

ปริมาณแกมมาโอไรซานอลในข้าวเหนียวเก่าพื้นเมืองของไทย  
Gamma Oryzanol Content in Purple Rice Thailand Local Genotypes

ปณิตา บุญสิทธิ์<sup>1</sup> ดำเนิน กาละดี<sup>1</sup> และ พันทิพา พงษ์เพ็ญจันทร์<sup>2</sup>  
Panita boonsit<sup>1</sup>, Dumnern Karladee<sup>1</sup> and Puntipa Pongpiachan<sup>2</sup>

Abstract

Gamma oryzanol ( $\gamma$ -oryzanol) is an unsaponifiable component of rice oil, composed of several kinds of ferulic acids and has an effect similar to vitamin E in human health. Previous research on  $\gamma$ -oryzanol has concentrated on the content in the rice bran, which is not useful in human diet. Our objective, therefore, in this research was to determine the content of  $\gamma$ -oryzanol in the unpolished rice grain. Crude oil, semi-gamma oryzanol and  $\gamma$ -oryzanol contents were determined in ten purple rice and two white rice genotypes. Three replications of RCBD was designed in the field experiment. Grains of each replication were milled as unpolished. Purple rice grains and brown rice grains were therefore the unpolished purple rice and white rice genotypes respectively. Crude oil was extracted from the purple rice and brown rice grains using n-hexane and ethyl acetate. A reverse-phase HPLC column of ODS C<sub>18</sub> was applied in analyzing the contents. The results show that the contents of crude oil extracted from brown rice grains of the white rice genotypes did not differ significantly from the contents extracted from purple rice grain of the purple rice genotypes. The overall mean was 2.60 mg/100g grain. This led to the correlation coefficient of crude oil to semi purified  $\gamma$ -oryzanol and  $\gamma$ -oryzanol to be non significant. The differences among the contents of semi purified  $\gamma$ -oryzanol were significant, as were the differences among the contents of  $\gamma$ -oryzanol. The higher content of  $\gamma$ -oryzanol was found in two purple rice genotypes (72.95 and 70.16 mg/100g grain). These two genotypes exhibited also a higher semi purified  $\gamma$ -oryzanol content (2.15 and 2.24 g/100g grain). The relationship between semi purified  $\gamma$ -oryzanol and  $\gamma$ -oryzanol were still significant.

บทคัดย่อ

แกมมาโอไรซานอลเป็นสารประกอบที่พบในน้ำมันรำข้าว ประกอบไปด้วยกรดเฟอรูลิกหลายชนิด และมีคุณสมบัติที่ดีต่อสุขภาพคล้ายกับวิตามินอี ที่ผ่านมาเป็นงานทดลองเกี่ยวกับปริมาณแกมมาโอไรซานอลในรำข้าวซึ่งไม่ก่อประโยชน์กับสุขภาพของมนุษย์ที่บริโภคข้าวสาร และข้าวกล้อง ดังนั้น วัตถุประสงค์ของงานทดลองครั้งนี้เพื่อหาปริมาณแกมมาโอไรซานอลในเมล็ดข้าวกล้อง โดยใช้ข้าวเหนียวดำ 10 พันธุ์กรรม และข้าวขาว 2 พันธุ์ วิเคราะห์ปริมาณไขมันโดยรวม, แกมมาโอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์ และแกมมาโอไรซานอลบริสุทธิ์ โดยวางแผนการทดลองแบบ RCBD ทำ 3 ซ้ำ นำเมล็ดข้าวแต่ละซ้ามาสีโดยไม่ขัดได้ เมล็ดข้าวม่วง (ของข้าวเหนียวดำ) เมล็ดข้าวกล้อง (ของข้าวขาว) จากนั้นสกัดไขมันโดยรวมโดยใช้ n-hexane และ ethylacetate และหาปริมาณแกมมาโอไรซานอลโดยใช้เทคนิค HPLC ใช้คอลัม reverse-phase ODS C<sub>18</sub> ผลการทดลองพบว่า ปริมาณไขมันโดยรวมที่สกัดจากเมล็ดข้าวม่วงและข้าวกล้องมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 2.60 g/100g grain ซึ่งทำให้เมื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ กลับไม่พบความสัมพันธ์ใดๆระหว่างไขมันโดยรวมกับแกมมาโอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์ และแกมมาโอไรซานอล ( $r = 0.514ns$  และ  $0.146ns$  ตามลำดับ) เมื่อวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างปริมาณแกมมาโอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์และปริมาณแกมมาโอไรซานอล ของ 12 พันธุ์กรรมที่ทดสอบ พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และข้าวเหนียวดำพันธุ์เก่าพันธุ์เก่าดอยสะเก็ด และ Kum Col. No.002 แสดงปริมาณของแกมมาโอไรซานอลสูง (72.95 และ 70.16 mg./100 g grain ตามลำดับ) และยังพบว่าแสดงปริมาณแกมมาโอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์ของทั้งสองที่สูงด้วย (2.15 และ 2.24 g/100 g grain ตามลำดับ) และลักษณะทั้งสองแสดงความสัมพันธ์ในเชิงบวก ( $r=0.684^*$ )

