



การต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของสารสกัดเบตากลูแคนจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105

พัทธพร ภูวดลไพศาล*

สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏจันทรเกษม

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 0 8138 97233 อีเมล: pattaporn.p@chandra.ac.th

DOI: 10.14416/j.kmutnb.2021.05.032

รับเมื่อ 20 พฤษภาคม 2563 แก้ไขเมื่อ 30 มิถุนายน 2563 ตอรับเมื่อ 10 กรกฎาคม 2563 เผยแพร่ออนไลน์ 25 พฤษภาคม 2564

© 2021 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

รำข้าวเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง โดยเฉพาะเบตากลูแคน ซึ่งเป็นเส้นใยอาหารที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเบตากลูแคนจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อเป็นแนวทางในการนำรำข้าวไทยกลับมาใช้ประโยชน์ การสกัดเบตากลูแคนโดยใช้น้ำเป็นตัวทำละลายพบว่า ได้ปริมาณสารสกัดเบตากลูแคนจากรำข้าว (Rice Bran Beta-glucan Gum; RBG) เท่ากับ $1,018.9 \pm 13.32$ มิลลิกรัมต่อรำข้าว 100 กรัม ซึ่งมีเบตากลูแคนอยู่ $0.201 \pm 0.04\%$ (w/w) เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ RBG (IC_{50}) พบว่า มีความสามารถในการจับประจุไอออนเหล็กได้ดีที่สุด (0.3 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมา คือ การต้านอนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์ (2.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) อนุมูลไฮดรอกซิล (2.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) อนุมูลแคทไอออน ABTS^{•+} (6.7 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และอนุมูล DPPH (10.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ ($p < 0.05$) นอกจากนี้ RBG สามารถยับยั้งปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน โดยที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเท่ากับ $73.9 \pm 0.88\%$ และ $62.9 \pm 0.46\%$ ที่เวลา 1 และ 2 วัน ตามลำดับ ขณะที่กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic Acid; ACA) มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเท่ากับ $60.0 \pm 0.89\%$ และ $28.3 \pm 0.46\%$ ตามลำดับ ($p < 0.05$) สารสกัดเบตากลูแคนจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 สามารถจับประจุไอออนเหล็กและยับยั้งปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ดีกว่า ACA รวมทั้งมีปริมาณเบตากลูแคนและฤทธิ์ต้านอนุมูลบางชนิดใกล้เคียงกับสารสกัดเบตากลูแคนจากแหล่งอื่น

คำสำคัญ: การต้านอนุมูลอิสระ การยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน สารสกัดเบตากลูแคน รำข้าว ขาวดอกมะลิ 105



Research Article

Antioxidant Activities and Lipid Peroxidation Inhibition of Beta-glucan Gum from Khao Dawk Mali 105 Rice Bran

Pattraporn Phuwadolpaisarn*

Department of Chemistry, Faculty of Science, Chandrakasem Rajabhat University

* Corresponding Author, Tel. 0 8138 97233, E-mail: pattraporn.p@chandra.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2021.05.032

Received 20 May 2020; Revised 30 June 2020; Accepted 10 July 2020; Published online: 25 May 2021

© 2021 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

Rice bran is agricultural waste and has high nutritional value, especially beta-glucan that is dietary fiber promoting health benefit. Thus, the present study aims to elucidate on antioxidant activities of beta-glucan gum from Khao dawk mali 105 rice bran and to be channel for reusing Thai rice bran. Subsequently, extraction of beta-glucan from rice bran in aqueous was performed, yield of rice bran beta-glucan gum (RBG) is $1,018.9 \pm 13.32$ mg/100 g rice bran and beta-glucan content is $0.201 \pm 0.04\%$ w/w. Antioxidant activities testing indicated that RBG (IC_{50}) had the highest chelating ability on ferrous ion (0.3 mg/mL), followed by abilities against superoxide anion radical (2.4 mg/mL), hydroxyl radical (2.8 mg/mL), $ABTS^{+}$ cation radical (6.7 mg/mL) and DPPH radical (10.6 mg/mL), respectively ($p < 0.05$). Moreover, beta-glucan gum had ability to inhibit lipid peroxidation. At 5 mg/mL, the beta-glucan gum showed inhibiting capacities of $73.9 \pm 0.88\%$ and $62.9 \pm 0.46\%$ for 1 and 2 day, respectively whereas ascorbic acid (ACA) showed such of $60.0 \pm 0.89\%$ and $28.3 \pm 0.46\%$ for 1 and 2 day, respectively ($p < 0.05$). The beta-glucan gum from Khao dawk mali 105 rice bran showed the higher chelating ability on ferrous ion and inhibiting lipid peroxidation than ascorbic acid. It also had beta-glucan content and scavenging abilities against some free radical similar to beta-glucan gum from others.

Keywords: Antioxidant Activity, Lipid Peroxidation Inhibition, Beta-glucan Gum, Rice Bran, Khao Dawk Mali

105



1. บทนำ

รำข้าวเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่สามารถนำกลับมาใช้ประโยชน์ เพื่อเพิ่มมูลค่าได้ มีลักษณะเป็นเยื่อชั้นบางๆ ห่อหุ้มเมล็ดข้าวกล้อง ได้มาจากกระบวนการขัดสีข้าวกล้องให้เป็นข้าวขาว อาจมีแกลบและจมูกข้าวปนมาบ้าง ส่วนประกอบสำคัญของรำข้าว คือ เยื่อแอลิวโรน (Aleurone Layer) ซับแอลิวโรน (Sub-aleurone) และเพอริคาร์พ (Pericarp) ซึ่งเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารอาหาร เช่น คาร์โบไฮเดรต ส่วนใหญ่เป็นพวกเส้นใยอาหาร เช่น เบตาไกลูแคน (Beta-glucan) อะราบินโนไซแลน (Arabinoxylan) [1], [2] ในประเทศไทยรำข้าวส่วนใหญ่ได้มาจากข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เนื่องจากเป็นพันธุ์ข้าวเศรษฐกิจที่สำคัญ มีผลผลิตเก็บเกี่ยวต่อปีสูงถึง 10 ล้านตัน จึงมีปริมาณรำข้าวมากกว่าข้าวพันธุ์อื่นๆ ประมาณ 2-10 เท่า และยังมีปริมาณการส่งออกมากที่สุด คือประมาณ 3.4 ล้านตัน ข้าวสารทำให้ในแต่ละปีมีรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิปริมาณไม่น้อยกว่า 1 ล้านตัน (ประมาณ 10% ของข้าวเปลือกจากผลผลิต) จังหวัดที่เป็นแหล่งเพาะปลูกข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิที่สำคัญคือ อุบลราชธานี ศรีสะเกษ สุรินทร์ และบุรีรัมย์ ซึ่งแต่ละจังหวัดมีผลผลิตต่อปีเกือบ 1 ล้านตัน [3], [4] รำข้าวนอกจากจะนำมาใช้สกัดน้ำมันรำข้าวและเป็นส่วนผสมในอาหารเลี้ยงสัตว์แล้วยังเป็นแหล่งของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญและมีประโยชน์หลายชนิด [2]

