วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ ปีที่ 30, ฉบับที่ 3 ก.ค.–ก.ย. 2563
The Journal of KMUTNB., Vol. 30, No. 3, Jul.–Sep. 2020

บทความวิจัย

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดจากข้าวพันธุ์ลุ้นยุ้งและแม่พญาทองดำ

พิมใจ สุวรรณวงค์ และ วัชรี วรัจฉรียกุล*
ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 0 3931 9111 ต่อ 28913 อีเมล: watcharee.w@rbru.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2020.04.002
รับเมื่อ 6 กันยายน 2562 แก้ไขเมื่อ 14 พฤศจิกายน 2562 ตอบรับเมื่อ 21 พฤศจิกายน 2562 เผยแพร่ออนไลน์ 8 เมษายน 2563
© 2020 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าวพันธุ์ลุ้นยุ้งและแม่พญาทองดำซึ่งเป็นข้าวพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดจันทบุรี ผลการวิจัยพบว่าสารสกัดเมทานอลจากเมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งสารสกัดเมทานอลจากข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดเมทานอลจากเมล็ดข้าวพันธุ์ลุ้นยุ้ง โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.206 และ 0.230 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่พบว่าสารสกัดเมทานอลจากข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ (5.63 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่าง) มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดมากกว่าข้าวพันธุ์ลุ้นยุ้ง (3.96 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่าง) ยิ่งไปกว่านั้น ยังพบว่าสารสกัดหยาบโปรตีนของข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ (IC_{50} = 0.153 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสดีกว่าสารสกัดหยาบโปรตีนของข้าวพันธุ์ลุ้นยุ้ง (IC_{50} = 0.208 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ในทางกลับกันสารสกัดตัวทำละลายอินทรีย์ของข้าวพันธุ์ลุ้นยุ้งเป็นตัวยับยั้งเอนไซม์ที่ดีกว่าข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ โดยสารสกัดเมทานอลของข้าวพันธุ์ลุ้นยุ้งมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสดีที่สุด (IC_{50} = 0.108 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) รองลงมาคือสารสกัดไดคลอโรมีเทน (IC_{50} = 0.227 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และสารสกัดเฮกเซน (IC_{50} = 0.467 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ

คำสำคัญ: ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ลุ้นยุ้ง แม่พญาทองดำ สารสกัดจากข้าว

การอ้างอิงบทความ: พิมใจ สุวรรณวงค์ และ วัชรี วรัจฉรียกุล, "ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดจากข้าวพันธุ์ลุ้นยุ้งและแม่พญาทองดำ," *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, ปีที่ 30, ฉบับที่ 3, หน้า 518–528, ก.ค.–ก.ย. 2563.

Research Article

Antioxidant and α-amylase Inhibitory Activities of Lon Yung and Mae Phaya Tong Dum Rice Extracts

Pimjai Suwannawong and Watcharee Waratchareeyakul*
Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Rambhai Barni Rajabhat University, Chanthaburi, Thailand

* Corresponding Author, Tel. 0 3931 9111 Ext. 28913, E–mail: watcharee.w@rbru.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2020.04.002
Received 6 September 2019; Revised 14 November 2019; Accepted 21 November 2019; Published online: 8 April 2020
© 2020 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

This research emphasized on comparing the antioxidant and α-amylase inhibitory activities of Lon Yung local rice with those of Mae Phaya Tong Dum local rice. The methanol extracted of Mae Phaya Tong Dum rice obtained a stronger antioxidant activity (IC_{50} = 0.206 mg/mL) than that of Lon Yung rice (IC_{50} = 0.230 mg/mL), the dichloromethane extracted and the hexane extracted, respectively. The methanol extracted from Mae Phaya Tong Dum rice (5.63 µgGAE/g) had a total phenolic content more than that of Lon Yung rice (3.96 µgGAE/g) which correlated with antioxidant activity. Moreover, the protein extracted of Mae Phaya Tong Dum rice showed a higher α-amylase inhibitory activity (IC_{50} = 0.153 mg/mL) than that of Lon Yung rice (IC_{50} = 0.208 mg/mL). On the other hand, the organic solvent extracted of Lon Yung rice was better α-amylase inhibitor than that of Mae Phaya Tong Dum rice. The methanol extracted of Lon Yung rice obtained the best α-amylase inhibitory activity (IC_{50} = 0.108 mg/mL), followed by that of the dichloromethane extracted (IC_{50} = 0.227 mg/mL) and the hexane extracted (IC_{50} = 0.467 mg/mL).

Keywords: Antioxidant, α-amylase Inhibitor, Lon Yung, Mae Phaya Tong Dum, Rice Extract

Please cite this article as: P. Suwannawong and W. Waratchareeyakul, "Antioxidant and α-amylase inhibitory activities of Lon Yung and Mae Phaya Tong dum rice extracts," *The Journal of KMUTNB*, vol. 30, no. 3, pp. 518–528, Jul.–Sep. 2020 (in Thai).

