วารสารเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี | Agriculture and Technology Journal

ปีที่ 3 ฉบับที่ 1 มกราคม – เมษายน 2565 | Vol.3 No.1 January – April 2022

Received: April 3, 2022; Revised: April 20, 2022; Accepted: April 27, 2022

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของข้าวขาวดอกมะลิ 105

Bioactive compounds and antioxidant activities of Khao Khaow Dawk Mali 105

วิภาวดี พันธ์หนองหว้า[1*] นฤทธิ์ วาดเขียน[1] อฐิษฐาน ฉัตรเงิน[1] วิลาศิณีย์ สีดามา[1] วุฒิพงษ์ หาญประโค[1] และอัญชลี จันเทวา[1]

Wipavadee Punnongwa[1*], Narit Wardkhean[1], Atitan Chatngern[1], Wilasinee Seedama[1], Wutipong Hanprakhon[1] and Anchalee Jantawa[1]

[1]คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ สุรินทร์

**Corresponding Author E-mail Address : punnongwa05@gmail.com*

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้ศึกษาสารออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและสารฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวงอก และระยะการเจริญของข้าวได้แก่ น้ำนมข้าว ข้าวเม่า และข้าวกล้องของขาวดอกมะลิ 105 (KDML 105) จากการทดลองพบว่าปริมาณสารฟีนอลิกในข้าวงอกมีปริมาณสูงสุด ($p \leq 0.05$) มีปริมาณ 331.97±8.17 mg GAE/100 g DW ข้าวงอกมีกิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระสูงสุดในวิธีการทดลองฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Total antioxidant capacity และวิธี Lipid peroxidation assay สูงสุด ในขณะที่ข้าวน้ำนมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity สูงที่สุด ($p \leq 0.05$) ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าปริมาณสารไทอะมีน ไนอะซีน และไพริดรอกซิน พบมากในข้าวกล้อง 39.21±0.07 mg/100 g DW) ข้าวงอก (41.93±0.05 mg/100 g DW) และข้าวน้ำนม (17.88±0.03mg/100 g DW) ตามลำดับ ทั้งข้าวกล้องและข้าวน้ำนม มีปริมาณสารแอลฟ่าโทโคเฟอรอลสูงสุด 318.48±6.36 mg/100 g DW และ 308.09±5.85 mg/100 g DW) ในขณะที่ข้าวงอกมีปริมาณแกมม่าออไรซานอลสูงสุด และตรวจวัดปริมาณสารไทอะมีน ไนอะซีน ไพริดรอกซิน แอลฟ่าโทโคเฟอรอล และแกมม่าออไรซานอล ด้วยวิธี HPLC ใช้เครื่องตรวจวัดสัญญาณแบบ UV-detector พบว่า ปริมาณแกมม่าออไรซานอล และไนอะซีนพบมากในข้าวงอก โดยสารแกมม่าออไรซานอล 355.00±7.07 mg/100 g DW และไนอะซิน 41.93±0.05 mg/100 g DW ในขณะที่แอลฟ่าโทโคเฟอรอลพบมากที่สุดในข้าวกล้อง 318.48±6.36 mg/100 g DW และข้าวน้ำนมพบปริมาณ 308.09±5.85 mg/100 g DW ไพริดรอกซินพบมากที่สุดในข้าวน้ำนม 17.88±0.03 mg/100 g DW ในขณะที่ไทอะมีนพบมากที่สุดในข้าวกล้อง 39.21±0.07 mg/100 g DW จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากระบวนการผลิตข้าวงอก และระยะของข้าวน้ำนมมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระสูง เหมาะต่อการเป็นอาหารฟังชั่นและสามารถเพิ่มมูลค่าสารสำคัญจากข้าว

คำสำคัญ: สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ข้าวขาวดอกมะลิ 105

Abstract

The study investigated the differences in the antioxidant activity and bioactive compounds of germinated rice, milk rice, dough rice, and brown rice of KDML 105. In general, the concentration of total phenolic content of germinated rice was highest ($p \leq 0.05$) (331.97±8.17 mg GAE/100 g DW). Germinated rice was the highest antioxidant activities of total antioxidant capacity and lipid peroxidation assay were found. However, the milk rice stage showed the highest DPPH radical scavenging activity. The results showed that the highest of thiamine, niacin and pyridoxine were found in brown rice (39.21±0.07 mg/100 g DW). germinated rice (41.93±0.05 mg/100g DW) and milk rice (17.88±0.03mg/100 g DW), respectively. In addition, both brown rice and milk rice demonstrated the highest of α-tocopherol (318.48±6.36 mg/100 g DW and 308.09±5.85 mg/100 g DW) while germinated rice demonstrated the highest of γ-oryzanol was observed in the germinated rice (355.00±7.07 mg/100 g DW). The results confirmed that the germination process and milk rice for antioxidants is a functional food, which can increase the release of value-added compounds from rice.

Keywords: Bioactive compound, Antioxidant activity, Khao khaow dawk Mali 105

บทนำ

ข้าวเป็นพืชส่งออกอันดับที่ 1 ของประเทศไทย สถิติการส่งออกข้าวในปี 2563-2564 มีอันดับการส่งออกข้าวมากที่สุดในโลก มีมูลค่าการซื้อขายมากกว่า 6 ล้านตัน (ประชาชาติธุรกิจ, 2564) ข้าวเป็นอาหารที่นิยมรับประทานเป็นอาหารหลักของคนเอเชีย เช่น ไทย ญี่ปุ่น พม่า ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย อินเดีย และจีน เป็นต้น ข้าวถือเป็นอาหารหลักของคนเอเชีย ได้แก่ ประเทศไทย จีน ญี่ปุ่น อินเดีย เวียดนาม อินโดนีเซีย มีสองประเภทได้แก่ ข้าวเหนียว และข้าวเจ้า ข้าว (Rice) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวในตระกูล *Oryza sativa* ในวงศ์ Gramineae ข้าวเอเชียแบ่งเป็น 3 ชนิดย่อย ได้แก่ จากปอนิกา (Japonica) อินดิกา (Indica) และจาวานิกา (Javanica) โดยข้าวไทยจัดอยู่ในกลุ่มอินดิกา (*Oryza sativa* spp. Indiaca) มีพันธุ์ข้าวดีเด่นและรู้จักแพร่หลายทั่วโลกคือข้าวหอมมะลิประกอบด้วย 2 พันธุ์ คือ ขาวดอกมะลิ 105 และ กข 15 ซึ่งเป็นข้าวหอมชั้น 1 ที่ได้รับความนิยมเนื่องจากมีคุณภาพการหุงต้มดีมาก กล่าวคือเมื่อสุกจะนุ่มและมีกลิ่นหอมน่ารับประทาน ข้าวขาวดอกมะลิ 105 จัดเป็นข้าวเจ้าที่อยู่ในกลุ่มข้าวอินเดียคา มีลักษณะเมล็ดยาวเล็ก เรียว มีกลิ่นหอมคล้ายดอกมะลิ เนื่องจากมีสารให้กลิ่นที่มีกลิ่นหอมคล้ายใบเตย (นฤมล, 2555) สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าว เช่น สารแอลฟาโทโคเฟอรอล สารประกอบฟีนอลิก สารแกมม่าออไรซานอล (γ-Oryzanol) สารแกมม่าอะมิโนบิวทิริก (γ-Aminobutyric acid; GABA) ในข้าวสามารถยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดปฏิกิริยาของแอลดีแอลออกซิเดชั่น (LDL oxidation) ยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ ต่อต้านและยับยั้ง โรคบางชนิด เช่น โรคหลอดเลือดตีบตัน โรคหัวใจ โรคความดันโลหิต ต่อต้านการอักเสบ ตลอดจนโรคมะเร็ง (Chen and Bergman, 2005;. Komatsuzaki, et al., 2007; Moongngarm, and Saetung, 2010; Jannoey, et al., 2011)

