รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดเอทานอลจากข้าวสีต่างๆ

Antioxidant capacity and inhibitory effect on lipid peroxidation of different pigmented rice ethanol extracts

โดย

ดร.ชัชวิน เพชรเลิศ

โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้
จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. ๒๕๖๐
มหาวิทยาลัยบูรพา

รหัสโครงการ 2560A10802044

สัญญาเลขที่ 84/2560

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

เรื่อง

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดเอทานอลจากข้าวสีต่างๆ

Antioxidant capacity and inhibitory effect on lipid peroxidation of different pigmented rice ethanol extracts

โดย

ดร.ชัชวิน เพชรเลิศ

กุมภาพันธ์ พ.ศ. ๒๕๖๒

กิตติกรรมประกาศ

โครงการวิจัยนี้สำเร็จลุล่วงได้ด้วยการได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจาก ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล) มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

ผู้วิจัยต้องขอขอบคุณนิสิตชั้นปีที่ 4 ของภาควิชาชีวเคมี และนิสิตระดับบัณฑิตศึกษา สาขาวิชาวิทยาศาสตร์ชีวภาพ และสาขาวิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ ทุกคนที่ร่วมมือร่วมใจกันในการทำวิจัยจนทำให้ได้ผลการวิจัยอันน่าพึงพอใจ ตลอดจนคณาจารย์และเจ้าหน้าที่ของภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา ที่ให้คำแนะนำ และคอยช่วยเหลือในเรื่องอุปกรณ์และสารเคมีบางส่วนในโครงการวิจัยนี้

ดร.ชัชวิน เพชรเลิศ

ผู้วิจัย

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดเอทานอลจากข้าวสีต่างๆ

ชื่อโครงการ (ภาษาอังกฤษ) Antioxidant capacity and inhibitory effect on lipid peroxidation of different pigmented rice ethanol extracts

หัวหน้าโครงการวิจัย ดร.ชัชวิน เพชรเลิศ

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาฤทธิ์ต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดเอทานอลจากข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอหรือข้าวเหนียวดำในน้ำมันถั่วเหลือง ด้วยการทดสอบ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) การกำจัดอนุมูล DPPH และความสามารถในการรีดิวซ์เหล็ก (FRAP assay) นอกจากนี้ยังทำการตรวจสอบปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณแอนโธไซยานิน จากการศึกษาแสดงให้เห็นว่า ข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณสารประกอบฟีนอล ปริมาณฟลาโวนอยด์และปริมาณแอนโธไซยานินสูงที่สุด (45.48±0.07 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด, 323.08±0.50 มิลลิกรัมสมมูลของเควอร์เซตินต่อกรัมของสารสกัด และ 1908.01±5.79 มิลลิกรัมของไซยานินดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัมของสารสกัด ตามลำดับ) สำหรับการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่า ข้าวก่ำดอยมูเซอมีฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH และมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนกับเหล็กได้ดีที่สุด โดยมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.23±0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และค่า FRAP เท่ากับ 32.03±0.001 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟต/กรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ นอกจากนี้แล้วสารสกัดเอทานอลจากข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอที่ความเข้มข้นต่างๆ (0.001, 0.01, 0.1 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถยับยั้งลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ทั้งแบบที่เติมสารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยา (48 ชั่วโมง) และเมื่อเติมสารสกัดลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยา (48 ชั่วโมง) สำหรับการทดสอบ TBARS พบว่าเปอร์เซ็นต์การยับยั้งของข้าวกล้องหอมนิลที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีถึง 67.79% สรุปว่าสารสกัดเอทานอลจากข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอ สามารถยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในปฏิกิริยาขั้นปฐมภูมิและขั้นทุติยภูมิได้ และงานวิจัยนี้สามารถที่จะนำไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารได้

Abstract

The inhibitory effects of lipid peroxidation and antioxidant activity of ethanolic extracts from Hom Nil brown rice, riceberry rice and black sticky rice or Kow Kum Doi Moo Seu (*Oryza sativa* L.) in soybean oil emulsion were investigated using thiobarbituric acid reactive substances (TBARS), DPPH and FRAP assays. Moreover, total phenolic, total flavonoid and anthocyanin contents were also determined. The results showed that black sticky rice had the highest total phenolic, total flavonoid and anthocyanin contents (45.48±0.07 mg gallic acid equivalent (GAE)/g extract, 323.08±0.50 mg quercetin equivalent (QE)/g extract and 1908.01±5.79 mg cyanidin-3-glucoside/g extract, respectively). For the antioxidant activity, DPPH radical scavenging activity and ferric reducing property were found strongly in ethanolic extract from black sticky rice (EC_{50} = 0.23±0.001 mg/ml and FRAP value = 32.03±0.001 mg $FeSO_4$/g extract, respectively). In addition, ethanolic extracts from Hom Nil brown rice, riceberry rice and black sticky rice at various concentrations (0.001, 0.01, 0.1 and 1 mg/ml) could inhibit lipid peroxidation, either the extracts were incubated during the reaction (48 h) or added after the reaction. For TBARS assay, the %inhibition of Hom Nil brown rice at 0.1 mg/ml was 67.79%. In conclusion, ethanolic extracts from brown rice, riceberry rice and black sticky rice can inhibit the initiation and propagation step of lipid peroxidation. This research can be applied to food industries.

สารบัญ

	หน้า
กิตติกรรมประกาศ	ก
บทคัดย่อ	ข
สารบัญ	ง
สารบัญรูป	จ
สารบัญตาราง	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วิธีดำเนินการวิจัย	10
บทที่ 3 ผลการวิจัย	15
บทที่ 4 อภิปราย และสรุปผลการทดลอง	28
รายงานสรุปการเงิน	34
บรรณานุกรม	35
ประวัตินักวิจัย	38

สารบัญรูป

		หน้า
รูปที่ 3-1	ลักษณะของสารสกัดข้าวกล้องหอมนิล (หมายเลข 2) สารสกัดข้าวไรซ์เบอร์รี่ (หมายเลข 1) และสารสกัดข้าวก่ำดอยมูเซอ (หมายเลข 3)	15
รูปที่ 3-2	กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดเอทานอลจากข้าวทั้งสามชนิด	16
รูปที่ 3-3	กราฟมาตรฐานของสารละลายเควอร์เซตินในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดเอทานอลจากข้าวทั้งสามชนิด	17
รูปที่ 3-4	ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ในส่วนสกัดของเอทานอลของตัวอย่างเมล็ดข้าว	19
รูปที่ 3-5	กราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต	20
รูปที่ 3-6	ปริมาณทีบาร์ของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิด	23
รูปที่ 3-7	ปริมาณทีบาร์ของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิดเมื่อใส่สารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง	24
รูปที่ 3-8	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิดเมื่อใส่สารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง	25
รูปที่ 3-9	ปริมาณทีบาร์ของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิดเมื่อใส่สารสกัดลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง	26
รูปที่ 3-10	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิดเมื่อใส่สารสกัดลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง	27

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 3-1	น้ำหนักของสารสกัดและ %Yield ของสารสกัดข้าวแต่ละชนิด	15
ตารางที่ 3-2	ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิด	16
ตารางที่ 3-3	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิด	17
ตารางที่ 3-4	ปริมาณแอนโธไซยานินของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิด	18
ตารางที่ 3-5	ค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ในส่วนสกัดเอทานอลของตัวอย่างเมล็ดข้าว	19
ตารางที่ 3-6	ค่า FRAP value ในส่วนสกัดเฮกเซนและเอทานอลของสารสกัดเมล็ดข้าว	20
ตารางที่ 3-7	ปริมาณทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิด	22
ตารางที่ 3-8	ปริมาณของทีบาร์และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิดเมื่อใส่สารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง	23
ตารางที่ 3-9	ปริมาณของทีบาร์และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิด เมื่อใส่สารสกัดลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง	25

บทที่ 1

บทนำ

1.1 เนื้อหาของเรื่องที่เคยมีผู้ทำการวิจัยมาก่อน

จากการศึกษาของ Miller et al. (2002) พบว่าสารสกัดแอนโธไซยานินที่ได้จากข้าวสีดำ (*Oryza sativa* L. indica) ช่วยกำจัดอนุมูลอิสระ และช่วยป้องกันไม่ให้สายดีเอ็นเอสายคู่ (supercoiled DNA strand) ถูกทำลายโดย peroxyl radical และ hydroxyl radicals เพราะแอนโธไซยานินจับตัวรวมกับโมเลกุลดีเอ็นเอได้เป็น cyanidin-DNA-copigmentation เพื่อป้องกันดีเอ็นเอไม่ให้ถูกออกซิเดชัน ดังนั้นแอนโธไซยานินที่มีในต้นพืชนอกจากมีสีดึงดูดแมลงให้ผสมเกสร แล้วยังทำหน้าที่ในการต้านทานโรค เมื่อคนและสัตว์ได้รับแอนโธไซยานินเข้าสู่ร่างกาย แอนโธไซยานินซึ่งมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทำหน้าที่ป้องกันการออกซิเดชันของไลโปโปตีนความหนาแน่นต่ำโดยทำหน้าที่คล้ายกับไวตามินซี เนื่องจากแอนโธไซยานินมีคุณสมบัติละลายได้ในน้ำ โดยปริมาณที่แนะนำให้บริโภควันละ 180-215 กรัม การป้องกันการสร้าง plaque ที่บริเวณหลอดเลือดซึ่งจะนำมาสู่การเกิดโรคหลอดเลือดหัวใจ โรคเบาหวาน รวมถึงยับยั้งการแพร่กระจายของเซลล์มะเร็งโดยยับยั้งกระบวนการฟอสโฟรีเลชัน (phosphorylation) ของเอนไซม์ protein kinase ในวิถี extracellular signal-regulated protein kinase (ERK) และ c-Jun N-terminal kinase (JNK pathway) นอกจากนี้แอนโธไซยานินยังมีคุณสมบัติช่วยลดการอักเสบ เป็นสารต้านการเจริญของแบคทีเรีย (antibacterial agents) และช่วยให้เซลล์ประสาททำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ

ในการศึกษาของ Laokuldilok et al. (2011) นี้เป็นการทดลองหาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของกรดฟีนอลิก แอนโธไซยานิน α-tocopherol และ γ-oryzanol ในรำข้าวสีต่างๆ (ดำและแดง) หลังจากที่ทำการตรวจวัดด้วยสารสกัดเมทานอล ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ สารสกัดรำข้าวสีต่างๆ มีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนดีกว่าสารสกัดรำข้าวปกติจากเมล็ดข้าวสีขาว สารสกัดรำข้าวนั้นมีประสิทธิภาพสูงในการกำจัดกรดไขมัน linoleic peroxidation (60-85%) การวิเคราะห์ด้วย HPLC สารต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว γ-oryzanol (39-63%) และกรดฟีนอลิก (33-43%) ซึ่งเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญในตัวอย่างของรำข้าว และในรำข้าวสีดำก็เช่นกันจะประกอบด้วยแอนโธไซยานิน 18-26% การวิเคราะห์ด้วย HPLC สำหรับแอนโธไซยานินแสดงให้เห็นสีต่างๆ ของรำข้าวที่เต็มไปด้วย cyanidin-3-glucoside (58-59%) ferulic acid เป็นตัวกำหนดกรดฟีนอลิกในรำข้าวตัวอย่าง รำข้าวสีดำมีปริมาณกรดแกลลิก กรดไฮดร

อกซีเบนโซอิก และกรดโปรโตคาทีชูอิกในปริมาณที่มากกว่ารำข้าวสีแดงและรำข้าวสีปกติ นอกจากนี้ ส่วนของรำข้าวสีดำที่ถูกในไปทำแป้งสาลีสำหรับทำขนมปังมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับขนมปังปกติ

ในการศึกษาของ Jeng et al. (2012) สีของเมล็ดข้าวจะถูกควบคุมโดยยีน Ra Rc และ Rd และการแสดงออกของยีนเหล่านี้จะแตกต่างกันออกไปตามสายพันธุ์ของข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีแดง สีม่วง และสีขาว งานวิจัยในครั้งนี้เป็นการศึกษาถึงปริมาณเมล็ดข้าวและการแสดงออกของยีน Ra Rc และ Rd ในข้าวเจ้า SA418 ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีขาวกับข้าวเหนียว SA419 ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีขาว และสายพันธุ์ของข้าวทั้งสองชนิดที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีแดง และสีม่วงตามลำดับ ทั้งนี้ ได้พบความแตกต่างในเรื่องของน้ำหนักเมล็ดทั้งหมด 100 เมล็ดและปริมาณผลผลิตข้าว จากสายพันธุ์ข้าวที่นำมาทดสอบทั้งหมด นอกจากนี้ ยังพบการแสดงออกของยีน Ra ในสายพันธุ์ข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีม่วง ในขณะที่พบการแสดงออกของยีน Rc ในสายพันธุ์ข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีแดง ในส่วนของปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ (flavonoid) ทั้งหมด และสารในกลุ่มโปรแอนโทไซยาซิดินทั้งหมดกับกลไกการต้านอนุมูลอิสระในส่วนที่เป็นรำข้าวก็มีลักษณะที่แตกต่างกันออกไปตามแต่ละสายพันธุ์ สายพันธุ์ข้าวเจ้า M-69 ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีแดงจะมีน้ำหนักที่ 100 เมล็ดที่มากกว่า (2.86 กรัม) รวมถึงมีสารฟีนอลิกทั้งหมดในปริมาณที่สูงกว่า (น้ำหนักแห้งของรำข้าว 49.37 mg g^{-1} และให้ปริมาณผลผลิตที่สูงกว่า (6.93 t ha^{-1}) เมื่อเปรียบเทียบกับข้าว SA418 ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดเป็นสีขาว (2.43 กรัม, น้ำหนักแห้งของรำข้าว 2.89 mg g^{-1}และ 2.80 t ha^{-1}ตามลำดับ) และข้าว SA419 (2.62 g, น้ำหนักแห้งของรำข้าว 2.20 mg g^{-1}และ 6.73 t ha^{-1}ตามลำดับ) ดังนั้น เมล็ดข้าวขัดสี M-69 จึงสามารถนำมาใช้ในการบริโภคเป็นอาหารจานหลักได้ และส่วนที่เป็นรำข้าวของมันก็สามารถนำมาใช้เป็นผลิตผลพลอยได้ที่ช่วยส่งเสริมสุขภาพได้อีกด้วย

ในการศึกษาวิจัยของ Min, McClung and Chen (2014) ผลกระทบของการลวกและการประกอบอาหารโดยใช้น้ำทั้งอย่างใดอย่างหนึ่งหรือทั้งสองอย่างร่วมกันที่มีต่อระดับความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายในไขมัน (lipophilic antioxidants เช่น วิตามินอี และ γ-oryzanol) ละลายในน้ำ ได้แก่ proanthocyanidins และ anthocyanins และสารประกอบฟีนอลิกที่เกาะอยู่ที่ผนังเซลล์ และยังศึกษาถึงการออกฤทธิ์ของสารต้านอนุมูลอิสระในเมล็ดข้าวจาก 6 สายพันธุ์ ที่มีสีของรำข้าวที่แตกต่างกันออกไปด้วย ข้าวเปลือกและข้าวกล้องที่ผ่านการลวกจะไปเพิ่มระดับความเข้มข้นของสารต้านอนุมูลอิสระที่ละลายในไขมัน ในเมล็ดข้าวให้มากขึ้น แต่กลับทำให้ระดับความเข้มข้นของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดน้อยลง และลดประสิทธิภาพของสารต้านอนุมูลอิสระที่พบในส่วนที่ละลายน้ำได้ หลังจากนำรำข้าวสีม่วงมาผ่านกระบวนการไฮโดรเทอร์มอล (hydrothermal process) พบว่า

