

รัสรินทร์ นัศรทองพิศุทธิ : องค์ประกอบ ความเสถียร และฤทธิ์ทางชีวภาพของ แอนโทไซยานินและสารประกอบฟีนอลิกจากข้าวสีม่วงของไทย (COMPOSITION, STABILITY AND BIOACTIVITY OF ANTHOCYANINS AND PHENOLIC COMPOUNDS FROM THAI DARK PURPLE RICE) อาจารย์ที่ปรึกษา : รองศาสตราจารย์ ดร.จิรวัดณ์ ขงสวัสดิ์กุล, 156 หน้า.

วัตถุประสงค์ของการศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เพื่อศึกษาระบบนิเวศของของสารแอนโทไซยานิน และ สารประกอบฟีนอลิกในแต่ละส่วนของเมล็ดข้าวมะลิชนิด คือ ส่วนของรำ ข้าวกล้อง และข้าวขัด และ ศึกษาความเสถียรต่อความร้อนของสารแอนโทไซยานินและกรดฟีนอลิกฤทธิ์ต้านออกซิเดชัน และ ประเมินฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ นอกจากนี้เพื่อศึกษาชีวภาพความพร้อม ของการนำไปใช้ (bioaccessibility) ของสารแอนโทไซยานินจากข้าวกล้องสุกโดยการจำลองสภาวะ การย่อยของร่างกาย

จากผลการทดลองพบว่ารำของข้าวมะลิชนิดเป็นบริเวณหลักที่พบสารแอนโทไซยานินจาก การระบุชนิดด้วยเทคนิคลิกวิด โครมาโทกราฟี-แทนเดมแมสสเปกโตรเมตรี (LC-MS/MS) สารแอนโทไซยานินหลักที่พบ คือ ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ (cyanidin-3-glucoside, cy-3-glu) และ พีโอนิดิน-3-กลูโคไซด์ (peonidin-3-glucoside, pn-3-glu) ส่วนสารประกอบฟีนอลิกหลักที่ได้จาก การสกัดด้วยสารสกัดเมทานอลปรับกรด คือกรดโปรโตคาเทคิก (protocatechuic acid, PCA) และ กรดวานิลลิก (vanillic acid, VA) จากการศึกษาความเสถียรต่อความร้อนของสารแอนโทไซยานินของ ข้าวกล้อง พบว่าภายใต้การให้ความร้อนด้วยน้ำร้อนในช่วงอุณหภูมิ 60-90 องศาเซลเซียส เกิดการ สลายตัวของสารแอนโทไซยานินและการลดลงของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันมากกว่าการให้ความร้อน ด้วยลมร้อนที่อุณหภูมิเดียวกัน และพบว่าการสลายตัวด้วยความร้อนของสารไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์ และ โอนิดิน-3-กลูโคไซด์ ส่งผลให้ปริมาณกรดโปรโตคาเทคิกและกรดวานิลลิกเพิ่มขึ้น

กรดฟีนอลิกที่ตรวจพบในข้าวกล้องสุก ได้แก่ กรดโปรโตคาเทคิกและกรดวานิลลิก ซึ่งเป็น กรดฟีนอลิกอิสระ (free phenolic acids) และกรดเฟอร์ูลิก (ferulic acid, FA) และกรดพาราคูมาริก (p-Coumaric acid, p-Cou) ซึ่งเป็นกรดฟีนอลิกยึดเหนี่ยว (bound phenolic acids) วิธีการหุงข้าว ไม้โครเวฟเป็นวิธีการหุงข้าวที่ส่งผลให้มีการสูญเสียแอนโทไซยานินสารฟีนอลิกสูงสุด คือ 65% และ 47.8% ตามลำดับ และพบการลดลงของฤทธิ์ต้านออกซิเดชันสูงสุด ( $p < 0.05$ ) การลดลงของ ไซยานิดิน-3-กลูโคไซด์มีความสัมพันธ์กับการเกิดของกรดโปรโตคาเทคิก

จากการประเมินฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของสารสกัดจากข้าวดิบและข้าวกล้องสุกที่ผ่าน การสกัดด้วยเมทานอลต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่พบว่าสารสกัดจากข้าวดิบและข้าวกล้องสุกที่ผ่าน การหุงโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำมีฤทธิ์ยับยั้งการเจริญเติบโตต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ดีที่สุด โดย