เบตาไกลูแคนเป็นส่วนประกอบหลักของเส้นใยละลายน้ำที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โครงสร้างประกอบด้วยน้ำตาลหน่วยย่อยเพียงชนิดเดียว คือ เบตา-กลูโคส (β -glucose) เบตาไกลูแคนพบในธัญพืช เห็ด และยีสต์ ซึ่งแต่ละแหล่งที่พบมีชนิดของพันธะในโครงสร้างแตกต่างกัน ทำให้มีสมบัติทางกายภาพ เคมี และฤทธิ์ทางชีวภาพแตกต่างกันด้วย [5] รำข้าวเป็นอีกแหล่งหนึ่งที่พบเบตาไกลูแคน ซึ่งส่วนใหญ่พบในเมล็ดและรำของข้าวโอ๊ตและข้าวบาร์เลย์ นอกจากนี้ยังพบในข้าวสาลี ข้าวขาว ข้าวไรย์ และธัญพืชชนิดอื่นๆ มีลักษณะโครงสร้างเป็นเส้นตรงที่ประกอบด้วยน้ำตาลเบตา-กลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Glycosidic Bond) 2 ชนิด คือ เบตา-1,4 ไกลโคซิดิก (β -1,4 Glycosidic) ทำหน้าที่เชื่อมเบตา-กลูโคส

ในโครงสร้างหลัก และเบตา-1,3 ไกลโคซิดิก (β -1,3 Glycosidic) ขึ้นอยู่กับทุกๆ 3 หรือ 4 โมเลกุลของเบตา-กลูโคสในโครงสร้างหลัก จึงมักเรียกเบตาไกลูแคนจากธัญพืชว่า Mixed Linkage Beta-glucan [6]

งานวิจัยที่ศึกษาปริมาณเบตาไกลูแคนในสารสกัดจากรำข้าว มีอยู่จำนวนไม่มาก ได้แก่ รำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในจังหวัดบุรีรัมย์ มีปริมาณเบตาไกลูแคนสูงสุด (0.22% (w/w) [7] รำข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุงที่ผ่านกระบวนการไฮโดรไลซิส (Hydrolysis) ในสภาวะต่างอ่อนร่วมกับการใช้เอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดส (Amyloglucosidase) และโปรตีเอส (Protease) มีปริมาณเบตาไกลูแคน 0.88-4.63% [8] รำข้าวที่ปลูกในประเทศเกาหลี ซึ่งสกัดด้วยเมทานอลร่วมกับการใช้เครื่องอัลตราโซนิก (Ultrasonic) พบว่า พันธุ์ Danmi มีปริมาณเบตาไกลูแคนสูงสุด (0.57% (w/w)) ขณะที่รำข้าวพันธุ์ Misomi ที่หมักด้วยเชื้อรา *L. edodes* มีปริมาณเบตาไกลูแคนสูงสุด (ร้อยละ 0.40 โดยน้ำหนัก) [9] งานวิจัยที่ผ่านมาส่วนใหญ่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเบตาไกลูแคนจากรำและเมล็ดของข้าวโอ๊ตและข้าวบาร์เลย์ ซึ่งรายงานผลในรูปแบบแตกต่างกัน เช่น Mebrek และคณะ [10] รายงานในรูปแบบ IC₅₀ และ Harasym และ Ołędzki [11] รายงานในรูปแบบ Trolox Equivalent สำหรับงานวิจัยที่ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเบตาไกลูแคนจากรำข้าว มีเพียงการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH และความสามารถในการต้านออกซิเจนรวม (Oxygen Radical Antioxidant Capacity) ของรำข้าวพันธุ์เกาหลี รายงานผลในรูปแบบเปอร์เซ็นต์ การต้านอนุมูลอิสระ [9] นอกจากนี้สารสกัดเบตาไกลูแคนจากข้าวโอ๊ต มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน จึงใช้เป็นส่วนผสมในไส้กรอกและนักเก็ตกึ่งแช่แข็ง เพื่อให้เก็บรักษาได้นานขึ้นโดยไม่ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดไขมัน [12], [13] จากงานวิจัยที่ผ่านมาพบว่า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระบางชนิดของสารสกัดเบตาไกลูแคนจากรำข้าวยังไม่ได้ทำการศึกษา ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ และการยับยั้งปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของสารสกัดเบตาไกลูแคนจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 เพื่อเป็นแนวทางในการนำวัสดุเหลือทิ้ง

ทางการเกษตรกลับมาใช้ประโยชน์ โดยเฉพาะการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพในเชิงพาณิชย์

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 การเตรียมรำข้าว

นำรำข้าวพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ที่ปลูกในจังหวัดบุรีรัมย์ ขัดสีจากรำเปลือกด้วยเครื่องสีข้าวของชุมชน มากำจัดเอนไซม์เอนโด-กลูคาเนส (Endo-glucanase) (ทำหน้าที่ย่อยสลายโครงสร้างของเบตาไกลูแคนในรำข้าว [14]) โดยนำรำข้าว 100 กรัม ต้มด้วยเอทานอล 70% 1 ลิตร ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง กรองด้วยระบบสุญญากาศและล้างด้วยเอทานอลความเข้มข้นเดิม 1 ลิตร อีก 2 ครั้ง อบรำข้าวให้แห้ง ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ร่อนผ่านตะแกรง ก่อนเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2 การสกัดเบตาไกลูแคนจากรำข้าว

นำรำข้าวมาสกัดเบตาไกลูแคนด้วยน้ำ ที่อัตราส่วนน้ำ (มิลลิลิตร) ต่อรำข้าว (กรัม) เท่ากับ 250 : 20 พิเอชเท่ากับ 10 (โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 10%) บ่มในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 45 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที นาน 3 ชั่วโมง [15] นำมาปรับพิเอชเท่ากับ 5 เพื่อตกตะกอนโปรตีน ปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที แยกกากรำข้าวทิ้งไป นำส่วนสารละลายมาปรับพิเอชเท่ากับ 7 และปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 10 นาที เพื่อแยกตะกอนที่เหลืออยู่ออกให้หมด จากนั้นนำมาตกตะกอนเบตาไกลูแคนด้วยเอทานอล ($\text{C}_2\text{H}_5\text{O}$) 99.9% ในอัตราส่วน 1 : 1 ผสมให้เข้ากันโดยเร็ว ทั้งไว้ให้ตกตะกอนอย่างสมบูรณ์ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 1 คืน ปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนเบตาไกลูแคน ที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที นาน 15 นาที อบให้แห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะได้ RBG

