Research Article

Received: June 26 2019; Accepted: November 11, 2019

การประเมินฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดข้าวกล้องงอกสังข์หยดที่แช่ในสารสกัดใบเตย

Evaluation of the Biological Activities of Sung Yod Germinated Brown Rice Extract Soaking in Pandanus Leaf Extract

ชุติมา แก้วพิบูลย์*

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง

ตำบลบ้านพร้าว อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง 93210

ณวงศ์ บุนนาค

สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์พื้นฐาน คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ

วิทยาเขตสงขลา ตำบลเขารูปช้าง อำเภอเมือง จังหวัดสงขลา 90000

Chutima Kaewpiboon*

Department of Biology, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung Campus,

Ban Phrao, Pa Payom, Phatthalung 93210

Nawong Boonnak

Department of Basic Science and Mathematics, Faculty of Science, Thaksin University,

Songkhla campus, Khoa Roob Chang, Muang, Songkhla 90000

บทคัดย่อ

ปัจจุบันมีการบริโภคข้าวกล้องงอกเป็นที่นิยมของอาหารสุขภาพ เนื่องจากมีคุณค่าทางอาหารสูง ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลต่อปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดข้าวกล้องงอกสังข์หยดที่ผ่านการแช่ในสารสกัดใบเตย ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ผิวหนัง (HaCaT) ด้วยวิธี MTT ผลการทดลองพบว่าสารสกัดข้าวกล้องงอกสังข์หยดที่แช่ในสารสกัดใบเตยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม 134.52 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิคต่อกรัมสารสกัด เมื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS มีค่า EC_{50} เท่ากับ 53.42 และ 9.921 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดข้าวกล้องงอกสังข์หยดแช่สารสกัดเตยมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้มากกว่าข้าวกล้องงอกสังข์หยดแช่น้ำกลั่นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

***ผู้รับผิดชอบบทความ** : chutima.k@tsu.ac.th

doi: 10.14456/tstj.2020.157

นอกจากนี้สารสกัดข้าวกล้องงอกสังข์หยดแสดงฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.14 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และเมื่อทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ผิวหนังพบว่ามีค่า $IC_{50} > 400$ ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีความน่าสนใจต่อการพัฒนาต่อยอดสารสกัดข้าวกล้องงอกสังหยดเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางค์

คำสำคัญ : ข้าวกล้องงอกสังข์หยด; ปริมาณฟีนอลิกรวม; ต้านอนุมูลอิสระ; ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส; ความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์

Abstract

Nowadays, the consumption of germinated brown rice is becoming a popular health food because of their high nutritional value. Therefore, the aim of this research was to study antioxidant and biological activities of the Sung Yod germinated brown rice (SGBr) extract which was soaked in Pandanus leaf extract (PE), i.e. the antioxidant activities assay by DPPH and ABTS methods, inhibitory activity of tyrosinase, and cytotoxicity assay against HaCaT cell lines with MTT method. From the results, SGBr extract showed total phenolic content of 134.52 mg GAE/g extract. The antioxidant activity assays by DPPH and ABTS method showed EC_{50} values of 53.42 and 9.92 µg/mL, respectively, which were more effective than control significantly at the confidence level of 95 %. In addition, the SGBr extract showed the inhibitory activity of tyrosinase with IC_{50} value of 3.14 µg/mL. Moreover, cytotoxicity assay against HaCaT cell lines showed IC_{50} values of more than 400 µg/mL. It is very interesting for the development of the SGBr extract as a cosmetic product.