ความเข้มข้นของสารที่ทำให้เซลล์มะเร็งลดลงร้อยละ 50 ( $IC_{50}$ ) เท่ากับ 12.63 และ 16.11 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จากการศึกษาชีวภาพความพร้อมของการนำไปใช้ของแอนโทไซยานินจากข้าวกล้องสุกที่ผ่านการหุงด้วยหม้อหุงข้าวไฟฟ้าพบว่าชีวภาพความพร้อมของการนำไปใช้ของแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้นหลังจากการย่อยในปาก กระเพาะอาหาร และลำไส้เล็ก สภาวะแวดล้อมของการย่อยและเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยอาหารเป็นปัจจัยสำคัญในการส่งเสริมการปลดปล่อยสารฟีนอลิกจากโครงสร้างของข้าวกล้องสุก ในขณะที่การปลดปล่อยสารแอนโทไซยานินเกิดจากสภาวะแวดล้อมในระบบย่อยอาหารเป็นหลัก ในขั้นตอนสุดท้ายหลังจากการย่อยอาหารในลำไส้เล็กพบการปลดปล่อยของสารฟีนอลิกและแอนโทไซยานิน เท่ากับ 62.5% และ 10.67% ตามลำดับ จากการประเมินฤทธิ์ต้านการเจริญเติบโตของสารสกัดแอนโทไซยานินจากข้าวกล้องสุกต่อเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ พบว่าสารสกัดแอนโทไซยานินสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์มะเร็งลำไส้ใหญ่ HCT116 และ HT-29 โดย  $IC_{50}$  เท่ากับ 37.20 และ 37.19 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับหลังจากการบ่มเป็นระยะเวลา 72 ชั่วโมง งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าข้าวมะลินิลสุรินทร์ ซึ่งประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ได้แก่ แอนโทไซยานินและกรดฟีนอลิก มีศักยภาพและมีบทบาทที่สำคัญในการยับยั้งการเจริญเติบโตของมะเร็งลำไส้ใหญ่

RASSARIN CHATTHONGPISUT : COMPOSITION, STABILITY AND  
BIOACTIVITY OF ANTHOCYANINS AND PHENOLIC COMPOUNDS  
FROM THAI DARK PURPLE RICE. THESIS ADVISOR : ASSOC. PROF.  
JIRAWAT YONGSAWATDIGUL, Ph.D., 156 pp.

PIGMENTED RICE/ANTIOXIDANT ACTIVITY/THERMAL STABILITY/  
BIOACCESSIBILITY/ANTIPROLIFERATIVE ACTIVITY

The objectives of this study were to identify anthocyanins and phenolic compounds in various fractions, including bran, whole rice, and milled rice, of Thai Mali Nil Surin rice (*Oryza sativa* L., MNS). In addition, thermal stability of anthocyanins and phenolic acids as well as antioxidant activity and antiproliferative activity of cooked rice against human colon cancer cells were investigated. Bioaccessibility of anthocyanins of cooked Thai dark purple rice *in vitro* digestion was also evaluated.

Anthocyanins and phenolic compounds were mainly located in the bran fraction of 2 cultivars, MNS2 and MNS6. Predominant anthocyanins were cyanidin-3-glucoside (cy-3-glu) and peonidin-3-glucoside (pn-3-glu), while protocatechuic acid (PCA) and vanillic acid (VA) were major phenolic compounds extracted by acidified methanol. Degradation of anthocyanins and a decrease of antioxidant activity of husk-removed rice occurred to a greater extent in water heating than in hot-air heating at any of the studied temperatures of 60-90°C. Thermal degradation of cy-3-glu and pn-3-glu resulted in the formation of PCA and VA.

PCA and VA are major free phenolic acids, while ferulic acid (FA) and p-coumaric acid (p-Cou) are major bound phenolic acids of cooked dark purple rice.

Based on cooking methods, microwave heating resulted in the greatest loss of 65% anthocyanins and 47.8% phenolics as well as free radical scavenging activity and reducing power ( $p < 0.05$ ). A decrease of cy-3-glu was in concomitant with an increase of PCA. Methanolic extract of raw rice and rice cooked by autoclave showed the highest inhibition of Caco-2 cell proliferation with  $IC_{50}$  of 12.63 and 16.11  $\mu\text{g/mL}$ , respectively.

Bioaccessibility of phenolics and anthocyanins of MNS6 cooked by a rice cooker increased after oral, gastric and pancreatic digestion. Phenolics were released from the matrices of cooked dark purple rice by the action of digestive enzymes and environments, whereas anthocyanins were mostly released by the digestive environments. At the end of intestinal phase, 62.50% of phenolics and 10.67% of anthocyanins were released from the cooked rice matrix. Anthocyanin extract significantly inhibited proliferation of HCT116 and HT-29 colon cancer cell lines *in vitro* with  $IC_{50}$  of 37.20 and 37.19  $\mu\text{g/mL}$ , respectively, after 72 h of incubation. This study indicated that anthocyanins and phenolic acids contained in Mali Nil Surin rice could be a potential source of bioactive compounds which plays an important role in chemoprevention of human colon cancer.

School of Food Technology

Academic Year 2013

Student's Signature \_\_\_\_\_

Advisor's Signature \_\_\_\_\_