Agricultural Sci. J. 42 : 1 (Suppl.) : 417-420 (2011) ว. วิทย. กษ. 42 : 1 (พิเศษ) : 417-420 (2554)

ปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวมในเมล็ดของข้าวเหนียวก่ำกับความสัมพันธ์กับลักษณะฟีโนไทป์ของพันธุ์

Total Phenolic Compound in Glutinous Purple Rice Grains and Relation to Phenotype Characteristics

ธนพัฒน์ รุ่งวัฒนพงษ์[1] กนกวรรณ ศรีงาม[2]และ ดำเนิน กาละดี[3]

Tanaphat Rungwattanapong[1],Kanokwan Sringarm[2] and Dumnern Karladee[3]

Abstract

Evaluation of total phenolic compound in plant extract could identify levels of anti-oxidant activity of the crop. In this report, a total phenolic compound content was analyzed in unpolished grains of 31 genotypes of glutinous purple rice local varieties (*Oryza sativa* L.). Phenotype identifying a variety characteristic was characterization. The objective was to determine genetic variation in total phenolic contents. Relation to the phenotype characteristics was also determined. The results showed that the total phenolic contents in the unpolished purple rice grains varied from 2.05 to 10.85 mg/g GE **(P≥0.01)** indicated an existing of genetic variation. The contents in the unpolished purple rice grains (average 4.86 mg/g GE) was higher than those was in the brown rice grains of KDML105 (0.75 mg/g GE) and RD 6 (0.65 mg/g GE) which signified that purple rice grains manifested a better anti-oxidant activity than the white rice grains. Phenotypic differences were identified in color of stem, leaf, flower and seed. The difference in seed pericarp colors showed a positive relation to contents of the total phenolic compound. The three groups of purple seed pericarp color were: 1) dark purple 2) purple and 3) light purple in which, group 1) exhibited a higher content (3.09 -10.86 mg/g GE) than group 2) and 3) (2.51 - 6.14 and 2.72 – 3.87 mg/g GE respectively), indicated a close relation between levels of purple pericarp color and contents of total penolic compound in the seeds.

Keyword: Purple glutinous rice, Total phenolic compound, Anti-oxidant activities

บทคัดย่อ

การตรวจสอบปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวม ในน้ำสกัดพืช สามารถบ่งชี้ถึงระดับของปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระของพืชนั้นๆได้ งานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวม ในเมล็ดข้าวกล้องไม่ขัดสีของข้าวเหนียวก่ำพันธุ์พื้นเมือง 31 พันธุ์ รวมทั้งศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์เฉพาะประจำพันธุ์ วัตถุประสงค์เพื่อประเมินความแตกต่างระหว่างพันธุ์ของปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวม และประเมินความสัมพันธ์กับความแตกต่างของลักษณะทางฟีโนไทป์ ผลการทดลอง พบความแตกต่างของปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวม ตั้งแต่ 2.51 ถึง 10.86 mg/g GE (P≥0.01) และปริมาณสารดังกล่าวในเมล็ดของข้าวเหนียวก่ำ (เฉลี่ย 4.86 mg/g GE) จะสูงกว่าในเมล็ดข้าวพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (0.75 mg/g GE) และของ กข 6 (0.65 mg/g GE) แสดงว่าข้าวเหนียวก่ำมีความสามารถในปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระสูงกว่าข้าวขาว ส่วนความแตกต่างทางฟีโนไทป์นั้น พบว่าความต่างของสีลำต้น ใบ ดอก และเมล็ด แสดงลักษณะเฉพาะประจำแต่ละพันธุ์ แต่ความแตกต่างทางฟีโนไทป์ของสีเยื่อหุ้มเมล็ดเท่านั้น ที่แสดงความสัมพันธ์กับความแตกต่างของปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวม ซึ่งสามารถแบ่งสีเยื่อหุ้มเมล็ดได้ 3 กลุ่ม คือ 1) เยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ 2) เยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง 3) เยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงอ่อน โดยกลุ่มที่เยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงดำ (3.09-10.86 mg/g GE) แสดงปริมาณสารสูงกว่ากลุ่มเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง (2.51-6.14 mg/g GE) และกลุ่มเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงอ่อน (2.72–3.73 mg/g GE) ตามลำดับ

คำสำคัญ: ข้าวเหนียวก่ำ, สารฟีนอลิกโดยรวม, ปฏิกิริยาการต้านอนุมูลอิสระ

[1] ภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50202

[1] Department of Plant Science and natural Resources, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

