

การศึกษาหาสารประกอบฟีนอลิก โปรตีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ของส่วนสกัดน้ำข้าวจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมแกง

ปวีณา สรรวิริยะมงคล¹, ปฐมพรรณ ศรีสุข^{2*}

¹ นักศึกษาบัณฑิตศึกษา หลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ความงาม และสุขภาพ

คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

² สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002

* ติดต่อผู้พิมพ์: ผศ.ดร.ปฐมพรรณ ศรีสุข สาขาวิชาเทคโนโลยีเภสัชกรรม คณะเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

ต.ในเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40002 อีเมล: spatho@kku.ac.th

บทคัดย่อ

การศึกษาหาสารประกอบฟีนอลิก โปรตีน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดน้ำข้าวจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมแกง

ปวีณา สรรวิริยะมงคล¹, ปฐมพรรณ ศรีสุข^{2*}

ว. เภสัชศาสตร์อีสาน 2564; 17(1) : 68-79

รับบทความ: 23 กันยายน 2563

แก้ไขบทความ: 19 ตุลาคม 2563

ตอบรับ: 10 พฤศจิกายน 2563

ข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมแกง เป็นข้าวไร่ที่เกษตรกรนิยมปลูกไว้เพื่อบริโภคภายในครัวเรือน และอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณรวมของสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณโปรตีนของส่วนสกัดน้ำข้าว และทดสอบความคงสภาพของผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และน้ำข้าวกล้องจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมแกงในสภาวะเร่ง ($45 \pm 2^{\circ}\text{C}$, $75 \pm 2\%$ RH) ที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน วิธีการดำเนินการวิจัย: นำข้าวเปลือก และข้าวกล้องมาสกัดด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ การต้ม (Rice water prepared by the boiling process: RWB), การแช่ (Rice water prepared with the intact grain: RWM) และการบดแล้วแช่ (Rice water prepared with the crushed grain: RWS) โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย และนำไปทดสอบหาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) และ Oxygen Radical Absorbance Capacity (ORAC), ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกด้วยวิธี Folin-Ciocalteu และปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford ผลการวิจัย: ส่วนสกัดน้ำข้าวข้าวเปลือก และข้าวกล้องจากการสกัดด้วยวิธี RWS มีปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก, ฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณโปรตีนมากที่สุด จากผลการศึกษาความคงสภาพผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวข้าวเปลือก และข้าวกล้อง ณ เวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน พบว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณโปรตีนมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับตอนเริ่มต้น ($p < 0.05$) สรุปผลการวิจัย: ส่วนสกัดน้ำของข้าวเปลือก และข้าวกล้องของข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมแกงด้วยวิธี RWS เป็นวิธีที่ได้สารสำคัญจากการสกัดมากที่สุด

คำสำคัญ: ข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมแกง, สารประกอบกลุ่มฟีนอลิก, โปรตีน, สารต้านอนุมูลอิสระ, ความคงสภาพ



Determination of Phenolic Compounds, Proteins and Antioxidant activity in Rice Water Fraction Extracted from Phayaleumkang Glutinous Rice

Paweena Sanwiriyaamongkol¹, Pathomthat Srisuk^{2*}

¹ Graduate student in Aesthetic Sciences and Health program, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University,
Muaeng District, Khon Kaen, Thailand 40002

² Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences, Khon Kaen University,
Muaeng District, Khon Kaen, Thailand 40002

***Corresponding author:** Asst. Prof. Pathomthat Srisuk, Ph.D., Department of Pharmaceutical Technology, Faculty of Pharmaceutical Sciences,
Khon Kaen University, Muaeng District, Khon Kaen 40002 E-mail: spatho@kku.ac.th

Abstract

Determination of Phenolic Compounds, Proteins and Antioxidant activity in Rice Water Fraction Extracted from Phayaleumkang Glutinous Rice

Paweena Sanwiriyaamongkol¹, Pathomthat Srisuk^{2*}

IJPS, 2021; 17(1) : 68-79

Received: 23 September 2020

Revised: 19 October 2020

Accepted: 10 November 2020

Phayaleumkang glutinous rice is upland rice that farmers usually plant for household consumption and it contains plenty of nutrient-rich. The objective of this study was to determine total phenolic content, antioxidant activity, and protein content of rice water fractions from Phayaleumkang glutinous rice, and the accelerated stability study of rice powder (at $45 \pm 2^\circ\text{C}$, $75 \pm 2\%$ RH) during 1, 2, 3, and 4 months was investigated. **Material and Methods:** Paddy rice and brown rice were water extracted by three different extraction methods including rice water prepared by the boiling process: RWB, rice water prepared with the intact grain: RWM) and rice water prepared with the crushed grain: RWS. The extractions were analyzed the antioxidant activities by 1, 1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) and oxygen radical absorbance capacity (ORAC), total phenolic content by Folin-Ciocalteu reagent, and protein content by Bradford reagent. **Results:** The paddy rice and brown rice water fractions from RWS showed the highest of antioxidant activity, total phenolic content, and protein content. The accelerated stability study during 1, 2, 3, and 4 months were indicated that the antioxidant activity and protein content were significantly decreased ($p < 0.05$). **Conclusion:** Rice water fractions of paddy rice and brown rice extracted from RMS showed the highest content of active compounds.

Keywords: Phayaleumkang glutinous rice, Phenolic compound, Protein, Antioxidant, Stability

1. บทนำ

ข้าวเหนียวพันธุ์พญาสีมแกง เป็นข้าวไร่ที่เกษตรกรนิยมปลูกไว้เพื่อบริโภคภายในครัวเรือน เนื่องจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาสีมแกงมีอายุในการเพาะปลูกสั้น ให้ผลผลิตดี และอุดมไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการ เช่น แคลเซียม (calcium)

แมกนีเซียม (magnesium) คาเทชิน (catechin) ทองแดง (copper) สังกะสี (zinc) เหล็ก (iron) ไนอะซิน (niacin) และกรดโฟลิก (folic acid) นอกจากนั้นข้าวเหนียวพันธุ์พญาสีมแกงยังประกอบไปด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว (unsaturated fatty

