

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในหลอดทดลองของเมล็ดงาขาว ดำ และแดง

มนตรา ศรีษะแย้ม¹, นาถิดา วีระปรียากร², พนมพร ศรีบัวรินทร์³

Received: 24 February 2014

Accepted: 19 July 2014

บทคัดย่อ

บทนำ: ในการศึกษาฤทธิ์ชีวภาพจากงาส่วนใหญ่มักจะศึกษาในส่วนของน้ำมันงาหรือเมล็ดงาทั้งเมล็ด แต่ไม่พบการศึกษาในส่วนของกากงา ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาผลกระทบการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันงาและสารสกัดจากกากงาด้วยเมทานอลและเฮกเซน ในงาดำ งาขาว และ งาแดง และตรวจสอบผลของการอบต่อฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน **วิธีดำเนินการวิจัย:** นำน้ำมันงาและสารสกัดหยาบจากกากงาทั้ง 3 สายพันธุ์จากเมทานอลและเฮกเซนมาศึกษาผลกระทบการจับอนุมูลอิสระ ความสามารถในการรีดิวซ์ และการยับยั้งการเกิดลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน โดยวิธี DPPH, FRAP และ TBARS assay ตามลำดับ **ผลการวิจัย:** สารสกัดเมทานอลจากกากงาทุกสายพันธุ์มีฤทธิ์จับอนุมูลอิสระ โดยสารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวมีฤทธิ์มากที่สุด และการอบที่ 200 °C 60 นาที ทำให้สารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวและกากงาแดงจับอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ส่วนสารสกัดเฮกเซนและน้ำมันงาทั้ง 3 สายพันธุ์จับอนุมูลอิสระที่ความเข้มข้นมากกว่า 6.25 mg/mL ผลยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันพบในสารสกัดเมทานอลมากกว่าสารสกัดเฮกเซนและน้ำมันงา การอบทำให้สารสกัดเมทานอลจากกากงาทุกสายพันธุ์ยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันเพิ่มขึ้น โดยสารสกัดเมทานอลจากงาขาวมีฤทธิ์ยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันมากที่สุด เมื่อพิจารณาสารสกัดเฮกเซน พบว่าสารสกัดจากกากงาแดงและงาขาวที่ไม่อบยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันสูง ทั้งนี้การอบทำให้สารสกัดเฮกเซนจากกากงาขาวมีฤทธิ์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อพิจารณาน้ำมันงา พบว่าน้ำมันงาดำที่ไม่อบยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันมากที่สุด โดยการอบทำให้ น้ำมันงาแดงยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามไม่พบความสามารถในการรีดิวซ์ (reducing power) ของน้ำมันงาและสารสกัดเมทานอลและเฮกเซนจากกากงาทุกสายพันธุ์ **สรุปผลการวิจัย:** สารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวที่ได้จากเมล็ดที่ผ่านการอบมีความเหมาะสมในการศึกษาและพัฒนาผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

คำสำคัญ: กากงา น้ำมันงา สารสกัดงา ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

วารสารเภสัชศาสตร์อีสาน 2557; 10(2): 136-146

¹ ปร.ด., อาจารย์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม จ. พิษณุโลก 65000

² ปร.ด., รองศาสตราจารย์ คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

³ นักศึกษาปริญญาโท คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

* **ติดต่อผู้พิมพ์ :** รองศาสตราจารย์ ดร.นาถิดา วีระปรียากร คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น จ. ขอนแก่น 40002

อีเมล: natthida@kku.ac.th

***In Vitro* Antioxidant Activity of White, Black and Red Sesame Seeds**

Montra Srisayam¹, Natthida Weerapreeyakul^{2*}, Panomporn Sribuarin³

Abstract

Introduction: The study of the biological activity of sesame oil and seed but not sesame meal has been extensively investigated. Hence, the study of antioxidation activity was conducted for sesame oil and the methanolic and hexane extracts of sesame meal from white, black, and red varieties. The effect of roasting on antioxidative activity was also determined. **Methods:** The extracts were prepared using methanol and hexane. Radical scavenging, reducing capacity, and lipid peroxidation inhibition of the extracts and the sesame oil were evaluated based on DPPH, FRAP, and TBA assays, respectively. **Results:** The methanolic extracts of all sesame meal varieties scavenged radicals; The white sesame meal extract showed the highest activity. Roasting sesame seed at 200 °C for 60 min significantly increased radical scavenging activity of the methanolic extract of white and red sesame meal. The hexane extracts of all sesame meal and the oil showed radical scavenging at concentration >6.25 mg/mL. The anti-lipid peroxidation of the methanolic extract of sesame meal was greater than the hexane extract or the sesame oil. Roasting increased anti-lipid peroxidation activity of all methanolic extracts and the methanolic extract of white sesame meal exhibited the greatest activity. When considering the hexane extract, unroasted red and white sesame meal extracts possessed similarly high % anti-lipid peroxidation activity. However, roasting decreased the activity of the hexane extract of white sesame meal. With regard to sesame oil, unroasted black sesame oil showed the highest anti-lipid peroxidation activity. Roasting the red sesame oil yielded significantly greater anti-lipid peroxidation activity. Neither sesame oil nor the extracts from sesame meal of all varieties possessed reducing power. **Conclusion:** The methanolic extract of white roasted sesame seed is suitable for further uses or for development as a health care product with antioxidant activity.

