ISSN 3027-6357 (Print)
ISSN 3027-6365 (Online)

วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี Homepage : *http://li01.tci-thaijo.org/index.php/tstj*
ปีที่ 32 ฉบับที่ 5 (กันยายน-ตุลาคม 2567) หน้า [44-54]

ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตองจากบ้านสันโป่ง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

Antioxidant activity and Preliminary Phytochemical Screening of Sunpatong Sticky Rice Extract from Ban Sanpong, Mae Rim District, Chiang Mai Province.

รัฐพรรณ สันติอโนทัย[1,*], ธวัชชัย เหล็กดี[2], นภนัย ปานเอี่ยม[3], เกศชฎา โชติพูล[3]

[1]*ภาควิชาสาธารณสุขศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ เชียงใหม่ 50200*

[2] *กองคุ้มครองและส่งเสริมภูมิปัญญาการแพทย์แผนไทยและแพทย์พื้นบ้านไทย*
กรมการแพทย์แผนไทยและการแพทย์ทางเลือก กระทรวงสาธารณสุข นนทบุรี 11000

[3] *วิทยาลัยการแพทย์บูรณาการ มหาวิทยาลัยธุรกิจบัณฑิตย์ กรุงเทพมหานคร 10210*

Ruthaphan Santianotai[1,*], Thawatchai Lekdee[2], Naphanai Paniem[3], Ketchada Chotpool[3]

[1] *Department of Public health, Faculty of Science and Technology,*
Chiang Mai Rajabhat University, Chiang Mai 50220

[2] *Division of Protection and Promotion of Thai Traditional and Indigenous Medicine Knowledge,*
Department of Thai Traditional and Alternative Medicine, Ministry of Public health, Nonthaburi 11000

[3] *College of Integrative Medicine, Dhurakij Pundit University, Bangkok 10210*

Received 14 July 2023; Received in revised 10 April 2024; Accepted 19 April 2024

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง ตัวอย่างข้าวเหนียวสันป่าตองที่ใช้ในการสกัดได้จากการปลูกและเก็บเกี่ยวจากพื้นที่บ้านสันโป่ง ตำบลสันโป่ง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ นำตัวอย่างข้าวสกัดด้วยวิธีการแช่ตัวอย่างในตัวทำละลาย (Maceration) โดยใช้น้ำกลั่นเป็น ตัวทำละลายและสกัดที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งมีวิธีสกัดทั้งหมด 4 วิธีได้แก่ (1) แช่ข้าว 24 ชั่วโมงแล้วนำไประเหยแห้ง (RE24) (2) แช่ข้าว 48 ชั่วโมงแล้วนำไประเหยแห้ง (RE48) (3) แช่ข้าว 24 ชั่วโมงแล้วแช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (RW24) และ (4) แช่ข้าว 48 ชั่วโมงแล้วแช่แข็งอุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส (RW48) ซึ่งสารสกัดที่ได้จะมีลักษณะเป็นสารสกัดหยาบ (Crude extract) และสารละลาย (Solution) นำสารสกัดทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูล

***ผู้รับผิดชอบบทความ:** ruthaphan_san@g.cmru.ac.th

Science32-N5-1.indd 44 29/10/2567 BE 14:57

อิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging และABTS$^{\bullet+}$ ทำการทดสอบสารประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้น (แทนนิน และไตรเทอร์พีน) และวิเคราะห์หาปริมาณฟลาโวนอยด์รวมและฟีนอลิกรวม ผลการทดสอบพบว่า สารสกัด RE24 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ในการทดสอบสารประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้นพบว่าสารสกัดทั้ง 4 ตัวอย่างไม่พบสารประกอบแทนนินและไตรเทอร์พีน แต่ในขณะเดียวกันสารสกัด RE24 มีปริมาณฟลาโวนอยด์รวมสูงที่สุด (1.62 ±0.09 mg CE/g extract) และสารสกัด RE48 มีปริมาณฟีนอลิกรวมสูงที่สุด (9.99 ±0.12 mg GAE/g extract)

คำสำคัญ: สารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง; ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ; ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม; ปริมาณฟีนอลิกรวม

Abstract

This study aimed to test the antioxidant activity and conduct a preliminary phytochemical screening of Sunpatong sticky rice extract. The rice samples used for extraction were cultivated and harvested from Ban Sanpong, Mae Rim District, Chiang Mai Province. The extraction method employed was maceration, where the rice samples were soak in deionized water at room temperature. Four extraction methods were utilized: (1) soaking the rice for 24 hours followed by evaporation (RE24), (2) soaking the rice for 48 hours followed by evaporation (RE48), (3) soaking the rice for 24 hours followed by freezing at -20 °C (RW24), and (4) soaking the rice for 48 hours followed by freezing at -20 °C (RW48). The resulting extracts were characterized as crude extracts and solutions. The antioxidant properties were evaluated through the DPPH radical scavenging and ABTS$^{\bullet+}$ methods, and preliminary phytochemical screening was performed, which included examining for tannins and terpenoids. The test results indicated that the RE24 extract exhibited the highest level of antioxidant activity. In preliminary phytochemical screening analysis, none of the four extracts contained tannins or terpenoids. However, the RE24 extract had the highest total flavonoid content (1.62 ± 0.09 mg CE/g extract), while the RE48 extract had the highest total phenolic content (9.99 ± 0.12 mg GAE/g extract).

