การยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลด้วยสารสกัดรำข้าวหอมมะลิสุรินทร์ (กข 15) ในผลมะเขือยาวสไลด์สด

Inhibition of browning reaction by Surin jasmine (RD 15) rice bran extract treatment on freshly sliced eggplant

ฤทัยภักดิ์ ชาญศรี* และ เนาวรัตน์ กองคำ

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ อ.เมือง จ.สุรินทร์ 32000

Ruthaipak Chansri* and Naowarat Kongkum

Faculty of Science and Technology, Surindra Rajabhat University, Muang, Surin, 32000, Thailand

Received: 4 April 2022/ Revised: 19 May 2022/ Accepted: 21 May 2022

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มุ่งเน้นเพื่อศึกษาฤทธิ์การยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในมะเขือยาวสไลด์สด ปริมาณสารฟีนอลิก และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดรำข้าวหอมมะลิสุรินทร์ สายพันธุ์ กข 15 ด้วยตัวทำละลายน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส และตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ พบว่าสารสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดเท่ากับ 73.99±1.72 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัด รองลงมาคือ สารสกัดรำข้าวด้วยน้ำร้อน (47.02±0.13) และสารสกัดรำข้าวด้วยน้ำ (36.76±1.23) ตามลำดับ การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระพบว่ามีความสัมพันธ์กับผลการทดสอบหาปริมาณฟีนอลิก โดยสารสกัดเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากที่สุด ทั้งวิธี DPPH และ ABTS มีค่า IC_{50} เท่ากับ 1293.15±7.53 และ 1385.33±3.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ การศึกษาการยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในมะเขือยาวสไลด์สด โดยการวัดค่าสี L* a* และ b* และค่าการเกิดสีน้ำตาล (BV) พบว่า สารสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ มีฤทธิ์การยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุด และให้ผลการยับยั้งได้ดีกว่ากรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก ซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

คำสำคัญ: สารสกัดรำข้าว มะเขือยาว ปฏิกิริยาสีน้ำตาล ปริมาณสารฟีนอลิก

Corresponding author: Ruethaipak_d@hotmail.com

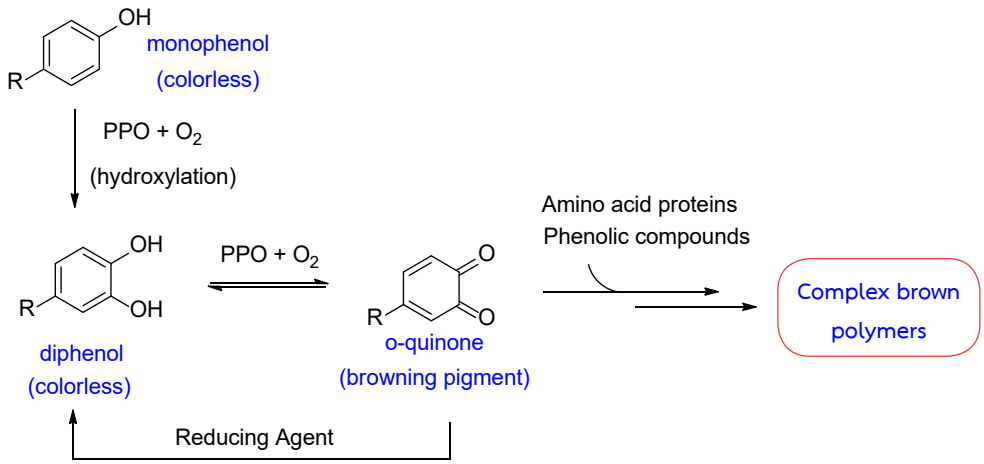
Abstract

This research aims to study inhibitory activity of browning reaction in freshly sliced eggplant, total phenolic content, antioxidant activity of Surin jasmine (RD 15) rice bran (RB) extracts, which were extracted with water, hot water (80°C) and 50% ethanol. The results indicated that the highest total phenolic content (TPC) was from the 50% ethanol RB extract with TPC 73.99±1.72 mgGAE/gExt, whereas the hot water RB extract and the water RB extract were shown TPC at 47.02± 0.13 and 36.76±1.23 mgGAE/gExt, respectively. The results of antioxidant activity were related to total phenolic content, which the highest antioxidant activity in DPPH and ABTS assay was also found in the 50% ethanol RB extract with IC_{50} at 1293.15 ±7.53 μg/mL and ABTS 1385.33±3.56 μg/mL, respectively. Inhibition of browning reaction in freshly sliced eggplant by measuring L* a* and b* and browning values (BV) found that the 50% ethanol RB extract had better browning inhibitory effect than the water RB extract and the hot water RB extract. In addition, the 50% ethanol RB extract showed a stronger inhibitory effect than ascorbic acid and citric acid with a significant statistical difference at the 95 percent confidence level.

Keywords: rice bran extract, eggplant, browning reaction, phenolic content

บทนำ

การเกิดสีน้ำตาลเป็นคุณลักษณะที่ไม่พึงประสงค์อย่างหนึ่งในการแปรรูปผักและผลไม้ เป็นสาเหตุที่ทำให้สูญเสียรสชาติ สี และคุณค่าทางโภชนาการ อาจมีผลกระทบที่สำคัญต่ออุตสาหกรรมอาหาร เทคโนโลยี และต้นทุนทางเศรษฐกิจ [1] ซึ่งลักษณะสีน้ำตาลคล้ำ (dark-color pigment) ที่เกิดขึ้นมีสาเหตุมาจากการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารประกอบฟีนอลิกที่ถูกเร่งด้วยเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส (PPO) ในผักและผลไม้ ทำให้สารประกอบฟีนอลิกเปลี่ยนเป็นสารประกอบเชิงซ้อน (o-quinones) ที่ทำปฏิกิริยาต่อไปกับกรดอะมิโนหรือสารประกอบโปรตีนทำให้เกิดสารสีน้ำตาล (melanin) เรียกว่า ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (Enzymatic browning reaction) [2] ซึ่งปฏิกิริยาดังกล่าวจะเกิดขึ้นในเนื้อเยื่อของผักและผลไม้ที่สัมผัสกับออกซิเจนเมื่อถูกทำลายทางกล เช่น การปอก การหั่น หรือการทำให้บอบช้ำ เป็นต้น ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ แสดงในรูปสมการดังภาพที่ 1



ภาพที่ 1 ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ (Enzymatic browning reaction)

จากภาพที่ 1 เป็นสมการการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์เป็นปฏิกิริยาที่จะเกิดขึ้นกับเนื้อเยื่อพืชเมื่อเซลล์ถูกทำลายทางกลทำให้โมโนฟีนอล (monophenol) ที่อยู่ในเซลล์พืชสัมผัสกับออกซิเจนและมีเอนไซม์ กลุ่ม PPO เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาไฮดรอกซิเลชัน (hydroxylation) ได้เป็น o-diphenol สารนี้จะถูกออกซิไดซ์ต่อเป็น o-quinone ซึ่ง quinone ที่เกิดขึ้นจะรวมตัวกันและเกิดปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆหรือกับกรดอะมิโนได้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาล [3] และจะเห็นได้ว่าเมื่อมีการใช้รีดิวซิงเอเจนต์ (reducing agent) เพื่อรีดิวซ์ o-quinone ที่มีสีน้ำตาล (browning pigment) กลับไปเป็นสารประกอบ diphenol ซึ่งไม่มีสี (colorless) ดังนั้นหากเราสามารถศึกษาหาสารสกัดที่มีคุณสมบัติเป็น reducing agent จะทำให้สามารถนำสารสกัดดังกล่าวไปใช้เพื่อชะลอหรือยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลที่เกิดขึ้นได้