Keywords: sesame meal, sesame oil, sesame extract, antioxidation activity

IJPS 2014; 10(2): 136-146

¹ Ph.D., Lecturer, Faculty of Sciences and Technology, Pibulsongkram Rajabhat University, Phitsanulok 65000

² Ph.D., Associate Professor Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

³ Master degree student, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002

* **Corresponding author:** Associate Professor Natthida Weerapreeyakul Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University, Khon Kaen 40002 Email: natthida@kku.ac.th

บทนำ

เมล็ดงาประกอบด้วย ไขมัน โปรตีน คาร์โบไฮเดรต เส้นใย และแร่ธาตุสำคัญสูง ซึ่งน้ำมันชนิดอื่น ๆ เมื่อสัมผัสกับอากาศจะเกิดการเหม็นหืน แต่น้ำมันงามีความคงตัวสูงสามารถต่อต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันไม่เกิดการเหม็นหืนง่าย จึงมักใช้เป็นตัวเพิ่มความคงตัวให้น้ำมันชนิดอื่น (Global AgriSystems, 2010) สารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันในน้ำมันงาเป็นสารกลุ่มลิกแนน และโทโคเฟอร์รอล (Elleuch et al., 2007; Lee et al., 2008) เมล็ดงาประกอบด้วยน้ำมัน 44-58% โปรตีน 18-25% ที่ประกอบด้วยกรดอะมิโนที่มีคุณค่าทางโภชนาการเช่นเดียวกับถั่วเหลือง, คาร์โบไฮเดรตประมาณ 13.5% และเถ้า 5% (Borchani et al., 2010) น้ำมันงาประมาณ 50% เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงเดี่ยว 35% และอีก 44% เป็นกรดไขมันไม่อิ่มตัว ขณะที่ 45% ของกากงาประกอบด้วยโปรตีน 20% (Ghandi, 2009) เมล็ดงามีขนาดเล็กเกือบเป็นรูปไข่ มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ และรสชาติดี จึงนำมาใช้ทั้งการปรุงอาหารและผลิตเป็นน้ำมันประกอบการบริโภค นิยมบริโภคสด แห้ง ทอด หรือผสมกับน้ำตาล และใช้โรยหน้าซูปในบางท้องถิ่น (Fariku et al., 2007) นอกจากนี้มีการใช้เมล็ดงาในยาแผนโบราณเพื่อป้องกันและบำบัดโรค มีการใช้ส่วนของน้ำมันงาในหลายประเทศ เป็นน้ำมันปรุงอาหารในภาคใต้ของอินเดีย และ เอเชีย และเป็นวัตถุดิบปรุงแต่งรสซึ่งมีความเสถียรและปราศจากสารปรุงแต่งที่ไม่พึงประสงค์ ในประเทศจีน ญี่ปุ่น เกาหลี และขยายไปถึงเอเชียใต้ (Tunde-Akintunde et al., 2012) น้ำมันงาเป็นแหล่งของสารอาหาร เช่น กรดไขมันโอเมก้า 6 ฟลาโวนอยด์ ฟีนอลิก สารต้านอนุมูลอิสระ วิตามิน และเส้นใย ซึ่งมีความสำคัญในการต่อต้านมะเร็ง และส่งเสริมสุขภาพ (Bowden, 2007)

ปัจจุบันรูปแบบของผลิตภัณฑ์จากงาที่มีการนำมาใช้ในการบำรุงผิวมีหลายรูปแบบ เพื่อตอบ

สนองความพึงพอใจของลูกค้าที่หลากหลาย โดยนำน้ำมันงามาใช้ เช่น เพื่อการนวด เพิ่มความชุ่มชื้นให้กับผิว หรือใช้เป็นส่วนประกอบใน สบู่ ครีม โลชั่น เพราะน้ำมันงามีคุณสมบัติที่ดี สามารถใช้ได้กับทุกสภาพผิว รวมถึงบรรเทาอาการคันเนื่องจากผิวแห้งและผิวที่ถูกแดดเผา เพราะสามารถซึมซับเข้าสู่ผิวหนังได้อย่างรวดเร็ว จึงนิยมนำมาผสมกับเครื่องสำอาง ทำให้ผิวหนังชุ่มชื้น บำรุงผิวพรรณ ลดรอยหยาบกร้าน ป้องกันการแก่ตัว และยืดอายุเซลล์ผิวหนัง นอกจากนี้ยังนำมาใช้ทาผม ทำให้ผมดำเป็นมันวาว ไม่แห้งแตกปลาย กระตุ้นการงอกของเส้นผม โดยเพิ่มการไหลเวียนของโลหิตรอบๆ รูขุมขนบนหนังศีรษะและบำรุงเส้นผม (Various benefits from sesame, 2008) มีบางผลิตภัณฑ์ที่นำเมล็ดงามาผลิตผลิตภัณฑ์ขัดผิวเพื่อช่วยในการกำจัดเซลล์ที่มียอายุ และกระตุ้นให้มีการสร้างผิวใหม่ (Lawong, et al., 2010)

จากคุณสมบัติและสรรพคุณต่าง ๆ ของงาเบื้องต้น จึงมุ่งศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากส่วนต่างๆ ของเมล็ดงาและน้ำมันงา แม้ว่าจะมีการศึกษาถึงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของเมล็ดงามาก่อน แต่พบว่าข้อมูลส่วนใหญ่ไม่มีการระบุสายพันธุ์ของงา หรือไม่มีการศึกษาในงาต่างสายพันธุ์ (Shyu and Hwang, 2002; Suja et al., 2004; Sripanidkulchai et al., 2003) จากข้อมูลในประเทศไทยพบว่าที่ปลูกแพร่หลายมี 3 สายพันธุ์คือ งาดำ งาขาว และงาแดง (Suttipolpiboon, 2006) ดังนั้นการศึกษาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของกากงาสายพันธุ์ต่างๆ จึงมีความสำคัญเพื่อจะทำให้ทราบสายพันธุ์งาที่เป็นแหล่งของสารที่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน งานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของน้ำมันงาและสารสกัดจากกากงาด้วยเมทานอล และเฮกเซน ในงาดำ งาขาว และ งาแดง และตรวจสอบผลของการต่อต้านฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมน้ำมันงา