Butsat et al. (2009) ได้แบ่งการเจริญของข้าวเป็น 5 ระยะการเจริญ ได้แก่ ระยะดอก เวลา 0-7 วัน (Flowering) ระยะน้ำนม (Milk grain) ระยะเวลา 8-14 วันหลังออกดอก เมล็ดมีลักษณะเหลวเหมือนน้ำเปลือกมีสีเขียว โดยที่เมล็ดไม่สามารถแกะออกจากเปลือกข้าวได้ ระยะแป้งหรือระยะที่มีเปลือกสีเหลืองถึงสีเขียวระยะเวลา 15-21 วัน หลังการออกดอก เมล็ดมีสีเขียวมีจมูกข้าวและสามารถแกะเปลือกได้หรือข้าวเม่าเมล็ด และคัภพะมีลักษณะแข็งมีสีเขียวปนสีขาวนวล เปลือกมีสีเขียวมีกลิ่นหอม (Dough grain) ระยะเต็มวัยนับระยะ 22-28 วันหลังการออกดอก เป็นระยะที่เมล็ดข้าวมีความสมบูรณ์

มีเอนโดสเปิร์มหรือจมูกข้าวเปลือกมีสีน้ำตาล (Maturity) และระยะสุกนับจากวันออกดอก 29-35 วัน เป็นระยะที่เมล็ดข้าวและเปลือกมีสีน้ำตาลเมื่อเมล็ดข้าวมีความแก่เพิ่มขึ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิก และความสามารถต้านอนุมูลอิสระก็ลดตามระยะข้าวที่แก่เพิ่มขึ้น

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญรวมทั้งฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระและปริมาณวิตามินบี สาร γ-Oryzanol ปริมาณวิตามินอี α-Tocopherol ในพันธุ์ข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในกรรมวิธีการผลิตข้าวงอก และระยะการเจริญของข้าวที่ใช้บริโภค เช่น ข้าวระยะน้ำนม ข้าวเม่า และข้าวกล้องโดยวิธี HPLC เพื่อใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพต่อไป

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการ

1. อุปกรณ์และสารเคมี

น้ำขจัดไอออน เฮกเซน โพทัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต เอทานอล โซเดียมคาร์บอเนต จาก BDH สาร 2,2-dipheny-1-picryl-hydrazil (DPPH) สารมาตรฐานวิตามินบี ได้แก่ วิตามินบี 1 หรือไทอะมีน (Thiamine) วิตามินบีสาม หรือไนอะซีน (Niacin) วิตามินบี 6 หรือไพริดรอกซิน (Pyridoxine) วิตามินอีหรือแอลฟ่าโทโคเฟอรอล (α-Tocopherol) สารแกมม่าออไรซานอล (γ-Oryzanol) ยี่ห้อซิกม่า (Sigma Aldrich St, Louis, MO, USA) อะซิโตไนไตรท์ เมทานอล สำหรับใช้เทคนิคการตรวจสารแบบ HPLC (Orec, New Zealand) Folin–Ciocalteu reagent กรดแกลลิก (Gallic acid) (Merck, Darmstadt, Germany)

2. การเตรียมตัวอย่าง

นำตัวอย่างข้าวในระยะการเจริญของเมล็ดข้าว 4 ชนิด ได้แก่ ข้าวงอก ข้าวน้ำนม ข้าวเม่า และข้าวกล้อง ของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในแปลงทดลอง ที่เพาะปลูกในแปลงเดียวกัน โดยมีกรรมวิธีในการผลิตข้าวแต่ละชนิด ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 กรรมวิธีการผลิตข้าวขาวดอกมะลิ 105 ที่ใช้ในการทดลอง

ชนิดของข้าว	ลักษณะของข้าว	กรรมวิธีในการผลิต
ข้าวงอก	ใช้ข้าวเปลือก ที่สุกเต็มที่ และมีการเกี่ยวข้าวตากแดดเพื่อลดความชื้น จากนั้นนำมาผ่านกระบวนการผลิตข้าวงอก ตามวิธีของ Moongngarm and Saetung (2010)	-โดยใช้ข้าวเปลือกมาแช่น้ำเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการรดน้ำให้ชุ่มทุก 4 ชั่วโมง เป็นเวลา 48 ชั่วโมง -ทำการอบแห้งโดยเครื่องทำแห้งแบบตู้อบลมร้อน Hot air oven ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เวลา 4 ชั่วโมง นำไปสีข้าวเอาเปลือกออก สำหรับข้าวน้ำนมใช้ทั้งรวงข้าวบดเอาแต่น้ำแล้วนำไปอบแห้งที่ อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง บดให้ละเอียด ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 80 เมช เก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส
ข้าวน้ำนม	นับอายุ 14-15 วันหลังออกดอกเป็นระยะเอนโดสเปิร์มเริ่มพัฒนามีลักษณะเป็นน้ำนม เมล็ดยังไม่แข็ง ตามวิธีของ Butsatt et al. (2009)	ข้าวน้ำนม ได้มามาคั้นน้ำ ด้วยเครื่องคั้นน้ำแบบ Screw press กรองเอาแต่น้ำ 55 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง บดให้ละเอียด ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 80 เมช เก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

ข้าวเม่า	นับอายุ 15-21 วันหลังออกดอก เมล็ดแก่สมบูรณ์เนื้อเมล็ดมีลักษณะสีเขียว เอนโดสเปิร์มมีลักษณะแข็ง เปลือกหุ้มเมล็ดมีสีเขียว ตามวิธีของ Butsat et al. (2009)	ข้าวเม่า จากนั้นนำเมล็ดข้าวไปคั่วให้สุกแล้วนำข้าวไปตำด้วยครกเพื่อแยกเอาเปลือกออก 55 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง บดให้ละเอียด ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 80 เมช เก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส
ข้าวกล้อง	นับอายุ 30 วันหลังออกดอกเมล็ดจะมีลักษณะสุก เอนโดสเปิร์มมีลักษณะใสหรือขุ่นหากเป็นข้าวเจ้ามีสีใสเหนียวจะมีสีขุ่น เปลือกหุ้มเมล็ดมีสีน้ำตาลตามวิธีของ Butsat et al. (2009)	นำข้าวเปลือกมาสีเป็นข้าวกล้อง อบแห้ง 55 องศาเซลเซียส เวลา 24 ชั่วโมง บดให้ละเอียด ร่อนด้วยตะแกรงขนาด 80 เมช เก็บที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก

การวิเคราะห์หาสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ดัดแปลงจากวิธีของ Moongngarm and Saetung (2010) ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม สกัดด้วยเมทานอล 50 มิลลิลิตร นำไปปั่นด้วยเครื่องปั่นน้ำผลไม้เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมาสกัดด้วยเครื่อง Ultrasonic bath เป็นเวลา 10 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และเบอร์ 4 ตามลำดับ ปิเปตสารสกัดหยาบปริมาตร 0.25 มิลลิลิตร ใส่ในขวดแก้วรูปชมพู่ ขนาด 25 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-ciocalteu reagent (อัตราส่วนของ Folin-ciocalteu ต่อน้ำเท่ากับ 1:1) เพื่อให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อน จากนั้นปิเปตสารละลาย Folin-ciocalteu 1.25 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ 30 นาที เติมสารละลาย Sodium carbonate ความเข้มข้น ร้อยละ 10 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 3.75 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 25 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 2 ชั่วโมง นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ในการเตรียมตัวอย่างควบคุม ให้ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง ในการเตรียมสารละลายมาตรฐานเตรียมจากสารละลายกรดแกลลิก (Gallic acid) ที่มีความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ทดลองเช่นเดียวกับสารตัวอย่าง นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาทำกราฟมาตรฐานแล้วคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างโดยใช้สมการจากกราฟมาตรฐาน รายงานผลเป็นมิลลิกรัม GAE/100กรัม DW ต่อจากกราฟมาตรฐาน

4. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity จากวิธีของ วิภาวดี และคณะ (2556) โดยทำการชั่งสาร DPPH 0.01 กรัม แล้วละลายด้วยเมทานอล 250 มิลลิลิตร จะได้ความเข้มข้น ร้อยละ 0.004 อย่าให้ถูกแสง เนื่องจากเป็นสารที่ไวต่อแสงมาก ปิเปตสารสกัดหยาบจากข้อ 3 ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย DPPH ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วไปตั้งไว้ในที่มืดให้เกิดปฏิกิริยา 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร จากนั้นนำมาวัดค่าการดูดกลืนแสง Spectrophotometer คำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระจากสมการ (1) และนำไปคำนวณความเข้มข้นครึ่งหนึ่งที่สามารถยับยั้งปฏิกิริยาได้ (50 Inhibition concentration; IC50)

$$\frac{(\mathrm{Ac}-\mathrm{Ab})\times 100\%}{\mathrm{Ac}} \qquad (1)$$

Ac = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างควบคุม

Ab = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

5. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Total antioxidant capacity

การสกัดฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดัดแปลงจากวิธีของ Moongngarm and Saetung (2010) เติมสารสกัดข้าวความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 0.5 มิลลิลิตร เติมสารละลายกรดซัลฟูริก (Sulfuric acid) 0.6 มิลลิลิตร เติมสารละลายโซเดียมฟอสเฟต (Sodium phosphate) 28 มิลลิโมล และสารแอมโมเนียมโมลิบเดต (Ammonium moly date) 4 มิลลิโมล ปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำมาบ่มที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จากนั้นทิ้งไว้ให้เย็น วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 659 นาโนเมตร คำนวณฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระตามสมการ (1)

6. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Lipid peroxidation

การศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในระบบน้ำมัน ดัดแปลงจากวิธีของ Dasgupla et al. (2004) เป็นวิธีการวัดค่าการต้านอนุมูลอิสระที่ดัดแปลงมาจากวิธีไทโอบาร์บิทิริกแอซิค TBARS (Thiobarbutiric acid) เพื่อวัดการเกิดสารมัลโลนัลดีไฮด์ในปฏิกิริยาออโตออกซิเดชั่นของไขมันและน้ำมันในอาหาร (Lipid peroxidation) โดยนำไข่แดงมาทำการตีเม็ดไขมันให้แตกโดยเครื่องโฮโมจีไนซ์เพื่อตีปั่นไขมันในไข่แดงให้แตกตัว นำตัวอย่างจำนวน 1.0 มิลลิลิตร เติมสารสกัดข้าวความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร จำนวน 0.2 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่นอีก 0.8 มิลลิลิตร เติมสารละลายเฟอริกซัลเฟต ($FeSO_4$) ความเข้มข้น 0.07 โมล จำนวน 0.1 มิลลิลิตร เพื่อเป็นการเหนี่ยวนำปฏิกิริยาออโตออกซิเดชั่นของไขมันในไข่ด้วยการนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติมกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 20 (pH 3.5) จำนวน 3 มิลลิลิตร เติมสารละลาย ไทโอบาร์บิทิริกแอซิค ความเข้มข้น ร้อยละ 0.8 (w/v) ในสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulphate) ความเข้มข้นร้อยละ 1.1 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ทำให้เย็น แล้วเติมสารบิวทานอล (Butanol) ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบ/นาที เป็นเวลา 10 นาที นำเฉพาะส่วนใสไปวัดโดยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร คำนวณการยับยั้งปฏิกิริยาตามสมการ (1)

7. การวิเคราะห์สารกลุ่มวิตามินบีด้วยเครื่อง HPLC

ทำการวิเคราะห์สารกลุ่มวิตามินบีในข้าวตามวิธีของ Moongngarm and Saetung (2010) ทำการชั่งตัวอย่าง 10 กรัม เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร ทำการผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมาเขย่าด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิคเป็นเวลา 20 นาที นำตัวอย่างที่ได้มากรองด้วยกระดาษเบอร์ 1 และเบอร์ 4 นำเฉพาะส่วนใสมา จากนั้นนำไปทำการระเหยให้แห้งโดยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศสามารถหมุนได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จนกว่าจะแห้ง (Rotary evaporator) ละลายกลับด้วยน้ำขจัดอิออน (Deionize water) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และกรองด้วยที่กรองสารแบบจานชนิดไนลอนยี่ห้อ Whatman ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร นำสารที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณไทอะมีน (Thiamine) ไนอะซิน (Niacin) ไพริดรอกซิน (Pyridoxine) ด้วยเครื่องวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC (High Performance Liquid Chromatography, LC-20A pump, SIL-20A autoinfection, Shimadzu, Japan)

ใช้ HPLC guard column inertsil ODS-3 ขนาดรูพรุน 5 ไมโครเมตร คอลัมน์วิเคราะห์ยี่ห้อ Shimazu ชนิด ODS-inertsil (C18) ขนาดของคอลัมน์ 150×4.5 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางของรูพรุน 4 ไมโครเมตร (Shimazu, Japan) ใช้เฟสเคลื่อนที่ประกอบด้วยเมทานอลและสารละลายโพแทสเซียมฟอสเฟต (Potassium phosphate) ความเข้มข้น 0.05 โมล (pH 6.5) ให้อัตราการไหลของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ประกอบด้วยเมทานอลและน้ำขจัดอิออน ทำการเปลี่ยนอัตราส่วนของเมทานอลและน้ำตลอดการวิเคราะห์ โดยที่เวลาเริ่มต้นให้ เมทานอล:น้ำ (90:10) เป็นเวลา 10 นาที อัตราการไหลเป็น 1 มิลลิลิตร/นาที จากนั้นให้ เมทานอลเป็นร้อยละ 100 ที่เวลา 12 นาที อัตราการไหลเป็น 0.9 มิลลิลิตร/นาที จนกระทั่งเวลาที่ 25 นาที ทำการฉีดสารตัวอย่างที่ปริมาตร 20 ไมโครลิตร (เครื่อง HPLC, LC-20A pump, SIL-20A

autoinfection, Shimazu, Japan) วัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องตรวจวัดสัญญาณแบบยูวี (UV detector) ที่ความยาวคลื่น 325 นาโนเมตร (UV detector, HPLC, SPD-20A, Shimazu, Japan)

