

ผลของความเค็มต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ ของข้าวกล้องงอก*

Effect of salt stress on phenolic, anthocyanin contents and antioxidant activity of germinated brown rice

ศรัณยพร มากทรัพย์ (Sarunyaporn Maksup)**

บทคัดย่อ

ข้าวกล้องงอกมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสำคัญ คือ สารประกอบฟีนอลิก และแอนโทไซยานินในปริมาณที่สูงกว่าข้าวกล้องและข้าวขาวขัดสี และความเค็มมีผลต่อการสังเคราะห์และสะสมสารดังกล่าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการแช่เมล็ดข้าวกล้อง และผลของความเค็มต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอก โดยทำการเปรียบเทียบผลของความเค็มจากเกลือโซเดียมคลอไรด์และเกลือแกงในข้าว 3 พันธุ์ ได้แก่ ปทุมธานี 1 (PT) หอมนิล (HN) และไรซ์เบอร์รี่ (RB) ผลการทดลองพบว่าข้าวกล้องงอกพันธุ์ HN และ RB ซึ่งเมล็ดมีสีม่วงดำมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและแอนโทไซยานินสูงกว่าข้าวพันธุ์ PT ซึ่งเมล็ดมีสีขาว โดยปริมาณสารออกฤทธิ์ทั้งสองเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาที่แช่เมล็ด ความเค็มจากเกลือแกงมีผลเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเมล็ดข้าวกล้องงอกได้เช่นเดียวกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ โดยการแช่เมล็ดข้าวกล้องในสารละลายเกลือแกงความเข้มข้น 2 ซ่อนชาต่อลิตร (12.95 กรัม/ลิตร) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ทำให้ข้าวกล้องงอกพันธุ์ HN มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญ เท่ากับ 0.894 ± 0.135 mg GAE/g FW, 17.256 ± 3.857 mg/L และ 8.543 ± 1.283 μ mol Trolox/g FW ตามลำดับ ดังนั้นการแช่เมล็ดข้าวกล้องในสารละลายเกลือแกงก่อนนำไปหุงเพื่อบริโภค เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารของข้าวกล้องได้

คำสำคัญ: ข้าวกล้องงอก, ความเครียดจากความเค็ม, สารประกอบฟีนอลิก, แอนโทไซยานิน, ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

* การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาในการแช่เมล็ดข้าวกล้อง และผลของความเค็มต่อการเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอก เพื่อประโยชน์ในการเพิ่มมูลค่าและคุณค่าทางอาหารของข้าวไทย

(This study aimed to examine the effect of soaking time and the effect of salt stress on total phenolic contents, anthocyanin contents and antioxidant activity in germinated brown rice in order to add price and nutritional value of Thai rice)

** ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ พระราชวังสนามจันทร์ จังหวัดนครปฐม 73000 (Department of Biology, Silpakorn University, Nakornpathom 73000); E-mail: srypms@yahoo.com

Abstract

Germinated brown rice (GBR) has antioxidant bioactive compounds, such as phenolic compounds and anthocyanin, more than those of white rice. Salt stress affects the synthesis and contents of those compounds. Therefore, this study aimed to examine the effect of soaking time and the effect of salt stress on total phenolic contents, anthocyanin contents and antioxidant activity in GBR. The comparative study of salt stress from household salt and sodium chloride (NaCl) was performed in rice cultivar Pathum Thani 1 (PT), Hom Nil (HN) and Riceberry (RB). The results showed that the black-purple rice (HN and RB) has more phenolic compounds and anthocyanin than the white rice (PT). Those bioactive compounds increase along with the soaking time. Salt stress from household salt can be used to induce the accumulation of bioactive compounds in GBR as well as NaCl. Soaking HN seeds in household salt solution (2 tsp/L or 12.95 g/L) for 24 hours significantly increased the highest contents of phenolic compound and anthocyanin and increased the antioxidant activity by 0.894 ± 0.135 mg GAE/g FW, 17.256 ± 3.857 mg/L, and 8.543 ± 1.283 μ mol Trolox/g FW, respectively. Thus, soaking rice seeds in household salt solution before cooking could be a method to increase the nutritional value of rice.

Key words: germinated brown rice, salt stress, phenolic compounds, anthocyanin, antioxidant activity

บทนำ

ข้าว (*Oryza sativa* L.) เป็นอาหารหลักของประชากรกว่าครึ่งหนึ่งของโลกรวมทั้งประเทศไทย ข้าวยังเป็นแหล่งคาร์โบไฮเดรตและสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ โดยเฉพาะข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการขัดสีพบว่ามีคุณค่าทางอาหารสูงกว่าข้าวขาวหรือข้าวขัดสีมาก ปัจจุบันผู้บริโภคจึงนิยมรับประทานข้าวกล้องมากขึ้น ข้าวกล้องมีสารอาหารสำคัญ ได้แก่ วิตามินซี วิตามินอี วิตามินบี 1 วิตามินบี 2 วิตามินบี 6 แคลเซียม แมกนีเซียม ไฟโตสเตอรอล (phytosterols) ไทรซิน (tricin) และสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น สารประกอบฟีนอลิก (phenolics) และแอนโทไซยานิน (anthocyanin) ในปริมาณสูงกว่าข้าวที่ผ่านการขัดสี (Tian et al., 2004; Leardkamolkarn et al., 2011; Liu et al., 2015) นอกจากนี้พบว่าข้าวกล้องพันธุ์ที่เมล็ดมีสีมีปริมาณแอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก แกมมาออโรซานอล สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพอื่นๆ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าพันธุ์ที่เมล็ดไม่มีสี (Chakuton et al., 2012; Chen et al., 2012; Moko et al., 2014)