นำเมล็ดงาที่ผ่านและไม่ผ่านการอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 200 °C นาน 60 นาทีมาบิบน้ำมันด้วยเครื่องบีบอัดเมล็ดงาแบบ hydraulic (สนับสนุนโดยบริษัทพาคูณ ขอนแก่น, ประเทศไทย) กรองเพื่อแยกเอาผงงาที่ละเอียดออกจากน้ำมัน เก็บน้ำมันงาไว้ที่ 4 °C

2. การเตรียมสารสกัดหยาบจากกากงาสายพันธุ์ต่าง ๆ

นำกากงาที่เหลือจากการบีบน้ำมันที่ได้จากเมล็ดงาที่ผ่านการอบ และไม่ผ่านการอบ 200 °C นาน 60 นาที มาสกัดโดยใช้ 100% เมทานอล (RCI Labscan Ltd., Thailand) (3 kg ต่อ 5 L) นาน 1 สัปดาห์ ที่อุณหภูมิห้อง โดยทำการเขย่าเป็นระยะๆ ทุกวัน และสกัดซ้ำ 3 ครั้งจากกากเดิม นำสารสกัดที่ได้มารองผ่านกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำส่วนใสที่ได้จากการกรองไประเหยแห้ง แบบสูญญากาศ (Model Eyela N-1000, Tokyo Rikakikai Co., Tokyo, Japan) นำกากงาที่เหลือจากการหมักด้วยเมทานอลไปหมักต่อด้วย 100% เฮกเซน (RCI Labscan Ltd., Thailand) ทำการสกัดด้วยสภาวะเดียวกัน

3. การทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน

3.1 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) assay

ใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Anorach และ Weerapreeyakul (2005); Suja et al., (2005); Shahidi et al., (2005); Xu et al., (2005) ทำการเตรียมสารละลายเข้มข้น (stock solution) ของสารสกัดเมทานอลจากกากงาทั้ง 3 สายพันธุ์ในเมทานอลความเข้มข้นระหว่าง 0.08 - 1.25 mg/ml ส่วนสารละลายเข้มข้นของสารสกัดเฮกเซนจากกากงา และน้ำมันงาละลายใน dimethyl sulfoxide (DMSO) ความเข้มข้นระหว่าง 0.4-6.25 mg/ml (Sigma, France) ทำการศึกษาโดยผสมสารที่ต้องการทดสอบกับสารละลาย

2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl hydrate (DPPH) (Fluka, Switzerland) (0.02 mM ในเมทานอล) ในแต่ละหลุมของ microplate ทิ้งไว้ 30 นาทีในที่มืด วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตรด้วยเครื่อง microplate reader (Anthos 2010, Anthos Labtec Instruments Ges.m.b.H, Austria) คำนวณหาความเข้มข้นที่จับอนุมูลอิสระได้ 50% (IC₅₀) โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสาร (mg/ml) กับ % inhibition เทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทำการเติมสารทดสอบ ทั้งนี้สารมาตรฐานที่ใช้เปรียบเทียบ คือ sesamin (Sigma-Aldrich chemie GmbH, Germany) และ sesamol (Spectrum chemical, USA) และสารควบคุมผลบวก (positive control) คือ a-tocopherol butylated hydroxyanisole (BHA) และ butylated hydroxytoluene (BHT) (Fluka, USA) ซึ่งค่า % radical scavenging สามารถคำนวณได้จากสูตร % radical scavenging = $\{(Abs_{control} - Abs_{sample}) / Abs_{control}\} \times 100$

3.2 Ferric Reducing Antioxidant Power (FRAP) Assay

ใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Benzie และ Strain (1996) โดยเตรียม FRAP reagent ผสม acetate buffer 300 mM, pH 3.6 กับสารละลาย 2,4,6-Tri (2-pyridyl)-s-triazine (TPTZ) (Tokyo, Kasei Kogyo Co., Japan) (10 mM ในกรดไฮโดรคลอริก 40 mM) และสารละลาย FeCl₃·6H₂O 20 mM (Sigma-Aldrich chemie GmbH, Switzerland) ในอัตราส่วน 10:1:1 จากนั้นเติมสารละลายของสารที่ทดสอบใน DMSO โดยเตรียมสารสกัดเมทานอลความเข้มข้นระหว่าง 2.00 - 31.25 mg/mL ส่วนสารสกัดเฮกเซน และน้ำมันงา ความเข้มข้นระหว่าง 0.4-6.25 mg/mL ในแต่ละหลุมของ 96-well plate ทำการเติม FRAP reagent 50 µL โดยมีปริมาตรสุดท้าย 200 µL วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 600 นาโนเมตร ที่ 8 นาที สร้างกราฟมาตรฐานโดยใช้ Fe(II) (FeSO₄·7H₂O) (Asia

pacific specialty chemical limited, Australia) ความเข้มข้นระหว่าง 100 - 1000 μM ทั้งนี้กลุ่มควบคุม (control) คือหลุมที่ไม่เติมสารที่ทดสอบ นำค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ได้มาเทียบกับค่าการดูดกลืนแสงของ Fe^{2+} ในกราฟมาตรฐาน ค่าที่ได้นี้คือค่า FRAP value ที่ระบุความสามารถในการรีดิวซ์ (reducing power)

