

บทความวิจัย (Research Article)

การเปรียบเทียบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินในกลุ่มข้าวดิบและข้าวสุก 4 ชนิด

ชัชวิน เพชรเลิศ^{1,2*}, ธรรมบุญ แสงประทุม¹**Comparison of phenolic and anthocyanin content among four differences of raw and cooked rice**Chatchawin Petchlert^{1,2*}, Thammanoon Sangprathum¹¹ Department of Biochemistry, Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri Province 20131² Center of Excellence for Innovation in Chemistry (PERCH-CIC), Faculty of Science, Burapha University, Chon Buri Province 20131

* Correspondence to: chatchaw@buu.ac.th

Naresuan Phayao J. 2020;13(2):36-41.*Received: 31 May 2020; Revised: 17 August 2020; Accepted: 21 August 2020***บทคัดย่อ**

การศึกษามุ่งหมายกำหนดหาฟีนอลิกและแอนโทไซยานินของข้าวดิบและข้าวสุก 4 ชนิด แสดงฟีนอลิกหน่วยเป็นมก.สมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) เปรียบเทียบระหว่างข้าวดิบ|ข้าวสุก ของข้าวเหนียวดำ, ข้าวไรซ์เบอร์รี่, ข้าวหอมแม่พญาทองดำ และ ข้าวหอมมะลิ เท่ากับ 52.18 (0.01)|42.78 (0.07), 25.83 (0.02)|18.41 (0.10), 22.19 (0.01)|16.54 (0.01) และ 1.88 (0.01)|0.69 (0.01) ตามลำดับ ขณะที่แอนโทไซยานินหน่วยเป็นมก.สมมูลไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อกรัม (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) เปรียบเทียบระหว่างข้าวดิบ|ข้าวสุก ของข้าวเหนียวดำ, ข้าวหอมแม่พญาทองดำ, ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และ ข้าวหอมมะลิ เท่ากับ 88.97 (0.01)|9.49 (0.06), 12.68 (0.01)|2.43 (0.06), 6.67 (0.02)|0.63 (0.02) และ 3.26 (0.01)|0.006 (0.003) ตามลำดับ โดยข้อเท็จจริงการชวข้าวและการหุงข้าวสามารถลดปริมาณฟีนอลิกและแอนโทไซยานินได้

คำสำคัญ: ปริมาณฟีนอลิก, ปริมาณแอนโทไซยานิน, ข้าวดิบ, ข้าวสุก¹ ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131² ศูนย์ความเป็นเลิศด้านนวัตกรรมทางเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา อำเภอเมือง จังหวัดชลบุรี 20131

Abstract

The study is aimed to determine phenolic and anthocyanin content among 4 differences of raw and cooked rice. The phenolic content of raw|cooked rice in mg gallic acid equivalent (SD), among black sticky rice, riceberry, Khaohommaephyathongdam, and jasmine rice, were 52.18 (0.01)|42.78 (0.07), 25.83 (0.02)|18.41 (0.10), 22.19 (0.01)|16.54 (0.01) and 1.88 (0.01)|0.69 (0.01), respectively. While the anthocyanin content of raw|cooked rice in mg cyanidin-3-glucoside equivalent (SD), among black sticky rice, Khaohommaephyathongdam, riceberry, and jasmine rice, were 88.97 (0.01)|9.49 (0.06), 12.68 (0.01)|2.43 (0.06), 6.67 (0.02)|0.63 (0.02) and 3.26 (0.01)|0.006 (0.003), respectively. In fact, soaking before cooking and wet cooking can also reduce the phenolic and anthocyanin contents.

Keywords: Purple cooked rice, phenolic content, anthocyanin content

บทนำ

องค์ประกอบพฤกษเคมี (phytochemical constituent) ของพืชแบ่งเป็นสองหมวดหมู่ อิงบทบาทต่อกระบวนการเผาผลาญพื้นฐาน (basic metabolic process) เรียกผลิตภัณฑ์การเผาผลาญปฐมภูมิและทุติยภูมิ (primary and secondary metabolite) ผลิตภัณฑ์การเผาผลาญปฐมภูมิประกอบด้วยโมเลกุลขนาดเล็ก อย่างเช่น น้ำตาล กรดอะมิโน กรดไตรคาร์บอกซิลิก (ผลิตภัณฑ์ระหว่างทางของวัฏจักร Krebs) โปรตีน กรดนิวคลีอิก และโพลีแซ็กคาไรด์ คล้ายคลึงกันในทุกเซลล์มีชีวิต [1]