Keywords: Sung Yod germinated brown rice; total phenolic compound; antioxidant; inhibitory activity of tyrosinase; cytotoxicity

1. บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นอาหารหลักของประชากรกว่าครึ่งหนึ่งของโลก รวมทั้งประเทศไทย เป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการขัดสีพบว่ามีคุณค่าทางอาหาร ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 แคลเซียม แมกนีเซียม ไฟโตสเตอรอล (phytosterol) ไทรซิน (tricin) สารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolic) ในปริมาณสูงกว่าข้าวที่ผ่านการขัดสี [1] เป็นต้น

ข้าวสังข์หยดพัทลุงเป็นข้าวเจ้าพันธุ์พื้นเมืองของภาคใต้ จัดเป็นข้าวในกลุ่มที่มีสีแดงหรือม่วง เนื่องจากมีรงควัตถุ (pigment) ของสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกที่ต้านอนุมูลอิสระได้ ซึ่งสามารถช่วยป้องกันและยับยั้งการเกิดโรคต่าง ๆ ได้แก่ โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือด โรคหัวใจ เป็นต้น [2] นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถเพิ่มคุณค่าทางอาหารหรือเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเมล็ดข้าวกล้องโดยการนำไปผ่านกระบวนการแช่น้ำเพื่อให้ได้เป็นข้าวกล้องงอก ข้าวกล้องที่ผ่านกระบวนการงอกมักมีสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น [3]

และยังมีการศึกษาพบว่าการแช่ข้าวกล้องงอกในน้ำซึ่งประกอบด้วยสารสกัดจากสมุนไพรที่มีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระสูง สามารถเพิ่มปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอกอย่างมีนัยสำคัญ [4]

ดังนั้นผู้วิจัยจึงศึกษาผลของการแช่ข้าวกล้องงอกสังข์หยดในสารสกัดใบเตยต่อฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส และทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ผิวหนัง

2. อุปกรณ์และวิธีการ

2.1 การสกัดสารสกัดหยาบจากใบเตย

ล้างใบเตยให้สะอาดและหั่นเป็นชิ้นเล็ก ๆ นำไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เมื่อแห้งแล้วนำไปบดให้ละเอียด จากนั้นชั่งพืชแห้ง 100 กรัม เติมตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 350 มิลลิลิตร แช่สกัดที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เขย่าเป็นครั้งคราว แล้วระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน (rotary evaporator) จะได้สารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2 การเพาะเมล็ดข้าวกล้องสังข์หยด

คัดเลือกเมล็ดข้าวสังข์หยดโดยใช้วิธีการสุ่ม คัดแยกสิ่งแปลกปลอมและเมล็ดหักออก แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด 2 ครั้ง แช่ข้าวสังข์หยดในจานแก้ว จานละ 100 เมล็ด โดยแบ่งเป็น 2 ชุดการทดลอง โดยทดลอง 3 ซ้ำ ได้แก่ จานแก้วที่ 1 แช่ในสารสกัดใบเตย จานแก้วที่ 2 แช่ในน้ำกลั่นเป็นชุดควบคุม โดยในจานแก้วมีกระดาษรองเมล็ดข้าวไว้ 3 ชั้น เพื่อรักษาความชื้น ใช้สารกัดใบเตยที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้เป็น 20 มิลลิลิตร โดยแช่ข้าวกล้องสังข์หยดไว้ที่อุณหภูมิห้องจนข้าวงอกประมาณ 2 มิลลิเมตร ใช้เวลาประมาณ 3 วัน

2.3 การเตรียมสารสกัดจากข้าวกล้องงอกสังข์หยด

อบข้าวกล้องงอกสังข์หยด 200 กรัม ให้แห้งในตู้อบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น ชั่งน้ำหนักและนำไปสกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลปริมาตร 500 มิลลิลิตร ตั้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เมื่อครบเวลานำมากรองด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1 แล้วนำสารสกัดหยาบที่ได้ไประเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยแบบลดความดัน จะได้สารสกัดหยาบข้าวกล้องงอกสังข์หยด

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu นำสารสกัดตัวอย่างข้าวปริมาตร 70 ไมโครลิตร ผสมกับ 1 เปอร์เซ็นต์ Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 525 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปไว้ในที่มืด 1 นาที เติม 7.5 เปอร์เซ็นต์โซเดียมคาร์บอเนตปริมาตร 525 ไมโครลิตร วางพักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 725 นาโนเมตร นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (gallic acid) โดยวิเคราะห์ซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในรูปมิลลิกรัมของสมมูลของกรดแกลลิก (gallic acid equivalent, GAE) ต่อกรัมของน้ำหนักของตัวอย่างข้าว (mg GAE/g extract)