Keywords: Sunpatong sticky rice extract; Antioxidant activity; Total flavonoid; Total phenolic.

Science32-N5-1.indd 45 29/10/2567 BE 14:57

1. บทนำ

ประเทศไทยเป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญของโลก ซึ่งสามารถส่งออกไปยังตลาดโลกได้มากที่สุด ข้าวจึงเป็นพืชเศรษฐกิจของไทย และยังเป็นแหล่งศึกษาวิจัยพันธุ์ข้าวที่มีความหลากหลายของพันธุ์ข้าวมากที่สุดในโลก [1] อีกทั้งมีการศึกษาวิจัยในข้าวสายพันธุ์ต่างๆ ในประเทศไทยพบว่า สารสกัดที่ได้จากข้าวสายพันธุ์ที่สามารถปลูกในประเทศไทย เช่น ข้าวหอมมะลิแดง ข้าวเหนียวดำ [2-3] ข้าวกล้องหอมนิล ข้าวไรซ์เบอร์รี่ [4] ข้าวแก้ว ข้าวตาแห้ง ข้าวนก 6 ข้าวนก 7 และข้าวเหนียวหนัก [5] เป็นต้น มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและชะลอวัย [2-14] และพบสารสำคัญในรูปแบบของสารประกอบพฤกษเคมีหลายชนิด เช่น ฟีนอลิก [2-9] ฟลาโวนอยด์ [2, 7, 13] และเอนโทไซยานิน [2, 3, 8] เป็นต้น

ด้วยภูมิปัญญาและวิถีรับประทานข้าวเหนียวเป็นอาหารหลักและเป็นอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่รับประทานในทุกครัวเรือนของประชากรในจังหวัดเชียงใหม่ รวมถึงประชากรที่อาศัยอยู่จังหวัดอื่น ๆ ในเขตภาคเหนือตอนบนของประเทศไทย ได้แก่ เชียงราย แพร่ น่าน ลำพูน ลำปาง แม่ฮ่องสอน พะเยา จากการสำรวจพื้นที่บ้านสันโป่ง ตำบลสันโป่ง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ เกษตรกรส่วนใหญ่ปลูกข้าวเหนียวเพื่อใช้ในการจำหน่ายและรับประทานในครัวเรือน โดยประชาชนในพื้นที่อายุตั้งแต่ 50 ปีขึ้นไป มีกรรมวิธีในการหุงข้าวเหนียวโดยนำข้าวสารแช่ด้วยน้ำสะอาดอย่างน้อย 1 คืน หรือประมาณ 12 ชั่วโมงต่อ 1 ครั้งก่อนการหุง เพื่อให้ข้าวที่ผ่านการหุงมีลักษณะอ่อนนุ่มไม่แข็ง และนำน้ำที่ได้จากการแช่ข้าวหรือเรียกว่า “น้ำซาวข้าว” นั้นนำมาล้างหน้าในตอนเช้าเพื่อให้มีผิวพรรณที่สวยงามและอ่อนกว่าวัย ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Joana Marto และคณะ (2018) ศึกษาประสิทธิภาพในการชะลอวัยของน้ำที่ได้จากการแช่ข้าว ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่ใช้ในการชะลอวัยที่มีการสืบทอดกันมาเป็นระยะเวลานาน ซึ่งในการทดลองครั้งมีการพัฒนาสารสกัดจากข้าวที่ใช้น้ำเป็นตัวทำละลายแล้วนำสารสกัดที่ได้พัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เจลที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและชะลอวัย พบว่า น้ำข้าวที่ผ่านการสกัดด้วยวิธีการ (1) นำข้าวไปต้มด้วยน้ำ (2) นำข้าวไปแช่ด้วยน้ำแล้วเขย่า 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง และ (3) บดข้าวแล้วนำไปแช่ด้วยน้ำ แล้วเขย่าเป็นเวลา 24 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เพื่อให้ได้สารละลายน้ำ จากกระบวนการดังกล่าวพบสารละลายน้ำที่ได้จากทั้ง 3 วิธีพบสารฟีนอลิก ซึ่งมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมีผลต่อการชะลอวัย [15] จากการสำรวจพื้นที่บ้านสันโป่ง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ ข้าวเหนียวพันธุ์สันป่าตองเป็นสายพันธุ์ที่ปลูกมากที่สุดในพื้นที่ข้าวเหนียวสันป่าตอง (*Oryza sativa L.*) เป็นพืชในวงศ์ Poaceae พัฒนาสายพันธุ์จากการกลายพันธุ์ของข้าวเจ้าเหลืองใหญ่ 10 มีการรับรองพันธุ์ข้าวให้เป็นพันธุ์ส่งเสริมและขยายพันธุ์ได้ เมื่อวันที่ 6 พฤษภาคม พ.ศ. 2505 มีลักษณะเด่นคือ เป็นข้าวสายพันธุ์ที่ไม่กลายพันธุ์แม้สภาพอากาศหรือพื้นที่มีการเปลี่ยนแปลงไปตามลักษณะของภูมิอากาศหรือภูมิประเทศ สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมและโรคที่เกิดในข้าว ไวต่อช่วงแสงและให้ผลผลิตสูงเฉลี่ย 520 กิโลกรัมต่อไร่ เป็นข้าวที่มีน้ำหนักดี [16] ลักษณะโดยทั่วไปมีความสูงประมาณ 150 เซนติเมตร ต้นค่อนข้างแข็ง รวงยาว เมล็ดยาวเรียว เมล็ดข้าวเปลือก ยาว x กว้าง x หนา = 10.4 x 2.8 x 2.0 มิลลิเมตร เมล็ดข้าวกล้อง ยาว x กว้าง x หนา = 7.2 x 2.1 x 1.3 มิลลิเมตร ข้าวเปลือกมีสีน้ำตาล มีระยะพักตัวของเมล็ดประมาณ 6 สัปดาห์ คุณภาพของข้าวสุกมีลักษณะเหนียวนุ่ม ผลผลิตประมาณ 526 กิโลกรัมต่อไร่ ลักษณะเด่นคือสามารถต้านทานโรคใบจุดสีน้ำตาลและต้านทานโรคไหม้ได้ดี พื้นที่ที่เหมาะสำหรับการปลูกข้าวเหนียวสันป่าตองคือ ภาคเหนือตอนบน และภาคตะวันออกเฉียงเหนือ [17] ปัจจุบันในประเทศไทยยังไม่มีการศึกษาวิจัยเกี่ยวกับฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสารประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้นของสารสกัดที่ได้จากข้าวเหนียวสันป่าตอง