[2] ห้องปฏิบัติการกลาง คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ 50202

[2] Central Lab, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University

[3] หน่วยวิจัยข้าวก่ำ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

[3] Purple Rice Research Unit, Science and Technology Research Institute, Chiang Mai University

คำนำ

ข้าวก่ำ (*Oryza sativa* L.) มีลักษณะแตกต่างไปจากข้าวทั่วไปด้วยการปรากฏของสีม่วงบนส่วนต่างๆ ของต้น เช่น กาบใบ แผ่นใบ กลีบดอก เปลือกเมล็ด และเยื่อหุ้มเมล็ด ซึ่งมีหลากหลายพันธุ์ มีลักษณะทางฟีโนไทป์แตกต่างกันตามแหล่งปลูก (ดำเนิน และ ศันสนีย์ , 2543) คุณลักษณะเด่นพิเศษของข้าวก่ำคือ รงควัตถุสีม่วง (Anthocyanidin) ที่เป็นลักษณะเฉพาะของเยื่อหุ้มเมล็ด (pericarp) ของเมล็ดข้าวก่ำ (ธิดารักษ์ และดำเนิน, 2553) มีคุณสมบัติที่มีค่าต่อสุขภาพมนุษย์อันเนื่องจากสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระ (antioxidant) แสดงปฏิกิริยาช่วยลดการอักเสบและลดความเครียดออกซิเดชันในร่างกาย ข้าวก่ำมีความสามารถการต้านอนุมูลอิสระสูงเป็น 4 เท่าของข้าวกล้อง อื่นทั่วไป ยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งท่อหายใจในปอด (Pei-Ni *et al*., 2005) ลดระดับไขมันในเลือด (Blando *et al*., 2004) นอกจากนี้ Anthocyanin Cyanidin-3-glycoside (C3G) ในเมล็ดข้าวก่ำพันธุ์ก่ำดอยสะเก็ดยังสามารถยับยั้งการลุกลาม และลดเซลล์มะเร็งในเม็ดเลือดของหนู (Montri *et al*., 2009) อย่างไรก็ตามในความแตกต่างทางฟีโนไทป์ของพันธุ์ข้าวก่ำพื้นเมือง (Landrace varieties) นี้ Vo Ha Phi *et al*., (2007) พบว่ามีความแตกต่างของสารอาหารหลายชนิดในเมล็ดข้าวก่ำพันธุ์ต่างๆ เช่นเดียวกับ Panita *et al*., (2010) ที่พบความแตกต่างของสาร Gamma oryzanol ซึ่งมีปฏิกริยาเกื้อหนุนปฏิกิริยาของ C3G จึงอาจมีความเกี่ยวเนื่องทำให้มีความแตกต่างในปฏิกิริยาต้านอนุมูลอิสระนี้เช่นกัน ในงานวิจัยนี้ได้วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวม (total phenolic compound) ซึ่งจะบ่งชี้ถึงความแตกต่างของคุณสมบัติการกำจัดอนุมูลอิสระ อันจะเป็นประโยชน์ต่อการอนุรักษ์และการใช้ประโยชน์จากพันธุกรรมข้าวพื้นเมืองไทย

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

1. ความแตกต่างทางทางฟีโนไทป์ของข้าวก่ำพันธุ์พื้นเมือง

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาความแตกต่างทางฟีโนไทป์ของลักษณะของลำต้น ใบ ดอก และสีของเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวก่ำพันธุ์พื้นเมือง และการจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยา ตามมาตรฐานสีต้นข้าวของ IBPGR-IRRI (1980) ในการทดลองครั้งนี้ใช้จำนวนข้าวก่ำ 31 พันธุ์ โดยมีข้าวขาวพันธุ์ KDML 105 และ RD 6 เป็นพันธุ์เปรียบเทียบ วางแผนการทดลองแบบ RCB จำนวน 3 ซ้ำ วิจัยที่แปลงทดลองภาควิชาพืชศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ และห้องปฏิบัติการกลาง (Central Lab) คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

2. วิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวมด้วยวิธีของ Folin and Ciocalteu (1927)