8. การวิเคราะห์ปริมาณแอลฟ่าโทโคเฟอรอลและแกมม่าออไรซานอล (α-Tocopherol และ γ-Oryzanol) ด้วยเครื่อง HPLC

ทำการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินอีในข้าวระยะต่าง ๆ ดัดแปลงจากวิธีของ Chen and Bergman (2005) และวิธีของ Jannoey, et al. (2011) ชั่งตัวอย่าง 10 กรัม นำไปสกัดด้วยไอโซโพรพานอลและไดคลอโรมีเทน (2-Propanol dichrolomethane) ด้วยอัตราส่วน (2:1) ปิเปตมา 60 มิลลิลิตร นำมาปั่นผสมด้วยเครื่องปั่นด้วยเครื่องโฮโมจีไนซ์เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นนำมาเขย่าด้วยเครื่องอัลตร้าโซนิคเป็นเวลา 20 นาที กรองตัวอย่างด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 และ เบอร์ 4 ตามลำดับ จากนั้นนำไปทำการระเหยให้แห้งโดยเครื่องทำแห้งแบบสุญญากาศสามารถหมุนได้ (Rotary evaporator; Buchi, Switzerland) แล้วทำการละลายกลับด้วยสารละลายผสมของ (2-propanol dichrolomethane (2:1) ปริมาตร 4 มิลลิลิตร และกรองด้วยที่กรองสารแบบจานชนิดไนลอนยี่ห้อ Whatman ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 0.45 ไมโครเมตร นำสารที่ได้มาวิเคราะห์หาปริมาณสารแอลฟ่าโทโทเฟอรอลและแกมม่าออไรซานอลพร้อมกัน ด้วยเครื่องวิเคราะห์ของเหลวสมรรถนะสูงหรือ HPLC โดยใช้คอลัมน์ชนิด intensil- NH_2 ขนาด 4.6×220 มิลลิเมตร เส้นผ่าศูนย์กลางของรูพรุนขนาด 5 ไมโครเมตร (Zhimadzu, Japan) ส่วนเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ประกอบด้วยเมทานอลและน้ำทำการเปลี่ยนอัตราส่วนของเมทานอลและน้ำตลอดการวิเคราะห์ โดยที่เวลาเริ่มต้นให้ เมทานอล:น้ำขจัดอิออน (90:10) เป็นเวลา 10 นาที อัตราการไหลเป็น 1 มิลลิลิตร/นาที จากนั้นให้ เมทานอลเป็นร้อยละ 100 ที่เวลา 12 นาที อัตราการไหลเป็น 0.9 มิลลิลิตร/นาที จนกระทั่งเวลาที่ 25 นาที โดยฉีดตัวอย่างปริมาตร 20 ไมโครลิตร (เครื่อง HPLC, LC-20A pump, SIL-20A autoinjection, Zhimadzu, Japan) วัดค่าการดูดกลืนแสงโดย UV detector ที่ความยาวคลื่น 325 นาโนเมตร (เครื่องตรวจรับสัญญานแบบ UV detector, HPLC, SPD-20A, Zhimadzu, Japan)

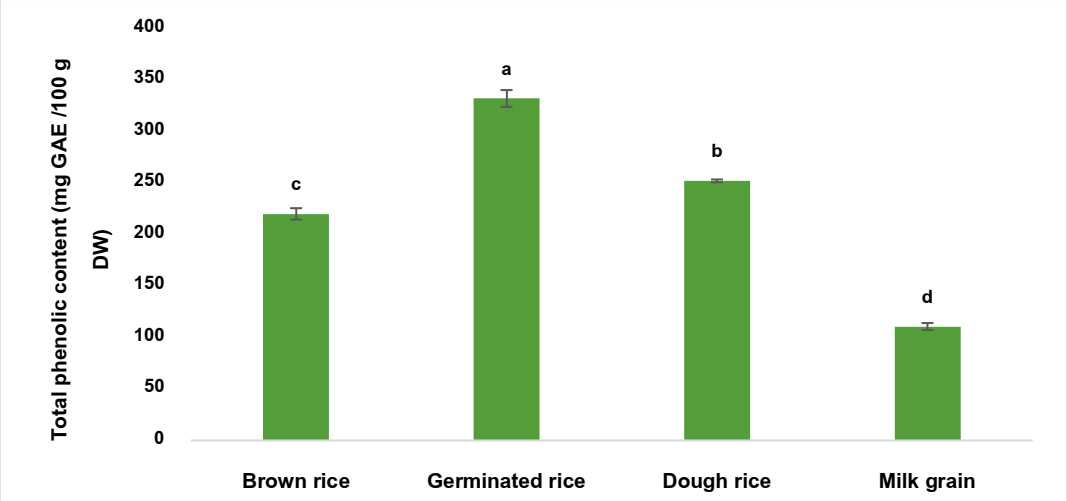
9. การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ (n=3) วิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ผลการวิจัย

1. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ผลการทดลองปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในข้าวขาวดอกมะลิ 105 ทั้ง 4 ระยะ ดังรูปที่ 1 พบว่า ในข้าวงอก (Germinated rice) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) 331.97±8.17 มิลลิกรัม GAE/100 กรัมน้ำหนักแห้ง รองลงมาได้แก่ ข้าวเม่า (Dough rice) ข้าวกล้อง (Brown rice) และข้าวน้ำนม (Milk rice) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 251.99±11.40, 219.95±5.54 และ 110.61±3.37 มิลลิกรัม GAE/ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ตามลำดับ