ดังนั้น งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ศึกษาฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging และ $ABTS^{\bullet+}$ ทดสอบสารประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้น ได้แก่

Science32-N5-1.indd 46 29/10/2567 BE 14:57

แทนนิน (Tannins) และไตรเทอร์พีน (Triterpenes) การวิเคราะห์ปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวมและฟีนอลิกรวมของสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตองที่ได้จากการสกัดด้วยน้ำ ซึ่งวิธีการสกัดผู้วิจัยมีวัตถุประสงค์ในการประยุกต์ใช้วิธีการสกัดสารสำคัญจากข้าวเหนียวที่ได้จากภูมิปัญญาการแช่ข้าวเหนียวในน้ำก่อนหุง แล้วนำน้ำที่ได้จากการแช่มาใช้ประโยชน์ในการบำรุงผิว เพื่อนำสารสกัดที่ได้ไปพัฒนาต่อยอดเป็นสารสกัดที่สามารถใช้ในการพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง

2. วัสดุและวิธีการทดลอง

2.1 ตัวอย่างข้าวที่ใช้ในการสกัด

วัตถุดิบข้าวเหนียวสันป่าตอง เป็นข้าวที่ได้จากการปลูกในชุมชนบ้านสันโป่ง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่ และเก็บเกี่ยวผลผลิตในเดือนธันวาคม พ.ศ. 2565 ผ่านการขัดสีจากโรงสีข้าวจนได้เมล็ดข้าวที่มีลักษณะสีขาว เมล็ดเรียวยาว โดยข้าวที่นำมาใช้ในการสกัดจะต้องผ่านการคัดเลือกสิ่งแปลกปลอมออกจากข้าว จากนั้นนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง [2] และบดด้วยเครื่องปั่นอเนกประสงค์ (Blender) เพื่อให้เมล็ดข้าวมีขนาดเล็กลงจนสามารถผ่านตะแกรงร่อนที่มีขนาดรูตะแกรงเท่ากับ 2.00 มิลลิเมตร ซึ่งข้าวที่สามารถผ่านตะแกรงร่อนได้จะถูกนำไปสกัดต่อไป

2.2 วิธีการสกัด

สกัดด้วยวิธีการแช่ตัวอย่างข้าวเหนียวสันป่าตองในตัวทำละลาย (Maceration) ที่อุณหภูมิห้อง โดยใช้น้ำกลั่น (Deionized water) เป็นตัวทำละลาย ซึ่งน้ำกลั่นที่ใช้มีค่า pH เท่ากับ 6.5 จากนั้นนำมาสกัดด้วย 4 วิธีดังนี้

(1) สกัดด้วยวิธีการแช่ตัวอย่างในตัวทำละลายแล้วนำไประเหยแห้ง (Maceration and evaporation) ใช้อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 4:10 (w/v) แช่ข้าวในตัวทำละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อแช่ตัวอย่างครบตามเวลาที่กำหนด ให้กรองเอาแต่สารละลายด้วยกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 110 นาโนเมตร (Whatman no.1) ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยความดันต่ำ (Rotary Evaporator) จนได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) โดยอ่างควบคุมความร้อนมีอุณหภูมิประมาณ 70-75 องศาเซลเซียส

