บทที่ 1
บทนำ

ความเป็นมาและความสำคัญ

ภาวะเครียดจากออกซิเดชัน (oxidative stress) เกิดขึ้นเมื่อมีปริมาณอนุมูลอิสระและสารที่เป็นผลผลิตจากอนุมูลอิสระมากกว่าความสามารถในการทำลายอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ ซึ่งภาวะดังกล่าวเป็นสาเหตุหนึ่งของการเกิดโรคไม่ติดต่อเรื้อรัง เช่น โรคไขมันในเลือดสูง,โรคมะเร็ง, โรคเบาหวาน, โรคหลอดเลือดแข็งตัว, โรคหลอดเลือดสมอง, โรคความดันโลหิตสูง, โรคอัลไซเมอร์ และโรคพาร์กินสัน เป็นต้น (Rahman และคณะ, 2012) อนุมูลอิสระที่เกิดขึ้นในร่างกายมีที่มาจากกระบวนการแมเทบอลิซึมภายในร่างกาย, แสงแดด, รังสี, มลพิษต่างๆ เช่น ควันจากท่อไอเสียและโรงงานอุตสาหกรรม ควันบุหรี่โดยปกติร่างกายจะมีกลไกในการทำลายอนุมูลอิสระโดยผลิตเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ เช่น ซุปเปอร์ออกไซด์ดิสมิวเทส (superoxide dismutase: SOD) กลูทาไทออนเพอร์ออกซิเดส (glutathione peroxidase: GPX) หรือสร้างสารที่ทำหน้าที่ต้านอนุมูลอิสระ เช่น กลูทาไทโอน (glutathione) (กนกวรรณ และคณะ, 2557) หากมีอนุมูลอิสระในปริมาณมากเกินกว่าที่ร่างกายจะทำลายได้จะส่งผลให้เนื้อเยื่อในร่างกายถูกทำลาย ดังนั้นจึงจำเป็นต้องรับประทานอาหารที่มีสารต้านอนุมูลอิสระเพื่อช่วยทำลายอนุมูลอิสระที่เกิดขึ้น

ข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ลืมผัวมีลักษณะของเปลือกเมล็ดเป็นสีฟางขีดดำ เมล็ดบริเวณปลายรวงมีสีฟาง ข้าวกล้องมีสีม่วงดำ เมื่อหุงสุกมีกลิ่นหอม เมื่อเคี้ยวจะกรุบ หนึบ นุ่มเหนียว ข้าวเหนียวดำลืมผัวมีสารหลายชนิดที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายหลายชนิด เช่น กรดไขมันไม่อิ่มตัวในกลุ่มโอเมกา 3, โอเมกา 6 และโอเมกา 9, วิตามินอี, เหล็ก, แคลเซียม, แมงกานีส, แอนโทไซยานิน และแกมมาโอไรซานอล (สำนักวิจัยและพัฒนาข้าว, 2555) วิตามินอี เป็นวิตามินที่ละลายได้ดีในไขมันและน้ำมัน สามารถยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของกรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายตำแหน่ง, แอล ดี แอล คอเลสเตอรอล (LDL cholesterol) และเซลล์เมมเบรน (Subasree, 2014) จึงมีส่วนช่วยป้องกันไม่ให้เซลล์ถูกทำลายด้วยอนุมูลอิสระ รวมถึงพบว่าวิตามินอีสามารถลดการอักเสบ ลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด (coronary heart disease) ช่วยป้องกันการเกิดมะเร็งในอวัยวะต่างๆ เช่น ลำไส้ใหญ่, ปอด, เต้านม และต่อมลูกหมาก (Rizvi และคณะ, 2014) แกมมาโอไรซานอล เป็นเอสเทอร์ของกรดเฟอรูลิก (ferulic acid) และสเตอรอล หรือสารประกอบไตรเทอร์พีนแอลกอฮอล์ (triterpene alcohol) ที่พบมากในรำข้าว เมล็ดข้าว เปลือกข้าว และเอนโดสเปอร์ม (Goufo และ Trindade, 2014) มีบทบาทสำคัญในการยับยั้งการเกิดอนุมูลอิสระ ช่วยลดการอักเสบ ช่วยยับยั้งการเกาะตัวของเกร็ดเลือด ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอล และช่วยเพิ่มระดับเอช ดี แอล คอเลสเตอรอล (HDL cholesterol) ในกระแสเลือด (Cicero และ Gaddi, 2001; Juliano และคณะ, 2005; Saenju และคณะ, 2011) แอนโทไซยานินเป็นรงควัตถุที่ให้สีม่วง, น้ำเงิน และแดงที่ถูกสังเคราะห์ขึ้นในไซโตพลาสซึมของพืชและเก็บสะสมไว้ในแวคิวโอล (Mol และคณะ, 1998) จัดเป็นสารในกลุ่มโพลีฟีนอลที่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระจึงสามารถช่วยลดความเสี่ยงของการเกิด