3.3 Thiobarbituric Acid Reactive Substances (TBARS) assay

ใช้วิธีที่ดัดแปลงจาก Anorach และ Weerapreeyakul (2005) และ Bae และ Lee (2004) โดยเตรียมสารละลายเข้มข้นของสารที่ทดสอบใน DMSO และเจือจางใน phosphate buffer (pH 7.0, 0.1 M) ทำการเติมสารละลายทดสอบที่ความเข้มข้นต่าง ๆ 50 μL โดยเตรียมสารสกัดเมทานอล ความเข้มข้นระหว่าง 0.06 - 2.00 mg/mL ส่วนสารสกัดเฮกเซนและน้ำมันงา ความเข้มข้นระหว่าง 0.4 - 6.25 mg/mL ยกเว้นสารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวที่อบใช้ความเข้มข้นระหว่าง 0.0002 - 0.0040 mg/mL ในแต่ละหลุม เติม DMSO 35 μL และ linoleic acid 50 μL (Sigma-Aldrich chemie GmbH, Germany) นำไปเขย่าในตู้ปัม (Model UM-IS20-R, Uscientific) ที่อุณหภูมิ 40 °C 100 rpm นาน 24 ชม. เพื่อให้เกิดลิปิดออกซิเดชันและเติม thiobarbituric acid (Sigma-Aldrich chemie GmbH, Switzerland) (0.67% ใน phosphate buffer) 100 μL นำไปไว้ที่อุณหภูมิ 80 °C 1 ชม. แชน้ำเย็นก่อนเติมคลอโรฟอร์ม 45 μL (RCI Labscan Ltd., Thailand) เขย่าด้วยความแรง 800 rpm นาน 5 นาที ปิดเตาเฉพาะสารละลายส่วนบนไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร และคำนวณค่า IC_{50} โดยสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสาร (mg/ml) กับ % inhibition เทียบกับกลุ่มควบคุมที่ไม่ได้ทำการเติมสารทดสอบ ซึ่งค่า % inhibition สามารถคำนวณได้จากสูตร

$$\% \text{ radical scavenging} = \left\{ \left(\text{Abs}_{\text{control}} - \text{Abs}_{\text{sample}} \right) / \text{Abs}_{\text{control}} \right\} \cdot 100$$

4. การวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ข้อมูลที่ได้จากการทำซ้ำ 4 ครั้ง โดยใช้ One-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ที่ $p < 0.05$

ผลการวิจัย

1. ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH assay

สารสกัดเมทานอลจากกากงาทุกสายพันธุ์จับอนุมูลอิสระได้ดีกว่าสารสกัดเฮกเซน ความสามารถในการจับอนุมูลอิสระของสารสกัดที่ไม่ผ่านการอบพบว่า สารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวและกากงาดำมีฤทธิ์จับอนุมูลอิสระไม่แตกต่างกัน โดยมีฤทธิ์มากกว่าสารสกัดเมทานอลจากกากงาแดง (ตารางที่ 1) และเมื่ออบด้วยความร้อนที่ 200 °C นาน 60 นาที มีผลให้ฤทธิ์การจับอนุมูลอิสระของสารสกัดเมทานอลจากกากงาทั้ง 3 สายพันธุ์เพิ่มขึ้น สารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวและกากงาแดงมีค่า IC_{50} ลดลงอย่างมีนัยสำคัญจาก 0.83±0.14 mg/mL เป็น 0.54±0.03 mg/mL และ 2.70±0.43 mg/mL เป็น 1.00±0.05 mg/mL ($p < 0.05$) ตามลำดับ ส่วนสารสกัดเมทานอลจากกากงาดำที่ผ่านการอบมีค่า IC_{50} ลดลงจาก 0.89±0.13 mg/mL เป็น 0.74±0.01 mg/mL ส่วนสารสกัดเฮกเซนและน้ำมันงาสายพันธุ์ต่างๆ ที่ผ่านการอบและไม่อบ จับอนุมูลอิสระได้น้อยกว่า 50% ที่ความเข้มข้น 6.25 mg/ml ซึ่งเป็นความเข้มข้นสูงสุดที่สามารถละลายได้ (ประมาณ 200 เท่าของความเข้มข้นสูงสุดของสารมาตรฐานที่ใช้ในการทดสอบ) จึงไม่สามารถคำนวณหาค่า IC_{50} ได้

สารมาตรฐานที่มีฤทธิ์จับอนุมูลอิสระสูงที่สุดคือ sesamol มีค่า $\text{IC}_{50} < 0.0020$ mg/mL เนื่องจากที่ความเข้มข้นดังกล่าว sesamol มีฤทธิ์จับอนุมูลอิสระ 78% ส่วน sesamin ที่ความเข้มข้น 0.031 mg/mL สามารถจับอนุมูลอิสระได้ < 50% นอกจากนี้สารควบคุมผลบวก BHT มีฤทธิ์จับอนุมูลอิสระได้

มากกว่า BHA และ a-tocopherol ตามลำดับ และมากกว่าสารสกัดเมทานอลจากกากงาทั้ง 3 สายพันธุ์ อย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$)

ตารางที่ 1 ความเข้มข้นที่สามารถจับกับอนุมูลอิสระได้ 50% (IC₅₀; mg/mL) ของสารทดสอบด้วยวิธี DPPH assay (mean \pm SD, n=4)

สารทดสอบ	IC ₅₀ (mg/mL)	
	ไม่อบ	อบ
สารสกัดเมทานอล		
กากงาขาว	0.83 \pm 0.14 ^a	0.54 \pm 0.03 ^d
กากงาดำ	0.89 \pm 0.13 ^a	0.74 \pm 0.01 ^e
กากงาแดง	2.7 \pm 0.43 ^b	1.0 \pm 0.05 ^f
สารสกัดเฮกเซน		
กากงาขาว	> 6.25	> 6.25
กากงาดำ	> 6.25	> 6.25
กากงาแดง	> 6.25	> 6.25
น้ำมัน		
งาขาว	> 6.25	> 6.25
งาดำ	> 6.25	> 6.25
งาแดง	> 6.25	> 6.25
Sesamol	< 0.0020	
Sesamin	> 0.031	
BHT	0.0048 \pm 0.00 ^a	
BHA	0.0073 \pm 0.00 ^b	
a-Tocopherol	0.0085 \pm 0.00 ^c	

