

บทคัดย่อ

หลักการและวัตถุประสงค์: การฉายรังสีเป็นวิธีที่สามารถทำอาหารให้ปลอดภัยเชื้อจุลินทรีย์และถนอมอาหารได้ มีรายงานว่า การฉายรังสีช่วยเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพให้กับอาหารอีกด้วย การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลรวม และปริมาณสารแอนโทไซยานินของสารสกัดชั่งข้าวโพดสีม่วง

วิธีการศึกษา: นำสารสกัดชั่งข้าวโพดสีม่วงไปฉายรังสีแกมมาปริมาณ 0, 1, 2 และ 4 กิโลเกรย์ จากนั้นตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดชั่งข้าวโพดสีม่วงด้วยวิธี 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay และ Ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay และตรวจวัดปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมและสารประกอบฟีนอลรวมด้วยวิธี pH differential method และ folin ciocalteu ตามลำดับ

ผลการศึกษา: ผลการศึกษาพบว่ารังสีแกมมาทำให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมในสารสกัดชั่งข้าวโพดสีม่วงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดชั่งข้าวโพดสีม่วงที่ได้รับรังสีแกมมาปริมาณ 4 กิโลเกรย์มีค่าการลดลงที่น้อยที่สุด

สรุป: ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าควรหลีกเลี่ยงการทำปฏิกิริยาของอาหารที่มีส่วนประกอบของสารสกัดชั่งข้าวโพดสีม่วงด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 1-4 กิโลเกรย์ หรือศึกษาหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อสารสกัดชั่งข้าวโพดสีม่วง

คำสำคัญ: สารสกัดชั่งข้าวโพดสีม่วง การฉายรังสีแกมมา ฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลรวม สารแอนโทไซยานิน

บทนำ

แอนโทไซยานินเป็นสารพฤษเคมีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง จึงมีการนำสารแอนโทไซยานินมาใช้ในการป้องกันโรคที่เกิดอันเนื่องมาจากสารอนุมูลอิสระสูง (oxidative stress related diseases) หรือยับยั้งการเกิด

ผลของรังสีแกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลรวมและสารแอนโทไซยานินรวมของสารสกัดชั่งข้าวโพดสีม่วง

วรณันท์ คีรีสัตยกุล,
จินตภา แพทย์โอสถ,
ญานิกา โพธิ์งาม,
กัญยาวิธ พยุงกุลอนันต์,
กรวดิ พรหมสุภาพ,
นงศันุช แจ้งสว่าง

วรณันท์ คีรีสัตยกุล¹, จินตภา แพทย์โอสถ², ญานิกา โพธิ์งาม²,
กัญยาวิธ พยุงกุลอนันต์¹, กรวดิ พรหมสุภาพ¹, นงศันุช แจ้งสว่าง³
¹สาขาวิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
²หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชารังสีเทคนิค
คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
³สถาบันเทคโนโลยีชีวเคมีแห่งชาติ (องค์การมหาชน)

ผู้รับผิดชอบบทความ:
วรณันท์ คีรีสัตยกุล

สาขาวิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
123 ม.16 ถ.มิตรภาพ ต.โนนเมือง อ.เมือง จ.ขอนแก่น 40001
เบอร์โทรศัพท์: 043-363178
Email: woraki@kku.ac.th