จากรายงานวิจัยพบว่า สามารถเพิ่มคุณค่าทางอาหารหรือเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเมล็ดข้าวกล้องได้โดยการนำไปผ่านกระบวนการแช่น้ำเพื่อให้ได้เป็นข้าวกล้องงอก ข้าวกล้องที่ผ่านกระบวนการงอกมักมีสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น แอนโทไซยานิน สารประกอบฟีนอลิก และแกมมาอะมิโนบิวทิริกแอซิด (gamma aminobutyric acid; GABA) สูงกว่าข้าวกล้องปกติ (Sutharut and Sudarat, 2012;

Ratthanatham et al., 2013; Cornejo et al., 2015) จากการศึกษาข้าว 9 พันธุ์ โดยแบ่งข้าวเป็น 4 กลุ่ม คือ ข้าวที่มีเมล็ดสีขาว สีเขียว สีแดง และสีดำ พบว่าเมล็ดข้าวที่มีสีต่างกันจะมีปริมาณและชนิดของแอนโทไซยานินแตกต่างกัน โดยข้าวสีดำมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด รองลงมาคือข้าวสีแดง ส่วนข้าวสีเขียวและสีขาวมีปริมาณแอนโทไซยานินน้อยมาก (Chen et al., 2012) แอนโทไซยานินมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระที่ดีทำให้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง (Nam et al., 2006) จึงมีประโยชน์ต่อร่างกายหลายประการ เช่น ป้องกันการเกิดโรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคหลอดเลือด และโรคหัวใจ เป็นต้น (Bellido et al., 2009; Sompong et al., 2011) ดังนั้นการบริโภคข้าวกล้องงอกที่เมล็ดมีสีจึงมีประโยชน์สูงกว่าการรับประทานข้าวกล้องปกติ อย่างไรก็ตามพบว่าข้าวแต่ละพันธุ์ใช้ระยะเวลาในการแช่เมล็ดเพื่อให้งอกและสร้างสารออกฤทธิ์ให้ได้ปริมาณที่สูงขึ้นแตกต่างกัน จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมของข้าวแต่ละชนิด

มีการศึกษาพบว่าความเค็มหรือการเพาะเมล็ดข้าวกล้องในน้ำเกลือสามารถช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกแอนโทไซยานินและฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องงอกได้อย่างมีนัยสำคัญ (Chutipajit et al., 2009; Daiponmak et al., 2014; Umnajkitikorn et al., 2013; Thammapat et al., 2015) แต่จากงานวิจัยที่ผ่านมาไม่สามารถนำมาใช้ในชีวิตประจำวันได้เนื่องจากเกลือที่ใช้เป็นเกลือโซเดียมคลอไรด์สำหรับการทดลองซึ่งไม่เหมาะต่อการรับประทาน อีกทั้งยังรายงานความเข้มข้นเป็นหน่วยมิลลิโมลาร์ ซึ่งอาจยุ่งยากต่อการนำมาประยุกต์ใช้จริง ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงสนใจศึกษาผลของระยะเวลาในการแช่เมล็ดข้าวกล้องและผลของความเค็มต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในข้าวกล้องงอกของข้าว 3 พันธุ์ที่มีสีแตกต่างกัน ได้แก่ ข้าวปทุมธานี 1 (PT) ข้าวหอมนิล (HN) และข้าวไรซ์เบอร์รี่ (RB) โดยใช้เกลือแกงสำหรับบริโภค (ซ็อนชาต่อลิตร) เปรียบเทียบกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ (มิลลิโมลาร์) ในการเพาะเมล็ดข้าวกล้อง เพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าและคุณค่าทางสารอาหารให้แก่ข้าวกล้อง และสามารถนำไปประยุกต์ใช้ได้จริงในชีวิตประจำวัน