หมายเหตุ ^{a-d} หมายถึงค่าเฉลี่ยของค่าที่แสดงของสารแต่ละตัวที่มีอักษรด้วยภาษาอังกฤษเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$)

2. ความสามารถในการรีดิวซ์ด้วยวิธี

FRAP Assay

พบว่าสารสกัดเมทานอลจากกากงาสายพันธุ์ต่าง ๆ ที่ผ่านหรือไม่ผ่านการอบ และจาก

น้ำมันงาไม่มีความสามารถในการรีดิวซ์ แม้ใช้สารสกัดเมทานอลความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 31.25 mg/mL ซึ่งคิดเป็น 2,000 เท่าของความเข้มข้นของสาร BHT BHA a-tocopherol และ sesamol ส่วนสารสกัดเฮกเซนจากกากงาสายพันธุ์ต่างๆ และจากน้ำมันงาที่ความเข้มข้น 6.25 mg/mL ที่สามารถละลายใน DMSO ได้มากที่สุด ก็ไม่พบว่ามีความสามารถในการรีดิวซ์เช่นกัน สารมาตรฐานที่สามารถรีดิวซ์ได้มากที่สุดคือ sesamol ซึ่งแสดงค่า FRAP value ที่ความเข้มข้นต่างๆ มากกว่าสารอื่นๆ ในขณะที่ sesamin ไม่มีความสามารถในการรีดิวซ์แม้ใช้ความเข้มข้นมากถึง 0.1 mg/mL ซึ่งเป็น 6.4 เท่าของความเข้มข้นของสารมาตรฐานอื่นที่ใช้ในการทดสอบ ส่วนสารควบคุมผลบวกพบว่า a-tocopherol มีความสามารถในการรีดิวซ์ได้มากกว่า BHA และ BHT ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ความสามารถในการเกิดปฏิกิริยารีดิวซ์เมื่อแสดงด้วยค่า FRAP value ของสารทดสอบ (mean \pm SD, n=4)

สารทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/mL)	FRAP value (μ M FeSO ₄)
Sesamol	0.0020	44.17 \pm 2.22 ^a
	0.0039	84.23 \pm 4.59 ^b
	0.0078	117.71 \pm 14.51 ^c
	0.0156	189.88 \pm 17.56 ^d
Sesamin	0.1	Inactive
a-Tocopherol	0.0020	44.66 \pm 4.12 ^a
	0.0039	75.91 \pm 4.35 ^b
	0.0078	109.12 \pm 9.07 ^c
	0.0156	165.75 \pm 10.70 ^d
BHA	0.0020	10.75 \pm 5.57 ^a
	0.0039	29.55 \pm 6.86 ^{a,b}
	0.0078	45.59 \pm 15.30 ^b
	0.0156	70.91 \pm 14.04 ^c

สารทดสอบ	ความเข้มข้น (mg/mL)	FRAP value ($\mu\text{M FeSO}_4$)
BHT	0.0020	4.32±2.94 ^a
	0.0039	10.21±5.47 ^a
	0.0078	20.75±3.62 ^b
	0.0156	33.79±5.63 ^c
สารสกัดเมทานอล	ไม่อบ	อบ
กากงาขาว	inactive ^o	inactive ^o
กากงาดำ	inactive ^o	inactive ^o
กากงาแดง	inactive ^o	inactive ^o
สารสกัดเฮกเซน		
กากงาขาว	inactive ^{oo}	inactive ^{oo}
กากงาดำ	inactive ^{oo}	inactive ^{oo}
กากงาแดง	inactive ^{oo}	inactive ^{oo}
น้ำมัน		
งาขาว	inactive ^{oo}	inactive ^{oo}
งาดำ	inactive ^{oo}	inactive ^{oo}
งาแดง	inactive ^{oo}	inactive ^{oo}

หมายเหตุ

- ^{a-c}หมายถึงค่าเฉลี่ยของค่า FRAP ของสารแต่ละตัวที่มีอักษรด้วยภาษา อังกฤษเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความ เชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$)
- Inactive^o หมายถึง สารทดสอบไม่มีความสามารถในการรีดิวซ์ ที่ความ เข้มข้นสุดท้ายมากที่สุด เท่ากับ 31.25 mg/mL (~2000 เท่าของความ เข้มข้นสูงสุดของสาร BHT BHA a-tocopherol และ sesamol)
- Inactive^{oo} หมายถึง สารทดสอบสามารถละลายใน DMSO ได้มากที่สุดที่ ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 6.25 mg/mL และไม่พบว่ามีความสามารถ ในการรีดิวซ์

3. ความสามารถในการยับยั้งลิปิด เพอร์ออกซิเดชันด้วยวิธี TBARS assay

สารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวมีความสามารถในการยับยั้งลิปิดเพอร์ออกซิเดชัน (ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.25±0.03 mg/mL) และการอบทำให้ สารสกัดเมทานอลจากกากงาทุกสายพันธุ์ยับยั้งลิปิด เพอร์ออกซิเดชันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) โดยสารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวที่ผ่านการอบ สามารถยับยั้งลิปิดเพอร์ออกซิเดชันสูงสุด (ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.0019±0.00 mg/mL) (ตารางที่ 3) สารสกัด