สารอนุมูลอิสระในร่างกายจากภาวะโรคต่างๆ มากมาย เช่น ป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากเบาหวาน¹ ป้องกันและชะลอการเกิดโรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด² ชะลอการเกิดภาวะความจำบกพร่องในหนูทดลองจำลองภาวะความจำเสื่อม³ จากคุณสมบัติดังกล่าวนี้ทำให้เริ่มมีการนำผักผลไม้ที่มีสารแอนโทไซยานินสูงมาพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ ซึ่งข้าวโพดสีม่วงเป็นวัสดุเหลือใช้ที่มีสารแอนโทไซยานินสูง⁴ มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านเอนไซม์อะซิetylโคลิเนสเตอเรส และมีฤทธิ์ในการเพิ่มความจำได้ดีในหนูทดลอง⁵ มีรายงานว่าสารแอนโทไซยานินที่พบในข้าวโพดสีม่วงยังมีฤทธิ์ป้องกันภาวะอ้วนและลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อีกด้วย^{6,7} นอกจากนี้ยังมีรายงานพบว่าสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด, โรคอ้วน, โรคเบาหวาน และโรคเรื้อรังอื่นๆ^{8,9} โดยปัจจุบันได้มีการนำซึ่งข้าวโพดมาทำอาหารเสริมและผลิตภัณฑ์ในรูปแบบหลากหลาย อย่างไรก็ตามการนำสารสกัดซึ่งข้าวโพดมาพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพนั้นต้องคำนึงถึงการปลอดภัยของผู้บริโภค การฉายรังสีในอาหารเพื่อทำการปลอดเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรคเป็นวิธีการหนึ่งในการปลอดเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพได้ ซึ่งรังสีที่ใช้ในการฉายรังสีอาหารมีหลายชนิด ได้แก่ รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ และลำแสงอิเล็กตรอน¹⁰ จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ารังสีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชหรืออาหาร หลายการศึกษาแสดงให้เห็นถึงผลของรังสีแกมมาในการเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ สารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลรวม¹¹⁻¹⁵ ดังนั้นการฉายรังสีจึงสามารถช่วยทั้งเรื่องปลอดเชื้อและเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ อย่างไรก็ตามมีรายงานวิจัยบางส่วนว่าพบว่าการฉายรังสีมีผลทำให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินลดลงได้ด้วย¹⁶ แต่ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับผลของการฉายรังสีแกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงที่กล่าวมาข้างต้นมาก่อน ดังนั้นในการศึกษานี้ผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของรังสี

แกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลรวม และสารแอนโทไซยานินของสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วง

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงและการฉายรังสีสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วง

การศึกษานี้ใช้วิธีการสกัดด้วยการต้มและทำแห้งสารสกัดด้วยวิธีแบบพ่นฝอย โดยนำซึ่งข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง ระยะแห้ง มาอบให้แห้งด้วยเตาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาบดให้ละเอียด และสกัดด้วยการต้มกับน้ำเปล่าด้วยอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากกรองน้ำสารสกัดด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง นำสารละลายสารสกัดเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (mini spray dryer BUCHI Model: B-290) ได้ผงสารสกัดคิดผลผลิตร้อยละ (percent yield) เท่ากับร้อยละ 3 จากนั้นแบ่งบรรจุสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงใส่หลอดทดลองพลาสติกชนิดมีฝาปิดเกลียวจำแนกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม ไม่ได้รับการฉายรังสี หรือกลุ่ม 0 กิโลเกรย์ และกลุ่มทดลอง ซึ่งได้รับการฉายรังสีปริมาณ 1, 2 และ 4 กิโลเกรย์¹⁵ นำส่งไปฉายรังสีแกมมา ณ ห้องปฏิบัติการวัดรังสีระดับสูง (HDL) ศูนย์ฉายรังสีสถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) อ.องครักษ์ จ.นครนายก ด้วยรถยนต์ขนส่งเอกชนควบคุมอุณหภูมิ ด้วยปริมาณตามที่กำหนด ในระหว่างรอการฉายรังสีและรอส่งกลับมาวัดประเมิน สารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงทุกหลอดจะถูกเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อคงสภาพของสารสกัดไว้

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม (Total phenolic compound; TPC)

วิเคราะห์ปริมาณสาร TPC ในสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงด้วยวิธี Folin Ciocalteu¹⁷ โดยหยอดสารสกัดปริมาตร 100 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลองแล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 7900 ไมโครลิตร และสารละลาย 50% (v/v) Folin-Ciocalteu phenol ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง นำไปเขย่าให้เข้ากันทิ้งไว้ 8 นาทีที่

อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมสารละลาย 20% โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate) ปริมาตร 1500 ไมโครลิตรลงไป แล้วเขย่าให้เข้ากัน เก็บไว้ในห้องมืดที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 ชั่วโมง แล้วนำมาวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 765 nm ในการทดลองนี้ใช้สาร Gallic acid ความเข้มข้นระหว่าง 0-1000 มก./มล. เป็นสารมาตรฐานและนำมาสร้างกราฟมาตรฐานสำหรับคำนวณปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในสารสกัด โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดซึ่งข้าวโพดม่วงที่วัดได้มาคำนวณปริมาณสาร TPC จากสมการของกราฟมาตรฐาน และค่าที่ได้แสดงออกมาเป็นหน่วย mg/ml GAE/mg extract

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน (Total anthocyanin content; TAC)

วิเคราะห์หาปริมาณ TAC โดยวิธี pH differential method ดัดแปลงจากวิธีของ Giusti & Wrolstad¹⁸ โดยหยอดสารสกัดปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จำนวน 2 ชุด หลอดทดลองชุดแรกหยอดสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride) ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ pH 1.0 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร หลอดทดลองชุดที่ 2 หยอดสารละลายโซเดียมอะซิเตท (Sodium acetate) ความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ pH 4.5 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร เขย่าหลอดทดลองให้สารละลายเข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที นำมาอ่านค่าการดูดกลืนแสง (absorbance: A) ด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 520 nm และ 700 nm นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณปริมาณสารแอนโทไซยานินจากสูตร

$$TAC = (A \times MW \times DF \times 103) / (\epsilon \times l)$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) = $(A_{510nm} - A_{700nm})_{pH1.0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH4.5}$; MW คือ มวลโมเลกุลของ cyanidin-3-glucoside (C3G) = 449.2 g/mol; DF คือ dilution factor ของตัวอย่าง; ϵ คือ Molar absorptivity = $26,900 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ และ l คือ ความกว้างของ Cuvette = 1 cm โดยค่า TAC ที่ได้แสดงออกมาเป็นหน่วย mg/ml cyanidine-3-glucoside equivalent/mg extract (mg/ml CGE/mg extract)

4. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

4.1 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay

DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) radical scavenging assay เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่นิยมใช้ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง สาร DPPH เป็นสารอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรนิยมนำมาใช้ทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วง โดยหยอดสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ (ความเข้มข้น 5-1000 ไมโครกรัม/มล.) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นหยอดสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1800 ไมโครลิตรลงไป เขย่าสารให้เข้ากันแล้วนำไปป่มไว้ 30 นาทีในห้องมืด จากนั้นนำมาวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 nm นำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมาคำนวณความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%inhibition) ด้วยสูตร¹⁷

$$\% \text{Inhibition of DPPH} = [(A_{\text{control}} - A_{\text{extract}}) / A_{\text{control}}] \times 100$$

โดย A control คือค่าการดูดกลืนแสงของเมทานอล 200 ไมโครลิตรและสารละลาย DPPH 1,800 ไมโครลิตร A extract คือค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น จากนั้นนำค่า %inhibition ที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานและคำนวณค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่ง (half maximal inhibitory concentration ; IC_{50}) จากกราฟดังกล่าว และแสดงออกมาเป็นหน่วย $\mu\text{g/ml}$ โดยที่ค่า IC_{50} น้อยแสดงว่าพืชนั้นมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระที่ดี

4.2 การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay

เตรียมสารละลาย FRAP ซึ่งประกอบด้วยสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ (Acetate buffer) pH 3.6 ความเข้มข้น 300 มิลลิโมลาร์ สารละลาย 2,4,6-tripyridyl-striazine (TPTZ) ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ ในกรด

ไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 40 มิลลิโมลาร์ และ สารละลายเฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1:1 วางไว้ในอ่างน้ำอุ่น 37 องศาเซลเซียส คนให้ละลายจนได้สารละลายสีน้ำตาลใส นำมาหยอดใส่หลอดทดลองปริมาตร 1900 ไมโครลิตร เติมสารสกัดปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงไป เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปป้อนในอ่างน้ำอุ่น 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที นำมาวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 593 nm ในการทดลองนี้ใช้สาร L-ascorbic acid ความเข้มข้น 5-1000 µg/ml มาสร้างกราฟมาตรฐานเพื่อคำนวณค่า FRAP activity ของสารสกัดแต่ละชนิด และนำค่าการดูดกลืนแสงที่อ่านค่าได้มาเทียบจากกราฟมาตรฐาน ค่าที่ได้แสดงออกมาเป็นหน่วย µg/ml Ascorbic acid equivalent/mg extract (µg/ml AAE)¹⁹

