ผลของรังสีแกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลรวมและสารแอนโทไซยานินรวมของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง

วรนันท์ คีรีสัตยกุล, จินตภา แพทย์โอสถ, ญานิกา โพธิ์งาม, กัณยาวีร์ พยุงกุลอนันต์, กรวดี พรมสุภาพ, นงค์นุช แจ้งสว่าง

บทคัดย่อ

หลักการและวัตถุประสงค์: การฉายรังสีเป็นวิธีที่สามารถทำอาหารให้ปลอดเชื้อจุลชีพและถนอมอาหารได้ มีรายงานว่าการฉายรังสีช่วยเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพให้กับอาหารอีกด้วย การศึกษานี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลรวม และปริมาณสารแอนโทไซยานินของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง

วิธีการศึกษา: นำสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง ไปฉายรังสีแกมมาปริมาณ 0, 1, 2 และ 4 กิโลเกรย์ จากนั้นตรวจวัดฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงด้วยวิธี 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 ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณสารแอนโทไซยานินรวมในสารสกัดซังข้าวโพดม่วงลดลงอย่างมีนัยสำคัญ โดยสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงที่ได้รับรังสีแกมมาปริมาณ 4 กิโลเกรย์มีค่าการลดลงที่น้อยที่สุด

สรุป: ผลการศึกษาแสดงให้เห็นว่าควรหลีกเลี่ยงการทำปลอดเชื้ออาหารที่มีส่วนประกอบของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงด้วยการฉายรังสีแกมมาที่ปริมาณ 1-4 กิโลเกรย์ หรือศึกษาหาปริมาณรังสีที่เหมาะสมต่อสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง

คำสำคัญ: สารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง การฉายรังสีแกมมา ฤทธิ์ทางชีวภาพ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิกรวม สารแอนโธไซยานิน

บทนำ

แอนโทไซยานินเป็นสารพฤษเคมีที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูง จึงมีการนำสารแอนโทไซยานินมาใช้ในการป้องกันโรคที่เกิดอันเนื่องมาจากสารอนุมูลอิสระสูง (oxidative stress related diseases) หรือยับยั้งการเกิด

วรนันท์ คีรีสัตยกุล[1], จินตภา แพทย์โอสถ[2], ญานิกา โพธิ์งาม[2], กัณยาวีร์ พยุงกุลอนันต์[1], กรวดี พรมสุภาพ[1], นงค์นุช แจ้งสว่าง[3]
[1]สาขาวิชารังสีวิทยา คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
[2]หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชารังสีเทคนิค คณะแพทยศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น
[3]สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน)

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

รับต้นฉบับ 26 ธันวาคม 2565, ปรับปรุงต้นฉบับ 21 มกราคม 2566, ตอบรับต้นฉบับตีพิมพ์ 29 มกราคม 2566

