

ปริมาณฟีนอลและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน
และฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของข้าวพื้นเมือง 4 สายพันธุ์

Total Phenolic and Flavonoid Contents, Antioxidant Activity
and Alpha-Amylase Inhibitory Activity of Four Local Rice Varieties

ภรณ์ทิพย์ คำภา¹, อรุณ จันทรคำ², สุพรรณิ อะโวกิ³, และ พักพล มุ่งลือ^{3*}

Pornthip Khampa¹, Aroon Jankham², Supanee Aoki³, and Phukphon Munglue^{3*}

¹ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

¹ Program of Science Education, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University

² สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

² Program of Chemistry, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University

³ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี

³ Program of Biology, Faculty of Science, Ubon Ratchathani Rajabhat University

บทคัดย่อ

งานวิจัยทดสอบปริมาณฟีนอลและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของข้าวพื้นเมือง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์ ข้าวเหนียวหอมกุสุมา ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี และข้าวเจ้าหอมเวสสันดรระ ตัวอย่างข้าวแต่ละสายพันธุ์สกัดด้วยน้ำ ปริมาณฟีนอลรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 20.72 ± 0.31 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัม และ 72.62 ± 8.19 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัมตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับข้าวสายพันธุ์อื่น ๆ นอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay และฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์มีค่า IC_{50} ต่ำที่สุดเท่ากับ 139.24 ± 1.53 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร และ 4.78 ± 0.44 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ผลการศึกษาครั้งนี้ชี้ให้เห็นถึงฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของข้าวพื้นเมืองทั้ง 4 สายพันธุ์ซึ่งมีศักยภาพในการเป็นอาหารฟังก์ชันเพื่อรักษาระดับน้ำตาลในเลือดได้

คำสำคัญ: ข้าวพื้นเมือง, พืชเคมี, การต้านออกซิเดชัน, แอลฟาอะไมเลส

Abstract

This study examined total phenolic and flavonoid contents, antioxidant activity, and alpha-amylase inhibitory activity of four local rice varieties, including Selabporn, Kusuma, Phetratri, and Vessantara. Rice samples were extracted with distilled water. The highest contents of total phenolic compound and total flavonoid were found in Selabporn (20.72 ± 0.31 mg GAE/20 g gain weight and 72.62 ± 8.19 mg QE/20 g gain weight, respectively) when compared with other rice varieties. Additionally, antioxidant activity tested by using DPPH assay and alpha-amylase inhibitory activity of Selabporn showed the lowest IC_{50} values of 139.24 ± 1.53 μ g/mL and 4.78 ± 0.44 mg/mL, respectively. The results of this study indicated the antioxidant property and alpha-amylase inhibitory activities of four local rice varieties, which may have a potential functional food for maintaining the blood glucose level.

Keywords: local rice varieties, phytochemicals, antioxidation, alpha-amylase

* Corresponding author: phukphon.m@ubru.ac.th

Received: 2 กรกฎาคม 2566

Revised: 23 สิงหาคม 2566

Accepted: 25 สิงหาคม 2566

1. บทนำ

โรคเบาหวาน โรคเมเร็ง โรคจอประสาทตาเสื่อม ไขมันในเลือดสูง และโรคหัวใจ จัดเป็นโรคไม่ติดต่อเรื้อรังที่พบได้มากขึ้นในปัจจุบัน สาเหตุหลักที่ก่อให้เกิดโรคเรื้อรังดังกล่าว คือ ความเครียดจากออกซิเดชัน (Oxidative stress) เกิดจากสภาวะที่ขาดความสมดุลระหว่างอนุมูลอิสระและสารต้านอนุมูลอิสระ ส่งผลให้เกิดอนุมูลอิสระมากเกินไป อนุมูลอิสระเหล่านี้จึงเข้าไปทำลายสารชีวโมเลกุลต่าง ๆ ที่อยู่ในเซลล์และเนื้อเยื่อ ทำให้เยื่อหุ้มเซลล์เสียหาย ดีเอ็นเอและโปรตีนเสียสภาพ เกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (Lipid peroxidation) (Deng et al., 2013)

โรคเบาหวาน เป็นโรคเรื้อรังปัจจัยที่ส่งผลทำให้เกิดโรคเบาหวาน ได้แก่ ความผิดปกติของยีน พันธุกรรม สิ่งแวดล้อม ภาวะตั้งครรภ์ และอาหารที่รับประทาน ซึ่งพฤติกรรมการรับประทานอาหารที่ส่งผลให้มีการหลั่งอินซูลินมากกว่าปกติ นำมาสู่การเสื่อมของบีตาเซลล์ในตับอ่อนและส่งผลให้เกิดความผิดปกติของตับที่ส่งผลกระทบต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตจึงทำให้ระดับกลูโคสในเลือดเพิ่มสูงขึ้น โรคเบาหวานมีความสัมพันธ์กับโรคอ้วน การรักษาโรคเบาหวานจึงต้องมีการควบคุมระดับน้ำตาลให้อยู่ในระดับปกติหากไม่มีการควบคุมระดับน้ำตาลให้อยู่ในระดับปกติแล้วจะส่งผลให้ผู้ป่วยโรคเบาหวานนั้นมีความเสี่ยงต่อการเกิดภาวะแทรกซ้อนต่าง ๆ ที่รุนแรง เช่น โรคหัวใจ ภาวะไตวาย และเบาหวานขึ้นจอตา เป็นต้น (Weyer et al., 1999) นอกจากการหลั่งอินซูลินแล้วตับอ่อนยังผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเอนไซม์นี้ใช้ในกิจกรรมเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต (Budhwar et al., 2020)

เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสสร้างมาจากต่อมน้ำลายและตับอ่อน ทำหน้าที่สลายพันธะ α -1,4-glycosidic bonds ที่พบในโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตให้เป็นมอลโทไตรออส (Maltotriose) มอลโทส (Maltose) และกลูโคส (Glucose) จากนั้นน้ำตาลเหล่านี้จะถูกดูดซึมเข้าสู่กระแสเลือดทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดเพิ่มขึ้น รูปแบบการใช้ชีวิตและการรับประทานอาหารที่มีไขมัน น้ำตาล และแป้งเป็นส่วนใหญ่มีส่วนทำให้ระดับน้ำตาลในเลือดหลังอาหาร (Postprandial glucose levels) มีค่าสูงขึ้นได้ ซึ่งมีความสัมพันธ์กับการเกิดโรคเบาหวานชนิดที่ 2 สำหรับยาที่ใช้รักษาอาการเบาหวานในปัจจุบัน ได้แก่ อะคาร์โบส ไมกลิทอล วอกลิบัส และโบกัวโนด์ ที่จะช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดในผู้ป่วยเบาหวานให้คงที่ อย่างไรก็ตามยาเหล่านี้กลับมีผลข้างเคียงต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมและทำให้ระบบทางเดินอาหารผิดปกติ (Settu et al., 2021) ดังนั้น เพื่อลดผลข้างเคียงที่เกิดขึ้นจากการใช้ยาสังเคราะห์จึงมีการวิจัยและพัฒนาพืชและสารสำคัญจากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตเพื่อนำมาใช้ในผู้ป่วยเบาหวาน ข้าวเป็นหนึ่งในธัญพืชที่มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรตเพื่อนำมาใช้ในผู้ป่วยเบาหวานได้ (Budhwar et al., 2020) โดยข้าวเอเชีย (*Oryza sativa* L.) แบ่งออกเป็น 2 ชนิดย่อยคือ indica และ japonica ชนิดของข้าวยังสามารถแบ่งย่อยได้โดยใช้กลิ่น ความเหนียว ความยาวของเมล็ด และสีของเมล็ด เป็นต้น (Awan et al., 2017)

ข้าวพื้นเมือง (Indigenous, Landrace rice หรือ Native rice) คือ ข้าวพันธุ์ดั้งเดิมที่ปลูกในท้องถิ่นเป็นเวลานาน บางครั้งอาจเรียกว่า พันธุ์พื้นเมือง (Landraces) พันธุ์ท้องถิ่น (Local varieties) หรือพันธุ์ดั้งเดิม (Traditional varieties) ความหลากหลายของข้าวพันธุ์พื้นเมืองเป็นความหลากหลายทางด้านพันธุกรรมที่อยู่คู่ท้องถิ่นมาอย่างยาวนาน ข้าวพันธุ์พื้นเมืองมีลักษณะที่ดีหลายประการ เช่น ทนต่อโรคและแมลงศัตรูพืช รวมทั้งมีความทนต่อสภาพแวดล้อม (ฉวีวรรณ วุฒิญาโณ, 2543) การจำแนกลักษณะข้าวแต่ละสายพันธุ์นั้นอาศัยลักษณะภายนอกในการจำแนก ขาวนาจึงตั้งชื่อเรียกข้าวพื้นเมืองขึ้นมาโดยเฉพาะ ตัวอย่างข้าวพันธุ์พื้นเมืองของไทยที่พบในภาคกลาง เช่น พันธุ์ปิ่นแก้วและเหลืองเลาขวัญ เป็นต้น ข้าวพันธุ์พื้นเมืองที่พบในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เช่น พันธุ์เนียงกวางและข้าวใหญ่ เป็นต้น (ประพจน์ พรหมสมบูรณ์ และคณะ, 2559) ข้าวพื้นเมืองแต่ละสายพันธุ์มีความแตกต่างกันทั้งในลักษณะทางสัณฐานวิทยาและองค์ประกอบทางโภชนาการ ดังนั้น การวิเคราะห์หาสารพฤกษเคมีและการศึกษาฤทธิ์ทางชีวภาพของข้าวพันธุ์พื้นเมืองจะเป็นการเพิ่มมูลค่าและเป็นการส่งเสริมการใช้ประโยชน์จากข้าวพื้นเมืองให้มากขึ้น

ข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์ ลักษณะทางพันธุศาสตร์ : มี 2 ประเภท คือ เป็นข้าวเหนียวแบบไวแสง อายุ 175 วัน และแบบไม่ไวแสง (นาปรัง) อายุ 150 วัน มีลักษณะทางกายภาพ เหมือนกัน คือ ความสูงของลำต้น 120 – 130 เซนติเมตร ทรงกอตั้ง ต้นและใบ สีเขียวเข้ม ข้าวเปลือกเมล็ดใหญ่ ค่อนข้างยาว เปลือกสีเทา ลักษณะข้าวสาร : ข้าวกล้อง สีม่วงดำเข้ม เมื่อขัดขาวแล้ว เนื้อแบ่งเป็นสีขาว

ขุนอมม่วง รสชาติและจุดเด่น : เมื่อหุง (ข้าวกล้อง) หรือหนึ่ง (ข้าวขัดขาว) สุกดีแล้ว จะมีความเหนียวนุ่ม และให้กลิ่นหอมข้าวเหนียวดำชัดเจนมาก

ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี ลักษณะทางพันธุศาสตร์ : เป็นข้าวเจ้าไวแสง อายุ 175 วัน สูง 120 เซนติเมตร ทรงกอตั้ง ต้นและใบสีเขียวเข้ม เปลือกสีเทา มีเมล็ดเรียวยาวคล้ายข้าวเจ้าหอมคำสุตะบุตร มีความทนทานต่อโรคใบไหม้ มีเมล็ดใหญ่และยาวคล้ายข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระ ลักษณะข้าวสาร : ข้าวกล้อง มีสีม่วงดำสนิท ลักษณะเมล็ดเรียวยาว เมื่อขัดขาวแล้ว จะได้ข้าวสารสีขาวใสอมม่วง รสชาติและจุดเด่น : เมื่อหุง (ข้าวกล้อง) หรือหนึ่ง (ข้าวขัดขาว) สุกดีแล้ว จะมีความเหนียวนุ่ม มีกลิ่นหอมเหมือนข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์