วิธีการวิจัย

การเพาะเมล็ดข้าวกล้องงอก

เตรียมเมล็ดข้าวกล้องงอกโดยการนำเมล็ดข้าวเปลือกพันธุ์ปทุมธานี 1 (PT) หอมนิล (HN) และไรซ์เบอร์รี่ (RB) ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากศูนย์วิจัยข้าวปทุมธานี และศูนย์วิทยาศาสตร์ข้าว มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ มาวางแผนการทดลองแบบ Completely randomized design (CRD) โดยแบ่งเป็น 2 การทดลอง การทดลองที่ 1 นำเมล็ดข้าวกล้องที่แกะเปลือกออกมาแช่น้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ในจานแก้ว (petri dish) เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 0, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง เพื่อศึกษาผลของระยะเวลาการแช่เมล็ดข้าวกล้องในน้ำกลั่นต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานิน ส่วนการทดลองที่ 2 ศึกษาผลของความเค็มต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ โดยการแช่เมล็ดข้าวกล้องในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ความเข้มข้น 0, 50, 100 และ 150 มิลลิโมลาร์ เปรียบเทียบกับแช่ในสารละลายเกลือแกง (เกลือปรงทิพย์) ความเข้มข้น 0, 0.5, 1, 2 และ 3 ซ็อนชาต่อลิตร (เทียบเท่ากับ 0, 3.19, 6.40, 12.95 และ 20.46 กรัมต่อลิตร) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเมล็ดข้าวกล้องงอกไปวิเคราะห์ทางชีวเคมีต่อไป

การเตรียมสารสกัดจากเมล็ดข้าว

นำเมล็ดข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกมาสกัดโดยดัดแปลงวิธีการของ Sutharut and Sudarat (2012) ซึ่งมีวิธีโดยย่อดังนี้ บดเมล็ดข้าวตัวอย่างหนัก 0.25 กรัม ให้ละเอียด และใส่ลงในหลอดไมโครทิวบ์ขนาด 1.5 มิลลิลิตร เติมเมทานอล 1 มิลลิลิตร นำไปแช่ 30 วินาที แล้วไขในอ่างควบคุมอุณหภูมิที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที โดยนำออกมาแช่ทุก 10 นาที จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 13,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ตู้นำสารละลายส่วนใสมาเก็บไว้และปรับปริมาตรด้วยเมทานอลเป็น 5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส (ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง)

การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ด้วยวิธีการซึ่งดัดแปลงมาจากวิธีการของ Singleton and Rossi (1965) โดยการนำสารสกัดตัวอย่างข้าวปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับ 10% Folin-Ciocalteu reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปไว้ในที่มืด 1 นาที จากนั้นเติม 7.5% โซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรรวมด้วยน้ำกลั่นเป็น 4 มิลลิลิตร วางพักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer ยี่ห้อ HITACHI รุ่น U-1900 spectrophotometer นำค่าที่ได้เทียบกับกราฟมาตรฐานของสารประกอบฟีนอลิก (gallic acid) โดยทำการวิเคราะห์ซ้ำตัวอย่างละ 3 ครั้ง คำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในรูปแบบมิลลิกรัมของ Gallic acid equivalents (GAE) ต่อกรัมของน้ำหนักสดของตัวอย่างข้าว ซึ่งมีหน่วยเป็น mg GAE/g FW

การวิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

วิเคราะห์ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging โดยดัดแปลงมาจากวิธีการของ Sutharut and Sudarat (2012) และ Sompong et al. (2011) โดยนำสารละลายมาตรฐาน trolox ความเข้มข้น 0.5 มิลลิโมลาร์ และสารสกัดข้าวปริมาตร 0, 25, 50, 100 และ 200 ไมโครลิตร มาทำปฏิกิริยากับสารละลาย DPPH 0.5 มิลลิลิตร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 515 นาโนเมตร (OD_{t_0}) จากนั้นทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำกลับมาวัดค่าการดูดกลืนแสงอีกครั้ง ($OD_{t_{30}}$) ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง หลังจากนั้นทำการคำนวณหาร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% DPPH inhibition) ซึ่งมีค่าดังนี้

$$\% \text{ DPPH inhibition} = (OD_{t_0} - OD_{t_{30}} / OD_{t_0}) \times 100$$

โดยที่ OD_{t_0} คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ 0 นาที

$OD_{t_{30}}$ คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดที่ 30 นาที

จากนั้นสร้างกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของสารสกัดข้าวหรือสารมาตรฐาน trolox กับ ค่าร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ DPPH แล้วคำนวณหาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวเทียบกับ สารมาตรฐาน trolox หรือค่า TEAC (Trolox Equivalents Antioxidant Capacity) ซึ่งมีหน่วยเป็น $\mu\text{mol trolox/g FW}$ โดยการนำค่าความชันของกราฟการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารสกัดข้าวหารด้วยค่าความชันของ กราฟการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารมาตรฐาน trolox

การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานิน

วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินโดยดัดแปลงตามวิธีการของ Lee et al. (2005) และ Sutharut and Sudarat (2012) โดยนำสารสกัดข้าว 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง 2 หลอด หลอดที่ 1 เติมน้ำละลาย potassium chloride buffer ที่มีค่า pH 1.0 ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร หลอดที่ 2 เติมน้ำละลาย sodium acetate buffer ที่มีค่า pH 4.5 ปริมาตร 4.5 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ 15 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดแสงที่ความยาว คลื่น 510 นาโนเมตร และ 700 นาโนเมตร โดยใช้เครื่อง UV-VIS spectrophotometer ยี่ห้อ HITACHI รุ่น U-1900 spectrophotometer และใช้ Cyanidin-3-O-glucoside เป็นสารมาตรฐาน นำค่าการดูดกลืนแสงมา คำนวณปริมาณแอนโทไซยานินรวมตามวิธีของ Chaovanalikit (2011) ซึ่งมีหน่วยเป็นมิลลิกรัมต่อลิตรของสาร สกัดข้าว (mg/L)