นำเมล็ดข้าวก่ำทุกพันธุ์มากะเทาะโดยไม่ขัด (unpolished grain) เก็บตัวอย่างเมล็ดทุกต้นแล้วทำการสุ่มตัวอย่างเมล็ดในแต่ละพันธุ์จากนำไปสกัด โดยนำตัวอย่างข้าวก่ำพันธุ์พื้นเมือง 1 กรัม สกัดด้วย เอทานอล 85 %- HCl 1 N ปริมาตร 20 ml. แล้วทำการเจือจางสารสกัด ให้ได้ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย Folin-Ciocalteu 1 มิลลิลิตร (เจือจางอัตราส่วน 1:1 ระหว่างสารละลายและน้ำกลั่น) ร่วมกับ 10 % Na_2CO_3 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร จากนั้นบ่มทิ้งไว้ในที่มืด อุณหภูมิห้อง นาน 1 ชั่วโมง จากนั้นวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 760 นาโนเมตร หลังจากนั้นนำค่าที่ได้จากน้ำกลั่น และสารละลายมาตรฐานความเข้มข้นต่างๆ มาทำกราฟมาตรฐานเพื่อใช้เปรียบเทียบกับค่าที่วัดได้จาการสกัด และคำนวณความเข้มข้นของสารสกัดในรูปของมิลลิกรัมของกรดแกลลิคสมมูลต่อ 100 กรัม การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวม (Total phenol compound) ใช้ตัวอย่าง (analysis samples) ในการวิเคราะห์ 3 ครั้งตัวอย่าง ปริมาณสารฟีนอลิกของตัวอย่างในแต่ละซ้ำการทดลองจึงเป็นค่าเฉลี่ยจาก 3 ครั้งตัวอย่างวิเคราะห์นี้

ผลการทดลอง

Table 1 แสดงความแตกต่างของสีของ ใบของข้าวก่ำ (leaf blade) สามารถจำแนกออก ได้ 3 กลุ่ม คือ ใบสีม่วง (purple) สีเขียวขอบม่วง (purple stripe) และ สีเขียว กาบใบ (Leaf sheath) แบ่งได้ 4 กลุ่ม คือ สีม่วง สีเขียวแถบม่วง สีเขียวเส้นม่วง (purple line) และ สีเขียว (green) สีเยื่อกันน้ำฝน (ligule) และสีของเขี้ยวกันแมลง (auricle) ออกได้ 3 กลุ่ม คือ สีม่วง สีม่วงอ่อน (light purple) และไม่ปรากฏสี (colorless) ดอกได้แก่ สีปลายยอดดอก (apiculi of glumes) มีสีม่วง สีม่วงแดง (red purple) สีน้ำตาล (brown) และ ไม่ปรากฏสี ส่วนปลายยอดเกสรตัวเมีย (stigma) คือ สีม่วง และ ไม่ปรากฏสี และ สีเปลือกเมล็ด (pericarp) แยกออกเป็น 3 กลุ่ม คือ เปลือกสีม่วงเข้ม สีม่วง และสีม่วงอ่อน (light purple)

Table 1 Colors of leaf , stem organs and spikelets organs of 31 purple rice varieties

Varieties	Leaf blade	Leaf sheath	Ligule	Auricle	*Apiculi*	*Stigma*	*Pericarp*
Kum Doi Saket	purple	purple	light purple	light purple	purple red	purple	dark purple
Kum Doi Moosour	purple	purple	purple	purple	purple red	purple	dark purple
Kum Fang	purple	purple	purple	light purple	*purple*	purple	*purple*
Kum Hoksalee	green	green	colorless	colorless	colorless	colorless	purple
Kum Na	purple	purple	light purple	light purple	purple red	colorless	light purple
Kum Nan	purple	purple	light purple	light purple	purple red	purple	dark purple
Kum Phayao	purple	purple	light purple	light purple	purple	purple	*dark purple*
Kum Wiengsa	purple	purple	light purple	purple	purple red	purple	light purple
Kum 5153	purple margin	purple stripes	light purple	light purple	purple	purple	dark purple
Kum 7677	purple margin	purple stripes	light purple	colorless	purple	purple	purple
Kum19104	purple	purple	light purple	colorless	purple	purple	light purple
Kum 19959	purple	purple	light purple	colorless	purple	purple	light purple
Kum 87046	green	green	colorless	colorless	colorless	colorless	purple
Kum 87061	purple margin	purple stripes	light purple	light purple	purple	purple	purple
Kum 87090	purple margin	purple stripes	light purple	colorless	purple	colorless	purple
Kum 88061	purple margin	purple stripes	light purple	light purple	purple	purple	light purple
Kum 88069	purple margin	purple stripes	light purple	light purple	purple	colorless	purple
Kum 88083	purple margin	purple stripes	light purple	light purple	purple	colorless	purple
Kum 89038	purple margin	purple stripes	light purple	light purple	brown	purple	purple
Kum 89057	purple margin	purple stripes	light purple	colorless	purple	colorless	purple
Kum 99151	purple margin	purple stripes	light purple	colorless	purple	purple	purple
Kum Vietnam	purple margin	purple stripes	light purple	light purple	purple	purple	purple
Kum Supan	green	green	purple	purple	*purple*	purple	*purple*
S0901	purple margin	purple line	purple	purple	purple	purple	dark purple
S0902	purple margin	purple line	purple	purple	purple	purple	dark purple
S0903	purple margin	purple line	purple	purple	purple red	purple	dark purple
S0904	purple margin	purple line	purple	purple	purple red	purple	dark purple
S0905	purple margin	purple line	purple	purple	purple red	purple	dark purple
S0906	purple margin	purple line	purple	purple	purple	purple	dark purple
S0907	purple margin	purple line	purple	purple	purple	purple	dark purple
S0908	purple margin	purple line	purple	purple	purple	purple	dark purple