2.3 ปริมาณเบตาไกลูแคนในสารสกัด

วิเคราะห์ปริมาณเบตาไกลูแคนด้วยชุดทดสอบ Mixed-linkage Beta-glucan [16] จัดจำหน่ายโดยบริษัท Mega-

zyme (Bray, Co. Wicklow, Ireland) ปริมาณเบตาไกลูแคน รายงานในรูปแบบ % (w/w) คำนวณได้จากสูตร $\Delta A \times F/W \times 8.46$; เมื่อ ΔA คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ย่อยด้วย เอนไซม์เบตา-กลูโคซิเดส (Beta-glucosidase) (น้ำตาลกลูโคสจากเบตาไกลูแคน) ลบ ค่าการดูดกลืนแสงตัวอย่างที่ไม่ได้ย่อยด้วยเอนไซม์เบตาไกลูโคซิเดส (น้ำตาลกลูโคสเริ่มต้น) F คือ 100/ค่าการดูดกลืนแสงของดี-กลูโคส (D-glucose) ปริมาณ 100 ไมโครกรัม W คือ น้ำหนักแห้งของสารสกัดที่ใช้วิเคราะห์ (มิลลิกรัม) และ 8.46 คือ แฟกเตอร์ (เปลี่ยนหน่วย ไมโครกรัม เป็น มิลลิกรัม เปลี่ยนดี-กลูโคสอิสระ (ที่วิเคราะห์ได้) เป็น แอนไฮโดร-ดี-กลูโคส (Anhydro-D-glucose) ซึ่งเป็นรูปที่เป็นองค์ประกอบในโครงสร้างของเบตาไกลูแคน และเปลี่ยนหน่วยให้อยู่ในรูปแบบ % (w/w)

2.4 ปริมาณความชื้น

ปริมาณความชื้นวิเคราะห์ตามวิธีมาตรฐานในชุดทดสอบ Mixed-linkage Beta-glucan [16] ซึ่งสารสกัดเบตาไกลูแคน 500 มิลลิกรัม นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 ชั่วโมง

2.5 การตรวจสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ RBG และ ACA

2.5.1 การเตรียมสารสกัด [17]

เตรียม RBG 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร นำ RBG 1 กรัม เติมน้ำเอทานอล 95% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 90 มิลลิลิตร คนสารอย่างต่อเนื่องด้วยเครื่องกวนสารชนิดให้ความร้อน ปิดปากให้สนิท หยุดให้ความร้อน เมื่อน้ำเริ่มเดือด คนสารต่อเนื่องไปอีก 10 นาที ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนบางส่วนที่ความเร็ว 1,000 รอบต่อนาที นาน 20 นาที

2.5.2 การต้านอนุมูล DPPH [18]

นำ RBG และ ACA ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.5–10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 4 มิลลิตร ผสมกับสารละลาย 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) 0.1 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอล (เตรียมใหม่) 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิห้อง ในที่มืดนาน 15 นาที และบ่มที่แสงสว่างปกติ



นาน 20 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร

2.5.3 การต้านอนุมูลแคทไอออน ABTS^{•+} [19]

อนุมูลแคทไอออน 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS^{•+}) ได้จากสารละลายผสมระหว่าง ABTS 7.0 มิลลิโมลาร์ ในเมทานอล 5.0 มิลลิลิตร และโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (K₂S₂O₈) 140.0 มิลลิโมลาร์ 88 ไมโครลิตร จากนั้นทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืด ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12-16 ชั่วโมง ก่อนนำมาวิเคราะห์ ต้องเจือจางความเข้มข้นด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1 : 89 โดยปริมาตร (ทำใหม่ทุกครั้ง) ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 30 องศาเซลเซียส เพื่อวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ให้ได้เท่ากับ 0.700 ± 0.02

นำ RBG และ ACA ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.5-10.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 0.2 มิลลิลิตร มาผสมกับสารละลายอนุมูล ABTS^{•+} 3.0 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืด นาน 1 ชั่วโมง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร

2.5.4 การต้านอนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์ (O₂⁻) [18]

นำ RBG และ ACA ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.05-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 1 มิลลิลิตร เติมนิโตรบลูเตรอะโซเลียม (NBT) 300 ไมโครโมลาร์ 1.0 มิลลิลิตร นิโคตินาไมด์อะดีนีนไดนิวคลีโอไทด์ (NADH) 936 ไมโครโมลาร์ 1.0 มิลลิลิตร และพินาซินเมโรซัลเฟต (PMS) 120 ไมโครโมลาร์ ในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 100 มิลลิโมลาร์ พีเอช 7.4 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร บ่มในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง นาน 5 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร

2.5.5 การต้านอนุมูลไฮดรอกซิล (OH[•]) [18]

นำ RBG และ ACA ที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.05-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 1 มิลลิลิตร มาผสมกับฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate Buffer) 0.6 มิลลิลิตร (เตรียมจากฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 35 มิลลิโมลาร์ ที่มีดีออกซีไรโบส (Deoxyribose) 10 มิลลิโมลาร์ และ EDTA 170 มิลลิโมลาร์) ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂) 10 มิลลิโมลาร์ 0.1 มิลลิลิตร ACA 2

มิลลิโมลาร์ 0.1 มิลลิลิตร และเฟอร์ริกคลอไรด์ (FeCl₃) 1 มิลลิโมลาร์ 0.1 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงครึ่ง จากนั้นนำมาเติมไตรคลอโรอะซิติกแอซิด (TCA) 1% (w/v) 1 มิลลิลิตร และกรดไทโอบาร์บิทูริก (TBA) 1% (w/v) 1 มิลลิลิตร จากนั้นต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที (ปิดฝาให้สนิท) วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร

2.5.6 ความสามารถในการจับประจุไอออนเหล็ก [18]

นำ RBG และ ACA ความเข้มข้นต่างๆ (0.05-1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 1 มิลลิลิตร มาผสมกับเฟอร์รัสคลอไรด์ (FeCl₂) 2 มิลลิโมลาร์ 0.1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน 30 วินาที จากนั้นเติมเฟอร์โรซีน (Ferrozine) 5 มิลลิโมลาร์ 0.2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 562 นาโนเมตร

2.5.7 ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันตัดแปลงจาก Siddhuraju [20]

สารละลายอีลล์ซันกรดลิโนเลอิก (Linoleic Acid) 0.02 โมลาร์ 50 มิลลิลิตร (เตรียมจากกรดลิโนเลอิกและทวิน 20 (Tween 20) อย่างละ 0.2804 กรัม ละลายในฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 0.2 โมลาร์ พีเอช 7.0) คนด้วยเครื่องกวนสาร จนกระทั่งสารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน (ควรเตรียมก่อนใช้ ตั้งทิ้งไว้จะแยกชั้น) นำ RBG และ ACA ความเข้มข้นต่างๆ (5.0-100.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) 0.5 มิลลิลิตร มาผสมกับสารละลายอีลล์ซันกรดลิโนเลอิก 2.5 มิลลิลิตร และฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (พีเอช 7.0) 0.2 โมลาร์ 2 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปบ่มในที่มืด ในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิที่ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบต่อนาที

ตรวจวัดอัตราการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน เก็บตัวอย่าง 0.1 มิลลิลิตร เติมนิโตรบลูเตรอะโซเลียม 75% 4.7 มิลลิลิตร แอมโมเนียมไทโอไฮซายานเนต (NH₄SCN) 30% 0.1 มิลลิลิตร และเฟอร์รัสคลอไรด์ 0.1 มิลลิลิตร (เตรียมจากเฟอร์รัสคลอไรด์ 0.02 โมลาร์ ในกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 3.5%) เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 3 นาที ค่าเปอร์ออกไซด์ (Peroxide Value) ได้จากการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร วัดค่าเปอร์ออกไซด์ที่ระยะเวลา 0 (ก่อนนำไปบ่ม)