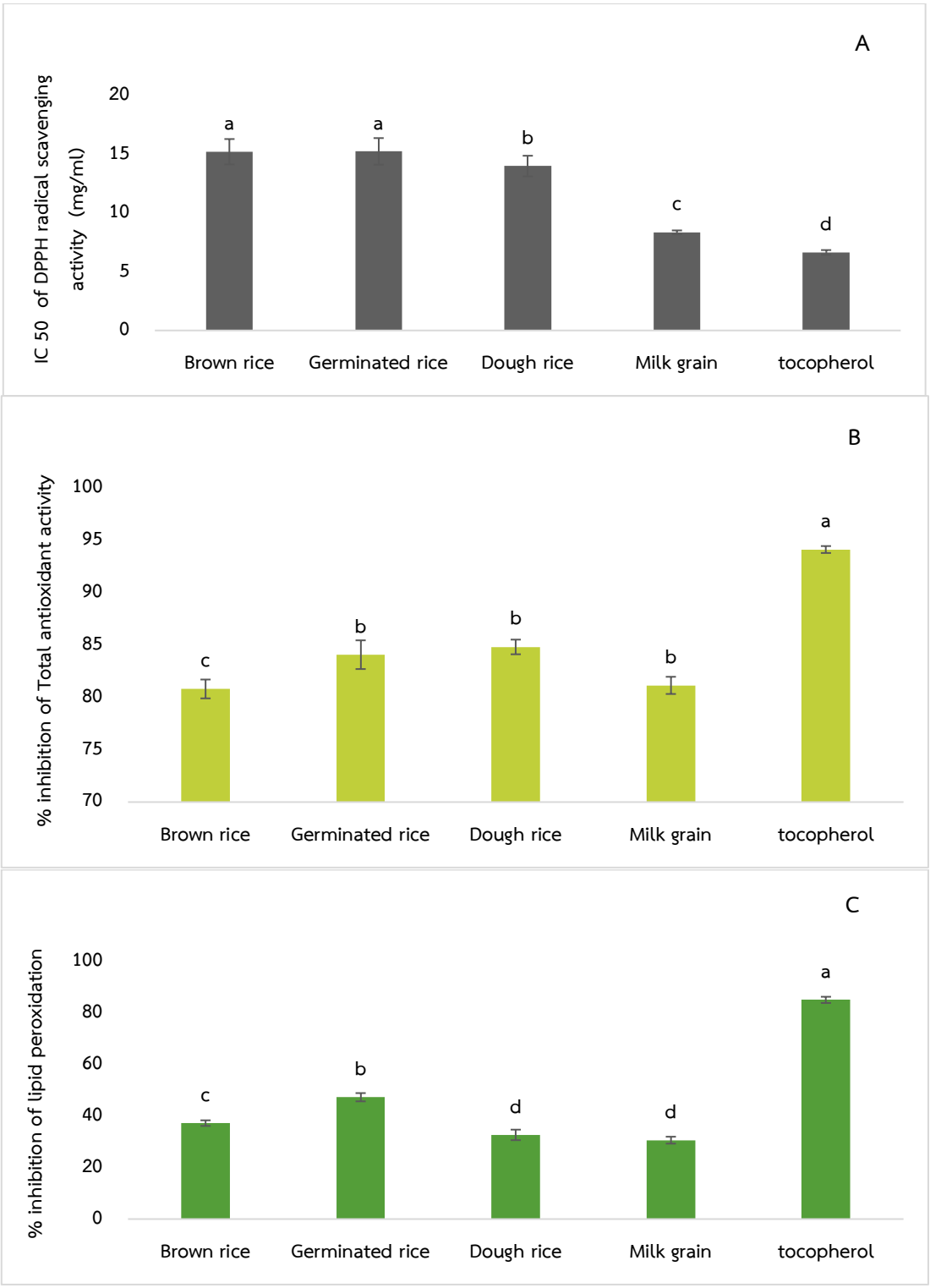
รูปที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในตัวอย่างข้าวระยะต่าง ๆ ของข้าวขาวดอกมะลิ 105 (Brown rice): ข้าวกล้อง, (Germinate rice): ข้าวงอก (Dough rice) และ น้ำนมข้าว (Milk rice):

2. ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH Radical Scavenging Activity พบว่า สารวิตามินอี หรือ แอลฟ่าโทโคเฟอรอล (α-Tocopherol) ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบ) มีค่า IC50 (50% Inhibition concentration) ค่าต่ำซึ่งหมายถึงมีการต่อต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($p \leq 0.05$) คือ IC50 6.64±0.20 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร รองลงมาได้แก่ ข้าวน้ำนม ข้าวเม่า และข้าวกล้อง ข้าวน้ำนมมีค่า IC50 8.35±0.15 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ข้าวเม่า 13.98±0.88 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ข้าวงอก15.23±3.13 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และข้าวกล้อง 15.20±1.08 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร น้ำหนักแห้งตามลำดับ ดังรูปที่ 2A

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระทั้งหมดด้วยวิธี Total antioxidant capacity ดังแสดงในรูปที่ 2B พบว่า สาร α-Tocopherol มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($p \leq 0.05$) ร้อยละ 94.11±0.33 รองลงมาได้แก่ รองลงมา ได้แก่ ข้าวเม่า ข้าวงอก ข้าวน้ำนม และข้าวกล้อง ตามลำดับ มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระข้าวเม่า ร้อยละ 84.81±0.70 ข้าวงอก ร้อยละ 84.07±1.37 ข้าวน้ำนม ร้อยละ 81.14±0.82 และข้าวกล้องร้อยละ 80.80±0.90 ตามลำดับ

ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Lipid peroxidation ในส่วนน้ำมันและไขมัน ดังแสดงในรูปที่ 2C พบว่า สาร α-Tocopherol มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด ($p \leq 0.05$) ร้อยละ 52.17±6.21 รองลงมาได้แก่ข้าวงอก ข้าวกล้อง ข้าวเม่าและข้าวน้ำนม ตามลำดับ โดยข้าวงอกมีฤทธิ์ยับยั้งร้อยละ 47.32±1.60 ข้าวกล้องร้อยละ 37.26±1.09 ข้าวเม่าร้อยละ 32.69±2.04 และข้าวน้ำนมร้อยละ 30.64±1.34 ตามลำดับ



รูปที่ 2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของข้าวชนิดต่าง ๆ ของข้าวขาวดอกมะลิ 105 A; IC50 ของวิธี DPPH Radacal Scavenging Activity, B; % การยับยั้งของวิธี Total antioxidant capacity, C; % การยับยั้งของวิธี Lipid peroxidation : ของข้าวขาวดอกมะลิ 105 (Brown rice): ข้าวกล้อง, (Germinate rice): ข้าวงอก (Dough rice) และ น้ำนมข้าว (Milk rice)

3. ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวระยะต่าง ๆ

ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวทั้ง 4 ชนิด รูปที่ 3 โครมาโทรแกรมสารกลุ่มวิตามินบี พบว่าข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในระยะข้าวกล้องมีปริมาณไทอะมีนหรือวิตามินบี 1 ในข้าวกล้องสูงสุด ($p \leq 0.05$) 39.21±0.07 mg/100 g DW รองลงมาได้แก่ ข้าวน้ำนม 8.93±0.07 mg/100 g DW ข้าวงอก 5.87±0.07 mg/100 g DW และข้าวเม่า 5.26±0.06 mg/100 g DW ตามลำดับ

ปริมาณไนอะซินหรือวิตามินบี 3 พบมากที่สุด ($p \leq 0.05$) ในข้าวงอก 41.93±0.05 mg/100 g DW รองลงมาได้แก่ ข้าวเม่า 19.15±0.01 mg/100 g DW ข้าวน้ำนม 12.16±0.01 mg/100 g DW และข้าวกล้อง 9.88±0.02 mg/100 g DW ตามลำดับ

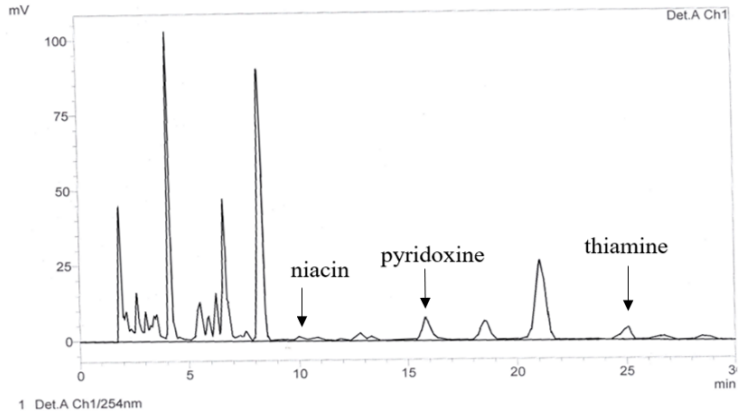
ปริมาณไพริดรอกซิน หรือวิตามินบี 6 พบมากที่สุด ($p \leq 0.05$) ในข้าวน้ำนม 17.88±0.03 mg/100 g DW รองลงมาได้แก่ ข้าวเม่า 13.45±0.05 mg/100 g DW ข้าวงอก 11.49±0.04 mg/100 g DW และข้าวกล้อง 9.38±0.04 mg/100 g DW ตามลำดับ ดังตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ปริมาณวิตามินบีของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ชนิดต่าง ๆ