(2) สกัดด้วยวิธีการแช่ตัวอย่างในตัวทำละลายแล้วนำไประเหยแห้ง (Maceration and evaporation) ใช้อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 4:10 (w/v) แช่ข้าวในตัวทำละลายเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อแช่ตัวอย่างครบตามเวลาที่กำหนด ให้กรองเอาแต่สารละลายด้วยกระดาษกรองขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 110 นาโนเมตร (Whatman no.1) ระเหยตัวทำละลายออกด้วยเครื่องระเหยความดันต่ำ (Rotary Evaporator) จนได้สารสกัดหยาบ (Crude extract) โดยอ่างควบคุมความร้อนมีอุณหภูมิประมาณ 70-75 องศาเซลเซียส

จากการสกัดด้วยวิธีที่ (1) และ (2) เก็บตัวอย่างสารสกัดที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อทำการทดสอบต่อไปและคำนวณร้อยละของผลผลิต (% yield) ดังสมการ (1)

$$\% \text{ yield} = \frac{\text{น้ำหนักสุดท้ายของสารสกัด}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้นของข้าวสันป่าตอง}} \times 100 \quad \text{.....(1)}$$

(3) สกัดด้วยวิธีการแช่ตัวอย่างในตัวทำละลายแล้วนำไปแช่แข็ง (Maceration and freeze) ใช้อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 4:10 (w/v) แช่ข้าวในตัวทำละลายเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด ให้กรองเอาแต่สารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 นำสารละลายที่ได้แช่ในตู้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการทดสอบต่อไป

(4) สกัดด้วยวิธีการแช่ตัวอย่างในตัวทำละลายแล้วนำไปแช่แข็ง (Maceration and freeze) ใช้อัตราส่วนข้าวต่อตัวทำละลายเท่ากับ 4:10 (w/v) แช่ข้าวในตัวทำละลายเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาที่กำหนด ให้กรองเอาแต่สารละลายด้วยกระดาษกรอง Whatman no.1 นำสารละลายที่ได้แช่ในตู้อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อทำการทดสอบต่อไป

Science32-N5-1.indd 47 29/10/2567 BE 14:57

2.3 การทดสอบสารประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้น (Preliminary phytochemistry screening)

สกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง 0.1 กรัม เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร นำไปต้มนาน 2 นาที แล้วกรอง นำสารละลายที่กรองได้มาหยด $FeCl_3$ ความเข้มข้น 1% จำนวน 2-3 หยด หากปรากฏสีเขียวดำหรือน้ำเงินดำแสดงว่ามีแทนนิน โดยใช้ Negative control คือ น้ำ และ Positive control คือ Tannic acid [18-19] โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (n=3)

(2) การทดสอบไตรเทอร์พีน (Triterpenes) นำสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง 0.1 กรัม สกัดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์ จำนวน 3 มิลลิลิตร เติมคลอโรฟอร์ม 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ค่อยๆ เติมกรดซัลฟิวริก หากเกิดการแยกชั้นของสารละลาย แสดงว่ามีเทอร์พีนอยด์หรือไตรเทอร์พีน โดยใช้ Negative control คือ น้ำ และ Positive control คือ สารสกัดใบงาขี้ม้อน [18-19] โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (n=3)

2.4 การวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม (Total flavonoid)

ดัดแปลงจากวิธีของ เมธิน ผดุงกิจ และคณะ [20] มีขั้นตอนดังนี้ ใช้ Catechin เป็นสารละลายมาตรฐานละลายด้วย เอทานอล โดยเตรียมสารละลายที่ความเข้มข้น 20, 40, 60, 80, และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมตัวอย่างสารสกัดละลายด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียม 2% $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ ดูดสารละลาย Catechin เตรียมไว้และสารละลายตัวอย่างสารสกัดมา 100 ไมโครลิตร เติมสารละลาย 2% $AlCl_3 \cdot 6H_2O$ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 นาที นำสารละลายที่ได้มาวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 510 นาโนเมตร เทียบกับหลอดควบคุม โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (n=3) คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟลาโวนอยด์รวมทั้งหมด เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย Catechin

2.5 การวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม (Total phenolic)

ดัดแปลงจากวิธีของ เมธิน ผดุงกิจ และคณะ [20] มีขั้นตอนดังนี้ เตรียมสารละลายมาตรฐาน Gallic acid ละลายด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้น 500 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียมตัวอย่างสารสกัดละลายด้วยเอทานอลให้มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เตรียม 7.5% Sodium carbonate ในน้ำกลั่น ดูดสารละลาย Gallic acid ที่เตรียมไว้และสารละลายตัวอย่างสารสกัดอย่างละ 20 ไมโครลิตร หลอดควบคุมใช้น้ำกลั่นผสมสารละลาย Folin Ciocalteu's reagent ปริมาตร 100 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากัน จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง 3 นาที เติม 7.5% Sodium carbonate จำนวน 80 ไมโครลิตร เขย่าให้เข้ากันบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 15 นาที นำสารละลายที่ได้วัดค่าดูดกลืนแสง ที่ค่าความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร เทียบกับหลอดควบคุม โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (n=3) คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมทั้งหมด เปรียบเทียบค่าที่ได้กับกราฟมาตรฐานของสารละลาย Gallic acid ดังสมการ (2)

$$C = c * V/m \quad \text{.....(2)}$$

โดย C คือ ปริมาณสารฟีนอลิกทั้งหมดในสารสกัด (มิลลิกรัมต่อกรัม ของสารสกัด)
c คือ ความเข้มข้นของ Gallic acid ที่ได้จากกราฟของสารสกัด (ไมโครลิตรต่อมิลลิลิตร)
V คือ ปริมาตรของสารสกัด (มิลลิลิตร)
m คือ น้ำหนักของสารสกัด (กรัม)