2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH (DPPH radical scavenging activity)

นำสารสกัดข้าวกล้องงอกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (10, 50, 500, 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เติมลงใน 96 well plate โดยเติมสารสกัดข้าวปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมเอทานอล 50

ไมโครลิตร และสารละลาย DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 50 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณหาค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ (สมการที่ 1) เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์มีประสิทธิภาพกำจัดอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (EC_{50}) เปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซีซึ่งเป็นตัวควบคุมการทดลองเชิงบวก

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ DPPH = [(AC - AS) ÷ AC] x 100 (1)

เมื่อ AC = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่ไม่มีสารทดสอบ; AS = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH ที่มีสารทดสอบ

2.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS (ABTS radical scavenging activity)

นำสารสกัดข้าวกล้องงอกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (10, 50, 500, 1,000 และ 2,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) เติมลงใน 96 well plate โดยเติมสารสกัดข้าวปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมเอทานอล 50 ไมโครลิตร และสารละลาย ABTS 50 ไมโครลิตร (โดยใช้ ABTS เป็นอนุมูลอิสระ เตรียมโดย 2,2′-azino-bis-(3 - ethylbenzothiazoline- 6 - sulphonic acid) diammonium salt (ABTS) ผสมกับสารละลายโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต (K_2SO_4) เข้มข้น 2.45 มิลลิโมลาร์ บ่มในที่มืดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง คำนวณหาค่าร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ (สมการที่ 2) เพื่อคำนวณเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารที่ออกฤทธิ์มีประสิทธิภาพกำจัดอนุมูลอิสระได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (EC_{50})

ร้อยละการกำจัดอนุมูลอิสระ ABTS = [(AC - AS) ÷ AC] x 100 (2)

เมื่อ AC = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS ที่ไม่มีสารทดสอบ; AS = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย ABTS ที่มีสารทดสอบ

2.7 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์ไทโรซิเนส

นำสารสกัดข้าวกล้องงอกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (5, 10, 50, 100, 500 และ 1,000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) เติมลงใน 96 well plate โดยเติมสารสกัดข้าวปริมาตร 40 ไมโครลิตร และเอนไซม์ไทโรซิเนส 40 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เติมสารละลาย L-dopa ปริมาตร 80 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร ด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (สมการที่ 3) เพื่อคำนวณความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) โดยใช้กรดโคจิก (kojic acid) เป็นตัวควบคุมการทดลองเชิงบวก

ร้อยละการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ = [(Ac - Ab) - (As - Ab)] ÷ (Ac-Ab) x 100 (3)

เมื่อ Ab คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบสีของสาร; Ac คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่ไม่มีสารทดสอบ; As คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีสารทดสอบ

2.8 การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ผิวหนัง (HaCaT)

การทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ผิวหนัง (HaCaT) ด้วยวิธี MTT โดยเลี้ยงเซลล์ไลน์ผิวหนังในอาหารเลี้ยงเซลล์ชนิด DMEM ที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณก๊าซคาร์บอนได

ออกไซด์ 5 เปอร์เซ็นต์ บ่มเลี้ยงไว้ 72 ชั่วโมง ก่อนที่จะนำมาทดสอบ แล้วเลี้ยงเซลล์ปริมาณ 5×10^4 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ใน 96 well plate บ่มที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เติมสารสกัดข้าวกล้องงอกที่ความเข้มข้นต่าง ๆ (5, 10, 50, 100, 200 และ 400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ลงในเซลล์ที่เพาะเลี้ยงไว้ 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส 72 ชั่วโมง จากนั้นทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดโดยเติมสารละลาย MTT [3-(4, 5-dimethyl thiazolyl-2)-2, 5-diphenyltetrazolium bromide] ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ลงไปในแต่ละหลุมปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง จากนั้นดูดสารละลายออก และเติมสารละลาย DMSO ลงในแต่ละหลุม ปริมาตร 100 ไมโครลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตรด้วยเครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง ทดลองซ้ำ 3 ครั้ง นำค่าการดูดกลืนแสงคำนวณร้อยละการมีชีวิตรอด (สมการ 4) เพื่อคำนวณหาค่าเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นของสารออกฤทธิ์ยับยั้งการอยู่รอดของเซลล์ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ (IC_{50}) โดยใช้ยาอีโทโพไซด์ (etoposide) เป็นตัวควบคุมเชิงบวก