1. บทนำ

ข้าวเป็นธัญพืชในวงศ์ Poaceae มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* [1] ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของโลก ซึ่งมีอัตราการผลิตประมาณ 480 ล้านตัน [2] ประชากรโลกจำนวนมากบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก โดยเฉพาะทวีปเอเชีย [3] ซึ่งข้าวมีสารสำคัญที่เป็นองค์ประกอบหลายชนิด เช่น คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 73–76 โปรตีนร้อยละ 7.1–8.3 และมีไขมันเพียงร้อยละ 1.6–2.8 [4] รวมทั้งวิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ไม่ว่าจะเป็นวิตามินบีหนึ่ง บีสอง บีสาม บีหก วิตามินอี แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส โพแทสเซียม ซีลีเนียม และสังกะสี [5]

นอกจากนี้ในเมล็ดข้าวยังพบสารพฤกษเคมีอีกหลายกลุ่มเป็นองค์ประกอบ เช่น สารประกอบฟีนอลิก แอนโทรไซยานิน ฟลาโวนอยด์ และอัลคาลอยด์ [6], [7] ซึ่งมีรายงานว่าสารเหล่านี้สามารถยับยั้งการอักเสบของเนื้อเยื่อ [7] ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็ง [8], [9] บำรุงสายตา [10], [11] ลดการอุดตันไขมันในหลอดเลือดหัวใจและสมอง [12] มีส่วนช่วยลดความดันโลหิต [13], [14] มีฤทธิ์ต้านโรคชรา (Anti-glycation) [15] รวมถึงมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้ [15]–[17] และยังมีรายงานว่าโปรตีนที่สกัดได้จากข้าวมีฤทธิ์ยับยั้งแบคทีเรีย *P. gingivalis, P. acnes* และ *C. albicans* รวมถึงมีกิจกรรมในการช่วยสร้างหลอดเลือดฝอยใหม่ (Angiogenic Activities) [18] ช่วยเพิ่มภูมิคุ้มกัน มีฤทธิ์ต้านมะเร็ง ต้านอนุมูลอิสระ ลดความดันโลหิต สามารถดักจับโลหะ ต้านการอักเสบ และช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลได้ [19], [20] นอกจากนี้โปรตีนอัลบูมิน และกลูเตลินที่สกัดได้จากรำข้าว เมื่อนำมาย่อยด้วยเอนไซม์โปรติเอสพบว่าสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แองจิโอเทนซิน คอนเวอร์ติง (Angiotensin Converting Enzyme) ซึ่งมีส่วนในการควบคุม ความดันโลหิต และมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์แอลฟากลูโคซิเดสได้เทียบเท่ากับยารักษาโรคเบาหวาน [16] ซึ่งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและแอลฟากลูโคซิเดสเป็นเอนไซม์สำคัญที่ช่วยควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด โดยจะยับยั้งการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตให้เป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งจะช่วยชะลอการดูดซึมน้ำตาลเข้าสู่กระแสเลือด อันจะเป็นผลดีต่อการรักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานและโรคอ้วน [15], [21]

ทั้งนี้ สารพฤกษเคมีที่พบในเมล็ดข้าวจะมีปริมาณที่แตกต่างกันไป เช่น ข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการขัดสีจะมีปริมาณสารอาหารและสารอื่นๆ ที่มีประโยชน์เป็นองค์ประกอบมากกว่าข้าวที่ผ่านการขัดสี [5], [22] อีกทั้งสีของเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวจะสัมพันธ์กับปริมาณและกลุ่มของสารพฤกษเคมีที่เป็นองค์ประกอบด้วยเช่นกัน ดังมีรายงานว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำจะมีปริมาณสารแอนโธไซยานิน อัลคาลอยด์และสารประกอบฟีนอลิกมากกว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง สีน้ำตาล และสีขาว ตามลำดับ [6], [15], [23], [24] ซึ่งข้าวที่เยื่อหุ้มเมล็ดสีน้ำตาลอ่อนจะพบสารประกอบฟีนอลิกโดยเฉพาะกรดเฟอร์รูลิก (Ferulic Acid) และกรดพาราคูมาริก (p-coumaric Acid) เป็นองค์ประกอบ ในขณะที่ข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง และสีดำจะพบสารที่มีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่าเป็นองค์ประกอบ เช่น สารในกลุ่มแอนโทรไซยานินที่ชื่อว่า ไซยานิดิน-3-โอ-เบตา-ดี-กลูโคไซด์ (Cyaniding- 3-O-β-D-glucoside) และพีโอนิดิน-3-โอ-เบตา-ดี-กลูโคไซด์ (Peonidin-3-O-β-D-glucoside) [24] คณะผู้วิจัยจึงสนใจตัวอย่างข้าวกล้องสายพันธุ์ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดมีสีแดงปนสีขาวและสีม่วงอมดำ

จังหวัดจันทบุรีมีการปลูกข้าวในบางพื้นที่ซึ่งข้าวที่ปลูกมีหลากหลายสายพันธุ์ เช่น ข้าวพันธุ์ขาวยายเมียด นางขาว ขาวอินนา พวงเงิน จังวายปะเดา หอมจันทร์ ล้นยุ้ง และแม่พญาทองดำ [25]–[28] ทั้งนี้ ข้าวบางสายพันธุ์เป็นข้าวประจำท้องถิ่น และยังไม่เป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลาย งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบโปรตีนและสารสกัดหยาบที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์จากข้าวพันธุ์ล้นยุ้งซึ่งมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงปนสีขาว และข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำมีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงอมดำ ซึ่งแสดงดังรูปที่ 1 รวมทั้งทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดดังกล่าว ซึ่งผลการวิจัยที่ได้จะช่วยให้ประชากรตระหนักถึงคุณค่าและความสำคัญของข้าวพันธุ์พื้นเมืองในจันทบุรี อันจะนำไปสู่การอนุรักษ์และการขยายพื้นที่เพาะปลูกต่อไป

รูปที่ 1 ข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง (ซ้าย) และพันธุ์แม่พญาทองดำ (ขวา)

