บทที่ 4
ผลการดำเนินงานวิจัยและอภิปรายผล

งานวิจัยนี้ได้ทำการศึกษาหาฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส แอลฟาอะไมลส และสารต้านอนุมูลอิสระ จากสารสกัดหยาบโปรตีนจากพันธุ์ข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำที่ปลูกในพื้นที่จังหวัดจันทบุรี โดยมีผลการทดลองดังนี้

4.1 ผลจากการสกัดสารสกัดหยาบโปรตีนจากเมล็ดข้าว

จากการทดลองหาปริมาตรของสารสกัดหยาบโปรตีนและปริมาณโปรตีนที่ได้จากงานวิจัย แสดงดังตาราง

ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาตรสารสกัดหยาบโปรตีนและการหาปริมาณโปรตีนที่สกัดจากสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 7.4

ตัวอย่างข้าว (สายพันธุ์)	อัตราส่วน (น้ำหนักข้าว : ปริมาตรบัฟเฟอร์)	ปริมาตรสารสกัดหยาบโปรตีน (มิลลิลิตร)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)	ปริมาณโปรตีนรวม (มิลลิกรัม)
ล้นยุ้ง	1:4	25.5	0.89	22.695
นางพญาทองดำ	1:4	22.3	0.86	19.178

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาตรสารสกัดหยาบโปรตีนและการหาปริมาณโปรตีนที่สกัดจากสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 7.4

ตัวอย่างข้าว (สายพันธุ์)	อัตราส่วน (น้ำหนักข้าว : ปริมาตรบัฟเฟอร์)	ปริมาตรสารสกัดหยาบโปรตีน (มิลลิลิตร)	ปริมาณโปรตีน (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)	ปริมาณโปรตีนรวม (มิลลิกรัม)
ล้นยุ้ง	1:4	31.00	0.80	24.80
นางพญาทองดำ	1:4	28.00	1.61	45.08

จากการศึกษาหาปริมาณโปรตีนของสารสกัดหยาบโปรตีนจากเมล็ดข้าว พบว่าข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำที่สกัดจากสารละลายโซเดียมฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.05 โมลาร์ พีเอช 7.4 เมื่อนำไปวัดปริมาณโปรตีนโดยใช้วิธีแบรดฟอร์ด เมล็ดข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำให้ปริมาณโปรตีนเท่ากับ 0.89 และ 0.86 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรที่ความเข้มข้น

0.1 โมลาร์ และ 0.80 และ 1.61 ที่ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.1 และ 4.2 ซึ่งจะเห็นว่าสารสกัดหยาบโปรตีนจากเมล็ดข้าว สายพันธุ์ล้นยุ้งมีปริมาณโปรตีนที่ใกล้เคียงกันกับสายพันธุ์นางพญาทองดำ จากรายงานวิจัยองค์ประกอบทางเคมีของข้าว พบว่าข้าวมีองค์ประกอบทางเคมีได้แก่ ปริมาณโปรตีน ไขมัน คาร์โบไฮเดรต และอะมิโลส ผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะนำสารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำมาทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอ

4.2 ผลการสกัดสารด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และหาผลผลิตร้อยละ

จากผลการทดลองสกัดสารสกัดข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ได้แก่ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเอทิลอะซิเตท โดยมีผลทดลองดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 แสดงผลการสกัดสารด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ และหาผลผลิตร้อยละ

สายพันธุ์ข้าว	น้ำหนักกาก (กรัม)	น้ำหนักสารสกัด (กรัม)	ตัวทำละลายที่สกัด	ผลผลิตร้อยละ (% yield)
ล้นยุ้ง	964.93	1.72	DCM extract	0.18
		0.46	Hex extract	0.05
		2.21	EtOAc extract	0.23
นางพญาทองดำ	792.22	1.89	DCM extract	0.24
		0.72	Hex extract	0.08
		2.21	EtOAc extract	0.28