2.6 การทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

2.6.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging [21] เตรียมสารละลาย 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) ให้มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิโมลาร์ในเอทานอล โดยนำตัวอย่างสารสกัด

Science32-N5-1.indd 48 29/10/2567 BE 14:57

ข้าวเหนียวสันป่าตองทั้ง 4 วิธี ละลายด้วยเอทานอลให้ได้จำนวน 5 ความเข้มข้น และทดสอบเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี (Ascorbic acid) โดยนำตัวอย่างทดสอบผสมกับสารละลาย DPPH ตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV spectrophotometer วัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร แล้วนำค่าที่ได้คำนวณประสิทธิภาพในการ ต้านอนุมูลอิสระ DPPH (% Inhibition activity) ดังสมการ (3)

$$\text{Inhibition activity (\%)} = [(A_{blank} - A_{sample})/A_{blank}] \times 100 \quad \text{.....(3)}$$

เพื่อนำค่าความเข้มข้นที่สามารถต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่ได้จัดทำกราฟเส้นตรง เพื่อหาค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถต้านอนุมูลอิสระได้ 50% (IC50) โดยทำการทดสอบซ้ำ 3 ครั้ง (n=3) และหาค่าเฉลี่ย (x) ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD)

2.6.1 ทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี $ABTS^{\bullet+}$ [22] นำ 7 มิลลิโมลาร์ ABTS ผสมกับ 2.45 มิลลิโมลาร์ $K_2S_2O_8$ อัตราส่วน 2:1 บ่มในที่มืด 16 ชั่วโมง จากนั้นนำไปเจือจางด้วยเอทานอล และวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตรให้อยู่ในช่วง 0.700 ± 0.050 ได้อนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ นำสารละลายตัวอย่างสารสกัดและสารมาตรฐานวิตามินซี (Ascorbic acid) อย่างละ 5 ไมโครลิตร ใส่ลงใน 96-well plate จากนั้นเติมสารละลาย $ABTS^{\bullet+}$ ที่เตรียมได้ 195 ไมโครลิตร ผสมกันแล้วตั้งทิ้งไว้ในที่มืดเป็นเวลา 6 นาที และนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 734 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง Microplate reader คำนวณหาค่าความเข้มข้นต่ำที่สุดที่สามารถยับยั้งอนุมูลอิสระได้ร้อยละ 50 (IC_{50}) โดยเปรียบเทียบระหว่างตัวอย่างสารสกัดกับสารมาตรฐานวิตามินซีดังสมการ (3)

2.7 สถิติที่ใช้ในการวิเคราะห์ข้อมูล

วิเคราะห์ค่าส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (standard deviation, SD) และการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยรายคู่โดยใช้วิธี paired t-test ($p<0.05$) ของการทดสอบปริมาณฟลาโวนอยด์และฟีนอลิกรวม และค่า IC_{50} ในการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH และ $ABTS^{\bullet+}$

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผลการทดลอง

3.1 สารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE24 และ RE48

โดยสารสกัด 2 ตัวอย่างนี้มีลักษณะเป็นสารสกัดหยาบสีน้ำตาลอ่อน กลิ่นข้าว และมีปริมาณร้อยละของผลผลิต (% yield) เท่ากับร้อยละ 1.36 และ 1.44 ตามลำดับ ในขณะที่สารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตองสกัด RW24 และ RW48 สารสกัด 2 ตัวอย่างนี้มีลักษณะเป็นสารละลาย (Solution) สีขาวขุ่น ไม่มีตะกอน กลิ่นข้าว (Table 1, Figure 1)

Table 1 Appearance of Sunpatong sticky rice extract.

Samples	Method	Physical property	Color
RE24	Maceration 24 hrs. and evaporation	Semi solid and liquid	Light brown
RE48	Maceration 48 hrs. and evaporation	Semi solid and liquid	Light brown
RW24	Maceration 24 hrs. and freeze in -20 °C	Liquid	White
RW48	Maceration 24 hrs. and freeze in -20 °C	Liquid	White

Science32-N5-1.indd 49 29/10/2567 BE 14:57

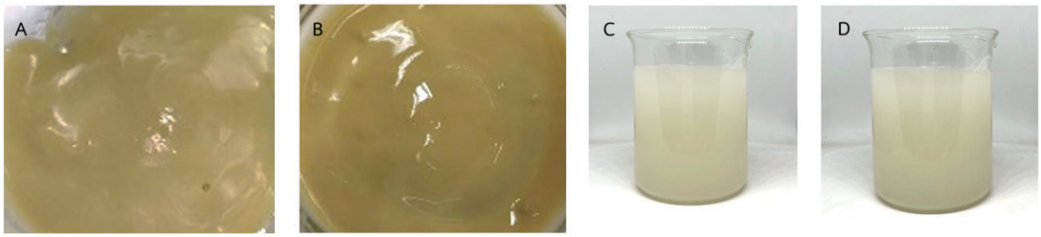

Figure 1 Sunpatong sticky rice extract (A) RE24, (B) RE48, (C) RW24, and (D) RW48