**Key words:** Gamma oryzanol, Brown rice grain, Purple rice grain

<sup>1</sup> ภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

<sup>1</sup> Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University 50200

<sup>2</sup> ภาควิชาสัตวศาสตร์ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50200

<sup>2</sup> Department of Animal Science, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University 50200

## คำนำ

ข้าวเหนียวดำ (Purple rice) ที่ทางภาคเหนือและตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่า หรือ ข้าวดำ เป็นข้าวที่มีสีของเปลือกและเยื่อหุ้มเมล็ด (pericarp) เป็นสีม่วง หรือแดงก่ำ เกิดจากสารสี แอนโทไซยานิน (anthocyanin) (Hayashi and Abe, 1952; Hayashi and Isaka, 1964) พันธุกรรมข้าวไทย ข้าวที่มีเมล็ดสีขาวมีชื่อเรียกหลากหลาย ขึ้นอยู่กับลักษณะทางกายภาพ หรือคุณภาพ แต่สำหรับข้าวเหนียวดำแล้วถูกเรียกว่า “ข้าวดำ” เท่านั้น ถึงแม้ว่าจะมีลักษณะทางกายภาพหลายอย่างแตกต่างกัน

สำหรับในน้ำมันรำข้าว สารที่พบคือ แกมมาโอไรซานอล เป็นสารที่มีคุณภาพด้านการต่อต้านอนุมูลอิสระซึ่งเป็นสาเหตุของการเกิดมะเร็ง (Dejian *et al.*, 2002) และใช้ในการแก้ปัญหาสุขภาพ เช่น ลดการดูดซึมคอเลสเตอรอลจากอาหารสู่ร่างกาย ลดการสังเคราะห์คอเลสเตอรอลในตับ (Nakamura *et al.*, 1996) ลดปริมาณคอเลสเตอรอลในพลาสมา (Lichenstein *et al.*, 1994) และใช้ในการปรับสมดุลของสภาพ menopause ของสตรีวัยทองเป็นต้น (Nakayama *et al.*, 1987) แต่ค่าใช้จ่ายในการสกัดค่อนข้างสูงและขึ้นอยู่กับสภาพและองค์ประกอบของไขมันโดยรวม อย่างไรก็ตาม ปริมาณแกมมาโอไรซานอลอาจขึ้นอยู่กับปริมาณไขมันโดยรวม และพันธุกรรมที่ใช้

วัตถุประสงค์ของงานวิจัยครั้งนี้ เพื่อศึกษาปริมาณแกมมาโอไรซานอลในตัวอย่างข้าวเหนียวดำ ที่เก็บรวบรวมจากภาคเหนือ และภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย

## วิธีการทดลอง

กำหนดการทดลองจากตัวอย่างพันธุ์กรรมข้าว 12 ตัวอย่าง เป็นข้าวเหนียวดำ 10 ตัวอย่าง โดยเป็นสายพันธุ์รับรองของกรมวิชาการเกษตร 2 สายพันธุ์ (ก่ำดอยสะเก็ด และ ก่ำอมก๋อย) ส่วนอีก 8 ตัวอย่าง เป็นข้าวที่เก็บสะสมจากจังหวัดต่างๆ ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย และใช้พันธุ์ข้าวขาวซึ่งเป็นพันธุ์ปลูก 2 พันธุ์เป็นพันธุ์ คือ ขาวดอกมะลิ 105 และ กข 6 วางแผนการทดลองแบบ CRBD 3 ซ้ำ และวิเคราะห์ทางสถิติโดยใช้ โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS เมล็ดข้าวที่เก็บเกี่ยวแล้วถูกนำไปสีโดยไม่ขัดขาวได้ข้าวม่วง (จากข้าวเหนียวดำ) และข้าวกล้อง (จากข้าวขาว) หลังจากนั้นบดเมล็ด และเก็บที่อุณหภูมิ 15 C เพื่อรอการวิเคราะห์ต่อไป

การสกัดไขมันโดยรวม (crude oil) ใช้การประยุกต์ใช้จากวิธีการของ Xu และ Godber (1999) โดยใช้ตัวอย่างข้าวที่บดแล้ว 25 กรัมใส่ในขวดแก้ว เต็มกรด ascorbic 1 กรัม เต็ม hexane 35 มล. และ ethyl acetate 15 มล. จากนั้นนำเข้าเครื่อง rotary evaporator นาน 40 นาที จากนั้นเติมน้ำกลั่น 25 มล. และนำเข้าเครื่อง rotary evaporator อีกครั้งนาน 10 นาที จากนั้นกรองสารละลายที่ได้จากข้าวกล้อง แล้วนำสารละลายที่ได้เข้าเครื่อง rotary evaporator เพื่อให้ได้ไขมันโดยรวม หลังจากนั้นนำไปสกัดแกมมาโอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์ (semipurified  $\gamma$ -oryzanol) โดยใช้ Low-pressure silica column และใช้สารละลาย (hexane/ethyl acetate = 7:3) 50 มล.เป็นตัวทำละลาย หลังจาก crude oil ผ่านคอลัมน์ และทำการแยกสารที่ใช้เป็นตัวทำละลายออก โดยใช้ rotary evaporator จะได้ semipurified  $\gamma$ -oryzanol และนำ semipurified  $\gamma$ -oryzanol ที่สกัดได้มาเจือจางกับ mobile phase แล้วกรองผ่าน filter membrane, pore size ขนาด 0.45  $\mu$ m จากนั้นนำสารละลายที่ได้ไปฉีดในเครื่อง High Performance Liquid chromatography (HPLC) เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณแกมมาโอไรซานอล

## ผลการทดลอง

ผลการวิเคราะห์แสดงในตารางที่ 1 พบว่า ปริมาณไขมันโดยรวมที่สกัดจากเมล็ดที่ไม่ขัดสีทั้งของข้าวม่วงและข้าวกล้องมีค่าไม่แตกต่างกัน โดยมีค่าตั้งแต่ 2.19 ถึง 3.09 g/100 g grain และค่าเฉลี่ยอยู่ที่ 2.61 g/100g grain อย่างไรก็ตาม ปริมาณแกมมาโอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์และปริมาณแกมมาโอไรซานอลบริสุทธิ์ แสดงปริมาณต่างกัน ( $p = 0.0179$  และ  $0.0000$  ตามลำดับ) โดยมี 6 พันธุกรรมแสดงปริมาณแกมมาโอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์สูงคือ 2.15 – 2.40 g/100g grain และ Kum Col. No. 026 แสดงค่าต่ำสุดที่ 1.56 g/100g grain ส่วนพันธุกรรมอื่นที่มีปริมาณอยู่ระหว่างกลาง สำหรับพันธุกรรมที่แสดงปริมาณแกมมาโอไรซานอลสูงที่สุดคือ ก่ำดอยสะเก็ด และ Kum Col No. 002 (72.95 และ 70.16 mg/100 g grain ตามลำดับ) ส่วน KDML 105 และ RD 6 ซึ่งเป็นข้าวขาวเป็นกลุ่มที่แสดงปริมาณแกมมาโอไรซานอลต่ำสุด (30.89 และ 30.44 mg/100 g grain ตามลำดับ)