5. การวิเคราะห์ข้อมูลและสถิติที่ใช้ในงานวิจัย

วิเคราะห์ข้อมูลด้วยโปรแกรมวิเคราะห์ข้อมูล SPSS version 21 แสดงข้อมูลเป็นค่า Mean ± SD วิเคราะห์ความแตกต่างของค่าต่างๆ ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่ม

ฉายรังสีที่ขนาดต่างๆ ด้วยสถิติ One-way ANOVA และ Tukey post hoc test

ผลการศึกษา

1. ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสาร TPC และสาร TAC

ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสาร TPC และสาร TAC แสดงในตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณสาร TPC ของสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงในกลุ่มควบคุมมีค่า 128.07±0.27 µg/ml GAE/mg extract แต่เมื่อฉายรังสีแกมมาปริมาณ 1-4 กิโลเกรย์ ส่งผลให้ปริมาณสาร TPC มีค่าลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value<0.001) โดยเมื่อทดสอบ Post hoc test พบว่าการฉายรังสีทุกขนาดทำให้ปริมาณสาร TPC ลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p -value<0.05) และการฉายรังสีปริมาณ 4 กิโลเกรย์ มีค่าการลดลงน้อยที่สุด และขนาด 2 กิโลเกรย์มีค่าการลดลงที่สูงที่สุด ในขณะที่ปริมาณสาร TAC มีการลดลงในลักษณะเช่นเดียวกับปริมาณสาร TPC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value<0.001) เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 1 ปริมาณสาร TAC ปริมาณสาร TPC ของสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วง

ปริมาณรังสีที่ฉาย	ปริมาณสาร TAC	ปริมาณสาร TPC
	mg/ml CGE/mg extract	µg/ml GAE/mg extract
กลุ่มควบคุม (0 กิโลเกรย์)	17.885±0.033 ^a	128.07±0.27 ^a
กลุ่มฉายรังสี 1 กิโลเกรย์	12.808±0.010 ^c	88.07±0.27 ^c
กลุ่มฉายรังสี 2 กิโลเกรย์	12.457±0.010 ^d	80.93±0.48 ^d
กลุ่มฉายรังสี 4 กิโลเกรย์	13.509±0.063 ^b	93.79±0.27 ^b
p-value	<0.001	<0.001

a, b, c, d คือค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่ม p -value<0.05 ทดสอบด้วย Tukey post hoc test

2. ผลของรังสีแกมมาต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay แสดงในตารางที่ 2 จากผลการทดลองพบว่าค่า IC₅₀ ของสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value<0.001)

ในกลุ่มการทดลอง โดยสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงกลุ่มควบคุม (0 กิโลเกรย์) มีค่า IC₅₀ สูงที่สุด (160.88±0.912 µg/ml extract) รองลงมาคือกลุ่มที่ฉายรังสีปริมาณ 4 กิโลเกรย์ ซึ่งไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับกลุ่มควบคุม (p -value>0.05) ในขณะที่การฉายรังสีปริมาณ 1 และ 2 กิโลเกรย์ (209.02±1.54 และ 198.17±4.379 µg/ml extract) ทำให้สารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงมีค่า IC₅₀ ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบ

กับกลุ่มควบคุม (p -value<0.05) ส่วนผลการวิเคราะห์ด้วย FRAP assay พบว่าทำให้ค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ของสารสกัดขี้ข้าวโพดสีม่วงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p -value<0.001) และผล

จากการวิเคราะห์ Post hoc test พบว่าการฉายรังสีทำให้ค่าต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p -value<0.05) โดยที่กลุ่ม 4 กิโลเกรย์ มีค่าลดลงน้อยที่สุด

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดขี้ข้าวโพดสีม่วง ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay

ปริมาณรังสีที่ฉาย	DPPH scavenging radical activity	FRAP
	(IC50 μ g/ml extract)	(μ g/ml AAE)
กลุ่มควบคุม 0 กิโลเกรย์	160.88 $\pm$ 0.912 ^a	160.10 $\pm$ 0.78 ^a
กลุ่มฉายรังสี 1 กิโลเกรย์	209.02 $\pm$ 1.542 ^b	120.45 $\pm$ 0.77 ^{b,c}
กลุ่มฉายรังสี 2 กิโลเกรย์	198.17 $\pm$ 4.379 ^b	115.33 $\pm$ 0.56 ^c
กลุ่มฉายรังสี 4 กิโลเกรย์	166.41 $\pm$ 1.410 ^a	124.39 $\pm$ 0.55 ^b
p-value	<0.001	<0.001

a, b, c, d คือค่าความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในแต่ละกลุ่ม p -value<0.05 ทดสอบด้วย Tukey post hoc test

อภิปรายผลการศึกษา

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 1-4 กิโลเกรย์ แก่สารสกัดขี้ข้าวโพดสีม่วงส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสาร TPC และสาร TAC ลดลง โดยสารสกัดขี้ข้าวโพดสีม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณ 4 kGy มีค่าการลดลงที่น้อยที่สุด มีรายงานว่าข้าวโพดสีม่วงมีสารแอนโทไซยานินหลายชนิด ได้แก่ cyanidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside²⁰⁻²² และสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ อีก 8 ชนิด ได้แก่ kaempferol, morin, naringenin, ferulic acid, caffeic acid, rutin, quercetin และ chlorogenic acid ตามลำดับ²³ ซึ่งมีการศึกษาเรื่องผลของรังสีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณสารแอนโทไซยานินในพืชหลายชนิดก่อนหน้านี้ซึ่งให้ผลการศึกษาที่แตกต่างกัน ทั้งที่สามารถเพิ่มและลดปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณสารแอนโทไซยานิน การศึกษาของ Akbari และคณะ¹⁵ พบว่าการฉายรังสีปริมาณ 1, 2, และ 4 กิโลเกรย์ จะทำให้ถั่วพิตาชิโอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณสารแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น การนำข้าวที่มีสีม่วงฉายรังสีที่ปริมาณ 0.25-1.00 กิโลเกรย์ ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น²⁴ นอกจากนี้

นี้ยังมีรายงานผลการศึกษาของ Taheri และคณะ²⁵ ที่แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีปริมาณ 10, 15 และ 20 กิโลเกรย์ให้แก่ *C. alismatifolia* สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมได้อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่แสดงผลที่แตกต่าง โดยพบว่ามีการศึกษาของ Kavitha และคณะ²⁶ การศึกษาของ Schindler และคณะ²⁷ และ การศึกษาของ Hirashima และคณะ²⁸ ที่แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีแกมมาทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในพืชที่ศึกษาลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น ซึ่งพบว่าการฉายรังสีสามารถทำให้เกิดการแตกหักของพันธะของโมเลกุลขนาดใหญ่รวมถึงสารประกอบฟีนอลได้โดยตรง²⁹ จึงทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลในสารสกัดพืชหรืออาหารที่ได้รับรังสีได้ นอกจากนี้ยังมีการศึกษาของ Hasany และ Rauf³⁰ และ Marfak และคณะ³¹ แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีแกมมาทำให้ปริมาณสาร morin และ kaempferol ซึ่งเป็นสารฟีนอลหลักของสารสกัดข้าวโพดสีม่วงลดลง ดังนั้นในการศึกษานี้จึงพบการลดลงของสารประกอบฟีนอลรวมที่ค่อนข้างสูง น่าจะเป็นผลมาจากการลดลงของปริมาณสารประกอบหลักทั้ง 2 ตัวนี้ ในส่วนของปริมาณสารแอนโทไซยานินนั้น มีการรายงานการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่ารังสีแกมมาทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชนิดของ anthocyanin ในข้าวสีม่วงจาก cyanidine-

