

# สารกาบ้า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากข้าว

## GABA, Total Phenolic Contents and Antioxidant Activities of Rice Products

จิราภรณ์ กระแสเทพ<sup>1</sup>, มารตรี เปลี้นศิริชัย<sup>2</sup>, มันทนา นครเรียบ<sup>3</sup>  
Jiraporn Krasaetep<sup>1</sup>, Maratree Plainsirichai<sup>2</sup>, Muntana Nakornriab<sup>3</sup>

### บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของการทำวิจัยในครั้งนี้ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารกาบ้า สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging และ Ferric Reducing Power Assay (FRAP) ของผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากข้าว 6 ชนิด ได้แก่ ข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมจีน ขนมจีนข้าวกล้องงอก และขนมจีนข้าวกล้องงอกอบแห้ง โดยใช้สารละลายเมทานอลสกัด จากผลการทดลองพบว่า ในชั้นสารสกัดเมทานอล ข้าวกล้องมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด (0.4352±0.03 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดสด) ข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารกาบ้าสูงที่สุด (52.09±0.52 มิลลิกรัมของกาบ้าต่อกรัมของสารสกัดสด) ขนมจีนข้าวกล้องงอกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด ซึ่งรายงานผลเป็นค่า IC<sub>50</sub> (0.0043 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และข้าวกล้องมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) สูงที่สุด (6.695±44.49 มิลลิโมลของเหล็กต่อกรัมของสารสกัดสด)

**คำสำคัญ:** ข้าวกล้องงอก ขนมจีน สารกาบ้า ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

### Abstract

The objectives of this research were to investigate the GABA ( $\gamma$ -aminobutylic acid), total phenolic contents and antioxidant activities using DPPH radical scavenging and FRAP assay of 6 type of rice products, brown rice, germinated brown rice, rice noodle, germinated brown rice noodle and dry germinated brown rice noodle. The solvent used for extraction was methanol. The results indicated that the brown rice extract had the highest total phenolic content (0.4352±0.03 mg GAE/g of fresh weight). Whereas, the germinated brown rice showed the highest GABA content (52.09±0.52 mg

<sup>1,3</sup> นิสิตปริญญาโท, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, <sup>2</sup>รองศาสตราจารย์ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม 44150

<sup>1</sup>Master degree student, Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand. <sup>2</sup>Associate Professor, Department of Agricultural Technology, Faculty of Technology, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand. <sup>3</sup>Assistant Professor, Department of Chemistry, Faculty of Science, Mahasarakham University, Kantharawichai District, Maha Sarakham 44150, Thailand. Corresponding author: [muntana.c@msu.ac.th](mailto:muntana.c@msu.ac.th)

GABA/g of fresh weight). For the antioxidant activity, the germinated brown rice noodle showed the highest potential in scavenging DPPH radicals calculated in terms of  $IC_{50}$  (0.0043 mg/mL). In contrast, the brown rice showed the highest FRAP value ( $6.695 \pm 44.49$  mM Fe(II) /g of fresh weight).

**Keywords:** germinated brown rice, rice noodle, GABA, antioxidant activity

## บทนำ

ข้าว (rice) เป็นอาหารที่มีประชากรโลกบริโภคมากที่สุด เนื่องจากเป็นอาหารที่ให้พลังงานสูงอีกทั้งยังมีโปรตีน ไขมัน วิตามิน รวมทั้งธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับร่างกาย<sup>1</sup> ข้าวมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Oryza sativa* L. จัดอยู่ในวงศ์ Poaceae ข้าวที่ปลูกในประเทศไทยเป็นพวก *Indica* ซึ่งแบ่งออกเป็นข้าวเหนียวและข้าวเจ้า ตามอัตราส่วนที่แตกต่างกันของอะมิโลส (amylase) และอะมิโลเพคติน (amylopectin) โดยข้าวเหนียวจะมีปริมาณแป้งชนิดอะมิโลสน้อยกว่า ประมาณ 5-7 % เท่านั้น ส่วนข้าวเจ้าจะมีปริมาณแป้งชนิดอะมิโลสสูงกว่า ประมาณ 15-30 % ปริมาณแป้งอะมิโลสในเมล็ดของข้าว มีความสัมพันธ์กับคุณภาพในการหุงต้มและการบริโภค ข้าวที่มีอะมิโลสสูง ในระหว่างการหุงต้ม จะดูดน้ำได้มากกว่า ทำให้ข้าวสุกมีความเหนียวลดลง จึงร่วนกว่าและแข็งกว่าข้าวที่มีอะมิโลสต่ำ ข้าวสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ได้อย่างหลากหลาย ซึ่งสามารถจำแนกออกได้เป็น 3 กลุ่มใหญ่ๆ ได้แก่ กลุ่มผลิตภัณฑ์แปรรูปจากเมล็ดข้าว กลุ่มผลิตภัณฑ์อาหารหมักดอง และกลุ่มผลิตภัณฑ์แปรรูปจากผลพลอยได้ของข้าว<sup>2</sup> นอกจากนี้ยังแบ่งข้าวตามลักษณะของสีเมล็ดข้าว ได้เป็น ข้าวขาว ข้าวแดง และข้าวดำ เป็นต้น ประเทศไทยมีการเพาะปลูกข้าวกันเป็นจำนวนมากและมีสายพันธุ์ที่หลากหลาย บ่งบอกถึงความพิเศษของข้าวในการเป็นแหล่งสะสมของธาตุอาหารและสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกาย<sup>3</sup> โดยสัดส่วนร้อยละ 80 ของเมล็ดข้าว มี แป้งคาร์โบไฮเดรต เป็นส่วนประกอบหลัก นอกจากนี้ยังมีโปรตีน วิตามิน