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 วัสดุและอุปกรณ์

เครื่องมือที่สำคัญสำหรับดำเนินการวิจัย เช่น เครื่องอัลตราไวโอเลต–วิสิเบิล สเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (UV-Vis Spectrophotometer) ยี่ห้อ Genesys รุ่น 10 Series เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ (Microplate Reader) ยี่ห้อ Metertech รุ่น 965+ เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge) ยี่ห้อ Thermo Fisher รุ่น Legend Mach 1.6R และเครื่องวัดพีเอช (pH-meter) ยี่ห้อ Hanna instruments รุ่น HANNA HI2211

2.2 การเตรียมตัวอย่างเมล็ดข้าว

ตัวอย่างข้าวกล้องพันธุ์ล้นยุ้ง ได้จากเกษตรกร ตำบลหนองชิ่ม อำเภอแหลมสิงห์ จังหวัดจันทบุรี และข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ ได้จากกลุ่มวิสาหกิจชุมชนข้าวแม่พญาทองดำ ตำบลวังแซ้ม อำเภอมะขาม จังหวัดจันทบุรี จากนั้นนำตัวอย่างข้าวดังกล่าวมาปั่นให้ละเอียด และนำมาสกัดด้วยตัวทำละลายชนิดต่างๆ

2.3 การเตรียมสารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าว

2.3.1 การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

นำตัวอย่างข้าวพันธุ์ล้นยุ้งและแม่พญาทองดำที่ปั่นละเอียดแล้วอย่างละ 2 กิโลกรัม มาสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์โดยการแช่ (Maceration) ด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วแตกต่างกัน 3 ชนิด โดยเริ่มจากเฮกเซน (Hexane) ไดคลอโรมีเทน (DCM) และเมทานอล (MeOH) ตามลำดับ จากนั้นนำสารละลายที่สกัดได้ไประเหยตัวทำละลายด้วยเครื่องระเหยสุญญากาศ จะได้สารสกัดหยาบ 6 ชนิด นั้นคือ สารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน และสารสกัดหยาบเมทานอล จากเมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์

2.3.2 การสกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์

นำตัวอย่างข้าวพันธุ์ล้นยุ้งและแม่พญาทองดำที่ปั่นละเอียดแล้วอย่างละ 400 กรัม มาสกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมฟอสเฟต พีเอช 7.4 ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ในอัตราส่วน 4 มิลลิลิตร ต่อ 1 กรัม จากนั้นนำสารสกัดที่ได้มาปั่นเหวี่ยงแยกตะกอน (Centrifuge) ที่มีความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที เก็บส่วนของสารละลายมาตกตะกอนโปรตีนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวร้อยละ 80 (80% saturation $(NH_4)_2SO_4$) เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วทำการปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนที่ความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที จะได้ตะกอนโปรตีนและนำมาแขวนลอยในสารละลายบัฟเฟอร์ จากนั้นไดอะไลซิสในสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมฟอตเฟต พีเอช 7.4 ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ จะได้สารสกัดหยาบโปรตีนจากเมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ และนำไปวัดปริมาณโปรตีน

2.4 การวัดปริมาณโปรตีนในสารสกัดหยาบโปรตีน

วัดปริมาณโปรตีนในสารสกัดหยาบโปรตีนที่ได้จากข้าวพันธุ์ล้นยุ้งและแม่พญาทองดำซึ่งดัดแปลงวิธีของแบรดฟอร์ด (Bradford Assay) [29] โดยทำการวัดสีของสารประกอบเชิงซ้อนระหว่างโปรตีนและ Coomassie Brilliant Blue G-250 ที่ความยาวคลื่น 595 นาโนเมตร คำนวณหาปริมาณโปรตีนในสารสกัดหยาบจากกราฟมาตรฐานของโปรตีน Bovine Serum Albumin (BSA)

2.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH

การศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl) ของสารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล โดยดัดแปลงจากวิธีของ Premakumara และคณะ [15] ทำดังนี้ เจือจางสารละลายตัวอย่างที่จะทดสอบในเมทานอลให้มีความเข้มข้นดังนี้ สำหรับชุดทดสอบสารมาตรฐานบีเอชที (Butylated Hydroxytoluene; BHT) ซึ่งเป็นกลุ่มควบคุมเชิงบวก (Positive Control) ใช้ความ

เข้มข้นในช่วง 12.5–100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สำหรับชุดทดสอบ สารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ ใช้ความเข้มข้น 100–1000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย DPPH˙ ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และใช้เมทานอลแทนสารตัวอย่างเป็นกลุ่มควบคุมเชิงลบ (Negative Control) ทำการผสมสารละลายให้เข้ากันและเก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร โดยใช้เครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วคำนวณหาความเข้มข้นของสารตัวอย่างที่สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH˙ ได้ร้อยละ 50 (IC_{50})

2.6 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

ทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบโปรตีน สารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ที่ได้จากข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยดัดแปลงจากวิธีของ Xiao และคณะ [30] และใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสจากตับอ่อนของหมู (α-amylase from Pancreas Porcine) บริษัท Sigma-Aldrich ซึ่งมีวิธีการดังนี้ เจือจางตัวอย่างที่ต้องการทดสอบด้วยสารละลายบัฟเฟอร์โซเดียมฟอตเฟต พีเอช 7.4 ลงในไมโครเพลท 96 หลุม ให้มีความเข้มข้นสุดท้ายอยู่ในปริมาตรรวมทั้งหมด 60 ไมโครลิตร ดังนี้ กลุ่มควบคุมเชิงบวกใช้สารมาตรฐานอะคาโบส 1.25–6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร สารสกัดหยาบโปรตีน 0.09–0.36 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล 0.063–1.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และใช้สารละลายบัฟเฟอร์แทนสารสกัดตัวอย่างในกลุ่มควบคุมเชิงลบ เติมสารละลายน้ำแป้งร้อยละ 1 โดยน้ำหนัก ปริมาตร 20 ไมโครลิตร จากนั้นทำการเติมสารละลายเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 0.16 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 20 ไมโครลิตร แล้วบ่มที่อุณหภูมิห้อง (25±2°C) เป็นเวลา 5 นาที หยุดปฏิกิริยาด้วยสารละลายกรดไฮโดรคลอริก 1 โมลาร์ ปริมาตร 20 ไมโครลิตร และเติมสารละลายไอโอดีนร้อยละ 1 ปริมาตร 80 ไมโครลิตร จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องไมโครเพลทรีดเดอร์ ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ และนำค่าที่ได้มาคำนวณร้อยละการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและความเข้มข้นที่สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้ร้อยละ 50 (IC_{50})

2.7 การทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นและวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

ทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล จากข้าวพันธุ์ล้นยุ้งและแม่พญาทองดำ ซึ่งดัดแปลงจากวิธีของ สุนิษา และคณะ [31] โดยใช้สารสกัดอย่างละ 0.02 กรัม เพื่อทดสอบสารกลุ่มต่างๆ ที่มีรายงานว่ามีฤทธิ์ทางชีวภาพที่น่าสนใจ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก สารกลุ่มแอลคาลอยด์ ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน แอนทราควิโนน และเทอร์พีนอยด์ นอกจากนี้ยังทำการทดสอบสารกลุ่มกรดอะมิโนและโปรตีนด้วยสารละลายนินไฮดริน [32] และทดสอบสารกลุ่มไขมันโดยดูความโปร่งแสงของกระดาษ

จากนั้นนำสารสกัดหยาบเมทานอลที่จากข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ ซึ่งเป็นตัวอย่างที่พบสารในกลุ่มฟีนอลิก มาวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี Folin-ciocalteu Colorimetric โดยใช้กรดแกลลิก (Gallic Acid) เป็นสารมาตรฐาน [15]

2.8 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

ผลการวิจัยได้จากการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง และคำนวณหาค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.) วิเคราะห์นัยสำคัญทางสถิติทำโดยวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Oneway ANOVA และเปรียบเทียบความแตกต่างของข้อมูลจากตาราง Post Hoc Test ด้วยวิธี Least Significant Different (LSD) ที่ระดับนัยสำคัญ $p < 0.05$

3. ผลการทดลอง

3.1 ผลการเตรียมสารสกัดจากเมล็ดข้าว

จากการนำเมล็ดข้าวพันธุ์ล้นยุ้งและแม่พญาทองดำมาบดเป็นผงละเอียด จากนั้นนำไปสกัดสารที่สนใจ 2 กลุ่ม คือ สารที่เป็นโปรตีนและไม่ใช่โปรตีนได้ผลการวิจัยดังนี้

3.1.1 การสกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์

ทำการสกัดสารจากเมล็ดข้าวพันธุ์ล้นยุ้งและแม่พญาทองดำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดขั้วต่ำ ขั้วกลาง และขั้วสูง โดยใช้เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ผลการวิจัยแสดงดังตารางที่ 1 พบว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนมีร้อยละผลผลิตมากที่สุด รองลงมาคือสารสกัดหยาบเมทานอล และไดคลอโรมีเทน ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าข้าวมีองค์ประกอบของสารกลุ่มที่ไม่มีขั้วหรือมีขั้วต่ำมากที่สุด รองลงมาคือกลุ่มที่มีขั้วค่อนข้างสูง และสารกลุ่มที่มีขั้วกลางพบน้อยที่สุด

ตารางที่ 1 ร้อยละผลผลิตของสารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าวพันธุ์ล้นยุ้งและแม่พญาทองดำ

พันธุ์ข้าว	น้ำหนักข้าว (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ตัวทำละลาย	ร้อยละผลผลิต (%)
ล้นยุ้ง	2000	22.91	Hexane	1.15
		7.93	DCM	0.40
		18.66	MeOH	0.94
นางพญาทองดำ	2000	23.46	Hexane	1.17
		10.18	DCM	0.50
		19.79	MeOH	0.99

3.1.2 การสกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์

การสกัดสารกลุ่มโปรตีนในเมล็ดข้าวโดยใช้สารละลายบัฟเฟอร์เป็นตัวทำละลาย เพื่อรักษาสภาพธรรมชาติของโปรตีนซึ่งมีผลต่อการทำหน้าที่ทางชีวภาพ ผลการวิจัยแสดงดังตารางที่ 2 เมื่อนำสารสกัดหยาบโปรตีนไปวัดปริมาณโปรตีนโดยวิธีแบรดฟอร์ด พบว่าสารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวพันธุ์ล้นยุ้งและแม่พญาทองดำให้ปริมาณโปรตีนต่อน้ำหนักข้าวเท่ากับ 0.06 และ 0.11 มิลลิกรัมต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นว่าข้าวพันธุ์ล้นยุ้งมีปริมาณโปรตีนน้อยกว่าข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ

3.2 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดหยาบ

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ ผลการวิจัยแสดงในตารางที่ 3 ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบเมทานอล และสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนที่ได้จากเมล็ดข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ (IC_{50} เท่ากับ 0.206 และ 0.339 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ) สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าสารสกัดที่ได้จากข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง (IC_{50} เท่ากับ 0.230 และ 0.366 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรตามลำดับ) แต่ทั้งนี้สารสกัดหยาบจากข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารมาตรฐาน BHT ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.066 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ($p<0.05$)

ตารางที่ 2 ผลการวัดปริมาณโปรตีนของสารสกัดหยาโปรตีนที่สกัดด้วยสารละลายบัฟเฟอร์

พันธุ์ข้าว	ล้นยุ้ง	แม่พญาทองดำ
น้ำหนักข้าว (กรัม)	400	400
ปริมาตรสารสกัด (มิลลิลิตร)	31.00	28.00
ความเข้มข้นโปรตีน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	0.81	1.61
ปริมาณโปรตีนทั้งหมด (มิลลิกรัม)	24.80	45.08
ปริมาณโปรตีนต่อน้ำหนักข้าว (มิลลิกรัมต่อกรัม)	0.06	0.11

ตารางที่ 3 ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าว

สารตัวอย่าง	ค่า IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัด Hexane ข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ	0.727^{a}±0.0023
สารสกัด DCM ข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ	0.339^{b}±0.0043
สารสกัด MeOH ข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ	0.206^{c}±0.0074
สารสกัด Hexane ข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง	0.750^{a}±0.0022
สารสกัด DCM ข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง	0.366^{d}±0.0068
สารสกัด MeOH ข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง	0.230^{e}±0.0015
BHT (กลุ่มควบคุมเชิงบวก)	0.066^{f}±0.0005

รายงานข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ย ±S.D และวิเคราะห์นัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

[a] คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

[b, c, d, e, f] คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

3.3 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบโปรตีน และสารสกัดหยาบจากตัวทำละลายอินทรีย์ที่ได้จากเมล็ดข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง และพันธุ์แม่พญาทองดำ แสดงดังตารางที่ 4 พบว่า สารสกัดหยาบเฮกเซน สารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน และสารสกัดหยาบเมทานอล จากข้าวพันธุ์ล้นยุ้งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.468, 0.227 และ 0.108 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดหยาบจากข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.209, 0.844 และ 0.289 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบเมทานอลจากเมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้ดีกว่าสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน และสารสกัดหยาบเฮกเซน นอกจากนี้จะเห็นว่า สารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าวพันธุ์ล้นยุ้งสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลสได้ดีกว่าพันธุ์แม่พญาทองดำ (p<0.05)

ตารางที่ 4 ฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบจากข้าว

สารตัวอย่าง	ค่า IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดโปรตีนข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง	0.209^{a}±0.0263
สารสกัด Hexane ข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง	0.468^{b}±0.0211
สารสกัด DCM ข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง	0.227^{a}±0.0138
สารสกัด MeOH ข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง	0.108^{c}±0.0006
สารสกัดโปรตีนข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ	0.156^{d}±0.0076
สารสกัด Hexane ข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ	1.209^{e}±0.0569
สารสกัด DCM ข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ	0.844^{f}±0.0422
สารสกัด MeOH ข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ	0.289^{g}±0.0006
อะคาโบส (กลุ่มควบคุมเชิงบวก)	0.004^{h}±0.0001

รายงานข้อมูลด้วยค่าเฉลี่ย ±S.D และวิเคราะห์นัยสำคัญทางสถิติที่ p<0.05

[a] คือ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

[b, c, d, e, f, g, h] คือ มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ

ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบโปรตีน พบว่า สารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.156 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวพันธุ์ล้นยุ้งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.209 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร แสดงให้เห็นว่าสารสกัดหยาบโปรตีนของข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้ดีกว่าข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง แต่ทั้งนี้สารสกัดหยาบโปรตีนจากเมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ มีร้อยละการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้น้อยกว่าสารมาตรฐานอะคาโบสซึ่งเป็นยาที่ใช้รักษาผู้ป่วยโรคเบาหวานในปัจจุบัน มีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.004 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (p<0.05)

3.4 ผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้นและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าสารกลุ่มหลักที่พบในสารสกัดหยาบเฮกเซน และสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน ได้แก่ สารกลุ่มเทอร์ปีนอยด์ และไขมัน ในขณะที่สารกลุ่มหลักที่พบในสารสกัดหยาบเมทานอล ได้แก่ สารประกอบ ฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน กรดอะมิโนและโปรตีน ข้อมูลแสดงดังตารางที่ 5 จะเห็นได้ว่าสารสกัดหยาบเมทานอล พบกลุ่มสารที่หลากหลายกว่าซึ่งความหลายหลายของกลุ่มสารที่พบจะส่งผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ดังผลวิจัยที่พบว่า สารสกัดหยาบเมทานอลมีฤทธิ์ดังกล่าวดีกว่าสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน และสารสกัดหยาบเฮกเซน

คณะผู้วิจัยจึงนำสารสกัดหยาบเมทานอลมาวัดปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลจากข้าวพันธุ์ล้นยุ้งมีปริมาณสารฟีนอลิกน้อยกว่าสารสกัดหยาบจากข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำซึ่งมีปริมาณเท่ากับ 3.96 และ 5.63 ไมโครกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของตัวอย่าง ตามลำดับ

ตารางที่ 5 ผลการทดสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์

กลุ่มสาร	ข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง			ข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ		
	Hex	DCM	MeOH	Hex	DCM	MeOH
กรดฟีนอลิก	-	-	+	-	-	+
แอลคาลอยด์	-	-	-	-	-	-
ฟลาโวนอยด์	-	-	-	-	-	+
แอนทราควิโนน	-	-	-	-	-	-
เทอร์พีนอยด์	+	+	+	+	+	+
ซาโปนิน	-	-	+	-	-	+
กรดอะมิโนและโปรตีน	-	-	+	-	-	+
ไขมัน	+	+	-	+	+	-

หมายเหตุ + คือ ตรวจพบที่ 0.02 g ของสารสกัดหยาบ
– คือ ฆตรวจไม่พบที่ 0.02 g ของสารสกัดหยาบ

4. อภิปรายผลและสรุป

จากผลการวิจัยพบว่าการสกัดโปรตีนจากเมล็ดข้าวพันธุ์ลุ้นยุ้ง และพันธุ์แม่พญาทองดำด้วยสารละลายบัฟเฟอร์พีเอช 7.0 ซึ่งเป็นค่าพีเอชที่อยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส [30] และช่วยรักษาสภาพธรรมชาติของโปรตีนได้ดีเนื่องจากไม่เป็นกรดหรือเบสมากจนเกินไป ทั้งนี้โปรตีนที่สกัดได้จะเป็นโปรตีนกลุ่มที่ละลายน้ำและกลุ่มที่ละลายในสารละลายที่มีเกลือ [4] และจากการสกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล จะได้สารสกัดหยาบที่มีสภาพขั้วแตกต่างกัน จากนั้นสารสกัดหยาบทั้งหมดมาใช้เป็นตัวอย่างในงานวิจัย

ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $DPPH^{\bullet}$ และฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบจากเมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าสารสกัดหยาบเมทานอลจากข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ มีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน และสารสกัดหยาบเฮกเซน โดยที่สารสกัดหยาบเมทานอลจากข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำซึ่งเป็นข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงอมดำจะมีฤทธิ์ต้าน อนุมูลอิสระดีกว่าสารสกัดหยาบเมทานอลจากข้าวพันธุ์ล้นยุ้งซึ่งเป็นข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงปนสีขาว โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.206 และ 0.230 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ($p<0.05$) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Walter และคณะ [24] ที่พบว่า ข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ (60.04 มิลลิโมลโทลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่าง) จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง (37.19–68.83 มิลลิโมลโทลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่าง) และข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีน้ำตาล (4.70 มิลลิโมลโทลอกซ์ต่อกรัมของตัวอย่าง) ตามลำดับ ในทางตรงกันข้ามสารสกัดหยาบเมทานอลของข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง (IC_{50} แทน 0.108 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าสารสกัดหยาบเมทานอลของข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ (IC_{50} แทน 0.289 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) แสดงให้เห็นว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงเป็นแหล่งของสารยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสที่ดี ซึ่งสอดคล้องกับรายงานวิจัยของ Premakumara และคณะ [15] ที่พบว่าสารสกัดจากรำข้าวพันธุ์ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดงสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์ได้สูงกว่า สารสกัดจากรำข้าวพันธุ์ที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวสีขาวโดยมีร้อยละการยับยั้งในช่วง 46.57–92.29 และ 6.62–39.71 ตามลำดับ

จากผลการทดสอบสารพฤกษเคมีเบื้องต้น แสดงเห็นว่าสารสกัดหยาบเฮกเซนและสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทนของเมล็ดข้าวทั้ง 2 สายพันธุ์ จะพบสารกลุ่มไขมัน และเทอร์พีนอยด์เป็นองค์ประกอบ ในขณะที่สารสกัดหยาบเมทานอลจะพบสารกลุ่มกรดอะมิโนและโปรตีน ซาโปนิน เทอร์พีนอยด์ ฟลาโวนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิก ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกมีรายงานว่ามีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดี [6], [14], [15], [23] จึงสอดคล้องกับผลการวิจัยฉบับนี้ที่พบว่าสารสกัดหยาบ เมทานอลมีฤทธิ์ดีกว่าสารสกัดหยาบไดคลอโรมีเทน และสารสกัดหยาบเฮกเซน และจากผลการวัดปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม พบว่า สารสกัดหยาบเมทานอลของข้าวแม่พญาทองดำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวมมากกว่าสารสกัดเมทานอลของข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง ทั้งนี้ มีรายงานว่าปริมาณสารประกอบฟีนอลิกจะสัมพันธ์กับสีของเยื่อหุ้มเมล็ดข้าว เช่น Walter และคณะ [24] พบว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีดำ (943.98 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อร้อยกรัมของตัวอย่าง) จะมีปริมาณ

สารประกอบฟีนอลิกมากกว่าข้าวที่มีเยื่อหุ้มเมล็ดสีแดง (478.72–972.99 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อร้อยกรัมของตัวอย่าง) และสีน้ำตาล (65.14 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อร้อยกรัมของตัวอย่าง) ตามลำดับ [24]

จากรายงานวิจัยของ Ramli และ Zin [33] พบว่าข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการขัดสี (0.030 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) จะมีปริมาณโปรตีนที่มีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสมากกว่าข้าวขาวที่ผ่านการขัดสี (0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ซึ่งเป็นผลมาจากความหลากหลายของโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบมีมากกว่าจึงทำให้มีฤทธิ์ทางชีวภาพที่ดีกว่า [33] ในงานวิจัยนี้จึงเลือกข้าวกล้องมาสกัดโปรตีนเพื่อทดสอบฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ซึ่งพบว่าสารสกัดหยาบโปรตีนของข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ (IC_{50} แทน 0.153 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าสารสกัดหยาบโปรตีนของข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง (IC_{50} แทน 0.208 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ระดับนัยสำคัญ $p<0.05$ และสอดคล้องกับปริมาณโปรตีนที่สกัดได้ซึ่งพบว่า เมล็ดข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ (45.08 มิลลิกรัม) มีปริมาณโปรตีนมากกว่าเมล็ดข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง (24.80 มิลลิกรัม) เมื่อใช้น้ำหนักข้าวในปริมาณที่เท่ากัน