Table 2 Relationship of total phenolic compound with the color of pericarp

Varieties	Total Phenol (mg/g GE)	Pericarp	Varietiy	Total Phenol (mg/g GE)	Pericarp
S0902	10.86[a]	dark purple	Kum 87061	4.20[i]	purple
S0903	10.36[b]	dark purple	Kum 99151	4.08[j]	purple
S0907	7.72[c]	dark purple	Kum 88069	4.08[j]	purple
S0904	7.03[d]	dark purple	Kum 89057	3.94[j]	purple
S0905	6.09[e]	dark purple	Kum Vietnam	3.54[k]	purple
Kum Doi Saket	5.26[f]	dark purple	Kum 7677	2.91[n]	purple
Kum Nan	5.25[f]	dark purple	Kum 5153	2.55[q]	purple
S0901	5.25[f]	dark purple	Kum 87090	2.51[r]	purple
Kum Phayao	5.24[f]	dark purple	Kum 19959	3.73[k]	light purple
S0908	4.84[g]	dark purple	Kum Fang	3.28[l]	light purple
Kum Doi Moosour	4.25[i]	dark purple	Kum19104	3.12[m]	light purple
S0906	3.09[m]	dark purple	Kum Na	2.80[o]	light purple
Kum Supan	6.14[e]	purple	Kum Wiengsa	2.72[p]	light purple
Kum 89038	6.00[e]	purple	Purple rice mean	4.48	
Kum 88061	5.02[g]	purple	KDML 105	0.75[s]	brown
Kum Hoksalee	4.96[g]	purple	RD 6	0.65[s]	brown
Kum 88083	4.62[h]	purple	$LSD_{0.05}$	0.20[**]	
Kum 87046	4.20[i]	purple	CV.	2.57	

Table 2 แสดงปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวมของข้าวก่ำ เมื่อเทียบหาความสัมพันธ์กับสีเยื่อหุ้มเมล็ด (สีม่วงดำ สีม่วง และสีม่วงอ่อน) รวมทั้งเปรียบเทียบกับข้าวกล้องของพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 และ กข 6 แสดงความแตกต่างของปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวม ตั้งแต่ 10.86 - 2.51 mg/g GE โดยกลุ่มที่เยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงเข้ม มีปริมาณสาร 3.09 -10.86 mg/g GE สูงกว่ากลุ่มเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วง (2.51 - 6.14 mg/g GE) และกลุ่มเยื่อหุ้มเมล็ดสีม่วงอ่อน (2.72 – 3.73 mg/g GE) นอกจากนี้เมล็ดของข้าวก่ำก็ยังมีปริมาณสารสูงกว่าเมล็ดข้าวกล้องพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 (0.75 mg/g GE) และพันธุ์ กข 6 (0.65 mg/g GE)