ชนิดของข้าว	ไทอะมีน (วิตามินบี 1) (mg/100 g DW)	ไนอะซิน (วิตามินบี 3) (mg/100 g DW)	ไพริดรอกซิน (วิตามินบี 6) (mg/100 g DW)
ข้าวงอก	5.87±0.07^{c}	41.93±0.05^{a}	11.49±0.04^{c}
ข้าวน้ำนม	8.93±0.07^{b}	12.16±0.01^{c}	17.88±0.03^{a}
ข้าวเม่า	5.26±0.06^{c}	19.15±0.01^{b}	13.45±0.05^{b}
ข้าวกล้อง	39.21±0.07^{a}	9.88±0.02^{d}	9.38±0.04^{d}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

a-d ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)



รูปที่ 3 โครมาโทรแกรมสารกลุ่มวิตามินบี ในข้าวน้ำนมของข้าวขาวดอกมะลิ 105

ปริมาณสาร α-Tocopherol ในข้าวกล้องและข้าวน้ำนม มีปริมาณสูงสุด ($p \leq 0.05$) 318.48±6.36 และ 308.09±5.85 mg/100 g DW ตามลำดับ รองลงมาได้แก่ข้าวเม่า 258.81±5.65 mg/100 g DW และข้าวงอก 249.64±8.06 mg/100 g DW ปริมาณสาร γ-Oryzanol ในข้าวงอกมีปริมาณมากที่สุดได้แก่ 355.00±7.07 mg/100 g DW รองลงมาได้แก่ ข้าวเม่า 258.81±5.65 มิลลิกรัม/100 กรัมน้ำหนักแห้ง และข้าวงอก 249.64±8.06 mg/100 g DW ตามลำดับ ปริมาณสาร

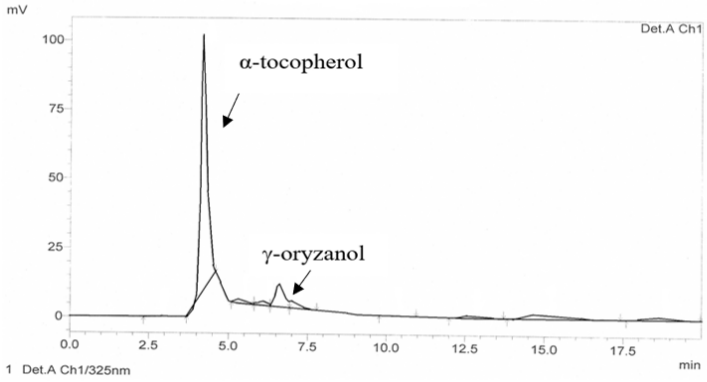
γ-Oryzanol ในข้าวงอกมีปริมาณสูงสุด (p≤0.05) มีปริมาณ 355.00±7.07 mg/100 g DW ข้าวน้ำนม 328.93±8.31 mg/100 g DW ข้าวกล้อง 317.00±0.71 mg/100 g DW และข้าวเม่า 328.93±8.31 mg/100 g DW ตามลำดับ ดังตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ชนิดต่างๆ

ชนิดของข้าว	แอลฟ่าโทโคเฟอรอล (α-Tocopherol) (mg/100 g DW)	แกมม่าออไรซานอล (γ-Oryzanol) (mg/100 g DW)
ข้าวงอก	249.64±8.06 ^{c}	355.00±7.07^{a}
ข้าวน้ำนม	308.09±5.85^{ab}	328.93±8.31^{b}
ข้าวเม่า	258.81±5.65^{c}	270.87±7.40^{c}
ข้าวกล้อง	318.48±6.36 ^{a}	317.00±0.71^{b}

หมายเหตุ: ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (n=3)

a-d ตัวอักษรที่แตกต่างกันในแนวตั้งเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (p≤0.05)



รูปที่ 4 โครมาโทรแกรมสาร α-Tocopherol และสาร γ-Oryzanol ในข้าวน้ำนมของข้าวขาวดอกมะลิ 105

การอภิปรายผล

จากการทดลองชี้ให้เห็นว่าเมื่อข้าวที่เก็บเกี่ยวในระยะการเจริญของเมล็ดที่แตกต่างกัน ได้แก่ ข้าวน้ำนม ข้าวเม่า และข้าวกล้อง รวมทั้งกระบวนการผลิตเพื่อทำข้าวงอก จากการทดลองเห็นได้ว่าข้าวงอกมีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงเมื่อทดสอบด้วยวิธี Total antioxidant activity และวิธี Lipid peroxidation เนื่องจากมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในปริมาณที่สูงขึ้นอย่างเห็นได้ชัด ผลการศึกษาของ Ti et al. (2014) พบว่า ข้าวกล้องงอก มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้นกว่า ร้อยละ 63.2 ในขณะที่ข้าวกล้องมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก ร้อยละ 23.6 เนื่องจากกระบวนการงอกข้าวช่วยทำให้สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่อยู่ในรูปของ Bound form (สารประกอบฟีนอลิกที่ติดกับผนังเซลล์) 106.6 mg GAE/100 g DW เปลี่ยนเป็นรูป Free from (สารประกอบฟีนอลิกในรูปอิสระ) 177.2 mg GAE/100 g DW (Moongngarm and Saetung, 2010) นอกจากนี้ Moongngarm and Saetung (2010) ได้ทำการเปรียบเทียบปริมาณองค์ประกอบทางเคมีและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวเปลือกงอกของข้าวกล้องพันธุ์ กข 6 พบว่า มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้นจากข้าวกล้อง 70.3 mg GAE/100 g DW ในข้าวเปลือกงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงขึ้น 84.2 mg GAE/100 g DW ซึ่งชนิดของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่สำคัญในข้าว ได้แก่ กรดแกลลิก (Gallic acid) กรดทรานเฟอรูริก (Trans-ferulic acid) กรดซิแนปพิก (Sinapic acid) กรดไฮดรอกซิลเบนโซอิก (Hydroxy-benzoic acid) กรดโฟโตคัทชูอิก (Proto-catechuic