โรคต่างๆ เช่น โรคหัวใจ โรคมะเร็ง โรคเบาหวาน โรคข้ออักเสบได้ (Rechner และ Kroner, 2005; Wang และ Stoner, 2008; Cassidy และคณะ, 2013)

การถนอมอาหารโดยการหมัก ซึ่งเป็นกระบวนการหนึ่งที่ถูกนำมาใช้เพื่อให้สามารถเก็บอาหารไว้ได้นานขึ้น อาหารหมักพื้นบ้านของไทยที่รู้จักกันดีตั้งแต่สมัยโบราณ คือ ข้าวหมาก ซึ่งได้จากการนำข้าวเหนียวที่หุงสุกแล้วไปหมักกับลูกแป้งข้าวหมากที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน ข้าวหมากที่ดีเมล็ดข้าวต้องคงรูปเดิม มีลักษณะนุ่ม ชุ่มน้ำ และน้ำควรมีลักษณะใส มีรสชาติของแอลกอฮอล์ รสเปรี้ยวเล็กน้อย และมีกลิ่นรสตามธรรมชาติที่ได้จากการหมัก (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2546) กลิ่นและรสชาติที่พบในข้าวหมากเกิดจากเชื้อราที่อยู่ในลูกแป้ง เช่น *Aspergillus* spp., *Rhizopus oryzae*. และ *Mucor* spp. *Amylomyces rouxii* จะสร้างเอนไซม์อะไมเลส ออกมาย่อยแป้งในข้าวเหนียวได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เช่น น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลกาแลกโตส และน้ำตาลฟรุกโตส เมื่อแป้งในข้าวถูกย่อยกลายเป็นน้ำตาลจึงไม่สามารถอุ้มน้ำไว้ได้ ทำให้น้ำที่มีอยู่ซึมออกมาเป็นน้ำเชื่อมข้าว จากนั้นเชื้อยีสต์ เช่น *Saccharomyces cerevisiae* ที่อยู่ในลูกแป้งจะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งอาจมีสูงถึงร้อยละ 10 แอลกฮอล์ในข้าวหมากจะช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค นอกจากนี้ ในลูกแป้งยังมีแบคทีเรีย เช่น *Pediococcus Lactobacillus* ที่ผลิตกรดแลกติก *Acetobacter* spp. และ *Gluconobacter* spp. ที่ผลิตกรดอะซิติก รวมถึงแป้งข้าวเจ้า สมุนไพรต่างๆ ที่มีส่วนช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ก่อโรค เช่น กระเทียม พริกไทย ข่า (ฉัตรชัย และจีราภรณ์, 2547; เจริญ, 2548, Aidoo และคณะ, 2006; Buglass, 2011; Manosroi และคณะ, 2011) ข้าวหมากจัดเป็นอาหารที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย เนื่องจากมีจุลินทรีย์ในกลุ่มโปรไบโอติก (probiotics) เช่น *S. cerevisiae* อยู่ด้วย จากการศึกษาพบว่า จุลินทรีย์ในกลุ่มโปรไบโอติกมีส่วนช่วยปรับสมดุลของระบบทางเดินอาหารและระบบขับถ่าย ช่วยกระตุ้นการทำงานของระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย ช่วยลดการเกิดภูมิแพ้และการอักเสบรุนแรง ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในกระแสเลือด และช่วยป้องกันการเกิดสารก่อมะเร็ง (ไชยวัฒน์ ไชยสุต, 2556) การศึกษาก่อนหน้านี้ของ Plaitho และคณะ (2013) แสดงให้เห็นว่า สารสกัดข้าวหมากที่ได้จากข้าวมันปู, ข้าวสังข์หยด, ข้าวหอมมะลิแดง, ข้าวหอมนิล, ข้าวไรซ์เบอรี่ และข้าวเหนียวดำมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด, แอนโทไซยานิน, คุณสมบัติในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระ และคุณสมบัติในการยับยั้งสารก่อกลายพันธุ์ (ยูรีเทน) สูงกว่าข้าวที่ไม่ผ่านการหมักสายพันธุ์เดียวกัน โดยพบว่า ข้าวหมากที่ได้จากข้าวเหนียวดำมีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด, แอนโทไซยานิน, คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระ และคุณสมบัติในการยับยั้งสารก่อกลายพันธุ์สูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่า รำข้าวหมักกับเชื้อรา *Rhizopus oryzae* หรือ *Rhizopus oligosporus* หรือ *Monascus purpureus* ข้าว,ข้าวสาลี, ข้าวฟ่าง หรือข้าวโอ๊ตที่หมักกับ *Agaricus blazei* Murrill หรือข้าวกล้องแดงที่หมักกับลูกแป้ง (ragi) มีปริมาณโพลีฟีนอลทั้งหมด และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับอาหารที่ไม่ผ่านการหมัก (Kupski และคณะ, 2012; Schmidt และคณะ, 2014; Abd Razak และคณะ, 2015; Zhai และคณะ, 2015; Kong และคณะ, 2015) Rashid และคณะ (2015) พบว่ารำข้าวที่นำไปหมักกับเชื้อ *Lactococcus lactis* หรือ *Pediocoocus pentoseous* มีปริมาณแกมมาโอไรซานอลลดลง แต่มีปริมาณวิตามินอี, สารโพลีฟีนอลทั้งหมด และความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นเมื่อเทียบกับรำข้าวไม่หมัก ปริมาณสารสำคัญในอาหารหมักที่เพิ่มขึ้นหรือลดลง