ความสัมพันธ์ระหว่างไขมันโดยรวมกับแกมมาโอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์มีค่าไม่มีนัยสำคัญ ( $r = 0.514ns$ ) เช่นเดียวกับความสัมพันธ์กับแกมมาโอไรซานอล ( $r = 0.146ns$ ) ในขณะที่ความสัมพันธ์ระหว่าง แกมมาโอไรซานอลกึ่งบริสุทธิ์ กับแกมมาโอไรซานอลมีนัยสำคัญ ( $r = 0.684^*$ ) (ตาราง 2)

### วิจารณ์ผลการทดลอง

ปริมาณไขมันโดยรวมของทั้ง 12 พันธุ์กรรมไม่มีความแตกต่างกัน เนื่องจากน้ำหนักของปริมาณของไขมันโดยรวมที่สกัดได้จากข้าวไม่ขัดขาวได้จากน้ำหนักของส่วนของเปลือกชั้นในที่ติดกับเมล็ด (pericarp) ซึ่งมีร้อยละ 10 ของน้ำหนักเมล็ด (Saunders และ Betschart, 1979) แสดงว่าปริมาณที่อยู่ใน pericarp มีน้อยเมื่อเทียบกับที่อยู่ในส่วนอื่นของเมล็ด ทำให้ไม่พบความแตกต่างของปริมาณไขมันที่สำคัญทางสถิติ ส่วนปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่บริสุทธิ์ที่ได้เกิดจากการนำไขมันโดยรวมผ่านกรรมวิธีกำจัด triglycerides และ ไขมันตัวอื่น (Xu *et al.*, 1999) ในข้าวแต่ละพันธุ์กรรมอาจมีความแตกต่างขององค์ประกอบเหล่านี้แตกต่างกันทำให้ได้ปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่บริสุทธิ์ในแต่ละพันธุ์กรรมมีความแตกต่างกัน ส่วนความแตกต่างกันของปริมาณแกมมาโอไรซานอลในแต่ละพันธุ์กรรมนั้นอาจเกิดจากความแตกต่างทางพันธุกรรมและสิ่งแวดล้อม (Miller *et al.*, 2003) และปริมาณแกมมาโอไรซานอลมีความแตกต่างกันในกลุ่มข้าวเก่า อาจเกิดจากสีเมล็ดข้าวเก่าแต่ละพันธุ์กรรมที่มีความหลากหลาย และปริมาณ anthocyanin ในเมล็ดอาจมีส่วนเกี่ยวข้องกับปริมาณแกมมาโอไรซานอลที่แตกต่างกันได้

### คำขอบคุณ

ทีมงานวิจัยขอขอบพระคุณ โครงการพัฒนาหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาพืชไร่ ภายใต้โครงการพัฒนาบัณฑิตศึกษา เพื่อพัฒนาอุดมศึกษาไทย (PED) สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา กระทรวงศึกษาธิการ ที่ให้การสนับสนุนงบประมาณในการทำวิจัยครั้งนี้