ข้าวเหนียวหอมกุสุมา ข้าวสายพันธุ์นี้เกิดจากการกลายพันธุ์ของข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์ที่กลายเป็นข้าวสีขาว ค้นพบขณะแกะเปลือกคัดเลือกรวงข้าวเพื่อเอาไว้ทำพันธุ์ ลักษณะทางพันธุศาสตร์ : มี 2 ประเภท คือ เป็นข้าวเหนียวแบบไวแสง อายุ 175 วัน และแบบไม่ไวแสง (นาปรัง) อายุ 150 วัน มีลักษณะทางกายภาพ เหมือนกัน คือ ความสูงของลำต้น 120 – 130 เซนติเมตร ทรงกอตั้ง ต้นและใบ สีเขียวเข้ม ข้าวเปลือกเมล็ดใหญ่ ค่อนข้างยาว เปลือกสีเทา ลักษณะข้าวสาร : ข้าวกล้อง สีขาวขุ่น เมื่อขัดขาวแล้ว เนื้อแป้งเป็นสีขาวขุ่น รสชาติและจุดเด่น : เมื่อหุง (ข้าวกล้อง) หรือหนึ่ง (ข้าวขัดขาว) สุกดีแล้ว จะมีความเหนียวนุ่มกลิ่นหอมคล้ายดอกไม้ป่า

ข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระ ลักษณะทางพันธุศาสตร์ : เป็นข้าวเจ้าไวแสง อายุ 170 วัน ต้นและใบสีเขียวสด เมื่อออกรวงต้นมีความสูง 180 – 220 เซนติเมตร ข้าวเปลือกสีฟาง เมล็ดใหญ่ เรียว ยาว ลักษณะข้าวสาร : ข้าวสารสีขาวใส เมื่อขัดขาวแล้ว จะมีความใสวาวอย่างชัดเจน ข้าวสารมีความยาวประมาณ 8 มิลลิเมตร รสชาติ/จุดเด่น : รสชาติเหนียวนุ่ม มีกลิ่นหอม หุงขึ้นหม้อ

ข้าวมีสารพฤกษเคมีสำคัญหลายชนิด เช่น γ -oryzanol วิตามินอี กรดฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ ไฟโตสเตอรอล แอนโทไซยานิน และโพรแอนโทไซยานิน (Bhat and Riar, 2017) นอกจากนี้ยังมีรายงานวิจัยที่ทำการศึกษากุญแจด้านออกซิเดชัน กุญแจด้านการอักเสบ กุญแจด้านเบาหวาน กุญแจลดระดับไขมัน กุญแจด้านเซลล์มะเร็ง และป้องกันการเสื่อมของเซลล์ประสาทในข้าวหลายสายพันธุ์ (Sen et al., 2020) สารพฤกษเคมีที่มีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันจึงมีประโยชน์โดยตรงในการป้องกันการเกิดโรคหรือความผิดปกติของร่างกายที่มีสาเหตุมาจากภาวะออกซิเดชัน เช่น โรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และมะเร็ง เป็นต้น (Budhwar et al., 2020, Munglue et al., 2022, Deng et al., 2013) รายงานว่าฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลมีฤทธิ์ด้านออกซิเดชันและสามารถใช้ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือดไม่ให้สูงเกินไปซึ่งช่วยลดความเสี่ยงในการเกิดโรคเบาหวาน เนื่องจากสารประกอบฟีนอลสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนได้ที่ตำแหน่ง ASP197, GLU233 และ ASP300 ซึ่งเป็นตำแหน่งออกฤทธิ์ของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส จึงส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสลดลง (Liu et al., 2017)

ผู้วิจัยจึงศึกษาปริมาณฟีนอลและปริมาณฟลาโวนอยด์รวม การทดสอบฤทธิ์ด้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ด้านกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในข้าวพันธุ์พื้นเมืองทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์ ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี ข้าวเหนียวหอมกุสุมา และข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระ ซึ่งเป็นธัญพืชอีกชนิดหนึ่งที่เป็นแนวทางหนึ่งในการพัฒนากลุ่มอาหารฟังก์ชันที่ช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้

2. วัตถุประสงค์การวิจัย

- 2.1 เพื่อศึกษาปริมาณฟีนอลและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในข้าวพื้นเมือง 4 สายพันธุ์
- 2.2 เพื่อศึกษาฤทธิ์ด้านออกซิเดชันและฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของข้าวพื้นเมือง 4 สายพันธุ์

3. วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมีและเครื่องมือ

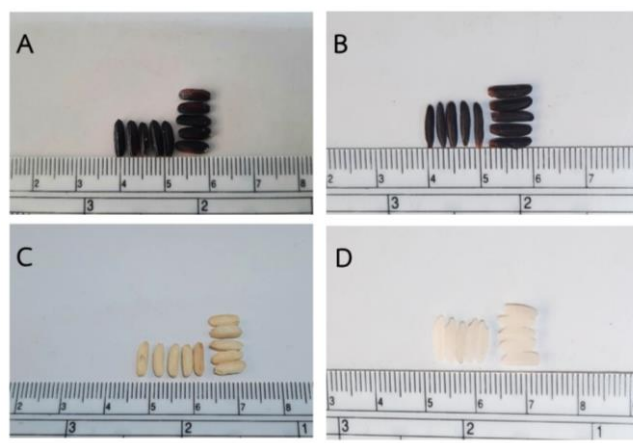
สารเคมีที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ แอลฟาอะไมเลสจากตับอ่อนของหมู (α -amylase), ดีพีพีเอช (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl : DPPH), กรดแกลลิก (Gallic acid), เคอร์ซีติน (Quercetin), กรดแอสคอร์บิก (Ascorbic acid), สารละลายฟีนอลฟอลินซี

โอแคลตู (Folin ciocalteu's phenol reagent) และอะคาร์โบส (Acarbose) สำหรับโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3), อะลูมิเนียมคลอไรด์ (AlCl_3) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ใช้ในการทดลองเป็นสารเคมีเกรดวิเคราะห์ (analytical grade)