บี วิตามินอี และแร่ธาตุที่แยกไปอยู่ในส่วนต่าง ๆ ของเมล็ดข้าว อีกร้อยละ 20 เป็นรำและจมูกข้าว ข้าวมีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายทั้งสารปฐมภูมิ ได้แก่ คาร์โบไฮเดรต โปรตีน วิตามิน โดยเฉพาะวิตามินบีรวม แร่ธาตุที่จำเป็น เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัส ฟอสฟอรัส เหล็ก และสังกะสี ไนอะซิน (niacin) เส้นใยอาหาร และสารทุติยภูมิ ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก เช่น กรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid) และสารกาบ้า ( $\gamma$ -aminobutyric acid; GABA)<sup>4</sup> ทั้งนี้ปริมาณของสารอาหารดังกล่าวจะขึ้นอยู่กับชนิดของข้าว สภาวะการปลูก การขัดสีข้าวและสายพันธุ์ข้าว เมล็ดข้าวประกอบด้วย 2 ส่วนหลัก คือส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าวหรือเปลือกหุ้มเมล็ดเรียกว่ากลีบ (Hull หรือ Husk) และส่วนเนื้อผลหรือผลแท้ หรือข้าวกล้อง (true fruit หรือ caryopsis หรือ brown rice) ซึ่งอยู่ในเมล็ดยาวที่เกาะเปลือกออกแล้วจะประกอบด้วย จมูกข้าวหรือคัพภะ (embryo) ซึ่งอยู่บริเวณโคนเมล็ดด้านเปลือกใหญ่ ส่วนท้องของเมล็ดมีส่วนประกอบเป็นรากอ่อน (radicle) ต้นอ่อน (plumule) เยื่อหุ้มต้นอ่อน (coleoptile) ท่อน้ำท่ออาหาร (epiblast) และใบเลี้ยง (scutellum) ซึ่งเป็นใบเลี้ยงเดี่ยว จมูกข้าวเป็นแหล่งสะสมอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของต้นอ่อน จึงมีปริมาณสารอาหารต่างๆ เช่น โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และสารพฤกษเคมี (phytochemical) สูงกว่าส่วนอื่นๆ ของเมล็ด นอกจากนี้ในจมูกข้าวยังประกอบด้วยสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่แตกต่างกัน ได้แก่ สารประกอบฟีนอลิก (phenolic compound) โทโคฟีรอล (tocopherol) โทโคไตรอีนอล (tocotrienol) ออโรซานอล