การรักษาสภาพของสาร anthocyanin ที่สามารถสกัดออกมาได้นั้นค่อนข้างต่ำ แต่การรักษาสภาพของสาร simple phenolics กลับมีอยู่สูง สำหรับสาร proanthocyanidins ที่พบในรำข้าวสีแดงนั้น oligomer ที่สกัดออกมาได้ ที่แต่เดิมมีปริมาณมอนอเมอร์ที่อยู่ในสายพอลิเมอร์ (degree of polymerization; DP) อยู่น้อยกว่า 4 นั้นได้เพิ่มขึ้นเป็น 6 เท่า ในขณะที่ oligomer ที่มี DPP4 และพอลิเมอร์อยู่กลับมีปริมาณมอนอเมอร์ที่อยู่ในสายพอลิเมอร์อย่างชัดเจน ซึ่งเป็นความเกี่ยวพันเชิงบวกกับ DP และอุณหภูมิของวิธีการที่นำมาใช้ในกระบวนการ จะเห็นได้ว่า การที่ข้าวมีเปลือกอยู่นั้น จะช่วยรักษาสภาพของสารต้านอนุมูลอิสระชนิดละลายน้ำในระหว่างทำการลวกไว้ได้

ในการศึกษาของ Caro et al. (2013) ข้าวหอมนิลกำลังได้รับความนิยมอย่างมากในกลุ่มผู้บริโภคอาหารเน้นสุขภาพ ในงานวิจัยฉบับนี้ จะเป็นการวิเคราะห์สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (secondary metabolites) ที่อยู่ในข้าวหอมนิล cv. Asamurasaki แบบไม่มีเปลือก โดยใช้เทคนิค HPLC–PDA–MS ในเมล็ดพันธุ์ จะมีสารในกลุ่มแอนโธไซยานิน 7 ชนิด (1400 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสด) ที่มี cyanidin-3-*O*-glucoside และ peonidin-3-*O*-glucoside อยู่ในระดับความเข้มข้นสูง ตามหลักการแล้ว สารในกลุ่ม flavonol glycoside ทั้ง 5 ชนิด quercetin-3-*O*-glucoside กับ quercetin-3-*O*-rutinoside และ flavones จะถูกพบที่ระดับความเข้มข้นทั้งหมดที่ 189 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสด นอกจากนี้ ในเมล็ดพันธุ์ยังมีสารในกลุ่ม carotenoids เข้มข้น 3.9 ไมโครกรัมต่อกรัมของน้ำหนักสด อันประกอบด้วย lutein, zeaxanthin, lycopene และ β-carotene อีกทั้งสาร γ-oryzanol ยังเป็นสารผสมของ 24-methylenecycloartenol ferulate, campesterol ferulate, cycloartenol ferulate and β-sitosterol ferulate อีกด้วย อย่างไรก็ตามกลับไม่พบสาร procyanidins ในข้าวหอมนิล สายพันธุ์นี้ ซึ่งผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่า ข้าวหอมนิล แบบไร้เปลือกที่บริโภคโดยมนุษย์นั้นจะมีสารผสมของพฤกษเคมีหลากหลายชนิดอยู่จำนวนมากที่เอื้อต่อสุขภาพร่างกาย และช่วยเน้นย้ำให้ชัดเจนว่า ข้าวชนิดนี้สามารถนำมาใช้ในการบริโภคเป็นอาหารได้ (functional food)

ดวงกมล ลีมจันทร, วิษฐิดา จันทราพรชัย และวชัย หฤทัยธนาสันต์ (2555) ศึกษาการสกัดแอนโธไซยานินจากขาวเหนียวดำ โดยเริ่มจากการคัดเลือกปัจจัยที่มีผลต่อการสกัด โดยใช้การจัดการทดลองแบบแพลกเกต แอนด์ เบอร์แมน (Plackett and Burman design) 4 ปัจจัยคือ อัตราส่วนข้าวเหนียวดำต่อน้ำ อุณหภูมิ เวลา และการเขย่า พบว่าอุณหภูมิและการเขย่ามีผลต่อปริมาณแอนโธไซยานินทั้งหมดที่สกัดได้ อุณหภูมิและเวลามีผลต่อปริมาณของแข็งทั้งหมด จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดแอนโธไซยานินจากขาวเหนียวดำ โดยใช้การจัดการทดลองแบบแฟกทอเรียล 3x4 ด้วยแผนการทดลองแบบสุ่มตลอดโดยสมบูรณ (Complete

randomized design) ศึกษา 2 ปัจจัยคือ อุณหภูมิ (55 60 และ 65 องศาเซลเซียส) และเวลา (45 60 75 และ 90 นาที) วิเคราะห์ผลโดยวิธีการพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการสกัดคือ ที่อุณหภูมิ 62–65 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 67–75 นาที โดยใช้อัตราสวนขาวเหนียวดำต่อน้ำเท่ากับ 1 : 3 ด้วยเครื่องควบคุมอุณหภูมิแบบเขย่า (Shaking water bath)

1.2 ความสำคัญและที่มาของปัญหา

ในปัจจุบันเป็นที่ยอมรับทั่วไปในวงการแพทย์ว่า พยาธิสภาพ พยาธิวิทยา รวมถึงพยาธิสรีรวิทยาของการเกิดโรคหลายชนิด เช่น โรคในระบบหัวใจและหลอดเลือด หรือโรคมะเร็ง มีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับการเกิดอนุมูลอิสระในร่างกาย ดังนั้น การทำลายหรือควบคุมปริมาณอนุมูลอิสระดังกล่าวจะช่วยในการป้องกัน หรือรักษาโรคต่างๆ ที่เกิดขึ้น จากการศึกษาทางระบาดวิทยาจำนวนมากยืนยันถึงการลดอัตราเสี่ยงและเพิ่มอัตราการป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคเกี่ยวกับหลอดเลือดและหัวใจ รวมถึงโรคอื่น ๆ ที่มีความสัมพันธ์กับอนุมูลอิสระจากการบริโภคผักผลไม้ ซึ่งผลดังกล่าวมีความเกี่ยวข้องกับฤทธิ์ต้านอนุมูลของสารประเภทวิตามินซี เบต้าแคโรทีน (β-carotene) แคโรทีนอยด์ (carotenoids) รวมถึงสารกลุ่มโพลีฟีนอล (polyphenol) เช่น ฟลาโวนอยด์ (flavonoids) และฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoids) เป็นต้น โดยในปัจจุบันพบว่าสารประกอบในกลุ่มโพลีฟีนอลเป็นสารที่มีบทบาทสำคัญในการต้านอนุมูลอิสระ (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2549)

อนุมูลอิสระ (radical หรือ free radical) คือ อะตอม โมเลกุล หรือไอออนซึ่งมีอิเล็กตรอนเดี่ยวหรือการจัดเรียงเป็นเชลล์เปิด (open shell) อนุมูลอิสระอาจมีประจุเป็นบวก ลบ หรือเป็นศูนย์ก็ได้ ด้วยข้อยกเว้นบางประการ อิเล็กตรอนเดี่ยวเหล่านี้ทำให้อนุมูลอิสระว่องไวต่อการเกิดปฏิกิริยา อนุมูลอิสระมีบทบาทสำคัญในการสันดาปเคมี บรรยากาศ พอลิเมอไรเซชัน เคมีพลาสมา ชีวเคมี และกระบวนการทางเคมีอีกหลายอย่างในสิ่งมีชีวิต ซูเปอร์ออกไซด์ ไนตริกออกไซด์ และผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาข้างต้น เช่น ควบคุมการบีบตัวของหลอดเลือด ซึ่งควบคุมความดันโลหิตอีกต่อหนึ่ง นอกจากนี้อนุมูลอิสระยังมีบทบาทสำคัญในเมแทบอลิซึมตัวกลางของสารประกอบทางชีวภาพหลายชนิด อนุมูลอิสระเกิดขึ้นเป็นปกติจากปฏิกิริยาในร่างกายอยู่แล้ว โดยเฉพาะอย่างยิ่งเมื่อมีธาตุเหล็ก ทองแดง แมงกานีส โคบอลต์ โครเมียม นิกเกิลน้อย มักเกิดเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ โดยร่างกายจะมีระบบกำจัดอนุมูลอิสระ แต่หากร่างกายได้รับสารอนุมูลอิสระจากภายนอก เช่น ได้รับจากอาหารบางชนิด จากกระบวนการประกอบอาหาร เช่น การย่างเนื้อสัตว์ที่มีไขมันประกอบสูง การนำน้ำมันที่ใช้ทอดอาหารที่อุณหภูมิสูงๆ มาใช้อีก หรือจากสิ่งแวดล้อม เช่น แสงอาทิตย์ซึ่งมีรังสีอัลตราไวโอเลต การแผ่รังสี รังสีเอ็กซ์ หรือจากมลพิษ

เช่น ควันบุหรี่ ก๊าซคาร์บอนมอนออกไซด์จากไอเสียรถยนต์มากเกินไป หรือในภาวะที่ร่างกายสามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ลดลง ก็จะทำให้มีอนุมูลอิสระมากเกินไป เป็นสาเหตุของโรคภัยได้ อนุมูลอิสระที่มากเกินไปจะเป็นอันตรายต่อไขมัน (โดยเฉพาะไลโปโปรตีนความหนาแน่นต่ำ) โปรตีน หน่วยพันธุกรรม และคาร์โบไฮเดรต ทำให้เพิ่มอัตราการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหลายชนิด โรคที่สำคัญและมีการศึกษากันมาก ได้แก่ โรคหลอดเลือดตีบและแข็งตัว โรคมะเร็งบางชนิด โรคอัลไซเมอร์ โรคไขข้ออักเสบ โรคความแก่ เป็นต้น (วรพล เองวาณิช, 2555)

ข้าวมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* (Smith, 1998) ข้าวเป็นธัญพืชซึ่งประชากรโลกบริโภคเป็นอาหารสำคัญ จากข้อมูลเมื่อปี 2553 ข้าวเป็นธัญพืชซึ่งมีการปลูกมากเป็นอันดับสองของโลกรองจากข้าวโพด ข้าวเป็นธัญพืชสำคัญที่สุดในด้านโภชนาการและการได้รับแคลอรีของมนุษย์ เพราะข้าวโพดส่วนใหญ่ปลูกเพื่อจุดประสงค์อื่นมิใช่ให้มนุษย์บริโภค ทั้งนี้ ข้าวคิดเป็นพลังงานกว่าหนึ่งในห้าที่มนุษย์ทั่วโลกบริโภค หลักฐานพันธุศาสตร์แสดงว่าข้าวมาจากการนำมาปลูกเมื่อราว 8,200–13,500 ปีก่อน ในภูมิภาคหุบแม่น้ำจูเจียงของจีน ก่อนหน้านี้ หลักฐานโบราณคดีเสนอว่า ข้าวมีการนำมาปลูกในเขตหุบแม่น้ำแยงซีในจีน ข้าวแพร่กระจายจากเอเชียตะวันออกไปยังเอเชียตะวันออกเฉียงใต้และเอเชียใต้ ข้าวถูกนำมายังทวีปยุโรปผ่านเอเชียตะวันตก และทวีปอเมริกาผ่านการยึดอาณานิคมของยุโรป ปกติการปลูกข้าวเป็นแบบปีต่อปี ทว่าในเขตร้อนข้าวสามารถมีชีวิตอยู่ได้หลายปีและสามารถไว้ตอ (ratoon) ได้นานถึง 30 ปี ต้นข้าวสามารถโตได้ถึง 1–1.8 เมตร ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์และความอุดมสมบูรณ์ของดินเป็นหลัก มีใบเรียว ยาว 50–100 เซนติเมตร และกว้าง 2–2.5 เซนติเมตร ช่อดอกห้อยยาว 30-50 เซนติเมตร เมล็ดกินได้เป็นผลธัญพืชยาว 5–12 มิลลิเมตร และหนา 2–3 มิลลิเมตร (http://th.wikipedia.org, 2557) และข้าวที่นำมาศึกษาครั้งนี้คือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวก่ำ และข้าวหอมนิล ซึ่งคุณสมบัติเด่นทางด้านโภชนาการของข้าวไรซ์เบอร์รี่ คือ มีเบต้าแคโรทีน แกมมาโอไรซานอล วิตามินอี แทนนิน สังกะสี โฟเลต มีดัชนีน้ำตาลต่ำ-ปานกลาง นอกจากนี้รำข้าวและน้ำมันรำข้าวของข้าวไรซ์เบอร์รี่ยังเหมาะสำหรับใช้ทำผลิตภัณฑ์อาหารเชิงบำบัดอีกด้วย (http://dna.kps.ku.ac.th, 2009) ข้าวก่ำมีฤทธิ์เช่นเดียวกับวิตามินอีแต่คุณสมบัติดีกว่า ยังมีคุณสมบัติที่ดีต่อระบบการขับถ่าย และยังใช้เป็นยารักษาโรคตามภูมิปัญญาท้องถิ่น ทั้งอาการตกเลือดหลังคลอด โรคท้องร่วง และโรคผิวหนัง ข้าวหอมแดงมีวิตามินบี 1 ป้องกันโรคเหน็บชา วิตามินบี 2 ป้องกันโรคปากนกกระจอก วิตามินบี 6 ป้องกันเกี่ยวกับโรคผิวหนัง ไอโอดีนป้องกันโรคคอพอก ใยอาหารช่วยในการขับถ่าย และข้าวหอมนิลมีธาตุเหล็ก ซึ่งมีมากกว่าข้าวโดยทั่วไปถึง 7 เท่า ลดความเสี่ยงของโรคมะเร็ง ใยอาหารในข้าวหอมนิลยังช่วยลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อีกด้วย (www.ptikumpo. wordpress.com, 2011) ข้าวที่นำมาศึกษาในครั้งนี้คือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำ ซึ่งได้มาจากอำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ ซึ่งยังไม่พบหลักฐานใน

การศึกษาค้นคว้าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวที่มาจากพื้นที่นี้ และเพื่อให้มีการเปรียบเทียบความแตกต่างเกี่ยวกับฤทธิ์ดังกล่าวของเมล็ดข้าวที่มีสีอื่นๆ จึงสนใจที่จะนำข้าวหอมนิลมาทำการศึกษาควบคู่ไปด้วย เพื่อเป็นข้อมูลให้กับผู้บริโภคและเกษตรกรที่จะนำข้าวที่มีสีต่างๆ เหล่านั้นมาเป็นอีกทางเลือกในการนำมาบริโภคหรือเพาะปลูก และเพื่อให้การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีความน่าเชื่อถือมากขึ้น ผู้วิจัยจึงสนใจศึกษาฤทธิ์ดังกล่าวของข้าวทั้ง 3 ชนิดนี้เพื่อให้ได้ข้อมูลและกลไกที่ชัดเจนมากขึ้น โดยการหาปริมาณสารออกฤทธิ์ต่างๆ เช่น ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และปริมาณแอนโธไซยานิน รวมไปถึงการหาความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH ความสามารถในการให้อิเล็กตรอนด้วยวิธี FRAP assay เพื่อนำมาใช้เป็นหลักฐานทางวิทยาศาสตร์ที่ช่วยสนับสนุนการบริโภคซึ่งจะเป็นประโยชน์แก่อุตสาหกรรมต่างๆ ตลอดจนเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าของข้าว เพื่อการอนุรักษ์และการดำรงสายพันธุ์ของข้าวที่มีสีเหล่านี้สืบต่อไป นอกจากนี้ยังนำไปสู่การใช้อาหารเป็นยาเพื่อรักษาโรค หรืออาจใช้ในรูปของผลิตภัณฑ์เสริมอาหารต่างๆ ที่ได้จากสารสกัดธรรมชาติต่อไป

1.3 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาปริมาณสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารแอนโธไซยานินจากส่วนสกัดเอทานอลของข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอ
2. เพื่อวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของส่วนสกัดเอทานอลของข้าวทั้งสามชนิด
3. เพื่อศึกษาฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของส่วนสกัดเอทานอลของข้าวทั้งสามชนิด