acid) ได้แก่ โอเมกา-3 (omega 3: ω -3) โอเมกา-6 (omega-6: ω -6) และโอเมกา-9 (omega-9: ω -9) ที่มีคุณสมบัติช่วยลดระดับไขมันในเลือด ป้องกันการเกิดโรคหัวใจ โรคความดันโลหิตสูง และโรคสมองขาดเลือด อันเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดอัมพาต (paralysis) ได้ และยังพบว่าในข้าวเหนียวพันธุ์พญาลีมแกงมีสารที่มีประโยชน์อีกหลายชนิด เช่น สารสื่อประสาทแกมมาอะมิโนบิวทีริก แอซิด (gamma-aminobutyric acid) หรือ กาบา (GABA) ที่มีปริมาณเท่ากับ 9.45 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) โดยที่ GABA จะออกฤทธิ์ช่วยเพิ่มอัตราเมแทบอลิซึมในสมอง และลดความดันโลหิตสูง (Nishimura *et al.*, 2016) ในปัจจุบันมีการนำสารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพมาเป็นสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ในผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพ และความงาม เพราะสารสกัดจากแหล่งธรรมชาติ ส่วนใหญ่จะมีความปลอดภัยสูง และมีความเป็นพิษต่ำ เช่น น้ำข้าวของข้าวเปลือกพันธุ์ Guadiagran จากประเทศโปรตุเกสที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และถูกนำไปใช้เป็นส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์ในการผลิตเจลที่มีความเข้มข้นร้อยละ 96 โดยน้ำหนัก (%w/w) ที่สามารถยับยั้งการเกิดริ้วรอยได้ปริมาณร้อยละ 89 (Marto *et al.*, 2018) นอกจากนั้นจากการศึกษาของ Fasahat *et al.* (2013) ได้ทำการทดสอบหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ORAC ในข้าวเปลือก 5 สายพันธุ์ คือข้าวสายพันธุ์ *Oryza rufiogon*, G33, G37 และ MR219 จากประเทศมาเลเซีย และข้าวแดงจากประเทศไทย พบว่าข้าวพันธุ์ *Oryza rufiogon* มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุดเท่ากับ $9550.0 \pm 1.19 \mu\text{mol TE/Kg}$ จากการศึกษาของ Tananu Wong & Tewaruth (2010) ทดสอบหาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกในข้าวเหนียวดำพันธุ์ข้าวกำดอยสะเก็ดจากจังหวัดเชียงใหม่ โดยวิธี Folin-Ciocalteu เทียบกับสารมาตรฐานกรดแกลลิก (gallic acid) พบว่าแป้งข้าวเหนียวดำที่สกัดที่ pH 6.8 ที่เวลา 2 ชั่วโมงมีปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกมากที่สุด ($1,992 \pm 83 \mu\text{g GAE/g flour}$) ส่วนแป้งข้าวเหนียวดำที่มีปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกน้อยที่สุดเท่ากับ $1,815 \pm 96 \mu\text{g GAE/g flour}$ คือแป้งข้าวเหนียวดำที่สกัดที่ pH 2.0 ที่เวลา 4 ชั่วโมง ในการศึกษาของ Marto *et al.* (2018) ได้เปรียบเทียบปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกในน้ำข้าวจากการสกัด 3 วิธี คือ การต้มเป็นเวลา 30 นาที (Rice water prepared by the boiling process: RWB), การแช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง (Rice water prepared with the intact grain: RWM) และการบดแล้วนำมาแช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (Rice water prepared with the crushed grain: RWS) จากนั้นนำไปหาปริมาณสารประกอบ

กลุ่มฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu ซึ่งพบว่า RWS มีปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกมากที่สุด ($3.33 \pm 0.36 \text{ mg/l}$) รองลงมาคือ RWB ($3.15 \pm 0.41 \text{ mg/l}$) และ RWM ($0.23 \pm 0.01 \text{ mg/l}$) ตามลำดับ นอกจากนี้ยังมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และการยับยั้งการเกิดริ้วรอย ด้วยการหาปริมาณออกซิเจนที่ไวต่อปฏิกิริยา (Reactive Oxygen Species: ROS) ในหลอดทดลอง (*in vitro*) พบว่าในตัวอย่าง RWB และ RWS นั้นมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดริ้วรอยร้อยละ 89 และร้อยละ 57.9 ตามลำดับ จากการศึกษาของ Moongngarm *et al.* (2012) ได้ทดสอบหาปริมาณโปรตีนจากส่วนประกอบต่างๆ ในเมล็ดข้าว 4 ชนิด คือ ข้าวดอกมะลิ 105, ข้าวเหนียว RD6, ข้าวแดง และข้าวดำโดยวิธีคเจลดาห์ล (Kjeldahl method) พบว่าในเมล็ดข้าวจากข้าวแต่ละชนิดมีปริมาณโปรตีนที่แตกต่างกัน ในจมูกข้าว และรำข้าวของข้าวดำพบว่ามีปริมาณโปรตีนมากที่สุด (20.04 ± 0.4 และ 13.27 ± 0.05 กรัม) จากการศึกษาของ Wei *et al.* (2007) หาปริมาณโปรตีนในข้าวกล้องทั้ง 7 สายพันธุ์ คือ พันธุ์ Ilmibyu, Ilpumbyu, Saechuchungbyu, Chuchungbyu, Junambyu, Dongjinbyu และ Nampyeongbyu ด้วยวิธีแบรด์ฟอร์ด (Bradford assay) เทียบกับสารมาตรฐาน bovine serum albumin (BSA) พบว่าสายพันธุ์ Ilpumbyu มีปริมาณโปรตีนมากที่สุด $95.70 \pm 1.30 \text{ mg/g}$ ส่วนสายพันธุ์ที่มีปริมาณโปรตีนน้อยที่สุดคือ สายพันธุ์ Chuchungbyu ($87.90 \pm 1.10 \text{ mg/g}$) จากการศึกษาทบทวนวรรณกรรม พบว่าในการหาสารสกัดจากธรรมชาติที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ เช่น น้ำข้าวที่สามารถสกัดได้จากข้าวหลายสายพันธุ์ และมีสารประกอบที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ รวมทั้งในอุตสาหกรรมข้าวที่มีน้ำข้าวหลงเหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตหรือแปรรูป ถ้าสามารถนำน้ำข้าวส่วนนี้มาสกัดหาสารสำคัญที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ จะช่วยเพิ่มมูลค่าของน้ำข้าวเหลือทิ้งจนสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ ดังนั้นการศึกษาวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการสกัดน้ำข้าวเปลือก และข้าวกล้องจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาลีมแกง เพื่อทดสอบหาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ปริมาณโปรตีน ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ และการศึกษาความคงสภาพของผงแห้งจากน้ำข้าวที่สกัดได้

2.วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 วัสดุ และสารเคมี

ข้าวเหนียวพันธุ์พญาลีมแกงได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวจังหวัดขอนแก่น, สาร Folin-Ciocalteu จากบริษัท Loba Chemie Pvt. Ltd., India, สาร Bradford จากบริษัท



Himedia, India, สาร 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl), สาร Gallic acid และสาร Trolox จากบริษัท Sigma-Aldrich, Germany

2.2 เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์

เครื่องอ่านถาดไมโครเพลท (Microplate Reader (EN 60826-1:2007, Perkin Elmer, Singapore)) และเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer (UV-1201, Shimadzu Corporation, Japan)