4.3 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส

จากการนำข้าวพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ สายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำมาทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ผ่านเครื่องไมโครเพลท รีดเดอร์ (Microplate reader) ในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 5 นาที พบว่าตัวอย่างสารสกัดจากข้าวล้นยุ้งและนางพญาทองดำทุกตัวอย่างมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ดังแสดงในตารางที่ 4.4 ซึ่งจากผลการวิจัยจะเห็นว่าสารสกัดหยาบโปรตีนของข้าวสายพันธุ์นางพญาทองดำและล้นยุ้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ใกล้เคียงกัน โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.30 และ 0.33 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นว่าสารสกัดหยาบโปรตีนมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสดีกว่าสารสกัดที่สกัดด้วยตัวทำละลายอินทรีย์ ทั้งนี้เรายังพบว่าสารสกัดหยาบนางพญาทองดำที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน เอทิลอะซิเตท และไดคลอโรมีเทน มีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ดีกว่าสารสกัดของข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง โดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.55 0.57 และ 1.18 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดดังกล่าวของข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้ง มีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.05, 2.26 และ 4.75 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ทั้งนี้เนื่องจากมีรายงานว่าข้าวสีดำมีปริมาณแอนโทไซยานินสูงสุด รองลงมาคือข้าวสีแดง ส่วนข้าวสีเขียวและสีขาวมี ปริมาณแอนโทไซยานิน น้อยมาก

(Chen et al., 2012) แอนโทไซยานินมีคุณสมบัติเป็นตัวรีดิวซ์ที่ดีทำให้มีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระสูง ซึ่งสอดคล้องกับพันธุ์ข้าวนางพญาทองดำมีสีเมล็ดสีดำ ส่งผลทำให้สารสกัดข้าวนางพญาทองดำมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ดีกว่าข้าวล้นยุ้งที่มีเมล็ดพันธุ์สีน้ำตาลแดง

อย่างไรก็ตามสารสกัดจากเมล็ดข้าวทั้งสองสายพันธุ์สามารถยับยั้งฤทธิ์กิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส ได้น้อยกว่ายาไรวาสติกมีน (Rivastigmine) ซึ่งเป็นยารักษาโรคอัลไซเมอร์ จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสของยาไรวาสติกมีน พบว่าไรวาสติกมีนมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ดีกว่าสารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวล้นยุ้งและนางพญาทองดำ สังเกตได้จากที่ความเข้มข้นของยาไรวาสติกมีนเท่ากับ 0.0015 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ร้อยละ 17.40 ในขณะที่สารสกัดหยาบโปรตีนล้นยุ้งนางพญาทองดำที่ความเข้มข้น 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสได้ร้อยละ 23.58 และ 19.09 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.5 จะเห็นว่ายาไรวาสติกมีนใช้ความเข้มข้นน้อยกว่าสารสกัดหยาบโปรตีนล้นยุ้งและนางพญาทองดำ แต่มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสใกล้เคียงกันกับสารสกัดโปรตีน แสดงให้เห็นว่ายาไรวาสติกมีนมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสดีกว่าสารสกัดหยาบโปรตีนล้นยุ้งและนางพญาทองดำ

RAMBHAI BARNI RAJABHAT UNIVERSITY
ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)	ร้อยละการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรส (%)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD)	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบโปรตีนล้นยุ้ง	1.00	0.00	±0.028	0.33
	2.00	23.58	±0.048	
	3.00	26.57	±0.061	
	4.00	58.98	±0.054	
สารสกัดหยาบโปรตีนนางพญาทองดำ	1.00	11.60	±0.543	0.30
	2.00	19.09	±0.015	
	3.00	34.88	±0.550	
	4.00	64.29	±0.593	
สารสกัดหยาบล้นยุ้ง (DCM Extract)	1.00	12.83	±0.080	4.75
	2.00	19.44	±0.122	
	3.00	30.64	±0.063	
	4.00	43.62	±0.034	
สารสกัดล้นยุ้ง (Hexane Extract)	1.00	19.05	±0.102	3.05
	2.00	25.74	±0.005	
	3.00	50.86	±0.070	
	4.00	66.95	±0.134	