1 และ 2 วัน ตามลำดับ

2.5.8 ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ

คำนวณได้จากสูตร $(1 - A_{\text{sample}} / A_{\text{control}}) \times 100$ เมื่อ A_{sample}

คือ ค่าการดูดกลืนแสงของ RBG หรือ ACA; A_{control} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลอดควบคุม (ใช้น้ำกลั่นแทนสารตัวอย่าง)

2.6 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้โปรแกรม SPSS Statistic Software (Version 24 for Window, SPSS Inc., Chicago, USA) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ และรายงานผลในรูปค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน วิเคราะห์ความแปรปรวนและการทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี One-way ANOVA และ Tukey's Test และวิเคราะห์ความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงจากสมการถดถอย (Linear Regression) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p < 0.05$)

3. ผลการทดลอง

3.1 ปริมาณเบตาแคโรทีนและความชื้นในสารสกัด

RBG มีลักษณะเป็นผงสีขาวปนน้ำตาลอ่อน ได้ปริมาณสารสกัดเท่ากับ $1,018.9 \pm 13.32$ mg/100 มิลลิกรัมต่อรำข้าว 100 กรัม ซึ่งมีเบตาแคโรทีนอยู่ $0.201 \pm 0.04\%$ คิดเป็นปริมาณเบตาแคโรทีนทั้งหมดเท่ากับ 20.480 ± 0.38 มิลลิกรัมต่อรำข้าว 1 กิโลกรัม ปริมาณความชื้นที่พบในสารสกัดเท่ากับ $10.720 \pm 0.11\%$

3.2 การต้านอนุมูลอิสระของ RBG

3.2.1 ความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH

อนุมูล DPPH เป็นอนุมูลไนโตรเจนที่มีความคงตัวนิยมใช้วิเคราะห์หาฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดต่างๆ ซึ่งตรวจวัดจากการให้ไฮโดรเจนไอออนแก่อนุมูล DPPH [21] การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH ของ RBG ดังรูปที่ 1 (ก) พบว่า มีความสัมพันธ์กับความเข้มข้น นั่นคือเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัด ร้อยละการต้านอนุมูล DPPH เพิ่มขึ้นด้วย และที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

สามารถต้านอนุมูล DPPH เท่ากับ $43.8 \pm 0.51\%$ ขณะที่การต้านอนุมูล DPPH ของ ACA มีค่ามากกว่า 90% ที่ความเข้มข้นมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.2 ความสามารถในการต้านอนุมูล ABTS^{•+}

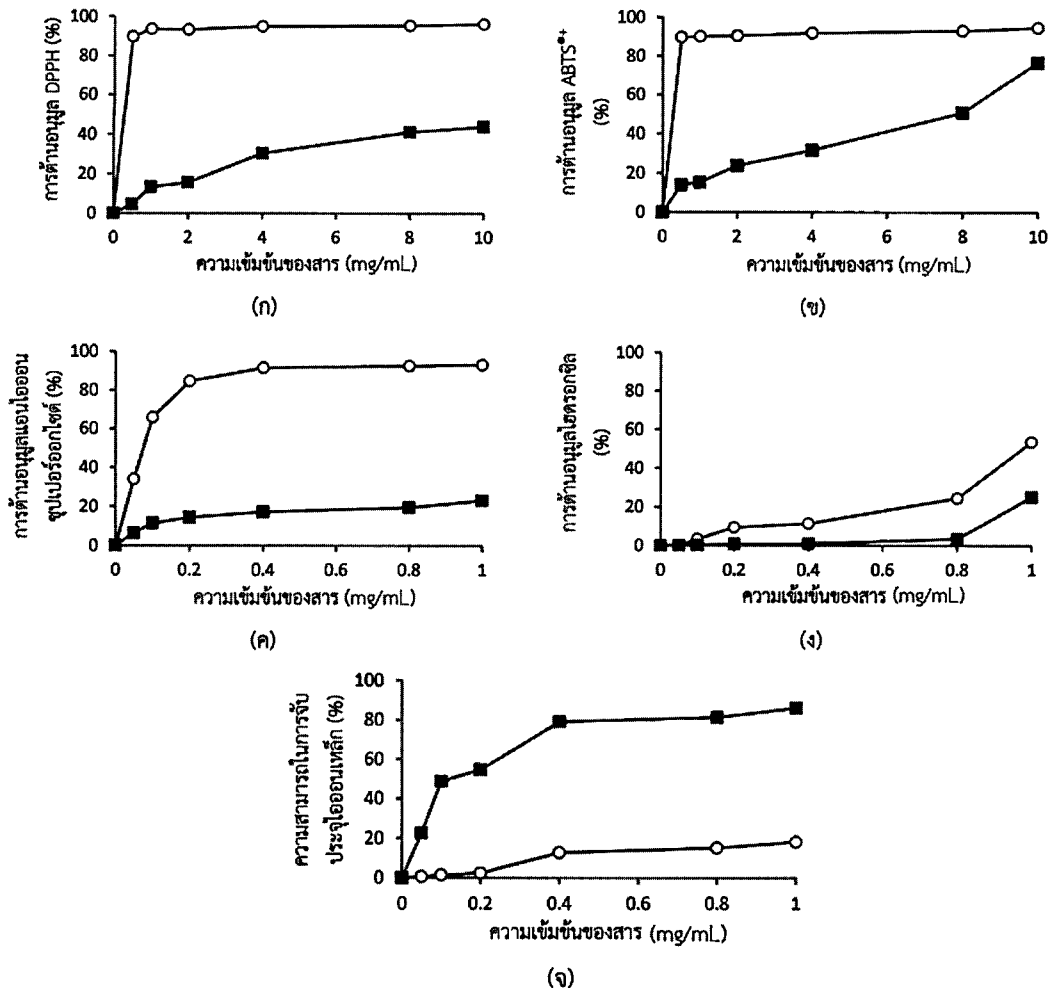
อนุมูล ABTS^{•+} เป็นอนุมูลอิสระที่ใช้สำหรับวิเคราะห์ความสามารถในการให้ไฮโดรเจนไอออนของสารต้านอนุมูลอิสระที่ชอบน้ำและไม่ชอบน้ำ ABTS^{•+} จะถูกทำให้สูญเสียอิเล็กตรอน เพื่อให้อยู่ในรูปอนุมูลแคทไอออน ABTS^{•+} [22] จากการศึกษาพบว่าความสามารถในการต้านอนุมูล ABTS^{•+} แปรผันตามความเข้มข้นของ RBG ดังรูปที่ 1 (ข) ที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการต้านอนุมูลแคทไอออน ABTS^{•+} สูงสุด เท่ากับ $76.7 \pm 0.64\%$ ซึ่งน้อยกว่า ACA ที่สามารถต้านอนุมูล ABTS^{•+} มากกว่า 90% ที่ความเข้มข้นมากกว่า 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.2.3 ความสามารถในการต้านอนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์ (O₂⁻)

อนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์เป็นอนุมูลที่พบในระบบถ่ายเทอิเล็กตรอนของโคเอนไซม์เอ็นเอดีเอช (Coenzyme NADH) หรือเอ็นเอดีพีเอช (NADPH) ที่เกิดขึ้นในไมโทคอนเดรีย (Mitochondria) ของเซลล์ และยังเป็นอนุมูลที่ทำให้เกิดอนุมูลซิงเกิลท็อกซิเจน (Singlet Radical) และอนุมูลไฮดรอกซิล ซึ่งเป็นอนุมูลตั้งต้นที่เกี่ยวข้องกับการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน [23] การทดสอบอนุมูลชนิดนี้ทำในระบบที่ประกอบด้วยฟีนาคีนเมโรซัลเฟตและเอ็นเอดีเอช จะทำให้เกิดอนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์ขึ้น โดยปริมาณอนุมูลตรวจสอบได้จากปฏิกิริยารีดักชันของไนโตรบลูเตรโซเลียม (NBT) ความสามารถในการต้านอนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์ ดังรูปที่ 1 (ค) พบว่า RBG ที่ความเข้มข้น 0.05–1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านอนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์ได้เท่ากับ 6.4 ± 1.19 – $23.1 \pm 1.66\%$ ซึ่งน้อยกว่า ACA ที่ความเข้มข้นเดียวกัน ซึ่งต้านอนุมูลได้เท่ากับ 33.9 ± 1.35 – $92.9 \pm 0.44\%$

3.2.4 ความสามารถในการต้านอนุมูลไฮดรอกซิล (OH[•])

อนุมูลไฮดรอกซิลเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเฟอร์ริกคลอไรด์และ EDTA ได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนกับไฮโดรเจน



รูปที่ 1 การต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ของ RBG (■) และ ACA (○) (ก) การต้านอนุมูล DPPH (ข) การต้านอนุมูล ABTS^{•+} (ค) การต้านอนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์ (ง) การต้านอนุมูลไฮดรอกซิล (จ) ความสามารถในการจับประจุไอออนเหล็ก

เปอร์ออกไซด์และ ACA จากนั้นเกิดอนุมูลไฮดรอกซิลที่ไม่เสถียร จึงเกิดปฏิกิริยาต่อกับดีออกซีไรโบสได้เป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดปฏิกิริยาต่อกับกรดไทโอบาร์บิทูริก (Thiobarbituric Acid) ในสภาวะกรด เกิดเป็นสารละลายสีชมพูอมส้ม สำหรับใช้วัดปริมาณอนุมูลไฮดรอกซิล [24] RBG ที่ความเข้มข้น 0.05–0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการต้านอนุมูลไฮดรอกซิลค่อนข้างต่ำ คือเท่ากับ 0.1–3.6% และที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลเพิ่มขึ้น คือ $25.1 \pm 0.33\%$ การเพิ่มความเข้มข้นของสารสกัดจะทำให้ความสามารถต้านอนุมูลเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกับ ACA

ที่ความเข้มข้น 0.05–0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถต้านอนุมูลต่ำกว่า 50% และเมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้นเป็น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีค่าร้อยละการต้านอนุมูลเพิ่มขึ้นเป็น $53.5 \pm 1.39\%$ แสดงในรูปที่ 1 (ง)

3.2.5 ความสามารถในการจับประจุไอออนเหล็ก
ไอออนเหล็กในรูปเฟอร์รัส (Fe^{2+}) เป็นตัวการสำคัญในการเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้โครงสร้างของโปรตีนลิพิด กรดนิวคลีอิก และสารประกอบหลายชนิดภายในเซลล์เกิดการเปลี่ยนแปลง จึงทำให้เกิดอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ ไอออนเหล็กเป็นสารตั้งต้นที่สำคัญของปฏิกิริยาแฟนตัน

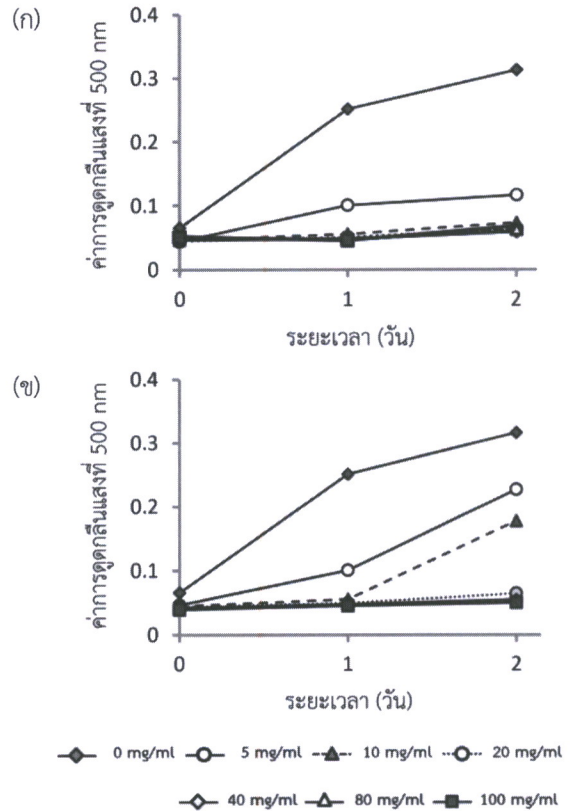
ทำให้เกิดอนุมูลไฮดรอกซิลเข้ามาทำลายเซลล์ [25] RBG มีความสามารถในการจับประจุไอออนเหล็กได้ดีกว่า ACA ดังรูปที่ 1 (จ) ความสามารถในการจับประจุเหล็กของ RBG เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว เมื่อเพิ่มความเข้มข้นจาก 0.05 เป็น 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นค่อยๆ เพิ่มขึ้นและสูงสุดที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความสามารถในการจับประจุไอออนเหล็กเท่ากับ $86.1 \pm 1.68\%$ ขณะที่ ACA ความเข้มข้น 0.05–1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการจับเหล็กได้น้อยกว่า 20%

3.2.6 ประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระชนิดต่างๆ

ความเข้มข้นของ RBG ที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50% (IC_{50}) คำนวณจากสมการถดถอยจากกราฟเส้นตรงมาตรฐาน ($p < 0.05$) เรียงลำดับจากค่า IC_{50} มากไปน้อยได้ดังนี้ การจับประจุไอออนเหล็ก (0.32 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) > อนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์ (2.44 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) > อนุมูลไฮดรอกซิล (2.80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) > อนุมูล $ABTS^{\bullet+}$ (6.68 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) > อนุมูล DPPH (10.64 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