มีการวิจัยหลายงานวิจัยที่ศึกษาการใช้สารสกัดจากธรรมชาติชนิดต่างๆ เพื่อยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลและศึกษาวิธีการต่างๆ ที่สามารถนำมาใช้เพื่อเพิ่มการยับยั้งนี้ให้มีประสิทธิภาพมากที่สุดและเพื่อประโยชน์ในการนำมาใช้ยืดอายุการเก็บรักษาของอาหาร เช่น หัวหอม สับปะรด มะนาว และไวน์ขาว ซึ่งเป็นสารประกอบธรรมชาติที่สามารถยับยั้งหรือชะลอการเกิดสีน้ำตาลของผลิตภัณฑ์บางชนิดได้ หัวหอมและสารสกัดที่ได้มีคุณสมบัติต่อต้านการเกิดสีน้ำตาลโดยยับยั้งการทำงานของ PPO น้ำสับปะรดมีผลในการต่อต้านการเกิดสีน้ำตาลในแอปเปิ้ลและกล้วยหอม น้ำมะนาวใช้เติมลงในแป้งโดเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ขนมปังดูสว่างขึ้น [4] การป้องกันหรือการชะลอปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลด้วยสารสกัดธรรมชาติเป็นการใช้สารที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยมุ่งเป้าไปที่การทำลาย PPO เพื่อหลีกเลี่ยงการสัมผัสระหว่างเอนไซม์กับซับสเตรต [5] ซึ่งการใช้สารประกอบที่ได้จากธรรมชาติที่มีความสามารถในการต่อต้านการเกิดสีน้ำตาลจะมีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการยอมรับผลิตภัณฑ์เหล่านี้จากผู้บริโภค

มะเขือยาว (eggplant) เป็นผักสวนครัวที่นิยมรับประทาน มีคุณค่าทางโภชนาการสูงและอุดมไปด้วยสารพอลีฟีนอล ใยอาหาร วิตามิน และสารอาหารอื่นๆ ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพ เช่น ลดไขมันในเลือด ปกป้องตับ และเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ [6] อย่างไรก็ตามมะเขือยาวเกิดสีน้ำตาลได้ง่ายเนื่องจากมะเขือยาวมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูง [7] ทำให้เอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสเปลี่ยนสารประกอบฟีนอลิกให้เป็นสารประกอบเชิงซ้อนสีน้ำตาลได้มากขึ้นตามไปด้วย [8, 9] ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลสามารถป้องกันได้โดยการใช้ความร้อนในการทำลายเอนไซม์ PPO หรือใช้การดัดแปลงสภาพอากาศในการเก็บรักษา หรืออาจใช้ร่วมกับสารเคมีหรือสารสกัดที่ได้จากธรรมชาติ เช่น การใช้กรดแอสคอร์บิกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับสารสกัดจากดอกคาโมมายด์เข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 45 วินาที และเก็บในสภาพที่มีก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 100 เปอร์เซ็นต์ สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลในผักผลไม้ [10] ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับลักษณะของผลิตภัณฑ์ที่เราต้องการด้วย การเลือกใช้วิธีการป้องกันการเกิดสีน้ำตาลบางอย่างอาจไม่เหมาะสมกับลักษณะของผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่เราต้องการ เช่น การใช้ความร้อนมีผลต่อเนื้อสัมผัสของอาหาร มีผลต่อรสชาติของผักและผลไม้ รวมทั้งทำให้สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการ [11] หรืออาจจะก่อให้เกิดอันตรายต่อร่างกายจากการเลือกใช้สารเคมีและอาจสิ้นเปลืองเงินในการจัดหาวัสดุจากธรรมชาติที่ขาดแคลน ดังนั้นจึงมีรายงานวิจัยจำนวนมากที่ได้นำวัสดุจากธรรมชาติที่หาได้ง่ายในท้องถิ่นและมีราคาถูกมาทำการศึกษาเพื่อยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล

รำข้าว (rice bran) เป็นวัสดุท้องถิ่นที่มีปริมาณมากและหาได้ง่าย มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเพราะอุดมไปด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compounds) [12] โดยเฉพาะในกลุ่มของสารประกอบฟีนอลิก ได้แก่ กรดฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ วิตามินอี และแกมมาออริซานอล (γ-oryzanol) ในปริมาณมากกว่าพืชผักผลไม้ ถั่ว และผลไม้แห้งชนิดอื่นๆ [13] ซึ่งสารต่างๆ เหล่านี้จะทำหน้าที่เป็นสารจับโลหะ (chelating agent) ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดส [14] การใช้สารสกัดจากรำข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์

สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลในมันฝรั่งบด [15] และการใช้สารสกัดรำข้าวในรูปแบบผงสามารถช่วยลดการเกิดสีน้ำตาลในมันฝรั่งบดได้เช่นกัน [16] สารประกอบฟีนอลิกในรำข้าวจัดว่าเป็นสารยับยั้งเอนไซม์เนื่องจากสารกลุ่มนี้มีโครงสร้างคล้ายกับสารซับสเตรต (substrate) ของเอนไซม์ PPO ซึ่งจะไปแย่งจับกับซับสเตรตของเอนไซม์บริเวณเร่งทำให้ซับสเตรตไม่สามารถเข้าทำปฏิกิริยาได้ [17] ทั้งนี้องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวที่ได้จากกระบวนการสีข้าวจะขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าวที่นำมาใช้และสภาวะแวดล้อมที่ปลูกจนถึงกรรมวิธีการขัดผิวเมล็ดข้าว ทำให้องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวขึ้นอยู่กับส่วนของรำที่ได้จากกระบวนการสีข้าวด้วย [18]

ดังนั้นการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นไปที่การใช้สารสกัดจากรำข้าวหอมมะลิสุรินทร์สายพันธุ์ กข 15 ที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ น้ำร้อนและเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ เพื่อยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลในมะเขือยาวสไลด์สด เปรียบเทียบกับการใช้สารเคมีและศึกษาความสัมพันธ์ของปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลเพื่อเป็นพื้นฐานทางทฤษฎีที่เป็นไปได้สำหรับการแปรรูปผลไม้และผักสดตัดใหม่และใช้เป็นข้อมูลอ้างอิงสำหรับการศึกษาวิจัยต่อไป

วิธีดำเนินการวิจัย

1. เครื่องมือและสารเคมี

เครื่องมือสำคัญที่ใช้ในการวิจัย ได้แก่ เครื่องวัด UV-Visible Spectrophotometer (ยี่ห้อ Perkin elmer รุ่น Lampda 365) เครื่องวัดค่าสียี่ห้อ Konica Minolta เครื่องอัลตร้าซาวด์ยี่ห้อ Crest Ultrasonic เครื่องหมุนเหวี่ยงยี่ห้อ Universal 32 สารเคมีที่สำคัญ ได้แก่ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl), ABTS (2,2'-azino-bis (3-ethylbenz thiazoline-6-sulphonic acid), Folin-Ciocalteu และกรดแกลลิก (gallic acid)

2. เตรียมวัตถุดิบ

รำข้าวหอมมะลิสุรินทร์ สายพันธุ์กข 15 *(Oryza sativa* L.) cv.RD 15 จากโรงสีในตำบลท่าสว่าง อำเภอเมือง จังหวัดสุรินทร์ นำมาร่อนผ่านตะแกรง 120 เมช ได้รำละเอียด นำมาอบแห้งที่อุณหภูมิคงที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อไล่ความชื้น จากนั้นเก็บรักษาในถุงโพลีเอทิลีน (Polyethylene) ไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส ดัดแปลงวิธีของ Kochayklang [19] เช่นเดียวกับมะเขือยาว (*Solanum melongena* L.) เก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส จนกว่าจะนำมาทดลอง