$$\text{ร้อยละของการมีชีวิตรอด} = (OD_T \div OD_C) \times 100 \quad (4)$$

เมื่อ OD_T = ค่าการดูดกลืนแสงที่มีสารทดสอบ; OD_C = ค่าการดูดกลืนแสงที่ไม่มีสารทดสอบ

2.9 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วิเคราะห์ด้ผลความแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานด้วยสถิติ paired t-test, one-way ANOVA และ post Hoc test ด้วย Duncan's multiple range test (DMRT) ของ Software SPSS V.14.0

3. ผลการทดลองและอภิปราย

3.1 สกัดสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพร

การสกัดสารสกัดหยาบจากใบเตยด้วยวิธีแช่สกัดในตัวทำละลายเมทานอล ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เมื่อระเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องกลั่นระเหยแบบลดความดันจะได้เป็นสารสกัดหยาบ มีลักษณะหนืด สีน้ำตาลเข้ม มีเปอร์เซ็นต์การสกัดสารสกัดหยาบ (% extraction yield) 6.01

3.2 วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมด้วยวิธี Folin-Ciocalteu สามารถคำนวณโดยใช้สมการเส้นตรงของกรดแกลลิก สมการ $y = 0.115x - 0.0795$, $R^2 = 0.9985$ พบว่าสารสกัดข้าวกล้องงอกสังข์หยดแช่ในสารสกัดใบเตยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมด 134.52±5.21 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกที่สูงกว่าอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) กับชุดควบคุม ซึ่งมีค่า 98.00±2.14 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมสารสกัด (ตารางที่ 1) กระบวนการงอกของเมล็ดข้าวซึ่งเป็นกระบวนการซับซ้อนที่เกี่ยวข้องกิจกรรมทางชีวเคมีและกายภาพ โดยเอนไซม์ไฮโดรไลติกจะทำงานหลังจากการดูดซึมน้ำและลดการสะสมโมเลกุลขนาดใหญ่ของสารที่สะสมในเอนโดสเปิร์ม ได้แก่ ไบโอพอลิเมอร์คาร์โบไฮเดรต พอลิเพปไทด์ และโมเลกุลขนาดเล็กในเมล็ดข้าว [5] นอกจากการเปลี่ยนแปลงในระดับโภชนาการแล้วการงอกยังสร้างสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ [6] การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าข้าวกล้องงอกสังข์หยดเมื่อแช่ในสารสกัดใบเตยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากภายหลังจากการแช่ในสารสกัดใบเตย ข้าวกล้องงอกสังข์หยดมีการกระตุ้นให้เกิด

Table 1 Total phenolic content (TPC) and antioxidant activities of methanol extract of Sungyod germinated brown rice (SGBr) soaking in Pandanus leaf extract (PE)

Samples	TPC	Antioxidant activities (EC_{50}; µg/mL)	
	mg GAE/g extract	DPPH assay	ABTS assay
Control	98.00±2.14[a]	120.00±6.47[a]	35.65±4.32[a]
Soaking in PE	134.52±5.21[b]	53.42±3.56[b]	9.92±2.12[b]
Positive control	-	22.41±1.23[c]	10.23±1.12[b]

The values are mean ± standard deviation (n = 3); [a-c] Means within each column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$) using paired T-test and one-way ANOVA.