acid) กรดวาลิลิก (Vanillic acid) เคอซิทิน (Quercetin) กรดคูมาริก (Coumaric acid) กรดไซริงจิก Syringic acid เป็นต้น (Tian and Nakamura, 2004; Shao et al., 2014; Punnongwa et al., 2022) เนื่องจากกระบวนการเมตาบอลิซึมของเมล็ดข้าวที่ระยะการเจริญต่าง ๆ มีการสังเคราะห์สารสำคัญที่แตกต่างกันไป เมื่อข้าวมีอายุยังน้อยมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพบางชนิดในปริมาณสูง ได้แก่ ข้าวน้ำนม และข้าวงอก มีสาร α-Tocopherol ในขณะที่ข้าวงอกมีปริมาณสาร γ-Oryzanol ส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี Lipid peroxidation สูงสุดในข้าวงอก และวิธี Total antioxidant activity สูงสุด ($p \leq 0.05$) เนื่องจากกระบวนการงอกของข้าวกระตุ้นให้เกิดการสังเคราะห์สาร α-Tocopherol และสาร γ-Oryzanol สาร GABA สารประกอบฟีนอลิก ให้มีปริมาณสูงขึ้น ดังนั้นจึงส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของข้าวงอกให้สูงกว่าข้าวในระยะการเจริญอื่น ๆ (Moongngarm and Saetung, 2010; Ti et al., 2014) ข้าวน้ำนมมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Butsatt et al. (2009) พบว่า ข้าวที่มีระยะการเจริญในวัยอ่อนจะมีการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในปริมาณสูงเป็นระยะที่เมล็ดข้าวและเปลือกมีสีน้ำตาล เมื่อเมล็ดข้าวมีความแก่เพิ่มขึ้นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสามารถต้านอนุมูลอิสระก็ลดตามระยะข้าวที่แก่เพิ่มขึ้น นอกจากนั้นข้าวในระยะดอกและข้าวในระยะน้ำนมให้ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเช่น วิธี DPPH, FRAP และ ABTS รวมถึงมีปริมาสารประกอบฟีนอลิก และสารฟวาโวนอยด์มากกว่าข้าวในระยะสุก งานวิจัยของ Teravecharoenchai et al. (2021) ได้ทำการศึกษาปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของพบว่าข้าวเม่าของขาวดอกมะลิ 105 มีสารประกอบฟีนอลิก 95.87 mg GAE/100 g ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH 35.57 mg Trolox/100 g ตามลำดับ และงานวิจัยของ ฤทัยวรรณ (2564) ได้ทำการศึกษาสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญของข้าวขาวดอกมะลิ 105 ในข้าวหลังการออกดอกที่เวลา 12-18 วัน หลังข้าวขาวดอกมะลิ 105 ออกดอก พบสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์มากที่สุดเมื่อเวลา 12 วัน (ข้าวน้ำนม) 31.67 mg GAE/g และ 3.39 mg RE/g และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ FRAP มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดยับยั้งร้อยละ 90.88 และ 43.53 mmol $FeSO_4$/g ตามลำดับ เนื่องจากข้าวที่มีอายุยังน้อยพบสารฟีนอลิกบางชนิดในปริมาณสูง เช่น กรดโฟโตคัทชูอิก (Photocatechuic acid) กรดพาราไฮดรอกซิลเบนโซอิก (p-Hydroxylbenzoic acid) กรดคาเฟอิก (Caffeic acid) ในขณะที่ข้าวหลังการออกดอก 18 วัน (หรือข้าวเม่า) พบสารฟีนอลิกบางชนิดสูง เช่น กรดแกลลิก (Gallic acid) กรดพาราไฮดรอกซิลเบนโซอิก กรดคลอโรเจนนิก (Chlorogenic acid) กรดวาลิลิก (Vallic acid) กรดคลอโรเจนิก (Chlorogenic acid) กรดคาเฟอิก และกรดไซริงจิก (Syringic acic) ตามลำดับ เนื่องจากข้าวในระยะอ่อนมีการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพดังกล่าวมาในปริมาณสูง ดังนั้นจึงส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระดังกล่าว เนื่องจากมีการเปลี่ยนแปลงด้านเมตาบอลิซึมภายในเมล็ด สารที่ออกฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระนอกเหนือจากสารประกอบฟีนอลิกแล้ว ยังมีสาร α-Tocopherol และสาร γ-Oryzanol ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระสูงมีกลไกการออกฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของแต่ละระบบการทดสอบมีกลไกในการยับยั้งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่แตกต่างกันออกไป เช่น น้ำนมข้าวมีสาร α-Tocopherol และสาร γ-Oryzanol ในปริมาณใกล้เคียงกับข้าวงอก จากผลการทดสอบด้วยเครื่อง HPLC สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสองชนิดนี้ส่งผลยับยั้งอนุมูลของ DPPH สูงเนื่องจากสามารถให้ไฮโดรเจนอะตอมและอิเล็คตรอนกับอนุมูล DPPH และสามารถละลายในตัวทำละลายอินทรีย์เช่นเดียวกัน เพราะในการทดลองนี้ใช้การสกัดสารต้านอนุมูลอิสระด้วยเมทานอล ซึ่งระบบ DPPH ทำละลายด้วยเมทานอลนั่นเอง (Moongngarm and Saetung, 2010; Ti et al., 2014) สอดคล้องกับรายงานการศึกษาของ Yodpitak et al. (2013) ได้ทำการทดลองปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้อง และข้าวกล้องงอกในข้าวเหนียว กข 6 พบว่าปริมาณสาร α-Tocopherol สาร Tocotrienols และสาร γ-Oryzanol มีปริมาณสูงขึ้น นอกจากนั้นยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH สูงขึ้น มีค่า IC 50 ระหว่าง 0.30-1.06 mg/mL ปริมาณสาร Tocopherol ในช่วงระหว่าง 0.019-0.061 µg/g สาร γ-Oryzanol ในช่วงระหว่าง 6.50-26.4 µg/g และงานวิจัยของ Lin and Lai. (2011) พบว่าปริมาณสารประกอบ ฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์ ในข้าวสีแดง และข้าวญี่ปุ่น ในระหว่างที่เมล็ดข้าวเจริญจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและสารฟลาโวนอยด์สูงกว่าข้าวกล้อง ทั้งยังมีสารกรดเฟอรูริก สารแอลฟ่าโทโคเฟอรอล และสารแกมม่าออไรซานอลในข้าวแดงในระยะหลังออกดอก 19-18 วัน มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูง และรายงาน

การศึกษาของ Ng et al. (2013) ได้ทำการศึกษาเกิดกระบวนการเปลี่ยนแปลงสารโทโคเฟอรอล แกมม่าออไรซานอล ในข้าวกล้องงอก ระยะเวลาในการงอก 20 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส มีปริมาณโทโคเฟอรอล สูงขึ้นจาก 16.7 mg/kg DW เป็น 17.1 mg/kg DW ตามลำดับ เนื่องจากกระบวนการทำข้าวงอก ปัจจัยที่มีผลสำคัญคืออุณหภูมิ แสง อากาศ ความชื้น ออกซิเจน เกิดขบวนการเปลี่ยนแปลงในเมล็ดข้าวขณะที่ทำการงอก เช่น Amylolytic enzymes เกิดการย่อยสารกลุ่มคาร์โบไฮเดรต กระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ แอลฟ่าอะไมเลส (α-Amylase) ย่อยสลายพันธะ α-1,4 ในสายโมเลกุลแป้ง ทำให้สารสำคัญหลายชนิดมีปริมาณที่มากขึ้น เช่น น้ำตาล นอกจากนั้นยังกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ เบต้าอะไมเลส (β-Amylase) เกิดการย่อยโมเลกุลแป้งในข้าว เนื่องจากกระบวนการงอกของข้าวมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีสูง ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดสูงขึ้นเนื่องจากเกิดการปลดปล่อยสารประกอบฟีนอลิกในรูปแบบ Bound from จากผนังเซลล์ของเมล็ดข้าว ทำให้สารประกอบฟีนอลิก และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวมากขึ้นและมีเอนไซม์อะไมเลสย่อยแป้งเป็นน้ำตาล รวมถึงปริมาณสารอาหาร นอกจากนั้นยังพบว่ามีการทำงานของเอนไซม์โปรตีนเอส ส่งผลทำให้ข้าวงอกมีปริมาณโปรตีนลดต่ำลง กรดอะมิโนอิสระ สารวิตามินอี สารแกมม่าออไรซานอล ไทอะมีน ไนอะซิน และไพริดรอกซิน ในข้าวงอกมีปริมาณมากกว่าข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการงอก (Moongngarm and Saetung, 2010; Ti et al., 2014; Cho and Lim, 2016)