สรุปผลและวิจารณ์ผล

ข้าวเหนียวก่ำนับเป็นพันธุกรรมข้าวพื้นเมืองของไทยที่ไม่ถูกแทนที่โดยข้าวพันธุ์ปรับปรุงใหม่ดังเช่นข้าวพื้นเมืองพันธุ์อื่นๆ ยังคงมีการเพาะปลูกในระบบการทำนาไทย ทั้งนี้อาจเป็นเพราะมีคุณสมบัติพิเศษแตกต่างจากข้าวทั่วๆไป การเพาะปลูกข้าวก่ำจึงไม่ได้ด้วยเหตุผลเพื่อการบริโภค หากแต่เพื่อกิจกรรมอื่นๆ รวมทั้งคุณสมบัติการเป็นข้าวเพื่อเป็นพืชสมุนไพร ปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวมที่พบในข้าวก่ำมีสูงกว่าข้าวขาว (KDML 105 และ RD 6) มากกว่า 6 เท่า (purple rice mean 4.48, 0.75 และ 0.65 mg/g GE ของ KDML105 และ RD 6 ตามลำดับ) ยืนยันคุณสมบัติความเป็นพืชสมุนไพรดังกล่าว นอกจากนี้ความแตกต่างของปริมาณฟีนอลิกโดยรวมในแต่ละพันธุ์แสดงถึงความแตกต่างทางพันธุกรรมของการสังเคราะห์สาร เป็น genetic variation ที่สามารถใช้เป็นประโยชน์ในการปรับปรุงพันธุ์ได้

ความสัมพันธ์ที่เป็น positive ระหว่างความเข้มของสีม่วงของเยื่อหุ้มเมล็ดกับปริมาณฟีนอลิกโดยรวม แสดงว่าความเข้มของสีม่วงในเมล็ดน่าจะมีความเชื่อมโยงเป็น positive relation กับปริมาณของ Anthocyanin (Cyanidin-3-glycoside) ในเมล็ดข้าวก่ำเช่นกัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ในความแตกต่างของลักษณะทางทางฟีโนไทป์ของลักษณะของลำต้น ใบ ดอก ของข้าวก่ำนั้น ความเข้มของสีม่วงของเยื่อหุ้มเมล็ดจะเป็นตัวบ่งชี้สำคัญต่อปริมาณสารฟีนอลิกโดยรวม ซึ่งอาจเชื่อมโยงถึงสารอื่นๆ ในกลุ่มของ phenol compound ที่มีคุณสมบัติทางสุขภาพ ที่ควรได้มีการพิสูจน์ต่อไป

เอกสารอ้างอิง

ดำเนิน กาละดี และ ศันสนีย์ จำจด. 2543. ความหลากหลายลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของข้าวก่ำพันธุ์พื้นเมือง. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์เรื่องพันธุ์ศาสตร์การปรับปรุงพันธุ์และโภชนศาสตร์เกษตรของข้าวเหนียวดำ. สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. เชียงใหม่. 50น.

ธิดารักษ์ แสงอรุณ และ ดำเนิน กาละดี. 2553. การประเมินลักษณะทางสัณฐานวิทยาของข้าวก่ำพันธุ์พื้นเมือง. การประชุมวิชาการสิ่งแวดล้อมนเรศวร ครั้งที่ 6. มหาวิทยาลัยนเรศวร. พิษณุโลก. 435น.

Blando, F., C. Gerardi and I. Nicoletti. (2004). Sour cherry (*Prunus cerasus* L.) anthocyanin as ingredients for functional food. Journal of biomedicine and biotechnology 5: 235- 238.

Folin O. and V. Ciocalteu. 1927. On tyrosine and tryptophane determination in proteins. J. Biol. Chem. 73: 627-650.

IBPGR-IRRI. 1980. Rice Advisory Committee , “Description for Rice” (*Oryza sativa* L.). IRRI. Los Banos, Philippines.

Punyatong, M., P. Pongpiachan, P. Pongpiachan, D. Karladee and S. Mankhetkorn. 2008. Cytotoxicity of crude proanthocyanidin extract from purple glutinous rice bran (*Oryza sativa* L.) (Kum Doi Saket) compared with cyanidin 3-glucoside on X63 myeloma cancer cell lines. Kasetsart J. (Nat. Sci.). 42: 676-681.

Boonsit, P., D. Karladee and P. Phongpiachan. 2010. Gamma oryzanol content in glutinous purple rice landrace varieties. CMU Journal of Natural Science 9(1): 151-157.

Chen, P.N., S.C. Chu, H.L. Chiou, C.L. Chiang, S.F. Yang and Y.S. Hsieh. 2005. Cyanidin 3-glucoside and peonidin 3-glucoside inhibit tumor cell growth and induce apoptosis in vitro and suppress tumor growth in vivo. Nutrition and cancer 53(2): 232-243.

Phi, V.H., J. Kuntong, D. Karladee, S. Jamjod and P.P. Piachan. 2007. Genotypic variation in grain nutrition in local purple rice genotypes. Proceeding. The 2nd International Conference on Rice for the Future. Bangkok, Thailand. p. 146-149.