2.3 การสกัดน้ำข้าวจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมาแกง

การสกัดด้วยวิธีการต้ม (Rice water prepared by the boiling process: RWB) โดยการชั่งข้าวเปลือก และข้าวกล้อง 100 กรัม และต้มในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปกรองผ่านผ้าขาวบาง การสกัดด้วยวิธีการแช่ (Rice water prepared with the intact grain: RWM) ทำเช่นเดียวกับการเตรียมด้วยวิธี RWB แต่ไม่ต้องต้มข้าว แช่ในน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร และกรองผ่านผ้าขาวบาง และการสกัดด้วยการบด (Rice water prepared with the crushed grain: RWS) โดยการนำข้าวเปลือก และข้าวกล้องไปบดผ่านตะแกรงขนาด 0.5 ไมโครเมตร ด้วยเครื่อง Fitz Mill จากนั้นชั่งข้าวเปลือก/ข้าวกล้องที่บดแล้ว 100 กรัม ผสมกับน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันโดยใช้เครื่องกวนสารละลาย (magnetic stirrers) ที่ความเร็ว 780 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 ± 2°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สารสกัดที่ได้จากทั้ง 3 วิธีจะถูกนำไปปั่นเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็วรอบ 6,000 rpm เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำส่วนที่ใส (supernatant) ของส่วนสกัดน้ำข้าวไปละลายในน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 %w/v ผสมให้เข้ากันโดยใช้เครื่องเขยาสาร (Vortex) เป็นเวลา 10 วินาที และวัดค่า pH นำน้ำข้าวเปลือก หลังจากนั้นใส่ลงในขวดแก้วรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) และนำไปกลั่นในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่จุดเยือกแข็ง (Cryo Bath) ที่อุณหภูมิ -40°C จนกระทั่งเป็นน้ำแข็งติดรอบๆ ขวด นำไประเหิดเอาน้ำออกจากตัวอย่างภายใต้ความดันสูญญากาศ โดยใช้เครื่องระเหิดแห้ง (Freeze Dryer) ภายใต้ความดัน 0.132 mbar และอุณหภูมิ -60°C เป็นเวลา 36 ชั่วโมง เมื่อระเหิดเอาน้ำออกแล้ว ให้นำผงแห้งที่ได้ไปชั่งน้ำหนัก และเก็บในขวดแก้ว ปิดฝาครอบขวดอีกครั้งด้วยพาราฟิล์ม เพื่อป้องกันความชื้น และห่อด้วยแผ่นอลูมิเนียมฟอยล์ หลังจากนั้นคำนวณหา %yield ดังสมการที่ (1)

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักของผงแห้งที่สกัดได้}}{\text{น้ำหนักของข้าวแห้งที่ใช้ในการสกัด}} \times 100$$

.....สมการที่ (1)

2.4 การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH

DPPH

การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH (ดัดแปลงจาก Huang *et al.*, 2005) เริ่มต้นเตรียมสารมาตรฐาน Trolox (Trolox) จำนวน 9 ความเข้มข้นดังต่อไปนี้คือ 100, 75, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.125, 1.562 และ 0.781 µg/ml และเตรียมส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และข้าวกล้องจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมาแกง ที่ละลายในน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 %w/v ตามมาตรฐาน Trolox 100 ไมโครลิตร เติมน้ำกลั่นใน 96-well plate (n=3) เติมน้ำกลั่นละลาย DPPH 100 ไมโครลิตร โดยมีเมทานอล 100 ไมโครลิตร และ DPPH 100 ไมโครลิตรเป็นสารละลาย blank ผสมให้เข้ากัน และเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องอ่านถาดไมโครเพลท (microplate) ที่ความยาวคลื่น 517 nm หลังจากนั้นคำนวณหาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (% radical scavenging) ของสารมาตรฐาน trolox จากน้ำข้าวที่สกัดได้โดยคำนวณจากสมการที่ (2) และคำนวณหาค่า Inhibitory concentration (IC₅₀) ที่แสดงถึงความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่มีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันที่ทำให้ความเข้มข้นของอนุมูล DPPH ลดลงร้อยละ 50 จากการสร้างกราฟเทียบระหว่าง % radical scavenging เทียบกับความเข้มข้นของส่วนสกัดน้ำข้าว

$$\% \text{ radical scavenging} = \frac{A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{Control}}} \times 100$$

.....สมการที่ (2)

กำหนดให้ A_{control} คือ ค่าดูดกลืนแสงของ DPPH (ค่าอนุมูลอิสระเริ่มต้น)

A_{sample} คือ ค่าดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

2.5 การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC

ORAC

การทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี ORAC (ดัดแปลงมาจาก Manosroi *et al.*, 2011) เริ่มต้นจากการเตรียม

สารมาตรฐาน trolox ที่ความเข้มข้น 200, 100, 50, 25, 12.5 และ 6.25 μM และเตรียมส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และข้าวกล้องจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาลีมแก ที่ละลายในน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 %w/v เติมสารมาตรฐาน trolox 25 ไมโครลิตรลงใน 96-well plate ($n=3$) และเติมสารละลาย 50 nM Fluorescein 150 ไมโครลิตร หลังจากนั้นนำไปเก็บที่อุณหภูมิ 37°C เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติมสารละลาย (2,2'-Azobis (2-methylpropionamide) dihydrochloride; AAPH) 25 ไมโครลิตร สารละลายที่มีเฉพาะน้ำกลั่น 25 ไมโครลิตร + 50 nM Fluorescein 150 ไมโครลิตร + สารละลาย AAPH 25 ไมโครลิตร เป็นสารละลาย blank หลังจากนั้นนำไปวัดการเรืองแสงของฟลูออเรสเซนที่ความยาวคลื่น 485 นาโนเมตร (excitation) และ 525 นาโนเมตร (emission) ด้วยเครื่องอ่านไมโครเพลทฟลูออเรสเซน (Spectrofluorometer Microplate Reader) คำนวณหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระในส่วนสกัดน้ำข้าว โดยการแทนค่าพื้นที่ใต้กราฟในสมการเส้นตรงระหว่าง trolox ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (แกน X) กับค่าพื้นที่ใต้กราฟ (แกน Y)

2.6 การทดสอบหาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก โดยวิธี Folin-Ciocalteu

การทดสอบหาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกโดยวิธี Folin-Ciocalteu (ดัดแปลงจาก Singleton *et al.*, 1999) เริ่มต้นเตรียมสารมาตรฐานกรดแกลลิกที่ความเข้มข้น 100, 50, 25, 12.5, 6.25 และ 3.125 $\mu\text{g/ml}$ เตรียมส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และข้าวกล้องจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาลีมแกละลายในน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 %w/v ตูดส่วนสกัดน้ำข้าว และสารมาตรฐานกรดแกลลิกอย่างละ 20 ไมโครลิตร เติมลงใน 96-well plate ($n=3$) เติมสารละลาย 10% Folin-Ciocalteu reagent 100 ไมโครลิตร จากนั้นเติมโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้น 7% (w/v) 80 ไมโครลิตร และสารละลายที่ไม่มีส่วนสกัดน้ำข้าว เป็นสารละลาย blank (น้ำกลั่น 20 ไมโครลิตร + 10% Folin-Ciocalteu reagent 100 ไมโครลิตร + โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) เข้มข้น 7% (w/v) 80 ไมโครลิตร) ผสมให้เข้ากันแล้วเก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงในแต่ละความเข้มข้นเพื่อนำไปสร้างกราฟสารมาตรฐาน ด้วยเครื่องอ่านค่าไมโครเพลท (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 760 nm หลังจากนั้นหาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกในส่วนสกัดน้ำข้าว โดยการแทนค่าการดูดกลืนแสงในสมการสารมาตรฐานที่ได้จากกรดแกลลิก