ผลิตภัณฑ์การเผาผลาญทุติยภูมิเป็นสาร ประกอบเคมีมากมายผลิตโดยเซลล์พืชผ่านเส้นทางเผาผลาญ ได้รับ (derive) จากเส้นทางการเผาผลาญปฐมภูมิ [2] ต่อมาเรียก “ผลผลิตสุดท้าย” (end product) ผลิตภัณฑ์เหล่านี้มาจากการเผาผลาญในโตรเจนเรียก “การดัดแปลงทุติยภูมิ” (secondary modification) อย่างเช่น การเอากลุ่มกรดอะมิโนออก (deamination) ด้วย เอนไซม์ deaminase [3] กระทั่งเทคนิควิเคราะห์หลากหลายวิธีพบโมเลกุลเหล่านี้มากขึ้นและมากขึ้น จนเป็นพื้นฐานก่อตั้งสาขาวิชาพฤกษเคมี

กลุ่มผลิตภัณฑ์การเผาผลาญทุติยภูมิแสดงผลชีวภาพหลากหลายประกอบด้วย ฟีนอลิก (phenolic), alkaloid, saponin, terpene, lipid และ carbohydrate สำหรับฟีนอลิกเป็นกลุ่มผลิตภัณฑ์การเผาผลาญทุติยภูมิ ใหญ่สุด มีกลุ่ม phenol หนึ่งกลุ่มหรือมากกว่า มีลักษณะเฉพาะพิสัยตั้งแต่โครงสร้างไม่ยุ่งยาก มีหนึ่ง

aromatic ring จนถึง polymeric substance (monomer หลายตัว) ปรากฏแพร่หลายในพืชและมีนัยด้านสรีรชาติ กลิ่น [4] นานาโมเลกุลฟีนอลิกยังมีคุณสมบัติต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และเป็นตัวเก็บกวาดอนุมูลอิสระ (free radical scavenger) โดยเฉพาะ flavonoid ส่วนฟีนอลิกอาจแบ่งหมวดหมู่ตามโครงสร้าง ประกอบด้วย simple phenolic, tannin, coumarin, flavonoid, chromone และ xanthone, stilbene, lignan

แอนโทไซยานิน (anthocyanin) เป็นเม็ดสีธรรมชาติ และพบบ่อยในอาหาร ผลไม้ และผัก โดยเฉพาะเบอร์รี่ และไวน์แดง สำหรับแอนโทไซยานินเป็น flavonoid ตัวหนึ่ง แม้มีประจุบวกที่ออกซิเจนอะตอมของ C-ring เป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ช่วยลดการอักเสบ คอเลสเตอรอล และลดความเสี่ยงต่อโรคต่าง ๆ สามารถชะลอหรือยับยั้งปฏิกิริยาของอนุมูลอิสระต่าง ๆ ได้ดี แอนโทไซยานินมีสูตรโครงสร้างต่าง ๆ มากมาย ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของแอนโทไซยานินและหมู่ของน้ำตาลที่มาสร้างพันธะกัน โดยแอนโทไซยานินที่พบมากในปัจจุบันมีอยู่ทั้งหมด 6 ชนิด ได้แก่ pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin และ malvidin ซึ่งแตกต่างกันตรงตำแหน่งที่ 3 หรือ 5 และมีหมู่ไฮดรอกซิลหรือเมทอกซิล สำหรับชนิดแอนโทไซยานินในข้าวที่มีสีส่วนใหญ่คือ cyanidin-3-glucoside และ peonidin-3-glucoside นอกจากนี้อาจพบ cyanidin-3-gentiobioside, cyanidin-3-rhamnoside, cyanidin-3, 5-diglucoside, cyanidin-3-rhamnoglucoside, malvidin-3-galactoside, peonidin-3-rhamnoglucoside และ delphinidin

ซึ่งพบในปริมาณที่น้อย [5,6] ปัจจุบันมีรายงานที่เกี่ยวข้องกับการนำข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ มาประเมินสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพแล้ว แต่ข้อมูลเกี่ยวกับการนำข้าวสายพันธุ์ต่าง ๆ มาผ่านกระบวนการหุงสุกยังมีน้อยมาก โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูลในข้าวหอมแม่พญาทองคำซึ่งเป็นข้าวพื้นถิ่นของจังหวัดจันทบุรี ดังนั้น คณะผู้วิจัยมุ่งหมายกำหนดหาฟีนอลิกและแอนโทไซยานินในกลุ่มข้าวดิบและข้าวสุกทั้ง 4 ชนิด

วัสดุและวิธีการ

ใช้ข้าว 4 ชนิดประกอบด้วย ข้าวหอมแม่พญาทองคำ (แหล่งจันทบุรี) ข้าวเหนียวดำ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวหอมมะลิ (ท้องตลาด) ในช่วงเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม พ.ศ. 2562 ชาวข้าวและหุงหม้อไฟฟ้าด้วยอัตราส่วนข้าวต่อน้ำ 1 ต่อ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) หลังหุงสุกทั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเย็น อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส นาน 48 ชั่วโมง บดด้วยเครื่องปั่นละเอียด ชั่งน้ำหนักข้าวแต่ละชนิด 400 กรัม หุ้มผ้าขาวและแช่ในเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 99.9 ปริมาตร 800 มล. นาน 2 วัน (เขย่าทุกวัน) จากนั้นนำสารสกัดกรองด้วยผ้าขาวบางและปั่นค่าแรงเหวี่ยงหนีศูนย์กลาง $2,500 \times g$ ที่ 4 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ระเหยแห้งสารสกัดส่วนใสแต่ละตัวอย่างด้วยเครื่องกลั่นระเหยสารแบบหมุน (rotary

evaporator) เก็บสารสกัดในตู้ -20 องศาเซลเซียสก่อนวิเคราะห์

หาปริมาณฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu colorimetric ประยุกต์ [7,8] ละลายกรดแกลลิกในเมทานอลและเจือจางความเข้มข้นช่วง 0.003125 ถึง 0.05 มก. ต่อมล. ผสมกรดแกลลิก 100 ไมโครลิตรกับสารละลาย Folin-Ciocalteu 20 ไมโครลิตร จากนั้นละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้นร้อยละ 2 จำนวน 400 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1 มล. ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 60 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง microplate reader ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร สร้างกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก แสดงปริมาณสารประกอบฟีนอลิก (มก. สมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม)

หาปริมาณแอนโทไซยานิน [9] ผสมตัวอย่างกับสารละลาย dimethyl sulfoxide (DMSO) จนความเข้มข้นเท่ากับ 1 มก. ต่อมล. นำสารละลายตัวอย่าง 500 ไมโครลิตรปรับปริมาตรด้วยโพแทสเซียมคลอไรด์บัฟเฟอร์ 0.025 โมลาร์ (pH 1.0) และโซเดียมอะซิเตท 0.4 โมลาร์ (pH 4.5) จนได้ 1 มล. หรืออัตราส่วนตัวอย่าง : บัฟเฟอร์ เท่ากับ 1 : 1 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร ด้วย Microplate reader จากนั้นคำนวณปริมาณแอนโทไซยานิน (มก. ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัม) ดังสมการ

ปริมาณแอนโทไซยานิน เท่ากับ $(A \times MW \times DF \times 1000) (\epsilon \times 1)$

โดยที่ $A = (A_{510} - A_{700})_{pH1.0} - (A_{510} - A_{700})_{pH4.5}$

$MW = 449.2 \text{ g/mole}$ (น้ำหนักโมเลกุลของ cyanidin-3-glucoside)

$\epsilon = 26900 \text{ M}^{-1} \text{ cm}^{-1}$

$DF =$ Dilution factor ของส่วนสกัดพืชตัวอย่าง

1000 = แฟกเตอร์ของการเปลี่ยนหน่วยจากมิลลิกรัมเป็นกรัม

แสดงผลเป็นค่าเฉลี่ยและค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ผลการศึกษา

ฟีนอลิกหน่วยเป็นมก.สมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) เปรียบเทียบระหว่างข้าวดิบ|ข้าวสุก ของข้าวเหนียวดำ, ข้าวไรซ์เบอร์รี่, ข้าวหอมแม่พญาทองคำ และ ข้าวหอมมะลิ เท่ากับ 52.18 (0.01)|42.78 (0.07), 25.83 (0.02)|18.41 (0.10),

22.19 (0.01)|16.54 (0.01) และ 1.88 (0.01)|0.69 (0.01) ตามลำดับ ขณะที่แอนโทไซยานินหน่วยเป็นมก.สมมูลไซยานิดิน 3-กลูโคไซด์ต่อกรัม (ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน) เปรียบเทียบระหว่างข้าวดิบ|ข้าวสุก ของข้าวเหนียวดำ, ข้าวหอมแม่พญาทองคำ, ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และ ข้าวหอมมะลิ เท่ากับ 88.97 (0.01)|9.49 (0.06),

12.68 (0.01)|2.43 (0.06), 6.67 (0.02)|0.63 (0.02) และ 3.26 (0.01)|0.006 (0.003) ตามลำดับ ข้าวเหนียวดำมีทั้งฟีนอลิกและแอนโทไซยานินสูงสุด ถัดมาข้าวไรซ์เบอร์รี่มีฟีนอลิกมากกว่าข้าวหอมแม่พญาทองคำ

ขณะที่ข้าวหอมแม่พญาทองคำมีปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่ สำหรับข้าวหอมมะลิมีน้อยและแอนโทไซยานินต่ำสุด (ตาราง 1)

ตาราง 1 ปริมาณฟีนอลิกและแอนโทไซยานินในข้าว 4 สายพันธุ์ โดยใช้สารสกัดที่ความเข้มข้น 1 มก.ต่อมล.

ชนิดข้าว	ฟีนอลิกรวม		แอนโทไซยานินรวม	
	มก. สมมูลกรดแกลลิกต่อกรัม		มก. สมมูลไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัม	
	ข้าวดิบ	ข้าวหุงสุก	ข้าวดิบ	ข้าวหุงสุก
ข้าวหอมแม่พญาทองคำ	22.19 ± 0.01	16.54 ± 0.01	12.68 ± 0.01	2.43 ± 0.06
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	25.83 ± 0.02	18.41 ± 0.10	6.67 ± 0.02	0.63 ± 0.02
ข้าวเหนียวดำ	52.18 ± 0.01	42.78 ± 0.07	88.97 ± 0.01	9.49 ± 0.06
ข้าวหอมมะลิ	1.88 ± 0.01	0.69 ± 0.01	3.26 ± 0.01	0.006 ± 0.003

วิจารณ์

โดยรวม ข้าวเหนียวดำ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหอมแม่พญาทองคำ และข้าวหอมมะลิ มีปริมาณฟีนอลิกลดหลั่นตามลำดับ เช่นเดียวกับ ข้าวเหนียวดำ ข้าวหอมแม่พญาทองคำ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวหอมมะลิ มีปริมาณแอนโทไซยานินลดหลั่นตามลำดับ การศึกษาที่กำหนดหาปริมาณฟีนอลิกและแอนโทไซยานินอันเป็นพิษของข้าวส่วนหนึ่ง

ผลการศึกษาเชิงปริมาณฟีนอลิกและแอนโทไซยานินสอดคล้องกับสีเปลือกของเมล็ดข้าว หลายการศึกษารายงาน เมล็ดข้าวเปลือกสีน้ำตาลอ่อนมีฟีนอลิกน้ำหนักโมเลกุลน้อยประมาณร้อยละ 85 ส่วนเปลือกสีแดงหรือดำมีฟีนอลิกน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า [10] สำหรับเมล็ดข้าวเปลือกสีน้ำตาลอ่อนฟีนอลิกส่วนใหญ่เป็น ferulic และ p-coumaric acid [11,12] ความเข้มข้นของฟีนอลิกเกี่ยวพันเชิงบวกกับ antioxidant activity [9,13] ส่วนเมล็ดข้าวเปลือกสีแดงเกี่ยวพันกับ antioxidant activity และ proanthocyanin ขณะที่เมล็ดข้าวเปลือกสีดำเกี่ยวพันกับ anthocyanin [14]

นอกจากนี้เมล็ดข้าวเปลือกสีแดงและสีดำมีฟีนอลิกหลักเป็น anthocyanin cyanidin-3-O-b-D-glucoside และ peonidin-3-O-b-D-glucoside [13-17] การศึกษาต่อไปควรเป็นเชิงลึกของคุณสมบัติพิษเคมีท่ามกลางข้าวหลากหลายชนิดพันธุ์ของประเทศไทย

อนึ่ง การซาวข้าวและหุงข้าวนำไปสู่การสูญเสียแอนโทไซยานินและสารต้านอนุมูลอิสระจำนวนหนึ่ง โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้าวเจ้า แต่ไม่สูญเสียสารต้านอนุมูลอิสระ ส่วนวิธีการหุงข้าวด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้าคงปริมาณแอนโทไซยานินมากกว่า [18] นอกจากนี้มีงานวิจัยทำการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ปริมาณแอนโทไซยานินรวมในข้าวสีดำที่นำไปหุงสุกเทียบปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และแอนโทไซยานินรวมกับข้าวสีดำที่ยังไม่ผ่านการหุงสุก พบว่าความร้อนจากการหุงข้าวสามารถลดปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมจาก 100 % เหลือ 67-80 % และลดปริมาณแอนโทไซยานินรวมจาก 100 % เหลือ 45-54 % [19]

โดยสรุป โดยข้อเท็จจริงความร้อนลดปริมาณฟีนอลิกและแอนโทไซยานินระหว่างการซาวข้าวและหุงข้าว

เอกสารอ้างอิง

1. Seigler DS. Plant Secondary Metabolism. New York: Springer Science: Business Media; 1995.
2. Jones ME, Kossel A. A biographical sketch. Yale J Biol Med. 1953;26(1):80-97.
3. Bourgaud F, Gravot A, Milesi S, Gontier E. Production of plant secondary metabolites: A historical perspective. Plant Sci. 2001;161: 839-51.
4. Golawska S, Sprawka I, Lukasik I, Golawski A. Are naringenin and quercetin useful chemicals in pest-management strategies? J Pest Sci. 2014;87(1):173-80.
5. Martín Bueno J, Ramos-Escudero F, Sáez-Plaza P, Muñoz AM, Navas MJ, Asuero AG. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part I: general considerations concerning polyphenols and flavonoids. Crit Rev Anal Chem. 2012;42: 102–25.
6. Martín Bueno J, Sáez-Plaza P, Ramos-Escudero F, Jiménez AM, Fett R, Asuero AG. Analysis and antioxidant capacity of anthocyanin pigments. Part II: chemical structure, color and intake of anthocyanins. Crit Rev Anal Chem. 2012;42:126–51.
7. Kusirisin W, Jaikang C, Chaiyasut C, Narongchai P. Effect of polyphenolic compounds from *Solanum torvum* on plasma lipid peroxidation, superoxide anion and cytochrome P450 2E1 in human liver microsomes. Med Chem. 2009;5(6):583-8.
8. Yang X, Yan F, Huang S, Fu C. Antioxidant activities of fractions from longan pericarps. Food Sci Technol. 2014;34(2):341-5.
9. Kim MK, Kim HA, Koh K, Kim HS, Lee YS, Kim YH. Identification and quantification of anthocyanin pigments in colored rice. Nutr Res Pract. 2008;2(1):46-9.
10. Goffman FD, Bergman CJ. (2004), Rice kernel phenolic content and its relationship with antiradical efficiency. J Sci Food Agric. 2004;84:1235-40.
11. Tian S, Nakamura K, Kayahara H. Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. J Agric Food Chem. 2004;52:4808-13.
12. Zhou Z, Robards K, Helliwell S, Blanchard C. The distribution of phenolic acids in rice. Food Chem, 2004;87:401-6.
13. Zhang MW, Guo BJ, Zhang RF, Chi JW, We ZC, Xu ZH, Zhang Y, Tang XJ. Separation, purification and identification of antioxidant compositions in black rice. Agric Sci China. 2006;5:431-40.

14. Oki T, Masuda M, Kobayashi M, Nishiba Y, Furuta S, Suda I, Sato T. Polymeric procyanidins as radical - scavenging components in red-hulled rice. J Agric Food Chem. 2002;50:7524-9.
15. Hu C, Zawistowski J, Ling W, Kitts DD. Black rice (*Oryza sativa* L. indica) pigmented fraction suppresses both reactive oxygen species and nitric oxide in chemical and biological model systems. J Agric Food Chem. 2003;51:5271-7.
16. Chen P, Kuo W, Chiang C, Chiou H, Hsieh Y, Chu S. Black rice anthocyanins inhibit cancer cells invasion via repressions of MMPs and u-PA expression. Chem-Biol Interact. 2006; 163:218-29.
17. Yawadio R, Tanimori S, Morita N. Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. Food Chem. 2007;101:1616-25.
18. Yamuangmorn S, Dell B, Prom-u-thai C. Effects of cooking on anthocyanin concentration and bioactive antioxidant capacity in glutinous and non-glutinous purple rice. Rice Sci. 2018;25(5):270–8.
19. Bhawamai S, Lin SH, Hou YY, Chen YH. (2016). Thermal cooking changes the profile of phenolic compounds but does not attenuate the anti-inflammatory activities of black rice. Food Nutr Res. 2016;60(1): 32941(1-9).