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้นของสารสกัด (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)	ร้อยละการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส %	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน(SD)	IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบล้นยุ้ง (EtOAc Extract)	1.00	43.54	±0.113	2.26
	2.00	48.13	±0.110	
	3.00	55.05	±0.110	
	4.00	58.09	±0.033	
สารสกัดหยาบ นางพญาทองดำ (DCM Extract)	1.00	47.32	±0.046	1.18
	2.00	59.12	±0.080	
	3.00	64.48	±0.035	
	4.00	73.98	±0.050	
สารสกัดหยาบ นางพญาทองดำ (Hexane Extract)	1.00	49.79	±0.017	0.55
	2.00	62.04	±0.052	
	3.00	62.36	±0.005	
	4.00	67.61	±0.060	
สารสกัดหยาบ นางพญาทองดำ (EtOAc Extract)	1.00	49.44	±0.011	0.57
	2.00	73.98	±0.100	
	3.00	83.48	±0.031	
	4.00	86.78	±0.045	

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.5 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะซิติลโคลีนเอสเทอเรสของสารมาตรฐานยาไรวาสติกมีน

สารมาตรฐาน	**ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)**	**ร้อยละการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอซิติลโคลีนเอสเทอเรส %**	**ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)**	**IC_{50} (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)**
ยาไรวาสติกมีน	0.0002	2.39	±0.002	ND.
	0.0005	10.52	±0.104	
	0.0010	12.58	±0.040	
	0.0015	17.40	±0.020	

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

4.4 การทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

จากการนำข้าวพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ สายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำ มาทำการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส โดยทำการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตรผ่านเครื่องไมโครเพลท รีดเดอร์ (Microplate reader) ในสภาวะอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส บ่มเป็นเวลา 5 นาที ซึ่งการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส จะดูการย่อยสลายพันธะไกลโคซิดิก แอลฟา 1,4 ในน้ำแป้งโดยมีน้ำเข้าร่วมด้วย ได้เป็นเด็กซ์ทริน มอลโทไตรโอส มอลโทส และกลูโคส

4.4.1 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของอะคาร์โบส

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของอะคาร์โบส โดยใช้เทคนิคการวัดค่าดูดกลืนแสง ซึ่งสารละลายจะเปลี่ยนจากใสไม่มีสีเป็นสีน้ำเงิน ซึ่งได้ทำการทดลองทั้งหมด 3 ครั้ง ๆ ละ 3 ซ้ำ และนำมาคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส พบว่าอะคาร์โบส มีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของอะคาร์โบส

ความเข้มข้นของอะคาร์โบส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	**ร้อยละของการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส**	**IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)**
1.25	28.66±2.78	3.497±0.0001
2.50	39.52±1.15	
3.75	52.86±1.52	
5.00	58.02±6.13	
6.25	61.86±3.09	

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของอะคาร์โบส พบว่าอะคาร์โบสที่ความเข้มข้น 1.25-6.25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร มีร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของอะคาร์โบส และมีค่าความเข้มข้นต่ำสุดที่สามารถยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ได้ร้อยละ 50 เท่ากับ 3.497±0.0001 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

4.4.2 การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดจากข้าว

การทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดจากข้าว โดยใช้วิธีการทดสอบเช่นเดียวกับอะคาร์โบส และนำมาคำนวณหาค่าร้อยละการยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เพื่อเทียบความเข้มข้นของสารสกัดจากข้าวกับอะคาร์โบส พบว่าสารสกัดจากข้าวมีฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบโปรตีนจากเมล็ดข้าว

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)	ร้อยละการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (%)	IC_{50} (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)
สารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง	0.09	33.18±2.32	0.208±0.025
	0.18	50.33±4.08	
	0.36	67.13±3.74	
สารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวพันธุ์นางพญาทองดำ	0.05	8.42±6.15	0.153±0.005
	0.1	31.86±2.04	
	0.2	67.26±2.41	

จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดหยาบโปรตีนจากเมล็ดข้าว พบว่าตัวอย่างสารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.208 ±0.025 และ 0.153 ±0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ จะเห็นว่าสารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวนางพญาทองดำมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าสารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้ง นอกจากนี้ยังพบว่าสารสกัดหยาบจากข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอลมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดจากเมล็ดข้าว

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)	ร้อยละการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (%)	IC_{50} (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)
สารสกัดข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง (เฮกเซน)	0.125	15.37±2.05	0.467±0.022
	0.250	27.66±1.57	
	0.500	53.59±2.08	
สารสกัดข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง (ไดคลอโรมีเทน)	0.0625	7.55±0.74	0.227±0.014
	0.125	15.45±2.93	
	0.250	58.56±3.93	

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.8 ผลการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดจากเมล็ดข้าว (ต่อ)

สารตัวอย่าง	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (มิลลิกรัม /มิลลิลิตร)	ร้อยละการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส (%)	IC_{50} (มิลลิกรัม : มิลลิลิตร)
สารสกัดข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง (เมทานอล)	0.0625	24.36 ±0.20	0.108±0.0006
	0.125	69.99±0.96	
	0.250	94.99±0.33	
สารสกัดข้าวพันธุ์นางพญาทองดำ (เฮกเซน)	0.500	22.91±1.01	1.214±0.055
	1.000	36.79±3.32	
	2.000	84.45±2.83	
สารสกัดข้าวพันธุ์นางพญาทองดำ (ไดคลอโรมีเทน)	0.250	9.00±1.20	0.844±0.042
	0.500	36.81±3.16	
	1.000	57.02±2.50	
สารสกัดข้าวพันธุ์นางพญาทองดำ (เมทานอล)	0.125	17.09±0.88	0.289±0.000
	0.250	44.94±0.74	
	0.500	89.48±1.04	

ผลการทดสอบฤทธิ์การยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของสารสกัดจากเมล็ดข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำทั้ง 6 ตัวอย่างที่สกัดด้วยตัวทำละลาย 3 ชนิด คือ เฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล พบว่าสารสกัดจากเมล็ดข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าสายพันธุ์นางพญาทองดำโดยมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.467±0.022, 0.227±0.014 และ 0.108±0.0006 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดดังกล่าวของข้าวสายพันธุ์นางพญาทองดำมีค่า IC_{50} เท่ากับ 1.214±0.055, 0.844±0.042 และ 0.289±0.000 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดของกลุ่มข้าวสีพบว่ากลุ่มข้าวสีแดงมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และมีฤทธิ์การต้านปฏิกิริยาออกซิเดชันสูงที่สุด รองลงมาคือข้าวสีดำและสีขาว ตามลำดับ (Muntana and Prasong, 2010) ซึ่งสารประกอบฟีนอลิกมีคุณสมบัติในการต้านออกซิเดชัน ต้านการตายของเซลล์ ต้านสารก่อมะเร็ง ต้านโรคหลอดเลือดแดงตีบตัน ป้องกันโรคหัวใจ โรคเบาหวาน และป้องกันดีเอนเอจากการถูกทำลายด้วยปฏิกิริยาออกซิเดชันของอนุมูลอิสระในร่างกายได้ (ลือชัย บุตคุป, 2011) จากงานวิจัยดังกล่าวจึงทำให้ทราบว่าข้าวที่มีเมล็ดสีแดงมีฤทธิ์ทางชีวภาพดีมาก เพราะมีปริมาณฟีนอลิกสูง ซึ่งมีความสอดคล้องกับข้าวพันธุ์ล้นยุ้งที่มีเมล็ดสีแดง ส่งผลให้สารสกัดข้าวพันธุ์ล้นยุ้งมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมแอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าข้าวพันธุ์นางพญาทองดำที่มีเมล็ดสีม่วงดำ