สารอนุมูลอิสระในร่างกายจากภาวะโรคต่างๆ มากมาย เช่น ป้องกันภาวะแทรกซ้อนจากเบาหวาน[1] ป้องกันและชะลอการเกิดโรคเกี่ยวกับหัวใจและหลอดเลือด[2] ชะลอการเกิดภาวะความจำบกพร่องในหนูทดลองจำลองภาวะความจำเสื่อม[3] จากคุณสมบัติดังกล่าวนี้ทำให้เริ่มมีการนำผักผลไม้ที่มีสารแอนโทไซยานินสูงมาพัฒนาเป็นอาหารสุขภาพ ซังข้าวโพดสีม่วงเป็นวัสดุเหลือใช้ที่มีสารแอนโทไซยานินสูง[4] มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ต้านเอนไซม์อะซิทิลโคลีนเอสเตอเรส และมีฤทธิ์ในการเพิ่มความจำได้ดีในหนูทดลอง[5] มีรายงานว่าสารแอนโทไซยานินที่พบในซังข้าวโพดนั้นยังมีฤทธิ์ป้องกันภาวะอ้วนและลดระดับน้ำตาลในเลือดได้อีกด้วย[6,7] นอกจากนั้นยังมีรายงานพบว่าสารสกัดซังข้าวโพดม่วงช่วยลดความเสี่ยงของการเกิดโรคหัวใจและหลอดเลือด, โรคอ้วน, โรคเบาหวาน และโรคเรื้อรังอื่นๆ[8,9] โดยปัจจุบันได้มีการนำซังข้าวโพดมาทำอาหารเสริมและผลิตภัณฑ์ในรูปแบบหลากหลาย อย่างไรก็ตามการนำสารสกัดซังข้าวโพดมาพัฒนาให้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารสุขภาพนั้นต้องคำนึงถึงการปลอดเชื้อจุลชีพก่อโรคตามที่กฎหมายกำหนดเพื่อความปลอดภัยของผู้บริโภค การฉายรังสีในอาหารเพื่อทำการปลอดเชื้อจุลชีพก่อโรคเป็นวิธีการหนึ่งในการปลอดเชื้อได้อย่างมีประสิทธิภาพได้ ซึ่งรังสีที่ใช้ในการฉายรังสีอาหารมีหลายชนิด ได้แก่ รังสีแกมมา รังสีเอกซ์ และลำแสงอิเล็กตรอน[10] จากการทบทวนวรรณกรรมพบว่ารังสีมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ทางชีวภาพของพืชหรืออาหาร หลายการศึกษาแสดงให้เห็นถึงผลของรังสีแกมมาในการเพิ่มฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารฟลาโวนอยด์ สารแอนโทไซยานิน และสารประกอบฟีนอลรวม[11-15] ดังนั้นการฉายรังสีจึงสามารถช่วยทั้งเรื่องปลอดเชื้อและเพิ่มฤทธิ์ทางชีวภาพโดยเฉพาะฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระได้ อย่างไรก็ตามมีรายงานวิจัยบางส่วนว่าพบว่าการฉายรังสีมีผลทำให้ปริมาณสารแอนโทไซยานินลดลงได้ด้วย[16] แต่ยังไม่เคยมีรายงานการศึกษาทางวิทยาศาสตร์เกี่ยวกับผลของการฉายรังสีแกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงที่กล่าวมาข้างต้นมาก่อน ดังนั้นในการศึกษานี้ผู้วิจัยจึงมีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของรังสีแกมมาต่อการเปลี่ยนแปลงฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีโนลรวม และสารแอนโทไซยานินของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง

วิธีการศึกษา

1. การเตรียมสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงและการฉายรังสีสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง

การศึกษานี้ใช้วิธีการสกัดด้วยการต้มและทำแห้งสารสกัดด้วยวิธีแบบพ่นฝอย โดยนำซังข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง ระยะแห้ง มาอบให้แห้งด้วยเตาอบที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาปั่นให้ละเอียด และสกัดด้วยการต้มกับน้ำเปล่าด้วยอุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังจากกรองน้ำสารกัดด้วยผ้าขาวบางและกระดาษกรอง นำสารละลายสารสกัดเข้าเครื่องทำแห้งแบบพ่นฝอย (mini spray dryer BUCHI Model: B-290) ได้ผงสารสกัดคิดผลผลิตร้อยละ (percent yield) เท่ากับร้อยละ 3 จากนั้นแบ่งบรรจุสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงใส่หลอดทดลองพลาสติกชนิดมีฝาปิดเกลียวจำแนกเป็น 4 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มควบคุม ไม่ได้รับการฉายรังสี หรือกลุ่ม 0 กิโลเกรย์ และกลุ่มทดลอง ซึ่งได้รับการฉายรังสีปริมาณ 1, 2 และ 4 กิโลเกรย์[15] นำส่งไปฉายรังสีแกมมา ณ ห้องปฏิบัติการวัดรังสีระดับสูง (HDL) ศูนย์ฉายรังสี สถาบันเทคโนโลยีนิวเคลียร์แห่งชาติ (องค์การมหาชน) อ.องครักษ์ จ.นครนายก ด้วยรถขนส่งเอกชนควบคุมอุณหภูมิ ด้วยปริมาณตามที่กำหนด ในระหว่างรอการฉายรังสีและรอส่งกลับมาวัดประเมิน สารสกัดซังข้าวโพดม่วงทุกหลอดจะถูกเก็บรักษาไว้ในอุณหภูมิ 4 องศาตลอดเวลาเพื่อคงสภาพของสารสกัดไว้

2. การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวม (Total phenolic compound; TPC)

วิเคราะห์ปริมาณสาร TPC ในสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงด้วยวิธี Folin Ciocalteau[17] 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 โดยนำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดซังข้าวโพดม่วงที่วัดได้มาคำนวณปริมาณสาร TPC จากสมการของกราฟมาตรฐาน และค่าที่ได้แสดงออกมาเป็นหน่วย mg/ml GAE/mg extract