เมทานอลจากกากงาดำและแดงที่ผ่านการอบยับยั้ง ลิปิดเพอร์ออกซิเดชันได้ไม่ต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (ค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.29±0.08 mg/mL และ 0.23±0.05 mg/mL ตามลำดับ) ส่วนสารสกัดเฮกเซนและน้ำมัน งาไม่สามารถหาค่า IC₅₀ ได้ แม้ใช้ความเข้มข้นที่มาก ที่สุดที่สามารถละลายได้เท่ากับ 3.1 mg/mL ยกเว้น น้ำมันงาดำที่ไม่ผ่านการอบสามารถยับยั้งลิปิดเพอร์ ออกซิเดชันด้วยค่า IC₅₀ เท่ากับ 1.31±0.10 mg/mL สรุปได้ว่าสารสกัดเมทานอลมีฤทธิ์ยับยั้งลิปิดเพอร์ ออกซิเดชันดีกว่าสารสกัดเฮกเซน นอกจากนี้ สาร มาตรฐานที่ยับยั้งลิปิดเพอร์ออกซิเดชันได้ดีที่สุดและ มากกว่าสารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวที่ผ่านการ อบ คือ BHA โดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.00028±0.00 mg/mL (ตารางที่ 3)

ตารางที่ 3 ความเข้มข้นที่มีฤทธิ์ยับยั้งลิปิดเพอร์ ออกซิเดชัน 50% (IC₅₀; mg/mL) ของ สารทดสอบด้วยวิธี TBARS (mean ± SD, n=4)

สารทดสอบ	IC ₅₀ (mg/mL)	
	ไม่อบ	อบ
สารสกัดเมทานอล		
กากงาขาว	0.25±0.03 ^b	0.0019±0.00 ^a
กากงาดำ	>3.1	0.29±0.08 ^b
กากงาแดง	>3.1	0.23±0.05 ^b
สารสกัดเฮกเซน		
กากงาขาว	>3.1	>3.1
กากงาดำ	>3.1	>3.1
กากงาแดง	>3.1	>3.1
น้ำมัน		
งาขาว	>3.1	>3.1
งาดำ	1.31±0.10 ^c	>3.1
งาแดง	>3.1	>3.1
Sesamol	0.00085±0.00 ^a	
Sesamin	0.070±0.01 ^a	
BHA	0.00028±0.00 ^a	
a-Tocopherol	0.0013±0.00 ^a	
BHT	0.0021±0.00 ^a	

หมายเหตุ ^{a-c}หมายถึงค่าเฉลี่ยของค่าที่แสดงของสารแต่ละตัวที่มีอักษร ด้วยภาษาอังกฤษเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัย สำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$)

สารสกัดเฮกเซนจากกากงาที่ความเข้มข้นสูงสุด (3.1 mg/mL) ที่ไม่ผ่านการอบยังยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันได้มากกว่าสารสกัดเฮกเซนจากกากงาที่ผ่านการอบ ทั้งนี้การอบไม่มีผลต่อฤทธิ์ยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในกากงาดำและงาแดง แต่ทำให้กากงาขาวมีฤทธิ์ยับยั้งลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และสารสกัดเฮกเซนจากกากงาขาวและกากงาแดง

ที่ไม่ผ่านการอบยังยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันสูง คือ $59.10 \pm 4.84\%$ และ $59.62 \pm 3.55\%$ ตามลำดับ โดยการอบไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันในน้ำมันงาขาวและน้ำมันงาดำ แต่ทำให้น้ำมันงาแดงมีฤทธิ์ยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 4)

ตารางที่ 4 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (% inhibition) ของสารสกัดเฮกเซนจากกากงาสายพันธุ์ต่างๆ ที่ ความเข้มข้น 3.1 mg/ mL ด้วยวิธี TBARS (mean±SD, n=4)

สายพันธุ์	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน			
	สารสกัดเฮกเซนของกากงา		น้ำมันงา	
	อบ	ไม่อบ	อบ	ไม่อบ
งาขาว	20.53±8.81 ^a 60.02±3.25 54.53±5.13	59.10±4.84 ^b	53.60±4.42 ^b	57.20±5.33 ^b
งาดำ	24.86±15.84 ^a	39.17±14.83 ^a	60.02±3.25 ^b	61.86±0.35 ^b
งาแดง	51.82±5.88 ^b	59.62±3.55 ^b	54.53±5.13 ^b	22.39±13.82 ^a

หมายเหตุ ^{a-b}หมายถึงค่าเฉลี่ยของค่าที่แสดงของสารแต่ละตัวที่มีอักษรตัวภาษาอังกฤษเหมือนกันไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 95% ($p < 0.05$)

อภิปราย และสรุปผลการวิจัย

การศึกษานี้ทำให้ทราบว่าสารสกัดจากกากงา 3 สี หรือ 3 สายพันธุ์ มีความสามารถในการต้านออกซิเดชันโดยผ่านกลไกที่ต่างกัน 3 กลไก ผลโดยรวมพบว่าสารสกัดเมทานอลที่เตรียมจากกากงา 3 สายพันธุ์ ที่ผ่านการอบหรือไม่อบเท่ากันที่ได้สารมีฤทธิ์ในการจับอนุมูลอิสระ (จากวิธี DPPH) และยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน (จากวิธี TBAR) แต่ไม่พบว่าสารสกัดที่ได้ มีความสามารถในการรีดิวซ์ (วิธี FRAP) ส่วนสารสกัดจากเฮกเซนจากกากงา 3 สายพันธุ์ ที่ผ่านการอบและไม่อบ พบเฉพาะฤทธิ์ยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชัน โดยพบว่าการอบกากงาทุกสายพันธุ์