สารประกอบออกฤทธิ์ทางชีวภาพและระบบต้านอนุมูลอิสระหลังจากที่เมล็ดดูดซับน้ำระหว่างการงอก นอกจากนี้อาจเกิดจากระหว่างการงอกเมล็ดข้าวดูดซับสารประกอบจากสารสกัดใบเตย ซึ่งในใบเตยมีสารสำคัญหลายชนิด ได้แก่ ไลนาลิลอะซีเตท (linalyl-acetate) เบนซิลอะซีเตท (benzyl acetate) ไลนาโลออล (linalool) และเจอรานิออล (geraniol) มีสารที่ทำให้มีกลิ่นหอม คือ คูมาริน (coumarin) และเอทิลวานิล (ethyl vanillin) คลอโรฟิลล์ ทำให้มีสีเขียว เบต้าแคโรทีน และสารในกลุ่มแอนโทไซยานิน (antho-cyanin) ซึ่งเป็นสารที่ออกฤทธิ์ที่สำคัญ [7] จึงอาจส่งผลให้ข้าวกล้องงอกสังข์หยดที่แช่ในสารสกัดใบเตยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงขึ้น

3.3 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS พบว่าสารสกัดข้าวกล้องงอกสังข์หยดแช่ในสารสกัดใบเตย มีค่า EC_{50} เท่ากับ 53.42±3.56 และ9.92±2.12 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งพบว่ามีความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 1) ซึ่งสอดคล้องกับผลการวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ทั้งนี้เนื่องจากสารประกอบกลุ่มฟีนอลิกมีประสิทธิภาพในการกำจัดอนุมูลอิสระได้ดี สอดคล้องกับงานวิจัยของ Sutharut และ Sudarat [3] ที่พบว่าข้าวเหนียวดำงอก Niew Dam และ Hom Nil มีความสัมพันธ์เชิงบวกระหว่างปริมาณแอนโธไซยานินรวมกับความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเทียบเท่า Trolox (TEAC) ถึงแม้ว่าความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ต่ำกว่าการทดสอบด้วยวิธี ABTS แต่วิธีการทั้งสองแสดงแนวโน้มผลลัพธ์เดียวกัน ซึ่งเป็นผลจากอนุมูลอิสระ DPPH เป็นอนุมูอิสระสังเคราะห์ที่มีความเสถียร และโครงสร้างของ DPPH ที่มีขนาดใหญ่ มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระ [8] สอดคล้องกับงานวิจัยของ Floegel และคณะ [9] เปรียบเทียบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของอาหารที่อุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระ 50 อันดับจากสหรัฐอเมริกา และพบว่าสารต้านอนุมูลอิสระนั้นมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูล DPPH ต่ำกว่า ABTS

3.4 ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสพบว่าสารสกัดข้าวกล้องงอกสังข์หยดแช่ในสารสกัดใบเตยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 31.45±2.37 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งพบว่ามีความสามารถในการ

ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนสสูงกว่าชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) (ตารางที่ 2) ซึ่งไทโรซิเนส เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการสร้างเมลานินหรือเม็ดสี ดังนั้นสารสกัดข้าวกล้องงอกสังข์หยดแช่ในสารสกัดใบเตยจึงมีสารที่สามารถยับยั้งการสร้างเม็ดสี ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Sangsila และคณะ [10] ที่ศึกษาประสิทธิภาพข้าวกล้องงอกสายพันธุ์ต่าง ๆ พบว่ามีประสิทธิภาพสูงในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส

Table 2 Total phenolic content (TPC) and antioxidant activities of methanol extract of Sungyod germinated brown rice (SGBr) soaking in Pandanus leaf extract (PE)

Samples	Inhibitory tyrosinase activities (IC_{50}; μg/mL)
Control	62.27±5.42[a]
Soaking in PE	31.45±2.37[b]
Kojic acid	17.00±1.00[c]

The values are mean ± standard deviation (n = 3); [a-c] Means within each column followed by different letters are significantly different ($p < 0.05$) using paired T-test and one-way ANOVA.