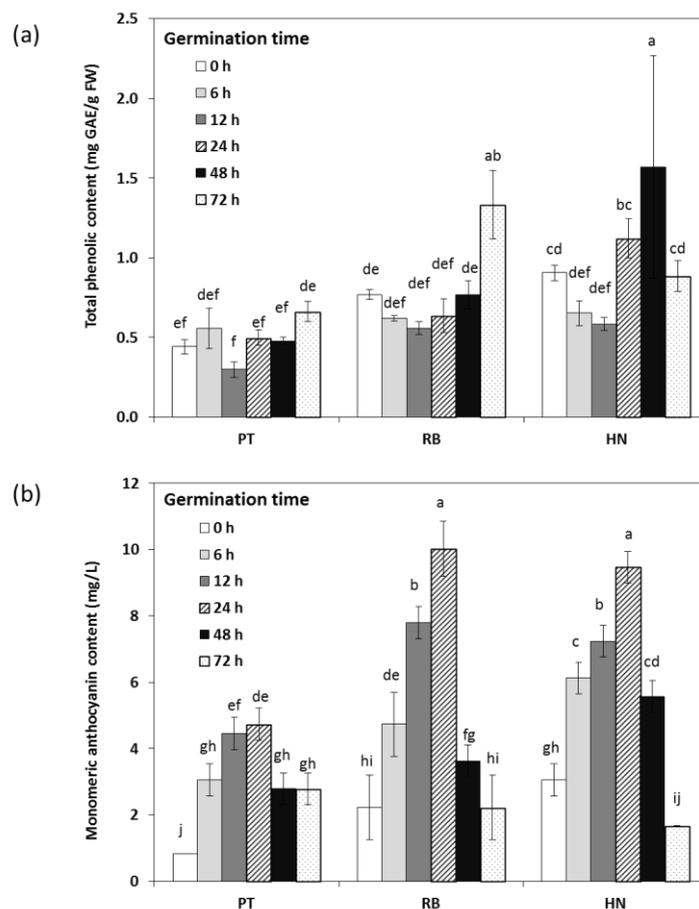
การวิเคราะห์ทางสถิติ

ผลแตกต่างทางสถิติของค่าเฉลี่ยและค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานถูกวิเคราะห์ด้วยสถิติ One way ANOVA และ Post Hoc tests ด้วยวิธี Duncan's Multiple Range Tests (DMRT) ของ Software SPSS V.14.0

ผลและอภิปรายผลการวิจัย

ผลการศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและปริมาณแอนโทไซยานินในสารสกัดจากเมล็ดข้าว กล้องและข้าวกล้องงอกของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 (PT) ไรซ์เบอร์รี่ (RB) และหอมนิล (HN) เมื่อเพาะในน้ำกลั่นเป็น ระยะเวลา 0, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง พบว่าการแช่เมล็ดข้าวกล้องตั้งแต่ 24 ชั่วโมงขึ้นไปทำให้เมล็ดข้าว กล้องมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ โดยเห็นผลชัดเจนในเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์ HN และ RB ขณะที่พันธุ์ PT เห็นผลไม่ชัดเจน ซึ่งเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์ HN ที่แช่ในน้ำเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง มี ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.570 ± 0.697 mg GAE/g FW (เพิ่มขึ้น 1.7 เท่าจาก เริ่มต้น) และเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์ RB ที่แช่ในน้ำเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูง ที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.333 ± 0.216 mg GAE/g FW (เพิ่มขึ้น 1.7 เท่าจากเริ่มต้น) (รูปที่ 1a) สอดคล้องกับ งานวิจัยของพัชราภรณ์ และคณะ (2556) ที่พบว่าเมื่อแช่เมล็ดข้าวกล้องพันธุ์ HN เป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง สามารถทำให้ข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงสุด (ประมาณ 0.47 mg GAE/g FW) และ สอดคล้องกับ Caceres et al. (2014) และ Moongngarm and Khomphiphatkul (2011) ซึ่งพบว่าข้าวกล้อง งอกที่เพาะในน้ำเป็นระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่ม สูงขึ้นในทุกสายพันธุ์และสูงกว่าข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการงอก โดยฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมีความสัมพันธ์เชิงบวก กับปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม

เมล็ดข้าวกล้องที่ผ่านการแช่น้ำเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง มีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุดอย่างมีนัยสำคัญในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ คือ RB, HN และ PT โดยมีค่าเท่ากับ 10.019 ± 0.835 , 9.462 ± 0.482 และ 4.732 ± 0.482 mg/L ตามลำดับ (รูปที่ 1b) โดยเพิ่มขึ้นเป็น 4.5, 3.1 และ 5.7 เท่าจากเริ่มต้น สอดคล้องกับ Sutharut and Sudarat (2012) ซึ่งพบว่าการแช่เมล็ดข้าวเป็นเวลา 24 ชั่วโมง มีผลให้เมล็ดมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงขึ้น จากผลการทดลองนี้พบว่าข้าวพันธุ์ RB และ HN ซึ่งเมล็ดมีสีม่วงดำมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงกว่าข้าวพันธุ์ PT ซึ่งเมล็ดมีสีขาว สอดคล้องกับ Rattanachaisit and Kongkiattikajorn (2015) ซึ่งพบว่าข้าวพันธุ์ HN และ RB ประกอบไปด้วยแอนโทไซยานิน 3 ชนิด คือ cyanidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside และ delphinidin-3-glucoside โดยมีปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมดเท่ากับ $1,937 \pm 78.6$ และ $1,719 \pm 44.2$ $\mu\text{g/g}$ ซึ่งสูงกว่าข้าวเสาไห้ซึ่งมีสีขาว (12 ± 3.6 $\mu\text{g/g}$) อย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากการแช่เมล็ดข้าวกล้องในน้ำเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง สามารถทำให้เมล็ดข้าวกล้องมีปริมาณแอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอลิกรวมสูงขึ้น อีกทั้งลักษณะเมล็ดข้าวกล้องเมื่อแช่น้ำกลายเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง เหมาะสำหรับการนำไปหุงเพื่อบริโภคมากกว่าที่ระยะเวลา 48 และ 72 ชั่วโมง (รูปที่ 2) ดังนั้นในการทดลองเรื่องผลของความเค็มจึงใช้ระยะเวลาในการแช่เมล็ดข้าวกล้องในสารละลายโซเดียมคลอไรด์และเกลือแกงเป็น 24 ชั่วโมง



รูปที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (a) และปริมาณแอนโทไซยานิน (b) ในสารสกัดจากเมล็ดข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 (PT) ไรซ์เบอร์รี่ (RB) และหอมนิล (HN) เมื่อเพาะในน้ำกลั่นเป็นระยะเวลา 0, 6, 12, 24, 48 และ 72 ชั่วโมง



รูปที่ 2 ลักษณะเมล็ดข้าวกล้องภายหลังจากแช่ในน้ำกลั่นเป็นระยะเวลา 0 (a), 24 (b), 48 (c) และ 72 (d) ชั่วโมง

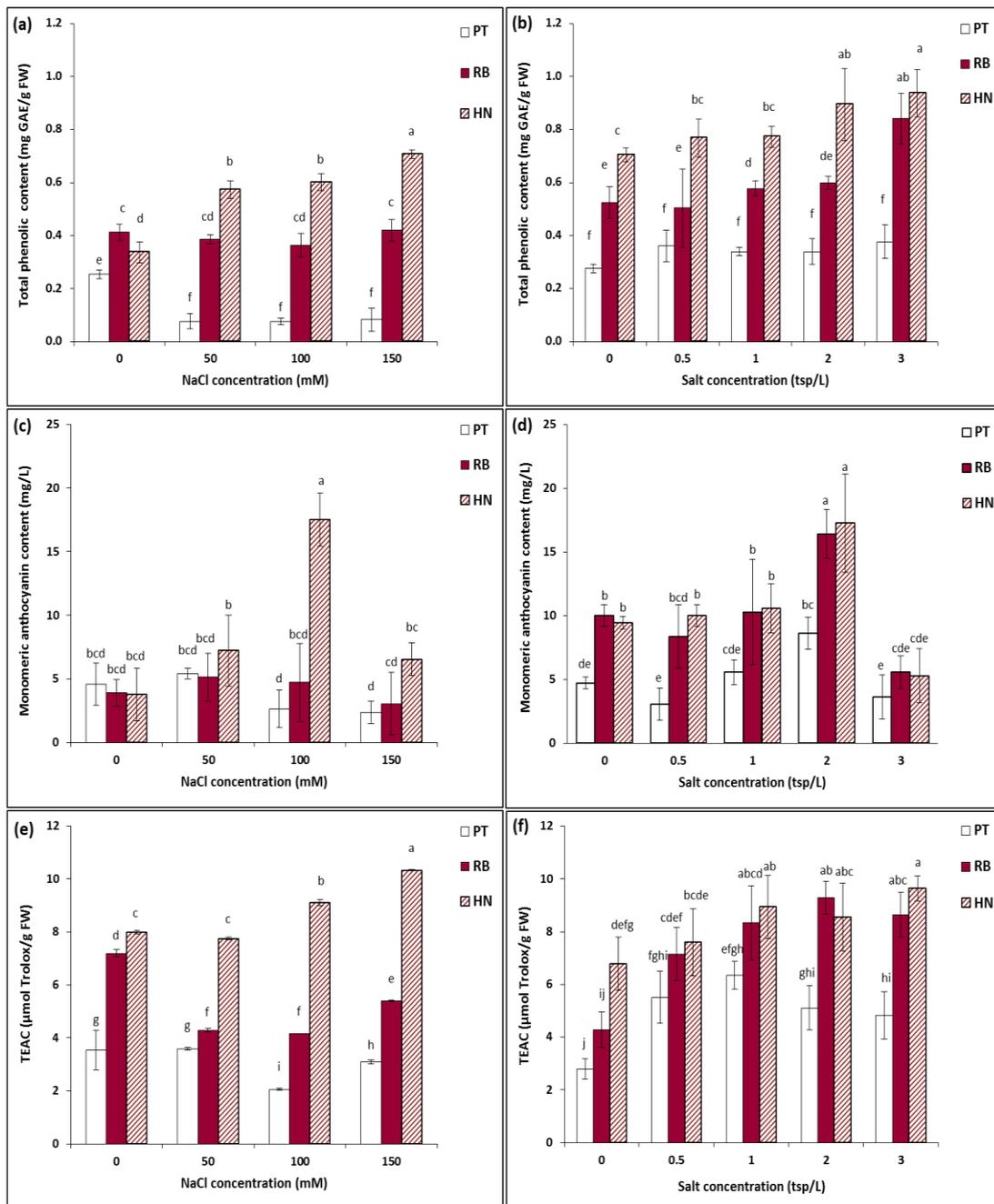
จากการศึกษาผลของความเค็มต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม ปริมาณแอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging พบว่าการแช่เมล็ดข้าวกล้องในสารละลายโซเดียมคลอไรด์และเกลือแกงเป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง สามารถกระตุ้นให้เมล็ดข้าวกล้องงอกมีสารประกอบฟีนอลิกรวม แอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้นของโซเดียมคลอไรด์หรือเกลือแกง โดยเฉพาะในข้าวกล้องงอกพันธุ์ HN ให้ผลดีกว่าอีกสองพันธุ์ (รูปที่ 3) โดยสารละลายเกลือแกงความเข้มข้น 3 ซ่อนชาต่อลิตร ทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมเพิ่มขึ้นสูงสุด (เพิ่มขึ้น 1.3 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม) และสูงกว่าการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ ในข้าวทั้ง 3 พันธุ์ (รูปที่ 3a และ 3b) สอดคล้องกับ Umnajkitikorn et al. (2013) ซึ่งรายงานว่า การแช่เมล็ดข้าวกล้องในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 และ 150 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง สามารถกระตุ้นให้เมล็ดข้าวกล้องงอกมีการสร้างและสะสมสารประกอบฟีนอลิกรวม และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นในข้าวพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดได้อย่างมีนัยสำคัญ และมีรายงานว่าความเค็มจากโซเดียมคลอไรด์ยังมีผลเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมในเมล็ดข้าวพันธุ์อื่น เช่น ข้าวเหนียว กข6, ข้าวดอกมะลิ 105 และก่ำดอยสะเก็ด โดยใช้ความเข้มข้นและระยะเวลาในการแช่แตกต่างกันไปในข้าวแต่ละพันธุ์ (Daiponmak et al., 2014; Thammapat et al., 2015)

ส่วนปริมาณแอนโทไซยานิน พบว่ามีค่าสูงสุดในเมล็ดข้าวพันธุ์ HN ที่เพาะในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ และในสารละลายเกลือแกงความเข้มข้น 2 ซ่อนชาต่อลิตร (เพิ่มขึ้น 4.7 และ 1.8 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม) (รูปที่ 3c และ 3d) นอกจากนี้พบว่าเมล็ดข้าวกล้องงอกพันธุ์ HN มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงสุด เมื่อเพาะเมล็ดข้าวกล้องในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 150 มิลลิโมลาร์ (เพิ่มขึ้น 1.3 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม) และในสารละลายเกลือแกงความเข้มข้น 3 ซ่อนชาต่อลิตร (เพิ่มขึ้น 1.4 เท่าเมื่อเทียบกับชุดควบคุม) (รูปที่ 3e และ 3f) จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่าความเค็มจากเกลือแกงมีผลเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระของเมล็ดข้าวกล้องงอกได้เช่นเดียวกับเกลือโซเดียมคลอไรด์ อย่างไรก็ตามพบว่าสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพแต่ละชนิดมีการเพิ่มขึ้นในปริมาณที่แตกต่างกันในข้าวแต่ละพันธุ์

ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเกลือแกลมีส่วนประกอบอื่นที่ไม่ใช่โซเดียมคลอไรด์ปนอยู่ด้วย อีกทั้งชนิดพันธุ์ข้าวที่ต่างกัน อาจมีกลไกในการตอบสนองต่อความเค็มที่ต่างกัน จึงให้ผลการตอบสนองที่แตกต่างกันนั่นเอง

จากงานวิจัยพบว่าความเค็มเป็นปัจจัยทางสิ่งแวดล้อมที่ส่งผลต่อความเครียดของพืช โดยภายใต้สภาวะความเครียดจากความเค็ม พืชจะมีการตอบสนองเพื่อป้องกันการสูญเสียน้ำและการปรับตัวให้สามารถเจริญเติบโตต่อไปได้โดยอาศัยการสะสมสารบางชนิด เช่น พอลิเอมีน โพรลีน รวมถึงสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น แอนโทไซยานิน เพื่อปรับสมดุลออกซิเดติกในเซลล์และป้องกันเซลล์จากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ทำให้พืชสามารถทนต่อความเครียดจากความเค็มได้ (Chutipaijit et al., 2009) Daiponmak et al. (2014) ทำการศึกษาผลของความเค็มต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวเก่า ข้าวเก่าทอดสะเด็ด ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวสินเหล็กที่ปลูกแบบ hydroponic โดยได้รับธาตุอาหารที่มีความเข้มข้นของเกลือโซเดียมคลอไรด์ 60 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 11 วัน พบว่าข้าวมีปริมาณแอนโทไซยานิน (cyanidin-3-glucoside) สารประกอบฟีนอลิกรวม และสารต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับข้าวที่ไม่ได้รับเกลือ ในทำนองเดียวกันกับงานวิจัยของ Chutipaijit et al. (2011) ที่พบว่าเมื่อเพาะเมล็ดข้าวพันธุ์สังข์หยด กุหลาบแดง เขาแดง และ TD 49 ในอาหารเหลวที่เติมโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 100 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 4 วัน มีปริมาณแอนโทไซยานิน และโพรลีนเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ จากผลการทดลองรูปที่ 3 ยังแสดงให้เห็นอีกว่าข้าวกล้องงอกพันธุ์ HN และ RB ซึ่งเมล็ดมีสีม่วงดำ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าพันธุ์ PT ซึ่งเมล็ดมีสีขาว สอดคล้องกับงานวิจัยซึ่งพบว่าข้าวกล้องที่มีสีดำและสีแดง มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าในข้าวกล้องสีเขียวและสีขาว (Chen et al., 2012)

การทดลองผลของความเค็มต่อปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในเมล็ดข้าวส่วนใหญ่มักใช้โซเดียมคลอไรด์ในการทดลอง ซึ่งมีรายงานความเข้มข้นในหน่วยมิลลิโมลาร์ ทำให้การนำไปประยุกต์ใช้ในการเพิ่มคุณค่าทางอาหารในครัวเรือนเป็นเรื่องยาก ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงมีการนำเกลือแกล (เกลือปรุงทิพย์) ซึ่งมีขายทั่วไปในท้องตลาดมาทำการทดลองเพื่อเปรียบเทียบกับการใช้โซเดียมคลอไรด์ ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เกลือแกลสามารถนำมาใช้เตรียมสารละลายในการแช่เมล็ดข้าวกล้องเพื่อเพิ่มปริมาณสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้เช่นเดียวกับการใช้โซเดียมคลอไรด์ โดยพบว่าการแช่ข้าวกล้องในสารละลายเกลือแกล ความเข้มข้น 2 ซ่อนชาต่อลิตร ทำให้เมล็ดข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าหรือเท่ากับการแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 50-150 มิลลิโมลาร์ (รูปที่ 3) ดังนั้นการแช่เมล็ดข้าวกล้องในสารละลายเกลือแกลความเข้มข้น 2 ซ่อนชาต่อลิตร ก่อนนำไปหุงเพื่อบริโภค เป็นอีกวิธีหนึ่งที่สามารถช่วยเพิ่มคุณค่าทางอาหารของข้าวได้



รูปที่ 3 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม (a, b) ปริมาณแอนโทไซยานิน (c, d) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (e, f) ของสารสกัดจากเมล็ดข้าวกล้องและข้าวกล้องงอกของข้าวพันธุ์ปทุมธานี 1 (PT) ไรซ์เบอร์รี่ (RB) และหอมนิล (HN) เมื่อเพาะในสารละลายโซเดียมคลอไรด์ (a, c, e) และเกลือแกง (b, d, f) เป็นระยะเวลา 24 ชั่วโมง

สรุปผล

การแช่เมล็ดข้าวกล้องในน้ำช่วยเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและแอนโทไซยานินของเมล็ดข้าวกล้องงอก โดยระยะเวลาการแช่เมล็ดที่เหมาะสมคือ 24 ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่า การเพาะเมล็ดข้าวกล้องในสารละลายเกลือแกงความเข้มข้น 2 ซ้อนชาต่อลิตร ทำให้ข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม แอนโทไซยานิน และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าหรือเท่ากับ การแช่ในสารละลายโซเดียมคลอไรด์

เอกสารอ้างอิง

ภาษาไทย

พัชรภรณ์ รัตนธรรม, ณีฐฐา เลาทกุลจิตต์ และอรพิน เกิดชูชื่น. (2556). “สารประกอบฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และสมบัติการต้านอนุมูลอิสระของข้าวกล้องสีงอก.” *Agricultural Science*, 44(2): 441-444.

ภาษาต่างประเทศ

Bellido, G.G. and Beta, T. (2009). “Anthocyanin composition and oxygen radical scavenging capacity (ORAC) of milled and pearled purple, black, and common barley.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57: 22-28.

Caceres, P.J., Martínez-Villaluenga, C., Amigo, L., and Frias, J. (2014). “Maximising the phytochemical content and antioxidant activity of Ecuadorian brown rice sprouts through optimal germination conditions.” *Food Chemistry*, 152: 407-414.

Chakuton, K., Puangpronpitag, D., and Nakornriab, M. (2012). “Phytochemical content and antioxidant activity of colored and non-colored Thai rice cultivars.” *Asian Journal of Plant Sciences*, 11(6): 283-293.

Chaovanalikit, A. (2011). “Extraction and analysis of anthocyanin.” *Srinakharinwirot University Journal of Science and Technology*, 3(6): 26-36.

Chen, X.Q., Nagao, N., Itani, T., and Irifune, K. (2012). “Anti-oxidative analysis, and identification and quantification of anthocyanin pigments in different coloured rice.” *Food Chemistry*, 135: 2783-2788.

Chutipajit, S., Cha-um, S., and Sompornpailin, K. (2009). “Differential accumulations of proline and flavonoids in indica rice varieties against salinity.” *Journal of Botany*, 41(5): 2497-2506.

Chutipajit, S., Cha-um, S., and Sompornpailin, K. (2011). “High contents of proline and anthocyanin increase protective response to salinity in *Oryza sativa* L. spp. Indica.” *Australian Journal of Crop Science*, 5(10): 1191-1195.

Cornejo, F., Caceres, P.J., Martínez-Villaluenga, C., Rosell, C.M., and Frias, J. (2015). “Effects of germination on the nutritive value and bioactive compounds of brown rice breads.” *Food Chemistry*, 173: 298-304.

Daiponmak, W., Senakun, C., and Siriamornpun, S. (2014). “Antiglycation capacity and antioxidant activities of different pigmented Thai rice.” *International Journal of Food Science and Technology*, 49(8): 1805-1810.

- Leardkamolkarn, V., Thongthep, W., Suttiarporn, P., Kongkachuichai, R., Wongpornchai, S., and Wanavijitr, A. (2011). "Chemopreventive properties of the bran extracted from a newly-developed Thai rice: The Riceberry." *Food Chemistry*, 125(3): 978-985.
- Lee, J., Durst, R.W., and Wrolstad, R.E. (2005). "Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: Collaborative study." *Journal of AOAC International*, 88(5): 1269-1278.
- Liu, L., Guo, J., Zhang, R., Wei, Z., Deng, Y., Guo, J., and Zhang, M. (2015). "Effect of degree of milling on phenolic profiles and cellular antioxidant activity of whole brown rice." *Food Chemistry*, 185: 318-325.
- Moko, E.M., Purnomo, H., Kusnadi, J., and Ijong, F.G. (2014). "Phytochemical content and antioxidant properties of colored and non colored varieties of rice bran from Minahasa, North Sulawesi, Indonesia." *International Food Research Journal*, 21(3): 1053-1059.
- Moongngarm, A. and Khomphiphatkul, E. (2011). "Germination time dependence of bioactive compounds and antioxidant activity in germinated rough rice (*Oryza sativa* L.)." *American Journal of Applied Sciences*, 8(1): 15-25.
- Nam, S.H., Choi, S.P., Kang, M.Y., Koh, H.J., Kozukue, N., and Friedman, M. (2006). "Antioxidative activities of bran extracts from twenty one pigmented rice cultivars." *Food Chemistry*, 94(4), 613-620.
- Rattanachaisit, P., and Kongkiattikajorn, J. (2015). "Antioxidative activities of bran extracts from pigmented rice cultivars." *The International Conference on Herbal and Traditional Medicine*, 11: 33-42.
- Ratthanatham, P., Laohakunjit, N., and Kerdchoechuen, O. (2013). "Phenolic compound, anthocyanin and antioxidant activity of germinated colored rice." *Agricultural Science Journal*, 44(2): 441-444.
- Singleton, V.L., and Rossi, J.R. (1965). "Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents." *American Journal of Enology and Viticulture*, 16: 144-157.
- Sompong, R., Siebenhandl-Ehn, S., Linsberger-Martin, G., and Berghofer, E. (2011). "Physicochemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka." *Food Chemistry*, 124(1): 132-140.
- Sutharut, J. and Sudarat, J. (2012). "Total anthocyanin content and antioxidant activity of germinated colored rice." *International Food Research Journal*, 19(1): 215-221.

- Thammapat, P., Meeso, N., and Siriamornpun, S. (2015). “Effects of NaCl and soaking temperature on the phenolic compounds, α -tocopherol, γ -oryzanol and fatty acids of glutinous rice.” *Food Chemistry*, 175: 218-224.
- Tian, S., Nakamura, K., and Kayahara, H. (2004). “Analysis of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice.” *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15): 4808-4813.
- Umnajkitikorn, U., Faiyue, B., and Saengnil, K. (2013). “Enhancing antioxidant properties of germinated Thai rice (*Oryza sativa* L.) cv. Kum Doi Saket with salinity.” *Journal of Rice Research*, 1: 1–8.