3.3 การยับยั้งปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของ RBG

ปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้อาหารที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบหลักเสื่อมคุณภาพ อายุการเก็บรักษาจึงสั้นลง เนื่องจากไขมันในอาหารถูกทำลาย ดังนั้นสารต้านอนุมูลอิสระจึงมีบทบาทสำคัญที่ช่วยชะลอปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวในอาหาร โดยการกำจัดอนุมูลเปอร์ออกซิล (Peroxy Radical) ซึ่งส่งผลให้ปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันช้าลง ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของ RBG เปรียบเทียบกับ ACA ซึ่งตรวจวัดปริมาณลิพิดเปอร์ออกไซด์ (Lipid Peroxide) เริ่มต้นด้วยวิธีเฟอริกไทโอไซยาเนต (Ferric Thiocyanate) โดยลิพิดเปอร์ออกไซด์รีดิวซ์เฟอร์รัสคลอไรด์ ($FeCl_2$) ให้อยู่ในรูปเฟอริกไอออน (Fe^{3+}) ซึ่งเมื่อรวมตัวกับแอมโมเนียมไทโอไซยาเนต เกิดเป็นสารประกอบเฟอริกไทโอไซยาเนต ที่สามารถดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 500 นาโนเมตร [26] ผลการทดลองพบว่าค่าการดูดกลืนแสงที่เวลา 0 วัน ที่ความเข้มข้นต่างๆ มีค่า



รูปที่ 2 การเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของกรดไขมันลิโนเลอิกภายในระยะเวลา 2 วัน หลังจากเติม (ก) RBG และ (ข) ACA ที่ความเข้มข้น 0-100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ใกล้เคียงกันทั้งใน RBG และ ACA มีค่าการดูดกลืนแสงอยู่ในช่วง 0.045–0.065 เนื่องจากยังไม่มียอนุมูลอิสระเกิดขึ้น เมื่อทิ้งให้เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันนาน 1 และ 2 วัน พบว่า หลอดควบคุม (0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจาก 0.065 เป็น 0.249 และ 0.312 ตามลำดับ [รูปที่ 2 (ก) และ (ข)] แสดงว่ามีอนุมูลอิสระเกิดขึ้น โดยที่เวลา 2 วัน มีค่าการดูดกลืนแสงมากกว่า 1 วัน และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้น เมื่อใช้ระยะเวลามากขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Haghshenas และคณะ [13] และ Papageorgiou และคณะ [27]

เมื่อเติม RBG หรือ ACA ความเข้มข้นต่างๆ ส่งผลให้ค่าการดูดกลืนแสงลดลง จนใกล้เคียงกับค่าการดูดกลืนแสงที่



เวลา 0 วัน สังเกตได้จากที่เวลา 1 และ 2 วัน เส้นกราฟของ RBG ความเข้มข้นมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ค่อนข้างใกล้เคียงกับที่ 0 วัน มากกว่าสารสกัดที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงในรูปที่ 2 (ก) สำหรับ ACA ต้องใช้ความเข้มข้นมากกว่า 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เส้นกราฟจึงจะใกล้เคียงกับที่เวลา 0 วัน แสดงในรูปที่ 2 (ข) เมื่อเปรียบเทียบค่าการดูดกลืนแสงของหลอดที่เติมสารสกัดที่ระยะเวลาต่างๆ กับหลอดควบคุมพบว่า หลอดที่เติม RBG ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร รูปที่ 2(ก) ค่าการดูดกลืนแสงในวันที่ 1 ลดลงจาก 0.249 เป็น 0.065 คิดเป็นความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเท่ากับ $73.9 \pm 0.88\%$ และในวันที่ 2 ลดลงจาก 0.312 เป็น 0.116 คิดเป็นความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเท่ากับ $62.9 \pm 0.46\%$ ขณะที่หลอดที่เติม ACA ที่ความเข้มข้นเดียวกัน [รูปที่ 2 (ข)] ในวันที่ 1 ลดลงจาก 0.251 เป็น 0.101 คิดเป็นความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเท่ากับ $60.0 \pm 0.89\%$ และในวันที่ 2 ลดลงจาก 0.317 เป็น 0.227 คิดเป็นความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเท่ากับ $28.3 \pm 0.46\%$ แสดงว่า RBG และ ACA สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระที่เกิดจากปฏิกิริยาออกโตออกซิเดชันของกรดไขมันลิโนเลอิกได้

ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของ RBG และ ACA ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังตารางที่ 1 พบว่าในวันที่ 1 RBG ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาได้ดีที่สุด เท่ากับ $80.5 \pm 0.69\%$ ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับ ACA เท่ากับ $80.2 \pm 0.53\%$ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ RBG มากกว่า 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่มีผลทำให้ฤทธิ์ในการยับยั้งเพิ่มขึ้นเนื่องจาก RBG ที่ความเข้มข้นสูง มีความหนืดเพิ่มขึ้น [26] ซึ่งอาจจะส่งผลต่อความสามารถในการเกิดปฏิกิริยากับอนุมูลอิสระ ขณะที่ ACA ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น สามารถยับยั้งปฏิกิริยาได้เพิ่มขึ้น ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาของ RBG ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ในวันที่ 2 RBG เข้มข้น 5-20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) และที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยา

เท่ากับ $80.0 \pm 0.75\%$ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นจนถึง 100 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่า ไม่ทำให้ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น โดย RBG ที่ความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีฤทธิ์ยับยั้งปฏิกิริยาเท่ากับ ACA แต่ที่ความเข้มข้นน้อยกว่า 20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร RBG มีแนวโน้มที่จะยับยั้งปฏิกิริยาสูงกว่า ACA

ตารางที่ 1 ความสามารถในการยับยั้งปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของ RBG และ ACA

Conc. (mg/mL)	การยับยั้งปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (%)			
	วันที่ 1		วันที่ 2	
	RBG	ACA	RBG	ACA
5	73.9 ± 0.88^b	60.0 ± 0.89^d	62.9 ± 0.46^c	28.3 ± 0.46^e
10	74.6 ± 0.83^b	78.0 ± 0.50^c	76.8 ± 0.81^b	43.8 ± 0.60^d
20	80.5 ± 0.69^a	80.2 ± 0.53^b	80.0 ± 0.75^a	79.7 ± 0.59^c
40	80.2 ± 0.75^a	81.0 ± 0.57^{ab}	81.1 ± 0.60^a	82.7 ± 0.60^b
80	80.3 ± 0.73^a	81.5 ± 0.60^a	81.5 ± 0.62^a	83.5 ± 0.54^{ab}
100	80.4 ± 0.75^a	82.0 ± 0.46^a	81.7 ± 0.85^a	84.1 ± 0.37^a

^{a-e} ค่าเฉลี่ยในแนวตั้งที่มีตัวอักษรเหมือนกันไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

4. อภิปรายผลและสรุป

RBG มีปริมาณเบตาแคโรทีนใกล้เคียงกับปริมาณที่พบในสารสกัดเบตาแคโรทีนจากรำข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 [7] แต่มีปริมาณน้อยกว่าสารสกัดจากรำข้าวพันธุ์สังข์หยดพัทลุง [8] และรำข้าวที่ปลูกในประเทศเกาหลี [9] เนื่องจากวิธีการสกัดแตกต่างกัน จึงทำให้ได้ปริมาณเบตาแคโรทีนแตกต่างกัน การที่ RBG มีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH อนุมูลแคทไอออน ABTS⁺ อนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์ อนุมูลไฮดรอกซิล มีความสามารถในการจับประจุไอออนเหล็กและยังยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ น่าจะเกิดจากพันธะไกลโคซิดิกในโครงสร้างของเบตาแคโรทีน ซึ่งมีรายงานว่าพันธะไกลโคซิดิกทำให้คาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ดีกว่าคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลเล็ก ซึ่งแทบไม่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเลย [10] นอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับ

อะตอมอะโนเมอร์ไฮโดรเจน (Anomeric Hydrogen) ซึ่งมีอยู่จำนวนมากในโครงสร้างของเบตากลูแคน [11] RBG มีความสามารถในการยึดจับไอออนเหล็กได้ดีกว่า ACA อาจเนื่องมาจากการสกัดเบตากลูแคนด้วยน้ำ ทำให้ได้โครงสร้างของเบตากลูแคนขนาดใหญ่ จึงมีพื้นที่ในการยึดจับไอออนเหล็กได้มากกว่าโมเลกุลขนาดเล็กสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gao และคณะ [18] นอกจากนี้สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic Compound) และเส้นใยอาหารในรำข้าว [1] ที่สามารถสกัดได้ด้วยน้ำ น่าจะช่วยเสริมฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระให้กับเบตากลูแคนใน RBG

เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ของ RBG ที่ใช้น้ำสกัดกับสารสกัดจากรำข้าวพันธุ์เกาหลีที่ใช้เมทานอลสกัดพบว่า RBG มีฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH ($43.8 \pm 0.506\%$) ใกล้เคียงกับรำข้าวพันธุ์ Haiami และ Dasan1 และมีฤทธิ์สูงกว่ารำข้าวพันธุ์ Danmi Goami 1 และ Goami 4 เมื่อเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของ RBG กับสารสกัดเบตากลูแคนจากแหล่งอื่นที่มีโครงสร้างของเบตากลูแคนเหมือนกัน เช่น ข้าวบาร์เลย์พันธุ์ Algerian (BBG) [10] รายงานผลในรูปค่า IC_{50} ดังตารางที่ 2 พบว่า มีฤทธิ์ต้านอนุมูลไฮดรอกซิลใกล้เคียงกัน แต่ฤทธิ์ต้านอนุมูล DPPH อนุมูลแคทไอออน $ABTS^{+}$ และอนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์ของ RBG น้อยกว่า BBG เมื่อเปรียบเทียบจากแหล่งอื่น เช่น เห็ด *Entoloma lividoalbum* (β -1,3;1,6 Glucan) [28] มีฤทธิ์ต้านอนุมูลไฮดรอกซิล (IC_{50} 0.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สูงกว่าทั้ง RBG และ BBG เนื่องจากลักษณะโครงสร้างของเบตากลูแคนแตกต่างกัน การที่ RBG สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันใกล้เคียงกับ ACA จึงน่าจะสามารถนำไปพัฒนาเป็นส่วนผสมในอาหารสุขภาพ เพื่อเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการและประสิทธิภาพในการเก็บรักษาเช่นเดียวกับสารสกัดเบตากลูแคนจากรำข้าว [12], [13]

งานวิจัยนี้นำรำข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งเป็นพันธุ์ข้าวเศรษฐกิจที่มีปริมาณรำข้าวมากกว่าพันธุ์อื่นๆ มาเป็นวัตถุดิบในการสกัดเบตากลูแคน โดยใช้ในสภาวะต่างเป็นตัวอย่าง พบว่า RBG สามารถมีฤทธิ์อนุมูลอิสระชนิดต่างๆ ได้ ซึ่งมีความสามารถในการจับไอออนเหล็กและยังยับยั้งการเกิด

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบการต้านอนุมูลอิสระของ RBG และ BBG

การต้านอนุมูลอิสระ (IC_{50} , mg/mL)	RBG	BBG
อนุมูล DPPH	10.64	4.02
อนุมูลแคทไอออน $ABTS^{+}$	6.68	0.53
อนุมูลแอนไอออนซูเปอร์ออกไซด์	2.44	0.35
อนุมูลไฮดรอกซิล	2.80	2.27
การจับประจุไอออนเหล็ก	0.32	- ND
อ้างอิง	งานวิจัยนี้	[10]

ND คือ ไม่ได้ทำการศึกษา

ปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ดี ซึ่งเป็นข้อมูลใหม่ของรำข้าวที่ใช้น้ำสกัดต่างในการสกัด เนื่องจากงานวิจัยของรำข้าวที่ผ่านมา ส่วนใหญ่นำสารสกัดจากตัวทำลายที่ไม่ใช่ข้าวหรือมีขั้วน้อย ถึงแม้ว่าจะมีการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเบตากลูแคนจากรำข้าวพันธุ์เกาหลี ข้าวโอ๊ต และข้าวบาร์เลย์ แต่เนื่องจากสภาวะในการสกัดและสภาพอากาศในการปลูกแตกต่างกัน จึงทำให้ได้ปริมาณเบตากลูแคน รวมทั้งสารสำคัญในการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระแตกต่างกันด้วย เบตากลูแคนใน RBG เป็นเส้นใยอาหารละลายน้ำที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ อีกทั้งยังมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ จึงสามารถนำไปพัฒนาเป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพ ซึ่งเป็นเทรนด์ที่กำลังมาแรงในปัจจุบัน และเป็นทางเลือกหนึ่งในการนำรำข้าวไทยที่มีอยู่ในปริมาณมาก กลับมาใช้ให้เกิดประโยชน์เพื่อช่วยลดปริมาณขยะที่เกิดจากวัสดุเหลือทิ้งเหล่านี้ นอกจากนี้ขั้นตอนวิธีการสกัดเบตากลูแคนในงานวิจัยนี้ยังสามารถนำไปใช้สกัดเบตากลูแคนจากรำข้าวพันธุ์อื่นๆ รวมไปถึงการรำข้าว ซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำมันรำข้าวได้อีกด้วย

5. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสำนักงานคณะกรรมการการวิจัยแห่งชาติ (วช.) สถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏ



จันทร์เกษม ที่ให้การสนับสนุนการดำเนินงานวิจัย

เอกสารอ้างอิง

- [1] A. Moongngarma, N. Daomukdaa, and S. Khumpika, "Chemical compositions, phytochemicals, and antioxidant capacity of rice bran, rice bran layer, and rice germ," *Procdia APCBEE*, vol. 2, pp. 73–79, 2012.
- [2] M. Alauddina, J. Islama, H. Shirakawaa, T. Koseki, Ardiansyahc, and M. Komai, "Rice bran as a functional food: An overview of the conversion of rice bran into a superfood/functional food," in *Superfood and Functional Food – An Overview of their Processing and Utilization*. London: InTechOpen, 2017, pp. 291–305.
- [3] S. Koto, (2017, July). In-season rices: Annual report for the year 2016–17 about plants production situation at district level. Department of Agricultural Extension. Bangkok, Thailand. [Online]. Available: <https://www.production2.doae.go.th/>
- [4] Thai Rice Exporters Association. (2018, March). NEW: Price of export milled rice. Thai Rice Exporter Association. Bangkok, Thailand. [Online]. Available: <http://www.thairiceexporters.or.th>
- [5] F. Zhu, B. Du, and B. Xu, "A critical review on production and industrial applications of beta-glucans," *Food Hydrocolloids*, vol. 52, pp. 275–288, 2016.
- [6] A. Lazaridou and C. G. Biliaderis, "Molecular aspects of cereal β -glucan functionality: Physical properties, technological applications and physiological effects," *Journal of Cereal Science*, vol. 46, no. 2, pp. 101–118, 2007.
- [7] V. Rungsardthong, "The extraction of beta-glucan, the ingredient used in functional food, from rice bran," Research Report, Department of Applied Science, King Mongkut's University of Technology North Bangkok, 1999 (in Thai).
- [8] P. Natcha, T. Chakree, and T. Y. Chutha, "Enzymatic hydrolysis on protein and β -glucan content of Sang-yod rice bran hydrolysates and their anti-inflammatory activity on RAW 264.7 cells," *Functional Foods in Health and Disease*, vol. 7, no. 12, pp. 958–971, 2017.
- [9] T. D. Jung, G. H. Shin, J. M. Kim, S. I. Choi, J. H. Lee, S. J. Lee, S. J. Park, K. S. Woo, S. K. Oh, and O. H. Lee, "Comparative analysis of γ -oryzanol, β -glucan, total phenolic content and antioxidant activity in fermented rice bran of different varieties," *Nutrients*, vol. 9, no. 6, pp. 1–12, 2017.
- [10] S. Mebrek, H. Djeghim, Y. Mehdi, A. Meghezzi, A. Sirajudheen, A. A. A. Nasser, and M. Benali, "Antioxidant, anti-cholinesterase, anti- α -glucosidase and prebiotic properties of beta-glucan extracted from Algerian barley," *International Journal of Phytomedicine*, vol. 10, no. 1, pp. 58–67, 2018.
- [11] J. Harasym and R. Olędzki, "The mutual correlation of glucose, starch, and beta-glucan release during microwave heating and antioxidant activity of oat water extracts," *Food and Bioprocess Technology*, vol. 11, pp. 874–884, 2018.
- [12] R. A. Sarteshnizi, H. Hosseini, N. K. Khosroshahi, F. Shahraz, A. M. Khanegha, M. Kamran, R. Komeili, and E. Chiavaro, "Effect of resistant starch and β -glucan combination on oxidative stability, frying performance, microbial count and shelf

- life of prebiotic sausage during refrigerated storage,” *Food Technology and Biotechnology*, vol. 55, no. 4, pp. 475–482, 2017.
- [13] M. Haghshenas, H. Hosseini, K. Nayebyzadeh, B. S. Kakesh, M. Mahmoudzadeh, and R.K. Fonood, “Effect of beta-glucan and carboxymethyl cellulose on lipid oxidation and fatty acid composition of pre-cooked shrimp nugget during storage,” *LWT-Food Science and Technology*, vol. 62, no. 2, pp. 1192–1197, 2015.
- [14] W. Li, S. W. Cui, and Y. Kakuda, “Extraction, fractionation, structural and physical characterization of wheat β -D-glucans,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 63, pp. 408–416, 2006.
- [15] P. Phuwadolpaisarn, “The influence of conditions on beta-glucan extraction from Thai rice bran cultivars and their biological properties,” presented at 95th The IIER International Conference, Osaka, Japan, February 8–9, 2017.
- [16] Megazyme. (2015, January). Mixed-linkage beta-glucan: Assay procedure (McCleary method). Bray, Co., Wicklow, Ireland. [Online]. Available: https://www.megazyme.com/documents/Booklet/K-BGLU_DATA.pdf
- [17] Megazyme. (2017, January). Barley beta-glucan (high viscosity). Bray, Co., Wicklow, Ireland. [Online]. Available: https://www.megazyme.com/documents/Booklet/P-BGBH_DATA.pdf
- [18] T. Gao, H. Bi, S. Ma, and J. Lu, “Structure elucidation and antioxidant activity of a novel α -(1 \rightarrow 3), (1 \rightarrow 4)-D-glucan from *Aconitum kusnezoffii* Reichb.,” *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 46, no. 1, pp. 85–90, 2010.
- [19] N. Loganayaki, P. Siddhuraju, and S. Manian, “Antioxidant activity and free radical scavenging capacity of phenolic extracts from *Helicteres isora* L. and *Ceiba Pentandra* L.” *Journal of Food Science Technology*, vol. 50, no. 4, pp. 687–695, 2013.
- [20] P. Siddhuraju, “Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry Heated *Tamarindus indica* seed coat,” *LWT-Food Science and Technology*, vol. 40, no. 6, pp. 982–990, 2007.
- [21] J.K. Moon and T. Shibamoto, “Antioxidant assays for plant and food components,” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 57, no. 5, pp. 1655–1666, 2009.
- [22] R. Re, N. Pellegrini, A. Proteggente, A. Pannala, M. Yang, and C. Rice-Evans, “Antioxidant activity applying and improving ABTS radical cation decolorization assay,” *Free Radicals in Biology and Medicine*, vol. 26, no. 9–10, pp. 1231–1237, 1999.
- [23] I. Shimizu, N. Shimamoto, K. Saiki, M. Furujo, and K. Osawa, (2012, August 29). *Lipid Peroxidation in Hepatic Fibrosis*. [Online]. Available: <https://www.intechopen.com/books/lipid-peroxidation/lipid-peroxidation-in-hepatic-fibrosis>
- [24] Z. Cheng, J. Ren, Y. Li, W. Chang, and Z. Chen, “Study on the multiple mechanisms underlying the reaction between hydroxyl radical and phenolic compounds by qualitative structure and activity relationship,” *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, vol. 10, no. 12, pp. 4067–4073, 2002.
- [25] R. Saltarelli, P. Ceccaroli, M. Iotti, A. Zambonelli, M. Buffalini, L. Casadei, L. Vallorani, and V. Stocchi, “Biochemical characterisation and antioxidant



- activity of mycelium of *Ganoderma lucidum* from central Italy,” *Food Chemistry*, vol. 116, no. 1, pp. 143–151, 2009.
- [26] M. Zahin, F. Aqil, and I. Ahmad, “The in vitro antioxidant activity and total phenolic content of four Indian medicinal plants” *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, vol. 1, no. Suppl 1, pp. 88–95, 2009.
- [27] M. Papageorgioua, N. Lakhdarab, A. Lazaridouc, C. G. Biliaderisd, and M. S. Izydorczyk, “Water extractable (1→3, 1→4)-β-d-glucans from barley and oats: An intervarietal study on their structural features and rheological,” *Journal of Cereal Science*, vol. 42, no. 2, pp. 213–224, 2005.
- [28] P. Maity, I. K. Sen, P. K. Maji, S. Paloi, K. S. Devi, K. Acharya, T. K. Maiti, and S. S. Islam, “Structural, immunological, and antioxidant studies of β-glucan from edible mushroom *Entoloma lividoalbum*,” *Carbohydrate Polymers*, vol. 123, pp. 350–358, 2015.