บทสรุป

จากการทดลองชี้ให้เห็นว่าเมื่อเมล็ดข้าวที่มีอายุยังน้อย เช่น ข้าวงอก ข้าวน้ำนม เนื่องจากกระบวนการงอกของเมล็ดข้าวมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีหลายประการ การปลดปล่อยฟีนอลิกที่อยู่บริเวณติดกับผนังเซลล์พืชมีมากขึ้น เนื่องจากมีเอนไซม์กลุ่มอะไมเลส ย่อยแป้งเป็นน้ำตาล นอกจากนั้นปริมาณสารอาหารชนิดต่าง ๆ เปลี่ยนแปลงไปในข้าวงอก และข้าวน้ำนม ซึ่งมีการสังเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพสำคัญคือ α-Tocopherol สาร γ-Oryzanol ส่งผลต่อฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระให้สูงขึ้นตามลำดับ นอกจากนั้นแล้วยังพบปริมาณออกฤทธิ์ทางชีวภาพในปริมาณสูงในข้าวที่มีระยะสุกเต็มที่หรือข้าวกล้องพบสารสำคัญบางประการ เช่น สารไทอะมีนหรือวิตามินบี 1 สาร α-Tocopherol สาร γ-Oryzanol สูงในข้าวกล้องเช่นกัน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงถือเป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพจากข้าวต่อไป เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์อาหารจากข้าว

กิตติกรรมประกาศ

ขอบคุณสาขาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเกษตรศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลอีสาน วิทยาเขตสุรินทร์ สถานที่ทำการทดลอง

เอกสารอ้างอิง

ประชาชาติธุรกิจ. (2564). ค้นเมื่อ 2 เมษายน 2565. https://www.prachachat.net/economy/news-820962

นฤมล ธนานันต์. (2555). การจำแนกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 และพันธุ์ปรับปรุงจากพันธุ์ขาวดอกมะลิ105 ด้วยเทคนิคแฮตอาร์เอพีดี. Thai Journal of Science and Technology. 1(3): 169-179.

ฤทัยวรรณ วงค์ตลาด. (2564). การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำนมข้าวยาคูเพื่อสุขภาพจากข้าวออร์แกนิค. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยมหาสารคาม. 94 หน้า.

วิภาวดี พันธ์หนองหว้า, ณัฐรดา จำปามี, กรุณรัตน์ สกุลนามรัตน์, ประทีป ตุ้มทอง, เกียรติชัย ดวงศรี และอนุชิตา มุ้งงาม. (2556). การเปรียบเทียบองค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญและการต้านอนุมูลอิสระของลูกหม่อน 3 สายพันธุ์. วารสาร มทร.อีสาน. 6(2): 69-81.

Butsat S., Weerapreeyakul N. and Siriamornpun S. (2009). Changes in phenolic acids and antioxidant activity in Thai Rice husk at five growth stages during grain development. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 57(11): 4566–4571.

Chen M.H. and Bergman C.J. (2005). A rapid procedure for analyzing rice bran tocopherol and γ-oryzanol contents. Journal of Food Composition and Analysis. 18(2–3): 139-151.

Cho D.H. and Lim. S.T. (2016). Review Germinated brown rice and its bio-functional compounds. Food Chemistry. 196(1): 259-271.

Chinma C.E., Anuonye J.C., Simon O.C., Ohiare R.O. and Danbaba, N. (2015). Effect of germination on the physicochemical and antioxidant characteristics of rice flour from three rice varieties from Nigeria. Food Chemistry. 185(15): 454-458.

Chungcharoen T., Prachayawarakorn S., Tungtrakul P. and Soponronnarit. (2015). Effects of germination time and drying temperature on drying characteristics and quality of germinated paddy. Food and Bioproduct Processing. 94: 707-716.

Dasgupta N. and B. De B. (2004). Antioxidant activity of *piper betle* L. leaf extract in vitro. Food Chemistry. 88(2): 219-224.

Jannoey P., Niamsup H., Lumyong S., Suzuki T., Katayama T., and Chairote, G. (2011). Comparison of gamma-aminobutyric acid production in thai rice grains. World Journal Microbiology and Biotechnology. 26: 257–263.

Jiamyangyuen S., Nuengchamnong N. and Ngamdee. P. (2017). Bioactivity and chemical components of Thai rice in five stages of grain development. Journal of Cerial Science. 74: 136-144.

Komatsuzaki N., Tsukahara K., Toyoshima H., Suzukic T. Shimizu and Kimura T. (2007). Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. Journal of Food Engineering. 78(2): 556–560.

Lin P.L. and Lai H.M. (2011). Bioactive compounds in rice during grain development. Food Chemistry. 127: 86-98.

Moongngarm A. and Saetung. N. (2010). Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. Food Chemistry. 122: 782–788.

Ng L.T., Huang S.H., Chen Y.T., and Su C.H. (2013). Changes of tocopherols, tocotrienols, γ-oryzanol, and γ-aminobutyric acid levels in the germinated brown rice of pigmented and nonpigmented cultivars. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 61: 12604–12611.

Punnongwa W., Sea-Eaw A., Sripui J. and Thawornchinsombut S. (2022). Application of mild-subcritical alkaline water extraction: optimum condition for phenolic antioxidant extracted from cold-pressed defatted KDML 105 rice bran and its phenolic profile. Food Research. 6(1): 120–131.

Shao Y., Xu F., Sun X., Bao J. and Beta T. (2014). Phenolic acids, anthocyanins, and antioxidant capacity in rice (*Oryza sativa* L.) grains at four stages of development after flowering. Food Chemistry. 145: 90-96.

Ti H., Zhang R., Zhang M., QingLi Q., Wei Z., Zhang Y., Tang X., Deng Y., Liu L. and Ma Y. (2014). Dynamic changes in the free and bound phenolic compounds and antioxidant activity of brown rice at different germination stages. Food Chemistry. 161(15): 337-344.

Tian S.U. and Nakamura K. (2004). Analysis of phenolic compound in white rice, brown rice, and germinated brown rice. Journal of Agricultural Food Chemistry. 52(15): 4804-4813.

Teravecharoenchai J., Chalermchaiwat P. and Thuwapanichayanan R. (2021). Principal component analysis application on nutritional, bioactive compound and antioxidant activities of pigmented dough grain. Changmai University Journal of Natural Science. 20(2): 1-10.

Youn Y.S., Park J.K., Jang H.D. and Rhee Y.W. (2011). Sequential hydration with anaerobic and heat treatment increases GABA (γ-aminobutyric acid) content in wheat. Food Chemistry. 129: 1631–1635.

Yodpitak S., Sookwong P., Akkaravessapong P. and Wongpornchai. (2013). Changes in antioxidant activity and antioxidative compounds of brown rice after pre-germination. Journal of Food and Nutrition Research. 1(6): 132-137.