3.5 การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดข้าวงอกสังข์หยดพัทลุงแช่สารสกัดสมุนไพรเตยต่อเซลล์ไลน์ผิวหนังไลน์

การทดสอบความเป็นพิษของสารสกัดข้าวงอกสังข์หยดพัทลุงต่อเซลล์ไลน์ผิวหนังด้วยวิธี MTT พบว่าสารสกัดข้าวกล้องงอกสังข์หยดแช่สารสกัดใบเตยมีค่า IC_{50} เท่ากับ >400 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งพบว่าสารสกัดนี้มีความเป็นพิษต่อเซลล์ในหลอดทดลองระดับต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากข้าวเป็นอาหารที่ใช้บริโภคได้อย่างปลอดภัยจึงมีสารกลุ่มที่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ในระดับต่ำเช่นเดียวกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Bulanawichit และคณะ [11] ที่รายงานว่าข้าวกล้องงอกไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ ดังนั้นจึงมีความปลอดภัยสูงหากต้องการนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางค์

Table 3 Total phenolic content (TPC) and antioxidant activities of methanol extract of Sungyod germinated brown rice (SGBr) soaking in Pandanus leaf extract (PE)

Samples	Inhibitory tyrosinase activities (IC_{50}; μg/mL)
Control	>400
Soaking in PE	>400
Etoposide	5.8±0.14

The values are mean±standard deviation (n=3)

4. สรุปผลการทดลอง

สารสกัดหยาบเมทานอลของข้าวกล้องงอกสังข์หยดที่แช่ในสารสกัดใบเตยมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟีนอลิกสูง และมีประสิทธิภาพในการต้านอนุมูลอิสระ สามารถยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไทโรซิเนส และไม่มีความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ผิวหนังในหลอดทดลอง ดังนั้นสามารถใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานต่อการพัฒนาต่อยอดสารสกัดข้าวกล้องงอกสังหยดเป็นผลิตภัณฑ์เวชสำอางค์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ และปลอดภัย

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตสงขลา ภายใต้โครงงานวิจัยระดับปริญญาตรี และขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ วิทยาเขตพัทลุง และขอขอบคุณข้อมูลสนับสนุนจากนางสาวชฎาพร วุ่นจันทร์

6. References

[1] Liu, L., Guo, J., Zhang, R., Wei, Z., Deng, Y., Guo, J. and Zhang, M., 2015, Effect of degree of milling on phenolic profiles and cellular antioxidant activity of whole brown rice, Food Chem. 185: 318-325.

[2] Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G. and Berghofer, E., 2011, Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka, Food Chem. 124: 132-140.

[3] Sutharut, J. and Sudarat, J., 2012, Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice, Int. Food Res. J. 19: 215-221.

[4] Thammapat, P., Meeso, N. and Siriamornpun, S., 2015, Effects of NaCl and soaking temperature on the phenolic compounds, alpha-tocopherol, gamma-oryzanol and fatty acids of glutinous rice, Food Chem. 175: 218-24.

[5] Moongngarm, A. and Saetung, N., 2010, Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice, Food Chem. 122: 782-788.

[6] Chen, H.H., Chang, H.C., Chen, Y.K., Hung, C.L., Lin, S.Y. and Chen, Y.S., 2016, An improved process for high nutrition of germinated brown rice production: Low-pressure plasma, Food Chem. 191: 120-127.

[7] Ghasemzadeh, A. and Jaafar, H.Z.E., 2013, Profiling of phenolic compounds and their antioxidant and anticancer activities in pandan (*Pandanus amaryllifolius* Roxb.) extracts from different locations of Malaysia, BMC Comp. Altern. Med. 13: 341-341.

[8] Prior, R.L., Wu, X. and Schaich, K., 2005, Standardized Methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements, J. Agric. Food Chem. 53: 4290-4302.

[9] Floegel, A., Kim, D.O., Chung, S.J., Koo, S.I. and Chun, O.K., 2011, Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods, J. Food Comp. Anal. 24: 1043-1048.

[10] Sangsila, A., Promden, W. and Pimda, W., 2018, Antioxidant and antityrosinase activities in germinated brown rice of indigenous Thai cultivars, Int. J. Agric. Tech. 14: 1883-1892.

[11] Bulanawichit, W., Thanakon, K. and Tantip, B., 2018, Effects of brown rice and

germinated brown rice extracts from Thai rice cultivars (PL2 and KDML105) on adipogenic, adipocytokine, and antioxidant genes in 3T3-L1 adipocytes, CMU J. Nat. Sci. 17: 79-96.