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

นำข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอ ซึ่งได้มาจากเกษตรกรที่อำเภอเชียงดาว จังหวัดเชียงใหม่ นอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาข้าวหอมนิล และข้าวหอมแดงควบคู่ไปด้วย เพื่อเป็นข้อมูลให้กับผู้บริโภคและเกษตรกรที่จะนำข้าวที่มีสีต่างๆ เหล่านั้นมาเป็นอีกทางเลือกในการนำมาบริโภคหรือเพาะปลูก มาสกัดด้วยเอทานอล ทำการหาปริมาณสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารประกอบแอนโธไซยานินทั้งหมดจากส่วนสกัด จากนั้นนำสารที่สกัดได้ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ต้านการเกิดออกซิเดชันของไขมันซึ่งเป็นการทำในหลอดทดลอง

1.5 วิธีดำเนินการวิจัยโดยสรุป ทฤษฎี และ/หรือ แนวทางความคิดที่นำมาใช้ในการวิจัย

ประเทศไทยมีประเพณีการปลูกข้าวมาช้านาน มีที่ดินปลูกข้าวมากที่สุดเป็นอันดับที่ห้าของโลกและเป็นผู้ส่งออกข้าวอันดับหนึ่งของโลก ประเทศไทยวางแผนที่จะเพิ่มที่ดินเพื่อผลิตข้าวให้ได้มากยิ่งขึ้น โดยมีเป้าหมายที่จะเพิ่มพื้นที่ 500,000 เฮกตาร์ จากพื้นที่ปลูกข้าวที่มีอยู่แล้วเดิม 9.2 ล้านเฮกตาร์ กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ของไทยคาดว่าการผลิตข้าวจะให้ผลผลิตราว 30 ล้านตันในปี พ.ศ. 2551 ข้าวสายพันธุ์ที่ปลูกมากที่สุดในประเทศคือข้าวหอมมะลิซึ่งเป็นข้าวประเภทที่มีคุณภาพสูง อย่างไรก็ตาม ข้าวหอมมะลิให้ผลผลิตน้อยกว่าข้าวประเภทอื่นอย่างมาก แต่โดยปกติแล้วสามารถขายได้ราคามากกว่าสองเท่าของข้าวสายพันธุ์อื่นในตลาดโลก รัฐบาลไทยมีสิ่งจูงใจอย่างแข็งขันที่จะผลิตการผลิตข้าวและประสบความสำเร็จใน แผนการส่วนใหญ่ รัฐบาลได้ลงทุนในระบบชลประทาน สาธารณูปโภคพื้นฐาน และโครงการสนับสนุนข้าวอื่นๆ นโยบายเหล่านี้ช่วยทำให้ที่ดินปลูกข้าวเพิ่มขึ้นจาก 35 ล้านไร่ เป็น 59 ล้านไร่ในช่วง 20-30 ปีที่ผ่านมา ผลผลิตข้าวได้เพิ่มขึ้นเป็นสามเท่าในแง่ของผลผลิตข้าวเปลือกทั้งหมด การเพิ่มผลผลิตอย่างรวดเร็วนี้ส่วนใหญ่เนื่องมาจากการเพิ่มกำลังผลิตข้าวในภาคอีสานของประเทศ ขณะที่ในอดีต ภาคกลางเป็นผู้ผลิตข้าวรายหลัก ภาคอีสานได้ก้าวเข้ามามีปริมาณผลผลิตตามทันภาคกลางอย่างรวดเร็ว ซึ่งบางส่วนเป็นเพราะระบบถนนใหม่ระหว่างภาคอีสานและเมืองที่เน้นการขนส่งทางเรือตามชายฝั่ง สถาบันวิจัยข้าวนานาชาติ (IRRI) เองก็ได้เผยแพร่ความรู้ เทคโนโลยีของข้าวสายพันธุ์ใหม่ๆ และข้อมูลอื่นๆ แก่ผู้ผลิตข้าวในประเทศไทย ผลผลิตข้าวต่อหน่วยพื้นที่จึงเพิ่มขึ้นเกือบร้อยละ 50 ปัจจุบันมีสายพันธุ์ข้าวใหม่ๆ เกิดขึ้นมากมายโดยเฉพาะข้าวที่มีสีต่างๆ ซึ่งน่าจะทำให้ข้าวมีคุณค่าทางโภชนาการเพิ่มมากยิ่งขึ้น เช่น ข้าวไรซ์เบอร์รีเป็นพันธุ์ข้าวที่เกิดขึ้นภายใต้ความร่วมมือระหว่างศูนย์วิทยาศาตร์ข้าวและ คณะกรรมการกรมวิจัยแห่งชาติ ซึ่งร่วมกันวิจัยและปรับปรุงพันธุ์ขึ้นมาโดยใช้การผสมพันธุ์ข้าวระหว่างข้าวหอมนิลและข้าวหอมมะลิ 105 ทำให้ได้ข้าวพันธุ์ใหม่ที่มีลักษณะเด่นประจำสายพันธุ์ คือ เมล็ดข้าวจะมีสีม่วง มีลักษณะเรียวยาว และมีผิวที่มันวาว นอกจากนี้ยังสามารถปลูกได้ตลอดทั้งปี มีคุณสมบัติต้านทานต่อโรครากไหม้ และทนต่อสภาพธาตุเหล็กเป็นพิษในดินมีไส้เดือนเต็มไปหมด ทางภาคเหนือของประเทศไทยยังมีข้าวก่ำ ข้าวลืมผัว ทางภาคกลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีข้าวหอมแดง ข้าวหอมนิล เป็นต้น อย่างไรก็ตาม ข้อมูลเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันยังมีค่อนข้างจำกัด ซึ่งทำให้เกิดข้อกังขาได้ว่าการรับประทานข้าวที่มีสีต่างๆ รวมถึงผลิตภัณฑ์จากข้าวเหล่านี้เป็นประจำจะสามารถใช้เป็นยาเพื่อรักษาหรือเพื่อป้องกันภาวะที่จะนำไปสู่การเกิดโรคต่างๆ ได้หรือไม่ และในกรณีของผู้ป่วยโรคเรื้อรังหรือโรคที่เกิดจากความเสื่อมของเซลล์ (chronic degenerative diseases) เช่น โรคหลอดเลือดและหัวใจ โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง โรคอัลไซเมอร์ โรคต้อกระจก โรคไต เป็นต้น ข้าวที่มีสีต่างๆ เหล่านี้จะมีประสิทธิภาพในการป้องกันการเกิดกระบวนการดังกล่าวหรือไม่

นอกจากนี้ยังมีคำถามต่อไปว่าสารที่พบในข้าวเหล่านี้จะมีฤทธิ์ดังกล่าวหรือไม่เมื่อมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างทางเคมีซึ่งสารดังกล่าวอาจมีฤทธิ์ในการก่อโรคร้ายอื่นๆ ได้เช่นกัน ผู้วิจัยจึงต้องการที่จะทำการศึกษาความสามารถในการต่อต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันของข้าวมีสีดังกล่าวด้วย ผู้วิจัยจึงมีแนวคิดที่จะทดสอบสมมติฐานดังกล่าวซึ่งข้อมูลที่ได้จะนำมาใช้เพื่อเป็นหลักฐานสนับสนุนถึงความปลอดภัยและเห็นคุณค่าของการใช้พันธุ์ข้าวมีสีต่างๆ ในงานสาธารณสุขมูลฐาน เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับข้าวสายพันธุ์เหล่านี้ และยังช่วยส่งเสริมคุณค่าของผลิตภัณฑ์ในการที่จะเป็นสินค้าเพื่อสุขภาพในลำดับต่อไป

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.6.1 บริการความรู้แก่ประชาชน

องค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากการสกัดสารที่มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนท์ของส่วนสกัดเอทานอลจากข้าวที่มีสีต่างๆ จะสามารถนำไปเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนคุณค่าทางยาของข้าวเพื่อส่งเสริมให้มีการเพาะปลูกและอนุรักษ์พันธุ์ข้าวเพิ่มมากขึ้น โดยทำการเผยแพร่ผ่านสื่อต่างๆ เช่นรายการวิทยุเพื่อประชาชน การประชุมวิชาการและวารสารต่างๆ

1.6.2 บริการความรู้แก่ภาคธุรกิจและนำไปสู่การผลิตเชิงพาณิชย์

ข้าวที่มีสีต่างๆ เหล่านี้เป็นพืชที่มีศักยภาพต่อการพัฒนาในเชิงพาณิชย์ได้ เพราะมีการเจริญเติบโตได้เร็วเมื่อมีการเก็บเกี่ยว ขึ้นได้ทั่วไปในทุกภูมิภาคของประเทศ ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่ได้จะเป็นสิ่งยืนยันของประสิทธิภาพของข้าวเหล่านี้ หรืออาจจะถูกนำผสมในเครื่องสำอาง ส่งเสริมการขายให้กลุ่มวิสาหกิจชุมชน ทำให้ผู้ซื้อมีความมั่นใจในผลิตภัณฑ์มากขึ้น และผู้ผลิตสามารถขยายตลาดออกไปสู่วงกว้างมากขึ้น รวมทั้งการนำความรู้นี้ไปประยุกต์ใช้ทำยา เครื่องสำอาง และผลิตภัณฑ์เสริมอาหารอย่างอื่นได้อีก

นอกจากนี้สารที่มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนท์ของส่วนสกัดจากข้าวอาจเป็นสารชนิดใหม่และมีประสิทธิภาพดีกว่าสารแอนติออกซิแดนท์เดิมในอุตสาหกรรมอาหารและยา หลังจากจดสิทธิบัตรแล้วสามารถให้ข้อมูลแก่ภาคธุรกิจได้แก่ องค์การเภสัชกรรม หรือ บริษัทยา เป็นต้น เพื่อนำไปผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไป

1.6.3 เป็นประโยชน์ต่อประชากรกลุ่มเป้าหมายและประชากร

ประชากรทั่วไปของประเทศไทยโดยเฉพาะผู้สูงอายุที่มีความเสี่ยงที่จะเกิดโรคที่เกิดจากความเสื่อมและโรคที่เกิดจากอนุมูลอิสระกันมาก จะสามารถได้ใช้ยาที่มีคุณภาพมากกว่าเดิม และผลข้างเคียงน้อยลง นอกจากนี้ใน

โครงการวิจัยนี้เมื่อแล้วเสร็จ คาดว่าจะสามารถผลิตนักวิจัยรุ่นใหม่ภายใต้การศึกษาระดับบัณฑิตศึกษา จำนวนไม่น้อยกว่า 1 คน และเป็นโครงงานวิจัยย่อยแก่นิสิตระดับปริญญาตรีประมาณ 1 โครงงาน

หน่วยงานที่จะนำผลการวิจัยไปใช้ได้แก่ สถาบันการศึกษาวิจัย ทั้งในด้านชีวเคมี เภสัชเคมี เช่น คณะวิทยาศาสตร์ คณะเภสัชศาสตร์ ในการนำผลการศึกษาไปศึกษาต่อยอด และองค์การเภสัชกรรม หรือหน่วยงานบริษัทอุตสาหกรรมยา ในการนำไปพัฒนาเป็นสูตรยาและชุมชน และประชาชนมีหลักฐานทางวิทยาศาสตร์รองรับการใช้

1.6.4 เป็นองค์ความรู้ในการวิจัยต่อไป

องค์ความรู้ใหม่ที่ได้จากการสกัดสารที่มีฤทธิ์แอนติออกซิแดนท์ของส่วนสกัดจากข้าวที่มีสีต่างๆ จะสามารถนำไปเป็นข้อมูลทางวิทยาศาสตร์ที่สนับสนุนคุณค่าทางยาของข้าว หรือผลิตภัณฑ์เสริมอาหารที่ได้จากข้าวสายพันธุ์เหล่านี้ และนำข้อมูลที่ได้จดองค์ความรู้ที่ได้ในรูปสิทธิบัตรได้ ทำให้องค์ความรู้นี้เป็นของประเทศไทย และยังสามารถตีพิมพ์เผยแพร่ผลงานทางวารสารวิชาการเป็นการสร้างชื่อเสียงให้แก่ประเทศไทย นอกจากนี้สามารถใช้ข้อมูลที่ได้รับจากงานวิจัยไปเป็นพื้นฐานและองค์ความรู้ที่สามารถนำไปต่อยอด และผลิตเป็นยาชนิดใหม่ได้

บทที่ 2

วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

2.1.1 ชุดเครื่องแก้วและเครื่องมือมาตรฐาน

1. Air oven incubator (Bindea, Germany)
2. ปิเปตอัตโนมัติขนาด 0.5-10, 10-100, 20-200 และ 100-1000 ไมโครลิตร (Labnet, USA)
3. Blender (Electrolux, China)
4. Chromatography paper number 1 (Whatman, UK)
5. Flask evaporating pear shape (Schott, Germany)
6. Freeze-dryer (GAST, USA)
7. Microplate reader (Versa max, USA)
8. Rotary evaporator (EYELA, Japan)
9. Separating funnel (Witeg, Germany)
10. Vacuum pump (GAST Mfg., USA)
11. 96 well microplate (Costar, USA)
12. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) รุ่น 713 pH Meter (Metrohm, ประเทศสาธารณรัฐฝรั่งเศส)
13. คิวเวตต์ควอทซ์ (quartz cuvette) ขนาด 0.7 และ 1.4 มิลลิลิตร
14. หลอดไมโครเซนติฟิวจ์ ขนาด 1.5 มิลลิลิตร
15. หลอดเซนตริฟิวจ์ ขนาด 15 และ 50 มิลลิลิตร
16. โหลแช่สาร

2.1.2 สารเคมี

1. Ascorbic acid (APS, Australia)
2. Dimethyl sulfoxide (DMSO) (Merck, Germany)
3. Distilled water

4. Ethanol (Merck, Germany)

5. Hexane (Honey Well B&J, USA)

6. Methanol (Honey Well B&J, USA)

7. 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) (Sigma, Germany)

8. Acetic acid (Carlo erba, Germany)

9. Ferrous sulphate (Lobachemie, India)

10. Folin-Ciocalteu's reagent (Carlo erba, Germany)

11. Hydrochloric acid (Merck, Germany)

12. Silica gel size 0.040-0.063 mm. (Merck, Germany)

13. Sodium carbonate (Carlo erba, Germany)

14. 2,4,6-Tripyridyl-s-triazine (TPTZ) (Sigma, Germany)

15. TLC silica gel 60 F_{254} aluminium sheet 20×20 cm. (Merck, Germany)

16. Isooctane (MERCK, ประเทศสหพันธ์สาธารณรัฐเยอรมนี)

17. Malondialdehyde bis(dimethyl acetal) (MDA) (MERCK, Germany)

18. Methyl alcohol absolute (Burdick and Jackson, Korea)

19. *p*-anisidine (MERCK, China)

20. Potassium chloride (Carlo erba, Germany)

21. Quercetin (Sigma, Germany)

22. Sodium acetate (Carlo erba, Germany)

23. Sodium carbonate (Carlo erba, Germany)

24. Sodium nitrite (Univar, Austria)

25. Trichloroacetic acid (Panreac, EU)

26. Tween 20 (Acros Organics, USA)

27. น้ำมันถั่วเหลืองตราองุ่น (บริษัทน้ำมันพืชไทยจำกัด (มหาชน) ประเทศไทย)

2.2 ตัวอย่างเมล็ดข้าว

เมล็ดข้าวที่ใช้มี 3 ชนิด คือ ข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอ โดยข้าวกล้องหอมนิลกับข้าวก่ำดอยมูเซอซื้อมาจากซูเปอร์มาร์เก็ต ในจังหวัดชลบุรี และข้าวไรซ์เบอร์รี่ ซื้อมาจากร้านค้าในจังหวัดชลบุรี โดยข้าวกล้องหอมนิลมาจากบริษัทบางกอกตลาดข้าวไทย จำกัด ข้าวก่ำมาจากอำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ และข้าวไรซ์เบอร์รี่มาจากอำเภอท่าวุ้ง จังหวัดลพบุรี