3-glucoside เป็น peonidine-3-O-glucoside³² และทำให้ปริมาณสารแอนโทไซยานิน cyanidin-3-glucoside และ cyanidin-3-rutinoside ในผลปาล์มสีม่วงลดลงเมื่อได้รับการฉายรังสีสูงขึ้น³³ ซึ่งผลจากการวิเคราะห์ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินที่ลดลงในการศึกษานี้จะมีความสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นนี้ ดังนั้นผลการศึกษาของแต่ละการศึกษาที่เห็นการเปลี่ยนแปลงในทิศทางที่แตกต่างกันน่าจะเป็นผลมาจากชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลและสารแอนโทไซยานินของพืชแต่ละชนิดที่ตอบสนองต่อรังสีแกมมาแตกต่างกัน

มีรายงานการศึกษาที่กล่าวถึงบทบาทของสารประกอบฟีนอลในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระโดยการไฮโดรเจนอะตอมให้แก่สารอนุมูลอิสระหรือรับอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจากสารอนุมูลอิสระ³⁴ ซึ่งระดับความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลขึ้นอยู่กับจำนวนของหมู่ OH และพันธะคู่ในวงแหวนอะโรมาติก (aromatic ring) ของสารฟีนอลนั้นๆ³⁵ จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay พบความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและสารแอนโทไซยานินของสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงที่ฉายรังสีแต่ละปริมาณ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่กล่าวไว้ อย่างไรก็ตามค่า IC₅₀ ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสี 4 กิโลเกรย์ และค่า FRAP activity ของกลุ่มฉายรังสี 1 และ 4 กิโลเกรย์ นั้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น่าจะเป็นผลมาจากสารกลุ่มอื่นๆ กลุ่มของสารที่เรียกว่าสารประกอบที่ไม่ใช่ฟีนอล (Non-phenolic compounds) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับสารกลุ่มสารประกอบฟีนอล³⁶

สรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 1-4 กิโลเกรย์ แก่สารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม และสารแอนโทไซยานินลดลง โดยสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณ 4 กิโลเกรย์มีค่าการ

ลดลงที่น้อยที่สุด ดังนั้นควรพิจารณาการทำปฏิกิริยาอาหารที่มีส่วนประกอบของสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงด้วยวิธีการอื่น หรือศึกษาผลของรังสีปริมาณที่สูงกว่า 4 กิโลเกรย์ต่อสารสกัดซึ่งข้าวโพดสีม่วงเพิ่มเติมเพื่อหาปริมาณรังสีที่เหมาะสม

กิตติกรรมประกาศ

ทางผู้วิจัยขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. คุณเดช สุริหาร สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ซึ่งข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงสำหรับใช้ในการศึกษาครั้งนี้ และขอขอบคุณศาสตราจารย์ ดร.จินตนาภรณ์ วัฒนธร และเจ้าหน้าที่สถาบันวิจัยเพื่อพัฒนาสมรรถนะมนุษย์และการเสริมสร้างสุขภาพ ที่เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์สำหรับการทำวิจัยในครั้งนี้

บรรณานุกรม

1. Li J, Lim SS, Lee JY, Kim JK, Kang SW, Kim JL, Kang YH. Purple corn anthocyanins dampened high-glucose-induced mesangial fibrosis and inflammation: possible renoprotective role in diabetic nephropathy. *J Nutr Biochem* 2012;23:320-31. doi: 10.1016/j.jnutbio.2010.12.008.
2. Fuhrman B, Aviram M. Flavonoids protect LDL from oxidation and attenuate atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2001;12:41-8. doi: 10.1097/00041433-200102000-00008
3. Pannangrong W, Wattanathorn J, Muchimapura S, Tiamkao S, Tong-Un T. Purple rice berry is neuroprotective and enhances cognition in a rat model of Alzheimer's disease. *J Med Food* 2011;14:688-94. doi: 10.1089/jmf.2010.1312
4. Muñoz-Espada AC, Wood KV, Bordelon B, Watkins BA. Anthocyanin quantification and radical scavenging capacity of Concord, Norton, and Marechal Foch grapes and wines. *J Agric Food Chem* 2004;52:6779-86. doi: 10.1021/jf040087y
5. Wattanathorn J, Kirisattayakul W, Surihar B, Lertrat K. Functional drink containing the extracts of Purple Corn Cob and Pandan Leaves, the novel cognitive enhancer, increases spatial memory and hippocampal neuron density through the improvement of extracellular signal regulated protein kinase expression, cholinergic function, and oxidative status in ovariectomized rats. *Rejuvenation Res* 2018;21:431-441. doi: 10.1089/rej.2017.2009

6. Sancho RAS and Pastore GM. Evaluation of the effects of anthocyanins in type 2 diabetes. *Food Research International* 2012;46:378-386.
7. Tsuda T, Horio F, Uchida K, Aoki H, Osawa T. Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *J Nutr* 2003;133:2125-30.
8. Konczak I, Zhang W. Anthocyanins-more than nature's Colours. *J Biomed Biotechnol* 2004;239-40. <https://doi.org/10.1155/S1110724304407013>
9. He J, Giusti MM. Anthocyanins: natural colorants with health-promoting properties. *Annu Rev Food Sci Technol* 2010;1:163-87. doi: 10.1146/annurev.food.080708.100754
10. Joseph B. Introduction: Food irradiation moving on. In: Fan X and Sommers CH, (Eds), *Food Irradiation Research and Technology*. 2nd edition. Oxford: Blackwell Publishing and the Institute of Food Technologists; 2013. pp. 1-8.
11. Pérez MB, Calderon NL, Croci CA. Radiation-induced enhancement of antioxidant activity in extracts of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.). *Food Chem* 2007;104:585-592.
12. Alothman M, Bhat R, Karim AA. Effects of radiation processing on phytochemicals and antioxidants in plant produce. *Trends Food Sci. Technol* 2009;20:201-12.
13. Ben Salem I, Ouesleti S, Khammassi MA, Boulila A, Mabrouk Y. Effect of ionizing radiation on the microbiological safety and phytochemical properties of cooked *Malva sylvestris* L. *Biomed Res. Int* 2018; 2730713. doi: 10.1155/2018/2730713
14. Pinela J, Barros L, Antonio AL, Carvalho AM, Oliveira MB, Ferreira IC. Quality control of Gamma irradiated Dwarf Mallow (*Malva neglecta* Wallr.) Based on color, organic acids, total phenolics and antioxidant parameters. *Molecules* 2016;21:467. doi: 10.3390/molecules21040467.
15. Akbari M, Farajpour M, Aalifar M, Sadat Hosseini M. Gamma irradiation affects the total phenol, anthocyanin and antioxidant properties in three different persian pistachio nuts. *Nat Prod Res* 2018;32:322-6. doi: 10.1080/14786419.2017.1346647.
16. Ayed N, Yu HL, Lacroix M. Improvement of anthocyanin yield and shelf-life extension of grape pomace by gamma irradiation. *Food Res. Int.* 1999;32:539-543.
17. สุชาดา มานอก, ปวีณา ลิ้มเจริญ. การวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH, ABTS และ FRAP และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรรอบในตำรับยาหอมเทพจิตร. *ก้าวหน้าโลกวิทยาศาสตร์* 2558;15:12-2.
18. Giusti MM, Wrolstad RE. Characterization and measurement of anthocyanins by UV-visible spectroscopy. In: Giusti, MM and Wrolstad RE, Eds., *Current Protocols in Food Analytical Chemistry*, John Wiley and Sons, Inc., Hoboken 2001. F1.2.1.-F1.2.13.
19. Kirisattayakul W, Wattanathorn J, Iamsaard S, Jittiwat J, Suriham B, Lertrat K. Neuroprotective and memory-enhancing effect of the combined extract of purple waxy corn cob and pandan in ovariectomized rats. *Oxid Med Cell Longev* 2017;5187102. doi: 10.1155/2017/5187102.
20. Pedreschi R, Cisneros-Zevallos L. Phenolic profiles of Andean purple corn (*Zea mays* L.). *Food Chem* 2007;100: 956-63.
21. Pascual-Teresa S, Celestin SB, Julián RG. LC-MS analysis of anthocyanins from purple corn cob. *J. Sci. Food Agric* 2002;82:1003-6.
22. Yang Z, Chen Z, Yuan S, Zhai W, Piao X, Piao X. Extraction and identification of anthocyanin from purple corn (*Zea mays* L.). *Int. J. Food Sci. Technol* 2009;44:2485-92. doi: 10.1111/j.1365-2621.2009.02045.x.
23. Ramos-Escudero F, Muñoz AM, Alvarado-Ortiz C, Alvarado Á, Yáñez JA. Purple corn (*Zea mays* L.) phenolic compounds profile and its assessment as an agent against oxidative stress in isolated mouse organs. *J Med Food* 2012;15:206-15. doi: 10.1089/jmf.2010.0342.
24. Singh KS, Saxena S, Sinam Y, Gautam S, Devi GA. Effect of Gamma radiation processing on the quality characteristics of Anthocyanin rich ethnic rice cultivars. *Applied Food Research* 2022;2:100081. doi:10.1016/j.afres.2022.100081.
25. Taheri S, Abdullah TL, Karimi E, Oskoueian E, Ebrahimi M. Antioxidant capacities and total phenolic contents enhancement with acute gamma irradiation in *Curcuma alismatifolia* (Zingiberaceae) leaves. *Int J Mol Sci* 2014;15:13077-90. doi: 10.3390/ijms150713077.
26. Kavitha C, Kuna A, Supraja T, Sagar SB, Padmavathi TV, Prabhakar N. Effect of gamma irradiation on antioxidant properties of ber (*Zizyphus mauritiana*) fruit. *J. Food Sci. Technol* 2015;52:3123-8. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1359-x>
27. Schindler M, Solar S, Sontag G. Phenolic compounds in tomatoes. Natural variations and effect of gamma-irradiation. *Eur. Food Res. Technol* 2005;221:439-45. doi: 10.1007/s00217-005-1198-0.
28. Hirashima FK, Fabbri ADT, Sagretti JMA, Nunes TCF, Sabato SF, Galvao NS, et al. Influence of gamma irradiation on phenolic compounds of minimally processed baby carrots. *INAC 2013: International nuclear atlantic conference, Brazil.*

29. Kempner ES. Direct effects of ionizing radiation on macromolecules. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics* 2011;49:827-31. doi: 10.1002/polb.22250
30. Hasany SM, Rauf MA. (1987). Optical and gamma irradiation studies of morin in ethanol. *J. Radioanal. Nucl. Chem.* 1987;116:159-68. doi: 10.1007/BF02037219
31. Marfak A, Trouillas P, Allais DP, Champavier Y, Calliste CA, Duroux JL. Radiolysis of kaempferol in water/methanol mixtures. Evaluation of antioxidant activity of kaempferol and products formed. *J Agric Food Chem* 2003;51:1270-7. doi: 10.1021/jf020836g.
32. Suryanti V, Riyanto R, Suharyana S, Sutarno, Saputra O. Antioxidant activity and compound constituents of gamma-irradiated black rice (*Oryza sativa* L.) var. Cempo Ireng indigenous of Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity* 2020;21:4205-12. doi: 10.13057/biodiv/d210935.
33. Rocha C, Silva E, Stringheta P, Paula D, Fernandes S, Ribeiro-Pinto M, et al. Gamma radiation and pasteurization on anthocyanin stability and antioxidant capacity of jussara pulp (*Euterpe edulis*) during storage. *Ciência Rural* 2023; 53:e20210912. Doi:10.1590/0103-8478cr20210912.
34. Nimse SB, Pal D. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances* 2015;5:27986-8006. Doi: 10.1039/C4RA13315C.
35. Seyoum A, Asres K, El-Fiky FK. Structure-radical scavenging activity relationships of flavonoids. *Phytochemistry* 2006; 67:2058-70. doi: 10.1016/j.phytochem.2006.07.002
36. el-Sayed MM, Abdel-Hameed E, Ahmed WS, el-Wakil EA. Non-phenolic antioxidant compounds from *Buddleja asiatica*. *Z. Naturforsch., C, J. Biosci* 2008;63:483-91. doi: 10.1515/znc-2008-7-803