(oryzanol) และฟลาโวนอยด์ (flavonoid) เป็นต้น<sup>5</sup> เยื่อหุ้มเมล็ด (seed coat) หรือรำข้าว (bran) ซึ่งเป็นเนื้อเยื่อชั้นนอก เป็นชั้นที่มีสารสีหรือรงควัตถุปนอยู่ ทำให้ข้าวกล้องหรือข้าวซ้อมมือมีสีต่างๆ เช่น สีน้ำตาล สีน้ำตาลปนแดง หรือปนม่วง หรือสีอื่นๆขึ้นอยู่กับชนิดและส่วนประกอบของเมล็ดข้าว ประมาณร้อยละ 10 ของเมล็ดข้าวทั้งหมด ประกอบด้วยไขมันและสารสี เช่นเดียวกับเยื่อหุ้มผล ทำให้ข้าวกล้องมีสี มีสารอาหารและเส้นใยอาหารในปริมาณสูง<sup>1</sup> และเนื้อเมล็ดข้าวสาร (endosperm) ในข้าวกล้องหรือข้าวซ้อมมือจะมีสารอาหารต่างๆ อยู่มาก โดยพบมากในบริเวณใกล้เปลือกของข้าวกล้องหรือข้าวซ้อมมือและจมูกข้าว<sup>6</sup> สารเหล่านี้ เป็นสารที่มีประโยชน์มาก ทำหน้าที่ป้องกันความเสื่อมสภาพ ความชราหรือการแก่ก่อนวัย รวมทั้ง โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง โรคหัวใจและหลอดเลือด ดังนั้นการขัดสีของเมล็ดข้าวจะเกิดการสูญเสียส่วนที่ดีของข้าวสารอาหารอาจถูกขัดออกไปถึงร้อยละ 75 ทำให้เสี่ยงต่อการเป็นโรคต่างๆ เช่น โรคเหน็บชา โรคปากนกกระจอก โรคอ้วน โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง เป็นต้น มีรายงานการวิจัยพบว่าข้าวกล้องและข้าวที่มีสีชนิดต่างๆ เป็นแหล่งของสารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายที่ดีมากหลายชนิด เช่น สารโพลีฟีนอล ฟลาโวนอยด์ แอนโทไซยานิน เบต้าแคโรทีน กาบา วิตามินต่างๆ แร่ธาตุและแกมมาโอไรซานอล เป็นต้น<sup>7,8</sup> ข้าวกล้องงอกมีสารกาบา มากกว่าข้าวขัดสี ถึง 10 เท่า และนอกจากนี้ยังมีใยอาหาร วิตามินอี ไนอะซิน ไลซีน วิตามินบี 1 บี 6 และแมกนีเซียมมากกว่าข้าวขัดสี 3-4 เท่า<sup>9</sup> นอกจากนี้ยังได้มีงานวิจัยที่รายงานว่า การรับประทานข้าวกล้องงอกอย่างต่อเนื่อง จะส่งผลดีต่อสมองสามารถป้องกันอาการปวดหัว บรรเทาอาการท้องผูก ป้องกันมะเร็งในลำไส้ ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ป้องกันโรคหัวใจ ลดความดันโลหิต<sup>10</sup> ในปัจจุบันข้าวกล้องงอกกำลังได้รับความนิยมและเป็นที่น่าสนใจ เพราะนอกจากจะได้รับ

ประโยชน์จากการที่มีปริมาณสารอาหารที่มีคุณค่าสูง แล้ว ยังทำให้ข้าวกล้องงอกที่หุงสุกมีเนื้อสัมผัสที่อ่อนนุ่ม นำรับประทานกว่าข้าวกล้องธรรมดาและง่ายแก่การหุง โดยไม่ต้องผสมกับข้าวขาวตามความนิยมของผู้บริโภคที่ชอบข้าวที่มีลักษณะอ่อนนุ่ม

ขนมจีนเป็นอาหารชนิดหนึ่งที่แปรรูปมาจากข้าว นิยมบริโภคในทุกภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะงานบุญต่างๆ แต่ขนมจีนที่จำหน่ายตามท้องตลาดในปัจจุบัน จะเป็นขนมจีนที่ทำมาจากแป้งของข้าวที่ผ่านการขัดสี ซึ่งข้าวที่ผ่านการขัดสี มีผลทำให้สารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายถูกขัดออกไปหมด ในปัจจุบันจึงมีการนำข้าวกล้อง และข้าวกล้องงอกมาทำเป็นขนมจีนอบแห้งแต่ยังไม่เป็นที่แพร่หลาย ดังนั้นคณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารกาบาและสารพฤกษเคมีในข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมจีนข้าวกล้องงอก และขนมจีนข้าวกล้องงอกอบแห้ง โดยข้อมูลที่ได้จะสามารถนำไปใช้เป็นข้อมูลให้ผู้บริโภคสามารถเลือกบริโภคตามต้องการได้

## วัตถุประสงค์และวิธีการศึกษา

### วัตถุดิบ

เมล็ดข้าวพันธุ์ชัยนาท 1 ปลูกที่หมู่บ้านดอนนา ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม เก็บเกี่ยวเดือนสิงหาคม พ.ศ. 2556 และเส้นขนมจีน (ทำจากแป้งข้าว) ที่ขายในตลาดบ้านดินดำ ตำบลท่าขอนยาง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม

### ขั้นตอนการเตรียมข้าวกล้องงอก

นำข้าวเปลือกพันธุ์ชัยนาท 1 ไปสีด้วยเครื่องสีข้าวกล้อง แล้วนำข้าวกล้องที่สีแล้วมาเลือกสิ่งเจือปนออก ได้แก่ ขี้วันก เศษวัชพืช และแกลบ เป็นต้น หลังจากนั้นนำข้าวกล้องที่สะอาดมาแช่ในน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง (ถ้าแช่น้ำไว้นานเกินไป จะทำให้ข้าวบูดหรือเสีย มีกลิ่นเหม็นบูด หรือกลิ่นหืน)

โดยเปลี่ยนน้ำที่แช่ข้าวทุกๆ 6 ชั่วโมง เพื่อป้องกัน จุลินทรีย์จากการหมักและเชื้อราเกิดขึ้น จากนั้น เอามาใส่ตะกร้าโดยเอาใบตองรองไว้ข้างล่าง เพื่อให้น้ำซึมออกได้ แล้วปล่อยให้แห้งเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ให้ข้าวเกิดการงอก เรียกว่าข้าวกล้องงอก (วิธีทำข้าวกล้องงอก ปัจจุบันนิยมทำ อยู่ 2 วิธี ได้แก่ การทำให้งอกจากข้าวเปลือกและจากข้าว กล้อง)

#### สารเคมี

Ascorbic acid (Carlo Erba), Sodium hydroxide (Carlo Erba), 2,2-Diphenylpicrylhydrazine (Aldrich), Folin Ciocalteu reagent (Carlo Erba), Sodium carbonate (Carlo Erba), Methanol (Carlo Erba), Sodium nitrite (Carlo Erba), Aluminium chloride (Carlo Erba),  $\gamma$ -aminobutyric (Acros organics), และ Gallic acid (Fluka chemika)

#### เครื่องมือ

เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (uv-vis spectrophotometer, PERKIN ELMER, Lamda 25), ไมโครปิเปต, เครื่องเขย่า (platform shaker, innova™ 2000), Rotary evaporator (Buchi)

#### ขั้นตอนการทำขนมจีน

นำข้าวกล้องงอกที่ได้ไปบดโดยใช้เครื่องโม่แป้ง ให้ละเอียด กรองเอากากที่บดไม่ละเอียดออก นำ แป้งที่ผ่านการกรองแล้วมาใส่ในถุงผ้าแล้วห้อยไว้ เพื่อให้น้ำซึมออกเหลือเฉพาะแป้งที่ต้องการ เมื่อน้ำซึมออกหมดเหลือเฉพาะแป้ง นำแป้งที่ได้ไป ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปนวด จนเป็นเนื้อเดียวกัน นำแป้งที่นวดได้ที่แล้วตักใส่ กระบอกรับขนมจีน แล้วนำไปบีบลงในหม้อที่มีน้ำ เดือด รอจนเส้นขนมจีนลอยขึ้นมาทั้งหมด ใช้ กระชอนตักขึ้น แล้วนำไปล้างในน้ำเย็นอีกรอบ จับเส้นขนมจีนให้เป็นหัว (ตัว) นำไปใส่ในภาชนะ เพื่อให้สะเด็ดน้ำ หลังจากนั้นก็นำขนมจีนข้าว กล้องงอกที่สะเด็ดน้ำแล้ว ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ

50 และ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง (ความชื้น 4.1 และ 3.5 % ตามลำดับ)

#### การเตรียมสารสกัดตัวอย่าง

นำตัวอย่าง ได้แก่ ข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก และ ขนมจีนข้าวกล้องงอก ขนมจีนข้าวกล้องงอก อบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และ 80 องศาเซลเซียส นำมาบดให้ละเอียด ซึ่งตัวอย่างที่ บดละเอียดแล้ว 5 กรัม ลงในขวดแก้วสีชา ทำการ สกัดโดยใช้ตัวทำละลายเมทานอล ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำไปเขย่าที่ 180 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้มากรองโดยใช้ กระดาษกรองเบอร์ 1 จากนั้นนำไประเหยเพื่อเพิ่ม ความเข้มข้นโดยใช้เครื่องกลั่นระเหยระบบ สูญญากาศ (rotary evaporator) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส แล้วเก็บสารสกัดในรูปของ สารละลายที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน (2.5 g/mL) ใส่ในขวดสีชาที่มีฝาปิด เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

#### การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิก รวมทั้งหมด<sup>11</sup>

ปิเปตสารสกัดตัวอย่าง ที่มีความเข้มข้น 1 กรัมต่อ มิลลิลิตร และสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ที่ ความเข้มข้น 0.05, 0.10, 0.30, 0.05, 0.70, 1.00 และ 1.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง เติมสารละลาย 10 % Folin - Ciocalteu's reagent ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที เติมสารละลาย 10% sodium carbonate ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่ อุณหภูมิห้อง 15 นาที จากนั้นนำสารละลายที่ได้ ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้เมทานอลเป็น blank แทนสารสกัดตัวอย่าง นำ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐาน gallic acid ไปสร้างกราฟเส้นตรงมาตรฐาน จากนั้นนำ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างไปแทนค่าใน สมการเส้นตรงจะได้ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก

ลิกทั้งหมดโดยแสดงในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดสด (mg GAE/g of fresh weight)

#### การวิเคราะห์หาปริมาณสารกาบา<sup>4</sup>

ปิเปตสารละลายมาตรฐาน GABA ที่ความเข้มข้น 0.650, 0.500, 0.375, 0.250, 0.125, 0.100 และ 0.05 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และสารตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 0.3 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลาย Borate buffer pH 9 ปริมาตร 0.6 มิลลิลิตร และสารละลาย Phenol reagent ความเข้มข้น 6% ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปแช่ในอ่างน้ำเย็นเป็นเวลา 10 นาที จากนั้นเติม Sodium hypochlorite reagent เขย่าให้เข้ากัน แช่ในอ่างน้ำเย็น 10 นาที หลังจากนั้นนำไปต้มในอ่างน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 95-98 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที แล้วนำออกมาแช่ในอ่างน้ำเย็น 5 นาที นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 630 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้เมทานอลเป็น blank การทดสอบสมบัติในการต้านปฏิกิริยาออกซิเดชัน

#### 1. การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี Ferric Reducing Antioxidant Power: FRAP assay<sup>12</sup>

ปิเปตสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อมิลลิลิตร และสารละลายมาตรฐาน FeSO<sub>4</sub> ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6 และ 0.7, มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.05 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติมสารละลาย FRAP ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเติมน้ำกลั่น ปริมาตร 300 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 593 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้สารละลาย FRAP เป็น blank นำค่าที่ได้เปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ FeSO<sub>4</sub>

#### 2. การทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธีดักจับอนุมูลอิสระ DPPH<sup>13</sup>

ปิเปตสารตัวอย่างสกัดและสารละลายมาตรฐาน ascorbic acid ที่ความเข้มข้น 500, 250, 100, 50, 10, 5 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตรโดยใช้เมทานอลเป็นตัวทำละลาย จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง spectrophotometer โดยใช้เมทานอลเป็น blank และใช้สารละลาย DPPH เป็นตัวควบคุม นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปคำนวณหาความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (% Inhibition) จากสมการต่อไปนี้

$$\% \text{ Inhibition} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{sample}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

$$A_{\text{control}}$$
 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย DPPH

$$A_{\text{sample}}$$
 คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่างที่ผสมกับสารละลาย DPPH

คำนวณหาค่า IC<sub>50</sub> จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระและความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) การวิเคราะห์ทางสถิติ

ในการศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารกาบาและปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมด ทำการทดสอบตัวอย่างละ 3 ครั้ง (n=3) และนำผลที่ได้มาวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (±S.D.) และวิเคราะห์ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของข้อมูล โดยใช้ One-way Anova (Single factor) ใช้โปรแกรม SPSS version 15 (p< 0.05)

#### ผลการทดลอง

ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด ในข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมจีนข้าวกล้องงอก และขนมจีน ข้าวกล้องงอกอบแห้ง แสดงดัง Table 1 จาก

ตารางพบว่า สารตัวอย่างมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ในช่วง 0.0124 – 0.4352 มิลลิกรัมสมมูลของกรด แกลลิกต่อสารสกัดตัวอย่างสด 1 กรัม โดยข้าวกล้องมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดสูงที่สุด (0.4352±0.03 mg GAE/g of fresh weight) รองลงมาคือ ข้าวกล้องงอก ขนมหุ้นอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ขนมหุ้นอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และขนมหุ้นมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดต่ำที่สุด โดยพบว่า

ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของ ข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมหุ้น ขนมหุ้นอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และขนมหุ้นอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 95 แต่ขนมหุ้นอบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียส และขนมหุ้นอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 95

**Table 1** Total phenolic, GABA contents and antioxidant activities by FRAP and DPPH assay of rice products

Rice products	Total phenolic (mg GAE/g of fresh weight)	GABA content (mg GABA/g of fresh weight)	Antioxidant activity	
			FRAP (mM Fe (II) /g of fresh weight)	IC <sub>50</sub> (mg/mL)
Brown rice	0.4352±0.03 <sup>a</sup>	43.6480±0.03 <sup>d</sup>	6.6950±44.49 <sup>a</sup>	12.1925±0.39 <sup>b</sup>
Germinated brown rice	0.2790±0.02 <sup>b</sup>	52.09±0.52 <sup>a</sup>	2.4486±67.07 <sup>b</sup>	48.5215±3.26 <sup>c</sup>
Rice noodle	0.0124±0.00 <sup>c</sup>	ND	0.0316±0.48 <sup>c</sup>	ND
Germinated brown rice noodle	0.0538±0.00 <sup>c</sup>	49.8680±0.81 <sup>b</sup>	1.4960±2.94 <sup>c</sup>	0.0043±0.00 <sup>a</sup>
Dry germinated brown rice noodle (50° C)	0.0800±0.01 <sup>c</sup>	49.238±0.84 <sup>b</sup>	1.5863±2.38 <sup>c</sup>	ND
Dry germinated brown rice noodle (80° C)	0.0425±0.00 <sup>c</sup>	48.0880±0.68 <sup>c</sup>	1.3758±0.49 <sup>c</sup>	ND

ND; not detect

หากวิเคราะห์ปริมาณของสารกาบ้า ของ ข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมหุ้น ขนมหุ้นข้าวกล้องงอก และขนมหุ้นข้าวกล้องงอกอบแห้ง ได้ผลการทดลองดัง Table 1 ซึ่งพบว่า ผลลัพธ์ที่ตัวอย่างไม่ใช่ปริมาณของสารกาบ้า อยู่ในช่วง 43.6480 – 52.09 มิลลิกรัมสมมูลของสารกาบ้า ต่อสารสกัดตัวอย่างสด 1 กรัม โดยข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารกาบ้ามากที่สุด (52.09±0.52

มิลลิกรัมสมมูลของสารกาบ้าต่อสารสกัดตัวอย่างสด 1 กรัม) รองลงมาคือ ขนมหุ้นข้าวกล้องงอกอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ขนมหุ้นอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และข้าวกล้อง ตามลำดับ โดยพบว่าปริมาณสารกาบ้าของข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมหุ้นอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และขนมหุ้นอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างกัน

อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 95 แต่ขนมจีนและขนมจีนอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 95 และไม่พบปริมาณของสารกาบ้าในเส้นขนมจีน

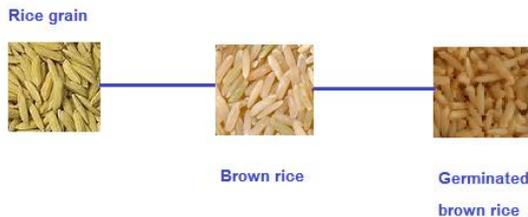
ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP ให้ผลดังตารางที่ 1 จากตารางพบว่า สารตัวอย่างมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP อยู่ในช่วง 0.0316 – 6.6950 mM Fe (II) /g of fresh weight โดยข้าวกล้องมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูงสุด (6.6950±44.49 mM Fe (II) /g of fresh weight) รองลงมาคือ ข้าวกล้องงอก ขนมจีนอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ขนมจีนอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และขนมจีนตามลำดับ โดยพบว่าความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระ ของข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมจีนอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และขนมจีนอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ 95 เปอร์เซนต์ แต่ขนมจีนเส้นสด ขนมจีนอบแห้งที่ 50 องศาเซลเซียส และขนมจีนอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ร้อยละ 95

ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH ของข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมจีนข้าวกล้องงอก และขนมจีนข้าวกล้องงอกอบแห้ง ผลการทดลองดังตารางที่ 1 ซึ่งรายงานในรูปแบบของ IC<sub>50</sub> จากตารางพบว่าค่า IC<sub>50</sub> อยู่ในช่วง 0.0043 – 48.5215 mg/mL โดยขนมจีนข้าวกล้องงอกมีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH สูงสุด (0.0043±0.00 mg/mL) รองลงมาคือ ข้าวกล้อง และข้าวกล้องงอกงอกตามลำดับ ขนมจีนอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ขนมจีนอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และเส้นขนมจีนไม่มีความสามารถในการดักจับอนุมูลอิสระ

## สรุปผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

การสกัดสารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารพฤกษเคมีในข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมจีนข้าวกล้องงอก และขนมจีนข้าวกล้องงอกอบแห้ง ทำได้โดยทำการสกัดด้วยเมทานอล นำสารสกัดที่ได้ไปทดสอบหาปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดพบว่า ข้าวกล้องมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกสูงที่สุด (0.43 mg GAE/100g of fresh weight) และมีรายงานข้าวกล้อง (ข้าวเหนียว กข 6) มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 70.3 mg GAE/100g of dry weight<sup>14</sup> ข้าวกล้องของประเทศจีน มีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 41.70-52.82 mg GAE/100g of dry weight<sup>15</sup> ข้าวกล้องประเทศอินเดียมีปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด 190.75mg of gallic acid equivalent/g of rice<sup>16</sup> และปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกจะลดลง เมื่อนำข้าวกล้องไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่น คือ ข้าวกล้องงอก, ขนมจีนข้าวกล้องงอกอบแห้งที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ขนมจีนข้าวกล้องงอก และ ขนมจีนข้าวกล้องงอกอบแห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ผลการทดลองการหาสารกาบ้าจะเห็นได้ว่าข้าวกล้องงอกและผลิตภัณฑ์จากข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารกาบ้ามักกว่าเมล็ดข้าวที่ไม่ได้ทำให้งอกซึ่งเป็นเพราะว่าการสังเคราะห์สารกาบ้าในเมล็ดข้าว (Figure 1) เกิดขึ้นจากกระบวนการดีคาร์บอกซิเลชัน (decarboxylation) ของกรดกลูตามิก (glutamic acid) หรืออะมิโนแอล-กลูตาเมต (amino acid L-glutamate) ในระหว่างการงอกด้วยเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่มีชื่อว่า กลูตาเมตดีคาร์บอกซิเลส (Glutamate decarboxylase)<sup>17</sup> และสารกาบ้าพบมากที่สุดในจมูกข้าว นอกจากนี้โปรตีนภายในเมล็ดข้าวก็จะถูกย่อยให้เกิดเป็นเปปไทด์และกรดอะมิโน รวมทั้งยังพบการสะสมสารสำคัญต่าง ๆ เช่น แกมมาออริซานอล โทโคฟีรอล และโทโคไตรอีนอล เมื่อดันข้าวเจริญเติบโต

ต่อไปในระยะเวลาที่มีการแทงยอดอ่อน จะมีการสร้างสารที่เรียกว่าสารทุติยภูมิ ซึ่งได้แก่ คลอโรฟิลล์, oryzadione, 7-oxostigmasterol, ergosterol peroxide เป็นต้น



**Figure 1** Biochemical changes in rice through stages of growth

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดตัวอย่างใช้ 2 วิธีคือ FRAP และ DPPH radical พบว่า ข้าวกล้องมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP สูงสุด สัมพันธ์กับปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก เมื่อปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกชนิดที่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระมากจะทำให้ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP มากขึ้นด้วย (Gao-Sheng 2010) ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระด้วยการดักจับอนุมูลอิสระ DPPH แสดงในรูปของ  $IC_{50}$  จากการวิเคราะห์พบว่า ขนมหินข้าวกล้องงอก และขนมหินข้าวกล้องงอกอบแห้งไม่มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical อาจเป็นเพราะว่าความร้อนไปทำลายสารที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ สำหรับเส้นขนมหิน ซึ่งมีขายทั่วไป จะมีสารที่มีประโยชน์ต่อร่างกายน้อยมากหรือแทบไม่มีเลย อาจเป็นเพราะว่าขนมหินทำมาจากแป้งข้าว ซึ่งผ่านการขัดสีและใช้ความร้อนในกระบวนการผลิตแป้ง ทำให้สารต่างๆที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เช่น โปรตีน ไขมัน แร่ธาตุ และสารพฤกษเคมี เกิดการสูญเสียไปในระหว่างกระบวนการผลิตแป้งและเส้นขนมหิน

## กิตติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ภายใต้โครงการเชื่อมโยงภาคการผลิตกับงานวิจัยทุน สกว. – อุตสาหกรรม ประจำปีงบประมาณ 2555 ที่ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้ และวิสาหกิจกลุ่มแม่บ้านเกษตรกรดอนนาสามัคคี ตำบลขามเรียง อำเภอกันทรวิชัย จังหวัดมหาสารคาม ที่ให้ความรู้และสนับสนุนการทำวิจัย และภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม จนทำให้งานวิจัยสำเร็จอย่างสมบูรณ์

## เอกสารอ้างอิง

1. อรอนงค์ นัยวิกุล. ข้าว: วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. พิมพ์ครั้งที่ 2 กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2550.
2. จิราภรณ์ กระแสเทพ และ มัทนทานา นครเรียบ. การหาปริมาณรวมฟีนอลิก แอนโทไซยานิน และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของข้าวเหนียวไทย. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ฉบับพิเศษ การประชุมวิชาการมหาวิทยาลัยมหาสารคามครั้งที่ 8. 2555; 269-273.
3. ไมตรี สุทธิจิตต์. ข้าวและคุณค่าทางโภชนาการเพื่อสุขภาพ. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการข้าว เนื่องในโอกาสวันข้าวและชาวนาแห่งชาติ ครั้งที่ 1. ณ โรงแรมอมารี ดอนเมือง กรุงเทพฯ: 2553. หน้า 1.
4. Watchararpaiboon W, Laohakunjit N, Kerdchoechuen O. An improved process for high quality and nutrition of brown rice production. Food Sci. Technol. Int. 2010; 16: 147-158.
5. Carlos AG, Grace G, Mercedes BM, Patricio H, Victor CG. Correlation of tocopherol, tocotrienol,  $\gamma$ -oryzanol and

- total polyphenol content in rice bran with different antioxidant capacity assays. *Food Chem.* 2007; 102: 1228-1232.
6. เครือวัลย์ อัดตะวีริยะสุข. คุณภาพเมล็ดข้าวทางกายภาพและการแปรสภาพเมล็ดข้าว. เอกสารประกอบการบรรยายการฝึกอบรมหลักสูตรวิทยา การหลังการเก็บเกี่ยว ณ ศูนย์วิจัยข้าวพัทลุง จ.พัทลุง; 2536. หน้า 1-53.
  7. Sompong R, Siebenhandl-Ehn S, Linsberger-Martin G, Berghofer E. Physico chemical and antioxidative properties of red and black rice varieties from Thailand, China and Sri Lanka. *Food Chem.* 2011; 124: 132–140.
  8. Shallan MA. El-Beltagi HS. Mona AM. Amera TM. Chemical evaluation of pre-germinated brown rice and whole grain rice bread. *Electronic Journal of Environmental, Agric. Food Chem.* 2010; 9: 958-971.
  9. Kayahara H, Tukahara K. Flavor Health and Nutritional Quality of Pre-germinated Brown Rice. *International Chemical Congress of Pacific Basin Societies in Hawaii.* 2000.
  10. Komatsuzaki N, Tsukahara K, Toyoshima H, Suzuki T, Shimizu N, Kimura T. Effect of soaking and gaseous treatment on GABA content in germinated brown rice. *J. Food Eng.* 2007; 78: 556-560.
  11. Sandeep R, Indra DB, Ranbeer SR. Total phenolic compounds and antioxidant potential of *Hedychium spicatum* Buch. Ham. ex D. Don in west Himalaya, India. *J. Food Composit Anal.* 2011; 24: 74-579.
  12. Wojdylo A, Oszmiański J, Czemerys R. Antioxidant activity and phenolic compounds in 32 selected herbs. *Food Chem.* 2007; 105 (3): 940-949.
  13. Thaipong K, Boonprakob U, Crosby K, Cisneros-Zevallos L, Byrne DH. Comparison of ABTS, DPPH, FRAP, and ORAC assays for estimating antioxidant activity from guava fruit extracts. *J. Food Composit Anal.* 2006; 19: 669-675.
  14. Moongngarm A, Saetung A. Comparison of chemical compositions and bioactive compounds of germinated rough rice and brown rice. *Food Chem.* 2010; 122: 782-788.
  15. Yanyan W, Shohag MJI, Feng Y, Xiaoe Y, Chunyong W, Yuyan W. Effect of ferrous sulfate fortification in germinated brown rice on seed iron concentration and bioavailability. *Food Chem.* 2013; 138: 1952-1958.
  16. Mithu D, Rintu B, Satish B. Evaluation of physicochemical properties of enzyme treated brown rice (Part B). *LWT - Food Science & Tech.* 2008; 10: 2092-2096.
  17. Tian S, Nakamura K, Kayahara H. Analysis Of phenolic compounds in white rice, brown rice, and germinated brown rice. *J. Agric. Food. Chem.* 2004; 52: 4808-4813.