จากผลการวิจัยที่ได้สามารถนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ด้านสุขภาพและความงาม โดยนำสารสกัดดังกล่าวมาแยกเป็นสารบริสุทธิ์ และทำการทดสอบสารบริสุทธิ์เพื่อให้ได้ฤทธิ์ทางชีวภาพที่สูงขึ้น นอกจากนี้เกษตรกรผู้ปลูกข้าวพันธุ์พื้นเมืองสามารถนำข้อมูลวิจัยไปอ้างอิงเพื่อเผยแพร่ให้ข้าวพันธุ์พื้นเมืองเป็นที่รู้จักอย่างแพร่หลาย

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยงบสนับสนุนการวิจัย จากกองทุนวิจัย มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ประจำปีงบประมาณ 2561 รวมทั้งขอขอบคุณบุคลากรภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี ช่วยให้งานวิจัยครั้งนี้สำเร็จได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

[1] F. Nasir, S. Shi, L. Tian, C. Chang, L. Ma, X. Li, Y. Gao, and C. Tian, “Strigolactones shape the rhizomicrobiome in rice (*Oryza sativa*),” *Plant Science*, vol. 286, pp. 118–133, June 2019.

[2] L. Amagliani, J. O’Regan, A. L. Kelly, and J. A. O’Mahony, “Composition and protein profile analysis of rice protein ingredients,” *Journal of Food Composition and Analysis*, vol. 59, pp. 18–26, 2017.

[3] T. Wu, L. Wang, Y. Li, H. Qian, L. Liu, L. Tong, X. Zhou, L. Wang, and S. Zhou, “Effect of milling methods on the properties of rice flour and gluten-free rice bread,” *LWT-Food Science and Technology*, vol. 108, pp. 137–144, 2019.

[4] L. Amagliani, J. O'Regan, A. L. Kelly, and J. A. O'Mahony, “The composition, extraction, functionality and applications of rice proteins: A review,” *Trends in Food Science & Technology*, vol. 64, pp. 1–12, 2017.

[5] P. D. Babu, R. S. Subhasree, R. Bhakyaraj, and R. Vidhyalakshmi, “Brown rice-beyond the color reviving a lost health food-a review,” *American-Eurasian Journal of Agronomy*, vol. 2, no. 2, pp. 67–72, 2009.

[6] H. S. Chung and J. C. Shin, “Characterization of antioxidant alkaloids and phenolic acids from anthocyanin-pigmented rice (*Oryza sativa* cv. *Heugjinjubyeo*),” *Food Chemistry*, vol. 104, no. 4, 1670–1677, 2007.

[7] V. Shalini, S. Bhaskar, K. S. Kumar, S. Mohanlal, A. Jayalekshmy, and A. Helen, “Molecular mechanisms of anti-inflammatory action of the flavonoid, tricin from Njavara rice (*Oryza sativa* L.) in human peripheral blood mononuclear cells: possible role in the inflammatory signaling,” *International Immunopharmacology*,

vol. 14, no. 1, pp. 32–38, 2012.

[8] C. Hui, Y. Bin, Y. Xiaoping, Y. Long, C. Chunye, M. Mantian, and L. Wenhua, "Anticancer activities of an anthocyanin-rich extract from black rice against breast cancer cells *in vitro* and *in vivo*," *Nutrition and Cancer*, vol. 62, no. 8, pp. 1128–1136, 2010.

[9] T. Koide, H. Kamei, Y. Hashimoto, T. Kojima, and M. Hasegawa, "Antitumor effect of hydrolyzed anthocyanin from grape rinds and red rice," *Cancer Biotherapy & Radiopharmaceuticals*, vol. 11, no. 4, pp. 273–277, 1996.

[10] J. Tanaka, T. Nakanishi, K. Ogawa, K. Tsuruma, M. Shimazawa, H. Shimoda, and H. Hara, "Purple rice extract and anthocyanidins of the constituents protect against light-induced retinal damage *in vitro* and *in vivo*," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 59, no. 2, pp. 528–536, 2010.

[11] Y. Morimitsu, K. Kubota, T. Tashiro, E. Hashizume, T. Kamiya, and T. Osawa, "Inhibitory effect of anthocyanins and colored rice on diabetic cataract formation in the rat lenses," *In International Congress Series*, vol. 1245, pp. 503–508, 2002.

[12] Y. F. Chen, M. A. Shibu, M. J. Fan, M. C. Chen, V. P. Viswanadha, Y. L. Lin, T. J. Ho, W. W. Kuo, and C. Y. Huang, "Purple rice anthocyanin extract protects cardiac function in STZ-induced diabetes rat hearts by inhibiting cardiac hypertrophy and fibrosis," *The Journal of Nutritional Biochemistry*, vol. 31, pp. 98–105, 2016.

[13] Ardiansyah, H. Shirakawa, T. Koseki, K. Ohinata, K. Hashizume, and M. Komai, "Rice bran fractions improve blood pressure, lipid profile, and glucose metabolism in stroke-prone spontaneously hypertensive rats," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 54, no. 5, pp. 1914–1920, 2006.