ทำให้สารสกัดจากเมทานอล มีฤทธิ์จับอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันเพิ่มขึ้นนอกเหนือยังพบว่าสารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวทั้งที่อบและไม่อบมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (จากวิธี DPPH และ TBARS) สูงที่สุด

ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันของสารสกัดเมทานอลจากกากงา มีความสามารถจับกับอนุมูลอิสระและยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันได้ดีกว่าสารสกัดเฮกเซนและน้ำมันนั้น สอดคล้องกับการศึกษาของ Sripanidkulchai et al. (2003) ที่พบว่าสารสกัดเมทานอลจากกากงาดำ ($IC_{50} = 45.45$ mg/mL) มีประสิทธิภาพในการจับอนุมูลอิสระมากกว่าน้ำมันงาดำ ($IC_{50} = 166.67$

mg/mL) และเมล็ดงาดำ ($IC_{50} = 500$ mg/mL) ตามลำดับ เพราะสารที่สกัดได้โดยเมทานอลอาจมีสารกลุ่มลิกแนนมีขี้ผึ้ง เช่น สาร sesamol ซึ่งพบในเมล็ดงาเป็นสารที่มีความแรงในการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูง จึงถูกสกัดได้มากกว่าการสกัดจากน้ำมันงา (Suja et al., 2005) ในส่วนของสารสกัดเฮกเซนจากกากงาให้ผลต่ำ (โดยวิธี TBARS) หรือไม่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (โดยวิธี DPPH และ FRAP) อาจเนื่องมาจากสาร antioxidant ที่พบในธรรมชาติมักเป็นสารกลุ่มโพลีฟีนอลหรือลิกแนนที่มีหมู่ฟังก์ชันเป็นหมู่ไฮดรอกซิลซึ่งสารดังกล่าวจะถูกสกัดได้จากตัวทำละลายที่มีขี้ผึ้งได้มากกว่าตัวทำละลายที่ไม่มีขี้ผึ้ง (Nakai et al., 2003)

สารองค์ประกอบที่พบมากในน้ำมันงา คือ sesamin ซึ่งจัดเป็นสารในกลุ่มลิกแนน จากการศึกษาพบว่า sesamin ที่ความเข้มข้น 0.031 mg/mL (หรือ 31 μ g/mL) ไม่พบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาก่อนหน้านี้ที่รายงานว่า sesamin ในช่วงความเข้มข้นต่ำ (<2 μ g/mL) ไม่มีฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน (Kamal-Eldin และ Nakai et al., 2003) แต่ sesamin ที่ความเข้มข้นสูง (500 μ g/mL) สามารถจับกับอนุมูลอิสระในหลอดทดลอง 75% (ด้วยวิธี DPPH) (Saleem et al., 2013)

ความสามารถในการรีดิวซ์เป็นความสามารถที่ขึ้นกับหมู่ฟังก์ชันที่เกิดปฏิกิริยารีดักชันได้หรือขึ้นกับหมู่ฟังก์ชันที่สามารถให้อะตอมไฮโดรเจน ซึ่งค่า FRAP จะมีค่าความสัมพันธ์ที่ดีกับจำนวนหมู่ไฮดรอกซิล (Firuzi et al., 2005) ซึ่งสารลิกแนนที่มีหมู่ไฮดรอกซิลที่พบในงานั้นมีปริมาณน้อย เช่น sesamol, sesaminol, episesaminol หรือ sesamolol และด้วยข้อจำกัดเรื่องการละลายของสารที่ทดสอบและวิธีการตรวจวัด จึงอาจทำให้การศึกษานี้ไม่พบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันจากกลไกการรีดิวซ์

นอกจากนี้ยังมีรายงานว่าพบ sesamin ในปริมาณมากในน้ำมันงาขาว (Suja et al., 2005) การอบ 200 °C นาน 60 นาที ทำให้ได้สารสกัดที่มีฤทธิ์

ยับยั้งลิปิดเปอร์ออกซิเดชันมากขึ้น อาจเพราะการอบทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของสาร เช่น sesamin หรือ sesamol ได้เป็น lignan ตัวอื่น เช่น sesamol ซึ่งมีรายงานพบสาร sesamol ในน้ำมันที่ได้จากเมล็ดงาที่ผ่านการอบมากกว่าในเมล็ดที่ไม่ผ่านการอบ (Osawa et al., 1985; Fukuda, 1990) และเมล็ดงาที่ผ่านการอบที่ 200 °C นาน 60 นาทีมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงที่สุดกว่าที่สภาวะอื่นๆ และพบว่าน้ำมันงาที่ได้จากงาที่ผ่านการอบ 60 °C มีความคงตัวสูงกว่าน้ำมันที่ไม่ผ่านการอบ (Fukuda, 1990; Jeong et al., 2004)

โดยสรุปหากต้องการที่จะใช้ส่วนของเมล็ดงาเพื่อใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์ที่ใช้ประโยชน์จากกลไกการออกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน ควรใช้สารสกัดเมทานอลจากกากงาขาวที่ได้จากเมล็ดที่ผ่านการอบ 200 °C นาน 60 นาที อย่างไรก็ตามควรมีการศึกษาเพิ่มเติมถึงชนิดและปริมาณของสารสำคัญที่อยู่ในส่วนต่างๆ ของงาแต่ละสายพันธุ์ ที่ส่งผลต่อการแสดงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันเพิ่มเติมต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

มนตรา ศรีชะแยม ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏพิบูลสงคราม และมหาวิทยาลัยขอนแก่น งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากมหาวิทยาลัยขอนแก่น ปี 2011-2012 (รหัสโครงการ 542800 & 552900)

References

- Anorach R, Weerapreeyakul N. Detection methods for the *in vitro* antioxidation. *KKU Sci J* 2005; 33(1-2):13-18.
- Bae JW, Lee MH. Effect and putative mechanism of action of ginseng of the formation of glycated hemoglobin *in vitro*. *J Ethnopharmacol* 2004; 91: 137-140.