เครื่องมือที่ใช้ในงานวิจัยนี้ ได้แก่ เครื่องเขย่าสารรุ่น ZX3 Advanced (Vortex Mixer) เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer) และ เครื่องอ่านปฏิกิริยาบนไมโครเพลท (Microplate reader)

3.2 ตัวอย่างข้าว

ตัวอย่างข้าวที่ศึกษา ได้แก่ ข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์ ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี ข้าวเหนียวหอมกุสุมา และข้าวเจ้าหอมเวสสันดะระได้จากบ้านชุมเหล็ก หมู่ 8 ตำบลโพนเมืองน้อย อำเภอหัวตะพาน จังหวัดอำนาจเจริญ นำมาบดให้ละเอียด บรรจุในถุงซิปล็อค 4 อนุภาคเซลเซียส เพื่อเตรียมสกัดต่อไป สำหรับลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าวของข้าวแต่ละสายพันธุ์แสดงดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเมล็ดข้าวที่ใช้ในการทดลอง

หมายเหตุ: (A) ข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์ ลักษณะเมล็ดป้อมยาว สีม่วงดำเข้ม (B) ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี ลักษณะเมล็ดเรียวยาว สีม่วงดำสนิท (C) ข้าวเหนียวหอมกุสุมา ลักษณะเมล็ดป้อมยาว สีขาวขุ่น (D) ข้าวเจ้าหอมเวสสันดะระ ลักษณะเมล็ดเรียวยาว สีขาวใส

3.3 การสกัดข้าว

วิธีการสกัดข้าวดัดแปลงจาก สุไหรณี เบญจเหม และคณะ (2557) โดยมีรายละเอียดดังนี้ ซึ่งตัวอย่างข้าวสารบดของข้าวแต่ละสายพันธุ์หนัก 20 กรัม ใส่ในบีกเกอร์ เติมน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร นำไปวางในอ่างน้ำร้อน (Water bath) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นกรองตัวอย่างสารสกัดด้วยกระดาษกรอง Whatman No.1 ได้ตัวอย่างน้ำข้าวสกัด บรรจุในขวดสีชา แช่ในตู้เย็นที่ -4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดสอบต่อไป

3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลรวม

การวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลรวมดัดแปลงจาก Singleton and Rossi (1965) โดยมีรายละเอียดดังนี้ ปิเปตตัวอย่างน้ำข้าวสกัดปริมาตร 1000 ไมโครลิตร ใส่ในขวดไวแอล จากนั้นปิเปต Folin-ciocalteu reagent เข้มข้น 10% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากัน เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที ด้วย Vortex mixture ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 5 นาที จากนั้นปิเปต Na_2CO_3 เข้มข้น 5% ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ลงในสารละลาย เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที ด้วย Vortex mixture ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 60 นาที นำตัวอย่างไปวัดค่าดูดกลืนด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ เทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ปริมาณฟีนอลรวมที่คำนวณได้นำเสนอในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัม (mg GAE/20 g gain weight)

3.5 การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

การวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมดัดแปลงจาก Khantham et al. (2022) โดยมีรายละเอียดดังนี้ ปิเปตตัวอย่างน้ำข้าวสากัดปริมาตร 600 ไมโครลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 2.4 มิลลิลิตร ใส่ในขวดไวแอล ผสมให้เข้ากัน จากนั้นปิเปตสารละลาย NaNO_3 เข้มข้น 5% (w/v) ปริมาตร 180 ไมโครลิตร เขย่านาน 30 วินาที ด้วยเครื่อง Vortex mixture ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้องนาน 5 นาที ปิเปต AlCl_3 เข้มข้น 10% ปริมาตร 180 ไมโครลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที ด้วยเครื่อง Vortex mixture ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1 นาที เติมน้ำ NaOH เข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 1.2 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 2.4 มิลลิลิตร เขย่าเป็นเวลา 30 วินาที ด้วยเครื่อง Vortex mixture ตั้งทิ้งไว้อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ เทียบกับกราฟมาตรฐานเคอร์ซีติน คำนวณปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่วัดค่าได้ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัม (mg QE/20 g gain weight) (สุไหงนิย เบญจเหม และคณะ, 2557)

3.6 การวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH free radical scavenging assay (DPPH assay)

การวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay ดัดแปลงจาก Butsat and Siriamornpun (2010) โดยมีรายละเอียดดังนี้ ปิเปตตัวอย่างน้ำข้าวสากัดปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ใน microplate จากนั้นเติมน้ำ DPPH ปริมาตร 180 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ทิ้งไว้นาน 30 นาที ในที่มีมืด นำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate Reader ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH (Ac) และค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง (As) เทียบกับสารมาตรฐาน คือ กรดแอสคอร์บิก โดยใช้เอทานอลเป็นเบสลงค์ คำนวณฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay ของน้ำข้าวสากัดโดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกจากสมการที่ 1 คือ

$$\text{ร้อยละของการต้านออกซิเดชัน} = \frac{(Ac-As)}{Ac} \times 100 \quad (1)$$

ความสามารถในการต้านออกซิเดชันแสดงเป็นค่า IC_{50} (half maximal inhibitory concentration คือ ความเข้มข้นของสารสกัดที่ใช้ในการกำจัดอนุมูลอิสระให้ลดลงเหลือ 50%) จากการสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างค่าร้อยละการต้านออกซิเดชันกับค่าความเข้มข้นของสารสกัดและนำสมการเส้นตรงจากกราฟมาคำนวณหา IC_{50}