2.3 การเตรียมตัวอย่าง

ทำการบดตัวอย่างข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียด ทำการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสอีกครั้ง ส่วนเมล็ดข้าวก่ำก็ได้รับมาเป็นข้าวเปลือกเช่นกันจึงนำมาทำการตำ แล้วแยกเปลือกออก จากนั้นนำเมล็ดข้าวก่ำมาทำการบดด้วยเครื่องปั่นให้ละเอียด แล้วอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นำผ้าขาวบางหุ้มเมล็ดข้าวทุกชนิดที่ทำการบดแล้วน้ำหนัก 300 กรัม นำไปแช่ในเฮกเซนปริมาตร 1,500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 วัน (เขย่าสารสกัดทุกวัน) เพื่อดึงไขมันออก

2.4 การสกัดสารตัวอย่าง

นำกากของส่วนที่ดึงไขมันออกด้วยเฮกเซนมาสกัดด้วยเอทานอลปริมาตร 1,500 มิลลิลิตร จากนั้นนำสารสกัดทั้งสองส่วนมาระเหยแห้งด้วยเครื่อง rotary evaporator เนื่องจากสารสกัดยังไม่แห้ง อีกทั้งในส่วนสกัดของเฮกเซนซึ่งเป็นตัวทำละลายที่ไม่มีขั้วจึงทำให้มีส่วนสกัดของน้ำมันติดออกมาด้วย เพื่อให้สารสกัดแห้งสนิทจึงต้องทำการระเหยด้วยเครื่องดูดความชื้นสุญญากาศ (vacuum) อย่างไรก็ตามในส่วนสกัดของเฮกเซนก็ยังมีส่วนของน้ำมันปะปนอยู่จึงไม่สามารถทำให้สารสกัดแห้งสนิทได้ เก็บสารสกัดไว้ที่ -20 องศาเซลเซียส เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระต่อไป

2.5 การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลทั้งหมด

นำตัวอย่าง 0.5 มิลลิลิตร ผสมกับน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร และ Folin-Ciocalteu reagent ที่เจือจางในน้ำกลั่น (1:5) 1 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที จากนั้นเติม 10% Na_2CO_3 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 725 นาโนเมตร ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดถูกแสดงเป็นมิลลิกรัมของ gallic acid equivalent (GAE) ต่อกรัมของสารสกัด

2.6 การหาปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Bozin และคณะ, 2008)

นำสารสกัดจากพืชสมุนไพรมาเจือจางผสมกับ 2% $AlCl_3$ 1ml x $6H_2O$ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที แล้ววัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 430 นาโนเมตรปริมาณฟลาโวนอยด์แสดงเป็นไมโครกรัมของ quercetin equivalent (QE) ต่อกรัมของสารสกัด

2.7 การหาปริมาณแอนโธไซยานินรวมโดยใช้วิธี differential method

ดัดแปลงจาก Shafazila et al. (2010) โดยทำการเตรียมบัฟเฟอร์ pH 1.0 ด้วย 0.025 โมลาร์ โปแทศเซียมคลอไรด์ และบัฟเฟอร์ pH 4.5 ด้วย 0.4 โมลาร์โซเดียมอะซิเตท จากนั้นนำสารสกัดจากข้าวสายพันธุ์ต่างๆ มาละลายด้วย DMSO ให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายตัวอย่างปริมาตร 500 ไมโครลิตร และปรับปริมาตรด้วยบัฟเฟอร์ให้ได้ 1 มิลลิลิตร หรือมีอัตราส่วนของสารละลายตัวอย่าง : บัฟเฟอร์ = 1:1 นำสารละลายที่เตรียมไว้ไปเขย่า และวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 510 นาโนเมตรและ700 นาโนเมตรนำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาปริมาณแอนโธไซยานิน ซึ่งรายงานผลในรูปของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ คำนวณจากสูตร A = $(A510\text{-}A700)_{pH1.0} - (A510\text{-}A700)_{pH4.5}$

$$\text{TA content} = (A \times Mw \times \text{dilution factor} \times 100)/(\varepsilon)$$

โดยที่: Mw = 449.2 g mol, ε =26,900 $M^{-1}cm^{-1}$

2.8 การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

2.8.1 การทดสอบ DPPH scavenging activity ตามวิธีของ Brand-Williams, Cuvelier และ Berset (1995)

นำตัวอย่าง 40 μL มาผสมกับ $6 \cdot 10^{-5}$ mol/L DPPH ในเมทานอล 3.92 ml บ่มเป็นเวลา 60 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงทันทีที่ 515 nmใช้เมทานอลเป็นตัวควบคุม%scavenging คำนวณจากสูตร $[(A_{C(0)}\text{-}A_{A(t)}) / A_{C(0)}] \times 100$ โดยที่ $A_{C(0)}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุมที่ 0 นาที ส่วน $A_{A(t)}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างหลังจากบ่มครบ 60 นาที

2.8.2 การทดสอบ FRAP assay ตามวิธีของ Benzie และ Strain (1996)

เตรียมสารละลาย FRAP reagent (10 mmol/L TPTZ (2,4,6-tripyridy-S-triazine solution 2.5 ml ละลายใน 40 mmol/L HCl + 20 mmol/L $FeCl_3$ 2.5 ml + 0.3 mol/L acetate buffer, pH 3.6 25 ml)

จากนั้นนำไปอุ่นที่ 37^0C จากนั้นแบ่งตัวอย่างมา 40 µL เติมน้ำกลั่น 0.2 ml แล้วเติม FRAP reagent 1.8 ml นำไปบ่มที่ 37^0C เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 593 nm โดยใช้ 1 mmol/L $FeSO_4$ เป็นสารมาตรฐาน ผลที่ได้แสดงเป็นปริมาณของสารตัวอย่างที่สามารถรีดิวซ์ Fe^{3+} ไปเป็น Fe^{2+}

2.9 การทดสอบความสามารถในการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

ชั่งส่วนสกัดข้าวทั้ง 4 ชนิด มาตัวอย่างละ 0.003, 0.03, 0.3, 1.5 กรัม ตามลำดับ ในขวดรูปชมพู่ แล้วเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ 30 มิลลิลิตร น้ำมันพืช 1 มิลลิลิตร และ tween20 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มที่ 60 องศาเซลเซียส 1 ชั่วโมง แบ่งสารละลายใส่ eppendorf tube 200 ไมโครลิตร เติม TBA reagent 400 ไมโครลิตร เติม 50 มิลลิโมลาร์ BHT 6 ไมโครลิตร แล้วผสมให้เข้ากันด้วย vortex นำไปต้มที่ 95 องศาเซลเซียส 15 นาที แล้วนำไปตั้งให้เย็นบนน้ำแข็ง 30 นาที นำไปเซนทริฟิวจ์ที่ 3,000 rpm 10 นาที ดูดส่วนใสใส่หลอดใหม่แล้วนำไปเซนทริฟิวจ์ที่ 3,000 rpm 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 532 นาโนเมตร นำสารละลายพืชบ่มต่ออีก 72 ชั่วโมง แล้วนำมาทำต่อตามวิธีเดิม คำนวณค่า TBARS จากกราฟมาตรฐาน (0-250 ไมโครโมลาร์) ของมาลอนไดอัลดีไฮด์ ซึ่งค่า TBARS ที่คำนวณได้มีหน่วยเป็นไมโครโมลาร์ของมาลอนไดอัลดีไฮด์ต่อกรัมของตัวอย่าง

2.9 การวิเคราะห์ผล

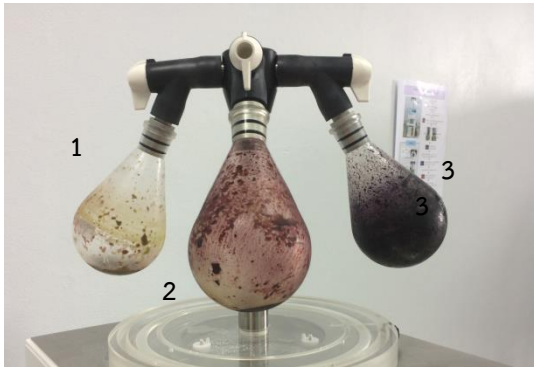
ข้อมูลที่ได้แสดงในรูปค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลองอย่างน้อย 3 ครั้งที่เป็นอิสระต่อกัน และการทดลองแต่ละครั้งทำ 3 ซ้ำ คำนวณหา EC_{50} ของการยับยั้งโดยการวิเคราะห์แบบถดถอย ข้อมูลการทดลองที่ได้จะถูกนำมาวิเคราะห์โดยคำนวณจากค่าเฉลี่ยของข้อมูลจากแต่ละสภาวะ โดยเปรียบเทียบแบบ Student's *t*-test หรือ one way ANOVA ($P<0.05$) ด้วยโปรแกรม Minitab เวอร์ชัน 18

บทที่ 3

ผลการวิจัย

3.1 การเตรียมสารสกัดจากพืช

จากการนำผงข้าวกล้องหอมนิลที่มีสีม่วง ข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่มีสีม่วงอ่อน และข้าวก่ำดอยมูเซอที่มีสีม่วงเข้ม มาอย่างละ 200 กรัมมาทำการสกัดด้วยเอทานอลในอัตราส่วน 1:10 และนำไประเหยแห้ง จะได้น้ำหนักสารสกัดและ %yield ของสารสกัดข้าวแต่ละชนิดดังตารางที่ 3-1 โดยสารสกัดเอทานอลจากข้าวกล้องหอมนิลมีสีม่วงและมีความมัน ได้น้ำหนักสารสกัดและ %yield เท่ากับ 8.67 กรัมและ 4.34% ตามลำดับ สารสกัดเอทานอลจากข้าวไรซ์เบอร์รี่มีสีม่วงอ่อนและมีสีเขียวปนและมีความมัน จะได้น้ำหนักสารสกัดและ %yield มากที่สุด คือ 9.29 กรัม และ 4.65% ตามลำดับ และสารสกัดเอทานอลจากข้าวก่ำ-ดอยมูเซอมีสีม่วงเข้ม มีลักษณะเหนียว มีความมัน ได้น้ำหนักสารสกัดและ %yield เท่ากับ 8.12 กรัมและ 4.06% ตามลำดับ ลักษณะของสารสกัดข้าวแต่ละชนิด ดังรูปที่ 3-1



รูปที่ 3-1 ลักษณะของสารสกัดข้าวกล้องหอมนิล (หมายเลข 2) สารสกัดข้าวไรซ์เบอร์รี่ (หมายเลข 1) และสารสกัดข้าวก่ำดอยมูเซอ (หมายเลข 3)

ตารางที่ 3-1 น้ำหนักของสารสกัดและ %Yield ของสารสกัดข้าวแต่ละชนิด

ตัวอย่างข้าวสีม่วงต่างๆ	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	น้ำหนักของสารสกัด (กรัม)	%yield
ข้าวกล้องหอมนิล	200	8.67	4.34
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	200	9.29	4.65
ข้าวก่ำดอยมูเซอ	200	8.12	4.06

3.2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม

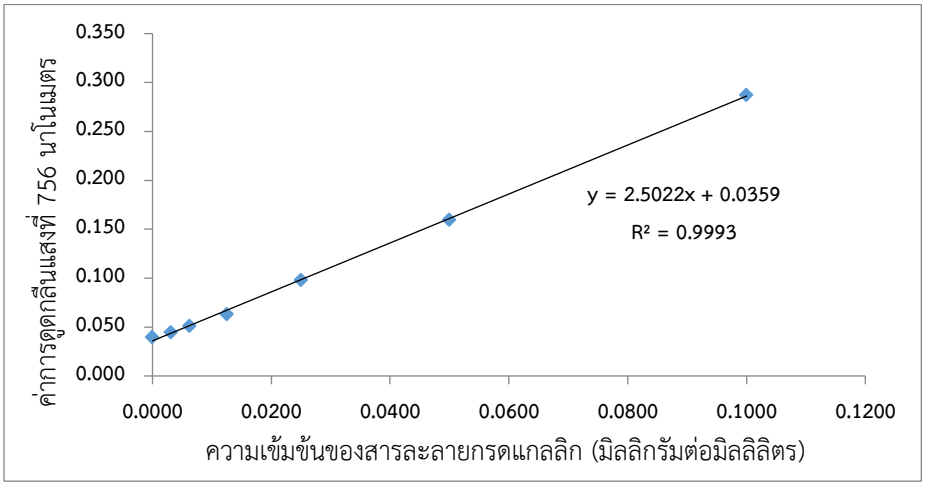
การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดเอทานอลจากข้าวแต่ละชนิด พบว่าข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงที่สุด คือ 45.48±0.07 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมาคือ ข้าวกล้องหอมนิลและข้าวไรซ์เบอร์รี่ ซึ่งมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมเท่ากับ 8.61±0.09 และ 5.91±0.14 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ (ตารางที่ 3-2) โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดข้าวที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมนั้นสามารถคำนวณได้จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก (รูปที่ 3-2) สมการเส้นตรงที่ได้ คือ y = 2.5022x + 0.0359 และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9993

ตารางที่ 3-2 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิด

ตัวอย่างสารสกัดข้าว	ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด)
ข้าวกล้องหอมนิล	8.61±0.09[b]
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	5.91±0.14[a]
ข้าวก่ำดอยมูเซอ	45.48±0.07[c]

หมายเหตุ: ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[a, b, c] แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



รูปที่ 3-2 กราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิกในการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดเอทานอลจากข้าวทั้งสามชนิด

3.3 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

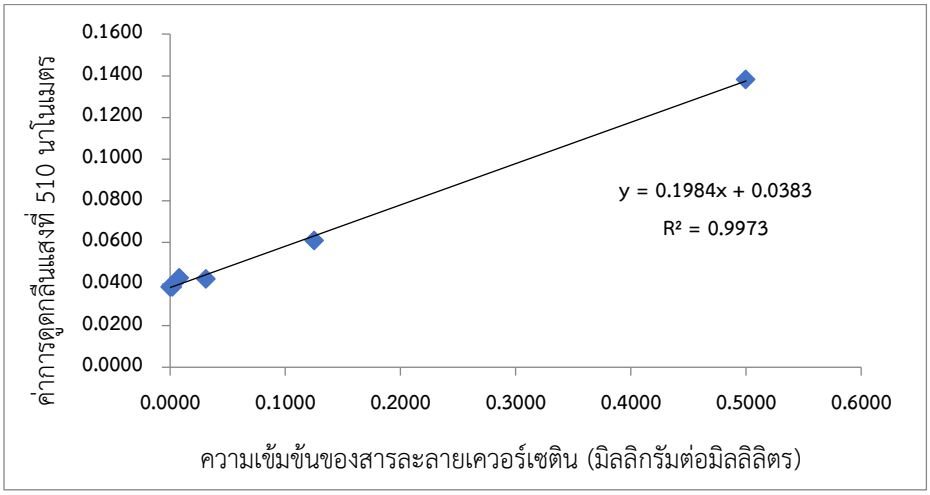
การทดสอบหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดเอทานอลจากข้าวแต่ละชนิด พบว่าข้าวก่ำ-ดอยมูเซอมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด คือ 323.08±0.50 มิลลิกรัมสมมูลของเควอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมาคือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวกล้องหอมนิล ซึ่งมีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมเท่ากับ 82.83±0.29 และ 55.11±0.29 มิลลิกรัมสมมูลของเควอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ (ตารางที่ 3-3) โดยใช้ความเข้มข้นของสารสกัดข้าวที่ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมนั้นสามารถคำนวณได้จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐานของสารละลายเควอร์เซติน (รูปที่ 3-3) สมการเส้นตรงที่ได้ คือ y = 0.1984x + 0.0383 และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.9973

ตารางที่ 3-3 ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิด

ตัวอย่างสารสกัดข้าว	ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (มิลลิกรัมสมมูลของเควอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด)
ข้าวกล้องหอมนิล	55.11±0.29[a]
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	82.83±0.29[b]
ข้าวก่ำดอยมูเซอ	323.08±0.50[c]