อาจเนื่องมาจากจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักสร้างเอนไซม์ เช่น เอนไซม์อะไมเลส, เอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส (ß-glucosidase) (Takii และคณะ, 2005; Tako และคณะ, 2010) ซึ่งสามารถย่อยองค์ประกอบทางเคมีที่อยู่ในวัตถุดิบที่ใช้หมักส่งผลให้ปริมาณสารสำคัญเพิ่มขึ้น หรือเอนไซม์เฟอรูเลท เอสเทอเรส (ferulate esterase) (Badhan และคณะ, 2014) อาจไปย่อยพันธะเคมีของสารสำคัญที่อยู่ในอาหาร ทำให้ปริมาณสารสำคัญลดลง

การย่อยเป็นกระบวนการหนึ่งที่เกิดขึ้นหลังจากรับประทานอาหาร ซึ่งมีผลต่อปริมาณสารสำคัญที่อยู่ในอาหาร โดยเฉพาะสารในกลุ่มโพลีฟีนอล ตลอดจนศักยภาพในการต้านอนุมูลอิสระ โดย Bhatt และ Patel (2013) พบว่า กระเทียมที่ผ่านการจำลองการย่อยในระบบทางเดินอาหารมีปริมาณสารโพลีฟีนอล และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้น ซึ่งคล้ายกับการศึกษาของ Ti, และคณะ(2015) ที่พบว่า ข้าวกล้องสุก และข้าวขาวสุกที่ผ่านการการย่อยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิก, สารฟลาโวนอยด์ และฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มขึ้นเมื่อเทียบกับข้าวสุกชนิดเดียวกันที่ไม่ผ่านการย่อย รวมถึงพบว่า ถั่วเหลืองสุก, น้อยหน่า, ทุเรียน, พลัม และองุ่นดำที่ผ่านการจำลองการย่อยมีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกเพิ่มสูงขึ้น แต่มีคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระเมื่อวัดด้วยวิธี DPPH ลดลง (Chung, 2009; Chen และคณะ, 2016) Correa-Betanzo และคณะ (2014) พบว่า บลูเบอรี่ที่ผ่านการจำลองการย่อยมีปริมาณโพลีฟีนอล, แอนโทไซยานิน และคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระลดลง ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับการศึกษาในองุ่น (strawberry grape) (Granese และคณะ, 2014) จากการศึกษาที่ผ่านมาแสดงให้เห็นว่า การย่อยอาจส่งผลให้สารสำคัญที่อยู่ในอาหารมีปริมาณมากขึ้นหรือลดลดง ซึ่งส่งผลต่อความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ ดังนั้น การศึกษาถึงสารสำคัญที่อยู่ในอาหารจึงควรพิจารณาถึงผลที่เกิดขึ้นหลังผ่านการย่อยด้วย