3.7 การวิเคราะห์หาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

การวิเคราะห์หาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสดัดแปลงจาก Liu et al. (2017) โดยมีรายละเอียดดังนี้ ปิเปตตัวอย่างน้ำข้าวสากัดปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 500 ไมโครลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นปิเปตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (0.01 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร) ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองข้างต้น บ่มสารละลายที่ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที ปิเปตสารละลายน้ำแป้งเข้มข้น 1% ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากัน บ่มสารละลายที่ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที จากนั้นปิเปตสารละลายกรด 3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิก ปริมาตร 1000 ไมโครลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา แล้วบ่มหลอดทดลองในน้ำเดือด นาน 5 นาที ปลอยสารละลายในหลอดทดลองให้เย็น เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน วัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง Spectrophotometer ที่ 540 นาโนเมตร ทำการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ คำนวณร้อยละของการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากสมการที่ 2 โดยเปรียบเทียบกับสารมาตรฐาน คือ อะคาร์โบส

$$\text{ร้อยละของการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส} = \frac{(A540_{\text{control}} - A540_{\text{treatment}})}{A540_{\text{control}}} \times 100 \quad (2)$$

โดย $A540_{\text{control}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ในหลอดทดลองที่ไม่มีสารสกัดและ $A540_{\text{treatment}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงที่วัดที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ในหลอดทดลองที่มีสารสกัด

3.8 การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

นำเสนอผลการศึกษาในรูปค่าเฉลี่ย (Mean) $\pm$ ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน (SEM) ในแต่ละการทดลองทำจำนวน 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) หากค่า $P < 0.05$ แสดงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

4. ผลการวิจัย

4.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลรวม

ผลการศึกษาพบว่าปริมาณฟีนอลรวมในน้ำข้าวสกัดจากข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์มีค่าสูงสุด ($P < 0.05$) เท่ากับ 20.72 ± 0.31 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัม รองลงมา คือ ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี ข้าวเหนียวหอมกุสุมา และข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระที่มีปริมาณฟีนอลรวมเท่ากับ 16.69 ± 0.19 , 12.81 ± 0.06 และ 9.46 ± 0.25 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัมตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

4.2 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

ผลการศึกษาพบว่าปริมาณฟลาโวนอยด์รวมในน้ำข้าวสกัดจากข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์มีค่าสูงที่สุดเท่ากับ 72.62 ± 8.19 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัม ($P < 0.05$) รองลงมา คือ ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี ข้าวเหนียวหอมกุสุมา และข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระที่มีปริมาณฟีนอลรวมเท่ากับ 44.17 ± 9.65 , 11.76 ± 1.16 และ 8.07 ± 0.46 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัมตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของน้ำสกัดจากข้าว 4 สายพันธุ์

ตัวอย่างที่ศึกษา	ปริมาณฟีนอลรวม (มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัม)	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัม)
ข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์	20.72 ± 0.31^a	72.62 ± 8.19^a
ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี	16.69 ± 0.19^b	44.17 ± 9.65^b
ข้าวเหนียวหอมกุสุมา	12.81 ± 0.06^c	11.76 ± 1.16^c
ข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระ	9.46 ± 0.25^d	8.07 ± 0.46^c

หมายเหตุ : ค่าที่นำเสนอ คือ Mean $\pm$ SEM, ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแนวตั้งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$), $n=3$

4.3 ผลการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay

ผลการศึกษาพบว่าน้ำข้าวสกัดจากข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์มีค่า IC_{50} ต่ำที่สุด ($P < 0.05$) เท่ากับ 139.24 ± 1.53 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนน้ำข้าวสกัดจากข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี ข้าวเหนียวหอมกุสุมา และข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระมีค่า IC_{50} เท่ากับ 144.09 ± 2.91 , 425.57 ± 12.11 และ 840.46 ± 12.76 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำข้าวสกัดจากข้าว 4 สายพันธุ์เพิ่มสูงขึ้นมีผลทำให้ฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay มีค่าเพิ่มขึ้นอีกด้วย ดังแสดงในตารางที่ 2 สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้ในการเปรียบเทียบ คือ กรดแอสคอร์บิก พบว่ามีค่า IC_{50} เท่ากับ 82.15 ± 0.16 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 2 ผลการวิเคราะห์หาฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay ของน้ำสกัดจากข้าว 4 สายพันธุ์

ตัวอย่างที่ศึกษา	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละการยับยั้ง (%)	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
ข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์	50	39.95 ± 1.06 ^c	139.24 ± 1.53 ^b
	100	47.05 ± 0.78 ^b	
	150	53.86 ± 2.56 ^a	
	200	60.19 ± 2.93 ^a	
ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี	50	31.29 ± 6.11 ^c	144.09 ± 2.91 ^c
	100	40.76 ± 2.81 ^{bc}	
	150	52.05 ± 2.52 ^b	
	200	71.05 ± 0.62 ^a	
ข้าวเหนียวหอมกุสุมา	50	5.67 ± 0.47 ^b	425.57 ± 12.11 ^d
	100	8.00 ± 0.46 ^b	
	150	14.43 ± 2.90 ^b	
	200	25.00 ± 1.30 ^a	
ข้าวเจ้าหอมเวสสันดร	50	3.71 ± 0.58 ^b	840.46 ± 12.76 ^f
	100	5.43 ± 1.03 ^b	
	150	7.29 ± 1.82 ^b	
	200	13.33 ± 1.83 ^a	
กรดแอสคอร์บิก			82.15 ± 0.16 ^a

หมายเหตุ : ค่าที่นำเสนอ คือ Mean ± SEM, ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่ต่างกันในแต่ละแถวแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05), n=3

4.4 ผลการวิเคราะห์หาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

การศึกษาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในข้าว 4 สายพันธุ์ พบว่าค่า IC₅₀ ของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์ ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี ข้าวเหนียวหอมกุสุมา และข้าวเจ้าหอมเวสสันดร มีค่าเท่ากับ 4.78 ± 0.44, 4.98 ± 0.06, 5.78 ± 0.02 และ 5.15 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (P<0.05) ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 3 นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความเข้มข้นของน้ำสกัดจากข้าวทั้ง 4 สายพันธุ์เพิ่มขึ้นส่งผลให้ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสมีค่าเพิ่มขึ้นด้วย สำหรับสารมาตรฐานที่ใช้เปรียบเทียบในการทดลองนี้ คือ อะคาร์โบส พบว่ามีค่า IC₅₀ เท่ากับ 0.42 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์หาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของน้ำสกัดจากข้าว 4 สายพันธุ์

