhir, R., et al. (2008). Effect of thermal processing on phenolics, antioxidant activity and health-relevant functionality of select grain sprouts and seedlings. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 9(3), 355-364.
- [19] Lucoli, S. (2012). Anthocyanins: mechanism of action and therapeutic efficacy. In Capasso, A. (Ed.) *Medicinal plants as antioxidant agents: Understanding their mechanism of action and therapeutic efficacy* (p. 27-57). Kerala: Research Signpost.
- [20] Yang, Z., et al. (2016). Metabolome analysis of *Oryza sativa* (rice) using liquid chromatography-mass spectrometry for characterizing organ specificity of flavonoids with anti-inflammatory and anti-oxidant activity. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 64(7), 952-956.
- [21] Besson, E., et al. (1985). C-glycosylflavones from *Oryza sativa*. *Phytochemistry*, 24(5), 1061-1064.
- [22] Somporn, C., et al. (2018). The study of antioxidant capacity of green tea from rice seedlings. *Rajabhat Agriculture Journal*. 17(1), 27-33. (in Thai)
- [23] Verma, S., & Dubey, R. S. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. *Plant Science*, 164(4), 645-655.
- [24] Calzuola, I., et al. (2004). Synthesis of antioxidants in wheat sprouts. *Journal of agricultural and food chemistry*, 52(16), 5201-5206.