3.2 ผลการทดสอบสารประกอบพฤกษเคมีเบื้องต้น (Phytochemistry screening)

สารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตองทั้ง 4 ตัวอย่าง ไม่พบสารแทนนินและสารไตรเทอร์พีน ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่มีรายงานเกี่ยวกับการสกัดข้าวพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทยพบว่า สารประกอบพฤกษเคมีส่วนใหญ่ที่พบในสารสกัดข้าวคือสารฟลาโวนอยด์ และสารประกอบชนิดอื่น ๆ ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ [2, 7, 13]

3.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม

พบว่าสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE24 ให้ปริมาณฟลาโวนอยด์รวมมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 1.62 ±0.09 mg CE/g extract รองลงมาคือ สารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE48, RW48 และ RW24 โดยให้ปริมาณฟลาโวนอยด์รวม มีค่าเท่ากับ 1.47, 0.02 และ 0.01 mg CE/g extract ตามลำดับ โดยสารแต่ละชนิดมีปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (Table 2) จากการทดสอบพบว่า สารสกัดที่เป็นสารสกัดหยาบมีปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวมที่สูงกว่าสารสกัดที่เป็นสารละลาย ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการสกัดข้าวทับทิมชุมแพที่มีการพัฒนารูปแบบสารสกัดข้าวให้เป็นสารสกัดหยาบ จากรายงานพบว่าสารสกัดหยาบข้าวทับทิมชุมแพพบปริมาณฟลาโวนอยด์และมีฤทธิ์ ต้านอนุมูลอิสระ DPPH ที่สามารถพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์บำรุงผิวหน้าชะลอวัย [13]

3.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณสารฟีนอลิกรวม

จากการสกัดข้าวเหนียวสันป่าตองทั้ง 4 วิธี พบว่าสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE48 ให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมมากที่สุด มีค่าเท่ากับ 9.99 mg GAE/g extract ซึ่งปริมาณสารดังกล่าวมี ปริมาณแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ รองลงคือ สารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE24, RW48 และ RW24 โดยให้ปริมาณสารฟีนอลิกรวมรวม มีค่าเท่ากับ 7.62, 0.44, 0.18 mg GAE/g extract ตามลำดับ โดยสารแต่ละชนิดมีปริมาณฟีนอลิกรวมแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (Table 2) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Gan, R.Y. และคณะ [23] ที่รายงานถึงการพบสารประกอบ ฟีนอลิกหลาย ๆ ชนิดที่มีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระในรำข้าว เช่น กรดฟีนอลิก, คูมาริน, ลิคแนน และเคอร์คูมิโน เป็นต้น

Science32-N5-1.indd 50 29/10/2567 BE 14:57

Table 2 Total flavonoid and total phenolic contents

Samples	Crude extract		Solution	
	RE24	RE48	RW24	RW48
Total flavonoid (mg CE/g extract)	1.62 ±0.09[a]	1.47 ±0.07[a]	0.01 ±0.01[a]	0.02 ±0.01[a]
Total phenolic (mg GAE/g extract)	7.62 ±0.13[b]	9.99 ±0.12[b]	0.18 ±0.01[b]	0.44 ±0.01[b]

(n=3, Means ± S.D., letters a, b to show statistically significant differences between variables)

3.5 ผลการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

3.5.1 จากการทดสอบด้วยวิธี DPPH radical scavenging ทำการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี โดยวิตามินซีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.010 ±0.02 mg/ml พบว่า สารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE24 และ RE48 มีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 3.070 ±0.01 mg/ml และ 3.531 ±0.01 mg/ml ตามลำดับ และสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RW24 และ RW48 ค่า IC_{50} เท่ากับ 335.883 ±0.02 mg/ml และ 426.350 ±0.01 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยข้าวสายพันธุ์อื่น ๆ ที่สามารถปลูกได้ในประเทศไทยที่พบว่า สารสกัดข้าวมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH น้อยกว่าสารมาตรฐานวิตามินซี [3] ซึ่งสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตองที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ RE24 โดยสารสกัดแต่ละชนิดและสารมาตรฐานวิตามินซีออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Table 3)

3.5.2 จากการทดสอบด้วยวิธี $ABTS^{\bullet+}$ ทำการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานวิตามินซี โดยวิตามินซีมีค่า IC^{50} เท่ากับ 0.001 ±0.01 mg/ml พบว่า สารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE24 และ RE48 มีมีค่า IC_{50} เท่ากับ 0.0004 ±0.01 และ 0.0006 ±0.01 mg/ml ตามลำดับ และสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RW24 และ RW48 ค่า IC_{50} เท่ากับ 0.025 ±0.02 และ 0.033 ±0.01 mg/ml ตามลำดับ ซึ่งสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตองที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุดคือ RE24 โดยสารสกัดแต่ละชนิดและสารมาตรฐานวิตามินซีออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ $ABTS^{\bullet+}$ แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ (Table 3)