ตัวอย่างที่ศึกษา	ความเข้มข้น (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละการยับยั้ง (%)	IC ₅₀ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
ข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์	0	0.00 ± 0.00 ^d	4.78 ± 0.44 ^b
	1	20.26 ± 1.48 ^c	
	3	41.30 ± 0.59 ^b	
	5	51.10 ± 5.64 ^a	
ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี	0	0.00 ± 0.00 ^d	4.98 ± 0.06 ^b
	1	14.30 ± 0.41 ^c	
	3	35.79 ± 0.15 ^b	
	5	50.16 ± 0.29 ^a	
ข้าวเหนียวหอมกุสุมา	0	0.00 ± 0.00 ^d	5.77 ± 0.02 ^b
	1	18.29 ± 1.06 ^c	
	3	29.31 ± 0.33 ^b	
	5	43.22 ± 0.13 ^a	
ข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระ	0	0.00 ± 0.00 ^d	5.15 ± 0.05 ^b
	1	13.04 ± 0.08 ^c	
	3	41.47 ± 2.89 ^b	
	5	48.53 ± 0.50 ^a	
อะคาร์โบส			0.42 ± 0.01 ^a

หมายเหตุ : ค่าที่นำเสนอ คือ Mean ± SEM, ตัวอักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแนวดิ่งแสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05), n=3

5. อภิปรายผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 อภิปรายผลการวิจัย

งานวิจัยครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาปริมาณฟีนอลและปริมาณฟลาโวนอยด์รวม ฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสในข้าวพื้นเมือง 4 สายพันธุ์ ได้แก่ ข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์ ข้าวเจ้าหอมเพชรราตรี ข้าวเหนียวหอมกุสุมา และข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระ ผลการศึกษาพบว่าข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์มีปริมาณฟีนอลรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay และฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์มีค่า IC₅₀ ต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับข้าวชนิดอื่น ๆ รวมทั้งเมื่อเทียบกับข้าวสีด้าที่ Pang et al. (2018) ได้ทำการศึกษา และเมื่อพิจารณาข้าวขาวผลการศึกษาพบว่าข้าวเหนียวหอมกุสุมามีปริมาณฟีนอลรวมและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงกว่าข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระ นอกจากนี้ยังพบว่าฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay ข้าวเหนียวหอมกุสุมามีค่า IC₅₀ ต่ำกว่าข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระและต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับข้าวสีขาวที่ Pang et al. (2018) ได้ทำการศึกษา แต่ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระมีค่า IC₅₀ ต่ำกว่าข้าวเหนียวหอมกุสุมาและต่ำที่สุดเมื่อเทียบกับข้าวสีขาวที่ Pang et al. (2018) ได้ทำการศึกษา ผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์มีศักยภาพในการพัฒนาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอุตสาหกรรมอาหารและเป็นสารยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในอุตสาหกรรมยาได้

ข้าวหลายสายพันธุ์มีปริมาณฟลาโวนอยด์และสารประกอบฟีนอลสูง โดยแอนโทไซยานินจัดเป็นสารประกอบฟีนอลชนิดหนึ่ง ที่พบในเมล็ดข้าวที่มีสีดำ (Mackon et al., 2021) ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์และข้าวเจ้าหอมเพชรราตรีซึ่งมีสีดำนั้นมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมและปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงกว่าข้าวเหนียวหอมกุสุมาและข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระซึ่งมีเมล็ดสีขาว ผลการวิจัยครั้งนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Pang et al. (2018) ที่พบว่าปริมาณฟีนอลรวมในเมล็ดข้าวสีแดงและดำมีค่าสูงกว่าเมล็ดข้าวสีขาว แต่อย่างไรก็ตามเมล็ดข้าวที่มีสีดำนี้อาจมีปริมาณฟีนอลรวมแตกต่างกัน ทั้งนี้อาจเป็นเพราะชนิดของพันธุ์ของข้าวมากกว่าลักษณะของสีที่ปรากฏ เช่นในข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์และข้าวเจ้าหอมเพชรราตรีที่มีปริมาณฟีนอลและปริมาณฟลาโวนอยด์รวมที่แตกต่างกัน นอกจากนี้รูปแบบการเพาะปลูก สภาพแวดล้อมในระหว่างการเจริญเติบโต กระบวนการเก็บเกี่ยว การสีข้าว และการเก็บรักษาล้วนเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่อปริมาณฟีนอลรวมในเมล็ดข้าวแทบทั้งสิ้น

ความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในกระบวนการต้านออกซิเดชันนั้นขึ้นอยู่กับประสิทธิภาพในการจับกับอนุมูลอิสระ (Munglue et al., 2022) มีรายงานกล่าวว่าเมล็ดข้าวสีดำซึ่งมีปริมาณของแอนโทไซยานินสูงมักมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ ABTS⁺ assay ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับกรดแอสคอร์บิก (Hao et al., 2015) นอกจากนี้ยังมีรายงานที่กล่าวถึงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแอนโทไซยานินกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันที่มีความคล้ายคลึงกับความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณสารประกอบฟีนอลกับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันอีกด้วย (Toshima et al., 2021) ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่าข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์และข้าวเจ้าหอมเพชรราตรีซึ่งมีเมล็ดสีดามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay สูงกว่าข้าวเหนียวหอมกุสุมาและข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระที่มีเมล็ดสีขาว ในขณะที่สารมาตรฐาน คือ กรดแอสคอร์บิกมีค่า IC₅₀ ต่ำกว่าค่า IC₅₀ ของน้ำข้าวสากทุกสายพันธุ์ โดยข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์มีค่า IC₅₀ ใกล้เคียงกับค่า IC₅₀ ของกรดแอสคอร์บิกมากที่สุด ซึ่งงานวิจัยนี้สอดคล้องกับการศึกษาของ Pang et al. (2018) ที่พบว่าเมล็ดข้าวที่มีสีดามีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH assay สูงกว่าเมล็ดข้าวที่มีสีแดงถึง 5.4 เท่า และสูงกว่าเมล็ดข้าวที่มีสีขาวถึง 16 เท่า เนื่องจากในเมล็ดข้าวที่มีสีดำพบสารในกลุ่มฟีนอลที่สำคัญ เช่น กรดแกลลิก กรดโพรโทคาเททิซอิก กรด 2,5-ไดไฮดรอกซีเบนโซอิก กรดวานิลลิก กรดเฟอร์ูลิก และกรดไซแนฟิกซึ่งมีความสัมพันธ์กับฤทธิ์ต้านออกซิเดชันด้วยวิธี DPPH และ ABTS⁺ assay ผลการศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์และข้าวเจ้าหอมเพชรราตรีสามารถพัฒนาเป็นสารต้านอนุมูลอิสระในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่มได้