3. เตรียมสารสกัดจากรำข้าว

นำรำข้าวที่เตรียมไว้ 100 กรัม มาสกัดด้วยน้ำกลั่น 300 มิลลิลิตร อัตราส่วน รำข้าว:น้ำกลั่น เป็น 1:3 (w/v) ดัดแปลงวิธีของ โชคชัย และ กัณณิกา [20] เปลี่ยนตัวทำละลายเป็นน้ำร้อนอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสและเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ตามวิธีของ Chiou [21] ทำการสกัดผ่านเครื่องอัลตร้าซาวด์ ความถี่ 60 Hz เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมาหมุนเหวี่ยงผ่านเครื่อง centrifuge ที่ 4,500xg เป็นเวลา 20 นาที นำของเหลวเหนือตะกอน (Supernatant) ที่ได้มาทำการทดลองต่อไป สำหรับของเหลวเหนือตะกอนของสารสกัดจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ นำไปประเหยแอลกอฮอล์ผ่านเครื่องกลั่นระเหยสุญญากาศ (Rotary vacuum evaporator) จากนั้นนำสารสกัดทั้ง 3 วิธีมาแบ่งออกเป็น 2 ส่วน ส่วนที่ 1 นำไปทดสอบการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล (browning reaction) ในมะเขือยาวสไลด์สด และส่วนที่ 2 ขจัดน้ำออกด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dryer) จะได้สารสกัดเพื่อใช้ในการทดสอบหาปริมาณสารฟีนอลิก และทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS

4. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม

การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกรวม (Total pheno lic content, TPC) ใช้วิธี Folin-Ciocalteu colorimetric assay [22] โดยเตรียมสารสกัดรำข้าวที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำมาอย่างละ 1 มิลลิลิตร เติมสารละลาย Folin-Ciocalteu (เจือจางด้วยน้ำ 10 เท่า) 5 มิลลิลิตร และ Sodium carbonate (เข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์) 4 มิลลิลิตร ผสมและเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที วัดค่า

การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร ในการทดลองนี้ใช้กรดแกลลิก (Gallic acid) เป็นสารมาตรฐาน (กรดแกลลิกเตรียมที่ความเข้มข้น 200, 175, 150, 125, 100, 75, 50 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) จากนั้นคำนวณหาปริมาณฟีนอลิกรวมจากกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก และคำนวณให้อยู่ในหน่วยมิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักกรัมของสารสกัด (mgGAE/g Ext.)

5. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH

วิเคราะห์ศักยภาพการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH [23] เตรียมสารสกัดรำข้าวตัวอย่างละ 5 ความเข้มข้น (1000, 500, 250, 125 และ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยใช้เอทานอลเป็นตัวทำละลาย นำสารสกัดตัวอย่างที่ความเข้มข้นต่างๆ มาอย่างละ 0.1 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เติมเมทานอล 0.2 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรและสารละลาย 0.3 มิลลิโมลาร์ DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) 0.4 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ผสมและเขย่าให้เข้ากันตั้งทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (% Inhibition) ดังสมการ (1)

$$\%Inhibition = \frac{AB - AA}{AB} \times 100 \qquad (1)$$

โดยที่

AA = ค่าการดูดกลืนแสงของสารตัวอย่าง

AB = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวควบคุม (สารทั้งหมดยกเว้นสารตัวอย่าง)

จากนั้นคำนวณหาค่า IC_{50} จากกราฟเส้นตรงแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละความสามารถต้านอนุมูลอิสระกับสารตัวอย่างในแต่ละความเข้มข้น ทั้งหมดทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (n=3) แสดงผลในภาพค่าเฉลี่ยและหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

6. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี ABTS

วิเคราะห์ศักยภาพการกำจัดอนุมูลอิสระโดยวิธี ABTS [24] เตรียมอนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ โดยใช้สารละลาย ABTS 0.0768 กรัม และโพแทสเซียมเปอร์ซัลเฟต 0.0132 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเจือจางด้วยเอทานอลให้ได้ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ 734 นาโนเมตร เท่ากับ 0.700±0.02 ขั้นตอนการทดสอบ เตรียมสารสกัดรำข้าวตัวอย่างละ 5 ความเข้มข้น (1000, 500, 250, 125 และ 62.5 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) นำมาความเข้มข้นละ 0.1 มิลลิลิตร เติมสารละลายอนุมูล $ABTS^{\cdot+}$ 0.9 มิลลิลิตร ผสมและเขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 6 นาที จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร คำนวณหาเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดังสมการ (1) และคำนวณหาค่า IC_{50} เช่นเดียวกับวิธี DPPH ทั้งหมดทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (n=3) แสดงผลในรูปค่าเฉลี่ยและหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (S.D.)

7. ทดสอบการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล

ฝานมะเขือยาวให้มีความหนา 2 มิลลิเมตร วางไว้บนจานแก้ว และทำการหยดสารสกัดรำข้าวทั้ง 3 ชนิดๆ ละ 4 มิลลิลิตร ลงบนชิ้นมะเขือยาวให้ชุ่มทั้งชิ้น เปรียบเทียบประสิทธิภาพการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลด้วยสารเคมี คือ กรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิกที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม (control) แล้วนำไปวัดค่าสี L* a* b* ที่เวลา 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง นำค่าที่ได้ไปคำนวณหาค่าการเกิดสีน้ำตาลในสมการ (2)

$$BV = \frac{\Delta L*}{Lo*} \times 100 \qquad (2)$$

โดยที่

BV = ค่าการเกิดสีน้ำตาล

ΔL^* = ผลต่างของค่าความสว่างที่เปลี่ยนไป

L_0^* = ค่าความสว่างเริ่มต้น

ทำการทดลองละ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS วางแผนการทดลองแบบ Completely Random Design (CRD) และวิเคราะห์ความแปรปรวนเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดย Duncan's Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่ง 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

ผลการวิจัย

1. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด

การหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมโดยวิธี Follin-Ciocalteu assay ของสารสกัดจากรำข้าวที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 วิธี โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานกรดแกลลิก ($y = 0.0045x - 0.0631$, $R^2 = 0.9914$) พบว่าสารสกัดรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมมากที่สุด โดยมีปริมาณ 73.99±1.72 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อน้ำหนักกรัมของสารสกัด รองลงมาคือสารสกัดรำข้าวที่สกัดด้วยน้ำร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส (47.02±0.13) และสารสกัดรำข้าวที่สกัดด้วยน้ำ (36.76±1.23) ตามลำดับ (ตารางที่ 1)

2. การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS

การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS ของสารสกัดรำข้าวที่ความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร พบว่าสารสกัดรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ มีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูล $DPPH^{\cdot+}$ เท่ากับ 49.29±0.89 (IC_{50}=1293.15 ±7.53 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) และอนุมูล $ABTS^{\cdot+}$เท่ากับ 41.00±0.14 (IC_{50}=1385.33±3.56 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) ส่วนสารสกัดรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายน้ำและน้ำร้อนมีเปอร์เซ็นต์การยับยั้งอนุมูลอิสระน้อยกว่าสารสกัดรำข้าวที่สกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอลทั้งวิธี DPPH และ ABTS (ตารางที่ 1) อย่างไรก็ตามสารสกัดรำข้าวที่ได้จากการสกัดทั้ง 3 วิธี มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยกว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก

ตารางที่ 1 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (TPC) และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากรำข้าว

Rice brain extracts	TPC (mgGAE/gExt)	DPPH		ABTS	
		เปอร์เซ็นต์ inhibition (1,000 μg/mL)	IC_{50} (μg/mL)	เปอร์เซ็นต์ inhibition (1,000 μg/mL)	IC_{50} (μg/mL)
RB-001 (50%EtOH)	73.99 ±1.72	49.29±0.89	1293.15 ±7.53	41.00±0.14	1385.33±3.56
RB-002 (H_2O/RT)	36.76±1.23	14.63±3.48	nd	18.03±0.27	nd
RB-003 (H_2O/80°C)	47.02±0.13	17.09±2.56	nd	19.11±0.24	nd
Ascorbic acid	-	100±0.00	53.57±0.95	100±0.00	55.82±0.43