จากผลการทดสอบสารสกัดหยาบสามารถออกฤทธิ์ต้านอนมูลอิสระได้สูงกว่าสารสกัดในรูปแบบของสารละลายซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาการสกัดข้าวทับทิมชุมแพที่มีการพัฒนารูปแบบสารสกัดข้าวให้เป็นสารสกัดหยาบ โดยสอดคล้องรายงานพบว่า สารสกัดหยาบข้าวทับทิมชุมแพมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระที่ดีที่สุด เมื่อนำไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางและผ่านการทดสอบความคงสภาพของผลิตภัณฑ์พบว่า ผลิตภัณฑ์มีความคงตัวที่ดี สารสกัดที่สามารถนำไปผสมในผลิตภัณฑ์และไม่มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสภาพของผลิตภัณฑ์มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและชะลอวัย [13] ในขณะเดียวกันระยะเวลาในการสกัดที่ใช้เวลา 24 ชั่วโมง มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระที่ดีกว่าการสกัดที่ใช้เวลา 48 ชั่วโมง ด้วยเหตุนี้ระยะเวลาในการสกัดข้าวเหนียว สันป่าตองด้วยวิธีการแช่ตัวอย่างในน้ำมีผลต่อปริมาณสารสำคัญที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

Science32-N5-1.indd 51 29/10/2567 BE 14:57

Table 3 Antioxidant activity of Sunpatong sticky rice extract.

Samples	Crude extract		Solution		Ascorbic acid
	RE24	RE48	RW24	RW48	
DPPH IC_{50} (mg/ml)	3.070 ±0.01a	3.531 ±0.01a	335.883 ±0.02 a	426.350 ±0.01a	0.010 ±0.02a
$ABTS^{\bullet+}$ IC_{50} (mg/ml)	0.0004 ±0.01b	0.0006 ±0.01b	0.025 ±0.02 b	0.033 ±0.01b	0.001 ±0.01b

(n=3, Means ± S.D., letters a, b to show statistically significant differences between variables)

4. สรุป

จากการทดสอบสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตองทั้ง 4 ตัวอย่าง ไม่พบสารแทนนินและสารไตรเทอร์พีน ในขณะที่การทดสอบหาปริมาณสารฟลาโวนอยด์รวมและฟีนอลิกรวม พบว่า พบว่าการสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE24 และ RE48 มีปริมาณสูงที่สุดตามลำดับ ในส่วนของการการทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging และ $ABTS^{\bullet+}$ พบว่าการสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE24 เป็นสารสกัดที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด จึงสามารถสรุปได้ว่าปริมาณ ฟลาโวนอยด์รวมที่พบมากที่ที่สุดในสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE24 มีบทบาทต่อการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ $ABTS^{\bullet+}$ จึงทำให้สารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตอง RE24 มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระดีที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับสารสกัดชนิดอื่น ๆ อย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งสารฟลาโวนอยด์และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระเป็นฤทธิ์ที่ดีต่อการพัฒนาผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางชะลอวัยของผิว [13] ซึ่งในการศึกษาวิจัยครั้งนี้จะนำผลการวิจัยไปต่อยอดในการนำสารสกัดข้าวเหนียวสันป่าตองพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและสามารถนำไปต่อยอดในเชิงพาณิชย์ในอนาคตให้กับวิสาหกิจชุมชนพัฒนาและยกระดับสินค้าการเกษตรและพืชสมุนไพรบ้านสันโป่ง ตำบลสันโป่ง อำเภอแม่ริม จังหวัดเชียงใหม่

5. กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยครั้งนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากทุนอุดหนุนการวิจัยจากมหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงใหม่ งบประมาณด้านวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม ประเภททุนสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund) ปีงบประมาณ พ.ศ. 2566

6. References

[1] Kunpai, S. and Thitipramote, N., Development of standardized jasmine rice 105 for antioxidant application, Available Source: https://postgrads.mfu.ac.th/wp-content/uploads/2022/12/File39.pdf, April 5, 2023. (in Thai)

[2] Itsarasook, K., Tanghiranrat, J., Srisukong, A., Haritakul, W., Rungsang, T., Chantree K. and Prompamorn, P., 2021, Synergistic antioxidant activity of antioxidant components from red brown rice and black glutinous rice extracts, Naresuan Phayao Journal. 14(3): 54-62.

[3] Kasikumpaiboon, J. and Boonman, N., 2020, Antioxidant activities of red jasmine rice extracts, STOU National Research

Science32-N5-1.indd 52 29/10/2567 BE 14:57

Conference, p.1382-1394.

[4] Petchlert, C., 2017, Antioxidant capacity and inhibitory effect on lipid peroxidation of different pigmented rice ethanol extracts, Research Report, Burapha University, Chonburi, 45 p. (in Thai)

[5] Lichanporn, I., Nantachai, N., Tunganurat P. and Akkarakultron, P., 2019, The studies of phenolic compound and antioxidant of the native varieties of rice in Pathum thani province, KHON KAEN AGR. J. 47(1): 637-642.