การใช้อยาสังเคราะห์เพื่อรักษาระดับน้ำตาลมักมีผลข้างเคียงต่อผู้ป่วย เช่น ปวดศีรษะ คลื่นไส้ และมีภาวะโลหิตจาง ดังนั้นการใช้ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากพืชที่มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเพื่อควบคุมระดับน้ำตาลจึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งที่มีผลข้างเคียงน้อยกว่า ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์และข้าวเจ้าหอมเพชรราตรีมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสโดยมีค่า IC₅₀ เท่ากับ 4.78 ± 0.44 และ 4.98 ± 0.06 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าต่ำกว่าข้าวเหนียวหอมกุสุมาและข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระที่มีค่า IC₅₀ เท่ากับ 5.77 ± 0.02 และ 5.15 ± 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อทำการทดสอบในระดับหลอดทดลอง อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานที่ใช้ในการศึกษาครั้งนี้ คือ อะคาร์โบส แล้วพบว่าน้ำสกัดจากข้าวมีค่า IC₅₀ สูงกว่าค่า IC₅₀ ของอะคาร์โบส (0.42 ± 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งแสดงให้เห็นว่าข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์และข้าวเจ้าหอมเพชรราตรีสามารถพัฒนาเป็นโคขนเภสัชเพื่อใช้รักษาระดับน้ำตาลในเลือดได้ (Deng et al., 2013) ปัจจุบันมีการศึกษาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากสารสกัดเมล็ดข้าวหลากหลายสายพันธุ์ โดยฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของแอลฟาอะไมเลสของน้ำข้าวสากนี้เกี่ยวข้องกับสารประกอบฟีนอล เช่น โพรแอนโทไซยานินส์ เนื่องจากสารในกลุ่มนี้มีหมู่ไฮดรอกซิล (Hydroxyl groups) ที่สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนหรือแรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลที่ไม่ชอบน้ำที่ตำแหน่งออกฤทธิ์ (Active sites) ภายในโครงสร้างของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ (Liu et al., 2017, Settu et al., 2021) เช่นในรายงานของ Yawadio et al. (2007) ที่พบว่าสารประกอบฟีนอลที่แยกได้จากเมล็ดข้าวที่มีสีดำประกอบด้วยไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ เคอร์ซิทิน และกรดเฟอร์ูลิก ซึ่งมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อัลโดรีดักเทส (Aldose reductase)

สารประกอบฟีนอลในเมล็ดข้าวสีแดงสามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนได้ที่ตำแหน่ง ASP197, GLU233 และ ASP300 ซึ่งเป็นตำแหน่งออกฤทธิ์ของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส จึงส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสลดลง ผลการศึกษาในครั้งนี้พบว่าน้ำ

สกัดจากข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์และข้าวเจ้าหอมเพชรราตรีผลการศึกษาพบว่าในมีปริมาณฟีนอลรวมเท่ากับ 20.72 ± 0.31 และ 16.69 ± 0.19 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัมตามลำดับซึ่งสูงกว่าข้าวเหนียวหอมกุสุมาและข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระที่มีปริมาณฟีนอลรวมเท่ากับ 12.81 ± 0.06 และ 9.46 ± 0.25 มิลลิกรัมสมมูลกรดแกลลิกต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัมตามลำดับ และปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงสุดเท่ากับ 72.62 ± 8.19 และ 44.17 ± 9.65 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัมตามลำดับซึ่งสูงกว่าข้าวเหนียวหอมกุสุมาและข้าวเจ้าหอมเวสสันตะระที่มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 11.76 ± 1.16 และ 8.07 ± 0.46 มิลลิกรัมสมมูลเคอร์ซีตินต่อน้ำหนักเมล็ดข้าว 20 กรัมตามลำดับ สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Liu et al. (2017) ซึ่งผลการศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าข้าวเหนียวดำสีลาภรณ์และข้าวเจ้าหอมเพชรราตรีสามารถนำพัฒนาเป็นอาหารฟังก์ชันเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจึงเหมาะสมต่อผู้ป่วยเบาหวานที่จะใช้ในการลดระดับน้ำตาลในเลือด

5.2 ข้อเสนอแนะ

ควรแยกสารสำคัญจากน้ำข้าวสกัดเพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชันและมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

6. กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณสาขาวิชาชีววิทยา และสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ศึกษา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี จังหวัดอุบลราชธานี ที่สนับสนุนอุปกรณ์ในการดำเนินการวิจัย ส่วนหนึ่งของงานวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยมหาสารคาม จังหวัดมหาสารคาม