2.7 การทดสอบหาปริมาณโปรตีน โดยวิธี

Bradford

การทดสอบหาปริมาณโปรตีนโดยวิธี Bradford (Bradford, 1976) เริ่มต้นจากการเตรียมสารมาตรฐาน bovine serum albumin (BSA) ที่ความเข้มข้น 100, 80, 60, 40 และ 20 $\mu\text{g/ml}$ หลังจากนั้นเตรียมส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และข้าวกล้องจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาลีมแกละลายในน้ำกลั่น ในอัตราส่วน 1:1 และ 1:3 %w/v ตูดส่วนสกัดน้ำข้าว และสารละลาย BSA 10 ไมโครลิตรในแต่ละความเข้มข้น และเติมนลงใน 96-well plate ($n=3$) และตูดสารละลายบัฟเฟอร์ (50 mM Sodium Phosphate buffer, pH=7.0) ปริมาณ 5 ไมโครลิตรใส่ลงใน 96-well plate ในขั้นตอนสุดท้ายตูดสาร Bradford reagent 200 ไมโครลิตร และเติมนลงในทุกหลุมของ 96-well plate ที่มีโปรตีนมาตรฐาน BSA, ส่วนสกัดน้ำข้าวของข้าวเหนียวพันธุ์พญาลีมแก และสารละลายที่ไม่มีน้ำข้าว (blank) ผสมให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ $25 \pm 2^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 5 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องเครื่องอ่านค่าไมโครเพลท (microplate reader) ที่ความยาวคลื่น 595 nm และนำไปสร้างกราฟสารมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลาย BSA (แกน X) กับค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย (BSA) (แกน Y) หลังจากได้กราฟสารมาตรฐาน จะสามารถคำนวณหาปริมาณโปรตีนได้

2.8 การทดสอบความคงสภาพของผงแห้งของน้ำข้าว

เก็บผงแห้ง (ส่วนสกัดน้ำข้าว) จากข้อ 2.3 ไว้ในตู้ควบคุมอุณหภูมิและความชื้น (อุณหภูมิ $45 \pm 2^\circ\text{C}$, $75 \pm 2\%$ RH) ที่ระยะเวลา 1, 2, 3 และ 4 เดือน ในแต่ละเดือนจะทำการทดสอบหาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ การทดสอบหาปริมาณโปรตีน และนำผลการทดสอบมาเทียบกับตอนเริ่มต้น

2.9 สถิติที่ใช้ในการวิจัย

การวิเคราะห์ข้อมูลโดยหาค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard deviation; S.D.) และวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบความแปรปรวนทางเดียว (One-Way ANOVA) เมื่อพบว่าแตกต่างกันจึงทดสอบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยเป็นรายคู่โดยวิธีทดสอบ Scheffe โดยใช้โปรแกรมทางสถิติ SPSS for windows version 24 โดยกำหนดให้ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ค่า $p < 0.05$

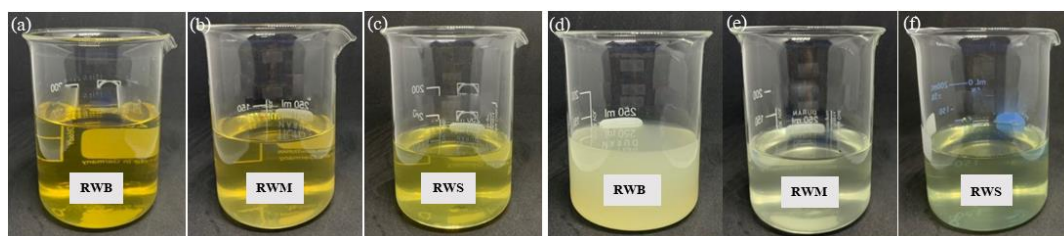


3. ผลการวิจัย และอภิปรายผลการวิจัย

3.1 ผลจากการสกัดส่วนสกัดน้ำข้าวจากข้าวเปลือก และข้าวกล้องของข้าวเหนียวพันธุ์พญาลีมแก

ผลจากการสกัดส่วนสกัดน้ำข้าวจากข้าวเปลือก และข้าวกล้องของข้าวเหนียวพันธุ์พญาลีมแกด้วยการใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายด้วยวิธีการสกัดที่แตกต่างกัน 3 วิธี คือ 1) สกัดด้วยการต้ม (Rice water prepared by the boiling process: RWB) 2) สกัดด้วยการแช่ (Rice water prepared with the intact grain: RWM) และ 3) สกัดด้วยการบดแล้วนำมาแช่ (Rice water prepared with the crushed grain: RWS) จะได้ของเหลว

ใสสีเหลือง ดังแสดงในรูปที่ 1 โดยเฉพาะสารสกัดที่ได้จากการต้มจะมีสีเหลืองเข้มกว่าวิธีอื่นซึ่งอาจเป็นผลมาจากความร้อนที่ใช้ในการต้มที่ไปละลายเม็ดสี (color pigment) (Le & Songsermpong, 2014) จากตารางที่ 1 พบว่าค่าความกรด-ด่าง (pH) ของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และส่วนสกัดจากน้ำข้าวกล้องด้วยวิธี RWS มีความเป็นกรดมากที่สุด เท่ากับ 5.06 ± 0.01 และ 5.02 ± 0.02 และค่า %yield หลังการสกัดพบว่าส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และส่วนสกัดจากน้ำข้าวกล้องที่สกัดด้วยวิธี RWS มีค่ามากที่สุด เท่ากับ 4.01 และ 4.88% ตามลำดับ



รูปที่ 1 แสดงสีของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือกที่สกัดด้วยวิธีต้ม (RWB) (a), แช่ (RWM) (b) และบดแล้วแช่ (RWS) (c) และสีของส่วนสกัดน้ำข้าวกล้องที่สกัดด้วยวิธีต้ม (RWB) (d), แช่ (RWM) (e) และบดแล้วแช่ (RWS) (f)

ตารางที่ 1 แสดงปริมาณร้อยละของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และข้าวกล้อง (%yield) และค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) จากการสกัด 3 วิธี

ชนิดข้าว	วิธีการสกัด	%Yield	pH at 25°C (mean $\pm$ S.D.)
ข้าวเปลือก	ต้ม	2.85	6.27 ± 0.02
	แช่	2.46	6.22 ± 0.04
	บดแล้วแช่	4.01	5.06 ± 0.01
ข้าวกล้อง	ต้ม	3.06	6.17 ± 0.03
	แช่	2.91	6.04 ± 0.01
	บดแล้วแช่	4.88	5.02 ± 0.02

3.2 ผลการศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH

จากผลการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยใช้วิธี DPPH และใช้สารละลายโทรลอคซ์ (trolox) เป็นสารมาตรฐานเปรียบเทียบดังแสดงในรูปที่ 2 (a) พบว่าส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และส่วนสกัดน้ำข้าวจากข้าวกล้องด้วยวิธี RWS มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด (IC_{50} เท่ากับ 0.14 ± 0.08 และ 0.02 ± 0.05 g/mL และมีค่า % radical scavenging เท่ากับ $82.74 \pm$