อย่างไรก็ตามสารสกัดจากเมล็ดข้าวทั้งสองสายพันธุ์สามารถยับยั้งฤทธิ์กิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้น้อยกว่าของอะคาร์โบสซึ่งเป็นยารักษาโรคเบาหวาน จากการทดสอบฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้น้อยกว่าของอะคาร์โบส พบว่าอะคาร์โบสมีฤทธิ์ยับยั้งเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ดีกว่าสารสกัดหยาบโปรตีนจากข้าวล้นยุ้งและนางพญาทองดำ สังเกต

ได้จากความเข้มข้นอะคาร์โบส เท่ากับ 0.005 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ได้ร้อยละ 58.02 ในขณะที่สารสกัดหยาบโปรตีนล้นยุ้งนางพญาทองดำที่ความเข้มข้น 0.18 และ 0.20 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ สามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 50.33 และ 67.26 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.7 จะเห็นว่าอะคาร์โบสใช้ความเข้มข้นน้อยกว่าสารสกัดหยาบโปรตีนล้นยุ้งและนางพญาทองดำ แต่มีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส มากกว่าสารสกัดโปรตีน แสดงให้เห็นว่าอะคาร์โบสมีฤทธิ์ยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ดีกว่าสารสกัดหยาบโปรตีนล้นยุ้งและนางพญาทองดำ

4.5 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

จากการนำข้าวพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ สายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำมาทำการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ผ่านเครื่องอ่านไมโครเพลท ที่อุณหภูมิห้อง เก็บไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที พบว่าตัวอย่างสารสกัดจากข้าวล้นยุ้งและนางพญาทองดำทุกตัวอย่างมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยที่สารสกัดหยาบของข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งที่สกัดด้วยตัวทำละลายเฮกเซน ไดคลอโรมีเทน และเมทานอล ซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 750.49, 366.04 และ 229.02 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ดังข้อมูลในตารางที่ 4.9 และสารสกัดหยาบของข้าวสายพันธุ์นางพญาทองดำซึ่งมีค่า IC_{50} เท่ากับ 725.93, 338.70 และ 205.87 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับดังแสดงในตารางที่ 4.10 จากผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าข้าวล้นยุ้งและนางพญาทองดำที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Choopani et al. (2015) ที่พบว่าสารที่สกัดด้วยตัวทำละลายเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีที่สุด ตามด้วยสารที่สกัดด้วยไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ตามลำดับ ข้าวสายพันธุ์นางพญาทองดำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้ง เนื่องจากข้าวสายพันธุ์นางพญาทองดำมีสีม่วงอมดำ ส่วนข้าวสายพันธุ์ล้นยุ้งมีสีน้ำตาลอ่อน ซึ่งมีงานวิจัยของสำราญ พิมราช และคณะ (2558) ที่พบว่าข้าวที่มีสีเข้มจะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้มากกว่าข้าวที่มีสีขาวหรือสีอ่อน และผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ของสารมาตรฐานบีเอชทีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 65.64 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 4.11 ทั้งนี้สารมาตรฐานบีเอชทีมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ดีกว่าสารสกัดข้าวทั้งสองสายพันธุ์

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.9 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (%)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดเฮกเซน	125.00	12.86	±3.133	750.49
	250.00	25.53	±1.834	
	500.00	38.49	±3.989	
	1000.00	62.21	±1.360	
สารสกัดไดคลอโรมีเทน	50.00	10.76	±2.951	366.04
	100.00	18.85	±1.107	
	200.00	31.20	±3.325	
	400.00	53.46	±1.872	
สารสกัดเมทานอล	50.00	21.81	±1.937	229.02
	100.00	33.18	±2.792	
	200.00	42.09	±5.185	
	400.00	55.45	±3.032	