[14] C. Lee, D. Han, B. Kim, N. Baek, and B. K. Baik, "Antioxidant and anti-hypertensive activity of anthocyanin-rich extracts from hulless pigmented barley cultivars," *International Journal of Food Science & Technology*, vol. 48, no. 5, pp. 984–991, 2013.

[15] G. A. S. Premakumara, W. K. S. M. Abeysekera, W. D. Ratnasooriya, N. V. Chandrasekharan, and A. P. Bentota, "Antioxidant, anti-amylase and anti-glycation potential of brans of some Sri Lankan traditional and improved rice (*Oryza sativa* L.) varieties," *Journal of Cereal Science*, vol. 58, no. 3, pp. 451–456, 2013.

[16] C. Uraipong and J. Zhao, "Rice bran protein hydrolysates exhibit strong *in vitro* α-amylase, ß-glucosidase and ACE-inhibition activities," *Journal of the Science of Food and Agriculture*, vol. 96, no. 4, pp. 1101–1110, 2016.

[17] P. Hemalatha, D. P. Bomzan, B. V. S. Rao, and Y. N. Sreerama, "Distribution of phenolic antioxidants in whole and milled fractions of quinoa and their inhibitory effects on α-amylase and α-glucosidase activities," *Food chemistry*, vol. 199, pp. 330–338, 2016.

[18] M. Taniguchi, J. Kawabe, R. Toyoda, T. Namae, A. Ochiai, E. Saitoh, and T. Tanaka, "Cationic peptides from peptic hydrolysates of rice endosperm protein exhibit antimicrobial, LPS-neutralizing, and angiogenic activities," *Peptides*, vol. 97, pp. 70–78, 2017.

[19] M. Chalamaiah, W. Yu, and J. Wu, "Immunomodulatory and anticancer protein hydrolysates (peptides) from food proteins: A review," *Food Chemistry*, vol. 245, pp. 205–222, 2018.

[20] T. Wu, X. Guo, M. Zhang, L. Yang, R. Liu, and J. Yin, "Anthocyanins in black rice, soybean and purple corn increase fecal butyric acid and prevent liver inflammation in high fat diet-induced obese mice," *Food & Function*, vol. 8, no. 9, pp. 3178–3186, 2017.

[21] H. Guo, W. Ling, Q. Wang, C. Liu, Y. Hu, M. Xia, x. Feng, and X. Xia, "Effect of anthocyanin-rich extract from black rice (*Oryza sativa* L. *indica*) on hyperlipidemia and insulin resistance in fructose-fed rats," *Plant Foods for Human Nutrition*, vol. 62, no. 1, pp. 1–6, 2007.

[22] A. Abbas, S. Murtaza, F. Aslam, A. Khawar, S. Rafique, and S. Naheed, "Effect of processing on nutritional value of rice (*Oryza sativa*)," *World Journal of Medical Sciences*, vol. 6, no. 2, pp. 68–73, 2011.

[23] H. Ichikawa, T. Ichiyanagi, B. Xu, Y. Yoshii, M. Nakajima, and T. Konishi, "Antioxidant activity of anthocyanin extract from purple black rice," *Journal of Medicinal Food*, vol. 4, no. 4, pp. 211–218, 2001.

[24] M. Walter, E. Marchesan, P. F. S. Massoni, L. P. da Silva, G. M. S. Sartori, and R. B. Ferreira, "Antioxidant properties of rice grains with light brown, red and black pericarp colors and the effect of processing," *Food Research International*, vol. 50, no. 2, pp. 698–703, 2013.

[25] Manager Online. (2013, August 2). *Council of Farmers Organize a Project to Grow Organic Rice for the King to Inherit as a Food Offering*. [Online]. Available: https://mgronline.com/local/ detail/9560000095473.

[26] Talonkhowchaonee. (2018, February 9). *Phaya Mae Thong Dam Fragrant Rice Former Rice, Ancient Herbs, Many Properties*. [Online]. Available: https://www.youtube.com/watch?v=OfwjSAYyMCc.

[27] Adminporn. (2018, July 7). *Kasetvoice*. [Online]. Available: https://www.kasetvoice.com/post/4529.

[28] K. Thipchai. (2018, September 3). *Technologychaoban*. [Online]. Available: https://www.technologychaoban.com/bullet-news-today/article_78564.

[29] F. He, "Bradford protein assay," *Bio-protocol*, vol. 1, no. 6, pp.1–2, 2011.

[30] Z. Xiao, R. Storms, and A. Tsang, "A quantitative starch? Iodine method for measuring alpha-amylase and glucoamylase activities," *Analytical Biochemistry*, vol. 351, no. 1, pp. 146–148, 2006.

[31] S. Suwancharoen, A. Boonmee, P. Arsakhant, P. Phitpoomsakul, R. Ponard, and T. Kasemsuk, "Phytochemical and Larvicidal Activity Against *Culex* sp. Of *Nerium oleander* L. (Pink cultivar) Flowers and Leaves Extracts," *KKU Science Journal*, vol. 45, no. 3, pp. 521–530, 2017 (in Thai).

[32] M. Friedman, "Applications of the ninhydrin reaction for analysis of amino acids, peptides, and proteins to agricultural and biomedical sciences," *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 52, no. 3, pp. 385–406, 2004.

[33] N. S. Ramli and N. H. M. Zin, "Alpha-amylase inhibitory activity of inhibitor proteins in different types of commercial rice," *Science Heritage Journal*, vol. 2, no. 2, pp. 27–29, 2018.