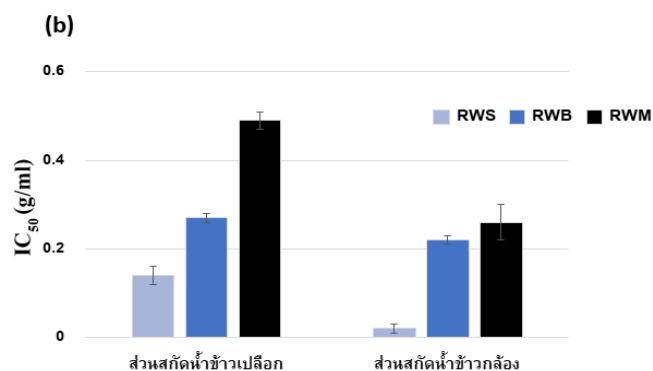
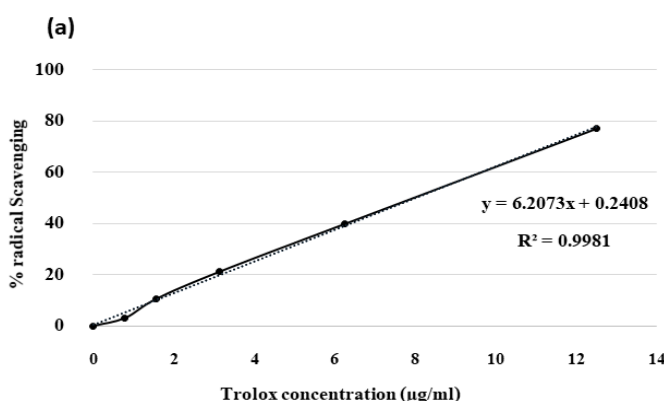
0.59 และ 84.34 ± 1.13) แต่ส่วนสกัดน้ำข้าวกล้องจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนสกัดน้ำข้าวจากข้าวเปลือก ดังแสดงผลในรูปที่ 2 (b) เมื่อเปรียบเทียบกับผลการศึกษาของ Pedro, Granato & Rosso (2016) ที่ได้ทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าวดำเมืองโปเนตารอสซา ประเทศบราซิล ที่ใช้กรดซิตริก (citric acid) เป็นตัวทำละลายที่ความเข้มข้น 0.03 g/ml พบว่ามีค่าร้อยละความสามารถในการเข้าจับ และยับยั้งอนุมูลอิสระที่เสถียร (%)

inhibition) เท่ากับ 46.50 และผลการทดสอบฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากข้าวกล้องงอกที่ใส่เอซีโตนและน้ำในอัตราส่วน 70:30 เป็นตัวทำละลาย พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 42.9 ± 2.7 g flour/g (Tananuwong & Tewaruth, 2010) และผลการศึกษาของ Bopitiya และ Madhujith (2014) ที่ทดสอบสารสกัดของข้าวศรีลังกา คือข้าวแดง LD365 และข้าวขาว BG400 ที่ใช้เฮกเซนเป็นตัวทำละลาย พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.025 ± 0.001 และ 0.027 ± 0.007 mg/ml ตามลำดับและจากผลการทดสอบสารสกัดจากข้าวที่ใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.71 ± 0.20 mg/ml (Chaiyasut *et al.*, 2018) นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดจากน้ำข้าวข้าวกล้องและสารสกัดน้ำจากรำข้าวของข้าวดอกมะลิ 105 ที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายจะมีค่า IC_{50} เท่ากับ 357 และ 186 μ g/ml ตามลำดับ (Srisawat *et al.*, 2010) โดยเมื่อเปรียบเทียบกับส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และข้าวกล้องของข้าวเหนียวพันธุ์พญาลีมแกงจะมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารสกัดจากน้ำข้าว

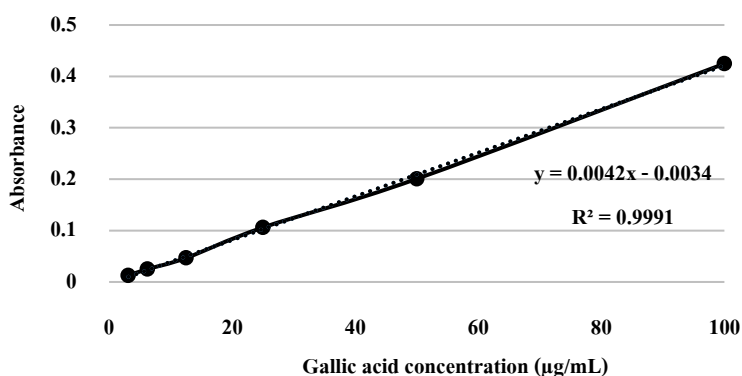
ข้าวกล้อง และสารสกัดน้ำจากรำข้าวของข้าวดอกมะลิ 105 ที่ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย

3.3 ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก (Total phenolic compounds)

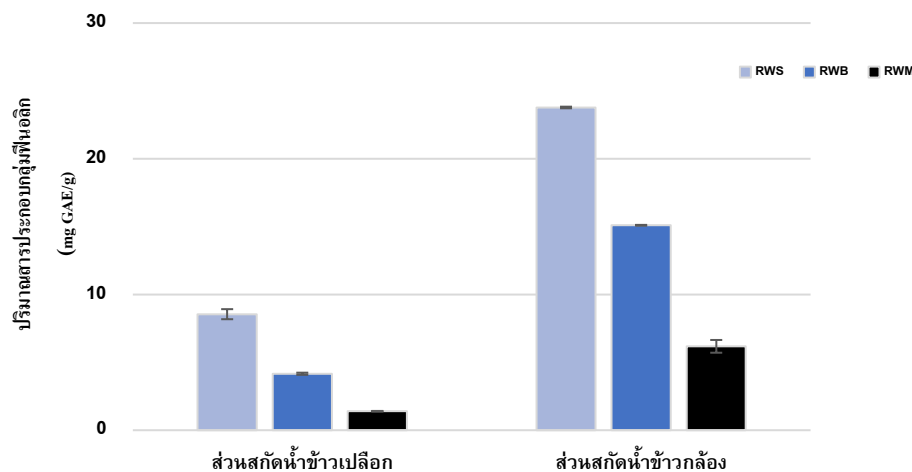
จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกโดยวิธี Folin-Ciocalteu ที่ใช้กรดแกลลิก (gallic acid) เป็นสารมาตรฐานดังแสดงในรูปที่ 3 โดยวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก และแสดงผลของปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกเป็นค่ามิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (mg GAE/g) จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณของสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกจากสมการ $y = 0.0042x - 0.0034$, $R^2 = 0.9991$ พบว่าส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และส่วนสกัดน้ำข้าวกล้องที่มีปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกมากที่สุดคือ การสกัดด้วยวิธีการบดแล้วแช่ (RWS) มีค่าเท่ากับ 8.55 ± 0.37 mg GAE/g และ 23.78 ± 0.06 mg GAE/g ตามลำดับ ดังแสดงผลในรูปที่ 4



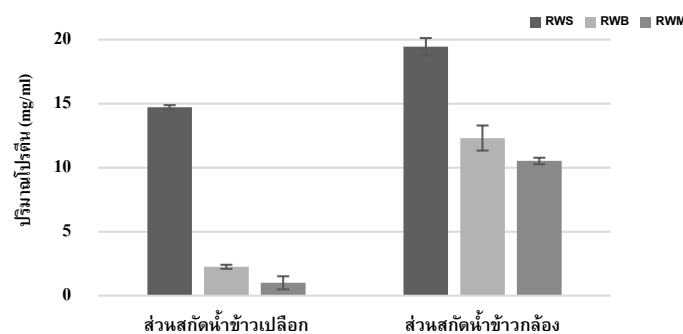
รูปที่ 2 แสดงค่า %radical scavenging (a) และค่า IC_{50} ของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และส่วนสกัดน้ำข้าวกล้อง (b) จากวิธีการสกัด 3 วิธี (RWB, RWM และ RWS) (mean $\pm$ S.D.) (n=3)



รูปที่ 3 แสดง Calibration curve ของสารละลาย Gallic acid



รูปที่ 4 ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก (mg GAE/g) ของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และส่วนสกัดน้ำข้าวกล้องจากการสกัด 3 วิธี (mean $\pm$ S.D.) (n=3)



รูปที่ 5 ปริมาณโปรตีน (mg/ml) ของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และส่วนสกัดน้ำข้าวกล้องจากการสกัด 3 วิธี (mean $\pm$ S.D.) (n=3)

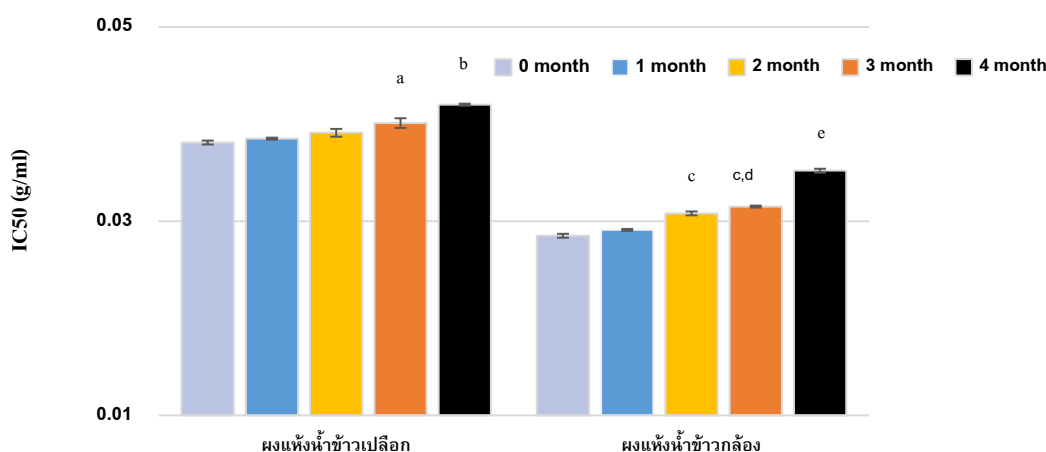
จากผลการทดสอบในรูปที่ 4 พบว่าวิธีการสกัดสารสกัดน้ำข้าวด้วยน้ำกลั่นจาก 3 วิธี วิธีสกัดสารที่ได้ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกมากที่สุดทั้งในข้าวเปลือก และข้าวกล้องพันธุ์พญาลิมาแก คือวิธีการสกัดด้วยวิธี RWS ที่มีปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก เท่ากับ 8.55 ± 0.37 และ 23.76 ± 0.06 mg GAE/g จากผลการศึกษาของ Marto *et al.* (2018) ที่ทดสอบหาปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลาย พบว่าสารสกัดน้ำข้าวเปลือกพันธุ์ Guadiagran จากประเทศโปรตุเกส มีความเข้มข้นของสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก (3.33 ± 0.36 mg/l) น้อยกว่าส่วนสกัดน้ำข้าวจากข้าวกล้องพันธุ์พญาลิมาแกด้วยวิธีการสกัดด้วยวิธี RWS จากผลการศึกษาของ Srisawat *et al.* (2010) พบว่าในสารสกัดจากน้ำข้าวข้าวกล้อง และสารสกัดน้ำจากรำข้าวของข้าวดอกมะลิ 105 เมื่อ

เปรียบเทียบกับปริมาณของสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกในน้ำข้าวเปลือก และน้ำข้าวกล้องของข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมาแก พบว่ามีปริมาณน้อยกว่าสารสกัดจากน้ำข้าวข้าวกล้อง และสารสกัดจากรำข้าวของข้าวดอกมะลิ 105 ซึ่งอาจเกิดจากหลายปัจจัย เช่น ชนิดของสายพันธุ์ข้าวที่แตกต่างกัน ระยะเวลาและอุณหภูมิที่ใช้ในการสกัด นอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกโดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวทำละลายของสารสกัดจากข้าวกล้องพันธุ์พญาลิมาแกกับสารสกัดของเปลือกกล้วยหอมทองสด พบว่าสารสกัดจากข้าวกล้องของข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมาแกจะมีปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกมากกว่า โดยสารสกัดจากเปลือกกล้วยหอมทองจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก เท่ากับ 12.21 ± 2.58 mg GAE/g (Rattana Muangrat *et al.*, 2016)

3.4 ผลการศึกษาปริมาณโปรตีน (Total protein)

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford โดยใช้ bovine serum albumin (BSA) เป็นสารมาตรฐาน โดยวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนและแสดงผลของปริมาณโปรตีนค่าเป็นมิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (mg/ml) พบว่าส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือกที่สกัดด้วยวิธี RWS จะมีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเท่ากับ 14.72 ± 0.17 mg/ml ดังแสดงผลในรูปที่ 5 จากผลการทดสอบพบว่าในข้าวเปลือก และข้าวกล้องพันธุ์พญาสีมแกง วิธีการสกัดที่ให้ปริมาณโปรตีนมากที่สุด คือวิธีการสกัดด้วยวิธี RWS เท่ากับ 14.72 ± 0.17 และ 19.45 ± 0.68 mg/ml ตามลำดับ เมื่อเทียบผลการทดลองกับการศึกษาของ Wei *et al.* (2007) ที่ได้ทดสอบหาปริมาณโปรตีนในข้าวกล้อง 7 สายพันธุ์ ที่ใช้อะซิโตน (acetone) เป็นตัวทำละลาย พบว่าข้าวกล้องสายพันธุ์ Ilpumbyu มีปริมาณโปรตีนมากที่สุดเท่ากับ 95.70 ± 1.30 mg/g ในงานวิจัยนี้ใช้ตัวทำละลายอินทรีย์ในการสกัดจะได้ปริมาณโปรตีนมากกว่าการใช้ตัวทำละลายที่เป็นน้ำกลั่น เพราะตัวทำละลายอินทรีย์มีผลทำให้ผนังเซลล์ของพืช (cell wall) แตกออกได้มากกว่า และส่งผลทำให้โปรตีนที่อยู่ภายในผนังเซลล์ถูก