4.6 การทดสอบทางพฤกษเคมีเบื้องต้น

จากการนำข้าวพันธุ์พื้นเมืองของจังหวัดจันทบุรี ได้แก่ สายพันธุ์ล้นยุ้งและนางพญาทองดำมาทำการตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้น ซึ่งพบว่าสารสกัดเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีที่สุด และจากการตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้นยังพบว่าสารสกัดเมทานอลพบสารกลุ่มฟีนอลิก ฟลาโวนอยด์ ซาโปนิน กรดอะมิโน และโปรตีน ในขณะที่สารสกัดไดคลอโรมีเทน และเฮกเซน ไม่พบสารกลุ่มดังกล่าวดังแสดงในตารางที่ 4.12 แสดงให้เห็นว่าสารพฤกษเคมีที่พบในสารสกัดมีผลต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยมีรายงานว่ากลุ่มสารประกอบฟีนอลิก และฟลาโวนอยด์ จะมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดี (วัชราภรณ์ ประภาสะโนบลม, 2561) จึงทำให้สารสกัดเมทานอลมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ดีกว่าสารสกัด เฮกเซน และไดคลอโรมีเทน นอกจากนี้ข้าวนางพญาทองดำพบสารฟลาโวนอยด์ ในขณะที่ข้าวล้นยุ้งไม่พบจึงทำให้ข้าวนางพญาทองดำมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีกว่าข้าวล้นยุ้ง ทั้งนี้สารสกัดจากข้าวทั้งสองสายพันธุ์มีสารในกลุ่มเทอร์พีนอยด์เป็นองค์ประกอบทุกสารสกัด เนื่องจากเทอร์พีนอยด์ส่วนใหญ่พบในลักษณะของน้ำมันหอมระเหย ที่มีองค์ประกอบพวกโมโนเทอร์พีนอยด์ (Monoterpenoids) เซสควิเทอร์พีน (Sesquiterpene) และสารที่มีขั้วต่ำ เป็นส่วนใหญ่ (ปานทิพย์ บุญส่ง และวัลภา เนตรดวงตา, 2557)

ตารางที่ 4.10 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากเมล็ดข้าวพันธุ์นางพญาทองดำ

สารสกัดหยาบ	ความเข้มข้นของสารสกัดหยาบ (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (%)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
สารสกัดเฮกเซน	125.00	13.20	±1.451	725.93
	250.00	24.14	±0.983	
	500.00	38.84	±0.852	
	1000.00	64.70	±2.261	
สารสกัดไดคลอโรมีเทน	150.00	22.11	±3.018	338.70
	200.00	30.41	±2.024	
	300.00	41.79	±0.485	
	400.00	60.35	±1.165	
สารสกัดเมทานอล	100.00	27.67	±2.843	205.87
	150.00	38.92	±4.225	
	200.00	48.30	±2.462	
	250.00	59.32	±3.416	

ตารางที่ 4.11 แสดงผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารมาตรฐานบีเอชที

สารมาตรฐาน	ความเข้มข้นของสารมาตรฐาน (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ร้อยละการต้านอนุมูลอิสระ (%)	ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (SD)	IC_{50} (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)
บีเอชที	0.00	0.00	-	65.64
	12.50	10.97	±0.704	
	25.00	19.09	±1.062	
	50.00	37.53	±0.985	
	100.00	76.20	±1.126	

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ตารางที่ 4.12 แสดงผลการตรวจสอบพฤกษเคมีเบื้องต้น

กลุ่มสารที่ทดสอบ	ข้าวพันธุ์ล้นยุ้ง			ข้าวพันธุ์แม่พญาทองดำ		
	Hex	DCM	MetOH	Hex	DCM	MetOH
ฟีนอลิก	-	-	+	-	-	+
แอลคาลอยด์	-	-	-	-	-	-
ฟลาโวนอยด์	-	-	-	-	-	+
แอนทราควิโนน	-	-	-	-	-	-
เทอร์พีนอยด์	+	+	+	+	+	+
ซาโปนิน	-	-	+	-	-	+
กรดอะมิโนและโปรตีน	-	-	+	-	-	+
ไขมัน	+	+	-	+	+	-

หมายเหตุ เครื่องหมาย + คือ ตรวจพบที่ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ 0.02 กรัม
เครื่องหมาย – คือ ตรวจไม่พบที่ปริมาณตัวอย่างที่ใช้ทดสอบ 0.02 กรัม

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี