รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์

ชื่อโครงการวิจัย

สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพต่อการส่งเสริมสุขภาพต้านความอ้วน ของข้าวกล้องงอกสายพันธุ์ท้องถิ่น

Bioactive compounds for health promotion against obesity of local species germinated brown rice

ผู้วิจัย ผศ.ดร. อโนชา ตั้งโพธิธรรม

ภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

โทร. 074-288241/42 โทร.สาร 074-446656; email: anocha.t@psu.ac.th

งบประมาณ ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555- 2556

กิติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณภาควิชาชีวเคมี คณะวิทยาศาสตร์และมหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ที่สนับสนุนข้าพเจ้าให้ได้รับทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2555- 2556 และให้ใช้สถานที่ทำการวิจัย

ผศ. ดร. อโนชา ตั้งโพธิธรรม
อาจารย์ประจำภาควิชาชีวเคมี
คณะวิทยาศาสตร์
มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

ABSTRACT

Germinated brown rice (GBR) is an innovative product produced by fermentation of brown rice for the right time. Nowadays various germinated rice products are used as popular health supplements in the hope they might prevent various diseases. There are also risks involved such as becoming overweight and obese and the production of free radicals in the body, that can be involved in inducing diabetes, hypertension and cancer. The GBR contains bioactive compounds such as vitamin C, vitamin E, GABA (γ- aminobutyric acid), phenolics, phytic acid and nutrients. However, there is a lack of scientific information if GBR can affect obesity. According to the theory, seed germination is the end of dormancy that allows seedlings to grow from the embryo at the nose tip of the rice seed. This changes the storage starch for use as an energy substrate and other substances that can produce benefits for the growth of seedlings, such as sugars, amino acids, fat, phenolics, the enzyme amylase for starch degradation, proteases for protein breakdown and other enzymes required for protein and DNA synthesis. Drying of the rice seed at an appropriate time stops the germination of seeds or returns it into a state of dormancy. This can induce an increase of the inhibitors required to stop the germination process such as amylase inhibitors. Various articles have reported that plant amylase inhibitors can inhibit human or mammal amylase activities that are secreted by the salivary glands and the pancreas. The inhibitions of both salivary and pancreatic amylases can result in the reduction of blood glucose by delaying carbohydrate digestion in the lumen. High levels of blood glucose normally lead to an increase of body weight *via* the change of excess glucose to triglyceride or fat.

This research aimed to study whether germinated locally grown brown rice could inhibit amylase activity. Four varieties of locally grown brown rice (BR): Niao Dam Bleag Khao (BK) and Niao Dang Lan Tan (L), Chao Lunk (CH) and Leb Nok Patani (NK) were obtained from Pattalung Province. The first two varieties were sticky rice and the rest were plain rice. Two hundred grams of each BR variety were soaked in water (1: 2 w/v) for 6 h under dark condition, then washed, and the clean soaked BR was incubated at 30°C and the GBR samples were taken at 12, 24, 36 and 48 h then dried at 40°C for 16 h to reduce the moisture content to about 10 %. The dried GBR of each variety was then extracted with 0.02 M phosphate buffer pH 6.9-0.15 M NaCl (1:5 w/v) and the % inhibition of amylase (%AI) was determined. The amount of the extract that caused 50% (IC50) inhibition of the amylase activity at 37°C for 30 min, was determined by using 0.2% starch to assay the left over enzyme activity according to Bernfeld (1955). Assays for compounds known to inhibit amylase activity including protein, sugar, α-tocopherol and phenolics, and their biochemical properties *i.e.* antioxidant activity were also determined. The types and amount of water soluble vitamins: B1, B2, B3, B6 and folic acid and minerals: K, P, Mg, Se and Zn, the nutrients that can influence glucose utilization for energy were also determined.

The experimental data revealed that germinated rice of the NK variety at 48 h was the best variety to select for development as a health supplement product. This was because of the three reasons. Firstly, this variety had the highest potential to inhibit amylase activity from saliva and pancreas. Its IC50 values were less than the others at 88.37 mg/mL for salivary amylase and 65.39 mg/mL for the pancreatic amylase. Secondly, along with the germination time the NK variety possessed antioxidant properties with a linear correlation between an increase of the %AI at 79.4% and the phenolic content at 80.4%. The percentage correlation of the antioxidant property and the phenolic content of other varieties were 57.5% for CH, 27.3% for BK and 81.9 % for L. GBR-NK at 48 h contained 118.06 mg/mL of phenolic and α-tocopherol 0.69 mg/100 g with 32.04% as tested by DPPH scavenging. Thirdly, GBR-NK at 48 h contained vitamin B2, the active nutrient that influenced glucose utilization at 0.7800 mg/100 g. In comparison with the increase of vitamins in other GBR varieties, the content of B2 in GBR-NK was very high. The content in mg/100 g of vitamins B2 in GBR-BK and GBR-L were increased a little from theirs BR valued at 0.1000 and 0.0400, but the content in GBR-CH was dropped down from its BR value. For the mineral content GBR-NK at 48 h contained an average value of Mg, Se and Zn in a similar range to the values at 0 h (BR-NK). But, for K and P at 48 h germination time there was a 10.72 and 97.70 mg/100 g reduction of both minerals from the initial values of 30.51 and 325.46 mg/100 g, respectively.

บทคัดย่อ

ข้าวกล้องงอก (germinated brown rice, GBR) เป็นผลิตภัณฑ์จากนวัตกรรมการบ่มหมักข้าวกล้องในเวลาพอเหมาะ ปัจจุบันผลิตภัณฑ์หลากรูปแบบของข้าวกล้องงอก กำลังได้รับความนิยมใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ เพื่อป้องกันการเกิดโรคต่างๆ ภาวะน้ำหนักเกิน โรคอ้วน และการมีอนุมูลอิสระสูงในร่างกายเป็นปัจจัยนำไปสู่ โรคเบาหวาน ความดันโลหิตสูง และ มะเร็ง ข้าวกล้องงอกมีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ (bioactive compound) เช่น วิตามินซี วิตามินอี GABA (γ- aminobutyric acid) ฟีนอลลิก (phenolics) กรดไฟติก (phytic acid) และ สารอาหาร อย่างไรก็ตามยังขาดข้อมูลวิทยาศาสตร์ ด้านผลของข้าวกล้องอกกับโรคอ้วน ตามทฤษฎีการงอก เมล็ดจะถูกกระตุ้นให้เปลี่ยนจากสภาวะพัก (dormancy) เป็นภาวะงอกหรือการเจริญของต้นอ่อนที่จมูกข้าว ทำให้มีการสลายแป้งสะสมในเมล็ดเป็นพลังงาน และ สารที่ใช้ในการเจริญของต้นอ่อน เช่น น้ำตาล กรดอะมิโน ไขมัน สารฟีนอลลิก เอนไซม์อะไมเลสเพื่อสลายแป้ง เอนไซม์โปรตีเอสเพื่อสลายโปรตีน เอนไซม์สร้างโปรตีน และดีเอ็นเอ การอบแห้งข้าวกล้องงอกในเวลาที่เหมาะสมมีผลหยุดการเจริญของเมล็ด หรือทำให้เมล็ดเข้าสู่ภาวะพักตัว(dormancy) กระบวนการนี้มีผลเหนี่ยวนำให้เกิดสารยับยั้งกิจกรรมต่างๆ ขณะเกิดการงอกของเมล็ด เช่น สารยับยั้งการทำงานเอนไซม์อะไมเลส รายงานวิจัยจำนวนมากรายงานว่า สารยับยั้งอะไมเลสจากพืช สามารถยับยั้งการทำงานของอะไมเลสในคน หรือ สัตว์เลี้ยงลูกด้วยนม ซึ่งหลั่งจากต่อมน้ำลาย และตับอ่อน การยับยั้งการทำงานเอนไซม์อะไมเลสทั้งสองแหล่งผลิต มีผลชะลอการย่อยคาร์โบไฮเดรตในลำไส้ ปริมาณกลูโคสที่มากเกินไปมีผลทำให้ร่างกายมีน้ำหนักเพิ่มขึ้นจากการเปลี่ยนกลูโคสเป็นไทรกลีเซอไรด์หรือไขมันเพิ่มขึ้น

โครงการวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาว่าข้าวกล้องงอกพันธุ์ท้องถิ่นสามารถยับยั้งกิจกรรมเอนไซม์อะไมเลส ได้หรือไม่ ข้าวกล้อง (Brown rice, BR) ท้องถิ่น 4 สายพันธุ์: เหนียวดำเปลือกขาว (BK) เหนียวแดงหลันตัน (L) ช่อลุง (CH) และ เล็บนกปัตตานี (NK) ได้จากจังหวัดพัทลุง ข้าวกล้อง 2 สายพันธุ์แรกเป็นข้าวเหนียว และอีก 2 สายพันธุ์ที่เหลือเป็นข้าวเจ้า นำ BR แต่ละชนิดจำนวน 200 กรัม แช่ในน้ำ (1: 2 w/v) นาน 6 ชั่วโมงในที่มืด แล้วล้างสะอาด บ่ม BR ที่ผ่านการแช่ที่ 30 °ซ เก็บตัวอย่าง GBR ที่เวลา 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง แล้วอบแห้งที่ 40° ซ จนได้ค่าน้ำหนักคงที่ ที่ค่าความชื้น 10% สกัดข้าวกล้องงอก (GBR) แต่ละพันธุ์ด้วยฟอสเฟต บัฟเฟอร์พีเอช 6.9 -0.15 M NaCl (1:5 นน./ปริมาตร) และหาร้อยละการยับยั้งอะไมเลส (%AI)และ ปริมาณสารสกัดที่ยับยั้งอะไมเลสร้อยละ 50 (IC50) ด้วย 0.2% น้ำแป้ง เพื่อตรวจหากิจกรรมอะไมเลสที่เหลือตามวิธี Berndfeld (1955) หาชนิดของสารออกฤทธิ์ลดกิจกรรมอะไมเลสได้แก่ โปรตีน น้ำตาล α-โทโคโฟรอล และฟีนอลลิก และคุณสมบัติทางชีวเคมีด้านต้านอนุมูลอิสระ หาชนิดและปริมาณสารออกฤทธิ์เชิงโภชนาการกลุ่มวิตามินละลายดีในน้ำ (บี1 บี2 บี3 บี6 และกรดโฟลิก) และเกลือแร่ (K, P, Mg, Se, Zn) ที่มีผลเร่งกลไกการสลายกลูโคสเพื่อพลังงาน

ข้อมูลการทดลอง แสดงว่า ข้าวกล้องงอกพันธุ์ NK ที่ 48 ชม. เป็นพันธุ์ข้าวที่ควรได้รับการคัดเลือกเพื่อพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เสริมสุขภาพ เนื่องจาก 3 เหตุผล ข้อแรกข้าวพันธุ์นี้ มีศักยภาพสูงในการยับยั้งอะไมเลสจากน้ำลายและจากตับอ่อน โดยมีค่า IC50 น้อยกว่าพันธุ์อื่นคือ 88.37 mg/mL สำหรับอะไมเลสจากน้ำลาย และ 65.39 mg/mL สำหรับอะไมเลสจากตับอ่อน ข้อสอง ตลอดเวลาการงอกคุณสมบัติบัติการต้านออกซิเดชั่นของพันธุ์ NK สัมพันธ์เชิงเส้นกับการเพิ่มของ % AI ที่ 79.4% และปริมาณฟีนอลลิกที่ 80.4% เปอร์เซ็นต์ความสัมพันธ์ของคุณสมบัติบัติการต้านออกซิเดชั่น และปริมาณฟีนอลลิกของพันธุ์อื่นคือ 57.5%

สำหรับ CH, 27.3% สำหรับ BK และ 81.9% สำหรับ L GBR-NK ที่ 48 ชม. มีปริมาณฟีนอลลิก 118.06 mg/mL และ α-tocopherol 0.69 mg/100 g การต้านออกซิเดชั่น 32.04% เมื่อทดสอบด้วย DPPH scavenging ข้อสามGBR-NK ที่ 48 ชม. มีปริมาณวิตามิน B2 ซึ่งเป็นสารอาหารที่มีผลต่อการใช้กลูโคส เท่ากับ 0.7800 mg/100 g เมื่อเทียบกับการเพิ่มของวิตามินอื่น การเพิ่มขึ้นของ B2 ใน GBR-NK ถือว่าสูงมาก ปริมาณ mg/100 g ของวิตามิน B2 ใน GBR-BK และ GBR-L เพิ่มขึ้นเล็กน้อยจากค่าใน BR คือ 0.1000 และ 0.0400 แต่ปริมาณใน GBR-CH กลับลดลงจากค่าของ BR สำหรับปริมาณเกลือแร่ GBR-NK ที่ 48 ชม. มีค่าเฉลี่ย ของ Mg, Se และ Zn ใกล้เคียงกับค่าที่ 0 ชม. (BR-NK) แต่ K และ P ที่ระยะเวลางอก 48 ชม.ปริมาณเกลือแร่ทั้งสองลดลง 10.72 และ 97.70 mg/100 จากค่าเริ่มต้น ที่ 30.51 และ 325.46 mg/100 ตามลำดับ