- Benzie IFF, Strain JJ. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of "Antioxidant Power": The FRAP Assay. *Anal Biochem* 1996; 239: 70-76.
- Borchani C, Besbes S, Blecker CH, Attia H. Chemical characteristics and oxidative stability of sesame seed, sesame paste, and olive oils. *JAST* 2010; 12: 585-596.
- Bowden, Jonny. The 150 Healthiest foods on earth : The surprising, unbiased truth about what you should eat and why (PAP/COM). *Fair Winds Pr*; 2007: 309-310.
- Elleuch M, Besbes S, Roiseux O, Blecker C, Attia H. Quality characteristics of sesame seeds and by-products. *Food Chem* 2007; 103(2): 641-650.
- Gandhi AP. Simplified process for the production of sesame seed (*Sesamum indicum* L) butter and its nutritional profile. *AS.J.Food Ag-Ind* 2009; 2(01): 24-27.
- Global AgriSystems. Dehulled and roasted sesame seed oil processing unit [Online]. 2010 [cited 2011 Aug 18]. Available from: <http://mpstateagro.nic.in/Project%20Reports%20pdf/Dehulled%20and%20Roasted%20Sesame%20Seed%20Oil%20Processing%20Unit.pdf>.
- Fariku S, Ndonya AE, Bitrus PY. Biofuel characteristics of beniseed (*Sesamum indicum*) Oil. *AJB* 2007; 6(21): 2442-2443.
- Firuzi O, Lacanna A, Petrucci R, Marrosu G, Saso L. Evaluation of the antioxidant activity of flavonoids by "ferric reducing antioxidant power" assay and cyclic voltammetry. *BBA* 2005; 1721: 174-184.
- Fukuda Y. Food chemical studies on antioxidant in sesame seed. *Nippon Shokushi Kogyo Gakkaishi* 1990; 37: 484-492.
- Hansen R. Sesame Profile [Online]. 2011 [cited 2011 Aug 19]. Available from: http://www.agmrc.org/commodities__products/grains__oilseeds/sesame_profile.cfm.
- Jeong SM, Kim SY, Kim DR, Nam KC, Ahn DU, Lee SC. Effect of seed roasting conditions on the antioxidant activity of defatted sesame meal extracts. *J Food Sci* 2004; 69: 377-381.
- Kamal-Eldin A, Appelqvist LA. Variation in fatty acid composition of the different acyl lipids in seed oils from four sesamum species. *J Am Oil Chem Soc* 1994; 71: 135-139.
- Lee JY, Lee YS, Choe EO. effects of sesamol, sesamin and sesamolin extracted from roasted sesame oil on the thermal oxidation of methyl linoleate. *Food Sci Technol* 2008; 42: 1871-1875.
- Lawong A, Chansri N, Weerapreeyakul N. Development of scrub containing black sesame meal. Poster presentation of The 2nd Annual International Conference of Northeast Pharmacy Research, 2010 Feb 13-14; Mahasarakam University, Mahasarakam, Thailand, p. 36-38
- Nakai M, Harada M, Nakahara K, Akimoto K, Shibata H, Miki W, Kiso Y. Novel antioxidative metabolites in rat liver with ingested sesamin. *J. Agric. Food Chem* 2003; 51: 1666-1670.

- Osawa T, Nagata M, Namiki M, Fuguda Y. Sesamolinal, a novel antioxidant isolated from sesame seed. *Agric Biol Chem* 1985; 49: 33-51.
- Various benefits from sesame [Online]. 2008 [cited 2014 Jan 7]. Available from: <http://www.oknation.net/blog/print.php?id=233527>.
- Saleem TSM, Chetty CM, , Kavimani S. In-vitro antioxidant activity of sesamin isolated from sesame oil. *JNP* 2013; 4: 120-125.
- Shyu YS, Hwang LS. Antioxidative activity of the crude extract of lignan glycosides from unroasted Burma black sesame meal. *Food Res Int* 2002; 35 4): 357-365.
- Shahidi F, Liyana-Pathirana CM, Wall DS. Antioxidant activity of white and black sesame seeds and their hull fractions. *Food Chem* 2005, 99(3): 478-483.
- Sripanidkulchai B, Weerapreeyakul N, Sutthanut K, editors. The anti-oxidation activity of sesame seeds, sesame meal and sesame oil from hydraulic cold press. In Full report submitted for The center for Research and Development of Herbal Health Products. Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University; 2003. Sponsored by the Center for Research and Development of Herbal Health Products.
- Suja KP, Abraham JT, Thamizh SN, Jayalekshmy A, Arumughan C. Antioxidant efficacy of sesame cake extract in vegetable oil protection. *Food Chem* 2004; 84: 393-400.
- Suja KP, Jayalekshmy A, Arumughan C. Antioxidant activity of sesame cake extract. *Food Chem* 2005; 91: 213-219.
- Suttipolpiboon S. The bright future of sesame [Online]. 2006 [cited 2013 Jul 21]. Available from: http://web.oae.go.th/e_book/plant/nga.pdf.
- Tunde-Akintunde TY, Oke MO, Akintunde BO. Chapter 5: Sesame seed [Online]. 2012. In: Akpan UG, editor. [Cited 2013 Dec 1]. Available from: <http://www.intechopen.com/books/oilseeds/sesame-seed>.
- Xu J, Chen S, Hu Q. Antioxidant activity of brown pigment and extracts from black sesame seed (*Sesamum indicum L.*). *Food Chem* 2005; 91: 79-83.