หมายเหตุ: ข้อมูลที่นำเสนอเป็นค่าเฉลี่ย ±SD จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ (n = 3)

nd = ไม่พบ

3. การยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล

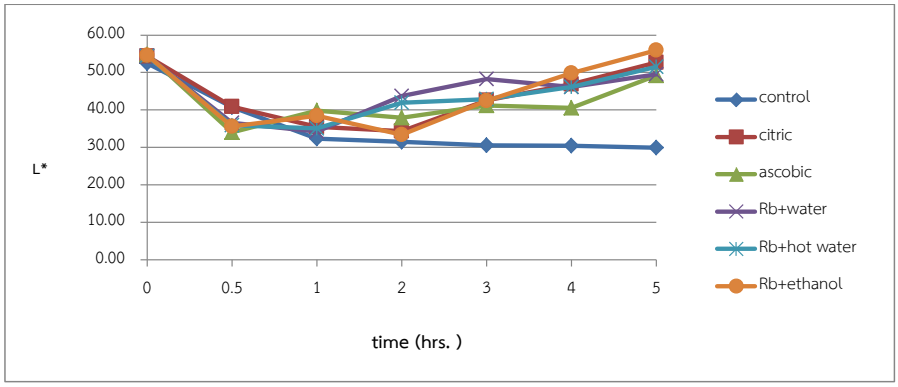
จากการศึกษาการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์พบว่า สารสกัดจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยน้ำ น้ำร้อน (80 องศาเซลเซียส) สารสกัดจากรำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ กรดแอสคอร์บิก และกรดซิตริกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ เมื่อเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นที่อุณหภูมิห้อง (control) โดยค่า L* a* b* และค่าการเกิดสีน้ำตาล (BV) มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ($p \leq 0.05$)

เมื่อนำมะเขือยาวสไลด์ที่ผ่านการหยดด้วยสารละลายต่างๆ ไปวัดค่า L* a* และ b* ที่เวลา 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง นำมาเปรียบเทียบแล้วคำนวณค่าการเกิดสีน้ำตาล ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 2, 3 และ 4 การลดลงของค่า L* แสดงถึงการเกิดสีคล้ำขึ้น การเพิ่มขึ้นของค่า a* แสดงถึงการเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีน้ำตาล และการลดลงของค่า b* แสดงถึงการลดลงของสีเหลืองแต่เกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้น [25]

ตารางที่ 2 ค่า L* ของมะเขือยาวเปรียบเทียบแต่ละวิธี ที่ 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง

	L*						
	Time (hrs)						
Treatment	0	0.5	1	2	3	4	5
control	52.43±0.23^{b}	40.80±0.07^{a}	32.31±0.05^{f}	31.51±0.28^{f}	30.59±0.08^{e}	30.48±0.10^{e}	29.92±0.04^{e}
citric	54.37±0.40^{a}	40.87±0.07^{a}	35.56±0.19^{cd}	34.40±0.30^{d}	42.59±0.19^{c}	46.87±0.04^{b}	52.68±0.00^{b}
ascorbic	54.77±0.12^{a}	34.01±0.06^{d}	39.80±0.02^{a}	37.92±0.13^{c}	41.17±0.14^{d}	40.57±0.09^{d}	49.23±0.02^{d}
Rb+water	54.47±0.65^{a}	36.57±0.40^{b}	34.21±0.23^{e}	43.78±0.09^{a}	45.28±0.10^{a}	46.20±0.13^{c}	49.52±0.22^{d}
Rb+hot water	54.32±0.29^{a}	35.94±0.21^{c}	35.06±0.09^{cd}	41.89±0.66^{b}	42.84±0.11^{b}	46.17±0.10^{c}	51.48±0.37^{c}
Rb+ethanol	54.60±0.35^{a}	35.64±0.05^{c}	38.44±0.18^{b}	33.43±0.33^{e}	42.51±0.18^{c}	49.83±0.04^{a}	55.92±0.15^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษร $^{a, b}$ ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยข้อมูลมีความแตกต่างกัน ($P \leq 0.05$)



ภาพที่ 2 ค่า L* ที่วัดในมะเขือยาวเปรียบเทียบกันทุกทรีตเมนต์

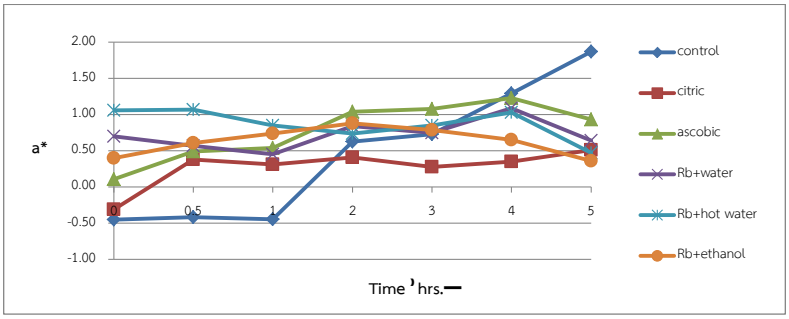
จากตารางที่ 2 เป็นการแสดงผลของค่า L* หรือค่าความสว่างที่ได้จากการวัดสีของชิ้นมะเขือยาวสไลด์ที่ผ่านการหยดด้วยสารสกัดจากรำข้าวด้วยตัวทำละลายต่างๆ เปรียบเทียบกับสารเคมีที่ใช้ คือ กรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิก โดยใช้น้ำกลั่นเป็นตัวควบคุม จะเห็นได้ว่าเมื่อเวลาผ่านไปตั้งแต่ครึ่งชั่วโมงจนถึง 2 ชั่วโมง ค่า L* ของตัวอย่างส่วนใหญ่จะมีค่าลดลง และหลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ยกเว้นค่า L* ที่วัดได้จากตัวอย่างควบคุมจะมีค่าลดลงอย่างต่อเนื่อง สามารถนำมาแสดงในรูปแบบกราฟดังภาพที่ 2 การที่ค่า L* ลดลงหมายถึงการมีสีคล้ำมากขึ้น แสดงให้เห็นว่ามีการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะเกิดขึ้นในช่วงครึ่งชั่วโมงแรกและจะยังคงที่ไปจนถึงชั่วโมงที่ 1 และ 2 หลังจากนั้นพบว่า ค่า L* จะเพิ่มขึ้น เป็นไปได้ว่าในช่วงแรกเอนไซม์ PPO ทำปฏิกิริยากับสารประกอบฟีนอลิกของมะเขือยาวจนทำให้เกิดสารสีน้ำตาลขึ้น แต่เมื่อมีการใช้สารสกัดจากรำข้าวด้วยตัวทำละลายต่างๆ และสารเคมีเพื่อยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในมะเขือยาวสไลด์ พบว่า ทุก ๆ ตัวอย่างมีค่าความสว่างเพิ่มขึ้น ซึ่งตรงข้ามกับตัวอย่างควบคุมที่มีค่าความสว่างลดลง แสดงว่าสารสกัดจากรำข้าวและสารเคมีสามารถใช้ในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้