จากข้อมูลข้างต้น ผู้วิจัยจึงสนใจนำข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ลืมผัวมาหาปริมาณวิตามินอี, แกมมาโอไรซานอล, โพลีฟีนอลทั้งหมด, แอนโทไซยานิน, คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระทั้งก่อนและหลังผ่านกระบวนการจำลองการย่อยในร่างกายมนุษย์ รวมถึงศักยภาพในการป้องกันภาวะเครียดจากออกซิเดชันในเซลล์ลำไส้มนุษย์ (caco-2 cell) เนื่องจาก caco-2 มีต้นกำเนิดมาจากเซลล์มะเร็งลำไส้มนุษย์ เมื่อเพาะเลี้ยงแล้วสามารถเปลี่ยนสภาพเป็นเซลล์ที่มีรูปร่างและการทำงานคล้ายกับเซลล์เอนเทอโรไซต์ (enterocyte) ของลำไส้เล็ก จึงนิยมนำมาใช้ศึกษาการขนส่งสารหรือการดูดซึมสารในลำไส้เล็ก (Sambuy และคณะ, 2005)

วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1. เพื่อหาปริมาณวิตามินอี โพลีฟีนอลทั้งหมด แอนโทไซยานิน แกมมาโอไรซานอล คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ลืมผัวทั้งก่อนและหลังผ่านกระบวนการจำลองการย่อยในร่างกายมนุษย์
2. เพื่อศึกษาศักยภาพของข้าวหมากจากข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ลืมผัวทั้งก่อนและหลังผ่านกระบวนการจำลองการย่อยในร่างกายมนุษย์ต่อการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้มนุษย์ (caco-2) เหนี่ยวนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

ขอบเขตของโครงการวิจัย

ข้าวเหนียวดำที่ใช้ในการศึกษา คือ ข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ลืมผัว ที่มีจำหน่ายในท้องตลาดท โดยนำข้าวเหนียวดำมาหุงจนสุกและนำไปผลิตเป็นข้าวหมากตามวิธีของ Plaitho และคณะ (2013) การวิจัยครั้งนี้จะวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินอี โพลีฟีนอลทั้งหมด แอนโทไซยานิน แกมมาโอไรซานอล และคุณสมบัติในการต้านการเกิดอนุมูลอิสระข้าวหมากที่ทั้งก่อนและหลังผ่านกระบวนการจำลองการย่อยในร่างกายมนุษย์ รวมถึงศึกษาศักยภาพในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้มนุษย์ (caco-2) ที่ถูกเหนี่ยวนำด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

สมมุติฐานของโครงการวิจัย

ข้าวหมากที่ผ่านการจำลองการย่อยมีปริมาณสารสำคัญ, คุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระและศักยภาพในการป้องกันการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์ลำไส้มนุษย์ (Caco-2) สูงกว่าข้าวหมากที่ไม่ผ่านการจำลองการย่อย

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ทราบประโยชน์ของข้าวหมากที่ผลิตจากข้าวเหนียวดำ ซึ่งจะช่วยส่งเสริมการเพาะปลูกและช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับข้าวเหนียวดำ ตลอดจนเป็นการส่งเสริมการบริโภคข้าวหมาก และเป็นการส่งเสริมการนำข้าวหมากไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพเพื่อเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับข้าวหมาก

ผู้วิจัยคาดว่าจะนำผลงานวิจัยไปเผยแพร่ในการประชุมทางวิชาการหรือตีพิมพ์ในวารสารวิชาการ เช่น วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี วารสารพิษวิทยาไทย วารสารวิจัย มสด สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หน่วยงานวิจัยที่นำผลการวิจัยไปใช้ประโยชน์มีทั้งภาครัฐและเอกชนที่ต้องการนำข้อมูลจากงานวิจัยที่ได้เป็นข้อมูลพื้นฐานเพื่อนำไปสู่การวิจัยขั้นสูงต่อไป หรือเพื่อนำข้อมูลที่ได้ไปพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพ ตลอดจนสามารถนำผลการวิจัยไปใช้ในการเรียนการสอนในรายวิชาต่างๆ เช่น วิชาข้าว วิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร วิชาโภชนคลีนิคและการกำหนดอาหาร เป็นต้น