ปลดปล่อยออกมาภายนอกได้มากกว่า ประกอบกับชนิดของโปรตีนที่พบส่วนใหญ่ในข้าวคือ โกลบูลิน (globulin), โปรลามีน (prolamin) และ กลูเตลิน (glutelin) จะมีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ มีเพียงโปรตีนชนิดเดียวคืออัลบูมิน (albumin) ที่สามารถละลายน้ำได้ การศึกษาของ Lim *et al.* (1999) ได้ศึกษาหาปริมาณโปรตีนในข้าวขาว Japonica สายพันธุ์ Ilpumbyo จากประเทศเกาหลีใต้ที่ละลายในตัวทำละลายต่างๆ (ต่าง, น้ำ, น้ำเกลือ และ แอลกอฮอล์) แต่การสกัดแยกเฉพาะโปรตีนออกจากข้าวโดยส่วนใหญ่จะผ่านกระบวนการเปลี่ยนแปลงสภาพธรรมชาติของโปรตีน (denaturation) และปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส (hydrolysis) โดยใช้ต่างเป็นตัวทำละลายหลัก พบโปรตีนที่ละลายในต่าง คือ กลูเตลิน (glutelin) จะมีอยู่ประมาณร้อยละ 80 และในส่วนของโปรตีนที่ละลายในน้ำ คืออัลบูมิน (albumin) พบว่ามีอยู่ประมาณร้อยละ 9-11 ส่วนโปรตีนที่ละลายในน้ำเกลือ คือ โกลบูลิน (globulin) พบประมาณร้อยละ 7-15 และโปรตีนที่ละลายในแอลกอฮอล์ คือโปรลามีน (prolamin) พบว่ามีอยู่ประมาณร้อยละ 2-4 (Wang *et al.*, 1999)



รูปที่ 6 แสดงค่า IC_{50} ที่ได้จากการทดสอบความคงสภาพของผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก

และผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวกล้อง ณ เวลา 0, 1, 2, 3 และ 4 เดือน

(a, b, c, d, e มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับที่ระยะเวลา 0 เดือน กำหนดให้ $p < 0.05$)

3.5 ผลการทดสอบความคงสภาพของผงแห้งของข้าว

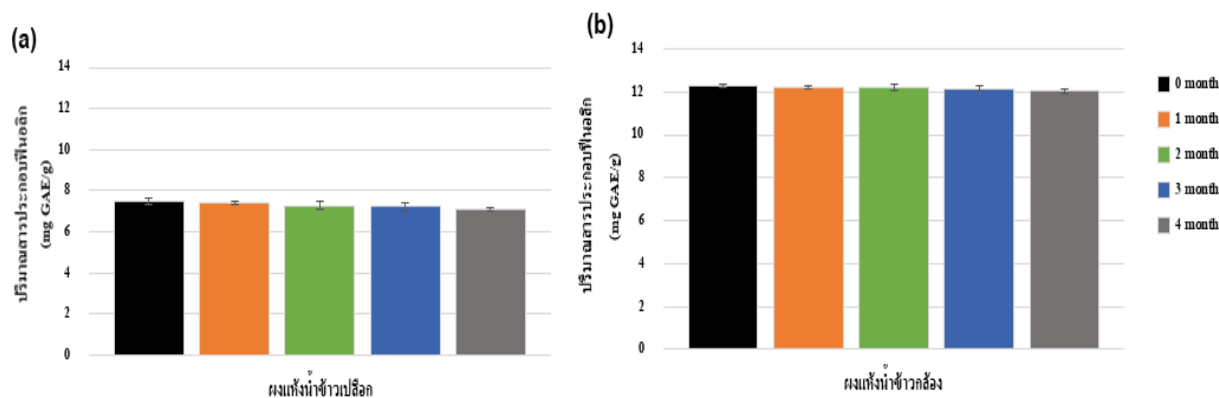
3.5.1 ผลการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี

DPPH และ ORAC

จากรูปที่ 6 พบว่าค่า IC_{50} ของผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก ณ เดือนที่ 3 และ 4 เดือนมีค่า IC_{50} เพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตอนเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ในส่วนของค่า IC_{50} ของผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวกล้อง ณ เดือนที่ 2, 3 และ 4 มีค่าเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับตอนเริ่มต้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) จากผลการทดสอบความคงตัวในสภาวะเร่งพบว่าเมื่อเก็บไว้เป็นระยะเวลานานขึ้น ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมีค่าลดลง

จากผลการทดสอบหาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ได้จากการทดสอบความคงสภาพของผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวกล้อง โดยวิธี ORAC

พบว่ามีค่าลดลงตามลำดับเมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับตอนเริ่มต้น ($p < 0.05$) เนื่องจากผลการศึกษาความคงสภาพของฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวกล้องมีค่าลดลงเมื่อระยะเวลาในการศึกษาความคงตัวเพิ่มขึ้น เพราะว่าสารสกัดผงแห้งถูกเก็บรักษาอยู่ในสภาวะเร่งที่มีอุณหภูมิ และความชื้นสัมพัทธ์สูงจึงไปเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันหรือปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสในการสลายตัวของสารสำคัญที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบกลุ่มฟีนอลิก หรือสารจำพวกโปรตีนบางชนิด เพราะฉะนั้นจากผลการทดสอบที่ได้จากการทดสอบความคงสภาพนี้ สามารถนำไปใช้อ้างอิงข้อมูลเพื่อกำหนดสภาวะที่เหมาะสมในการเก็บรักษาสารสกัดได้ อีกทั้งยังจะเป็นประโยชน์ในการช่วยยืดอายุของสารสำคัญในการนำไปใช้ประยุกต์ใช้งานได้ในระยะเวลานานมากขึ้น



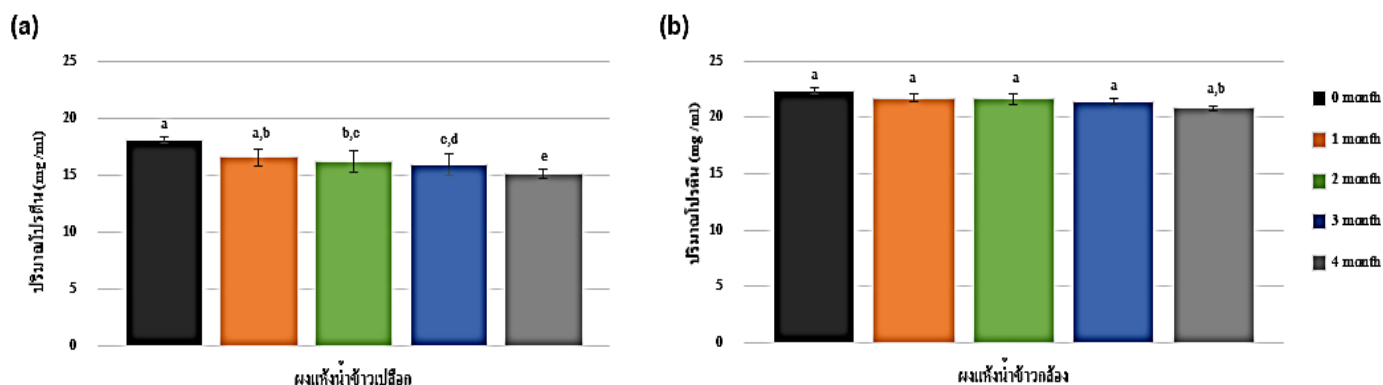
รูปที่ 7 ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก (mg GAE/g) หลังจากการทดสอบความคงสภาพของผงแห้งของน้ำข้าวเปลือก (a) และผงแห้งน้ำข้าวกล้อง (b) ณ เวลาเริ่มต้น, เดือนที่ 1, 2, 3 และ 4

3.5.2 ผลการทดสอบสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก โดยวิธี Folin Ciocatie และผลการทดสอบหาปริมาณโปรตีนด้วยวิธี Bradford

จากรูปที่ 7 พบว่าปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกของผงแห้งของส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และน้ำข้าวกล้องที่ระยะเวลา 1, 2 และ 3 เดือนไม่มีความแตกต่างกันอย่างมี

นัยสำคัญทางสถิติเมื่อเปรียบเทียบกับที่ระยะเวลาเริ่มต้น 0 เดือน ($p > 0.05$)

จากรูปที่ 8 พบว่าปริมาณโปรตีนที่ระยะเวลา 2, 3 และ 4 เดือนพบมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เมื่อเทียบกับตอนเริ่มต้น แต่ที่ระยะเวลา 1 เดือนพบไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับตอนเริ่มต้น ($p > 0.05$)



รูปที่ 8 ปริมาณโปรตีน (mg/ml) หลังจากการทดสอบความคงสภาพของผงแห้งของน้ำข้าวเปลือก

(a) และผงแห้งน้ำข้าวกล้อง (b) ณ เวลาเริ่มต้น, เดือนที่ 1, 2, 3 และ 4

(a, b, c, d, e แสดงค่าความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับตอนเริ่มต้น กำหนดให้ $p < 0.05$)

4. สรุปผลการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำเป็นตัวทำละลายที่ใช้สกัดส่วนสกัดน้ำข้าวเปลือก และข้าวกล้องจากข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมาแก เพื่อให้ได้ปริมาณสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก ปริมาณโปรตีน และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ พบว่าส่วนสกัดน้ำจากทั้งข้าวเปลือก และข้าวกล้องด้วยวิธีการบดแล้วนำมาแช่เป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีสารประกอบกลุ่มฟีนอลิก โปรตีน และสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ในส่วนของการศึกษาความคงสภาพในสภาวะเร่ง (อุณหภูมิ $45 \pm 2^\circ\text{C}$, $75 \pm 2\%$ RH) พบว่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณโปรตีนมีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) เพราะฉะนั้นการนำส่วนสกัดน้ำข้าวไปประยุกต์ใช้ควรต้องคำนึงถึงอุณหภูมิ และความชื้นในการเก็บรักษาด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณคณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้การสนับสนุนทุนการศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา และเจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาเทคโนโลยีเกษตรกรรม ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์ เครื่องมือ และสถานที่ในการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบพระคุณศูนย์วิจัยข้าวขอนแก่น และคุณจรูญจิต เฟื่องรัตน์ นักวิชาการเกษตรชำนาญการพิเศษ ที่เอื้อเฟื้อข้อมูล และตัวอย่างข้าวเหนียวพันธุ์พญาลิมาแก ในการศึกษาวิจัยในครั้งนี้รวมทั้งขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.ผดุงขวัญ จิตโรภาส ที่ให้คำแนะนำต่างๆ อันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิจัย และขอขอบพระคุณ ผศ.ดร.สุพัตรา ปรศุพัฒนา ที่กรุณาเอื้อเฟื้อ

สารเคมี และแนะนำวิธีการทดสอบสารต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ORAC

References

- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(1), 248-254.
- Bopitiya, D. & Madhujith, T. (2014). Antioxidant potential of rice bran oil prepared from red and white rice. *Tropical Agricultural Research*, 26(1), 1-11.
- Chaiyasut, C., Kesika, P., Sakdakampanat, P., Peerajan, S. & Sivamaruthi, B.S. (2018). Formulation and evaluation of stability of Thai purple rice bran-based cosmetic products. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(1), 99-104.
- Fasahat, P., Abdullah, A., Muhammad, K., Musa, K. H. & Wickneswari, R. (2013). New red rice transgressive variants with high antioxidant capacity. *International Food Research Journal*, 20(3), 1497-1501.
- Huang, D. J., Chen, H. J., Lin, C. D. & Lin, Y. H. (2005). Antioxidant and antiproliferative activities of water spinach (*Ipomoea aquatica* Forsk) constituents. *Botanical Bulletin - Academia Sinica*, 46, 99-106.



- Le, Q. & Songsermpong, S. (2014). Head rice yield, pasting property and correlations of accelerated paddy rice aging properties by microwave heating conditions. *International Food Research Journal*, 21(2), 703-712.
- Marto, J., Neves, A., Gonçalves, L. M., Pinto, P., Almeida, C. & Simoes, S. (2018) Rice Water: A traditional ingredient with anti-aging efficacy. *Cosmetics*, 5(2), 1-12.
- Manosroi, A., Chutoprapat, R., Sato, Y., Miyamoto, K., Hsueh, K., Abe, M. & Manosroi, J. (2011). Antioxidant activities and skin hydration effects of rice bran bioactive compounds entrapped in niosomes. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, 11(3), 2269-2277.
- Moongngarm, A., Daomukda, N. & Khumpika, S. (2012). Chemical compositions, phytochemicals, and antioxidant capacity of rice bran, rice bran layer, and rice germ. *APCBEE Procedia*, 2, 73-79.
- Nishimura, M., Yoshida, S. I., Haramoto, M., Mizuno, H., Fukuda, T., Kagami-Katsuyama, H., *et al.* (2016). Effects of white rice containing enriched gamma-aminobutyric acid on blood pressure. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 6, 66-71.
- Lim, S.T., Lee, J.H., Shin, D.H. & Lim, H. S. (1999). Comparison of protein extraction solutions for rice starch isolation and effect of residual protein content on starch pasting properties. *Starch*, 51(4), 120-125.
- Pedro, A. C., Granato, D. & Rosso, N. D. (2016). Extraction of anthocyanins and polyphenols from black rice (*Oryza sativa* L.) by modeling and assessing their reversibility and stability. *Food Chemistry*, 191, 12-20.
- Rattana Muangrat, Pongsathorn Tomtong, and Jaratsri Luangpan, (2016). Total phenolic compounds extraction from Kluai Hom Thong peels using subcritical solvent extraction technique. *Srinakharinwirot University (Journal of Science and Technology)*, 8(15), 54-65.
- Rice Research and Development Division (2016). Phayaleumkang Glutinous Rice. Khon Kaen: Khon Kaen Rice Research Center.
- Singleton, V.L., Orthofer, R. & Lamuela-Raventos, R. M. (1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of folin-ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, 152-178.
- Srisawat, U., Panunto, W., Kaendee, N., Tanuchit, S., Itharat, A., Lerdvuthisophon, N., *et al.* (2010). Determination of phenolic compounds, flavonoids, and antioxidant activities in water extracts of Thai red and white rice cultivars. *Journal of Medical Association of Thailand*, 93, suppl 7, S83-S91.
- Tananuwong, K. & Tewaruth, W. (2010). Extraction and application of antioxidants from black glutinous rice. *LWT - Food Science and Technology*, 43(3), 476-481.
- Wang, M., Hettiarachchy, N.S., Qi, M., Burks, W. & Siebenmorgen, T. (1999). Preparation and functional properties of rice bran protein isolate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 411-416.
- Wei, C., Kwon, O. Y., Liu, X. W., Kim, H., Yoon, W. K., Kim, H. K., *et al.* (2007). Protein profile of major Korean rice cultivars. *Preventive Nutrition and Food Science*, 12(2), 103-110.