7. เอกสารอ้างอิง

- ฉวีวรรณ วุฒิญาโณ. (2543). *ข้าวพื้นเมืองไทย: เอกสารวิชาการ*. กรุงเทพฯ: กรมวิชาการเกษตร สถาบันวิจัยข้าว ศูนย์วิจัยข้าว ปทุมธานี ศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดเชื้อพันธุ์ข้าวแห่งชาติ.
- ประพจน์ พรหมสมบูรณ์, ทรงศักดิ์ จันทรอุดม, อนุสรณ์ วิเศษสิงห์, สุธัญญา พรหมสมบูรณ์ และคัชชา กาญจนจันทร์. (2559). การรวบรวมพันธุ์และศึกษาลักษณะทางการเกษตรของข้าว (*Oryza sativa* L.) พันธุ์พื้นเมืองไทย. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*, 34(3), 126-132. <https://li01.tci-thaijo.org/index.php/agritechjournal/article/view/181006>
- สุไชนีย์ เบญจเหม, เทวี ทองแดง, คาร์ริลา และเนตรนภิส อ่องสุวรรณ. (2557). ผลของวิธีการให้ความร้อนและระยะเวลาต่อคุณภาพของน้ำสกัดจากข้าวเหนียวดำ [เอกสารนำเสนอ]. *การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 52*, กรุงเทพฯ, ประเทศไทย.
- https://kukrdb.lib.ku.ac.th/proceedings/KUCON/search_detail/download_digital_file/13668/89411
- Awan, T.H., Ahmadizadeh, M., Jabran, K., Hashim, S., & Chauhan, B.S. (2017). Domestication and development of rice varieties. In: Chauhan, B., Jabran, K., Mahajan, G. (eds). *Rice Production Worldwide*. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-47516-5_9
- Bhat, F.M., & Riar, C.S. (2017). Characterizing the pigmented traditional rice varieties grown in temperate regions of Kashmir (India) for free and bound phenolics compounds and *in vitro* antioxidant properties. *Journal of cereal science*, 76, 253-262. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.06.018>
- Budhwar, S., Chakraborty, M., Sethi, K., & Chatterjee, A. (2020). Antidiabetic properties of rice and wheat bran-A review. *Journal of food biochemistry*, 44(10), e13424. <https://doi.org/10.1111/jfbc.13424>

- Butsat, S., & Siriamornpun, S. (2010). Phenolic acids and antioxidant activities in husk of different Thai rice varieties. *Food science and technology international*, 16(4), 329-336.
<https://doi.org/10.1177/1082013210366966>
- Deng, G.F., Xu, X. R., Zhang, Y., Li, D., Gan, R.Y., & Li, H.B. (2013). Phenolic compounds and bioactivities of pigmented rice. *Critical reviews in food science and nutrition*, 53(3), 296-306.
<https://doi.org/10.1080/10408398.2010.529624>
- Hao, J., Zhu, H., Zhang, Z., Yang, S., & Li, H. (2015). Identification of anthocyanins in black rice (*Oryza sativa* L.) by UPLC/Q-TOF-MS and their *in vitro* and *in vivo* antioxidant activities. *Journal of cereal science*, 64, 92-99.
<https://doi.org/10.1016/j.jcs.2015.05.003>
- Khantham, C., Linsaenkart, P., Chaitep, T.,..., & Ruksiriwanich, W. (2022). Antioxidation, anti-inflammation, and regulation of SRD5A gene expression of *Oryza sativa* cv. bue Bang 3 CMU husk and bran extracts as androgenetic alopecia molecular treatment substances. *Plants*, 11(3), 330. <https://doi.org/10.3390/plants11030330>
- Liu, M., Hu, B., Zhang, H., Zhang, Y., Wang, L., Qian, H., & Qi, X. (2017). Inhibition study of red rice polyphenols on pancreatic α -amylase activity by kinetic analysis and molecular docking. *Journal of cereal science*, 76, 186-192. <https://doi.org/10.1016/j.jcs.2017.04.011>
- Mackon, E., Jeazet Dongho Epse Mackon, G.C., Ma, Y., ..., & Liu, P. (2021). Recent insights into anthocyanin pigmentation, synthesis, trafficking, and regulatory mechanisms in rice (*Oryza sativa* L.) caryopsis. *Biomolecules*, 11(3), 394. <https://doi.org/10.3390/biom11030394>
- Munglue, P., Rattana, K., Sangchanjiradet, S., Yarksa, N., & Aoki, S. (2022). Preliminary phytochemical screening and antioxidant activity of *Dioscorea alata* L. *Advanced science journal*, 22(2): R83 - R100.
<https://li02.tci-thaijo.org/index.php/adscij/article/view/400>
- Pang, Y., Ahmed, S., Xu, Y., Beta, T., Zhu, Z., Shao, Y., & Bao, J. (2018). Bound phenolic compounds and antioxidant properties of whole grain and bran of white, red and black rice. *Food chemistry*, 240, 212-221. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.095>
- Sen, S., Chakraborty, R., & Kalita, P. (2020). Rice - not just a staple food: A comprehensive review on its phytochemicals and therapeutic potential. *Trends in food science & technology*, 97, 265-285.
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.01.022>
- Settu, R., Selvaraj, D., & Padikasan, I. A. (2021). GCMS profiling and in silico screening of alpha-amylase inhibitors in traditional pigmented rice varieties (*Oryza sativa* Linn) of Tamil Nadu. *Food bioscience*, 42, 101154.
<https://doi.org/10.1016/j.fbio.2021.101154>
- Singleton, V.L., & Rossi, J.A., Jr. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphothungstic acid reagents. *American journal of enology and viticulture*, 16, 144-158.
<https://doi.org/10.5344/ajev.1965.16.3.144>
- Toshima, S., Hirano, T., & Kunitake, H. (2021). Comparison of anthocyanins, polyphenols, and antioxidant capacities among raspberry, blackberry, and Japanese wild Rubus species. *Scientia horticulturae*, 285, 110204. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110204>

-
- Weyer, C., Bogardus, C., Mott, D.M., & Pratley, R.E. (1999). The natural history of insulin secretory dysfunction and insulin resistance in the pathogenesis of type 2 diabetes mellitus. *The Journal of clinical investigation*, 104(6), 787-794. <https://doi.org/10.1172/JCI7231>
- Yawadio, R., Tanimori, S., & Morita, N. (2007). Identification of phenolic compounds isolated from pigmented rices and their aldose reductase inhibitory activities. *Food chemistry*, 101(4), 1616-1625. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.04.016>