หมายเหตุ: ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[a, b, c] แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



รูปที่ 3-3 กราฟมาตรฐานของสารละลายเควอร์เซตินในการหาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดเอทานอลจากข้าวทั้งสามชนิด

3.4 ปริมาณแอนโธไซยานิน

จากการทดสอบหาปริมาณแอนโธไซยานินของสารสกัดเอทานอลจากข้าวทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร จะพบว่าข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณแอนโธไซยานินสูงที่สุด คือ 1908.01±5.79มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมาคือ ข้าวกล้องหอมนิลและข้าวไรซ์เบอร์รี่ ซึ่งมีปริมาณแอนโธไซยานินเท่ากับ 96.41±1.68 และ 31.06±0.88 มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ (ตารางที่ 3-4)

ตารางที่ 3-4 ปริมาณแอนโธไซยานินของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิด

ตัวอย่างสารสกัดข้าว	ปริมาณแอนโธไซยานิน (มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัมของส่วนสกัด)
ข้าวกล้องหอมนิล	96.41±1.68[b]
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	31.06±0.88[a]
ข้าวก่ำดอยมูเซอ	1908.01±5.79[c]

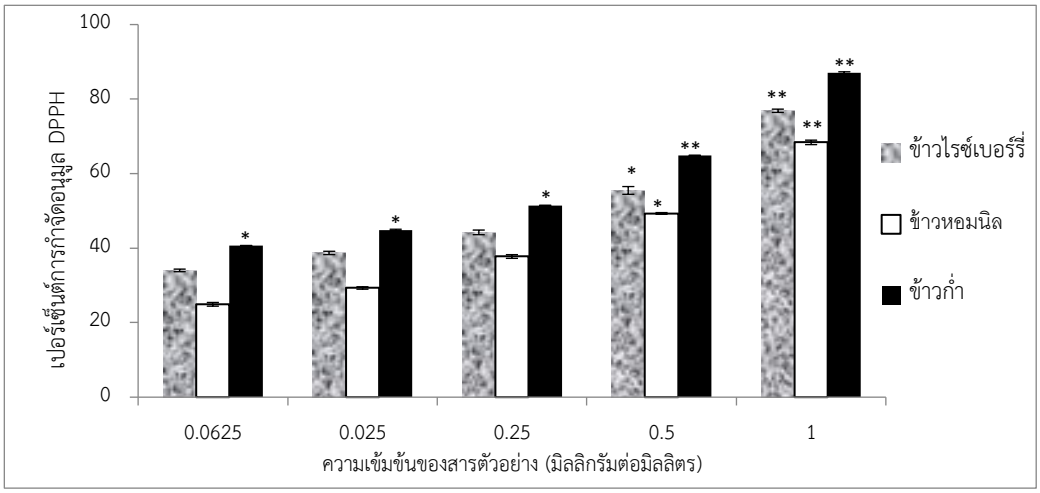
หมายเหตุ: ข้อมูลที่แสดงเป็นค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานของการทดลอง 3 ซ้ำ

[a, b, c] แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3.5 ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH

รูปที่ 3-4 แสดงให้เห็นถึงการทดสอบฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH ของเมล็ดข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวหอมนิล และข้าวก่ำที่ความเข้มข้น 0.0625-1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรพบว่าในส่วนสกัดเอทานอลของข้าวก่ำมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH มากที่สุดที่ความเข้มข้นสูงสุดที่ใช้ในการศึกษา (1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) คือ 87.03±0.28% ยิ่งไปกว่านั้นยังพบว่าส่วนสกัดเอทานอลมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH เพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของสารตัวอย่าง

ส่วนค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH (ตารางที่ 3-5) ในส่วนสกัดเอทานอลของเมล็ดข้าว พบว่าเมล็ดข้าวหอมนิลมีค่า EC_{50} มากที่สุดคือ 0.57±0.0002 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และพบว่าเมล็ดข้าวก่ำมีค่า EC_{50} น้อยที่สุด คือ 0.23±0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เมื่อเปรียบเทียบกับเมล็ดข้าวชนิดอื่นในส่วนสกัดชนิดเดียวกัน แต่อย่างไรก็ตาม จะเห็นว่า ฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH ก็ยังดีไม่เทียบเท่ากับสาร BHT ที่ใช้เป็นตัวควบคุมเชิงบวกซึ่งมีค่า EC_{50} เท่ากับ 0.045±0.0007 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร



รูปที่ 3-4 ฤทธิ์การกำจัดอนุมูล DPPH ในส่วนสกัดของเอทานอลของตัวอย่างเมล็ดข้าว

*, ** แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

ตารางที่ 3-5 ค่า EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH ในส่วนสกัดเอทานอลของตัวอย่างเมล็ดข้าว

ตัวอย่าง	EC_{50} ของการกำจัดอนุมูล DPPH (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	0.39 ± 0.003^{a}
ข้าวหอมนิล	0.57 ± 0.0002^{b}
ข้าวก่ำดอยมูเซอ	0.23 ± 0.001^{a}
สารละลายบีเอชที	0.045 ± 0.0007^{c}

$^{a, b, c}$ แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

3.6 ความสามารถในรีดิวซ์เหล็กของสารสกัด

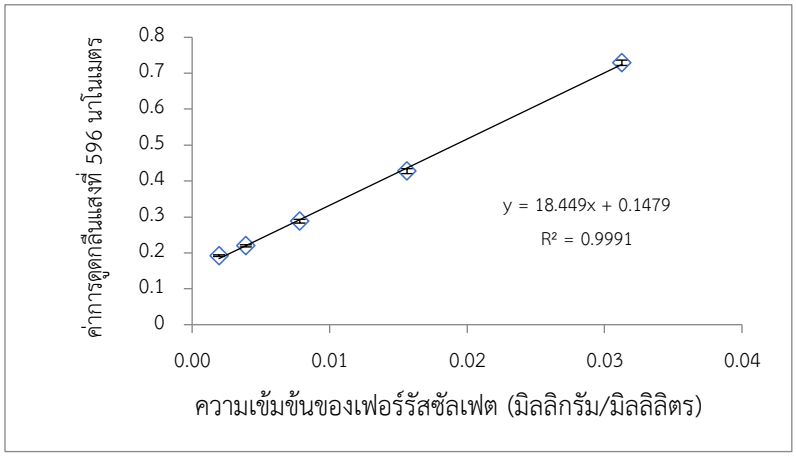
จากการวิเคราะห์ความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารสกัดเมล็ดข้าวทั้ง 3 ชนิด โดยเลือกที่ความเข้มข้นที่ 0.25 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ในส่วนสกัดเอทานอลพบว่าข้าวก่ำมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด รองลงมาคือ ข้าวหอมนิล และข้าวไรซ์เบอร์รี่ (32.03±0.001 23.96±0.003 และ 4.49±0.004 มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟตต่อกรัมส่วนสกัด ตามลำดับ) (ตารางที่ 3-6) ซึ่งการหาความสามารถใน

การรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิด คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟตคือ y = 18.44x + 0.147 และมีค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์เท่ากับ 0.999 (รูปที่ 3-5)

ตารางที่ 3-6 ค่า FRAP value ในส่วนสกัดเฮกเซนและเอทานอลของสารสกัดเมล็ดข้าว

ตัวอย่าง	FRAP value (มิลลิกรัมสมมูลเฟอร์รัสซัลเฟต/กรัมของส่วนสกัด)
ข้าวไรซ์เบอร์รี่	4.49±0.004[a]
ข้าวหอมนิล	23.96±0.003[b]
ข้าวก่ำ	32.03±0.001[c]

[a, b, c] แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



รูปที่ 3-5 กราฟมาตรฐานของสารละลายเฟอร์รัสซัลเฟต

3.7 การวิเคราะห์ค่า Thiobarbituric acid reactive substances (TBARS หรือ TBARS value)

ผลที่ได้จากการวิเคราะห์หาปริมาณทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวทั้ง 3 ชนิด พบว่าที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ข้าวก่ำมีปริมาณทีบาร์สูงถึง 15.9299±0.0649 ไมโครโมลาร์ ในขณะที่ข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวกล้องหอมนิลมีปริมาณทีบาร์เพียง 0.6122±0.0368 และ 1.3164±0.0241 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3-7 และรูปที่ 3-6) จากการวิเคราะห์หาปริมาณทีบาร์จะพบว่าน้ำมันถั่วเหลืองที่บ่มไว้ 50-55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะเกิดทีบาร์เพิ่มขึ้นสังเกตได้จากปริมาณทีบาร์ที่เกิดขึ้นในชุดควบคุม

และเมื่อทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเกิดทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวทั้ง 3 ชนิด เมื่อใส่สารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง พบว่าที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเอทานอลของข้าวกล้องหอมนิลสามารถยับยั้งการเกิดทีบาร์ได้ถึง 67.79% ส่วนข้าวไรซ์เบอร์รี่ยับยั้งได้ 50.84% ในขณะที่ข้าวก่ำดอยมูเซอยับยั้งได้เพียง 6.31% (ตารางที่ 3-8 และรูปที่ 3-8) โดยปริมาณทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวทั้ง 3 ชนิดมีค่าลดลงสังเกตได้จากปริมาณทีบาร์ของชุดควบคุมที่มีค่าเท่ากับ 0.4125±0.0092 ไมโครโมลาร์ ซึ่งข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณทีบาร์ลดลงมาจนเหลือ 0.1329±0.0078 0.2028±0.0131 และ 0.3865±0.0076 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3-8 และรูปที่ 3-7) และจากรูปที่ 3-7 พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้น ข้าวกล้องหอมนิลจะมีปริมาณทีบาร์ลดลง แต่ที่ความเข้มข้นสูงสุด คือ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรข้าวกล้องหอมนิลกลับมีปริมาณทีบาร์สูงขึ้น ส่วนข้าวไรซ์เบอร์รี่ ปริมาณทีบาร์มีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นสูงขึ้น ในขณะที่ข้าวก่ำดอยมูเซอกลับมีปริมาณทีบาร์เพิ่มขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้น และเมื่อเทียบกับชุดควบคุม พบว่าข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอทุกความเข้มข้นมีปริมาณทีบาร์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$)

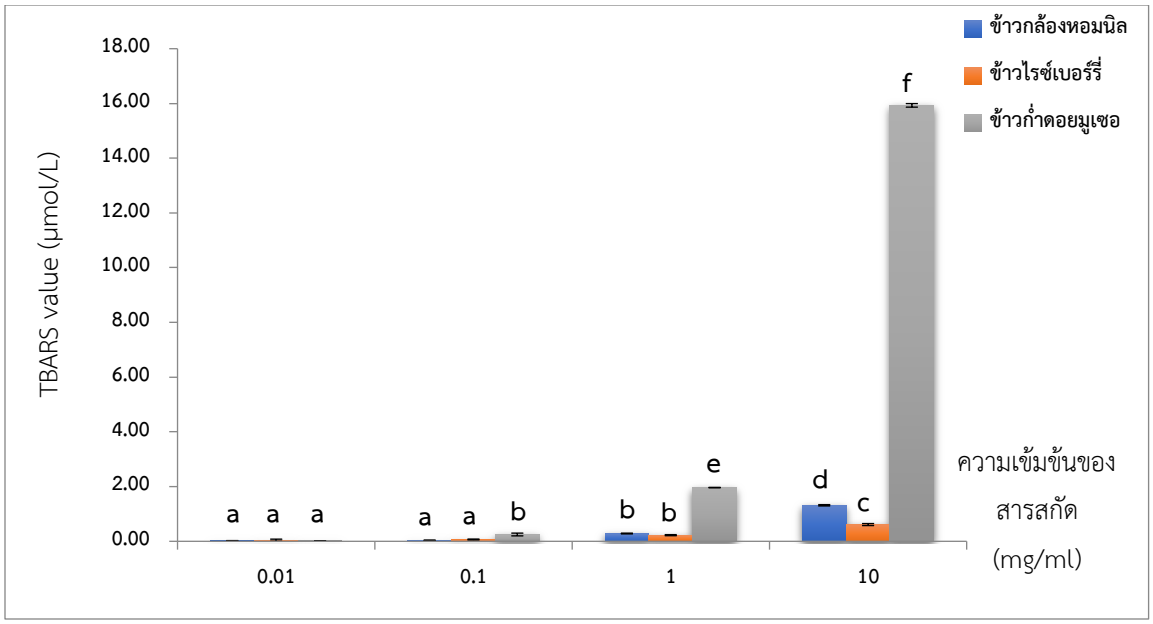
และในการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งการเกิดทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวทั้ง 3 ชนิด เมื่อใส่สารสกัดลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง พบว่าที่ความเข้มข้น 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดเอทานอลของข้าวไรซ์เบอร์รี่สามารถยับยั้งการเกิดทีบาร์ได้มากที่สุด คือ 50.13% รองลงมา คือ ข้าวกล้องหอมนิลที่ยับยั้งทีบาร์ได้ 41.30% ส่วนข้าวก่ำดอยมูเซอยับยั้งได้เพียง 1.80% (ตารางที่ 3-9 และรูปที่ 3-10) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณทีบาร์ที่เกิดขึ้นของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิดกับชุดควบคุม จะพบว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวกล้องหอมนิลและข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณทีบาร์ค่าลดลงจาก 0.9024±0.0078 ไมโครโมลาร์ (ชุดควบคุม) เป็น 0.4500±0.0026 0.5298±0.0087 และ 0.8862±0.0070 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ (ตารางที่ 3-9 และรูปที่ 3-9) และจากรูปที่ 3-9 จะพบว่า ข้าวกล้องหอมนิลมีปริมาณทีบาร์เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นเพิ่มขึ้น ส่วนข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ความเข้มข้น 0.001 และ 0.01 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณทีบาร์ไม่แตกต่างกัน แต่ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น ปริมาณทีบาร์มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น ในขณะที่ข้าวก่ำดอยมูเซอที่ความเข้มข้นต่างๆ มีปริมาณทีบาร์ไม่แตกต่างกัน แต่ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรกลับมีปริมาณทีบาร์เพิ่มสูงขึ้น และเมื่อเทียบกับชุดควบคุม จะพบว่าข้าวก่ำดอยมูเซอที่ความเข้มข้นสูงสุด มีปริมาณทีบาร์สูงกว่าชุดควบคุม และเมื่อเทียบกับชุดควบคุม พบว่าข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ทุกความเข้มข้นมีปริมาณทีบาร์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ในขณะที่ข้าวก่ำดอยมูเซอที่ความเข้มข้น 0.001 0.01

และ 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรมีปริมาณทีบาร์ลดลง แต่ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณทีบาร์สูงกว่าในชุดควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

ตารางที่ 3-7 ปริมาณทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิด

ตัวอย่างสารสกัดข้าว	ปริมาณของทีบาร์ (ไมโครโมลาร์)
ชุดควบคุม	0
ข้าวกล้องหอมนิล 0.01 mg/ml	0.0172±0.0099[a]
ข้าวกล้องหอมนิล 0.1 mg/ml	0.0362±0.0026[a]
ข้าวกล้องหอมนิล 1 mg/ml	0.2852±0.0142[b]
ข้าวกล้องหอมนิล 10 mg/ml	1.3164±0.0241[d]
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.01 mg/ml	0.0432±0.0371[a]
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.1 mg/ml	0.0645±0.0180[a]
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 mg/ml	0.2246±0.0200[b]
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 10 mg/ml	0.6122±0.0368[c]
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 0.01 mg/ml	0.0143±0.0061[a]
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 0.1 mg/ml	0.2488±0.0511[b]
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 1 mg/ml	1.9629±0.0079[e]
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 10 mg/ml	15.9299±0.0649[f]

[a, b, c, d, e, f] แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P<0.05)



รูปที่ 3-6 ปริมาณทีบาร์ของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิด

$^{a, b, c, d, e, f}$ แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

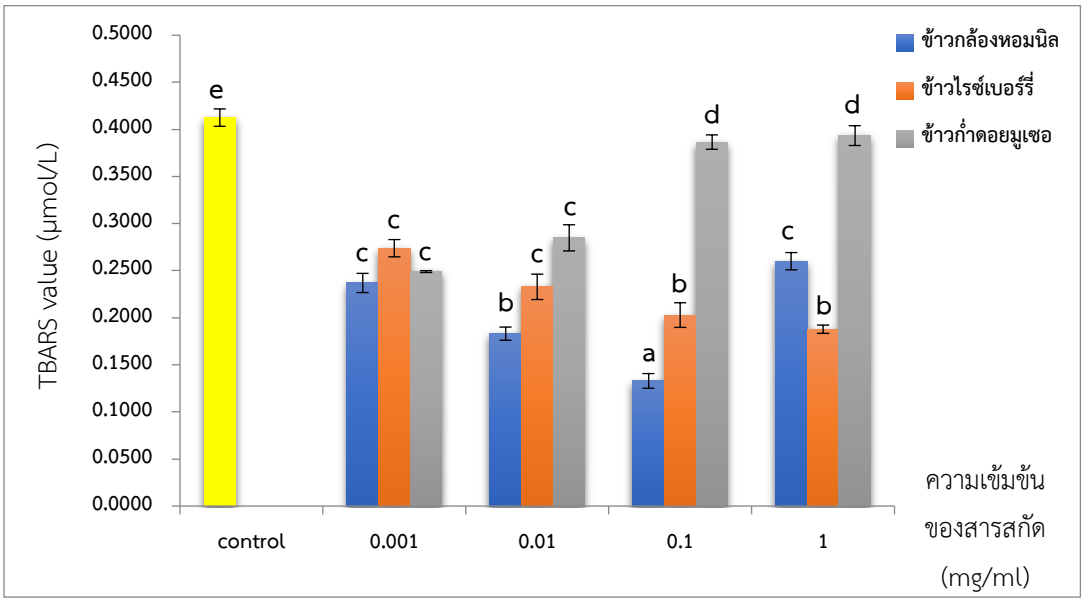
ตารางที่ 3-8 ปริมาณของทีบาร์และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิดเมื่อใส่สารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง

ตัวอย่างสารสกัดข้าว	ปริมาณของทีบาร์ (ไมโครโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์
ชุดควบคุม	0.4125±0.0092	0
ข้าวกล้องหอมนิล 0.001 mg/ml	0.2369±0.0102^{c}	42.5800±2.4618^{B}
ข้าวกล้องหอมนิล 0.01 mg/ml	0.1831±0.0070^{b}	55.6046±1.6980^{C}
ข้าวกล้องหอมนิล 0.1 mg/ml	0.1329±0.0078^{a}	67.7888±1.8945
ข้าวกล้องหอมนิล 1 mg/ml	0.2600±0.0092^{c}	36.9781±2.2232^{B}
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.001 mg/ml	0.2738±0.0092^{c}	33.6169±2.2232^{B}
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.01 mg/ml	0.2328±0.0135^{c}	43.5604±3.2635^{B}
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.1 mg/ml	0.2028±0.0131^{b}	50.8429±3.1720^{C}
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 mg/ml	0.1878±0.0044^{b}	54.4842±1.0573^{C}

ตัวอย่างสารสกัดข้าว	ปริมาณของทีบาร์ (ไมโครโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 0.001 mg/ml	0.2490±0.0010^{c}	39.6390±0.2426^{B}
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 0.01 mg/ml	0.2848±0.0139^{c}	30.9560±3.3699^{B}
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 0.1 mg/ml	0.3865±0.0076^{d}	6.3074±1.8314^{A}
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 1 mg/ml	0.3934±0.0105^{d}	4.6269±2.5556^{A}

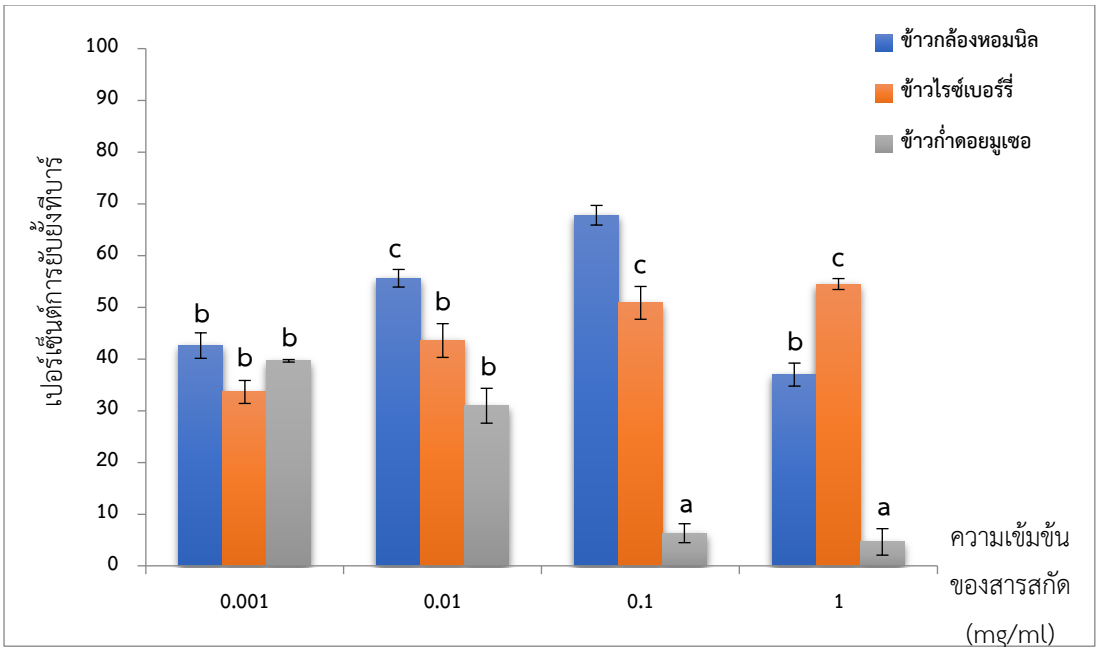
$^{a, b, c, d}$ แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

$^{A, B, C}$ แสดงถึงความแตกต่างของข้อมูลในคอลัมน์ของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



รูปที่ 3-7 ปริมาณทีบาร์ของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิดเมื่อใส่สารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง

$^{a, b, c, d}$ แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



รูปที่ 3-8 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิดเมื่อใส่สารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง

$^{a, b, c}$ แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

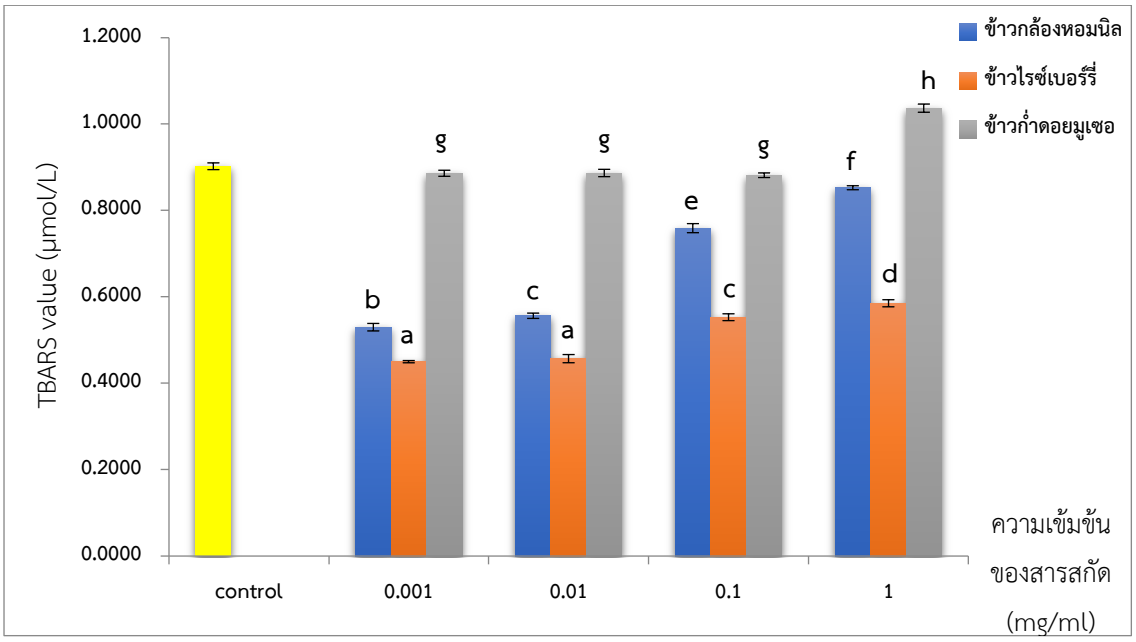
ตารางที่ 3-9 ปริมาณของทีบาร์และเปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวแต่ละชนิดเมื่อใส่สารสกัดลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง

ตัวอย่างสารสกัดข้าว	ปริมาณของทีบาร์ (ไมโครโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์
ชุดควบคุม	0.9024±0.0078	0
ข้าวกล้องหอมนิล 0.001 mg/ml	0.5298±0.0087^{b}	41.2953±0.9667^{G}
ข้าวกล้องหอมนิล 0.01 mg/ml	0.5563±0.0062^{c}	38.3504±0.6925^{F}
ข้าวกล้องหอมนิล 0.1 mg/ml	0.7591±0.0105^{e}	15.8800±1.1682^{D}
ข้าวกล้องหอมนิล 1 mg/ml	0.8527±0.0046^{f}	5.5091±0.5081^{C}
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.001 mg/ml	0.4500±0.0026^{a}	50.1298±0.2934
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.01 mg/ml	0.4570±0.0095^{a}	49.3616±1.0578
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 0.1 mg/ml	0.5529±0.0079^{c}	38.7345±0.8801^{F}

ตัวอย่างสารสกัดข้าว	ปริมาณของทีบาร์ (ไมโครโมลาร์)	เปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์
ข้าวไรซ์เบอร์รี่ 1 mg/ml	0.5852±0.0082^{d}	35.1495±0.9076^{E}
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 0.001 mg/ml	0.8862±0.0070^{g}	1.7960±0.7762^{B}
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 0.01 mg/ml	0.8868±0.0085^{g}	1.7320±0.9474^{B}
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 0.1 mg/ml	0.8816±0.0053^{g}	2.3081±0.5867^{B}
ข้าวก่ำดอยมูเซอ 1 mg/ml	1.0370±0.0095^{h}	-14.9128±1.0578^{A}

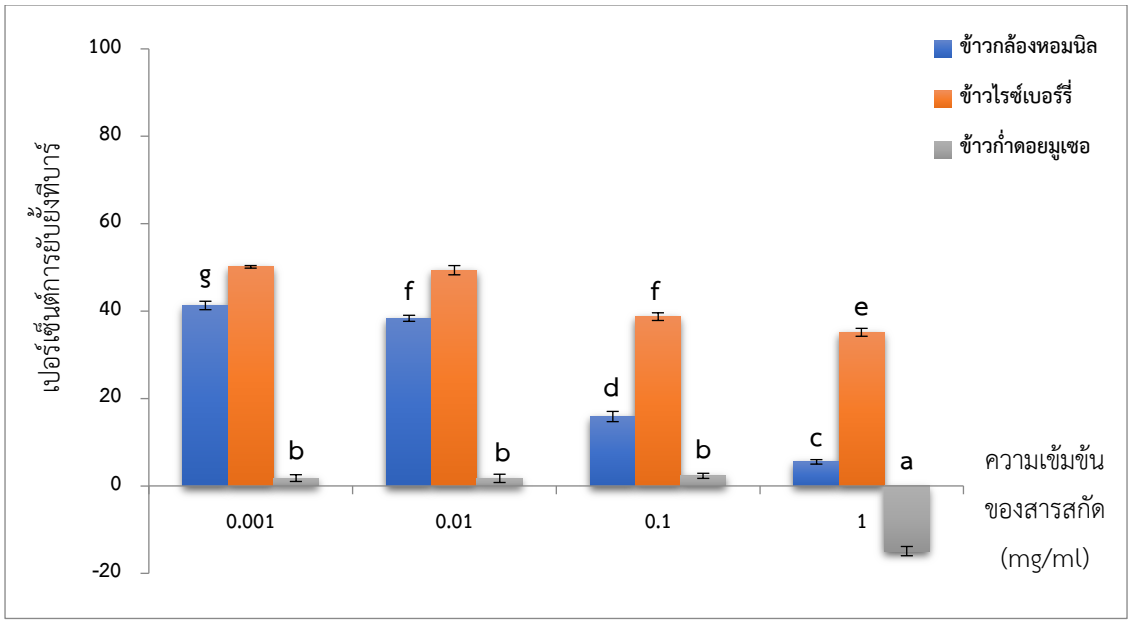
$^{a, b, c, d,.....}$ แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

$^{A, B, C, D,.....}$ แสดงถึงความแตกต่างของข้อมูลในคอลัมน์ของเปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)



รูปที่ 3-9 ปริมาณทีบาร์ของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิดเมื่อใส่สารสกัดลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง

$^{a, b, c, d,.....}$ แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)



รูปที่ 3-10 เปอร์เซ็นต์การยับยั้งทีบาร์ของสารสกัดข้าวทั้ง 3 ชนิดเมื่อใส่สารสกัดลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง

$^{a, b, c, d,\ldots}$ แสดงถึงความแตกต่างของชุดข้อมูลในแต่ละความเข้มข้นและแต่ละตัวอย่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P<0.05$)

บทที่ 4

อภิปราย และสรุปผลการทดลอง

4.1 อภิปรายผลการทดลอง

การศึกษาครั้งนี้ได้ทำการทดสอบฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน โดยนำข้าวสีม่วง 3 ชนิด คือ ข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอ มาทำการสกัดด้วยเอทานอล จากนั้นจะนำมาทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม และปริมาณแอนโธไซยานิน รวมทั้งศึกษาฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ในการต้านการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันด้วยการทดสอบ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) โดยศึกษาทั้งในลักษณะของความสามารถของสารสกัดในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชันและความสามารถในการยับยั้งผลิตภัณฑ์หลังจากเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแล้ว

ในขั้นตอนการสกัด จะพบว่าลักษณะสีที่ได้ของผงข้าวของข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ และข้าวก่ำดอยมูเซอมีสีแตกต่างกัน โดยข้าวก่ำดอยมูเซอมีสีม่วงเข้มที่สุด รองลงมา คือ ข้าวกล้องหอมนิลที่มีสีม่วง และข้าวไรซ์เบอร์รี่มีสีม่วงอ่อน จากงานวิจัยของสุพิศา สมโต (2547) กล่าวว่าปริมาณแอนโธไซยานินมีความสัมพันธ์กับค่าสีของผงหรือแป้งข้าว โดยแป้งข้าวที่มีค่าความสว่าง (L*) น้อย จะมีแนวโน้มว่ามีปริมาณแอนโธไซยานินที่สูง แอนโธไซยานินที่ให้สีแก่ผิวเมล็ดข้าวจะมีอยู่มากในส่วนของเปลือกหุ้มผล (pericarp) เปลือกหุ้มเมล็ด (testa) และชั้นอะลูโรน (aleurone layers) ซึ่งจะกระจายตัวอยู่ในแป้ง ทำให้แป้งมีสีเข้มขึ้นตามปริมาณแอนโธไซยานิน ซึ่งมีความสอดคล้องกับปริมาณแอนโธไซยานินที่ได้คือ ข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณแอนโธไซยานินสูงที่สุด รองลงมาคือ ข้าวกล้องหอมนิล และข้าวไรซ์เบอร์รี่ ตามลำดับ นอกจากนี้ลักษณะของสีเมล็ดที่ปรากฏ ความเข้มของสีของเมล็ดธัญพืชมีความแตกต่างกันออกไป เช่น สีเหลือง น้ำตาล แดง ม่วง และดำ ซึ่งขึ้นอยู่กับองค์ประกอบ ชนิด และปริมาณของรงควัตถุที่มีอยู่ในเมล็ดธัญพืช รวมถึงความแตกต่างของสายพันธุ์ การเพาะปลูก ความอ่อนแก่ และระยะเวลาในการงอก ซึ่งปัจจัยเหล่านี้ล้วนมีผลต่อปริมาณของรงควัตถุ รวมถึงสารพฤกษเคมีอื่นๆ ในเมล็ดธัญพืชชนิดต่างๆ (นิพัทธา ชาติสุวรรณ และวริพัสย์ อารีกุล, 2553)

การทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณสารแอนโธไซยานินของสารสกัดเอทานอลของข้าวทั้ง 3 ชนิดที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร โดยการหาปริมาณสารประกอบฟีนอลคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายกรดแกลลิก และการหาปริมาณฟลาโวนอยด์คำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลายเควอร์เซติน จากการทดลองจะพบว่า ข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณสารประกอบฟีนอล ปริมาณฟลาโวนอยด์ และปริมาณสารแอนโธไซยานินมากที่สุด คือ 45.48±0.0692 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด 323.08±0.5040 มิลลิกรัมสมมูลของเควอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด และ 1908.01±5.79 มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของทิตยา

เสนารักษ์ และปัณณพร กิตติวิทยาวงศ์ (2556) ที่พบว่าข้าวก่ำมีปริมาณสารประกอบฟีนอล และสารแอนโธไซยานินสูงกว่าข้าวชนิดอื่น แต่จากผลทดลองจะเห็นได้ว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลของข้าวทั้ง 3 ชนิดที่นำมาศึกษามีปริมาณต่ำกว่าและปริมาณสารแอนโธไซยานินมีปริมาณสูงกว่าในงานวิจัยของทิตยา เสนารักษ์ และปัณณพร กิตติวิทยาวงศ์ (2556) ทั้งนี้อาจจะเป็นเพราะเมล็ดข้าวปลูกในพื้นที่ที่มีความแตกต่างกัน สภาพอากาศ และสภาพแวดล้อมแตกต่างกัน จึงเป็นผลให้ข้าวแต่ละชนิดมีปริมาณสารพฤกษเคมีเป็นองค์ประกอบแตกต่างกัน (วรัมพร วงศ์สุดิน และคณะ, 2555) ดังนั้นปริมาณสารประกอบฟีนอล ปริมาณฟลาโวนอยด์ และสารแอนโธไซยานินจึงแตกต่างกัน นอกจากนี้ในงานวิจัยของนิพัทธา ชาติสุวรรณ และวริพัสย์ อารีกุล (2553) พบว่าปริมาณของสารแอนโธไซยานินมีความสัมพันธ์กับปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม เนื่องจากสารแอนโธไซยานินเป็นสารประกอบฟีนอลกลุ่มหนึ่ง กล่าวคือ ข้าวที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูง จะมีปริมาณแอนโธไซยานินสูง ซึ่งมีความสอดคล้องกับงานวิจัยที่พบว่าข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมสูงและปริมาณแอนโธไซยานินสูงเช่นกัน และจากผลที่ได้จะเห็นว่าปริมาณสารประกอบฟีนอล และสารแอนโธไซยานินของข้าวกล้องหอมนิลมีปริมาณมากกว่าในข้าวไรซ์เบอร์รี่ การที่ข้าวกล้องหอมนิลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลและแอนโธไซยานินสูงกว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่นั้นเนื่องมาจากปริมาณของสารอาหารต่างๆ ที่สำคัญในข้าว เช่น คาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน วิตามิน เส้นใยอาหาร และสารต้านอนุมูลอิสระต่างๆ เช่น สารกาบา และสารกลุ่มฟีนอลิกซึ่งจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของข้าวและการขัดสีข้าว (สำราญ พิมราช และคณะ, 2558) โดยข้าวกล้องเป็นข้าวที่ผ่านกระบวนการกะเทาะเปลือกออก แต่ยังคงมีส่วนของจมูกข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวหรือส่วนของรำอยู่ จึงอุดมไปด้วยใยอาหารและสารต้านอนุมูลอิสระ โดยงานวิจัยของปวีณา รัตนเสนา และประภัสสร บุษหมั่น (2555) ที่ศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของข้าวโดยการแปรรูปต่างๆ จะพบว่าข้าวที่ผ่านการแปรรูปเป็นข้าวกล้องจะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงกว่าข้าวที่ผ่านการแปรรูปอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ศึกษาที่ข้าวกล้องหอมนิลมีปริมาณสารประกอบฟีนอลสูงกว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่ นอกจากนี้การที่ข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณฟลาโวนอยด์สูงกว่าข้าวชนิดอื่นนั้นมีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kang et al. (2013) ที่กล่าวว่าเมล็ดข้าวที่ส่วนของ pericarp มีสีเข้ม เช่น สีม่วงหรือดำ และสีแดง จะมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์สูงกว่าเมล็ดข้าวที่มีสีของส่วน pericarp อ่อน เช่น สีน้ำตาล และสีเขียว ดังนั้นข้าวก่ำดอยมูเซอที่มีสีของเมล็ดข้าวเข้มที่สุดจึงมีปริมาณฟลาโวนอยด์มากที่สุด และจากงานวิจัยของวรัมพร วงศ์สุดิน และคณะ (2555) พบว่าในข้าวเหนียวดำมีปริมาณสารฟีนอลสูงสุด รองลงมา คือ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิล นอกจากนี้ยังพบว่าข้าวเหนียวดำ มีปริมาณกรดแกมมา-อะมิโนบิวทีริก (GABA) สูงสุด รองลงมาคือ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวหอมนิล ตามลำดับ ซึ่งมีความคล้ายคลึงกับผลการทดลองที่ได้ที่ข้าวก่ำดอยมูเซอซึ่งมีลักษณะเป็นข้าวเหนียวดำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลค่อนข้างสูง

เนื่องจากอนุมูลอิสระนั้นมีบทบาทสำคัญในกระบวนการเกิดโรคต่างๆ รวมถึงกระบวนการอักเสบของเซลล์ อนุมูลอิสระที่มากเกินไปจะทำให้เกิดความเสียหายต่อสารชีวโมเลกุลที่สำคัญในร่างกายที่มีความไวต่อการถูกออกซิไดส์ได้ เช่น ลิพิด เมื่อลิพิดถูกออกซิไดส์โดยอนุมูลอิสระ จะเรียกว่า ลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน (lipid peroxidation)

ซึ่งเป็นกระบวนการที่กรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวและฟอสโฟลิพิดเกิดการเสื่อมสภาพจากการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ ทำให้เกิดสารที่ให้กลิ่นและรสที่ผิดปกติ (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550) จึงทำให้ผู้วิจัยเกิดความสนใจที่จะนำสารสกัดของข้าวทั้ง 3 ชนิดมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านการเกิดออกซิเดชันของลิพิด ซึ่งถูกวิเคราะห์ด้วยวิธี thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) โดยแบ่งรูปแบบการทดลองเป็น 2 รูปแบบ คือ ใส่สารสกัดข้าวพร้อมน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมงและใส่สารสกัดข้าวลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง เพื่อต้องการดูว่าสารสกัดข้าวที่เราศึกษามีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดปฏิกิริยาลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน หรือมีความสามารถในการยับยั้งผลิตภัณฑ์หลังจากเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันแล้วได้หรือไม่ ซึ่ง thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณมาลอนไดอัลดีไฮด์ (MDA) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ขั้นทุติยภูมิที่ได้จากการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ปริมาณของ TBARS เกิดจากกรดไทโอบาร์บิทูริก (2-thiobarbituric acid, TBA) ในสภาวะที่เป็นกรดกับ MDA ที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากัน ได้เป็นสารประกอบที่มีสีเรียกว่า TBARS (โอภา วัชระคุปต์ และคณะ, 2550)

จากการศึกษาฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH นั้น ผลการทดลองพบว่า สารสกัดเอทานอลของข้าวก่ำดอยมูเซอมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH ได้มากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการมีปริมาณสารประกอบฟีนอล สารประกอบฟลาโวนอยด์ และสารแอนโธไซยานินสูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดเอทานอลจากข้าวอีกสองชนิดที่เหลือ นอกจากนี้ยังมีค่า FRAP สูงที่สุดด้วยเช่นกัน นั่นหมายถึงว่า สารสกัดเอทานอลของข้าวก่ำมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนได้ดีที่สุด อันเป็นคุณสมบัติที่ดีของสารต้านอนุมูลอิสระ

การทดสอบ thiobarbituric acid reactive substances (TBARS) ของสารสกัดเอทานอลของข้าวทั้ง 3 ชนิด โดยวิเคราะห์หาปริมาณทีบาร์ที่เกิดขึ้น พบว่าที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณทีบาร์สูงถึง 15.9299±0.0649 ไมโครโมลาร์ ในขณะที่ข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวกล้องหอมนิลมีปริมาณทีบาร์เพียง 0.6122±0.0368 และ 1.3164±0.0241 ไมโครโมลาร์ ตามลำดับ การที่ข้าวก่ำดอยมูเซอมีปริมาณทีบาร์ที่สูงนั้น อาจเกิดจากแร่ธาตุที่พบในเมล็ดข้าว เช่น ธาตุเหล็กในเมล็ดข้าว จะพบว่าพันธุ์ข้าวที่มีกลิ่นหอมและมีสี (แดงและดำ) จะมีปริมาณธาตุเหล็กสูงกว่าพันธุ์ที่ให้ผลผลิตสูง แต่ไม่มีกลิ่นหอมและไม่มีสี และพบว่าพันธุ์ข้าวของจีนที่มีเมล็ดยาวสีแดง มีปริมาณธาตุเหล็กสูงสุดถึง 64 มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (จรัญจิต เพ็งรัตน์ และสุวัฒน์ เจียระคงมั่น, 2552) เนื่องจากแร่ธาตุเหล็กช่วยเพิ่มการสร้างสาร hydroxyl radicals ซึ่ง hydroxyl radical เป็นอนุมูลอิสระที่มีความไวในการเกิดปฏิกิริยา (อัจฉรา นิยมเดชา และมงคล คงเสน, 2557) อาจจะไปทำปฏิกิริยากับกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่หลงเหลือจากการสกัด เนื่องจากข้าวก่ำดอยมูเซอนั้นอุดมไปด้วยกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัว อาจทำให้ข้าว

ก่ำดอยมูเซอที่ความเข้มข้นสูงๆ มีปริมาณทีบาร์สูงขึ้น นอกจากนี้อาจเกิดจากโลหะหนักที่ตกค้างในเมล็ดข้าวในงานวิจัยของ Verma and Dubey (2003) ที่ศึกษาพิษของโลหะหนักพวกตะกั่วต่อการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันด้วยการทดสอบ TBARS ของต้นข้าว โดยโลหะหนัก เช่น Cd, Pb, Al, Zn ทำให้เกิดความเสียหายจากการออกซิเดชันได้ เนื่องจากมีการผลิต reactive oxygen species (ROS) โดยจะเข้าทำลายกรดไขมันชนิดไม่อิ่มตัวที่มีพันธะคู่ไม่แข็งแรง ทำให้มีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างและการทำงานของเมมเบรน และโลหะหนักยังเหนี่ยวนำให้เกิดภาวะเครียดออกซิเดชันในพืชบางชนิด โดยมีการศึกษาก่อนหน้านี้ว่า ข้าวสามารถดูดซึมแคดเมียม (Cd) ได้อย่างอิสระและมีการเก็บสะสมของแคดเมียมในเนื้อเยื่อเท่ากับเป็นการเพิ่มการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน ส่วนตะกั่ว (Pd) นั้นเป็นธาตุที่พบมากที่สุดพบได้ทั้งในน้ำและบนดิน ในการทดลองนี้จึงศึกษาการดูดซึมและการกระจายตัวของตะกั่วในเมล็ดข้าว เพื่อตรวจสอบการเหนี่ยวนำให้เกิดการออกซิเดชันของตะกั่ว จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าการดูดซึมของตะกั่วเพิ่มสูงขึ้น เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของตะกั่ว แสดงว่าข้าวมีการดูดซึมตะกั่วในระดับที่สูง นอกจากนี้ยังพบว่าระดับของการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันเพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของตะกั่วเพิ่มขึ้นซึ่งอาจมีความเกี่ยวข้องกับปริมาณทีบาร์ที่เพิ่มสูงขึ้นในข้าวก่ำดอยมูเซอ เนื่องจากความเข้มข้นที่ศึกษาสูงถึง 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร อาจมีปริมาณโลหะหนักที่ปนเปื้อนมาในระดับที่อาจก่อให้เกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ และในงานวิจัยของ Wang et al. (2015) พบว่าความเข้มข้นของแคดเมียมยิ่งเพิ่มขึ้น ปริมาณของมาลอนอัลดีไฮด์จะเพิ่มสูงขึ้น ซึ่งบ่งบอกถึงภาวะเครียดจากออกซิเดชันในข้าวเพิ่มสูงขึ้น แสดงว่าแคดเมียมก่อให้เกิดการออกซิเดชันของไขมันได้ ดังนั้น แสดงว่าโลหะหนักสามารถเหนี่ยวนำให้เกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้ ซึ่งการที่ข้าวก่ำดอยมูเซอที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันสูงอาจจะเกิดจากมีการปนเปื้อนของโลหะหนักได้ และเมื่อใส่สารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง เพื่อดูฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดมาลอนอัลดีไฮด์ จะพบว่าที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ข้าวกล้องหอมนิลสามารถยับยั้งการเกิดมาลอนอัลดีไฮด์ได้มากกว่าข้าวชนิดอื่น และเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ปริมาณทีบาร์มีค่าลดลง ในขณะที่ข้าวก่ำดอยมูเซอสามารถยับยั้งการเกิดมาลอนอัลดีไฮด์ได้น้อยที่สุด ปริมาณทีบาร์ที่ได้นั้นมีค่าสูงกว่าข้าวชนิดอื่น แสดงว่าข้าวกล้องหอมนิลมีฤทธิ์ในการป้องกันการเกิดมาลอนอัลดีไฮด์ในน้ำมันถั่วเหลืองได้ดีกว่าข้าวชนิดอื่น และเมื่อใส่สารสกัดข้าวลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง เพื่อดูฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดมาลอนอัลดีไฮด์ จะพบว่าที่ความเข้มข้น 0.001 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ข้าวไรซ์เบอร์รี่สามารถยับยั้งการเกิดมาลอนอัลดีไฮด์ได้ดีกว่าข้าวชนิดอื่น และปริมาณทีบาร์มีค่าลดลงเมื่อเทียบกับชุดควบคุม ในขณะที่ข้าวก่ำดอยมูเซอสามารถยับยั้งการเกิดมาลอนอัลดีไฮด์ได้น้อยที่สุด ปริมาณทีบาร์ที่ได้มีค่าสูงกว่าข้าวชนิดอื่น แสดงว่าข้าวไรซ์เบอร์รี่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดมาลอนอัลดีไฮด์ใน

น้ำมันถั่วเหลืองได้ดีกว่าข้าวชนิดอื่น การที่ข้าวกล้องหอมนิลมีฤทธิ์ในการต้านออกซิเดชันได้ดีที่สุดนั้น มีความสอดคล้องกับงานวิจัยของ Mohd et al. (2013) จะพบว่าทั้งข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกจะมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันสูงเมื่อทดสอบด้วยวิธี Ferric thiocyanate (FTC) และวิธี Thiobarbituric acid (TBA) ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากสารประกอบที่อาจนำไปสู่ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องและข้าวกล้องงอก คือ สารประกอบฟีนอลิก, โอไรซานอล, แกมมา-อะมิโนบิวทาริก, วิตามินอี, *p*-coumaric acid, chlorogenic acid, hydroxybenzoic acid, vanillic acid, syringic acid, caffeic acid, gallic acid, tricin (flavone) และสารกลุ่มเอสเทอร์ คือ 6'-O-(E)-feruloylsucrose และ 6'-O(E)-sinapoylsucrose และในงานวิจัยของนภาพร ดีสนาม และเพรชรัตน์ บัววงค์ (2555) ที่มีการศึกษาการเติมสารสกัดแอนโธไซยานินจากรำข้าวเหนียวดำต่อการเหม็นหืนของไขมันในระหว่างการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงด้วยการทดสอบ TBA พบว่าการเติมสารสกัดแอนโธไซยานินมีส่วนช่วยในการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันในระหว่างการเก็บรักษาได้ ทั้งนี้เนื่องจากในรำข้าวสีม่วงนั้นอุดมไปด้วยสารต้านอนุมูลอิสระทั้งละลายในน้ำและละลายในไขมัน โดยสารต้านอนุมูลอิสระที่พบเป็นจำนวนมากในรำข้าวสีม่วงคือ แอนโธไซยานิน ที่พบหลักๆ มี 3 ชนิด คือ cyanidin-3-glucoside, cyanidin-3-galactoside และ peonidin-3-glucoside ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระต่างๆ และลดการเกิด oxidative stress ได้ทำให้มีฤทธิ์ต้านลิพิดออกซิเดชัน (Zhang et al., 2013) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้ที่สารสกัดของข้าวสีม่วงต่างๆ มีฤทธิ์ในการต้านลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน นอกจากนี้ในงานวิจัยของ Reddy, Jayathilakan and Pandey (2015) มีการศึกษาผลของน้ำมันรำข้าว (RBO) ที่เติมลงในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่ผ่านการฉายรังสีต่อการต้านออกซิเดชัน จะพบว่าน้ำมันรำข้าวสามารถควบคุมการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน โดยการควบคุมการสร้างมาลอนไดอัลดีไฮด์ได้ดีกว่าผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ที่เติมน้ำมันดอกทานตะวัน แสดงว่าน้ำมันรำข้าวสามารถยับยั้งการออกซิเดชันของไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้อย่างมีนัยสำคัญและน้ำมันรำข้าวยังช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ได้ดีกว่าน้ำมันดอกทานตะวัน ทั้งนี้เกิดจากในน้ำมันรำข้าวนั้นมีสารต้านอนุมูลอิสระที่สำคัญพวก tocopherols, tocotrienols และ γ-oryzanol ที่สามารถต้านการเกิดออกซิเดชันได้ ซึ่งสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้พบในข้าวต่างๆ ดังนั้น การที่ข้าวสีม่วงต่างๆ สามารถต้านการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชันได้เนื่องจากมีสารต้านอนุมูลอิสระเหล่านี้

4.2 สรุปผลการวิจัย

1. สารสกัดเอทานอลของข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวกล้องหอมนิล และข้าวก่ำดอยมูเซอมี %yield เท่ากับร้อยละ 4.65 4.34 และ 4.06 ของน้ำหนักแห้งสารสกัด

2. ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมของสารสกัดเอทานอลของข้าวก่ำดอยมูเซอมากที่สุด คือ 45.48±0.07 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมา คือ ข้าวกล้องหอมนิล และข้าวไรซ์เบอร์รี่ เท่ากับ 8.61±0.09 และ 5.91±0.14 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ

3. ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมของสารสกัดเอทานอลของข้าวก่ำดอยมูเซอจะมีปริมาณมากที่สุด คือ 323.08±0.50 มิลลิกรัมสมมูลของเควอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมาคือ ข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวกล้องหอมนิล เท่ากับ 82.83±0.29 และ 55.11±0.29 มิลลิกรัมสมมูลของเควอร์เซตินต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ

4. ปริมาณสารแอนโธไซยานินของสารสกัดเอทานอลของข้าวก่ำดอยมูเซอจะมีปริมาณมากที่สุด คือ 1908.01±5.79 มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัมของส่วนสกัด รองลงมาคือ ข้าวกล้องหอมนิล และข้าวไรซ์เบอร์รี่ เท่ากับ 96.41±1.68 และ 31.06±0.88 มิลลิกรัมสมมูลของไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ต่อกรัมของส่วนสกัด ตามลำดับ

5. ข้าวก่ำดอยมูเซอมีฤทธิ์ในการกำจัดอนุมูล DPPH ได้มากที่สุด

6. ข้าวก่ำดอยมูเซอมีความสามารถในการให้อิเล็กตรอนกับเหล็กได้ดีที่สุด

7. การวิเคราะห์ปริมาณทีบาร์ของสารสกัดเอทานอลของข้าวทั้ง 3 ชนิด พบว่า ข้าวก่ำดอยมูเซอที่ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร มีปริมาณทีบาร์สูงกว่าในข้าวไรซ์เบอร์รี่และข้าวกล้องหอมนิล และเมื่อใส่สารสกัดบ่มพร้อมกับน้ำมันตั้งแต่เริ่มทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง พบว่าข้าวสีม่วงทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการเกิดทีบาร์ได้ แต่เมื่อใส่สารสกัดข้าวลงในน้ำมันหลังจากทำปฏิกิริยาจนครบ 48 ชั่วโมง พบว่าข้าวสีม่วงทั้ง 3 ชนิดสามารถยับยั้งการเกิดทีบาร์ได้ ยกเว้นที่ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรของข้าวก่ำดอยมูเซอที่มีปริมาณทีบาร์สูงกว่าในชุดควบคุม

รายงานสรุปการเงิน

เลขที่โครงการ 2560A10802044

ทุนอุดหนุนการวิจัย งบประมาณเงินรายได้ (เงินอุดหนุนจากรัฐบาล)

มหาวิทยาลัยบูรพา ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2560

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเกิดลิพิดเปอร์ออกซิเดชัน

ของส่วนสกัดเอทานอลจากข้าวสีต่างๆ

ชื่อหัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน / ผู้วิจัย ดร.ชัชวิน เพชรเลิศ

รายงานในช่วงตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2559 ถึงวันที่ 28 กุมภาพันธ์ 2562

ระยะเวลาดำเนินงาน 1 ปี ตั้งแต่วันที่ 1 ตุลาคม 2559 ถึงวันที่ 31 กันยายน 2560

<u>รายจ่าย</u>

หมวด	รายจ่ายสะสมจากรายงานครั้งก่อน	ค่าใช้จ่ายงวดปัจจุบัน	รวมรายจ่ายสะสมจนถึงงวดปัจจุบัน	งบประมาณรวมทั้งโครงการ	คงเหลือ (หรือเกิน)
1. ค่าตอบแทน	40,000.00	0	40,000.00	40,000.00	0.00
2. ค่าจ้าง	0	0	0	0	0.00
3. ค่าวัสดุ	59,507.52	313,843.04	373,350.56	219,500.00	-153,850.56
4. ค่าใช้สอย	6,991.75	6,558.00	13,549.75	150,000.00	136,450.25
5. อุดหนุนสถาบัน	22,750.00	18,200.00	40,950.00	45,500.00	4,550.00
รวม	**129,249.27**	**338,601.04**	**427,850.31**	**455,000.00**	**-12,850.31**

<u>จำนวนเงินที่ได้รับ</u>

จำนวนเงินที่ได้รับ		
งวดที่ 1	204,750 บาท	เมื่อ 17 มกราคม 2560
งวดที่ 2	163,800 บาท	เมื่อ 29 กันยายน 2560
รวม	**368,550 บาท**	

....-.....

หัวหน้าโครงการวิจัยผู้รับทุน เจ้าหน้าที่การเงินโครงงานวิจัย

บรรณานุกรม

กัลยาภรณ์ จันตรี. (2553). การศึกษาเปรียบเทียบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวก่ำและข้าวก่ำงอก. วิทยานิพนธ์. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง.

จรัญจิต เพ็งรัตน์, สุวัฒน์ เจียระคงมั่น. (2552). “ข้าวเหนียวดำ” หลากประโยชน์ หลายแนวคิด เสริมเศรษฐกิจไทย สู่สากล. ศูนย์วิจัยข้าวชุมแพ.

ช่อแก้ว อนิลบล. (2554). การศึกษาปริมาณแอนโธไซยานินในข้าวเหนียวดำโดยใช้วิธี HPLC และ spectrophotometric. วารสารแก่นเกษตร. 39(พิเศษ) : 353-357.

ดวงกมล ลีมจันทร, วิษฐิดา จันทราพรชัย และวชัย หฤทัยธนาสันต์. (2555). การสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวเหนียวดำ. ปริญญานิพนธ์. ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ทิตยา เสนารักษ์, ปัณณพร กิตติวิทยาวงศ์. (2556). ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดเมล็ดข้าวสีต่างๆ. ปริญญานิพนธ์. ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยบูรพา.

นภาพร ดีสนาม, เพรชรัตน์ บัววงค์. (2555). ผลของการเติมสารสกัดแอนโธไซยานินส์จากรำข้าวเหนียวดำต่อการเหม็นหืนของผลิตภัณฑ์กุนเชียง. วารสารวิชาการและวิจัย มทร.พระนคร. 5(ฉบับพิเศษ) : 260-267.

นรินทร์ภพ ช่วยการ, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, อุทัยวรรณ สุทธิศันสนีย์, ฉัตรภา หัตถโกศล และพร้อมลักษณ์สมบูรณ์ปัญญากุล. (2556). อิทธิพลของแป้งข้าวไรซ์เบอร์รี่ต่อสมบัติทางเคมี-กายภาพและทางประสาทสัมผัสของไอศกรีมไขมันต่ำ. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 44(2)(พิเศษ) : 589-592.

นิพัทธา ชาติสุวรรณ, วริพัสย์ อารีกุล. (2553). พารามิเตอร์สี ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและปริมาณแอนโธไซยานินในข้าวสายพันธุ์ต่างๆ. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 วันที่ 3-5 กุมภาพันธ์ 2553, กรุงเทพมหานคร.

ปวีณา รัตนเสนา, ประภัสสร บุษหมั่น. (2555). กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก และข้าวฮางงอกของข้าวไทยบางสายพันธุ์. รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการข้าวแห่งชาติ ครั้งที่ 2, สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว กรมการข้าว.

วรัมพร วงศ์สุดิน, พัชราภรณ์ รัตนธรรม, ณัฏฐา เลาหกุลจิตต์, อรพิน เกิดชูชื่น. (2555). การเปลี่ยนแปลงปริมาณสารสำคัญในข้าวกล้องงอก. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 43(2) : 553-556.

สำราญ พิมราช, สุนันท์ บุตรศาสตร์, ธีระรัตน์ ชิณแสน, ถวัลย์ เกตมาลา. (2558). ปริมาณกาบาและกิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอกพันธุ์พื้นเมือง 5 สายพันธุ์. วารสารเกษตรพระวรุณ. 1 : 35-40.

สุพิศา สมโต. (2547). คุณลักษณะทางกายภาพและเคมี และความคงตัวของข้าวไทยที่มีรงควัตถุ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. สาขาเทคโนโลยีอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร.

อรุษา เชาวนลิขิต. (2554). การสกัดและวิธีการวิเคราะห์แอนโทไซยานิน. วารสารมหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ (สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี) ปีที่ 3 ฉบับที่ 6 : กรกฎาคม-ธันวาคม 2554.

อัจฉรา นิยมเดชา, มงคล คงเสน. (2557). วิตามินและแร่ธาตุต่อบทบาทการเป็นสารแอนติออกซิแดนท์และการตอบสนองของระบบภูมิคุ้มกันโรคสำหรับสัตว์. วารสารมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์. 1 : 120-131.

โอภา วัชระคุปต์, ปรีชา บุญจูง, จันทรา บุญยะรัตน์, มาลีรักษ์ อัตต์สินทอง. (2550). สารต้านอนุมูลอิสระ. พิมครั้งที่ 2. นิวไทยมิตรการพิมพ์. กรุงเทพมหานคร.

Benzie IFF and Strain JJ. (1996). The ferric reducing ability of plasma as a measure of “antioxidant power” the FRAP assay. Analytical Biochemistry. 239 : 70-76.

Bozin B, Mimica-Dukic N, Samojlik I, Goran A, Igic R. (2008). Phenolics as antioxidants in garlic (Allium sativum L., Alliaceae). Food Chemistry. 111 : 925-929.

Brand-Williams W, Cuvelier E, Berset CM. (1995). Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. Lebensmittel Wissenschaft und Technologie. 28 : 25-30.

Cabrita L, Fossen T, Ovyind MA. (2000). Colour and stability of the six common anthocyanidin 3-glucosides in aqueous solutions. Food Chemistry. 68 : 101-107.

Caro GP, Watanabe S, Crozier A, Fujimura T, Yokota T, Ashihara H. (2013). Phytochemical profile of a Japanese black–purple rice. Food Chemistry. 141: 2821–2827.

Jeng TL, Lai CC, Ho PT, Shih YJ, Sung JM. (2012). Agronomic, molecular and antioxidative characterization of red- and purple-pericarp rice (*Oryza sativa* L.) mutants in Taiwan. Journal of Cereal Science. 56 : 425-431.

Kang MY, Rico CW, Bae HJ, Lee SC. (2013). Antioxidant capacity of newly developed pigmented rice cultivars in Korea. Cereal Chemistry. 90(5) : 497–501.

Laokuldilok T, Charles F, Shoemaker, Jongkaewwattana S, Tulyathan V. (2011). Antioxidants and antioxidant activity of several pigmented rice brans. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 59 : 193–199.

Miller CK, Edwards L, Kissling G, Sanville L. (2002). Nutrition education improves metabolic outcomes among older adults with diabetes mellitus: results from a randomized controlled trial. Preventive Medicine. 34(2) : 252-265.

Min B, McClung A, Chen MH. (2014). Effects of hydrothermal processes on antioxidants in brown, purple and red bran whole grain rice (*Oryza sativa* L.). Food Chemistry. 159 : 106–1150.

Mohd EN, Abdul KK, Amom Z, Azlan A. (2013). Antioxidant activity of white rice, brown rice and germinated brown rice (in vivo and in vitro) and the effects on lipid peroxidation and liver enzymes in hyperlipidaemic rabbits. Food Chemistry. 141 : 1306–1312.

Reddy JK, Jayathilakan K, Pandey MC. (2015). Effect of ionizing radiation on the protein and lipid quality characteristics of mutton kheema treated with rice bran oil and sunflower oil. Radiation Physics and Chemistry. 117 : 217–224.

Shafazila TS, Pat ML, Lee KH. (2010). Radical scavenging activities of extract and solvent-solvent partition fractions from *Dendrobium Sonia* 'Red Bom' flower. Proceedings in Conference on Scientific and Social Science Research. Malaysia.

Stintzing FC, Schieber A, Carle R. (2002). Betacyanins in fruits from red purple pitaya, *Hylocereus polyrhizus* (weber) britton and rose. Food Chemistry. 77 : 101-106.

The International Herald Tribune. (2008). Thailand backs away from rice cartel plan. Retrieved on September 21, 2015.

The Nation (Thailand). (2008). Rice strain is cause of comparatively low productivity. Retrieved on September 21, 2015.

Verma S, Dubey RS. (2003). Lead toxicity induces lipid peroxidation and alters the activities of antioxidant enzymes in growing rice plants. Plant Science. 164 : 645-655.

Wang F, Wang M, Liu Z, Shi Y, Han T, Ye Y, Gong N, Sun J, Zhu C. (2015). Different responses of low grain-Cd accumulating and high grain-Cd accumulating rice cultivars to Cd stress. Plant Physiology and Biochemistry. 96 : 261-269.

Zhang X, Shen Y, Prinyawiwatkul W, King J, Xu Z. (2013). Comparison of the activities of hydrophilic anthocyanins and lipophilic tocols in black rice bran against lipid oxidation. Food Chemistry. 141(1) : 111-116.

ประวัตินักวิจัย