[6] Na Thaisong, P., Katakul, S., Tokamolthom J. and Thaweeseang, N., 2017, Native rice varieties in ban Thiphuye, Thong pha phum district, Kanchanaburi province, Thai J. Sci. Technol. 25(5): 805-812. (in Thai)

[7] Kumchaturut, M., Wisetsing, R., Jagin, P., Kawla, S., Tongchai W. and Tongchai, S., Antioxidant activity of crude extract from brown rice and germinated brown rice, Available Source: https://research.psru.ac.th/files/res_journal53/2557_61733.pdf?fbclid=IwAR2zpSiB9rRZFrPC1u8-tip8Z18C1O3d3agnmptmoGNOaoQj9c6z-z83Inc, April 5, 2023. (in Thai)

[8] Kaewpiboon, C. and Boonnak, N., 2021, Effect of salt stress on phenolic contents and Antioxidant activity of germinated brown rice, Thai Science and Technology Journal. 29(2): 259-266.

[9] Boonyasri, N., Thirabunyanon, M., Kongjaroon, C. and Deangprok, W., 2015, Antioxidant activities and total polyphenol contents of methanol extract protein isolates and peptide derived from Khao Dawk Mali 105 and Jao Hom Nin rice brans, Journal of Agr. Research & Extension. 32(2): 12-22.

[10] Hiran, P., Kerdchoechuen, O. and Laohakuljit, N., 2015, Influence of biological process affecting on antioxidative agents in brown rice 'Khao Dawk Mali 105' and sorghum 'Hegari', SDU Res. J. 8(2): 67-85.

[11] Jaikong, S., 2021, Determination of cyanidin-3-O-glucoside and total anthocyanin contents and antioxidant activity of riceberry rice in Thailand, Master Thesis, Srinakharinwirot University, Bangkok, 107 p. (in Thai)

[12] Phuwadolpaisarn, P., 2021, Antioxidant activities and lipid peroxidation inhibition of beta-glucan gum from khao dawk mali 105 rice bran, The journal of KMUTB. 31(4): 746-757.

[13] Rungruang, R., Modsuwan, J., Srisukong, A., 2019, Antioxidant and Anti-wrinkle Activities of Tubtim Chumphae Rice Extract for Application in Facial Cosmetics, KMUTT Research and Development Journal. 42(1): 95-107.

[14] Posoongnoen, S. and Thummavongsa, T., 2018, Some chemical compositions and antioxidant properties of local rice in Nakhon ratchasima province, Thailand, Burapha Science Journal. 23(2): 971-984.

[15] Marto, J., Neves, Â., Maria Gonçalves, L., Pinto, P., Almeida, C., and Simões, S.,

Science32-N5-1.indd 53 29/10/2567 BE 14:57

2018, Rice water: a traditional ingredient with anti-aging efficacy, Cosmetics (MDPI). 5(26): 1-12.

[16] Puntana, S., 2012, The knowledge management of sunpatong sticky rice conservationof local administration in Sunpatong District, Chiangmai Province. KU KPS National Conference, p. 2058-2065

[17] Division of rice research and development (Rice department), Rice knowledge bank; Kaow niaw San-pah-tawng, Available Source: https://www.ricethailand.go.th/rkb3/title-index.php-file=content.php&id=39.htm, April 5, 2023. (in Thai)

[18] Denrungruang, P., Suksabai, S. and Kolsuwan, S., 2007, Phytochemical Screening from Stem Barks of Some Lauraceae Plant, Research Report, Royal Forest department, Bangkok, 9-18 p. (in Thai)

[19] Chattheranun, S., Sabuyjai, W. and Niyomthai, S., 2013, Phytochemical screening and antioxidant activity of Clerodendrum disparifolium Leaves, KKU Science Journal. 41(3): 723-730.

[20] Phadungkit, M., Laowachirasuwan, P., Chomkhamsing, N., and Jantasri, V., 2016, Phytochemical screening, totalpPhenolic and flavonoid contents and free radical scavenging activity of Anaxagorea luzonensis extracts, The 12th Mahasarakham university research conference. 312-319.

[21] Krasaetep, J., Plainsirichai, M. and Nakornriab, M., 2018, GABA, Totoal phenolic contents and antioxidant activities of rice products, The 10th Science Research Conference, p. 88-96.

[22] Rungruang, R., Kokilakanishtha, O., Selamassakul, O., Kaisangsri, N., Kerdchoechuen, O., and Laohakunjit, N., 2020, Phytochemical compositions and biological activities of essential oil and crude extract of Sesuvium portulacastrum, KMUTT Research & Development Journal. 43(4): 441-456.

[23] Gan, R.Y., Chan, C.L., Yang, Q.Q., Li, H.B., Zhang, D., Ge, Y.Y., Gunaratne, A., Ge, J. and Corke, H., 9 - Bioactive compounds and beneficial functions of sprouted grains, Sprouted Grains Nutritional Value, Available Source: https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/B9780128115251000099, April 10, 2023. (in Thai)

Science32-N5-1.indd 54 29/10/2567 BE 14:57