ตารางที่ 3 ค่า a* ของมะเขือยาวเปรียบเทียบแต่ละวิธี ที่ 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง

	a*						
	Time (hrs)						
Treatment	0	0.5	1	2	3	4	5
control	0.45±0.05^{f}	-0.42±0.09^{d}	-0.45±0.06^{d}	0.63±0.19^{d}	0.73±0.03^{c}	1.30±0.01^{a}	1.87±0.04^{a}
citric	-0.31±0.16^{e}	0.38±0.00^{c}	0.31±0.03^{c}	0.41±0.02^{e}	0.28±0.04^{d}	0.35±0.27^{d}	0.51±0.01^{c}
ascorbic	0.11±0.03^{d}	0.49±0.08^{c}	0.54±0.05^{b}	1.04±0.08^{a}	1.08±0.01^{a}	1.23±0.04^{a}	0.94±0.06^{b}
Rb+water	0.70±0.01^{b}	0.57±0.08^{b}	0.46±0.13^{b}	0.84±0.07^{b}	0.75±0.03^{bc}	1.09±0.04^{b}	0.64±0.04^{c}
Rb+hot water	1.06±0.01^{a}	1.07±0.16^{a}	0.85±0.14^{a}	0.74±0.01^{c}	0.85±0.02^{b}	1.03±0.15^{b}	0.47±0.05^{d}
Rb+ethanol	0.40±0.01^{c}	0.61±0.03^{b}	0.74±0.16^{a}	0.88±0.06^{b}	0.79±0.05^{b}	0.65±0.04^{c}	0.36±0.01^{d}

หมายเหตุ: ตัวอักษร $^{a, b}$ ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยข้อมูลมีความแตกต่างกัน ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 3 แสดงค่า a* หรือค่าสีเขียว (-a*) ไปสีแดง (+a*) โดยค่า a* ที่เพิ่มมากขึ้นแสดงถึงการเกิดสีน้ำตาลที่มากขึ้น เมื่อตัวอย่างที่ผ่านการหยดสารสกัดรำข้าวด้วยสารละลายต่างๆ และสารเคมี ในช่วงแรกจะมีค่า a* เพิ่มขึ้นและเมื่อเวลาผ่านไปจะมีแนวโน้มลดลง ยกเว้นตัวอย่างควบคุมที่มีค่า a* เพิ่มมากขึ้นเรื่อยๆ เมื่อนำมาแสดงในรูปแบบของกราฟจะได้ดังภาพที่ 3 ซึ่งสามารถอธิบายได้ว่าในช่วงแรก หลังจากหยดสารสกัดจากรำข้าวด้วยสารละลายต่างๆ และสารเคมีลงไปบนชิ้นมะเขือยาว เอนไซม์ PPO ยังคงเร่งปฏิกิริยาให้เกิดสีน้ำตาลและเมื่อเวลาผ่านไปสารสกัดจากรำข้าวและสารเคมีเข้ายับยั้งการทำงานของเอนไซม์ PPO ทำให้ปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลลดลง ตรงข้ามกับตัวอย่างควบคุมที่ยังคงเกิดสีน้ำตาลเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ



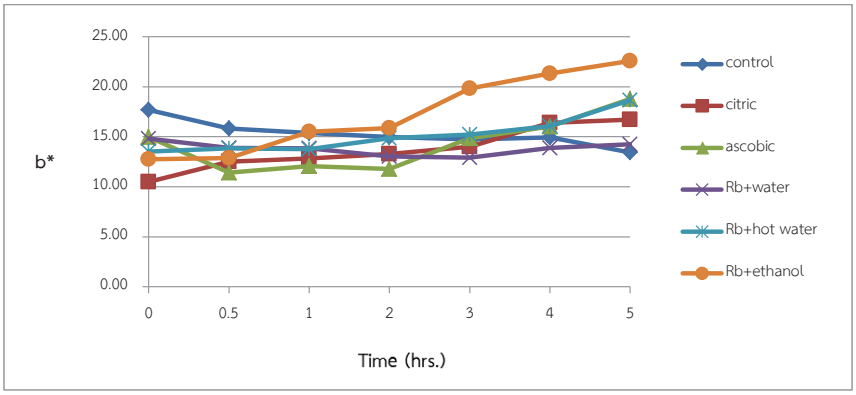
ภาพที่ 3 ค่า a* ที่วัดในมะเขือยาวเปรียบเทียบกันทุกทรีตเมนต์

ตารางที่ 4 ค่า b* ของมะเขือยาวเปรียบเทียบแต่ละวิธี ที่ 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง

	b*						
	Time (hrs)						
Treatment	0	0.5	1	2	3	4	5
control	17.69±0.28^{a}	15.82±0.20^{a}	15.39±0.23^{a}	14.96±0.13^{b}	14.75±0.06^{c}	14.93±0.11^{c}	13.42±0.18^{e}
citric	10.50±0.08^{e}	12.50±0.59^{c}	12.83±0.19^{c}	13.28±0.15^{c}	14.01±0.01^{d}	16.41±0.05^{b}	16.73±0.23^{c}
ascorbic	14.96±0.17^{b}	11.43±0.22^{d}	12.08±0.12^{d}	11.80±0.01^{d}	14.86±0.30^{cb}	16.02±0.26^{b}	18.79±0.11^{b}
Rb+water	14.83±0.23^{b}	13.90±0.12^{b}	13.86±0.01^{b}	13.03±0.08^{c}	12.91±0.12^{e}	13.90±0.25^{d}	14.26±0.16^{d}
Rb+hot water	13.53±0.45^{c}	13.83±0.27^{b}	13.77±0.28^{b}	14.87±0.03^{b}	15.22±0.25^{b}	16.08±0.12^{b}	18.65±0.40^{b}
Rb+ethanol	12.74±0.21^{d}	12.88±0.25^{c}	15.51±0.20^{a}	15.88±0.00^{a}	19.83±0.17^{a}	21.33±0.18^{a}	22.58±0.04^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษร $^{a, b}$ ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยข้อมูลมีความแตกต่างกัน ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4 แสดงค่า b* หมายถึงค่าสีเหลือง หากค่า b* ลดลงค่าความเป็นสีเหลืองจะลดลงในขณะเดียวกันค่าสีน้ำตาลจะมากขึ้น จะเห็นได้ว่าตัวอย่างที่มีการใช้สารสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ จะให้ค่า b* ที่สูงที่สุด ซึ่งหมายถึงเกิดสีน้ำตาลน้อยที่สุด และรองลงมาคือตัวอย่างที่มีการใช้สารสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายน้ำร้อน กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และสารสกัดรำข้าวด้วยน้ำ ตามลำดับ ส่วนตัวอย่างควบคุมพบว่าเมื่อเวลาผ่านไปค่า b* จะลดลงซึ่งหมายถึงเกิดสีน้ำตาลมากขึ้น สามารถนำค่าที่ได้มาแสดงในรูปแบบของกราฟดังภาพที่ 4 จากค่าดังกล่าวสามารถอธิบายได้ว่าตัวอย่างที่มีการใช้สารสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ ทำให้มะเขือยาวสไลด์เกิดสีน้ำตาลน้อยที่สุด รองลงมาคือการใช้สารสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายน้ำร้อน กรดแอสคอร์บิก กรดซิตริก และสารสกัดรำข้าวด้วยน้ำ ตามลำดับ และตัวอย่างควบคุมซึ่งใช้น้ำกลั่นไม่สามารถลดการเกิดสีน้ำตาลลงได้



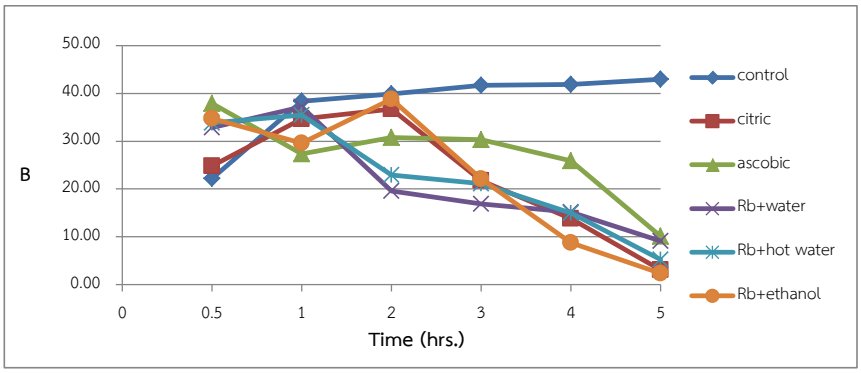
ภาพที่ 4 ค่า b* ที่วัดในมะเขือยาวเปรียบเทียบกันทุกทรีตเมนต์

ตารางที่ 5 ค่าการเกิดสีน้ำตาล (BV) เปรียบเทียบแต่ละวิธี ที่ 0, 0.5, 1, 2, 3, 4 และ 5 ชั่วโมง

	Browning value (BV)						
	Time (hrs.)						
Treatment	0	0.5	1	2	3	4	5
control	-	22.18±0.15^{a}	38.37±0.14^{f}	39.90±0.26^{f}	41.66±0.16^{e}	41.86±0.17^{e}	42.93±0.14^{f}
citric	-	24.83±0.24^{b}	34.60±0.30^{c}	36.73±0.35^{d}	21.72±0.30^{bc}	13.80±0.22^{b}	3.11±0.20^{ab}
ascorbic	-	37.90±0.09^{f}	27.33±0.07^{a}	30.76±0.13^{c}	30.31±0.13^{d}	25.93±0.11^{d}	10.16±0.07^{e}
Rb+water	-	32.86±0.53^{c}	37.19±0.44^{e}	19.63±0.37^{a}	16.87±0.38^{a}	15.18±0.39^{c}	9.09±0.44^{d}
Rb+hot water	-	33.84±0.25^{d}	35.46±0.19^{cd}	22.88±0.48^{b}	21.13±0.20^{b}	15.00±0.20^{c}	5.22±0.33^{c}
Rb+ethanol	-	34.73±0.20^{e}	29.60±0.27^{b}	38.77±0.34^{e}	22.14±0.27^{c}	8.73±0.20^{a}	2.41±0.25^{a}

หมายเหตุ: ตัวอักษร $^{a, b}$ ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง ค่าเฉลี่ยข้อมูลมีความแตกต่างกัน ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 5 แสดงค่าการเกิดสีน้ำตาล (browning value) ของมะเขือยาวสไลด์ โดยวัดจากค่าความสว่าง (L*) ที่เปลี่ยนไปทำให้ชั่วโมงที่ 0 ไม่ปรากฏค่าการเกิดสีน้ำตาลซึ่งคำนวณได้จากสมการที่ 2 พบว่ามะเขือยาวที่ผ่านการหยดสารสกัดจากรำข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ สามารถชะลอการเกิดสีน้ำตาลได้มากที่สุด (ค่า BV ลดลง) ชะลอได้ถึง 94.38 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเทียบกับตัวอย่างควบคุม รองลงมาคือกรดซิตริก สารสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายน้ำร้อน สารสกัดรำข้าวด้วยน้ำกลั่นและกรดแอสคอร์บิก ซึ่งมีค่าเท่ากับ 92.75 87.84 78.86 และ 76.33 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างไรก็ตามตัวอย่างที่มีการใช้สารสกัดจากรำข้าวและสารเคมีมีแนวโน้มในการเกิดสีน้ำตาลลดลง เช่นเดียวกันซึ่งแตกต่างจากตัวอย่างควบคุมที่มีค่าการเกิดสีน้ำตาลเพิ่มสูงขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) นำเสนอในรูปแบบกราฟได้ดังภาพที่ 5



ภาพที่ 5 ค่าการเกิดสีน้ำตาล (BV)

อภิปรายและสรุปผลการวิจัย

ผลการทดสอบหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ ABTS ให้ผลการทดสอบที่สัมพันธ์กัน โดยสารสกัดรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกสูงสุดและสามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันโดยการทดสอบด้วยวิธี DPPH และวิธี ABTS ได้ดีกว่าสารสกัดด้วยตัวทำละลายน้ำ และน้ำร้อน แต่น้อยกว่ากว่ากรดแอสคอร์บิก ทั้งนี้เนื่องจากในรำข้าวมีสารในกลุ่มฟีนอลิก เช่น Caffeic acid, Coumaric acid, Catechin, Ferulic acid, Gallic acid, Hydroxybenzoic acid, Methoxycinnamic acid, Vanillic acid, Sinaptic acid และ Syringic acid [26]-[28] ซึ่งเป็นสารที่สามารถสกัดแยกในตัวทำละลายอินทรีย์ได้ดีกว่าน้ำ [29] จึงทำให้สกัดสารประกอบฟีนอลิกได้มากกว่าหากใช้ตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ โดยพิจารณาจากสภาพขั้วของตัวทำละลายที่ใช้ในการสกัด ตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ เป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่มีสภาพขั้วน้อยกว่าน้ำจึงมีความสามารถในการละลายสารประกอบฟีนอลิกที่อยู่ในรำข้าวได้ดีกว่าสารสกัดจากน้ำ สารในกลุ่มฟีนอลิกมีคุณสมบัติทำหน้าที่กำจัดอนุมูลอิสระ ดังนั้นปริมาณสารฟีนอลิกรวม (TPC) ที่สกัดได้จึงเป็นตัวบ่งชี้ได้ว่าสารสกัดที่ได้มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [30] อย่างไรก็ตามสารสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ จะมีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันน้อยกว่าสารมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก เนื่องจากสารสกัดรำข้าวมีองค์ประกอบทางเคมีหลายชนิดประกอบกันอยู่ มีเพียงสารประกอบบางตัวเท่านั้นที่มีฤทธิ์ยับยั้งสารอนุมูลอิสระ ในขณะที่กรดแอสคอร์บิกอยู่ในรูปของสารบริสุทธิ์

ผลการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลที่เกี่ยวข้องกับเอนไซม์ในมะเขือยาวสไลด์ด้วยสารสกัดรำข้าวที่ได้จากการสกัดด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ น้ำ และน้ำร้อน พบว่าสารสกัดดังกล่าวสามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในมะเขือยาวสไลด์สดและมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันกับการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลโดยการใช้สารเคมีทั้งกรดแอสคอร์บิกและกรดซิตริก ในขณะที่ตัวควบคุมซึ่งเป็นน้ำกลั่นไม่สามารถยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลในมะเขือยาวสไลด์สด อาจเป็นเพราะว่ารำข้าวมีสารประกอบฟีนอลิกในกลุ่ม hydroxycinnamic acid ที่มีประสิทธิภาพในการเป็นตัวต้านออกซิเดชันที่ดี [31] โดยพบว่าโครงสร้างของ hydroxycinnamic acid และอนุพันธ์ประกอบไปด้วยหมู่ –CH=CH-COOH [32] โดยเฉพาะ ferulic acid, sinapic acid, vanillic acid และ p-coumaric acid สารในกลุ่มนี้สามารถจับกับไอออนของโลหะเกิดเป็นสารเชิงซ้อนทำให้ไอออนของโลหะไม่สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันต่อไปได้ [33] ซึ่งในการเกิดปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลด้วยกิจกรรมของเอนไซม์ PPO มีทองแดง (Cu) เป็นธาตุที่จำเป็นในกลไกของปฏิกิริยา [34] ดังนั้นการมีสาร

ที่สามารถจับกับไอออนประจุบวกของทองแดงจึงช่วยลดการทำงานของเอนไซม์ PPO ทำให้การเกิดสีน้ำตาลลดลง เช่นเดียวกับกรดซิตริกมีคุณสมบัติเป็นสารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลซึ่งทำหน้าที่จับโลหะและคุณสมบัติความเป็นกรดจะช่วยยับยั้งเอนไซม์ PPO ด้วยสารพวกแอซิดโพลีฟอสเฟต (acidic polyphosphate) เป็นสารจับโลหะที่อยู่ในโครงสร้างของเอนไซม์ PPO ซึ่งช่วยยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลโดยเฉพาะในผักและผลไม้หลายชนิด [35] ส่วนกรดแอสคอร์บิกถึงแม้จะไม่ได้ทำปฏิกิริยาโดยตรงกับเอนไซม์ PPO หรือเป็นสารจับกับโลหะเหมือนกรดซิตริกแต่เป็นสารที่มีประสิทธิภาพในการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ดีเพราะสามารถรีดิวซ์สารควิโนนที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของสารโพลีฟีนอลด้วยการกระทำของ PPO ให้กลับมาอยู่ในรูปของสารประกอบฟีนอลตามเดิมก่อนที่สารควิโนนจะทำปฏิกิริยาต่อไปเป็นสารสีน้ำตาล [36] จากกลไกของปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาล (ภาพที่ 1) สารสีน้ำตาลที่เกิดขึ้น (o-quinone) เมื่อถูกรีดิวซ์แล้วจะสามารถกลับไปเป็นสารประกอบฟีนอลิก (diphenol) ที่ไม่มีสีได้ ดังนั้นในขั้นตอนนี้จึงสามารถใช้อธิบายได้ว่าเมื่อมีการหยดสารสกัดรำข้าวลงไปบนชิ้นมะเขือยาว สารสกัดที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาการเกิดออกซิเดชันซึ่งเป็นสารที่มีคุณสมบัติเป็นรีดิวซิ่งเอเจนท์จึงเข้าทำปฏิกิริยากับสีน้ำตาลที่เกิดขึ้น (เป็นสีที่ยังไม่เสถียร) แล้วทำให้สีน้ำตาลลดลง ซึ่งจะเห็นได้ว่าค่าสีที่วัดได้โดยเฉพาะ ค่า L* ในช่วงแรกสีจะคล้ำและเมื่อระยะเวลาผ่านไปสีจะสว่างขึ้น โดยสารสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์ จะให้ผลในการยังยั้งการเกิดสีน้ำตาลได้ดีที่สุดเมื่อเทียบกับตัวทำละลายอื่นซึ่งมีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$) ทั้งค่าสี L* a* และ b* แต่ค่าการเกิดสีน้ำตาลไม่แตกต่างจากการใช้กรดซิตริก ถึงแม้ว่าฤทธิ์ในการยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันจะต่ำกว่ากรดซิตริกและกรดแอสคอร์บิกที่วัดในความเข้มข้นเดียวกันก็ตาม (สารสกัดเข้มข้น 1000 μg/ml) แต่การทดลองการยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลผลที่ได้อาจเป็นผลมาจากการทำงานของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดที่มีในสารสกัดรำข้าว (TPC พบมากที่สุดในสารสกัดรำข้าวด้วยเอทานอล 50 เปอร์เซ็นต์) ที่มีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระหรือต้านออกซิเดชันส่วนหนึ่ง และอีกส่วนหนึ่งเป็นการเข้าขัดขวางการทำงานของ PPO [37] เช่นเดียวกับการยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลของกรดซิตริก (ค่า BV ไม่แตกต่างกัน) นอกจากนี้ยังมีปัจจัยอื่นๆ ร่วมด้วย เช่น ความเข้มข้นของสารสกัด ชนิดและลักษณะโครงสร้างของสารออกฤทธิ์ และองค์ประกอบทางเคมีอื่นๆ ที่ไม่ใช่สารในกลุ่มฟีนอลิก

ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้ จึงสรุปได้ว่าการสกัดรำข้าวหอมมะลิสุรินทร์สายพันธุ์ กข 15 ด้วยตัวทำละลายเอทานอล 50เปอร์เซ็นต์ เป็นวิธีที่สามารถสกัดสารประกอบฟีนอลิกในรำข้าวได้ปริมาณมากที่สุด มีฤทธิ์ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน และเป็นสารสกัดจากธรรมชาติชนิดหนึ่งที่มีศักยภาพเป็นสารยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ได้ สามารถนำสารสกัดดังกล่าวไปพัฒนาเพื่อทดแทนหรือใช้ร่วมกับสารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลอื่นๆ ได้

ข้อเสนอแนะ

เนื่องจากงานวิจัยฉบับนี้เป็นการวิจัยเพื่อเปรียบเทียบผลของการสกัดรำข้าวด้วยตัวทำละลายที่แตกต่างกัน เพื่อให้ได้มาซึ่งสารสกัดที่มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกมากที่สุดโดยมีผลต่อฤทธิ์การยับยั้งปฏิกิริยาออกซิเดชันและมีฤทธิ์การยับยั้งปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลเพื่อเลือกวิธีการสกัดที่เหมาะสมที่สุดที่จะนำไปใช้ในการวิจัยครั้งต่อไป โดยอาจนำสารสกัดรำข้าวจากการทำแห้งแบบ Freeze dry ไปศึกษาต่อยอดเกี่ยวกับปริมาณความเข้มข้นที่มีผลต่อฤทธิ์การยับยั้งการเกิดสีน้ำตาล และยังสามารถนำไปพัฒนาเป็นผงสารสกัดที่มีศักยภาพเพื่อเป็นสารยับยั้งการเกิดสีน้ำตาลเนื่องจากเอนไซม์ต่อไปได้ ศึกษาเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพการออกฤทธิ์ของสารสกัดที่แตกต่างกัน ปริมาณของสารสกัดที่ใช้ในการศึกษาปฏิกิริยาการเกิดสีน้ำตาลจะต้องมีปริมาณมากพอที่จะไม่ทำให้ผิวหน้าของตัวอย่างแห้งเพราะจะมีผลต่อค่าสีที่วัดได้ ดังนั้นหากต้องใช้ในการปฏิบัติจริงและให้ได้ผลควรใช้วิธีการจุ่มหรือแช่ในสารสกัด และอีกสาเหตุหนึ่งที่ควรระวังคือสีของสารสกัดรำข้าวที่ได้จากตัวทำละลายแตกต่างกัน สารสกัดที่ได้จึงมีสีที่แตกต่างกันด้วย

ทำให้ค่าการวัดสีในทุกๆตัวอย่างมีค่าเริ่มต้นไม่เท่ากัน ควรศึกษาเวลาที่แน่นอนที่สามารถป้องกันการเกิดสีน้ำตาลได้ รวมทั้งวิธีการเก็บรักษาสารสกัดก่อนนำมาใช้เพื่อป้องกันการเปลี่ยนแปลงที่อาจจะเกิดขึ้นและส่งผลต่ออาหารได้ เช่น การเกิดการหืน (rancidity) เป็นต้น

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ ที่ให้การสนับสนุนการวิจัยในครั้งนี้ ขอบคุณศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ มหาวิทยาลัยราชภัฏสุรินทร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์เครื่องมือและสารเคมี และ ขอบคุณสาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารที่อนุเคราะห์สถานที่และเครื่องมือในการทำวิจัย

เอกสารอ้างอิง

1. Daniel H, Kon T, Kudo T, Guerra M.P. Enzymatic Browning, Polyphenol Oxidase Activity, and Polyphenols in Four Apple Cultivars: Dynamics during Fruit Development. HortScience: a publication of the American Society for Horticultural Science 2010;45(8):1150-4.
2. Panis F, Rompel A. Identification of the amino acid position controlling the different enzymatic activities in walnut tyrosinase isoenzymes (*jr*PPO1 and *jr*PPO2). Sci Rep 2020;10:10813.
3. นิธิยา รัตนาปนนท์. เคมีอาหาร (Food Chemistry). พิมพ์ครั้งที่ 5. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์; 2558.
4. Moon K.M, Kwon E.B, Lee B, Kim C.Y. Recent Trends in Controlling the Enzymatic Browning of Fruit and Vegetable Products. Molecules 2020;25(12):2754.
5. Dias C, Fonseca A.M.A, Amaro A.L, Vilas-Boas A.A, Oliveira A, Santos S.A.O, Silvestre A.J.D, Rocha S.M, Isidoro N, Pintado M. Natural-Based Antioxidant Extracts as Potential Mitigators of Fruit Browning. Antioxidants 2020;9(8):715-34.
6. Saini DK, Kaushik P. Visiting eggplant from a biotechnological perspective: A review. Sci Hortic 2019;253:327-40.
7. Whitaker BD, Stommel JR. Distribution of Hydroxycinnamic Acid Conjugates in Fruit of Commercial Eggplant (*Solanum melongena* L.) Cultivars. J Agric Food Chem 2003;51:3448-54.
8. Fujita S, Tono T. Purification and some properties of polyphenol oxidase in eggplant (*Solanum melogena*). J Sci Food Agric 1988;46: 115-23.
9. Perez-Gilabert M, Garcia-Carmona F. Characterization of catecholase and cresolase activities of eggplant polyphenol oxidase. J Agric Food Chem 2000;48:695-700.
10. Son J, Hyun JE, Lee JW, Lee SY, Moon B. Combined Application of Antibrowning, Heat Treatment and Modified-Atmosphere Packaging to Extend the Shelf Life of Fresh-Cut Lotus Root. J Food Science 2015;80(6):C1178-87.
11. Howard LR, Smith RT, Wagner AB, Villalon B, Burns EE. Provitamin A and ascorbic acid content of fresh pepper cultivars *(Capsicum annuum)* and processed Jalapenös. J Food Science 1994;59:362-5.
12. อัครเกียรติ พวงแสง, ศุภกาญจน์ รัตนกร. การสกัดสารออกฤทธิ์ชีวภาพจากรำข้าวโดยการให้ความร้อนแบบไฮโดรเทอร์มอลร่วมกับการใช้คลื่นอัลตราซาวด์. ใน: เอกสารประกอบการประชุมวิชาการเสนอผลงานวิจัยระดับบัณฑิตศึกษาแห่งชาติ ครั้งที่ 21 วันที่ 27 มีนาคม 2563. มหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น; 2563. หน้า BM061-8.

13. Wu XL, Gu LW, Holden J, Haytowitz DB, Gebhardt SE, Beecher G, Prior RL. Development of a database for total antioxidant capacity in foods: A preliminary study. J Food Compos Anal 2004;17:407-22.
14. Mahunu GK, Zhang H, Yang Q, Zhang X, Li D, Zhou Y. Improving the biocontrol efficacy of *Pichia caribbica* with phyticacid against postharvest blue mold and natural decay in apples. Biol Control 2016;92:172-80.
15. ประกายมาศ เลิศวิราม, ปวีณา สวัสดิ์มิ่ง. การชะลอการเกิดสีน้ำตาลในมันฝรั่งบดโดยใช้สารสกัดจากรำข้าววิธีทางเคมี และการใช้ความร้อน. วิทยานิพนธ์ระดับปริญญาตรี สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร, คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่; 2019.
16. Threranukool S, Kubglomsong S, Theerakulkait C. Effect of spray-dried rice bran extract on inhibition of enzymatic browning in potato puree. J Food Sci Technol 2018;4(Spcl.Iss.): 111-5.
17. Marshall RM, Kim J, Wei CI. Enzymatic browning in fruits, vegetables and seafoods. FAO, United States. 2000.
18. อรอนงค์ นัยวิกุล. ข้าว : วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. พิมพ์ครั้งที่ 3. กรุงเทพฯ: มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; 2556.
19. ปรีดาวรรณ ขอช่วยกลาง, วรนุช ศรีเจษฎารักข์. การเปรียบเทียบวิธีการสกัดด้วยตัวทำละลายต่อการสกัดวิตามินอีและแกมมาโอไรซานอลจากรำข้าวพันธุ์ กข 6. วารสารวิจัย มข 2013;13(2):10-7.
20. โชคชัย ธีรกุลเกียรติ, กัณณิกา บุญสิริพิพัฒน์. ผลของสารสกัดจากรำข้าวต่อการเกิดสีน้ำตาล และกิจกรรมของเอนไซม์พอลิฟีนอลออกซิเดสในผักและผลไม้. ใน: เอกสารประกอบการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 45 วันที่ 30 มกราคม - 2 กุมภาพันธ์ 2550. สาขาส่งเสริมการเกษตรและคหกรรมศาสตร์ สาขาอุตสาหกรรมเกษตร, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ; 2550. หน้า 355-62.
21. Chiou T, Ogino A, Kobayashi T, Adachi S. Characteristics and antioxidative ability of defatted rice bran extracts obtained using several extractants under subcritical conditions. J Oleo Sci 2013;62:(1)1-8.
22. Singleton VL, Rossi JA. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic phosphotungstic acid reagents. American. Am J Enol Vitic 1965;16:144-58.
23. Veeru P, Kishor MP, Meenakshi M. Screening of medicinal plant extracts for antioxidant activity. J Med Plant Res 2009;3(8):608-12.
24. Re R, Pellegrini N, Pannala A, Yang M, Rice-Evan C. Antioxidant activity applying an improve ABTS radical cation decolorisation assay. Free Radic Biol Med 1999;26:1231-7.
25. Tosun M, Ercisli S, Sengul M, Ozer H, Polat T, Ozturk E. Antioxidant properties and total phenolic content of eight Salvia species from Turkey. Biol sci 2009;41:175-81.
26. Pourali O, Asghari FS, Yoshida H. Production of phenolic compounds from rice bran biomass under subcritical water conditions. J Chem Eng 2010;160:259-66.
27. Arab, F., Alemzadeh, I., MaghsoudI, V. Determination of antioxidant component and activity of rice bran extract. Sci Iran 2011;18: 1402-6.
28. Sukhonthara S, Kaewka K, Theerakulkait C. Inhibitory effect of rice bran extracts and its phenolic compounds on polyphenol oxidase

activity and browning in apple puree. Food Chem 2016;190:922-7.

29 .X-Rite. A Guide to Understanding Color Communication. X-Rite, Incorporated., United States. 2007.

30. Haminiuk C.W, Plata-Oviedo M.S, de Mattos G, Carpes S.T, Branco I.G. Extraction and quantification of phenolic acids and flavonols from *Eugenia pyriformis* using different solvents. J Food Sci Technol 2014;51(10):2862–6.

31. Kim K.H, Tsao R, Yang R, Cui S.W. Phenolic acid profiles and antioxidant activities of wheat bran extracts and the effect of hydrolysis conditions. Food Chem 2006;95:466-73.

32. Macheix J, Fleuriet A, Billot J. Fruit Phenolics. Florida: CRC Press. Boca Raton; 1990.

33. Lee M.Y, Lee M.K, Park I. Inhibitory effect of onion extract on polyphenol oxidase and enzymatic browning of taro *(Colocasia antiquorum* var. *esculenta).* Food Chem 2007;105:528-32.

34. Du Y.J, Dou S.Q, Wu S.J. Efficacy of phytic acid as an inhibitor of enzymatic and non-enzymatic browning in apple juice. Food Chem 2012;135(2):580-2.

35. de Aguiar Cipriano P, Ekici L, Barnes RC, Gomes C, Talcott ST. Pre-heating and polyphenoloxidase inhibition impact on extraction of purple sweet potato anthocyanins. Food Chem 2015;180:227–34.

36. Arias E, Buesa J.G, Oria R, Buesa P.L. Ascorbic acid and 4-hexylresorcinol effects on pear PPO and PPO catalyzed browning reaction. J Food Sci 2007;72(1):C422–9.

37. Ali H.M, Gizawy A.M, Elbassiouny R.E, Saleh M.A. Browning inhibition mechanisms by cysteine, ascorbic acid and citric acid, and identifying PPO-catechol-cysteine reaction products. J Food Sci Technol 2015;52(6):3651-9.