3. การวิเคราะห์ปริมาณสารแอนโทไซยานิน (Total anthocyanin content; TAC)

วิเคราะห์หาปริมาณ TAC โดยวิธี pH differential method ดัดแปลงจากวิธีของ Giusti & Wrolstad[18] โดยหยอดสารสกัดปริมาตร 50 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จำนวน 2 ชุด หลอดทดลองชุดแรกหยอดสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์ (Potassium chloride) ความเข้มข้น 0.025 โมลาร์ pH 1.0 ปริมาตร 150 ไมโครลิตร หลอดทดลองชุดที่ 2 หยอดสารละลายโซเดียมอะซีเตท (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 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวนปริมาณสารแอนโทไซยานินจากสูตร

$$TAC = (A \times MW \times DF \times 103)/(\varepsilon \times 1)$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสง (Absorbance) = $(A510nm - A700nm)_{pH1.0} - (A510nm - A700nm)_{pH4.5}$; MW คือ มวลโมเลกุลของ cyaniding-3-glucoside (C3G) = 449.2 g/mol; DF คือ dilution factor ของตัวอย่าง; ε คือ Molar absorptivity = 26,900 $M^{-1}cm^{-1}$ 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 เป็นวิธีการวิเคราะห์ความสามารถในการเป็นสารต้านออกซิเดชันที่นิยมใช้ ให้ความถูกต้องและแม่นยำสูง สาร DPPH เป็นสารอนุมูลอิสระที่มีความเสถียรนิยมนำมาใช้ทดสอบความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง โดยหยอดสารสกัดที่ความเข้มข้นต่างๆ (ความเข้มข้น 5-1000 ไมโครกรัม/มล.) ปริมาตร 200 ไมโครลิตร ลงในหลอดทดลอง จากนั้นหยอดสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.15 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 1800 ไมโครลิตรลงไป เขย่าสารให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มไว้ 30 นาทีในห้องมืด จากนั้นนำมาวัดการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง UV-Vis Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 517 nm นำค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดแต่ละความเข้มข้นมาคำนวณความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระ (%inhibition) ด้วยสูตร[17]

$$\%Inhibition\ of\ DPPH = [(A\ control - A\ extract)/A\ control] \times 100$$

โดย A control คือค่าการดูดกลืนแสดงของเมทานอล 200 ไมโครลิตรและสารละลาย DPPH 1,800 ไมโครลิตร A extract คือค่าการดูดกลืนแสงของสารสกัดแต่ละความเข้มข้น จากนั้นนำค่า %inhibition ที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐานและคำนวนค่าความเข้มข้นของสารสกัดที่สามารถกำจัดอนุมูลอิสระได้ครึ่งหนึ่ง (half maximal inhibitory concentration ; IC_{50}) จากกราฟดังกล่าว และแสดงออกมาเป็นหน่วย µg/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 สารละลายเฟอริคคลอไรด์ (Ferric chloride) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ ในอัตราส่วน 10:1:1 วางไว้ในอ่างน้ำอุ่น 37 องศาเซลเซียส คนให้ละลายจนได้สารละลายสีน้ำตาลใส นำมาหยอดใส่หลอดทดลองปริมาตร 1900 ไมโครลิตร เติมสารสกัดปริมาตร 100 ไมโครลิตรลงไปเขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปบ่มในอ่างน้ำอุ่น 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 ระหว่างกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสีที่ขนาดต่างๆ ด้วยสถิติ One-way ANOVA และ Tukey post hoc test

ผลการศึกษา

1. ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสาร TPC และสาร TAC

ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสาร TPC และสาร TAC แสดงในตารางที่ 1 ผลการวิเคราะห์พบว่าปริมาณสาร TPC ของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงในกลุ่มควบคุมมีค่า 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 กิโลเกรย์ มีค่าการลดลงที่สูงที่สุด ในขณะที่ปริมาณสาร TAC มีการลดลงในลักษณะเช่นเดียวกับปริมาณสาร TPC อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.001) เช่นเดียวกัน

ตารางที่ 1 ปริมาณสาร TAC ปริมาณสาร TPC ของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง

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. ผลของรังสีแกมมาต่อฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay

ผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay แสดงในตารางที่ 2 จากผลการทดลองพบว่าค่า IC_{50} ของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.001) ในกลุ่มการทดลอง โดยสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงกลุ่มควบคุม (0 กิโลเกรย์) มีค่า IC_{50} 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) ทำให้สารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงมีค่า IC_{50} ที่ลดลงอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบ

กับกลุ่มควบคุม (p-value<0.05) ส่วนผลการวิเคราะห์ด้วย FRAP assay พบว่าทำให้ค่าฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (p-value<0.001) และผลจากการวิเคราะห์ Post hoc test พบว่าการฉายรังสีทำให้ค่าต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธี FRAP assay ลดลงจากกลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญ (p-value<0.05) โดยที่กลุ่ม 4 กิโลเกรย์ มีค่าลดลงน้อยที่สุด

ตารางที่ 2 ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง ด้วยวิธี DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay

ปริมาณรังสีที่ฉาย	DPPH scavenging radical activity	FRAP
	(IC50 µg/ml extract)	(µg/ml AAE)
กลุ่มควบคุม 0 กิโลเกรย์	160.88±0.912[a]	160.10±0.78[a]
กลุ่มฉายรังสี 1 กิโลเกรย์	209.02±1.542[b]	120.45±0.77[b, c]
กลุ่มฉายรังสี 2 กิโลเกรย์	198.17±4.379[b]	115.33±0.56[c]
กลุ่มฉายรังสี 4 กิโลเกรย์	166.41±1.410[a]	124.39±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 แก่สารสกัดซังข้าวโพดสีม่วง ส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสาร TPC และสาร TAC ลดลง โดยสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณ 4 kGy มีค่าการลดลงที่น้อยที่สุด มีรายงานว่าข้าวโพดสีม่วงมีสารแอนโทไซยานินหลายชนิด ได้แก่ cyanidin-3-glucoside, pelargonidin-3-glucoside and peonidin-3-glucoside[20-22] และสารประกอบฟีนอลิกอื่นๆ อีก 8 ชนิด ได้แก่ kaempferol, morin, naringenin, ferulic acid, caffeic acid, rutin, quercetin และ chlorogenic acid ตามลำดับ[23] ซึ่งมีการศึกษาเรื่องผลของรังสีต่อปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณสารแอนโทไซยานินในพืชหลายชนิดก่อนหน้านี้ซึ่งให้ผลการศึกษาที่แตกต่างกัน ทั้งที่สามารถเพิ่มและลดปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณสารแอนโทไซยานิน การศึกษาของAkbari และคณะ[15] พบว่าการฉายรังสีปริมาณ 1, 2, และ 4 กิโลเกรย์ จะทำให้ถั่วพิตาชิโอมีปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและปริมาณสารแอนโทไซยานินเพิ่มขึ้น การนำข้าวที่มีสีม่วงฉายรังสีที่ปริมาณ 0.25-1.00 กิโลเกรย์ ทำให้มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกและแอนโธไซยานินเพิ่มขึ้น[24] นอกจากนี้ยังมีรายงานผลการศึกษาของ Taheri และคณะ[25] ที่แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีปริมาณ 10, 15 และ 20 กิโลเกรย์ให้แก่ *C. alismatifolia* สามารถเพิ่มปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมได้อย่างมีนัยสำคัญ อย่างไรก็ตามมีการศึกษาที่แสดงผลที่แตกต่าง โดยพบว่ามีการศึกษาของ Kavitha และคณะ[26] การศึกษาของ Schindler และคณะ[27] และ การศึกษาของ Hirashima และคณะ[28] ที่แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีแกมมาทำให้ปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมในพืชที่ศึกษาลดลงตามปริมาณรังสีที่เพิ่มขึ้น ซึ่งพบว่าการฉายรังสีสามารถทำให้เกิดการแตกหักของพันธะของโมเลกุลขนาดใหญ่รวมถึงสารประกอบฟีนอลได้โดยตรง[29] จึงทำให้เก็นการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบฟีนอลในสารสกัดพืชหรืออาหารที่ได้รับรังสีได้ นอกจากนี้รายการผลการศึกษาของ Hasany และ Rauf[30] และ Marfak และคณะ[31] แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีแกมมาทำให้ปริมาณสาร morin และ kaempferol ซึ่งเป็นสารฟีนอลหลักของสารสกัดข้าวโพดสีม่วงลดลง ดังนั้นในการศึกษานี้จึงพบการลดลงของสารประกอบฟีนอลรวมที่ค่อนข้างสูง น่าจะเป็นผลมาจากการลดลงของปริมาณสารประกอบหลักทั้ง 2 ตัวนี้ ในส่วนของปริมาณสารแอนโทไซยานินนั้น มีการรายงานการศึกษาที่แสดงให้เห็นว่ารังสีแกมมาทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงชนิดของ anthocyanin ในข้าวสีม่วงจาก cyanidine-