### เอกสารอ้างอิง

- ดำเนิน กาละดี และ พันทิพา พงษ์เพ็ญจันทร์. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่อง Gamma Oryzanol ในเมล็ดข้าวกล้องและรำของข้าวเหนียวดำ. 2003. สถาบันวิทยาการหลังการเก็บเกี่ยว มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 20 หน้า
- Dejian H., B. Ou., M. Hampsch-Woodill., J.A. Flanagan and E.K. Deemer. 2002. Development of Oxygen Radical Absorbance Capacity Assay for Lipophilic Antioxidants Using Randomly Methylated Solubility Enhancer. *J. Agri. Chem.* 50: 1815-1821.
- Hayashi K. and Y. Abe. 1952. Fundamentals on experimental procedures for the paper-chromatographic survey of naturally occurring anthocyanins. *Rept. Res. Inst. Natural Resources.* 28: 1-11.
- Hayashi K. and T. Isaka. 1964. Studies for Anthocyanin XIV. Über Wasserstoffionenkonzentration des Presssaftes aus der anthocyanführenden Pflanzorganen. *Proc. Japan. Acad.* 22:256-258.
- Lichtenstein, A.H., L.M. Ausman, J.L. Jenner, W. Carrasco, L.J. Gualtieri, J.L. Jenner, J.M. Ordovas, R.J. Nicolosi, B.R. Goldin, and E.J. Schaefer. 1994. Rice Bran Oil Consumption and Plasma Lipid Levels in Moderately Hypercholesterolemic Humans. *Arteriosclerosis.* 14(4): 549-556.
- Nakamura, H. 1996. Effect of  $\gamma$ -oryzanol on Hepatic Cholesterol Biosynthesis and Fecal Excretion Metabolites. *Radioisotopes.* 25: 371-374.
- Nakayama, S., A. Manabe, J. Suzuki, K. Sakamoto, and T. Inagake. 1987. Comparative Effects of Two Forms of  $\gamma$ -oryzanol in Different Sterol Compositions on Hyperlipidemia Induced by Cholesterol Diet in Rats. *Japan Journal of Pharmacology* 44(2): 135-143.
- Saunders, R. and A. Betschart. 1979. In G.E. Inglett & G. Charalambous, eds. *Tropical foods: Chemistry and Nutrition.* 191-216.
- Xu, Z., and J. S. Godber. 1999. Purification and Identification of Components of Gamma Oryzanol in Rice Bran Oil. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.* 47:2724-2728.

**Table 1** Crude oil, Semi purified gamma oryzanol and Gamma oryzanol content in unpolished rice grains

Genotypic	Crude oil (g/100g grain)	Semi purified gamma oryzanol (g/100g grain)	Gamma oryzanol (mg/100g grain)		
Purple rice:					
Kumdoisaket	2.68	2.15	ab	72.95	a
Kum Col. No. 002	2.23	2.24	ab	70.16	a
Kum Col. No. 003	2.43	2.27	ab	61.5	b
Kum Col No. 001	2.91	1.85	b	60.48	b
Kum Col.No.027	2.47	2.40	a	57.49	bc
Kum Col. No.029	2.85	2.08	b	54.18	c
Kum Col. No.028	2.19	2.27	ab	49.77	c
Kum Col. No.026	2.91	1.56	c	48.1	c
Kum Col. No.008	3.09	1.88	b	41.31	d
KumOmkoï	2.32	2.07	b	39.83	d
White rice :					
Kaowdokmali 105	2.20	2.16	ab	30.89	e
RD 6	2.93	1.81	bc	30.44	e
Mean	2.61	2.06		51.43	
LSD (0.05)	0.68 ns	0.28 *		6.09*	
SD	0.33	0.24		14.00	
SE	0.33	0.14		2.94	

**Table 2** Correlation coefficient of crude oil, semi purified gamma oryzanol and gamma oryzanol content

	Semi purified gamma oryzanol	Gamma oryzanol
Crude oil	0.514 ns	0.146 ns
Semi purified gamma oryzanol		0.684 *