3-glucoside เป็น peonidine-3-O-glucoside[32] และทำให้ปริมาณสารแอนโทไซยานิน cyanidin3-glucoside และ cyanidin-3-rutinoside ในผลปาล์มสีม่วงลดลงเมื่อได้รับการฉายรังสีสูงขึ้น[33] ซึ่งผลจากการวิเคราะห์ผลของรังสีแกมมาต่อปริมาณสารแอนโทไซยานินที่ลดลงในการศึกษานี้จะมีความสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้นนี้ ดังนั้นผลการศึกษาของแต่ละการศึกษาที่เห็นการเปลี่ยนแปลงในทิศทางที่แตกต่างกันน่าจะเป็นผลมาจากชนิดและปริมาณของสารประกอบฟีนอลและสารแอนโทไซยานินของพืชแต่ละชนิดที่ตอบสนองต่อรังสีแกมมาแตกต่างกัน

มีรายงานการศึกษาที่กล่าวถึงบทบาทของสารประกอบฟีนอลในการยับยั้งสารอนุมูลอิสระโดยการไฮโดรเจนอะตอมให้แก่สารอนุมูลอิสระหรือรับอิเล็กตรอนคู่โดดเดี่ยวจากสารอนุมูลอิสระ[34] ซึ่งระดับความสามารถในการยับยั้งอนุมูลอิสระของสารประกอบฟีนอลขึ้นอยู่กับจำนวนของหมู่ OH และพันธะคู่ในวงแหวนอโรมาติก (aromatic ring) ของสารฟีนอลนั้นๆ [35] จากผลการวิเคราะห์ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระทั้ง DPPH radical scavenging assay และ FRAP assay พบความสัมพันธ์ที่สอดคล้องกับปริมาณสารประกอบฟีนอลรวมและสารแอนโทไซยานินของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงที่ฉายรังสีแต่ละปริมาณ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานการศึกษาที่กล่าวไว้ อย่างไรก็ตามค่า IC_{50} ของกลุ่มควบคุมและกลุ่มฉายรังสี 4 กิโลเกรย์ และค่า FRAP activity ของกลุ่มฉายรังสี 1 และ 4 กิโลเกรย์ นั้นไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ น่าจะเป็นผลมาจากสารกลุ่มอื่นๆ กลุ่มของสารที่เรียกว่าสารประกอบที่ไม่ใช่ฟีนอล (Non-phenolic compounds) ซึ่งมีฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระเช่นเดียวกับสารกลุ่มสารประกอบฟีนอล[36]

สรุปผลการศึกษา

การศึกษานี้แสดงให้เห็นว่าการฉายรังสีแกมมาปริมาณ 1-4 กิโลเกรย์ แก่สารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงส่งผลให้ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวม และสารแอนโธไซยานินลดลง โดยสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงที่ได้รับรังสีปริมาณ 4 กิโลเกรย์ มีค่าการลดลงที่น้อยที่สุด ดังนั้นควรพิจารณาการทำปลอดเชื้ออาหารที่มีส่วนประกอบของสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงด้วยวิธีการอื่น หรือศึกษาผลของรังสีปริมาณที่สูงกว่า 4 กิโลเกรย์ต่อสารสกัดซังข้าวโพดสีม่วงเพิ่มเติมเพื่อหาปริมาณรังสีที่เหมาะสม

กิตติกรรมประกาศ

ทางผู้วิจัยขอขอบคุณรองศาสตราจารย์ ดร. คุณเดช สุริหาร สาขาวิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น ที่ให้ความอนุเคราะห์ซังข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วงสำหรับใช้ในการศึกษาครั้งนี้ และขอขอบคุณศาสจราจารย์ 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, Suriharn 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 และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของสารสกัดสมุนไพรในตำรับยาหอมเทพจิตร. ก้าวทันโลกวิทยาศาสตร์ 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, Suriharn 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-Ortíz 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